



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2021년04월02일

(11) 등록번호 10-2234623

(24) 등록일자 2021년03월26일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) **A61K 31/7088** (2006.01)
C12N 9/64 (2006.01)

(52) CPC특허분류
C12N 15/1137 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2015-7035878

(22) 출원일자(국제) 2014년05월22일

심사청구일자 2019년05월21일

(85) 번역문제출일자 2015년12월18일

(65) 공개번호 10-2016-0009687

(43) 공개일자 2016년01월26일

(86) 국제출원번호 PCT/US2014/039149

(87) 국제공개번호 WO 2014/190157

국제공개일자 2014년11월27일

(30) 우선권주장

61/826,178 2013년05월22일 미국(US)

61/912,988 2013년12월06일 미국(US)

(56) 선행기술조사문헌

W02012135246 A2*

W02010148013 A1

W02009073809 A1

W02013070786 A1

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

(73) 특허권자

알닐람 파마슈티칼스 인코포레이티드미국 매사추세츠주 02142 캠프릿지 헨리 에이. 테
르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675

(72) 발명자

버틀러 제임스미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
씨드 스트리트 300**베텐코트 브라이언**미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
씨드 스트리트 300

(뒷면에 계속)

(74) 대리인

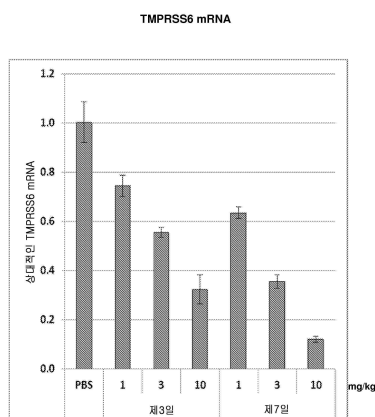
장훈

전체 청구항 수 : 총 44 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 **TMPRSS6 조성물 및 이의 사용 방법****(57) 요약**

본 발명은 TMPRSS6 유전자를 표적하는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제, 및 TMPRSS6의 발현을 억제하기 위한 이러한 RNAi 작용제의 사용 방법, 및 TMPRSS6과 연관된 장애, 예를 들어, 철분 과부하와 연관된 장애, 예컨대 β -탈라세미아 또는 혈색소침착증을 가진 대상체의 치료 방법에 관한 것이다.

대표도 - 도1

(52) CPC특허분류

C12N 9/6424 (2013.01)
C12N 2310/11 (2013.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/316 (2013.01)
C12N 2310/32 (2013.01)
C12N 2310/343 (2013.01)
C12N 2310/351 (2013.01)
C12N 2310/3521 (2013.01)

(72) 발명자

라지브 칼란토타틸 지.

미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
씨드 스트리트 300

마이어 마틴

미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
씨드 스트리트 300

채리스 클라우스

미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
씨드 스트리트 300

명세서

청구범위

청구항 1

세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제할 수 있는 이중 가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며,

상기 센스 가닥은 5'-CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCA-3' (SEQ ID NO:223)의 뉴클레오타이드 서열로부터의 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 5'-UGGAGAAUGAACCAAGAAGCA-3' (SEQ ID NO:292)의 뉴클레오타이드 서열로부터의 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,

상기 센스 가닥과 상기 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 14 내지 30개 뉴클레오타이드 길이이고,

상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들과 상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 변형된 뉴클레오타이드들이고,

상기 센스 가닥은 3'-말단에 부착된 리간드에 콘쥬게이트되는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 2

제1항에 있어서,

상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들 및 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들은 변형된 뉴클레오타이드들인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 3

제1항에 있어서,

상기 센스 가닥은 5'-CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCA-3' (SEQ ID NO:223)의 뉴클레오타이드 서열을 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 5'-UGGAGAAUGAACCAAGAAGCA-3' (SEQ ID NO:292)의 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 4

제1항 내지 제3항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 변형된 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 3'-말단 데옥시-티민(dT) 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오타이드, 잠금(locked) 뉴클레오타이드, 무염기성(abasic) 뉴클레오타이드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오타이드, 2'-알킬-변형된 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 포스포라미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스포로티오에이트를 포함하는 뉴클레오타이드, 5' 포스페이트 또는 5' 포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오타이드, 및 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스테실아미드기에 연결된 말단 뉴클레오타이드로 이루어진 군으로부터 선택되는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 5

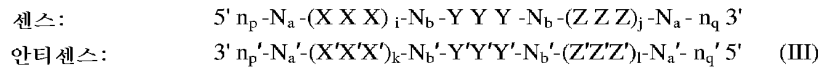
제1항에 있어서,

적어도 하나의 가닥은 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함하거나, 적어도 하나의 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 6

세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2(matriptase-2))의 발현을 억제할 수 있는 이중 가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 상기 안티센스 가닥은 TMPRSS6 을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 상기 상보적인 영역은 SEQ ID NO: 292의 적어도 15개 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드들이고, 상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시되는, 이중 가닥 RNAi 작용제:



상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내며;

n_p , n_p' , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며,

N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하며, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;

상기 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트된다.

청구항 7

제6항에 있어서,

YYY 모티프는 상기 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 8

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 9

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 10

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 17개 내지 25개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 11

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 23개 내지 27개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 12

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 19개 내지 21개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 13

제6항에 있어서, 이중 가닥 영역은 21개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍의 길이인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 14

제7항에 있어서, 각각의 가닥은 19개 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가지는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 15

제6항에 있어서,

뉴클레오타이드 상의 변형은 LNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-알킬, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-데옥시, 2'-히드록실 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 16

제15항에 있어서,

뉴클레오타이드 상의 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 17

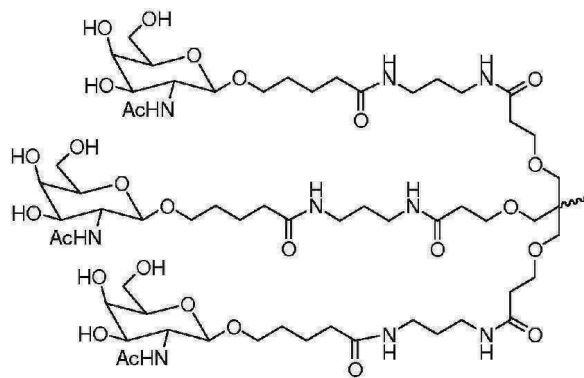
제1항 또는 제6항에 있어서,

리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통하여 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 18

제1항 또는 제6항에 있어서,

리간드는



인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 19

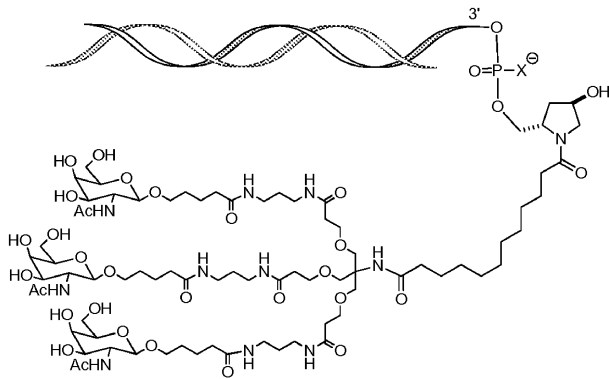
제1항 또는 제6항에 있어서,

리간드는 센스 가닥의 3' 말단에 부착되는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 20

제19항에 있어서,

RNAi 작용제는 하기 도식에 나타낸 바와 같이 리간드에 콘쥬게이트되는, 이중 가닥 RNAi 작용제:



상기 식에서,

X는 O 또는 S이다.

청구항 21

제1항 또는 제6항에 있어서,

상기 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간(internucleotide) 결합을 더 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 22

제21항에 있어서,

포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 3'-말단에 존재하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 23

제22항에 있어서,

상기 가닥은 안티센스 가닥인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 24

제22항에 있어서,

상기 가닥은 센스 가닥인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 25

제21항에 있어서,

포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 5'-말단에 존재하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 26

제25항에 있어서,

상기 가닥은 안티센스 가닥인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 27

제25항에 있어서,

상기 가닥은 센스 가닥인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 28

제21항에 있어서,

포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 5'- 및 3'-말단 둘 모두에 존재하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 29

제28항에 있어서,

상기 가닥은 안티센스 가닥인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 30

제21항에 있어서,

상기 RNAi 작용제는 6개 내지 8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 31

제30항에 있어서,

안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고,

센스 가닥은 5'-말단 또는 3'-말단 중 하나에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 32

제30항에 있어서,

센스 가닥은 총 21개의 뉴클레오타이드를 가지며, 안티센스 가닥은 총 23개의 뉴클레오타이드를 가지는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 33

제1항 또는 제6항에 있어서,

센스 가닥이 SEQ ID NO: 139 (5'-ACCUGCUUCUUCUGGUUCAUU-3'), SEQ ID NO: 143 (5'-UGCUUCUUCUGGUUCAUUCUC-3'), SEQ ID NO: 222 (5'-CUGCUUCUUCUGGUUCAUUCU-3'), SEQ ID NO: 223 (5'-CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCA-3'), SEQ ID NO: 798 (5'-CUGCUUCUUCUGGUUCAUUTT-3') 및 SEQ ID NO: 799 (5'-CUGGUUCAUUCUCCAAUUCTT-3')의 뉴클레오타이드 서열로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열을 포함하고; 안티센스 가닥이 SEQ ID NO: 187 (5'-AGAAUGAACCAAGAAGCAGGU-3'), SEQ ID NO: 191 (5'-UGGAGAAUGAACCAAGAAGCA-3'), SEQ ID NO: 291 (5'-AGAAUGAACCAAGAAGCAGGU-3'), SEQ ID NO: 292 (5'-UGGAGAAUGAACCAAGAAGCA-3'), SEQ ID NO: 1132 (5'-AAUGAACCAAGAAGCAGTT-3') 및 SEQ ID NO: 1133 (5'-GAUUUGGAGAAUGAACCAAGTT-3')의 뉴클레오타이드 서열로부터 선택되는 뉴클레오타이드 서열을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 34

제1항에 있어서,

상기 RNAi 작용제는

AD-60953 (CfsusGfcUfuCfuUfCfUfgGfuUfcAfuUfcUfL96 (SEQ ID NO: 365) 및 asGfsaAfuGfaAfcCfagaAfgAfaGfcAfgsgsu (SEQ ID NO: 434), 및

AD-60977 (CfsusUfcUfuCfuGfGfUfuCfaUfuCfuCfcAfL96 (SEQ ID NO: 389) 및 usGfsgAfgAfaUfgAfaccAfgAfaGfaAfgscsa (SEQ ID NO: 458)의 RNAi 작용제의 그룹으로부터 선택되고,

여기서 a, c, g 및 u는 각각 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트, 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트, 2'-O-

메틸구아노신-3'-포스페이트 및 2'-0-메틸우리딘-3'-포스페이트이고;

Af, Cf, Gf 및 Uf는 각각 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트, 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트, 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트 및 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트이고;

s는 포스포로티오에이트 결합이며;

L96은 N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도데카노일]-4-하이드록시프롤린을인, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 35

세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제할 수 있는 이중 가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중 가닥 RNAi 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며,

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:223의 뉴클레오타이드 서열로부터의 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:292의 뉴클레오타이드 서열로부터의 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,

상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-0-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

상기 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며,

상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-0-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고,

상기 센스 가닥은 3'-말단에서 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트되는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 36

제35항에 있어서,

상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들 및 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들은 변형을 포함하는, 이중 가닥 RNAi 작용제.

청구항 37

제1항, 제6항 및 제35항 중 어느 한 항에 따른 이중 가닥 RNAi 작용제를 포함하는, 유전성 혈색소침착증(hereditary hemochromatosis), β -탈라세미아(β -thalassemia), 적혈구조혈성 포르피린증(erythropoietic porphyria) 및 철분 과부하와 관련된 질환으로부터 선택되는 TMPRSS6과 연관된 장애를 가진 대상체를 치료하는데 사용하기 위한 약학적 조성물.

청구항 38

제37항에 있어서,

대상체가 인간인, 약학적 조성물.

청구항 39

제38항에 있어서,

인간이 유전성 혈색소침착증(hereditary hemochromatosis), β -탈라세미아(β -thalassemia) 또는 적혈구조혈성 포르피린증(erythropoietic porphyria)을 가진, 약학적 조성물.

청구항 40

제38항에 있어서,

인간이 β -탈라세미아를 가진, 약학적 조성물.

청구항 41

제40항에 있어서,

β -탈라세미아가 중증성 탈라세미아 (thalassemia major) 또는 중간성 탈라세미아 (thalassemia intermedia)인, 약학적 조성물.

청구항 42

제38항에 있어서,

인간이 철분 과부하와 관련된 질환을 가진, 약학적 조성물.

청구항 43

제42항에 있어서,

철분 과부하와 관련된 질환이 파킨슨병, 알츠하이머병 또는 프리드리히 운동실조증(Friedreich's Ataxia)인, 약학적 조성물.

청구항 44

제37항에 있어서,

이중 가닥 RNAi 작용제가 피하 투여 또는 정맥내 투여를 위해 제형화되는, 약학적 조성물.

청구항 45

삭제

청구항 46

삭제

청구항 47

삭제

청구항 48

삭제

청구항 49

삭제

청구항 50

삭제

청구항 51

삭제

청구항 52

삭제

청구항 53

삭제

청구항 54

삭제

청구항 55

삭제

청구항 56

삭제

청구항 57

삭제

청구항 58

삭제

청구항 59

삭제

청구항 60

삭제

청구항 61

삭제

청구항 62

삭제

청구항 63

삭제

청구항 64

삭제

청구항 65

삭제

청구항 66

삭제

청구항 67

삭제

청구항 68

삭제

청구항 69

삭제

청구항 70

삭제

청구항 71

삭제

청구항 72

삭제

청구항 73

삭제

청구항 74

삭제

청구항 75

삭제

청구항 76

삭제

청구항 77

삭제

청구항 78

삭제

청구항 79

삭제

청구항 80

삭제

청구항 81

삭제

청구항 82

삭제

청구항 83

삭제

청구항 84

삭제

청구항 85

삭제

청구항 86

삭제

청구항 87

삭제

청구항 88

삭제

청구항 89

삭제

청구항 90

삭제

청구항 91

삭제

청구항 92

삭제

청구항 93

삭제

청구항 94

삭제

청구항 95

삭제

청구항 96

삭제

청구항 97

삭제

청구항 98

삭제

청구항 99

삭제

청구항 100

삭제

청구항 101

삭제

발명의 설명

기술 분야

[0001] 관련 출원

[0002] 본 출원은 2013년 5월 22일에 출원된 미국 가출원 번호 제61/826,178호 및 2013년 12월 6일에 출원된 미국 가출원 번호 제61/912,988호의 우선권을 주장한다. 본 출원은 2011년 11월 18일에 출원된 미국 가출원 번호 제61/561,710호 및 2012년 11월 16일에 출원된 제PCT/US2012/065601호에 관한 것이다. 상기 출원들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0003] 서열 목록

[0004] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출되고, 본원에 전체 내용이 참조로서 포함되는 서열 목록을 포함한다. 2014년 5월 21일에 생성된 상기 ASCII 카피는 121301-00720_SL.txt로 명명되어 있으며, 449,620 바이트 크기이다.

배경 기술

[0005] TMPRSS6(막관통 프로테아제, 세린 6) 유전자는 II형 세린 프로테아제인 마트립타제-2(matriptase-2)로도 공지되어 있는 TMPRSS6을 인코딩한다. TMPRSS6은 주로 간에서 발현되지만, 높은 수준의 TMPRSS6 mRNA는 신장에서도 발견되며, 보다 낮은 수준은 자궁에서 발견되고, 많은 다른 조직들에서는 훨씬 더 적은 양이 검출된다(문헌 [Ramsay 등, *Haematologica* (2009), 94(6), 840-849]). TMPRSS6은 헵시딘(hepcidin) 활성제 및 BMP 공동수용체 HJV(헤모주벨린(hemojuvelin))에 결합하여 단백질분해 방식으로 분해하여, 헵시딘 수준의 하향조절을 야기함으로써, 철 항상성에 중요한 역할을 한다.

[0006] TMPRSS6은 짧은 N-말단 세포질내 꼬리, II형 막관통 도메인, 2개의 세포외 CUB(보체 인자 C1s/C1r, 성체 배아 성장 인자 및 BMP(골 형성 단백질)) 도메인으로 구성된 줄기 영역(stem region), 3개의 LDLR(저-밀도-지질단백질 수용체 부류 A) 도메인, 및 C-말단 트립신-유사 세린 프로테아제 도메인으로 구성된다. 세포외 도메인에 N-글리코실화를 위한 일치 부위(consensus site), 및 세포질내 꼬리 영역에 잠재적인 인산화 부위가 존재한다.

[0007] 다수의 장애들은 높은 철분 수준을 특징으로 하는 질환인 철분 과부하(iron overload)와 연관있을 수 있다. 철분 과부하는 다양한 조직들에서 과도한 철분 침착을 초래할 수 있다. 이에, 현재 철분 과부하와 연관된 장애의 효과적인 치료 방법이 요구되는 실정이다.

발명의 내용

[0008] 본 발명은 TMPRSS6을 표적으로 하는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 siRNA 작용제를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, TMPRSS6 발현을 억제하고, TMPRSS6과 연관된 장애, 예를 들어, 철분 과부하와 연관된 장애, 예컨대 β -탈라세미아(β -thalassemia)와 같은 탈라세미아, 또는 혈색소침착증(hemochromatosis)을 치료하기 위한 본 발명의 조성물의 사용 방법을 제공한다.

[0009] 이에, 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 여기서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥은 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 또는 SEQ ID NO:5의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드(contiguous nucleotide)를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 또는 SEQ ID NO:10의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,

[0010] 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들과 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 변형된 뉴클레오타이드들이고,

[0011] 센스 가닥은 3'-말단에 부착된 리간드에 콘주게이트된다.

[0012] 일 실시형태에서, 상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들 및 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들은 변형된 뉴클레오타이드들이다.

- [0013] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 안티센스 서열 중 임의의 하나와 비교 시, 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드들을 포함하는 상보성 영역을 포함한다.
- [0014] 일 실시형태에서, 적어도 하나의 변형된 뉴클레오타이드는 3'-말단 데옥시-티민(dT) 뉴클레오타이드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오타이드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오타이드, 잠금(locked) 뉴클레오타이드, 무염기성(abasic) 뉴클레오타이드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오타이드, 2'-알킬-변형된 뉴클레오타이드, 모르폴리노 뉴클레오타이드, 포스포라미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5'-포스포로티오에이트기를 포함하는 뉴클레오타이드, 5' 포스페이트 또는 5' 포스페이트 모방체를 포함하는 뉴클레오타이드(예를 들어, PCT 공개 제WO 2011/005860호), 및 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스테실아미드기에 연결된 말단 뉴클레오타이드로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0015] 일 실시형태에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 하나의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함한다. 또 다른 실시형태에서, 적어도 하나의 가닥은 적어도 2개의 뉴클레오타이드의 3' 오버행을 포함한다. 또 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마르립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 여기서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:
- [0016] 센스: $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$
 안티센스: $3' n_p' - N_a' - (X'X'X')_k - N_b' - Y'Y'Y' - N_b' - (Z'Z'Z')_l - N_a' - n_q' 5'$ (III)
- [0017] 상기 식에서,
- [0018] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0019] p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0020] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0021] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내며;
- [0022] n_p , n_p' , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;
- [0023] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며,
- [0024] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하며, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0025] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트된다.
- [0026] 일 실시형태에서, i는 0이거나; j는 0이거나; i는 1이거나; j는 1이거나; i 및 j 둘 모두는 0이거나; i 및 j 둘 모두는 1이다. 다른 실시형태에서, k는 0이거나; l은 0이거나; k는 1이거나; l은 1이거나; k 및 l 둘 모두는 0이거나; k 및 l 둘 모두는 1이다.
- [0027] 일 실시형태에서, XXX는 X'X'X'에 상보적이며, YYY는 Y'Y'Y'에 상보적이고, ZZZ는 Z'Z'Z'에 상보적이다.
- [0028] 일 실시형태에서, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다.
- [0029] 일 실시형태에서, Y'Y'Y' 모티프는 5'-말단으로부터 안티센스 가닥의 11, 12 및 13 위치에 존재한다.
- [0030] 일 실시형태에서, Y'는 2'-O-메틸이다.
- [0031] 일 실시형태에서, 화학식 (III)은 화학식 (IIIa)로 표시된다:

센스: $5' n_p - N_a - Y Y Y - N_a - n_q 3'$

안티센스: $3' n_p - N_a - Y'Y'Y' - N_a - n_q 5'$ (IIIa)

다른 실시형태에서, 화학식 (III)은 화학식 (IIIb)로 표시된다:

센스: $5' n_p - N_a - Y Y Y - N_b - Z Z Z - N_a - n_q 3'$

안티센스: $3' n_p - N_a - Y'Y'Y' - N_b - Z'Z'Z' - N_a - n_q 5'$ (IIIb)

상기 식에서,

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

또 다른 실시형태에서, 화학식 (III)은 화학식 (IIIc)로 표시된다:

센스: $5' n_p - N_a - X X X - N_b - Y Y Y - N_a - n_q 3'$

안티센스: $3' n_p - N_a - X'X'X' - N_b - Y'Y'Y' - N_a - n_q 5'$ (IIIc)

상기 식에서,

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

일 실시형태에서, 화학식 (III)은 화학식 (IIId)로 표시된다:

센스: $5' n_p - N_a - X X X - N_b - Y Y Y - N_b - Z Z Z - N_a - n_q 3'$

안티센스: $3' n_p - N_a - X'X'X' - N_b - Y'Y'Y' - N_b - Z'Z'Z' - N_a - n_q 5'$ (IIId)

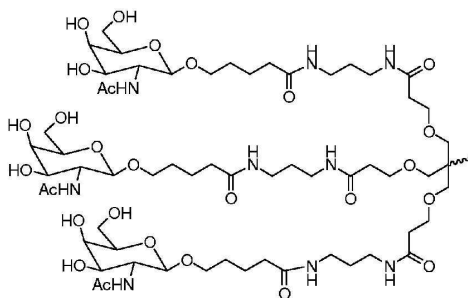
상기 식에서,

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내며, N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

일 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 다른 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 또 다른 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 17개 내지 25개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 일 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 23개 내지 27개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 다른 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 19개 내지 21개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 다른 실시형태에서, 이중 가닥 영역은 길이가 21개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍이다. 일 실시형태에서, 각각의 가닥은 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가진다. 일 실시형태에서, 각각의 가닥은 19개 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가진다.

일 실시형태에서, 뉴클레오타이드 상의 변형은 LNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-알킬, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-테옥시, 2'-히드록실 및 이들의 조합으로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다른 실시형태에서, 뉴클레오타이드 상의 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이다.

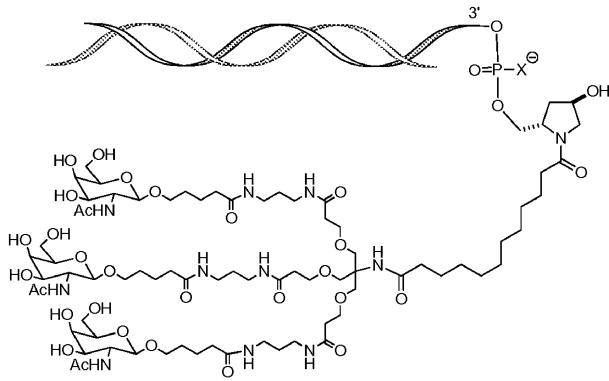
일 실시형태에서, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통하여 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다. 다른 실시형태에서, 리간드는



이다.

[0049] 일 실시형태에서, 리간드는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다.

[0050] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 하기의 도식에 나타낸 바와 같이 리간드에 콘주게이트된다:



[0051]

[0052] 상기 식에서,

[0053] X는 O 또는 S이다. 특정 실시형태에서, X는 O이다.

[0054] 일 실시형태에서, 상기 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 (internucleotide) 결합을 더 포함한다.

[0055] 일 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 3'-말단에 존재한다. 일 실시형태에서, 상기 가닥은 안티센스 가닥이다. 다른 실시형태에서, 상기 가닥은 센스 가닥이다.

[0056] 일 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 5'-말단에 존재한다. 일 실시형태에서, 상기 가닥은 안티센스 가닥이다. 다른 실시형태에서, 상기 가닥은 센스 가닥이다.

[0057] 일 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합은 하나의 가닥의 5'-말단 및 3'-말단 둘 모두에 존재한다. 일 실시형태에서, 상기 가닥은 안티센스 가닥이다.

[0058] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 6개 내지 8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함한다.

[0059] 일 실시형태에서, 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며, 센스 가닥은 5'-말단 또는 3'-말단에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함한다.

[0060] 일 실시형태에서, 듀플렉스의 안티센스 가닥의 5'-말단의 1 위치에서의 염기쌍은 AU 염기쌍이다.

[0061] 일 실시형태에서, Y 뉴클레오타이드는 2'-플루오로 변형을 포함한다.

[0062] 일 실시형태에서, Y' 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형을 포함한다.

[0063] 일 실시형태에서, p'는 0 초과이다. 다른 실시형태에서, p'는 2이다.

[0064] 일 실시형태에서, q'는 0이고, p는 0이며, q는 0이고, p'개 오버행 뉴클레오타이드는 표적 mRNA에 상보적이다. 다른 실시형태에서, q'는 0이고, p는 0이며, q는 0이고, p'개 오버행 뉴클레오타이드는 표적 mRNA에 비-상보적이다.

[0065] 일 실시형태에서, 센스 가닥은 총 21개의 뉴클레오타이드를 가지며, 안티센스 가닥은 총 23개의 뉴클레오타이드를 가진다.

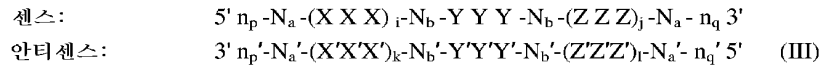
[0066] 일 실시형태에서, 적어도 하나의 n_p' 가 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0067] 일 실시형태에서, 모든 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결된다.

[0068] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 RNAi 작용제들로 이루어진 군으로부터 선택된다

- [0069] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 AD-59743이다. 또 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 AD-60940이다.
- [0070] 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제하는 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며,
- [0071] 여기서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며,
- [0072] 센스 가닥은 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 또는 SEQ ID NO:5의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 또는 SEQ ID NO:10의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,
- [0073] 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,
- [0074] 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며,
- [0075] 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,
- [0076] 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며,
- [0077] 센스 가닥은 3'-말단에서 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트된다.
- [0078] 일 실시형태에서, 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들 및 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들은 변형을 포함한다.
- [0079] 다른 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:
- [0080] 센스: $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$
 안티센스: $3' n_p' - N_a' - (X'X'X')_k - N_b' - Y'Y'Y' - N_b' - (Z'Z'Z')_l - N_a' - n_q' 5'$ (III)
- [0081] 상기 식에서,
- [0082] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0083] p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0084] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0085] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0086] n_p , n_p' , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;
- [0087] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고;
- [0088] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하며;
- [0089] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트된다.
- [0090] 또 다른 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예

를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:



상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

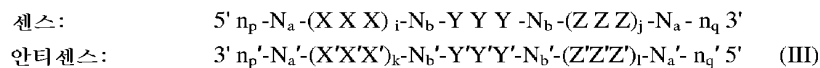
N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고;

N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하며;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘주게이트된다.

추가로 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:



상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고;

- [0112] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하며;
- [0113] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트되고, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0114] 다른 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:
- [0115] 센스: $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b' - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$
 안티센스: $3' n_p' - N_a' - (X'X'X')_k - N_b' - Y'Y'Y' - N_b - (Z'Z'Z')_l - N_a' - n_q' 5'$ (III)
- [0116] 상기 식에서,
- [0117] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0118] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;
- [0119] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0120] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되며;
- [0121] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0122] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개의 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0123] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고;
- [0124] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하며;
- [0125] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;
- [0126] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트되고, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0127] 또 다른 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현을 억제할 수 있는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 이중 가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥은 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드들이고, 이중 가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)으로 표시된다:
- [0128] 센스: $5' n_p - N_a - Y Y Y - N_a - n_q 3'$
 안티센스: $3' n_p' - N_a' - Y'Y'Y' - N_a' - n_q' 5'$ (IIIa)
- [0129] 상기 식에서,
- [0130] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;
- [0131] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0132] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되며;
- [0133] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개의 뉴클레오타이드를

포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

- [0134] YYY 및 Y'Y'Y'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;
- [0135] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;
- [0136] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 콘쥬게이트되고, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0137] 일 실시형태에서, 본 발명은 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 19 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택되는 RNAi 작용제를 제공한다.
- [0138] 일 양태에서, 본 발명은 변형된 안티센스 폴리뉴클레오타이드 작용제를 포함하는 조성물을 제공하며, 여기서, 작용제는 세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제할 수 있고, 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 서열들의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하며, 폴리뉴클레오타이드는 길이가 약 14개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드이다.
- [0139] 또한, 본 발명은 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제를 포함하는 세포, 벡터, 숙주 세포 및 약학적 조성물을 제공한다.
- [0140] 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 약학적 조성물을 이용하여 투여된다.
- [0141] 바람직한 실시형태에서, RNAi 작용제는 용액 중에서 투여된다. 일부 이러한 실시형태에서, siRNA는 비완충 용액 중에서 투여된다. 일 실시형태에서, siRNA는 수 중에서 투여된다. 다른 실시형태에서, siRNA는 완충 용액, 예를 들어, 아세트산염 완충제, 시트르산염 완충제, 프롤라민 완충제, 탄산염 완충제 또는 인산염 완충제 또는 그들의 임의의 조합과 함께 투여된다. 일부 실시형태에서, 완충 용액은 인산염 완충 식염수(PBS)이다.
- [0142] 일 실시형태에서, 약학적 조성물은 지질 제형을 더 포함한다. 일 실시형태에서, 지질 제형은 LNP 또는 XTC를 포함한다. 다른 실시형태에서, 지질 제형은 MC3를 포함한다.
- [0143] 일 양태에 있어서, 본 발명은 세포에서 TMPRSS6 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은, 세포를 본 발명의 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제, 변형된 안티센스 폴리뉴클레오타이드 작용제, 본 발명의 벡터 또는 본 발명의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계; 및 단계 (a)에서 제조된 세포를, TMPRSS6 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.
- [0144] 일 실시형태에서, 세포는 대상체 내에 존재한다.
- [0145] 일 실시형태에서, 대상체는 인간이다.
- [0146] 일 실시형태에서, TMPRSS6 발현은 적어도 약 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98% 또는 100% 억제된다.
- [0147] 또 다른 실시형태에서, 헵시딘 유전자 발현은 적어도 약 1.5배, 약 2배, 약 3배, 약 4배 또는 약 5배 증가된다.
- [0148] 보다 다른 실시형태에서, 혈청내 헵시딘 농도는 적어도 약 10%, 약 25%, 약 50%, 약 100%, 약 150%, 약 200%, 약 250% 또는 약 300% 증가된다.
- [0149] 일 실시형태에서, 혈청내 철분 농도는 적어도 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 98% 또는 약 100% 감소된다.
- [0150] 또 다른 실시형태에서, 트랜스페린 포화 백분율은 적어도 약 20%, 약 30%, 약 40%, 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90%, 약 95%, 약 98% 또는 약 100% 감소된다.
- [0151] 또 다른 양태에서, 본 발명은 TMPRSS6 발현에 의해 매개되거나 이와 연관된 장애를 가진 대상체의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제, 본 발명의 변형된 안티센스 폴리뉴클레오타이드 작용제, 본 발명의 벡터 또는 본 발명의 약학적 조성물을 치료적 유효량으로 대상체에게 투여함으로써, 대상체를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0152] 일 양태에서, 본 발명은 TMPRSS6과 연관된 장애를 가진 대상체의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 이중 가닥

RNAi 작용제를 치료적 유효량으로 대상체에게 피하 투여함으로써, 대상체를 치료하는 단계를 포함하며,

- [0153] 여기서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 이중 가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며,
- [0154] 센스 가닥은 SEQ ID NO:1, SEQ ID NO:2, SEQ ID NO:3, SEQ ID NO:4 또는 SEQ ID NO:5의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:6, SEQ ID NO:7, SEQ ID NO:8, SEQ ID NO:9 또는 SEQ ID NO:10의 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 하나와 비교 시 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한, 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,
- [0155] 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,
- [0156] 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며,
- [0157] 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,
- [0158] 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고,
- [0159] 센스 가닥은 3'-말단에서 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트된다.
- [0160] 일 실시형태에서, 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들 및 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드들은 변형을 포함한다.
- [0161] 일 실시형태에서, 대상체는 인간이다.
- [0162] 일 실시형태에서, 대상체는 철분 과부하와 연관된 장애, 예를 들어, 유전성 혈색소침착증, β -탈라세미아(예를 들어, 중증성 β -탈라세미아 및 중간성 β -탈라세미아) 적혈구조혈성 포르피린증(erythropoietic porphyria), 파킨슨병, 알츠하이머병 또는 프리드리히 운동실조(Friedreich's Ataxia)를 가진다.
- [0163] 일 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 4 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 6 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 7 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 8 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 9 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 12 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 13 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 14 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 15 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 16 mg/kg 내지 약 20 mg/kg 또는 약 18 mg/kg 내지 약 20 mg/kg의 용량으로 투여된다. 특정 실시형태에서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 약 0.1 mg/kg, 약 1.0 mg/kg 또는 약 3.0 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0164] 일 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제는 피하 또는 정맥내 투여된다.
- [0165] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 2회 이상의 용량으로 투여된다. 구체적인 실시형태에서, RNAi 작용제는 약 12시간마다 1회, 약 24시간마다 1회, 약 48시간마다 1회, 약 72시간마다 1회, 약 96시간마다 1회, 약 7일마다 1회 또는 약 14일마다 1회로 이루어진 군으로부터 선택되는 간격으로 투여된다. 특정 실시형태에서, RNAi 작용제는 2주 이하, 3주 이하, 4주 이하, 5주 이하 또는 그 이상의 기간 동안, 1주일에 1회 투여된다.
- [0166] 보다 다른 양태에서, 본 발명은 대상체에서 철분 과부하와 연관된 장애의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제 또는 벡터를 치료적 유효량으로 대상체에게 투여함으로써, 대상체를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0167] 일 실시형태에서, 철분 과부하와 연관된 장애는 혈색소침착증이다. 또 다른 실시형태에서, 철분 과부하와 연관된 장애는 탈라세미아, 예를 들어, β -탈라세미아(예를 들어, 중증성 β -탈라세미아 및 중간성 β -탈라세미아) 또는 적혈구조혈성 포르피린증이다. 보다 다른 실시형태에서, 철분 과부하와 연관된 장애는 신경학적 질병, 예를 들어, 파킨슨병, 알츠하이머병 또는 프리드리히 운동실조이다.
- [0168] 일 실시형태에서, 대상체는 영장류 또는 설치류이다. 또 다른 실시형태에서, 대상체는 인간이다.
- [0169] 일 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 15 mg/kg 내

지 약 20 mg/kg, 약 15 mg/kg 내지 약 25 mg/kg, 약 15 mg/kg 내지 약 30 mg/kg 또는 약 20 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다.

[0170] 일 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제는 피하 또는 정맥내 투여된다.

[0171] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 2회 이상의 용량으로 투여된다. 구체적인 실시형태에서, RNAi 작용제는 약 12 시간마다 1회, 약 24시간마다 1회, 약 48시간마다 1회, 약 72시간마다 1회, 약 96시간마다 1회, 약 7일마다 1회 또는 약 14일마다 1회로 이루어진 군으로부터 선택되는 간격으로 투여된다.

[0172] 일 실시형태에서, 투여는 대상체에서 철분 수준, 페리틴 수준 및/또는 트랜스페린 포화 수준을 감소시킨다.

[0173] 일 실시형태에서, 본 방법은 대상체에서 철분 수준을 확인하는 단계를 더 포함한다.

[0174] 일 실시형태에서, 본 발명의 iRNA 작용제(또는 본 발명의 약학적 조성물)을 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법은, 부가적인 약학적 및/또는 다른 치료적 방법의 투여와 조합하여 실시된다. 일 실시형태에서, 본 발명의 방법은 철분 킬레이터, 예를 들어, 데페리프론(deferiprone), 데페록사민(deferoxamine) 및 데페라시록스(deferasirox)를 대상체에게 투여하는 단계를 더 포함한다.

[0175] 본 발명은 하기의 상세한 설명 및 도면에 의해 더욱 예시된다.

도면의 간단한 설명

[0176] 도 1은, iRNA 작용제 AD-59743을 1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg의 단일 용량으로 투여한 후, 야생형 마우스의 간에서 TMPRSS6 mRNA의 상대적인 수준을 도시한 그래프이다.

도 2는, iRNA 작용제 AD-59743을 1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg의 단일 용량으로 투여한 후, 야생형 마우스의 간에서 헵시딘 mRNA의 상대적인 수준을 도시한 그래프이다.

도 3a 내지 도 3e는, AD-60940을 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg 또는 3.0 mg/kg으로 1회 피하 주사하거나 PBS 단독을 1회 피하 주사(대조군)한 후, 다양한 시점들에서 C57BL/6 마우스에서 간 TMPRSS6 mRNA(도 3a), 간 헵시딘 mRNA(도 3b), 혈청 헵시딘(도 3c), 총 혈청 철분(도 3d) 및 트랜스페린 포화%(도 3e)의 수준을 도시한 것이다. 각각의 데이터 지점은, 3마리의 마우스로부터의 평균값을 나타낸다. 평균의 표준 편차는 오차 막대로 표시된다. 도 3f는 투여 후 11일째에, AD-60940의 용량의 함수로서 간 상대적인 TMPRSS6 mRNA 농도를 도시한 것이다. 각각의 데이터 지점은 각각의 용량 수준에서 관찰된 TMPRSS6 mRNA 농도의 최대 저해를 나타낸다. 데이터는 Hi11 방정식으로 맞춰졌다.

도 4a는 21일째에 마우스를 안락사시킨 후, 3주 동안 1주일마다 하나의 용량으로 구성된 투여 계획을 도시한 도식이다. 도 4b는 도 4a에 도시된 계획에 따라 0.3 mg/kg 또는 1.0 mg/kg 용량의 AD-60940 또는 PBS(대조군)를 피하 주사한 C57BL/6 마우스에서 간 TMPRSS6 mRNA, 간 헵시딘 mRNA 및 트랜스페린 포화%의 수준을 도시한 그래프이다. 각각의 막대는 3마리의 마우스로부터의 평균값을 나타낸다. 평균의 표준 편차는 오차 막대로 표시된다. 도 4c는 AD-60940 용량의 함수로서 간 상대적인 TMPRSS6 mRNA 농도를 도시한 것이다. 데이터는 Hi11 방정식으로 맞춰졌다.

도 5a 내지 도 5d는 혈청내 헵시딘 농도와 상대적인 TMPRSS6 mRNA 수준 간의 관계(도 5a), 트랜스페린 포화%와 상대적인 TMPRSS6 mRNA 수준 간의 관계(도 5b), 혈청내 헵시딘 농도와 상대적인 헵시딘 mRNA 수준 간의 관계(도 5c), 및 트랜스페린 포화%와 혈청내 헵시딘 농도 간의 관계(도 5d)를 도시한 그래프이다.

도 6은 3 mg/kg의 1회 피하 용량의 지시된 iRNA 작용제 또는 PBS(대조군)를 투여한 후, C57BL/6 마우스의 간에서 TMPRSS6 mRNA의 상대적인 수준을 도시한 그래프이다. 막대는 3마리의 마우스로부터의 평균값을 나타내며, 오차 막대는 평균의 표준 편차를 나타낸다.

도 7은 0.3 mg/kg 또는 1.0 mg/kg의 피하 용량의 지시된 iRNA 작용제, 또는 PBS(대조군)를 3주 동안 1주일에 1회 투여한 후, C57BL/6 마우스의 간에서 TMPRSS6 mRNA의 상대적인 수준을 도시한 그래프이다. 막대는 3마리의 마우스로부터의 평균값을 나타내며, 오차 막대는 평균의 표준 편차를 나타낸다.

도 8은 호모 사피엔스 TMPRSS6의 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:1)을 도시한 것이다.

도 9는 무스 무스쿨루스(*Mus musculus*) TMPRSS6의 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:2)을 도시한 것이다.

도 10은 라투스 노르베기쿠스(*Rattus norvegicus*) TMPRSS6의 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:3)을 도시한 것이다.

다.

도 11은 마카카 물라타(*Macaca mulatta*) TMPRSS6의 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:4)을 도시한 것이다.

도 12는 마카카 물라타 TMPRSS6의 뉴클레오타이드 서열(SEQ ID NO:5)을 도시한 것이다.

도 13은 SEQ ID NO:1의 역보체(reverse complement)(SEQ ID NO:6)를 도시한 것이다.

도 14는 SEQ ID NO:2의 역보체(SEQ ID NO:7)를 도시한 것이다.

도 15는 SEQ ID NO:3의 역보체(SEQ ID NO:8)를 도시한 것이다.

도 16은 SEQ ID NO:4의 역보체(SEQ ID NO:9)를 도시한 것이다.

도 17은 SEQ ID NO:5의 역보체(SEQ ID NO:10)를 도시한 것이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0177] 본 발명은 TMPRSS6을 표적하는 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 iRNA 작용제를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 발명은 또한, TMPRSS6 발현을 억제하고, TMPRSS6과 연관된 장애, 예를 들어, β -탈라세미아 또는 혈색소침착증을 치료하기 위한 본 발명의 조성물의 사용 방법을 제공한다.

[0178] TMPRSS6은 HAMP 유전자 발현의 억제제로서 철분 항상성에 중요한 역할을 한다. HAMP 유전자는 철분 항상성의 중추적인 조절자인 간 호르몬 헵시딘을 인코딩한다. 헵시딘은 주로 흡수성 장세포, 간세포 및 대식세포 상에 위치하는 철 외부수송체 단백질 페로포틴(iron exporter protein ferroportin; FPN1)에 결합한다. 페로포틴의 세포 외 도메인에 결합하는 헵시딘은 페로포틴의 내재화 및 분해를 초래하며, 따라서, 장으로부터 식이성 철분의 흡수 및 대식세포 및 간세포로부터 철분의 방출을 감소시킨다. HAMP 유전자 발현은 BMP-공동수용체 헤모쥬벨린(HJV)에 의해 매개되는 골 형성 단백질(BMP)/디카펜타플레릭에 대한 마더의 선(Sons of Mothers Against Decapentaplegic; SMAD)-의존적 신호 전달 캐스케이드를 통해 철분에 반응하여 자극될 수 있다. HAMP 조절에서 TMPRSS6의 주 역할은 BMP-매개의 HAMP 상향조절의 억제에 있다. TMPRSS6은, BMP-매개의 HAMP 상향조절에 필수적인 BMP 공동수용체 HJV를 절단함으로써 BMP-매개의 HAMP 상향조절을 억제하며; 따라서, BMP 신호전달, 핵으로의 SMAD 전파, 및 HAMP 전사적 활성화를 방지한다.

[0179] 몇몇 인간 및 마우스 연구에서, HAMP 조절 및 철분 항상성에 있어서 TMPRSS6의 역할이 확인되었다(문헌[Du et al. Science 2008, Vol. 320, ppl088-1092; Folgueras et al. Blood 2008, Vol. 112, pp2539-45]). 연구들은, TMPRSS6에서 기능 돌연변이의 소실은 헵시딘 발현을 상향조절하여, 철분 불응성 철 결핍성 빈혈(iron refractory iron deficiency anemia; IRIDA)로 지칭되는 선천성 철 결핍성 빈혈(inherited iron deficiency anemia)을 유발할 수 있음을 보여주었으며(문헌[Finberg. Seminars in Hematology 2009, Vol. 46, pp378-86]), 이 빈혈은 상승된 헵시딘 수준, 저색소성 소구성 빈혈(hypochromic microcytic anemia), 낮은 평균 적혈구 용적(mean corpuscular volume; MCV), 낮은 트랜스페린 포화도, 경구 철분의 불량한 흡수, 및 비경구 철분에 대한 불완전한 반응을 특징으로 한다. 그러나, HAMP의 양성 조절자(예를 들어, BMP1, BMP4 및 HFE)에서 기능 돌연변이의 소실은 헵시딘 발현을 하향조절하고 철분 과부하 장애를 유발하는 것으로 나타났다(문헌[Milet et al. Am J Hum Gen 2007, Vol. 81, pp799-807; Finberg et al. Blood 2011, Vol. 117, pp4590-9]). 총괄해서 유전성 혈색소침착증(HH)으로 지칭되는 원발성 철분 과부하 장애, 대규모의 비효과적인 조혈을 특징으로 하는 빈혈, 및 중간성 β -탈라세미아(TI)와 같은 철분 과부하(이차성 혈색소침착증)에서, 헵시딘 수준은 상승된 혈청내 철분 농도에도 불구하고 낮으며, 철분은 저장된다. 중간성 β -탈라세미아의 마우스 모델은, TMPRSS6 발현의 소실이 헵시딘 수준을 상승시킴을 보여주었다(문헌[Finberg 2010 Oral Presentation: "TMPRSS6, an inhibitor of Hepatic BMP/Smad Signaling, is required for Heparin Suppression and Iron Loading in a Mouse Model of β -Thalassemia." American Society of Hematology Annual Meeting 2010, Abstract No.: 164]).

[0180] 본 발명은 TMPRSS6 유전자의 발현을 조정하는 iRNA 작용제, 조성물 및 방법을 기술한다. 소정의 실시형태에서, TMPRSS6의 발현은 TMPRSS6-특이적 iRNA 작용제를 사용함으로써 감소 또는 억제되며, 이로써, HAMP 발현은 증가하며 혈청 철분 수준은 낮아진다. 따라서, 본 발명에서 특정화되는 iRNA 조성물을 사용한 TMPRSS6 유전자 발현 또는 활성의 억제는 대상체에서 철분 수준을 감소시키는 것을 목적으로 하는 치료법에 대한 유용한 접근법일 수 있다. 이러한 억제는 철분 과부하와 연관된 장애, 예컨대 혈색소침착증 또는 탈라세미아, 예를 들어 β -탈라세미아(예를 들어, 중증성 β -탈라세미아 및 중간성 β -탈라세미아)의 치료에 유용할 수 있다.

[0181] I. 정의

- [0182] 본 발명이 더 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어들을 우선 정의한다. 또한, 매개변수의 값 또는 값의 범위가 인용될 때마다, 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다는 것을 유의하여야 한다.
- [0183] 관사 "a" 및 "an"은 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나를 초과하는(예컨대, 적어도 하나)을 지칭하는 것으로 본원에서 사용된다. 예를 들자면, "하나의 구성요소"는 하나의 구성요소 또는 하나를 초과하는 구성요소, 예컨대, 복수개의 구성요소들을 의미한다.
- [0184] "포함하는"이라는 용어는 "포함하지만 여기에 한정되지 않는"이라는 어구를 의미하는 것으로 본원에서 사용되고, 상기 어구와 교환가능하게 사용된다.
- [0185] "또는"이라는 용어는 문맥이 명백히 달리 표시하지 않으면, "및/또는"이라는 용어를 의미하는 것으로 본원에서 사용되고, 상기 용어와 교환가능하게 사용된다.
- [0186] 본원에서 사용된 바와 같이, "TMPRSS6"은 II형 원형질막 세린 프로테아제(TTSP) 유전자 또는 단백질을 지칭한다. TMPRSS6은 또한, 마트립타제-2, IRIDA(철분 불응성 철 결핍성 빈혈), 막관통 프로테아제 세린 6, II형 막관통 세린 프로테아제 6 및 막-결합 모자의 세린 프로테아제 마트립타제-2로도 공지되어 있다. TMPRSS6은 길이가 약 899개 아미노산인 세린 프로테아제 II형 막관통 단백질이다. TMPRSS6은 복수의 도메인, 예를 들어, 짧은 엔도 도메인, 막관통 도메인, 성게 정자 단백질/엔테로펩티다제 도메인/아그린(SEA) 도메인, 2개의 보체 인자/성게 배아 성장 인자/BMP 도메인(CUB), 3개의 LDL-R 부류 a 도메인(LDLa), 및 보존된 His-Asp-Ser 트리아드(HDS)를 가진 트립신-유사 세린 프로테아제 도메인을 함유한다. 용어 "TMPRSS6"은, 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이 예를 들어, 진뱅크 등록 번호 GI:56682967에서 확인될 수 있는 인간 TMPRSS6; 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이 예를 들어, 진뱅크 등록 번호 GI:125656151에서 확인될 수 있는 마우스 TMPRSS6; 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이 예를 들어, 진뱅크 등록 번호 GI:194474097에서 확인될 수 있는 래트 TMPRSS6; 아미노산 및 뉴클레오타이드 서열이 예를 들어, 진뱅크 등록 번호 XM_001085203.2(GI:297260989) 및 XM_001085319.1 (GI:109094061)에서 확인될 수 있는 레서스(rhesus) TMPRSS6을 포함한다. AGT mRNA 서열의 부가적인 예는 공개적으로 입수가능한 데이터베이스, 예를 들어, GenBank, UniProt, OMIM 및 *Macaca* 게놈 프로젝트 웹사이트를 이용하여 쉽게 입수가능하다.
- [0187] 본원에서 사용된 바와 같이, 용어 "TMPRSS6"은 또한, TMPRSS6 유전자의 자연적으로 존재하는 DNA 서열 변이, 예컨대 TMPRSS6 유전자에서의 단일 뉴클레오타이드 다형성(SNP)을 지칭한다. 예시적인 SNP는 www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP에서 입수가능한 dsNP 데이터베이스에서 확인할 수 있다.
- [0188] 본원에 사용된 바와 같이, "표적 서열"은 일차 전사 산물의 RNA 가공의 산물인 mRNA를 포함하여, TMPRSS6 유전자의 전사 동안에 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오타이드 서열의 연속 부분을 지칭한다.
- [0189] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "서열을 포함하는 가닥"은 표준 뉴클레오타이드 명명법을 이용하여 지칭되는 서열에 의해 기술되는 뉴클레오타이드의 사슬을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0190] "G", "C", "A" 및 "U" 각각은 염기로서 구아닌, 시토신, 아데닌 및 우라실 각각을 포함하는 뉴클레오타이드를 일반적으로 나타낸다. "T" 및 "dT"는 본원에 교환가능하게 사용되며, 핵염기가 티민, 예를 들어, 데옥시리보티민, 2'-데옥시티미딘 또는 티미딘인 데옥시리보뉴클레오타이드를 말한다. 그러나, "리보뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드" 또는 "데옥시리보뉴클레오타이드"라는 용어는 하기에 더욱 상술된 바와 같이 변형 뉴클레오타이드, 또는 대리 대체 모이어티(surrogate replacement moiety)를 지칭할 수도 있다는 것을 알 것이다. 당업자는 구아닌, 시토신, 아데닌 및 우라실이 이러한 대체 모이어티를 보유하는 뉴클레오타이드를 포함하여, 올리고뉴클레오타이드의 염기 짝지음 성질을 실질적으로 변경시키지 않으면서 기타 모이어티에 의해 대체될 수 있다는 것을 충분히 인지한다. 예를 들어, 제한 없이, 염기로서 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드는 아데닌, 시토신 또는 우라실을 포함하는 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이룰 수 있다. 따라서, 우라실, 구아닌 또는 아데닌을 포함하는 뉴클레오타이드는 본 발명의 뉴클레오타이드 서열 내에서, 예를 들어, 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드에 의해 대체될 수 있다. 이러한 대체 모이어티를 포함하는 서열은 본 발명의 실시형태이다.
- [0191] 본원에 교환가능하게 사용된 바와 같이, 용어 "iRNA", "RNAi 작용제", "iRNA 작용제", "RNA 간섭제"는 상기 용어가 본원에 정의된 바와 같은 RNA를 포함하고, RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC) 경로를 통하여 RNA 전사물의 표적된 절단을 매개하는 작용제를 지칭한다. iRNA는 RNA 간섭(RNAi)으로 알려진 공정을 통해 mRNA의 서열-특이적 분해를 지시한다. iRNA는 세포, 예컨대, 포유류 대상체와 같은 대상체 내의 세포 내에서 TMPRSS6의 발현을 조절, 예컨대, 억제한다.

- [0192] 일 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA 서열, 예컨대, TMPRSS6 표적 mRNA 서열과 상호작용하여, 표적 RNA의 절단을 지시하는 단일 가닥 RNA를 포함한다. 이론에 구속되지 않으면서, 세포로 도입된 긴 이중 가닥 RNA는 다이스(Dicer)(문헌[Sharp 등, (2001) Genes Dev. 15:485])로 알려진 III형 엔도뉴클레아제에 의하여 siRNA로 분해되는 것으로 여겨진다. 리보뉴클레아제-III-유사 효소인 다이스는 dsRNA를 특징적인 두 개 염기 3' 오버행들을 갖는 19 내지 23 염기쌍 단 간섭 RNA로 처리한다(문헌[Bernstein 등, (2001) Nature 409:363]). 이후, siRNA는 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)로 포함되어, 여기서 하나 이상의 헬리카제는 siRNA 듀플렉스를 풀어내어, 상보적 안티센스 가닥이 표적 인식을 안내할 수 있도록 한다(문헌[Nykanen 등, (2001) Cell 107:309]). 적절한 표적 mRNA에 결합시에, RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제는 표적을 절단시켜 침묵화를 유도한다(문헌[Elbashir 등, (2001) Genes Dev.15:188]). 따라서, 일 양태에 있어서, 본 발명은 세포 내에 발생되고, 표적 유전자, 즉, TMPRSS6 유전자의 침묵화를 일으키는 RISC 복합체의 형성을 촉진하는 단일 가닥 RNA(siRNA)에 관한 것이다. 따라서, "siRNA"라는 용어는 상술한 RNAi를 지칭하는 것으로 본원에서 사용되기도 한다.
- [0193] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 표적 mRNA를 억제하기 위해 세포 또는 유기체로 도입되는 단일 가닥 siRNA일 수 있다. 단일 가닥 RNAi 작용제는 RISC 엔도뉴클레아제 아르곤노트(argonaute) 2에 결합하며, 이는 이어서 표적 mRNA를 절단한다. 단일 가닥 siRNA는 일반적으로 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드이며, 화학적으로 변형된다. 단일 가닥 siRNA의 설계 및 시험은 미국 특허 제8,101,348호 및 문헌[Lima 등, (2012) Cell 150: 883-894]에 기술되어 있으며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다. 본원에 기술된 안티센스 뉴클레오타이드 서열 중 임의의 것은 본원에 기술된 바와 같은, 또는 문헌[Lima 등, (2012) Cell 150:883-894]에 기술된 방법에 의해 화학적으로 변형된 바와 같은 단일 가닥 siRNA로서 사용될 수 있다.
- [0194] 보다 다른 실시형태에서, 본 발명은 TMPRSS6을 표적으로 하는 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자를 제공한다. "단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자"는 표적 mRNA(즉, TMPRSS6) 내의 서열에 상보적이다. 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 mRNA에 염기쌍을 형성하고, 번역 기구를 물리적으로 방해함으로써 화학양론적 방식으로 번역을 억제할 수 있으며, 문헌[Dias, N. 등, (2002) Mol Cancer Ther 1:347-355]를 참조한다. 다른 예로, 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 표적에 혼성화하고, RNaseH 절단을 통해 표적을 절단함으로써, 표적 mRNA를 억제한다. 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 길이가 약 10개 내지 약 30개의 뉴클레오타이드일 수 있으며, 표적 서열에 상보적인 서열을 가진다. 예를 들어, 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 본원에 기술된 안티센스 뉴클레오타이드 서열 중 하나, 예를 들어, 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 제공되는 서열로부터 적어도 약 10개, 11개, 12개, 13개, 14개, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개 또는 그 이상의 연속 뉴클레오타이드인 서열을 포함할 수 있거나, 본원에 기술된 표적 부위들 중 임의의 부위에 결합할 수 있다. 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오타이드 분자는 변형된 RNA, DNA 또는 이들의 조합을 포함할 수 있다.
- [0195] 다른 실시형태에서, 본 발명의 조성물, 용도 및 방법에 이용되는 "iRNA"는 이중-가닥 RNA이며, 본원에서 "이중 가닥 RNAi 작용제", "이중-가닥 RNA(dsRNA) 분자", "dsRNA 작용제", 또는 "dsRNA"로 지칭된다. "dsRNA"라는 용어는 표적 RNA, 즉, TMPRSS6 유전자에 대하여 "센스" 및 "안티센스" 배향성을 갖는 것으로 지칭된, 2 개의 반평행(anti-parallel) 및 실질적으로 상보적인 핵산 가닥들을 포함하는 듀플렉스 구조를 갖는, 리보핵산 분자들의 복합체를 지칭한다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 이중-가닥 RNA(dsRNA)는 본원에서 RNA 간섭 또는 RNAi로 지칭되는 전사 후 유전자-침묵화 메커니즘을 통해 표적 RNA, 예컨대, mRNA의 분해를 촉발한다.
- [0196] 일반적으로, dsRNA 분자의 각각의 가닥의 뉴클레오타이드의 대부분은 리보뉴클레오타이드이나, 본원에 상세히 기술된 바와 같이, 각각의 또는 둘 모두의 가닥은 또한 하나 이상의 비-리보뉴클레오타이드, 예를 들어, 테옥시 리보뉴클레오타이드 및/또는 변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 게다가, 본 명세서에 사용된 바와 같이, "RNAi 작용제"는 화학적 변형을 갖는 리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며; RNAi 작용제는 다수의 뉴클레오타이드에서 실질적인 변형을 포함할 수 있다. 이러한 변형은 본원에 개시된 또는 업계에 공지된 모든 유형의 변형을 포함할 수 있다. siRNA 형 분자에 사용되는 바와 같은 임의의 이러한 변형은 명세서 및 특허청구범위의 목적을 위한 "RNAi 작용제"에 포함된다.
- [0197] 듀플렉스 구조를 형성하는 두 개의 가닥들은 하나의 더 큰 RNA 분자의 상이한 부분들일 수 있거나, 개별 RNA 분자들일 수 있다. 두 개 가닥들이 하나의 더 큰 분자의 부분이며, 따라서 듀플렉스 구조를 형성하는 하나의 가닥의 3'-말단 및 각각의 나머지 가닥의 5'-말단 사이의 뉴클레오타이드들의 비-단속(non-interrupted) 사슬에 의하여 연결되는 경우에, 연결 RNA 사슬은 "헤어핀 루프"로 지칭된다. 두 개 가닥들이 듀플렉스 구조를 형성하는 하나의 가닥의 3'-말단 및 각각의 나머지 가닥의 5'-말단 사이의 뉴클레오타이드들의 비-단속 사슬이 아닌 수단에 의하여 공유적으로 연결되는 경우에, 연결 구조는 "링커"로 지칭된다. RNA 가닥들은 동일하거나 상이한 수의

뉴클레오타이드들을 가질 수 있다. 염기 쌍들의 최대수는 dsRNA의 최단 가닥에 존재하는 뉴클레오타이드들의 수에서 듀플렉스에 존재하는 임의의 오버행들을 차감한 숫자이다. 듀플렉스 구조에 더하여, RNAi 작용제는 하나 이상의 뉴클레오타이드 오버행들을 포함할 수 있다.

[0198] 일 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA 서열, 예를 들어, TMPRSS6 표적 mRNA 서열과 상호작용하여 표적 RNA의 절단을 지시하는 24 내지 30개의 뉴클레오타이드의 dsRNA이다. 이론에 구속되지 않으면서, 세포 내로 도입된 긴 이중 가닥 RNA는 다이스로 공지된 II형I 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해된다(문헌[Sharp 등 (2001) Genes Dev. 15:485]). 리보뉴클레아제-III-유사 효소인 다이스는 dsRNA를 특징적인 2개 염기 3' 오버행을 갖는 19 내지 23개 염기 쌍의 단 간섭 RNA로 처리한다(문헌[Bernstein, 등, (2001) Nature 409:363]). 이어서, siRNA는 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC) 내로 혼입되고, 여기서 하나 이상의 헬리카제가 siRNA 듀플렉스를 풀어내어, 상보적 안티센스 가닥이 표적 인식을 안내할 수 있게 한다(문헌[Nykanen, 등, (2001) Cell 107:309]). 적절한 표적 mRNA에 결합 시, RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제는 표적을 절단하여 침묵화를 유도한다(문헌[Elbashir, 등, (2001) Genes Dev. 15:188]). 본원에 사용된 "뉴클레오타이드 오버행"은 RNAi 작용제의 한 가닥의 3'-말단이 나머지 가닥의 5'-말단을 벗어나 연장하거나 그 반대인 경우 RNAi 작용제의 듀플렉스 구조로부터 돌출하는 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드들을 지칭한다. "평활성" 또는 "평활성 말단인"은 이중 가닥 RNAi 작용제의 말단에서 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드들이 없다, 즉, 뉴클레오타이드 오버행이 없다는 것을 의미한다. "평활성 말단인" RNAi 작용제는 그의 전체 길이에 걸쳐 이중 가닥인, 즉, 분자의 어느 하나의 말단에 뉴클레오타이드 오버행이 없는 dsRNA이다. 본 발명의 RNAi 작용제는 하나의 말단에 뉴클레오타이드 오버행이 있거나(즉, 하나의 오버행 및 하나의 평활성 말단이 있는 작용제) 둘 모두의 말단에 뉴클레오타이드 오버행이 있는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0199] "안티센스 가닥"이라는 용어는 표적 서열(예를 들어, 인간 TMPRSS6 mRNA)에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 이중 가닥 RNAi 작용제의 가닥을 지칭한다. 본원에 사용된 "트랜스티레틴(transthyretin)을 암호화하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역"이라는 용어는 TMPRSS6 mRNA 서열의 부분에 대하여 실질적으로 상보적인 안티센스 가닥 상의 영역을 지칭한다. 상보성의 영역이 표적 서열에 대하여 완전히 상보적이지 않은 경우에, 미스매치들은 말단 영역에서 가장 허용되며, 존재한다면, 말단 영역 또는 영역들 내, 예를 들어, 5' 및/또는 3' 말단의 6, 5, 4, 3 또는 2개의 뉴클레오타이드 내에 있다.

[0200] 본원에 사용된 "센스 가닥"이라는 용어는 안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 dsRNA의 가닥을 지칭한다.

[0201] 본원에 사용된 "절단 영역"이라는 용어는 절단 부위에 바로 연속하여 위치한 영역을 지칭한다. 절단 부위는 절단이 발생하는 표적상의 부위이다. 일부 실시형태에서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 하나의 말단에, 그리고 그에 바로 연속한 3개의 염기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 하나의 말단에, 그리고 그에 바로 연속한 2개의 염기를 포함한다. 일부 실시형태에서, 절단 부위는 구체적으로 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드 10 및 11에 의해 결합된 부위에 존재하며, 절단 영역은 뉴클레오타이드 11, 12 및 13을 포함한다.

[0202] 본원에 사용되고 달리 지시되지 않으면, 제2 뉴클레오타이드 서열과 관련하여 제1 뉴클레오타이드 서열을 기술하는데 이용될 때 "상보적"이라는 용어는 당업자가 이해하는 바와 같이, 특정 조건 하에서 혼성화하여 상기 제2 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드와 듀플렉스 구조를 형성하는 상기 제1 뉴클레오타이드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오타이드 또는 폴리뉴클레오타이드의 능력을 지칭한다. 이러한 조건은 예를 들어, 가혹한 조건일 수 있는데, 가혹한 조건은 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 50°C 또는 70°C에서 12 내지 16 시간 이후에 세척을 포함할 수 있다. 유기체 내에서 직면할 수 있는 생리학적으로 적절한 조건과 같은 기타 조건이 적용될 수 있다. 예를 들어, 상보적 서열은 핵산의 관련 기능, 예를 들어, RNAi가 진행되게 하기에 충분하다. 당업자는 혼성화된 뉴클레오타이드의 최종적인 적용에 따른 2개 서열들의 상보성의 시험에 대해 가장 적절한 조건들의 세트를 결정할 수 있을 것이다.

[0203] 서열은 제1 및 제2 뉴클레오타이드 서열의 전체 길이에 걸쳐 제1 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드와 제2 뉴클레오타이드 서열의 뉴클레오타이드의 염기-짝지움이 존재하는 경우, 서로에 대하여 "완전 상보적(fully complementary)"일 수 있다. 그러나, 제1 서열이 본원에서 제2 서열에 대하여 "실질적으로 상보적"으로 지칭되는 경우, 상기 두 서열들은 완전 상보적일 수 있거나, 이들의 최종적인 적용에 대하여 가장 적절한 조건하에서 혼성화할 수 있는 능력을 유지하면서, 혼성화 시 하나 이상이지만, 일반적으로 4, 3 또는 2개 이하의 미스매치된 염기쌍들을 형성할 수 있다. 그러나, 2개의 올리고뉴클레오타이드들이 혼성화 시에 하나 이상의 단일 가닥

오버행들을 형성하도록 설계되는 경우, 그러한 오버행들은 상보성의 결정에 대하여 미스매치로 간주되지 않는다. 예를 들어, 길이가 21개의 뉴클레오타이드들인 하나의 올리고뉴클레오타이드 및 길이가 23개의 뉴클레오타이드들인 다른 올리고뉴클레오타이드를 포함하는 dsRNA는 길이가 더 긴 올리고뉴클레오타이드가 길이가 더 짧은 올리고뉴클레오타이드에 대하여 완전 상보적인 21 개의 뉴클레오타이드들의 서열을 포함하는 경우, 본원에 기술된 목적을 위해 "완전 상보적"으로도 지칭될 수 있다.

[0204] 본원에 사용된 "상보적" 서열은 그들이 혼성화할 수 있는 능력에 대하여 상기 요구사항이 충족되는 한, 비-천연 및 변형 뉴클레오타이드로부터 형성된 비-왓슨-크릭 염기쌍들 및/또는 염기쌍들을 포함하기도 하거나 완전히 이들로부터 형성될 수도 있다. 이러한 비-왓슨-크릭 염기쌍들은 G:U 위블(Wobble) 또는 후그스타인(Hoogsteen) 염기 짝지음을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0205] 본원에서 "상보적", "완전 상보적" 및 "실질적으로 상보적"이라는 용어들은 이들의 이용의 맥락에서 이해될 수 있는 바와 같이, dsRNA의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 사이, 또는 dsRNA의 안티센스 가닥 및 표적 서열 사이의 염기 매칭에 대하여 이용될 수 있다.

[0206] 본원에 사용된, 전령 RNA(mRNA)의 "적어도 일부에 실질적으로 상보적"인 폴리뉴클레오타이드는 5' UTR, 전사해독틀(open reading frame; ORF) 또는 3' UTR을 포함하여, 관심 대상의 mRNA(예컨대, TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA)의 연속 부분에 실질적으로 상보적인 폴리뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, 서열이 TMPRSS6을 인코딩하는 mRNA의 비-단속 부분에 실질적으로 상보적이라면 폴리뉴클레오타이드는 TMPRSS6 mRNA의 적어도 일부분에 상보적이다.

[0207] 본원에 사용된 "억제하는"이라는 용어는 "감소하는", "침묵화하는", "하향조절하는", "저해하는" 및 기타 유사 용어와 교환가능하게 이용되며, 임의의 수준의 억제를 포함한다.

[0208] 본원에 사용된 "TMPRSS6의 발현을 억제하는"이라는 어구는 임의의 TMPRSS6 유전자(예컨대, 마우스 TMPRSS6 유전자, 생쥐 TMPRSS6 유전자, 원숭이 TMPRSS6 유전자 또는 인간 TMPRSS6 유전자와 같은) 뿐만 아니라 TMPRSS6 유전자의 변이체(예를 들어, 자연 발생 변이체) 또는 돌연변이체의 발현의 억제를 포함한다. 따라서, TMPRSS6 유전자는 유전자 조작된 세포, 세포의 그룹 또는 유기체의 맥락에서 야생형 TMPRSS6 유전자, 돌연변이 TMPRSS6 유전자 또는 형질전환 TMPRSS6 유전자일 수 있다.

[0209] "TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는"은 TMPRSS6 유전자의 임의의 수준의 억제, 예컨대, 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99%의 억제와 같은, TMPRSS6 유전자의 발현의 적어도 부분적 저해를 포함한다.

[0210] TMPRSS6 유전자의 발현은 TMPRSS6 유전자 발현과 연관된 임의의 변수의 수준, 예컨대, 조직 또는 혈청 내 TMPRSS6 mRNA 수준 또는 TMPRSS6 단백질 수준, 또는 헵시딘 mRNA 수준, 헵시딘 단백질 수준 또는 철 수준에 기초하여 측정될 수 있다. 억제는 대조군 수준과 비교하여 이러한 변수들 중 하나 이상의 절대 또는 상대 수준의 감소에 의하여 측정될 수 있다. 대조군 수준은 업계에 활용되는 임의의 형태의 대조군 수준, 예컨대, 투여전(pre-dose) 기저 수준, 또는 (예컨대, 완충제 유일 대조군 또는 비활성화 작용제 대조군과 같은) 대조군으로 처리 또는 미처리된 유사한 대상체, 세포 또는 표본으로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0211] 본원에 사용된, "세포를 이중 가닥 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계"라는 어구는 임의의 가능한 수단에 의하여 세포를 접촉시키는 단계를 포함한다. 세포를 이중 가닥 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계는 세포를 시험관 내에서 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계 또는 세포를 생체 내에서 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 상기 접촉시키는 단계는 직접적으로 또는 간접적으로 수행될 수 있다. 따라서, 예를 들어, RNAi 작용제는 방법을 수행하는 개인에 의하여 세포와 물리적으로 접촉하게 될 수 있거나, 대안적으로, RNAi 작용제를 이후에 세포와 접촉시키도록 하거나 접촉시키도록 유도하는 상황에 둘 수 있다.

[0212] 세포를 시험관 내에서 접촉시키는 단계는 예를 들어, 세포를 RNAi 작용제와 함께 배양함으로써 수행될 수 있다. 세포를 생체 내에서 접촉시키는 단계는 예를 들어, RNAi 작용제를 세포가 위치하는 조직으로 또는 조직 근처에 주입하거나, RNAi 작용제가 이후에 접촉될 세포가 위치하는 조직에 도달하도록 RNAi 작용제를 다른 구역, 예컨대, 혈류 또는 피하 공간으로 주입함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는 RNAi 작용제를 관심 대상인 부위, 예컨대, 간으로 향하게 하는 리간드, 예컨대, GalNAc3 리간드를 함유하고/함유하거나 결합될 수 있

다. 시험관 내 및 생체 내 접촉 방법의 조합도 가능하다. 본 발명의 방법과 관련하여, 세포는 RNAi 작용제와 시험관 내에서 접촉되고, 이후 대상체로 이식될 수도 있다.

- [0213] 본원에 사용된 "환자" 또는 "대상체"는 인간 또는 비인간 동물, 바람직하게는 포유류, 예를 들어, 인간 또는 원숭이를 포함하고자 한다. 가장 바람직하게는, 대상체 또는 환자는 인간이다.
- [0214] 본원에서 사용된 바와 같이, "TMPRSS6과 연관된 장애"는 TMPRSS6의 발현을 억제함으로써 치료 또는 예방될 수 있는 임의의 장애, 또는 완화될 수 있는 이의 증상을 포함하고자 한다. 일부 실시형태에서, TMPRSS6과 연관된 장애는 또한, 철분 과부하, 상승된 철분 수준을 특징으로 하는 질환 또는 철분 이상조절(dysregulation)과 연관 있다. 철분 과부하는 예를 들어, 유전성 질환, 식이에 의한 상승된 철분 섭취, 또는 과량의 철분의 정맥내 투여를 포함한 과량의 비경구 투여된 철분 및 수혈에 의한 철분 과부하에 의해 유발될 수 있다.
- [0215] TMPRSS6과 연관된 장애로는, 유전성 혈색소침착증, 특발성 혈색소침착증, 원발성 혈색소침착증, 이차성 혈색소침착증, 중증 소아 혈색소침착증, 신생아 혈색소침착증, 철적모구 빈혈(sideroblastic anemia), 용혈성 빈혈, 적혈구형성이상 빈혈(dyserythropoietic anemia), 겸상적혈구 빈혈(sickle-cell anemia), 이상혈색소증(hemoglobinopathy), 탈라세미아(예를 들어, β -탈라세미아 및 α -탈라세미아), 만성 간 질병, 만발성 피부 포르피린증(porphyrria cutanea tarda), 적혈구조혈성 포르피린증, 무트랜스페린증(atransferrinemia), 유전성 타이로신혈증, 뇌간신 증후군(cerebrohepatorenal syndrome), 특발성 폐 헤모시테린침착증(idiopathic pulmonary hemosiderosis), 신장 헤모시테린침착증(renal hemosiderosis)을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다.
- [0216] TMPRSS6과 연관된 장애로는, 과량의 철분의 경구 투여, 수혈에 의한 철분 과부하 및 과량의 철분의 정맥내 주사와 연관된 장애를 포함한다.
- [0217] TMPRSS6과 연관된 장애는 또한, 철분 과부하와 연관있거나 이로 인해 유발될 수 있는 증상을 가진 장애를 포함한다. 이러한 증상으로는, 간 질병(간경변, 암), 심장마비 또는 심부전, 당뇨병, 골관절염, 골다공증, 대사 증후군, 갑상선기능 저하증, 생식기능 저하증 및 일부 사례에서 조기사망의 증가된 위험도를 포함한다. 일 실시형태에서, TMPRSS6과 연관된 장애로는, 철분 과부하 및/또는 철분 이상조절과 연관된 신경퇴행성 장애, 예컨대 알츠하이머병, 파킨슨병, 헌팅턴 질병, 프리드리히 운동실조, 간질 및 다발성 경화증을 포함한다. TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA, 예를 들어, 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 기술된 iRNA의 투여는 이들 증상 중 하나 이상을 치료할 수 있거나, 증가된 철분 수준에 의해 악화되는 질병 또는 장애의 발병 또는 진행을 예방할 수 있다.
- [0218] 일 실시형태에서, TMPRSS6과 연관된 장애는 β -탈라세미아이다. β -탈라세미아는 베타-글로빈 사슬의 합성에서 유전적 결핍을 특징으로 하는 유전성 장애의 군 중 임의의 하나이다. 동형 접합성 상태에서, 베타 탈라세미아("중증성 탈라세미아")는 중증의 수혈-의존적 빈혈을 유발한다. 이형 접합성 상태에서, 베타 탈라세미아 소질(beta thalassemia trait)("경증성 탈라세미아")은 경증 내지 중증성 소구성 빈혈을 유발한다.
- [0219] "중간성 탈라세미아"는 대상체에서 질병의 임상적 중증도가 경증성 β -탈라세미아의 경증 증상과 중증성 β -탈라세미아 사이에 있는 β -탈라세미아이다. 진단은, 정기적인 수혈을 요구하지 않으면서, 진단 시 적어도 6 g/dL 내지 7 g/dL의 만족할만한 헤모글로빈(Hb) 수준을 유지하는 환자를 기초로 하는 임상 진단이다.
- [0220] 일 실시형태에서, β -탈라세미아는 중증성 탈라세미아이다. 또 다른 실시형태에서, β -탈라세미아는 중간성 탈라세미아이다.
- [0221] 본원에 사용된 바와 같이, "치료적 유효량"은 TMPRSS6 관련 질병을 치료하기 위해 환자에게 투여되는 경우, (예컨대, 기존 질병 또는 질병의 하나 이상의 증상을 감소시키거나, 완화시키거나, 유지시킴으로써) 질병의 치료를 가져오는데 충분한, RNAi 작용제의 양을 포함하고자 한다. "치료적 유효량"은 있다고 하면 RNAi 작용제, 작용제의 투여 방법, 질병 및 그 중증도 및 치료대상인 환자의 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전적 구성, TMPRSS6 발현에 의해 매개되는 병적 과정의 단계, 선행 또는 동반 치료의 유형, 및 기타 개인적 특성에 따라 달라질 수 있다.
- [0222] 본원에 사용된 바와 같이, "예방적 유효량"은 아직 TMPRSS6-관련 질병의 증상을 경험하거나 나타내지 않지만 질병에 걸리기 쉬운 수 있는 대상체에게 투여되는 경우, 질병 또는 질병의 하나 이상의 증상을 방지하거나 완화시키는데 충분한, RNAi 작용제의 양을 포함하고자 한다. 질병의 완화는 질병의 과정을 지연시키거나 이후-발전하는 질병의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. "예방적 유효량"은 있다고 하면 RNAi 작용제, 작용제의 투여 방법, 질병의 위험도 및 치료대상인 환자의 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전적 구성, 선행 또는 동반 치료의

유형, 및 기타 개인적 특성에 따라 달라질 수 있다.

[0223] "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"은 임의의 치료에 적용될 수 있는 합당한 이득/위험율에서 일부 원하는 국소 또는 전신 효과를 생성하는 RNAi 작용제의 양도 포함한다. 본 발명의 방법에 채용되는 RNAi 작용제는 그러한 치료에 적용될 수 있는 합당한 이득/위험율을 생성하는데 충분한 양으로 투여될 수 있다.

[0224] 본원에 사용된 바와 같이, "표본"이라는 용어는 대상체 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직뿐만 아니라 대상체로부터 분리된 유사한 유체, 세포 또는 조직의 집합을 포함한다. 생물학적 유체의 예는 혈액, 혈청 및 장막 유체(serosal fluid), 혈장, 뇌척수액, 안 유체(ocular fluid), 림프, 소변, 타액 등을 포함한다. 조직 표본은 조직, 기관 또는 국소화된 영역으로부터 나온 표본을 포함할 수 있다. 예를 들어, 표본은 특정 기관, 기관의 부분 또는 그러한 기관 내의 유체 또는 세포로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 표본은 간(예컨대, 전 간(whole liver) 또는 간의 특정 분절 또는 예컨대, 간세포와 같이 간 내의 특정 유형의 세포)으로부터 유래될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, "대상체로부터 유래된 표본"은 대상체로부터 뽑은 혈액 또는 혈장을 지칭한다. 추가의 실시형태에서, "대상체로부터 유래된 표본"은 대상체로부터 유래된 간 조직(또는 그의 하위 구성요소)을 지칭한다.

[0225] II. 본 발명의 iRNA

[0226] 세포, 예를 들어, 대상체, 예를 들어, TMPRSS6 관련 병증, 예를 들어, β -탈라세미아 (예를 들어, 중증성 β -탈라세미아 및 중간성 β -탈라세미아) 또는 혈액소침착증을 가진 인간과 같은 포유류 내의 세포에서 TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는 개선된 이중 가닥 RNAi 작용제 및 이러한 이중 가닥 RNAi 작용제의 용도가 본 명세서에 기술된다.

[0227] 따라서, 본 발명은 생체 내에서 표적 유전자(즉, TMPRSS6 유전자)의 발현을 억제할 수 있는 화학적 변형을 가진 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 발명의 소정의 양태에서, 본 발명의 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드들은 변형된다. 본 발명의 다른 실시형태에서, 본 발명의 iRNA의 모든 뉴클레오타이드들은 변형된다. "실질적으로 모든 뉴클레오타이드들이 변형된" 본 발명의 iRNA는 완전히는 아니지만 대체로 변형된 것이며, 5개, 4개, 3개, 2개 또는 1개 이하의 비변형된 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0228] RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함한다. RNAi 작용제의 각각의 가닥은 길이가 12개 내지 30개의 뉴클레오타이드들 범위일 수 있다. 예를 들어, 각각의 가닥은 길이가 14개 내지 30개의 뉴클레오타이드들, 길이가 17개 내지 30개의 뉴클레오타이드들, 길이가 19개 내지 30개의 뉴클레오타이드들, 길이가 25개 내지 30개의 뉴클레오타이드들, 길이가 27개 내지 30개의 뉴클레오타이드들, 길이가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드들, 길이가 17개 내지 21개의 뉴클레오타이드들, 길이가 17개 내지 19개의 뉴클레오타이드들, 길이가 19개 내지 25개의 뉴클레오타이드들, 길이가 19개 내지 23개의 뉴클레오타이드들, 길이가 19개 내지 21개의 뉴클레오타이드들, 길이가 21개 내지 25개의 뉴클레오타이드들, 또는 길이가 21개 내지 23개의 뉴클레오타이드들일 수 있다.

[0229] 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 전형적으로 본원에서 "RNAi 작용제"로도 지칭되는 듀플렉스 이중 가닥 RNA("dsRNA")를 형성한다. RNAi 작용제의 듀플렉스 영역은 길이가 12개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍일 수 있다. 예를 들어, 듀플렉스 영역은 길이가 14개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 27개 내지 30개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17개 내지 21개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17개 내지 19개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19개 내지 25개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19개 내지 21개의 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 21개 내지 25개의 뉴클레오타이드 쌍, 또는 길이가 21개 내지 23개의 뉴클레오타이드 쌍일 수 있다. 다른 예에서, 듀플렉스 영역은 길이가 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 26개 및 27개의 뉴클레오타이드들로부터 선택된다.

[0230] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 하나 또는 둘 모두의 가닥의 3' 말단, 5' 말단 또는 양 말단에 하나 이상의 오버행 영역 및/또는 캡핑기(capping group)를 포함할 수 있다. 오버행은 길이가 1개 내지 6개의 뉴클레오타이드들, 예를 들어 길이가 2개 내지 6개의 뉴클레오타이드들, 길이가 1개 내지 5개의 뉴클레오타이드들, 길이가 2개 내지 5개의 뉴클레오타이드들, 길이가 1개 내지 4개의 뉴클레오타이드들, 길이가 2개 내지 4개의 뉴클레오타이드들, 길이가 1개 내지 3개의 뉴클레오타이드들, 길이가 2개 내지 3개의 뉴클레오타이드들, 또는 길이가 1개 내지 2개의 뉴클레오타이드들일 수 있다. 오버행은 하나의 가닥이 다른 가닥보다 더 길어서 생기는 것이거나, 또는 동일한 길이의 가닥 2개가 서로 엮갈려서 생기는 것일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 미스매치를 형성할 수 있거나, 또는 오버행은 표적된 유전자 서열과 상보적일 수 있거나 또는 다른 서열일 수 있다. 제1 가닥과 제2

가닥은 또한, 예를 들어, 추가의 염기에 의해 결합되어 헤어핀을 형성할 수 있거나, 또는 다른 비-염기 링커에 의해 결합될 수 있다.

[0231] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 오버행 영역 내의 뉴클레오타이드는 각각 독립적으로, 2'-당 변형, 예를 들어, 2'-F, 2'-O-메틸, 티미딘(T), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸우리딘(Teo), 2'-O-메톡시에틸아데노신(Aeo), 2'-O-메톡시에틸-5-메틸시티딘(m5Ceo), 및 이들의 임의의 조합을 포함하나 이들에 한정되지 않는 변형 또는 비변형된 뉴클레오타이드일 수 있다. 예를 들어, TT는 어느 한 가닥 상의 어느 한 말단에 대한 오버행 서열일 수 있다. 오버행은 표적 mRNA와 미스매치를 형성할 수 있거나, 또는 오버행은 표적된 유전자 서열과 상보적일 수 있거나 또는 다른 서열일 수 있다.

[0232] RNAi 작용제의 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 양 가닥 모두에 있는 5' 또는 3' 오버행은 인산화될 수 있다. 일부 실시형태들에서, 오버행 영역(들)은 2개의 뉴클레오타이드 사이에 포스포로티오에이트를 가지는 2개의 뉴클레오타이드를 포함하며, 2개의 뉴클레오타이드는 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 일 실시형태에서, 오버행은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 양 가닥의 3'-말단에 존재한다. 일 실시형태에서, 이러한 3'-오버행은 안티센스 가닥에 존재한다. 일 실시형태에서, 이러한 3'-오버행은 센스 가닥에 존재한다.

[0233] RNAi 작용제는, RNAi의 전체적인 안정성에 영향을 미치지 않으면서 이의 간섭 활성을 강화할 수 있는 단일 오버행만을 포함할 수 있다. 예를 들어, 단일-가닥 오버행은 센스 가닥의 3'-말단 말단에 위치하거나, 또는 다르게는, 안티센스 가닥의 3'-말단 말단에 위치할 수 있다. RNAi는 또한, 안티센스 가닥의 5'-말단 (또는 센스 가닥의 3'-말단)에 위치하거나 또는 그 반대로 위치하는 평활성 말단을 가질 수 있다. 일반적으로, RNAi의 안티센스 가닥은 3'-말단에 뉴클레오타이드 오버행을 가지며, 5'-말단이 평활성이다. 이론에 구속되지 않으면서, 안티센스 가닥의 5'-말단 및 안티센스 가닥의 3'-말단 오버행에서의 비대칭적 평활성 말단은 길잡이 가닥이 RISC 공정으로 로딩되는 것을 돕는다.

[0234] 본 발명에서 특정화되는 임의의 핵산은 참조로서 본 명세서에 포함된 문헌["Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. *et al.* (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA]에 기술된 것과 같은 당해 기술분야에서 잘 구축된 방법에 의해 합성 및/또는 변형될 수 있다. 변형은 예를 들어, 말단 변형, 예를 들어, 5'-말단 변형(인산화, 콘주게이션, 역결합(inverted linkage)) 또는 3'-말단 변형(콘주게이션, DNA 뉴클레오타이드, 역결합 등); 염기 변형, 예를 들어, 안정화 염기, 탈안정화 염기, 또는 파트너의 확장된 레퍼토리를 가진 염기쌍을 가진 염기로의 대체, 염기의 제거(무염기성 뉴클레오타이드) 또는 콘주게이트된 염기; (예를 들어, 2'-위치 또는 4'-위치에서) 당 변형 또는 당의 대체; 및/또는 포스포로디에스테르 결합의 변형 또는 대체를 포함하는 골격 변형을 포함한다. 본원에 기술된 실시형태에 유용한 iRNA 화합물의 구체적인 예로는, 변형된 골격을 함유하는 RNA 또는 천연 뉴클레오사이드간(internucleoside) 결합을 함유하지 않는 RNA를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 변형된 골격을 가진 RNA는 특히, 골격에 인 원자를 가지지 않는 것들을 포함한다. 본 명세서의 목적을 위해, 그리고 종종 당업계에서 참조되는 바와 같이, 이들의 뉴클레오사이드간 골격에 인 원자를 가지지 않는 변형된 RNA는 또한, 올리고뉴클레오사이드인 것으로 간주될 수 있다. 일부 실시형태에서, 변형된 iRNA는 이의 뉴클레오사이드간 골격에 인 원자를 가질 것이다.

[0235] 변형된 RNA 골격은 예를 들어, 포스포로티오에이트, 키랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'-알킬렌 포스포네이트 및 키랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 포스포네이트 및 다른 알킬 포스포네이트, 포스포네이트, 3'-아미노 포스포라미데이트 및 아미노알킬포스포라미데이트를 포함하는 포스포라미데이트, 티오노포스포라미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르, 및 정상적인 3'-5' 결합, 이들의 2'-5'-결합된 유사체를 가진 보라노포스페이트, 및 역극성(inverted polarity)을 가진 것들을 포함하며, 여기서, 뉴클레오사이드 유닛의 연속한 쌍들은 3'-5' 내지 5'-3'으로 결합되거나 또는 2'-5' 내지 5'-2'으로 결합된다. 다양한 염, 혼합형 염 및 유리산 형태들 또한, 포함된다.

[0236] 상기 인-함유 결합의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 미국 특허 제3,687,808호; 제4,469,863호; 제4,476,301호; 제5,023,243호; 제5,177,195호; 제5,188,897호; 제5,264,423호; 제5,276,019호; 제5,278,302호; 제5,286,717호; 제5,321,131호; 제5,399,676호; 제5,405,939호; 제5,453,496호; 제5,455,233호; 제5,466,677호; 제5,476,925호; 제5,519,126호; 제5,536,821호; 제5,541,316호; 제5,550,111호; 제5,563,253호; 제5,571,799호; 제5,587,361호; 제5,625,050호; 제6,028,188호; 제6,124,445호; 제6,160,109호; 제6,169,170호; 제6,172,209호; 제6,239,265호; 제6,277,603호; 제6,326,199호; 제6,346,614호; 제6,444,423호; 제6,531,590호; 제6,534,639호; 제6,608,035호; 제6,683,167호; 제6,858,715호; 제6,867,294호; 제6,878,805호; 제7,015,315호; 제7,041,816호; 제7,273,933호; 제7,321,029호;

및 미국 특허 제RE39464호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0237] 인 원자를 포함하지 않는 변형된 RNA 골격은, 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 결합에 의해 형성되는 골격, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오사이드간 결합에 의해 형성되는 골격, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로사이클릭 뉴클레오사이드간 결합에 의해 형성되는 골격을 가진다. 이들은 모르폴리노 결합(뉴클레오사이드의 당 부위로부터 부분적으로 형성됨)을 가진 것; 실록산 골격; 설펜아이드, 설펜사이드 및 설펜 골격; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 알켄-함유 골격; 설펜아이드 골격; 메틸렌아미노 및 메틸렌하이드라지노 골격; 설펜아이드 및 설펜아미드 골격; 아미드 골격; 및 혼합된 N, O, S 및 CH₂ 성분 부분을 가진 것들을 포함한다.

[0238] 상기 올리고뉴클레오사이드의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 미국 특허 제5,034,506호; 제5,166,315호; 제5,185,444호; 제5,214,134호; 제5,216,141호; 제5,235,033호; 제5,64,562호; 제5,264,564호; 제5,405,938호; 제5,434,257호; 제5,466,677호; 제5,470,967호; 제5,489,677호; 제5,541,307호; 제5,561,225호; 제5,596,086호; 제5,602,240호; 제5,608,046호; 제5,610,289호; 제5,618,704호; 제5,623,070호; 제5,663,312호; 제5,633,360호; 제5,677,437호; 및 제5,677,439호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0239] 다른 실시형태에서, 적합한 RNA 모방체는 iRNA에 사용될 것이 고려되며, 이 모방체에서 당 및 뉴클레오사이드간 결합 둘 다, 즉, 뉴클레오타이드 유닛의 골격이 신규 기로 대체되어 있다. 염기 유닛은 적절한 핵산 표적 화합물과 혼성화를 위해 유지된다. 우수한 혼성화 특성을 가진 것으로 나타난 RNA 모방체인 하나의 이러한 올리고머 화합물은 펩타이드 핵산(PNA)으로 지칭된다. PNA 화합물에서, RNA의 당 골격은 아미드-함유 골격, 특히 아미노에틸글리신 골격으로 대체된다. 뉴클레오타이드는 유지되며, 골격의 아미드 부위의 아자 질소 원자에 직접 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 미국 특허 제5,539,082호; 제5,714,331호; 및 제5,719,262호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다. 본 발명의 iRNA에 사용되기에 적합한 부가적인 PNA 화합물은 예를 들어, 문헌(Nielsen 등, *Science*, 1991, 254, 1497-1500)에 기술되어 있다.

[0240] 본 발명에서 특정화되는 일부 실시형태는 포스포로티오에이트 골격을 가진 RNA 및 헤테로원자 골격을 가진 올리고뉴클레오사이드를 포함하며, 특히 상기 참조된 미국 특허 제5,489,677호의 --CH₂--NH--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--O--CH₂--[메틸렌 (메틸아미노) 또는 MMI 골격으로 공지되어 있음], --CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂-- 및 --N(CH₃)--CH₂--CH₂--[여기서, 천연 포스포로디에스테르 골격은 --O--P--O--CH₂--로 표시됨], 및 상기 참조된 미국 특허 제5,602,240호의 아미드 골격을 포함한다. 일부 실시형태에서, 본원에서 특정화되는 RNA는 상기 참조된 미국 특허 제5,034,506호의 모르폴리노 골격 구조를 가진다.

[0241] 변형된 RNA는 또한, 하나 이상의 치환된 당 모이어티를 함유할 수 있다. 본원에서 특정화되는 iRNA, 예를 들어, dsRNA는 2'-위치에, OH; F; O-알킬, S-알킬 또는 N-알킬; O-알케닐, S-알케닐 또는 N-알케닐; O-알키닐, S-알키닐 또는 N-알키닐; 또는 O-알킬-O-알킬 중 하나를 포함할 수 있으며, 여기서, 알킬, 알케닐 및 알키닐은 치환 또는 비치환된 C₁ 내지 C₁₀ 알킬 또는 C₂ 내지 C₁₀ 알케닐 및 알키닐일 수 있다. 예시적인 적합한 변형은 O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nOCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nONH₂ 및 O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂를 포함하며, 여기서, n 및 m은 1 내지 약 10이다. 다른 실시형태에서, dsRNA는 2' 위치에, C₁ 내지 C₁₀ 저급 알킬, 치환된 저급 알킬, 알카릴, 아랄킬, O-알카릴 또는 O-아랄킬, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, 헤테로사이클로알킬, 헤테로사이클로알카릴, 아미노알킬아미노, 폴리알킬아미노, 치환된 실릴, RNA 절단 기, 리포터 기, 인터칼레이터(intercalator), iRNA의 약물동력학적 특성을 개선하기 위한 기, 또는 iRNA의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기, 및 유사한 특성을 가진 다른 치환기들 중 하나를 포함한다. 일부 실시형태에서, 변형은 2'-메톡시에톡시(2'-O--CH₂CH₂OCH₃, 또한, 2'-O-(2-메톡시에틸) 또는 2'-MOE로도 공지되어 있음)(문헌[Martin 등, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504]), 즉, 알콕시-알콕시 기를 포함한다. 또 다른 예시적인 변형은 2'-디메틸아미노옥시에톡시, 즉, 본원 하기의 실시예에서 기술된 바와 같이 2'-DMAOE로도 공지되어 있는 O(CH₂)₂ON(CH₃)₂ 기, 및 2'-디메틸아미노에톡시에톡시(당업계에 2'-O-디메틸아미노에톡시에틸 또는 2'-DMAEOE로도 공지되어 있음), 즉, 2'-O--CH₂--O--CH₂--N(CH₂)₂이다.

- [0242] 다른 변형은 2'-메톡시(2'-OCH₃), 2'-아미노프로폭시(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) 및 2'-플루오로(2'-F)를 포함한다. 유사한 변형은 iRNA의 RNA 상의 다른 위치, 특히, 3' 말단 뉴클레오타이드 상의 당의 3' 위치 또는 2'-5' 결합된 dsRNA, 및 5' 말단 뉴클레오타이드의 5' 위치에서 이루어질 수 있다. iRNA는 펜토피라노실 당 대신에 사이클로부틸 모이어티와 같은 당 모방체를 가질 수 있다. 이러한 변형된 당 구조의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 미국 특허 제4,981,957호; 제5,118,800호; 제5,319,080호; 제5,359,044호; 제5,393,878호; 제5,446,137호; 제5,466,786호; 제5,514,785호; 제5,519,134호; 제5,567,811호; 제5,576,427호; 제5,591,722호; 제5,597,909호; 제5,610,300호; 제5,627,053호; 제5,639,873호; 제5,646,265호; 제5,658,873호; 제5,670,633호; 및 제5,700,920호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 중 소정의 특허는 본 출원과 공동 소유된다. 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.
- [0243] iRNA는 또한, 뉴클레오타이드(당업계에서 종종 단순히 "염기"로서 지칭됨) 변형 또는 치환을 포함할 수 있다. 본원에서 사용된 바와 같이, "비변형된" 또는 "천연" 뉴클레오타이드는 퓨린 염기인 아데닌(A) 및 구아닌(G), 및 피리미딘 염기인 티민(T), 시토신(C) 및 우라실(U)을 포함한다. 변형된 뉴클레오타이드는 다른 합성 뉴클레오타이드 및 천연 뉴클레오타이드, 예컨대 데옥시-티민(dT), 5-메틸시토신(5-me-C), 5-하이드록시메틸 시토신, 크산틴, 하이포크산틴, 2-아미노아데닌, 아데닌과 구아닌의 6-메틸 유도체 및 다른 알킬 유도체, 아데닌과 구아닌의 2-프로필 유도체 및 다른 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로피닐 우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-하이드록실 아날 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 다른 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-테아자구아닌 및 7-다아자아데닌 및 3-테아자구아닌 및 3-테아자아데닌을 포함한다. 추가적인 뉴클레오타이드는 미국 특허 제3,687,808호에 개시된 것들; 문헌[Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008]에 개시된 것들; 문헌[The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990]에 개시된 것들, 문헌[Englisch 등, Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613]에 개시된 것들 및 문헌[Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993]에 개시된 것들을 포함한다. 이들 중 소정의 뉴클레오타이드는 특히, 본 발명에서 특정화되는 올리고머 화합물의 결합 친화성을 증가시키는 데 유용하다. 이들로는, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로피닐우라실 및 5-프로피닐시토신을 포함하여 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘, 및 N-2 치환된 퓨린, N-6 치환된 퓨린 및 O-6 치환된 퓨린을 포함한다. 5-메틸시토신 치환은 핵산 듀플렉스 안정성을 0.6°C 내지 1.2°C에 의해 증가시키는 것으로 나타났으며(문헌[Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278]), 보다 더 특히 2'-O-메톡시에틸 당 변형과 조합 시, 예시적인 염기 치환이다.
- [0244] 소정의 상기 언급된 변형된 뉴클레오타이드뿐만 아니라 다른 변형된 뉴클레오타이드의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 상기 언급된 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; 제5,459,255호; 제5,484,908호; 제5,502,177호; 제5,525,711호; 제5,552,540호; 제5,587,469호; 제5,594,121, 5,596,091호; 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 제7,495,088호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.
- [0245] iRNA의 RNA는 또한, 하나 이상의 잠금(locked) 핵산(LNA)을 포함하도록 변형될 수 있다. 잠금 핵산은 변형된 리보스 모이어티를 가진 뉴클레오타이드이며, 여기서, 리보스 모이어티는 2' 탄소와 4' 탄소를 연결하는 여유분의 가교를 포함한다. 이러한 구조는 3'-엔도 구조 형태에서 리보스를 효과적으로 "잠근다(lock)". 잠금 핵산의 siRNA에의 첨가는 혈청에서 siRNA 안정성을 증가시키며, 표적외(off-target) 효과를 감소시키는 것으로 나타났다(문헌[Elmen, J. 등, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. 등, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. 등, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193]).
- [0246] 잠금 핵산 뉴클레오타이드의 제조를 교시하고 있는 대표적인 미국 특허로는, 하기의 미국 특허 제6,268,490호; 제6,670,461호; 제6,794,499호; 제6,998,484호; 제7,053,207호; 제7,084,125호; 및 제7,399,845호를 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.
- [0247] RNA 분자의 말단에 대한 잠재적으로 안정화시키는 변형은 N-(아세틸아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-

C6-NHAc), N-(카프로일-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-C6), N-(아세틸-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-NHAc), 티미딘-2'-O-테옥시티미딘(에테르), N-(아미노카프로일)-4-하이드록시프롤리놀(Hyp-C6-아미노), 2-도코사노일-우리딘-3'-포스페이트, 역염기(inverted base) dT(idT) 등을 포함할 수 있다. 이러한 변형의 개시내용은 PCT 공개 제WO 2011/005861호에서 확인할 수 있다.

[0248] A. 본 발명의 모티프를 포함하는 변형된 iRNA

[0249] 본 발명의 소정의 양태에서, 본 발명의 이중 가닥 RNAi 작용제는 2011년 11월 18일에 출원된 미국 가출원 제 61/561,710호 또는 2012년 11월 16일에 출원된 제PCT/US2012/065691호에 개시되어 있으며, 이들 각각의 전체 내용은 참조로서 본원에 포함된다.

[0250] 본원과 가출원 제61/561,710호에서 도시된 바와 같이, 우수한 결과는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 RNAi 작용제의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에, 특히 절단 부위나 절단 부위 근처에서 도입함으로써 수득될 수 있다. 일부 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 달리 표시되지 않으면 완전히 변형될 수 있다. 이들 모티프의 도입은, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 변형 패턴이 존재하는 경우 이 패턴을 방해한다. RNAi 작용제는 선택적으로, 예를 들어 센스 가닥 상의 GalNAc 유도 제 리간드와 콘주게이트될 수 있다. 생성되는 RNAi 작용제는 우수한 유전자 침묵화 활성을 제시한다.

[0251] 보다 상세하게는, 놀랍게도, 이중 가닥 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이, RNAi 작용제의 적어도 하나의 가닥의 절단 부위 또는 그 근처에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프를 가지도록 변형되는 경우, RNAi 작용제의 유전자 침묵화 활성은 우수하게 증진되었음이 발견되었다.

[0252] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 길이가 19개의 뉴클레오타이드들인 이중 말단 블런트머(bluntmer)이며, 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 7, 8, 9에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다.

[0253] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 길이가 20개의 뉴클레오타이드들인 이중 말단 블런트머이며, 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 8, 9, 10에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다.

[0254] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 길이가 21개의 뉴클레오타이드들인 이중 말단 블런트머이며, 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 9, 10, 11에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다. 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함한다.

[0255] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 21개의 뉴클레오타이드 센스 가닥 및 23개의 뉴클레오타이드 안티센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 9, 10, 11에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-F 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함하며; 안티센스 가닥은 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함하고, RNAi 작용제의 하나의 말단은 평활성인 한편, 다른 말단은 2개의 뉴클레오타이드 오버행을 포함한다. 바람직하게는, 2개의 뉴클레오타이드 오버행은 안티센스 가닥의 3'-말단에 존재한다. 2개의 뉴클레오타이드 오버행이 안티센스 가닥의 3'-말단에 존재하는 경우, 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합이 존재할 수 있으며, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이고, 제3 뉴클레오타이드는 오버행 뉴클레오타이드 바로 옆의 쌍을 이루는 뉴클레오타이드이다. 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 추가로 센스 가닥의 5'-말단 및 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 모두에서 3개의 말단 뉴클레오타이드들 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 가진다. 일 실시형태에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형된 뉴클레오타이드이다. 일 실시형태에서, 각 잔기는 예를 들어, 교대 모티프에서, 독립적으로 2'-O-메틸 또는 3'-플루오로로 변형된다. 선택적으로, RNAi 작용제는 리간드(바람직하게는 GalNAc₃)를 더 포함한다.

[0256] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, RNAi 작용제는 적어도 25개, 최대 29개의 뉴클레오타이드인 길이를 갖는 제1 가닥, 및 5' 말단으로부터 위치 11, 12, 13에서 3개의 연속적인 뉴클레오타이드 상에 3개의 2'-O-메틸 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 갖는 최대 30개의 뉴클레오타이드인 길이를 갖는 제2 가닥을 포함하고; 제1 가닥의 3' 말단 및 제2 가닥의 5' 말단은 평활성 말단을 형성하며, 제2 가닥은

그의 3' 말단에서 제1 가닥보다 1 내지 4개의 뉴클레오타이드가 더 길고, 듀플렉스 영역은 길이가 적어도 25개의 뉴클레오타이드들인 영역이며, 제2 가닥은 제2 가닥 길이의 적어도 19개의 뉴클레오타이드를 따라, RNAi 작용제가 포유류 세포 내로 도입되는 경우 표적 유전자 발현을 감소시키기 위해 충분히 표적 mRNA에 상보적이고, RNAi 작용제의 다이스 절단은 제2 가닥의 3' 말단을 포함하는 siRNA를 야기하여, 포유류에서 표적 유전자의 발현을 감소시킨다. 선택적으로, RNAi 작용제는 리간드를 더 포함한다.

[0257] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함하며, 모티프 중 하나는 센스 가닥의 절단 부위에 존재한다.

[0258] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함할 수 있으며, 모티프 중 하나는 안티센스 가닥의 절단 부위에서 또는 그 근처에서 발생하기도 한다.

[0259] 길이가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드들인 듀플렉스 영역을 가지는 RNAi 작용제에서, 안티센스 가닥의 절단 부위는 전형적으로 5'-말단으로부터 대략 위치 10, 11 및 12 주변에 존재한다. 따라서, 3개의 동일한 변형이 있는 모티프는 안티센스 가닥의 위치 9, 10, 11; 위치 10, 11, 12; 위치 11, 12, 13; 위치 12, 13, 14; 또는 위치 13, 14, 15에 존재할 수 있으며, 계수는 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드로부터 시작하거나, 또는 계수는 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터의 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드로부터 시작한다. 안티센스 가닥의 절단 부위는 또한, 5'-말단으로부터 RNAi의 듀플렉스 영역의 길이에 따라 변할 수도 있다.

[0260] RNAi 작용제의 센스 가닥은, 가닥의 절단 부위에서, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함할 수 있으며; 안티센스 가닥은 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 가질 수 있다. 센스 가닥과 안티센스 가닥이 dsRNA 듀플렉스를 형성하는 경우, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 또한, 센스 가닥 상의 3개의 뉴클레오타이드가 있는 하나의 모티프와 안티센스 가닥 상의 3개의 뉴클레오타이드가 있는 하나의 모티프가 적어도 하나의 뉴클레오타이드 중첩을 가지도록, 즉, 센스 가닥의 모티프의 3개의 뉴클레오타이드 중 적어도 하나가 안티센스 가닥의 모티프의 3개의 뉴클레오타이드 중 적어도 하나와 염기쌍을 형성하도록, 정렬될 수 있다. 다르게는, 적어도 2개의 뉴클레오타이드가 중첩될 수 있거나, 3개 모두의 뉴클레오타이드가 중첩될 수 있다.

[0261] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 하나 초과해서 포함할 수 있다. 제1 모티프는 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재할 수 있으며, 다른 모티프는 윙(wing) 변형일 수 있다. 본원에서, "윙 변형"이라는 용어는 동일한 가닥의 절단 부위의 또는 그 근처의 모티프로부터 분리된, 가닥의 다른 부위에 존재하는 모티프를 지칭한다. 윙 변형은 제1 모티프에 연속해 있거나, 또는 적어도 하나 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 모티프가 서로 바로 연속해 있는 경우 모티프의 화학적 성질은 서로 구별되며, 모티프가 하나 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리되어 있는 경우 모티프의 화학적 성질은 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 2개 이상의 윙 변형이 존재할 수 있다. 예를 들어, 2개의 윙 변형이 존재하는 경우, 각각의 윙 변형은 절단 부위에 또는 그 근처에 존재하는 제1 모티프에 대해 하나의 말단에서 또는 선도 모티프의 어느 하나의 측에 존재할 수 있다.

[0262] 센스 가닥처럼, RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 1개 초과하여 포함할 수 있으며, 모티프 중 적어도 하나는 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 이러한 안티센스 가닥은 또한, 센스 가닥에 존재할 수 있는 윙 변형과 유사한 정렬의 윙 변형을 하나 이상 포함할 수도 있다.

[0263] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 윙 변형은 전형적으로, 가닥의 3'-말단, 5'-말단 또는 양 말단 모두에서 1개 또는 2개의 제1 말단 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0264] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상의 윙 변형은 전형적으로, 가닥의 3'-말단, 5'-말단 또는 양 말단 모두에서 듀플렉스 영역 내에 1개 또는 2개의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드를 포함하지 않는다.

[0265] RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 적어도 하나의 윙 변형을 포함하는 경우, 윙 변형은 듀플렉스 영역의 동일한 말단에 존재할 수 있으며, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드의 중첩을 가진다.

[0266] RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 적어도 2개의 윙 변형을 포함하는 경우, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은, 하나의 가닥의 2개의 변형이 각각 듀플렉스 영역의 하나의 말단에 존재하고, 1개, 2개 또는 3개의

뉴클레오타이드의 중첩을 갖거나; 하나의 가닥의 2개의 변형이 각각 듀플렉스 영역의 다른 말단에 존재하고, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드 중첩을 갖거나; 하나의 가닥의 2개의 변형이 선도 모티프의 각각의 측에 존재하고, 듀플렉스 영역에서 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오타이드의 중첩을 갖도록 정렬될 수도 있다.

[0267] 일 실시형태에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형될 수 있다. 각각의 뉴클레오타이드는, 비-연결 포스페이트 산소 중 하나 또는 둘다 및/또는 연결 포스페이트 산소 중 하나 이상의 변경; 리보스 당의 구성성분, 예를 들어, 리보스 당의 2'-히드록실의 변경; 포스페이트 모이어티의 "테포스포" 링커로의 대체; 자연 발생 염기의 변형 또는 대체; 및 리보스-포스페이트 골격의 대체 또는 변형을 하나 이상 포함할 수 있는 동일하거나 상이한 변형으로 변형될 수 있다.

[0268] 핵산이 하위단위의 중합체이기 때문에, 다수의 변형들은 핵산에서 반복되는 위치에서 발생하며, 이는 예를 들어, 염기, 또는 포스페이트 모이어티, 또는 포스페이트 모이어티의 비-연결 O의 변형이다. 일부 경우에, 변형은 핵산의 모든 대상 위치에서 발생할 것이지만, 많은 경우 그렇지 않을 것이다. 예를 들어, 변형은 3' 또는 5' 말단 위치에서만 발생할 수 있으며, 가닥의 말단 영역, 예를 들어 말단 뉴클레오타이드 상의 위치, 또는 마지막 2개, 3개, 4개, 5개 또는 10개의 뉴클레오타이드에서 발생할 수 있다. 변형은 이중 가닥 영역, 단일 가닥 영역, 또는 두 영역 모두에서 발생할 수 있다. 변형은 RNA의 이중 가닥 영역에서만 발생할 수 있거나, 또는 RNA의 단일 가닥 영역에서만 발생할 수 있다. 예를 들어, 비-연결 O 위치에서의 포스포로티오에이트 변형은 한쪽 말단 또는 양 말단 모두에서만 발생할 수 있거나, 가닥의 말단 영역, 예를 들어, 말단 뉴클레오타이드 상의 위치 또는 마지막 2개, 3개, 4개, 5개 또는 10개의 뉴클레오타이드에서만 발생할 수 있거나, 또는 이중 가닥 및 단일 가닥 영역, 특히 말단에서 발생할 수 있다. 5' 말단 또는 말단들은 인산화될 수 있다.

[0269] 예를 들어, 안정성을 증대시키거나, 오버행에 특정 염기들을 포함하거나, 또는 단일 가닥 오버행, 예를 들어 5' 또는 3' 오버행 또는 둘 다에 변형된 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 대리물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 오버행에 퓨린 뉴클레오타이드를 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시형태에서, 3' 또는 5' 오버행 내의 염기들 중 모두 또는 일부는 변형되는데, 예를 들어, 본원에서 기술된 변형으로 변형될 수 있다. 변형으로는, 예를 들어, 업계에 공지된 변형을 가지는 리보스 당의 2' 위치에서의 변형의 사용, 예를 들어, 핵염기의 리보당 대신에 변형된 데옥시리보뉴클레오타이드, 2'-데옥시-2'-플루오로(2'-F) 또는 2'-O-메틸의 사용, 및 포스페이트 기에서의 변형, 예를 들어, 포스포로티오에이트 변형이 포함될 수 있다. 오버행은 표적 서열과 상동성일 필요가 없다.

[0270] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 잔기는 독립적으로 LNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-데옥시, 2'-히드록실 또는 2'-플루오로로 변형된다. 가닥은 변형을 하나 초과해서 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 잔기는 각각 독립적으로 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형된다.

[0271] 적어도 2개의 상이한 변형은 전형적으로, 센스 가닥 및 안티센스 가닥에 존재한다. 그들 2개의 변형들은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형, 또는 그외의 변형일 수 있다.

[0272] 일 실시형태에서, N_a 및/또는 N_b 는 교대 패턴의 변형을 포함한다. 본원에서 사용되는, "교대 모티프"라는 용어는 하나 이상의 변형을 갖는 모티프를 지칭하며, 각각의 변형은 하나의 가닥의 교대 뉴클레오타이드에서 발생한다. 교대 뉴클레오타이드는 뉴클레오타이드 2개마다 하나, 또는 뉴클레오타이드 3개마다 하나 또는 유사한 패턴을 지칭할 수 있다. 예를 들어, A, B 및 C가 각각 뉴클레오타이드에 대한 하나의 유형의 변형을 나타내는 경우, 교대 모티프는 "ABABABABAB...", "ABBAABBAABB...", "AABAABAABAAB...", "AAABAAABAAAB...", "AAABBBAAABBB..." 또는 "ABCABCABCABC..." 동일 수 있다.

[0273] 교대 모티프에 포함되는 변형의 유형은 동일하거나 또는 상이할 수 있다. 예를 들어, A, B, C, D가 각각 뉴클레오타이드 상에서 하나의 유형의 변형을 나타내는 경우, 교대 패턴, 즉 2개의 뉴클레오타이드마다의 변형은 동일할 수 있지만, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥은 각각 교대 모티프 예컨대 "ABABAB...", "ACACAC...", "BDBDBD..." 또는 "CDCDCD..." 등에서의 몇몇 가능한 변형으로부터 선택될 수 있다.

[0274] 일 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는, 안티센스 가닥에서의 교대 모티프에 대한 변형 패턴에 비하여 이동된, 센스 가닥에서의 교대 모티프에 대한 변형 패턴을 포함한다. 이 이동은, 센스 가닥의 뉴클레오타이드의 변형된 기가 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드의 상이하게 변형된 기에 상응하도록 이루어질 수 있으며, 그 반대이기도 하다. 예를 들어, 센스 가닥이 dsRNA 듀플렉스에서 안티센스 가닥과 쌍을 이루는 경우, 센스 가닥의 교대 모티프는 가닥의 5'-3'으로부터 "ABABAB"로 시작할 수 있으며, 안티센스 가닥의 교대 모티프는 듀플렉스 영역의

가닥의 5'-3'으로부터 "BABABA"로부터 시작할 수 있다. 또 다른 예로서, 센스 가닥의 교대 모티프는 가닥의 5'-3'으로부터 "AABBAABB"로 시작할 수 있으며, 안티센스 가닥의 교대 모티프는 듀플렉스 영역 내의 가닥의 5'-3'으로부터 "BBAABBAA"로 시작하여, 센스 가닥과 안티센스 가닥 간의 변형 패턴의 완전하거나 또는 부분적인 이동이 존재하도록 할 수 있다.

[0275] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 처음의 안티센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형 및 2'-F 변형의 교대 모티프의 패턴에 대해 이동을 갖는 처음의 센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형 및 2'-F 변형의 교대 모티프의 패턴을 포함하며, 즉, 센스 가닥 상의 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥 상의 2'-F 변형된 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이루며 또 그 반대이기도 하다. 센스 가닥의 위치 1은 2'-F 변형으로 시작할 수 있으며, 안티센스 가닥의 위치 1은 2'-O-메틸 변형으로 시작할 수 있다.

[0276] 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프 하나 이상을 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 도입하는 것은, 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에 존재하는 초기 변형 패턴을 방해한다. 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프 하나 이상을 센스 및/또는 안티센스 가닥에 도입함으로써 센스 및/또는 안티센스 가닥의 변형 패턴을 방해하는 것은 놀랍게도, 표적 유전자에 대한 유전자 침묵화 활성을 증대시킨다.

[0277] 일 실시형태에서, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프가 임의의 가닥에 도입되는 경우, 모티프의 옆에 있는 뉴클레오타이드의 변형은 모티프의 변형과 상이한 변형이다. 예를 들어, 모티프를 포함하는 서열의 부분은 "...N_aYYYN_b..."로서, "Y"는 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프의 변형을 나타내며, "N_a" 및 "N_b"는 Y의 변형과 상이한 모티프 "YYY"의 옆에 있는 뉴클레오타이드의 변형을 나타내며, N_a 및 N_b는 동일하거나 또는 상이한 변형일 수 있다. 다르게는, N_a 및/또는 N_b는 뮌 변형이 존재하는 경우 존재하거나 또는 부재할 수 있다.

[0278] RNAi 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 더 포함할 수 있다. 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합 변형은 가닥의 임의의 위치에서, 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 또는 둘 모두의 가닥의 임의의 뉴클레오타이드에서 발생할 수 있다. 예를 들어, 뉴클레오타이드간 결합 변형은 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드에서 발생할 수 있거나; 각각의 뉴클레오타이드간 결합 변형은 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 교대 패턴으로 발생할 수 있거나; 또는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥은 교대 패턴에서 뉴클레오타이드간 결합 변형 둘 다를 포함한다. 센스 가닥에서의 뉴클레오타이드간 결합 변형의 교대 패턴은 안티센스 가닥과 동일하거나 또는 상이할 수 있으며, 센스 가닥에서의 뉴클레오타이드간 결합 변형의 교대 패턴은 안티센스 가닥에서의 뉴클레오타이드간 결합 변형의 교대 패턴에 대해 이동을 가질 수 있다.

[0279] 일 실시형태에서, RNAi는 오버행 영역에 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합 변형을 포함한다. 예를 들어, 오버행 영역은 2개의 뉴클레오타이드 간에 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 가지는 2개의 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드간 결합 변형은 또한, 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 말단 뉴클레오타이드와 오버행 뉴클레오타이드를 연결하도록 만들어질 수 있다. 예를 들어, 적어도 2, 3, 4개 또는 모든 오버행 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 통해 연결될 수 있으며, 선택적으로, 오버행 뉴클레오타이드의 옆에 존재하는 쌍을 이루는 뉴클레오타이드와 오버행 뉴클레오타이드를 연결하는 부가적인 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합이 존재할 수 있다. 예를 들어, 3개의 말단 뉴클레오타이드 간에는 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합이 존재할 수 있으며, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이며, 제3 뉴클레오타이드는 오버행 뉴클레오타이드 옆의 쌍을 이루는 뉴클레오타이드이다. 이들 3개의 말단 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 3'-말단, 센스 가닥의 3'-말단, 안티센스 가닥의 5'-말단 및/또는 안티센스 가닥의 5' 말단에 존재할 수 있다.

[0280] 일 실시형태에서, 2개의 뉴클레오타이드 오버행은 안티센스 가닥의 3'-말단에 존재하며, 3개의 말단 뉴클레오타이드 사이에는 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합이 존재하고, 3개의 뉴클레오타이드 중 2개는 오버행 뉴클레오타이드이며, 제3 뉴클레오타이드는 오버행 뉴클레오타이드 옆의 쌍을 이루는 뉴클레오타이드이다. 선택적으로, RNAi 작용제는 추가로 센스 가닥의 5'-말단과 안티센스 가닥의 5'-말단 둘 모두에서 3개의 말단 뉴클레오타이드 간에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 가질 수 있다.

[0281] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 듀플렉스 내에서 표적과의 미스매치(들), 또는 이들의 조합을 포함한다. 미스

매치는 오버행 영역 또는 듀플렉스 영역에서 발생할 수 있다. 염기쌍은 해리 또는 용융을 촉진하는 특성을 토대로 순위가 매겨질 수 있다(예를 들어, 특정 짝지움의 회합 또는 해리의 자유 에너지를 토대로, 가장 간단한 방법은 개별 쌍 기준으로 쌍을 시험하는 것이지만, 다음의 연속한 또는 유사한 분석이 또한 사용될 수 있음). 해리의 촉진 면에서, A:U는 G:C보다 바람직하며; G:U는 G:C보다 바람직하고; I:C는 G:C보다 바람직하다(I=이노신). 미스매치, 예를 들어, 비-원형(canonical) 또는 원형 짝지움 이외의 짝지움(전술한 바와 같음)은 원형(A:T, A:U, G:C) 짝지움보다 바람직하며; 보편적인 염기를 포함하는 짝지움이 원형 짝지움보다 바람직하다.

[0282] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 듀플렉스의 5' 말단에서 안티센스 가닥의 해리를 촉진하기 위해, 독립적으로 A:U, G:U, I:C, 및 미스매치된 쌍, 예를 들어, 비-원형 또는 원형 짝지움 이외의 짝지움 또는 보편적인 염기를 포함하는 짝지움의 군으로부터 선택되는 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내에 처음의 1, 2, 3, 4 또는 5개의 염기쌍 중 적어도 하나를 포함한다.

[0283] 일 실시형태에서, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 위치 1의 뉴클레오타이드는 A, dA, dU, U, 및 dT로 이루어진 군으로부터 선택된다. 다르게는, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 처음 1개, 2개 또는 3개의 염기쌍 중 적어도 하나는 AU 염기쌍이다. 예를 들어, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 처음의 염기쌍은 AU 염기쌍이다.

[0284] 일 실시형태에서, 센스 가닥 서열은 화학식 (I)로 표시될 수 있다:

[0285] $5' n_p-N_a-(X X X)_i-N_b-Y Y Y-N_b-(Z Z Z)_j-N_a-n_q 3' \text{ (I)}$

[0286] 상기 식에서,

[0287] i 및 j는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0288] p 및 q는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0289] N_a 는 각각 독립적으로 0개 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0290] N_b 는 각각 독립적으로 0개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

[0291] n_p 및 n_q 는 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;

[0292] N_b 및 Y는 동일한 변형을 갖지 않고;

[0293] XXX, YYY 및 ZZZ는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타낸다. 바람직하게는, YYY는 모든 2'-F 변형 뉴클레오타이드이다.

[0294] 일 실시형태에서, N_a 및/또는 N_b 는 교대 패턴의 변형을 포함한다.

[0295] 일 실시형태에서, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 예를 들어, RNAi 작용제가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이의 듀플렉스 영역을 갖는 경우, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재할 수 있으며(예를 들어, 위치 6, 7, 8, 7, 8, 9, 8, 9, 10, 9, 10, 11, 10, 11, 12 또는 11, 12, 13에서 발생할 수 있음), 계수는 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드에서 시작하거나; 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드에서 시작한다.

[0296] 일 실시형태에서, i는 1이고 j는 0이거나, 또는 i는 0이고 j는 1이거나, 또는 i 및 j는 둘다 1이다. 따라서, 센스 가닥은 하기 식으로 표시될 수 있다:

[0297] $5' n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3' \text{ (Ib)};$

$5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3' \text{ (Ic)};$ 또는

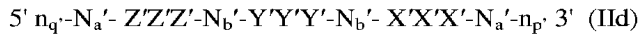
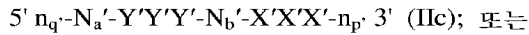
$5' n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3' \text{ (Id)}.$

[0298] 센스 가닥이 화학식 (Ib)로 표시되는 경우, N_b 는 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a 는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴

클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.

- [0299] 센스 가닥이 화학식 (Ic)로 표시되는 경우, N_b 는 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a 는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0300] 센스 가닥이 화학식 (Id)로 표시되는 경우, N_b 는 각각 독립적으로 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 바람직하게는, N_b 는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. N_a 는 각각 독립적으로, 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0301] X, Y 및 Z는 각각 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있다.
- [0302] 다른 실시형태에서, i는 0이고, j는 0이며, 센스 가닥은 하기 식으로 표시될 수 있다:
- [0303] $5' n_p\text{-}N_a\text{-}YYY\text{-} N_a\text{-}n_q 3' \text{ (Ia)}$
- [0304] 센스 가닥이 화학식 (Ia)로 표시되는 경우, N_a 는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0305] 일 실시형태에서, RNAi의 안티센스 가닥 서열은 화학식 (II)로 표시될 수 있다:
- [0306] $5' n_q\text{-}N_a'\text{-(Z'Z'Z')}_k\text{-}N_b'\text{-}Y'Y'Y'\text{-}N_b'\text{-(X'X'X')}_l\text{-}N_a'\text{-}n_p 3' \text{ (II)}$
- [0307] 상기 식에서,
- [0308] k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0309] p' 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0310] N_a' 는 각각 독립적으로 0개 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0311] N_b' 는 각각 독립적으로 0개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0312] n_p' 및 n_q' 는 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;
- [0313] N_b' 및 Y'는 동일한 변형을 갖지 않고;
- [0314] X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타낸다.
- [0315] 일 실시형태에서, N_a' 및/또는 N_b' 는 교대 패턴의 변형을 포함한다.
- [0316] Y'Y'Y' 모티프는 안티센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 예를 들어, RNAi 작용제가 17개 내지 23개의 뉴클레오타이드 길이의 듀플렉스 영역을 갖는 경우, Y'Y'Y' 모티프는 안티센스 가닥의 위치 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14; 또는 13, 14, 15에 존재할 수 있으며, 계수는 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드에서 시작하거나; 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드에서 시작한다. 바람직하게는, Y'Y'Y' 모티프는 위치 11, 12, 13에 존재한다.
- [0317] 일 실시형태에서, Y'Y'Y' 모티프는 모두 2'-OMe 변형 뉴클레오타이드이다.
- [0318] 일 실시형태에서, k는 1이고 l은 0이거나, 또는 k는 0이고 l은 1이거나, 또는 k 및 l은 둘 모두 1이다.

[0319] 따라서, 안티센스 가닥은 하기 식으로 표시될 수 있다:



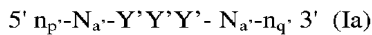
[0320]

[0321] 안티센스 가닥이 화학식 (IIb)로 표시되는 경우, N_b '는 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a '는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0322] 안티센스 가닥이 화학식 (IIc)로 표시되는 경우, N_b '는 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a '는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0323] 안티센스 가닥이 화학식 (IId)로 표시되는 경우, N_b '는 각각 독립적으로 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a '는 각각 독립적으로, 2개 내지 20개, 2개 내지 15개, 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 바람직하게는 N_b 는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다.

[0324] 다른 실시형태에서, k 는 0이고, 1은 0이며, 안티센스 가닥은 하기 식으로 표시될 수 있다:



[0325]

[0326] 안티센스 가닥이 화학식 (IIa)로 표시되는 경우, N_a '는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0327] X' , Y' 및 Z' 는 각각 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있다.

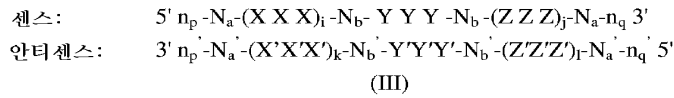
[0328] 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드는 각각 독립적으로 LNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-히드록실, 또는 2'-플루오로로 변형될 수 있다. 예를 들어, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 뉴클레오타이드는 독립적으로, 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형된다. 특히, 각각의 X , Y , Z , X' , Y' 및 Z' 는 2'-O-메틸 변형 또는 2'-플루오로 변형을 나타낼 수 있다.

[0329] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 센스 가닥은 듀플렉스 영역이 21개의 뉴클레오타이드인 경우 가닥의 위치 9, 10 및 11에 존재하는 YYY 모티프를 포함할 수 있으며, 계수는 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드에서 시작하거나, 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드에서 시작하고; Y 는 2'-F 변형을 나타낸다. 센스 가닥은 추가로 듀플렉스 영역의 반대쪽 말단에 XXX 모티프 또는 ZZZ 모티프를 쌍 변형으로서 포함할 수 있으며; XXX 및 ZZZ는 각각 독립적으로 2'-OMe 변형 또는 2'-F 변형을 나타낸다.

[0330] 일 실시형태에서, 안티센스 가닥은 가닥의 위치 11, 12 및 13에 존재하는 Y'Y'Y' 모티프를 포함할 수 있으며, 계수는 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드에서 시작하거나, 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드에서 시작하며; Y' 는 2'-O-메틸 변형을 나타낸다. 안티센스 가닥은 부가적으로, 듀플렉스 영역의 반대쪽 말단에 X'X'X' 모티프 또는 Z'Z'Z' 모티프를 쌍 변형으로서 포함하며; X'X'X' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 2'-OMe 변형 또는 2'-F 변형을 나타낸다.

[0331] 상기 화학식 (Ia), (Ib), (Ic) 및 (Id) 중 어느 하나로 표시되는 센스 가닥은 각각 화학식 (IIa), (IIb), (IIc) 및 (IId) 중 어느 하나로 표시되는 안티센스 가닥과 듀플렉스를 형성한다.

[0332] 따라서, 본 발명의 방법에 이용하기 위한 RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함할 수 있으며, 각각의 가닥은 14 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가지며, RNAi 듀플렉스는 화학식 (III)으로 표시된다:



[0333]

상기 식에서,

[0334]

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0335]

p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0336]

N_a 및 N_a'는 각각 독립적으로 0개 내지 25개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0337]

N_b 및 N_b'는 각각 독립적으로 0개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

[0338]

n_p', n_p, n_q' 및 n_q는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내고;

[0339]

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타낸다.

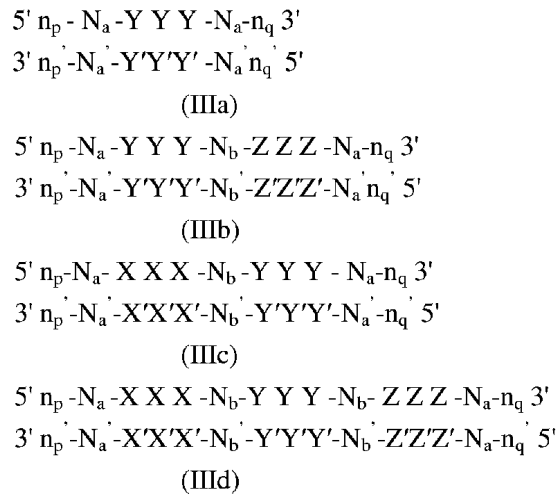
[0340]

일 실시형태에서, i는 0이고, j는 0이거나; i는 1이고, j는 0이거나; i는 0이고, j는 1이거나; i 및 j 둘 모두는 0이거나; i 및 j 둘 모두는 1이다. 다른 실시형태에서, k는 0이고, l은 0이거나; k는 1이고, l은 0이거나; k는 0이고, l은 1이거나; k 및 l 둘 모두는 0이거나; k 및 l 둘 모두는 1이다.

[0341]

RNAi 듀플렉스를 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 예시적인 조합은 하기의 식을 포함한다:

[0342]



[0343]

RNAi 작용제가 화학식 (IIIa)로 표시되는 경우, N_a는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0344]

RNAi 작용제가 화학식 (IIIb)로 표시되는 경우, N_b는 각각 독립적으로 1 내지 10개, 1 내지 7개, 1개 내지 5개 또는 1 내지 4개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0345]

RNAi 작용제가 화학식 (IIIc)로 표시되는 경우, N_b, N_b'는 각각 독립적으로 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0346]

RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_b, N_b'는 각각 독립적으로 0개 내지 10개, 0개 내지 7개, 0개

[0347]

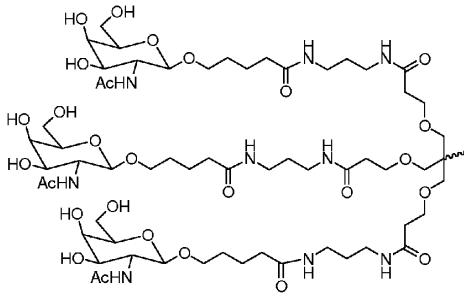
내지 10개, 0개 내지 7개, 0개 내지 5개, 0개 내지 4개, 0개 내지 2개 또는 0개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a , N_a' 는 각각 독립적으로 2개 내지 20개, 2개 내지 15개 또는 2개 내지 10개의 변형된 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a , N_a' , N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 교대 패턴의 변형을 포함한다.

- [0348] 식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)에서 X, Y 및 Z의 각각은 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0349] RNAi 작용제가 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 경우, Y 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 Y' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기쌍을 형성할 수 있다. 대안적으로, Y 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 Y' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성하거나; Y 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 Y' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성한다.
- [0350] RNAi 작용제가 화학식 (IIIb) 또는 (IIId)로 표시되는 경우, Z 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 Z' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기쌍을 형성할 수 있다. 대안적으로, Z 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 Z' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성하거나; Z 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 Z' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성한다.
- [0351] RNAi 작용제가 화학식 (IIIc) 또는 (IIId)로 표시되는 경우, X 뉴클레오타이드 중 적어도 하나는 X' 뉴클레오타이드 중 하나와 염기쌍을 형성할 수 있다. 대안적으로, X 뉴클레오타이드 중 적어도 2개는 상응하는 X' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성하거나; X 뉴클레오타이드 중 3개 모두는 상응하는 X' 뉴클레오타이드와 염기쌍을 형성한다.
- [0352] 일 실시형태에서, Y 뉴클레오타이드 상의 변형은 Y' 뉴클레오타이드 상의 변형과 상이하고/거나, Z 뉴클레오타이드 상의 변형은 Z' 뉴클레오타이드 상의 변형과 상이하고/거나, X 뉴클레오타이드 상의 변형은 X' 뉴클레오타이드 상의 변형과 상이하다.
- [0353] 일 실시형태에서, RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이다. 다른 실시형태에서, RNAi 작용제가 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_b '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_b '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결된다. 또 다른 실시형태에서, RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_b '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_b '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트된다. 다른 실시형태에서, RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_b '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_b '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되고, 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트된다.
- [0354] 일 실시형태에서, RNAi 작용제가 화학식 (IIIa)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_b '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_b '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 연결되고, 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 콘쥬게이트된다.
- [0355] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 적어도 2개의 듀플렉스를 함유하는 다량체이며, 상기 듀플렉스들은 링커에 의해 연결된다. 링커는 절단가능하거나 비-절단가능할 수 있다. 선택적으로, 상기 다량체는 리간드를 더 포함한다. 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적할 수 있다.
- [0356] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 3, 4, 5, 6개 이상의 듀플렉스를 함유하는 다량체이며, 상기 듀플렉스들은 링커에 의해 연결된다. 링커는 절단가능하거나 비-절단가능할 수 있다. 선택적으로, 상기 다량체는 리간드를 더 포함한다. 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를

표적할 수 있다.

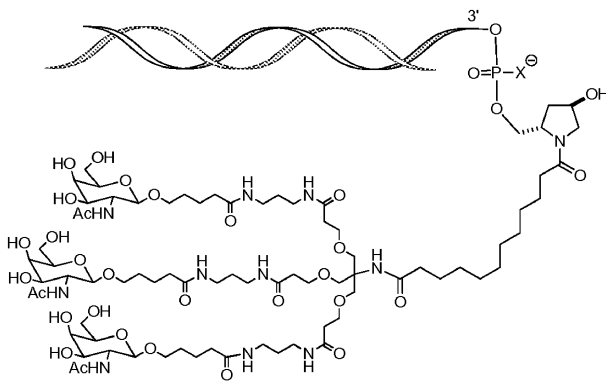
- [0357] 일 실시형태에서, 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 2개의 RNAi 작용제들은 5' 말단에서 서로 연결되며, 3' 말단 중 하나 또는 둘 모두는 리간드에 선택적으로 콘주게이트된다. 작용제 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 작용제 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적할 수 있다.
- [0358] 다양한 공개문헌은 본 발명의 방법에 사용될 수 있는 다량체 RNAi 작용제를 기술한다. 이러한 공개문헌은 제 WO2007/091269호, 미국 특허 제7858769호, 제WO2010/141511호, 제WO2007/117686호, 제WO2009/014887호 및 제WO2011/031520호를 포함하며, 이들 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다.
- [0359] RNAi 작용제로의 하나 이상의 탄수화물 모이어티의 콘주게이션을 포함하는 RNAi 작용제는 RNAi 작용제의 하나 이상의 특성을 최적화할 수 있다. 많은 경우에, 탄수화물 모이어티는 RNAi 작용제의 변형된 서브유닛에 부착될 것이다. 예를 들어, dsRNA 작용제의 하나 이상의 리보뉴클레오타이드 서브유닛의 리보스 당은 다른 모이어티, 예를 들어, 탄수화물 리간드가 부착되는 비-탄수화물(바람직하게는 시클릭) 캐리어로 대체될 수 있다. 서브유닛의 리보스 당이 대체된 리보뉴클레오타이드 서브유닛은 본원에서, 리보스 대체 변형 서브유닛(RRMS)으로 지칭된다. 시클릭 캐리어는 카르보시클릭 고리계일 수 있으며, 즉 모든 고리 원자들이 탄소 원자 또는 헤테로시클릭 고리계일 수 있으며, 즉, 하나 이상의 고리 원자는 예를 들어, 질소, 산소, 황과 같은 헤테로원자일 수 있다. 시클릭 캐리어는 모노시클릭 고리계일 수 있거나, 또는 2개 이상의 고리, 예를 들어, 융합 고리를 포함할 수 있다. 시클릭 캐리어는 완전히 포화된 고리계일 수 있거나, 또는 하나 이상의 이중 결합을 포함할 수 있다.
- [0360] 리간드는 캐리어를 통해 폴리뉴클레오타이드에 부착될 수 있다. 캐리어로는, (i) 적어도 하나의 "골격 부착점", 바람직하게는 2개의 "골격 부착점", 및 (ii) 적어도 하나의 "테터링(tehtering) 부착점"이 포함된다. 본원에 사용된, "골격 부착점"은 히드록실기와 같은 기능기, 또는 일반적으로 골격, 예를 들어, 리보핵산의 포스페이트, 또는 변형된 포스페이트, 예를 들어, 황 함유 골격으로의 캐리어의 혼입에 적절하며 이에 이용가능한 결합을 포함한다. 일부 실시형태에서, "테터링 부착점"(TAP)은 선택된 모이어티를 연결하는 (골격 부착점을 제공하는 원자와 구별되는) 탄소 원자 또는 헤테로원자와 같은 시클릭 캐리어의 구성원 고리 원자를 지칭한다. 모이어티는, 예를 들어, 단당류, 이당류, 삼당류, 사당류, 올리고당류 및 다당류와 같은 탄수화물일 수 있다. 선택적으로, 선택된 모이어티는 개재 테터링에 의해 시클릭 캐리어로 연결된다. 따라서, 시클릭 캐리어는 종종 아미노기와 같은 기능기를 포함하거나, 또는 일반적으로 구성원 고리로의 리간드와 같은 다른 화학적 엔터티(entity)의 혼입 또는 테터링에 적절한 결합을 제공한다.
- [0361] RNAi 작용제는 캐리어를 통해 리간드에 콘주게이트될 수 있으며, 캐리어는 시클릭기 또는 비-시클릭기일 수 있으며; 바람직하게는, 시클릭기는 피롤리딘, 피라졸리딘, 피라졸리딘, 이미다졸리딘, 이미다졸리딘, 피페리딘, 피페라지딘, [1,3]디옥솔란, 옥사졸리딘, 이속사졸리딘, 모르폴리딘, 티아졸리딘, 이소티아졸리딘, 퀴놀살리딘, 피리다지노일, 테트라하이드로푸릴 및 테칼린으로부터 선택되며; 바람직하게는, 비-시클릭기는 세리놀 골격 또는 디에탄올아민 골격으로부터 선택된다.
- [0362] 소정의 구체적인 실시형태에서, 본 발명의 방법에 사용되는 RNAi 작용제는 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 작용제들의 군으로부터 선택되는 작용제이다. 일 실시형태에서, 작용제가 표 12에 열거된 작용제인 경우, 상기 작용제는 말단 dT를 포함하지 않을 수 있다.
- [0363] 나아가, 본 발명은 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 서열 중 임의의 하나를 포함하는 이중 가닥 RNAi 작용제를 포함하며, 이는 안티센스 가닥에 5' 포스페이트 또는 포스페이트 모방체를 포함한다(예를 들어, PCT 공개 제WO 2011005860호를 참조). 나아가, 본 발명은 표 1, 표 2, 표 4, 표 5, 표 8, 표 10 및 표 12 중 임의의 하나에 열거된 서열 중 임의의 하나를 포함하는 이중 가닥 RNAi 작용제를 포함하며, 이는 센스 가닥의 5'-말단에서 2'-OMe 기 대신에 2'-플루오로기를 포함한다.
- [0364] 이들 작용제는 리간드를 더 포함할 수 있다.
- [0365] 일 실시형태에서, 작용제는 AD-60940(센스 가닥: CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96; 안티센스 가닥: usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg)이다.
- [0366] A. 리간드
- [0367] 본 발명의 이중-가닥 RNA(dsRNA) 작용제는 선택적으로 하나 이상의 리간드에 콘주게이트될 수 있다. 리간드는 3'-말단, 5'-말단 또는 양 말단에서 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 양 가닥 모두에 부착될 수 있다. 예를

들어, 리간드는 센스 가닥에 콘주게이트될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 리간드는 센스 가닥의 3'-말단에 콘주게이트될 수 있다. 바람직한 하나의 실시형태에서, 리간드는 GalNAc 리간드이다. 특히 바람직한 실시형태에서, 리간드는 GalNAc₃이다:



[0368]

[0369] 일부 실시형태에서, 리간드, 예를 들어, GalNAc 리간드는 RNAi 작용제의 3' 말단에 부착된다. 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 하기의 개략도에 나타낸 바와 같이, 리간드, 예를 들어, GalNAc 리간드에 콘주게이트된다:



[0370]

[0371] 상기 식에서,

[0372] X는 O 또는 S이다. 일 실시형태에서, X는 O이다.

[0373] 매우 다양한 엔터티들이 본 발명의 RNAi 작용제에 결합될 수 있다. 바람직한 모이어티는 리간드이며, 이는 직접적으로 또는 개입 테터(tether)를 통해 간접적으로 결합되고, 바람직하게는 공유 결합되어 있다.

[0374] 바람직한 실시형태에서, 리간드는, 그것이 혼입되는 분자의 분포, 표적화 또는 수명을 변경한다. 바람직한 실시형태에서, 리간드는 선택된 표적, 예를 들어, 분자, 세포 또는 세포 유형, 신체의 구획, 수용체, 예를 들어, 세포 또는 기관 구획, 조직, 기관 또는 영역에 대해, 이런 리간드가 존재하지 않는 화학종과 비교하여, 향상된 친화성을 제공한다. 선택된 표적에 대해 향상된 친화성을 제공하는 리간드는 또한, 표적 리간드로도 명명된다.

[0375] 일부 리간드들은 엔도솜용해 특성을 가질 수 있다. 엔도솜용해성 리간드는 엔도솜의 용해 및/또는 세포의 엔도솜에서 세포질로의 본 발명의 조성물 또는 이의 구성성분의 수송을 촉진한다. 엔도솜용해성 리간드는 pH-의존성 막활성 및 융합성을 나타내는 폴리음이온성 펩티드 또는 펩티도미메틱일 수 있다. 일 구현예에서, 엔도솜용해성 리간드는 엔도솜의 pH에서 이의 활성 형태를 취한다. "활성" 형태란, 엔도솜용해성 리간드가 엔도솜의 분쇄 및/또는 세포의 엔도솜에서 세포질로의 본 발명의 조성물 또는 이의 구성성분의 수송을 촉진하는 형태이다. 예시적인 엔도솜용해성 리간드로는, GALA 펩티드(문헌[Subbarao 등, *Biochemistry*, 1987, 26: 2964-2972]), EALA 펩티드(문헌[Vogel 등, *J. Am. Chem. Soc.*, 1996, 118: 1581-1586]), 및 이들의 유도체(문헌[Turk 등, *Biophys. Acta*, 2002, 1559: 56-68])가 포함된다. 일 실시형태에서, 엔도솜용해성 구성성분은 pH 변화에 반응하여 전하의 변화 또는 양성자화를 겪을 화학적 기(예를 들어, 아미노산)를 포함할 수 있다. 엔도솜용해성 구성성분은 선형 또는 분지형일 수 있다.

[0376] 리간드들은 수송, 혼성화, 및 특이성을 향상시킬 수 있으며, 또한 생성되는 천연 또는 변형된 올리고리보뉴클레오타이드, 또는 본원에서 기술되는 단량체 및/또는 천연 또는 변형된 리보뉴클레오타이드의 조합을 포함하는 중합체성 분자의 뉴클레아제 내성을 향상시킬 수 있다.

[0377] 리간드들은 일반적으로, 예를 들어 흡수 증대를 위한 치료적 변형제; 예를 들어 분포를 모니터링하기 위한 진단

화합물 또는 리포터 기; 가교제; 및 뉴클레아제-내성 부여 모이어티를 포함할 수 있다. 일반적인 예로는, 지질, 스테로이드, 비타민, 당, 단백질, 펩티드, 폴리아민, 및 펩티드 의태물이 포함된다.

[0378] 리간드는 단백질(예컨대, 인간 혈청 알부민(HSA), 저밀도 리포단백질(LDL), 고밀도 리포단백질(HDL) 또는 글로불린); 탄수화물(예컨대, 텍스트란, 폴루란, 키틴, 키토산, 이눌린, 시클로텍스트린, 또는 히알루론산); 또는 지질과 같은 자연 발생 물질을 포함할 수 있다. 리간드는 재조합 또는 합성 분자, 예를 들어, 합성 중합체, 예컨대, 합성 폴리아미노산, 올리고뉴클레오타이드(예를 들어, 압타머)일 수도 있다. 폴리아미노산의 예는 폴릴리신(PLL), 폴리 L-아스파르트산, 폴리 L-글루탐산, 스티렌-말레산 무수물 공중합체, 폴리(L-락티드-코-글리콜리드) 공중합체, 디비닐 에테르-말레산 무수물 공중합체, N-(2-히드록시프로필)메타크릴아미드 공중합체(HMPA), 폴리에틸렌 글리콜(PEG), 폴리비닐 알코올(PVA), 폴리우레탄, 폴리(2-에틸아크릴산), N-이소프로필아크릴아미드 중합체, 또는 폴리포스포진을 포함한다. 폴리아민의 예는: 폴리에틸렌이민, 폴릴리신(PLL), 스페르민, 스페르미딘, 폴리아민, 슈도펩티드-폴리아민, 펩티도미메틱 폴리아민(peptidomimetic polyamine), 텐드리머 폴리아민, 아르기닌, 아미딘, 프로타민, 양이온성 지질, 양이온성 포르피린, 폴리아민의 4차 염, 또는 알파 헬릭칼 펩티드를 포함한다.

[0379] 리간드는 표적기, 예컨대, 세포 또는 조직 표적 작용제, 예컨대, 렉틴, 글리코단백질, 지질 또는 단백질, 예컨대, 신장 세포와 같은 특정된 세포 유형과 결합하는 항체를 포함할 수도 있다. 표적기는 갑상선 자극 호르몬, 멜라노트로핀, 렉틴, 글리코단백질, 계면활성제 단백질 A, 뮤신 탄수화물, 다가 락토오스, 다가 갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다가 만노오스, 다가 푸코오스, 글리코실화 폴리아미노산, 다가 갈락토오스, 트랜스페린, 비스포스포네이트, 폴리글루타메이트, 폴리아스파르테이트, 지질, 콜레스테롤, 스테로이드, 담즙산, 플레이트, 비타민 B12, 비오틴, RGD 펩티드, RGD 펩티드 의태물 또는 압타머일 수 있다.

[0380] 리간드의 다른 예는 염료, 삼입성 작용제(예컨대, 아크리딘), 가교제(예컨대, 소랄렌, 미토마이신 C), 포르피린(TPPC4, 텍사피린, 사피린), 다환 방향족 탄화수소(예컨대, 페나진, 디하이드로페나진), 인공 엔도뉴클레아제 또는 킬레이트제(chelator)(예컨대, EDTA), 친지방성 분자, 예컨대, 콜레스테롤, 콜산, 아다만탄 아세트산, 1-피렌 부티르산, 디하이드로테스토스테론, 1,3-비스-O(헥사데실)글리세롤, 제라닐옥시헥실기, 헥사데실글리세롤, 보르네올, 멘톨, 1,3-프로판디올, 헵타데실기, 팔미트산, 미리스틱산, 03-(올레오일)리토콜산, 03-(올레오일)콜레닉산(cholenic acid), 디메톡시트리틸, 또는 페녹사진) 및 펩티드 콘쥬게이트(예컨대, 안테나페디아 펩티드, Tat 펩티드), 알킬화 작용제, 포스페이트, 아미노, 메르캅토, PEG(예컨대, PEG-40K), MPEG, [MPEG]₂, 폴리아미노, 알킬, 치환된 알킬, 방사선표지 마커, 효소, 합텐(예컨대, 비오틴), 수송/흡수 촉진제(예컨대, 아스피린, 비타민 E, 엽산), 합성 리보뉴클레아제(예컨대, 이미다졸, 비스이미다졸, 히스타민, 이미다졸 클러스터, 아크리딘-이미다졸 콘쥬게이트, 테트라아자마크로사이클의 Eu3+ 복합체), 디니트로페닐, HRP, 또는 AP를 포함한다.

[0381] 리간드는 단백질, 예컨대, 글리코단백질, 또는 펩티드, 예컨대, 공-리간드에 대한 특정 친화도를 갖는 분자, 또는 항체, 예컨대, 암세포, 내피 세포 또는 골 세포와 같은 특정된 세포 유형과 결합하는 항체일 수 있다. 리간드는 호르몬 및 호르몬 수용체를 포함할 수도 있다. 이들은 비-펩티드성 화학종, 예를 들어, 지질, 렉틴, 탄수화물, 비타민, 보조인자, 다가 락토오스, 다가 갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다가 만노오스, 다가 푸코오스 또는 압타머를 포함할 수도 있다. 리간드는 예를 들어, 리포다당류, p38 MAP 키나아제의 활성화제 또는 NF- κ B의 활성화제일 수 있다.

[0382] 리간드는 예컨대, 세포의 미소관, 미세섬유 및/또는 중간 필라멘트를 파열시킴으로써 세포의 세포골격을 파열시킴으로써 예컨대, iRNA 작용제의 세포로의 흡수를 증가시킬 수 있는 약물과 같은 물질일 수 있다. 약물은 예를 들어, 탁손, 빈크리스틴, 빈블라스틴, 사이토칼라신, 노코다졸, 자플라키놀리데(japlakinolide), 라트룬쿨린 A, 팔로이딘, 스윈홀리데(swinholide) A, 인다노신 또는 미오세르빈일 수 있다.

[0383] 리간드는 예를 들어, 염증 반응을 활성화시킴으로써 올리고뉴클레오타이드의 세포로의 흡수를 증가시킬 수 있다. 이런 효과를 가지는 예시적인 리간드로는, 종양 괴사 인자 알파(TNF알파), 인터루킨-1 베타, 또는 감마 인터페론이 포함된다.

[0384] 일 양태에서, 리간드는 지질 또는 지질계 분자이다. 그러한 지질 또는 지질계 분자는 바람직하게는 혈청 단백질, 예컨대, 인간 혈청 알부민(HSA)과 결합한다. HSA 결합 리간드는 표적 조직, 예컨대, 신체의 비-신장 표적 조직으로 콘쥬게이트의 분포가 이루어지도록 한다. 예를 들어, 표적 조직은 간의 실질 세포를 포함하는 간일 수 있다. HSA와 결합할 수 있는 기타 분자들은 리간드로 이용될 수도 있다. 예를 들어, 나프록센 또는 아스피린을 이용할 수 있다. 지질 또는 지질계 리간드는 (a) 콘쥬게이트의 분해에 대한 내성을 증가시키고/거나, (b) 표적 세포 또는 세포막으로 표적 또는 수송을 증가시키고/거나 (c) 혈청 단백질, 예컨대, HSA로의 결합을 조정하

는데 이용될 수 있다.

- [0385] 지질계 리간드는 콘쥬게이트의 표적 조직으로의 결합을 조절, 예컨대, 제어하는데 이용될 수 있다. 예를 들어, HSA에 더 강하게 결합하는 지질 또는 지질계 리간드는 신장에 표적될 가능성이 적을 것이며, 따라서 신체로부터 제거될 가능성이 적을 것이다. HSA와 덜 강하게 결합하는 지질 또는 지질계 리간드는 신장에 콘쥬게이트를 표적하는데 이용될 수 있다.
- [0386] 바람직한 실시형태에서, 지질계 리간드는 HSA와 결합한다. 바람직하게는, 콘쥬게이트가 바람직하게는 비-신장 조직으로 분포되도록 충분한 친화도로 HSA와 결합한다. 그러나, 친화도는 HSA-리간드 결합이 반전될 수 없도록 강하지 않은 것이 바람직하다.
- [0387] 다른 바람직한 실시형태에서, 지질계 리간드는 콘쥬게이트가 바람직하게는 신장으로 분포되도록 HSA와 약하게 결합하거나 전혀 결합하지 않는다. 신장 세포에 표적하는 기타 모이어티들은 지질계 리간드 대신에 또는 이에 더하여 이용될 수도 있다.
- [0388] 다른 양태에 있어서, 리간드는 모이어티, 예컨대, 표적 세포, 예컨대, 증식하는 세포에 의하여 흡수되는 비타민이다. 이들은 예컨대, 약성 또는 비-약성 형태, 예컨대, 암 세포의 원하지 않는 세포 증식을 특징으로 하는 질환을 치료하는데 특히 유용하다. 예시적인 비타민은 비타민 A, E 및 K를 포함한다. 기타 예시적인 비타민은 비타민 B, 예컨대, 엽산, B12, 리보플라빈, 비오틴, 피리독살 또는 암 세포에 의하여 취해지는 비타민 또는 영양분을 포함한다. HSA, 저밀도 리포단백질(LDL) 및 고밀도 리포단백질(HDL)도 포함된다.
- [0389] 다른 양태에 있어서, 리간드는 세포-침투제, 바람직하게는 헬리칼 세포-침투제이다. 바람직하게는, 작용제는 양친매성이다. 예시적인 작용제는 태트(tat) 또는 안테노페디아와 같은 펩티드이다. 작용제가 펩티드이면, 펩티드 미메틱(peptidylmimetic), 인베르토머(invertomer), 비-펩티드 또는 슈도-펩티드 연결 및 D-아미노산의 이용을 포함하여 변형될 수 있다. 헬리칼 작용제는 바람직하게는 친유성 및 소유성을 갖는, 바람직하게는 알파-헬릭스 작용제이다.
- [0390] 리간드는 펩티드 또는 펩티도미메틱(peptidomimetic)일 수 있다. 펩티도미메틱(본원에서 올리고펩티도미메틱이라고도 함)은 천연 펩티드와 유사한 정의된 3-차원 구조로 접힐 수 있는 분자이다. 펩티드 또는 펩티도미메틱 모이어티는 길이가 약 5개 내지 50개 아미노산들, 예컨대, 길이가 약 5개, 10개, 15개, 20개, 25개, 30개, 35개, 40개, 45개 또는 50개 아미노산들일 수 있다. 펩티드 또는 펩티도미메틱은 예를 들어, 세포 침투 펩티드, 양이온 펩티드, 양친매성 펩티드 또는 소수성 펩티드(예컨대, 주로 Tyr, Trp 또는 Phe로 구성됨)일 수 있다. 펩티드 모이어티는 덴드리머 펩티드, 구속성 펩티드 또는 교차결합성 펩티드일 수 있다. 다른 대안에 있어서, 펩티드 모이어티는 소수성 막 전좌 서열(MTS)을 포함할 수 있다. 예시적인 소수성 MTS-함유 펩티드는 아미노산 서열 AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO:11)를 갖는 RFGF이다. 소수성 MTS를 포함하는 RFGF 유사체(예컨대, 아미노산 서열 AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:12))는 표적 모이어티일 수도 있다. 펩티드 모이어티는 세포막을 가로지르는 펩티드, 올리고뉴클레오타이드 및 단백질을 포함하는 더 큰 극성 분자들을 운반할 수 있는 "전달" 펩티드일 수 있다. 예를 들어, HIV Tat 단백질(GRKKRRQRRPPQ (SEQ ID NO:13)) 및 드로소필라 안테나페디아 단백질(RQIKIWFAQNRMMKWKK (SEQ ID NO:14)) 유래의 서열들은 전달 펩티드로서 기능할 수 있다는 것이 발견되었다. 펩티드 또는 펩티도미메틱은 파지-표시 라이브러리 또는 알갱이당-한 분자(one-bead-one) 화합물(OBOC) 조합 라이브러리로부터 동정된 펩티드와 같은 DNA의 임의적 서열에 의하여 인코딩될 수 있다(문헌[Lam 등., Nature, 354:82-84, 1991]). 바람직하게는, 혼입된 단량체 단위를 통해 iRNA 작용제에 테터링된 펩티드 또는 펩티도미메틱은 세포 표적화 펩티드, 예를 들어, 아르기닌-글리신-아스파르트산(RGD)-펩티드 또는 RGD 의태물이다. 펩티드 모이어티는 길이가 약 5개 아미노산들 내지 약 40개 아미노산들에 이를 수 있다. 펩티드 모이어티는 안정성을 증가시키거나 형태적 특성을 지시하는 것과 같은 구조적 변형을 가질 수 있다. 하기에 기술된 구조적 변형들 중 어느 하나가 활용될 수 있다. RGD 펩티드 모이어티는 내피 종양 세포 또는 유방암 종양 세포와 같은 종양 세포를 표적하는 데 사용될 수 있다(문헌[Zitzmann 등, Cancer Res., 62:5139-43, 2002]). RGD 펩티드는 iRNA 작용제를 폐, 신장, 비장 또는 간을 비롯한 기타 다양한 조직의 종양으로 표적하는 것을 촉진할 수 있다(문헌[Aoki 등, Cancer Gene Therapy 8:783-787, 2001]). 바람직하게는, RGD 펩티드는 iRNA 작용제를 신장에 표적하는 것을 촉진할 것이다. RGD 펩티드는 선형 또는 환형일 수 있으며, 특정 조직으로의 표적을 촉진하기 위해 글리코실화되거나 또는 메틸화되는 것과 같이 변형될 수 있다. 예를 들어, 글리코실화된 RGD 펩티드는 iRNA 작용제를 $\alpha v \beta_3$ 를 발현하는 종양 세포에 전달할 수 있다(문헌[Haubner 등, Jour. Nucl. Med., 42:326-336, 2001]). 증식하는 세포에 농화된 마커를 표적하는 펩티드가 사용될 수 있다. 예를 들어, RGD 함유 펩티드 및 펩티도미메틱은 암세포, 특히 인테그린을 제시하는 세포를 표적할 수 있다. 따라서, 당업자는 RGD 펩티드, RGD 함유 시클릭 펩

티드, D-아미노산을 포함하는 RGD 펩티드, 뿐만 아니라 합성 RGD 의태물을 사용할 수 있다. RGD에 더하여, 당업자는 인테그린 리간드를 표적하는 기타 모이어티를 사용할 수 있다. 일반적으로, 이런 리간드는 증식 세포 및 혈관신생을 조절하는 데 사용될 수 있다. 리간드의 이런 유형의 바람직한 콘주게이션은, PECAM-1, VEGF, 또는 기타 암 유전자, 예를 들어, 본원에서 기술된 암 유전자를 표적한다.

[0391] "세포 투과 펩티드"는 세포, 예컨대, 박테리아성 또는 진균 세포와 같은 미생물 세포, 또는 인간 세포와 같은 포유류 세포를 투과할 수 있다. 미생물 세포-투과 펩티드는 예를 들어, α -헬리칼 선형 펩티드(예컨대, LL-37 또는 세로핀 P1), 디설파이드 결합-함유 펩티드(예컨대, α -디펜신(defensin), β -디펜신 또는 박테네신), 또는 하나 또는 두 개의 우세한 아미노산만을 포함하는 펩티드(예컨대, PR-39 또는 인도리시딘)일 수 있다. 세포 투과 펩티드는 핵 위치 신호(NLS)를 포함할 수도 있다. 예를 들어, 세포 투과 펩티드는 HIV-1 gp41 및 SV40 대형 T 항원의 NLS의 융합 펩티드 도메인으로부터 유래된 MPG와 같은 이분 양친매성 펩티드(bipartite amphipathic peptide)일 수 있다(문헌[Simeoni 등, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003]).

[0392] 일 실시형태에서, 표적화 펩티드는 양친매성 α -헬리칼 펩티드일 수 있다. 예시적인 양친매성 α -헬리칼 펩티드로는, 세크로핀(cecropin), 라이코톡신(lycotoxin), 파라다신(paradaxin), 부포린(buforin), CPF, 봄비닌-유사(bombinin-like) 펩티드(BLP), 카텔리시딘(cathelicidin), 세라토톡신(ceratotoxin), S. 클라바(S. clava) 펩티드, 하그피쉬 장 항균 펩티드(hagfish intestinal antimicrobial peptide)(HFIAP), 마가이닌(magainine), 브레비닌-2(brevinin-2), 데르마셉틴(dermaseptin), 멜리틴(melittin), 플레우로시딘(pleurocidin), H₂A 펩티드, 제노푸스(Xenopus) 펩티드, 에스쿨렌티니스-1(esculentinis-1), 및 캐린(caerin)이 포함되나, 이로 한정되지 않는다. 다수의 인자들이 바람직하게는, 헬릭스 안정성의 무결성(integrity)을 유지하는 것으로 여겨질 수 있다. 예를 들어, 최대 수의 헬릭스 안정화 잔기가 이용될 것이며(예를 들어, leu, ala, 또는 lys), 최소 수의 헬릭스 탈안정화 잔기가 이용될 것이다(예를 들어, 프롤린, 또는 시클릭 단량체성 단위). 캡핑 잔기가 고려될 것이며, 예를 들어, Gly은 예시적인 N-캡핑 잔기이고/거나 C-말단 아미드화가 사용되어 헬릭스를 안정화시키기 위한 여분의 H-결합을 제공할 수 있다. $i \pm 3$, 또는 $i \pm 4$ 위치에 의해 분리된, 반대 전하를 가진 잔기들 간의 염다리의 형성은 안정성을 제공할 수 있다. 예를 들어, 리신, 아르기닌, 호모-아르기닌, 오르니틴 또는 히스티딘과 같은 양이온성 잔기는 음이온성 잔기인 글루탐산염 또는 아스파르트산염과 염 다리를 형성할 수 있다.

[0393] 펩티드 및 펩티도미메틱 리간드는, 자연 발생 펩티드 또는 변형된 펩티드, 예를 들어, D 또는 L 펩티드; α , β , 또는 γ 펩티드; N-메틸 펩티드; 아자펩티드; 하나 이상의 아미드를 가지는 펩티드, 즉, 하나 이상의 우레아, 티오우레아, 카르바메이트, 또는 설폰일 우레아 결합으로 대체된 연결을 가진 펩티드; 또는 시클릭 펩티드를 가진 것들을 포함한다.

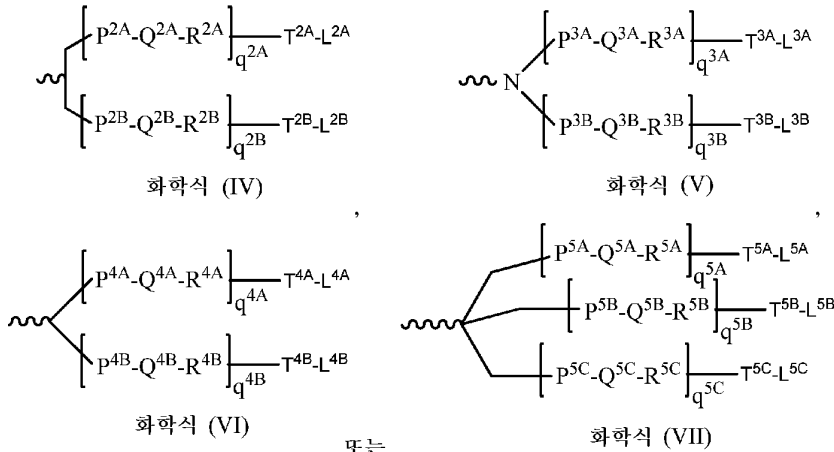
[0394] 표적화 리간드는 특정 수용체를 표적할 수 있는 임의의 리간드일 수 있다. 예로는, 엽산염, GalNAc, 갈락토오스, 만노오스, 만노오스-6P, GalNAc 클러스터, 만노오스 클러스터, 갈락토오스 클러스터와 같은 당의 클러스터, 또는 압타머이다. 클러스터는 당 단위 2개 이상의 조합이다. 표적화 리간드는 또한, 인테그린 수용체 리간드, 케모카인 수용체 리간드, 트랜스페린, 비오틴, 세로토닌 수용체 리간드, PSMA, 엔도텔린, GCPII, 소마토스타틴, LDL 및 HDL 리간드를 포함한다. 리간드는 또한, 압타머와 같은 핵산을 기재로 할 수 있다. 압타머는 비변형될 수 있거나, 또는 본원에서 개시되는 임의의 변형의 조합을 가질 수 있다.

[0395] 엔도솜 방출제로는, 이미다졸, 폴리이미다졸 또는 올리고이미다졸, PEI, 펩티드, 융합성 펩티드, 폴리카르복실레이트, 폴리아양이온, 마스킹된(masked) 올리고 또는 폴리 양이온 또는 음이온, 아세탈, 폴리아세탈, 케탈/폴리케탈, 오르토에스테르, 마스킹 또는 비-마스킹된 양이온성 또는 음이온성 전하를 가진 중합체, 마스킹 또는 비-마스킹된 양이온성 또는 음이온성 전하를 가진 덴드리머가 포함된다.

[0396] PK 조절제는 약동학적 조절제를 나타낸다. PK 조절제로는, 친유성제(lipophile), 담즙산, 스테로이드, 인지질 유사체, 펩티드, 단백질 결합제, PEG, 비타민 등이 포함된다. 예시적인 PK 조절제로는, 콜레스테롤, 지방산, 콜산, 리토폴릭산, 디알킬글리세라이드, 디아실글리세라이드, 인지질, 스펅고지질, 나프록센, 이부프로펜, 비타민 E, 비오틴 등이 포함되나, 이로 한정되지 않는다. 다수의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 또한 혈청 단백질에 결합하는 것으로 알려져 있으며, 따라서 골격에서 복수 개의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는 약 5개 염기, 10개 염기, 15개 염기 또는 20개 염기의 올리고뉴클레오타이드와 같은 짧은 올리고뉴클레오타이드는 또한, 본 발명에서 리간드로서(예를 들어, PK 조절 리간드로서) 부합된다.

[0397] 또한, 혈청 구성성분(예를 들어, 혈청 단백질)에 결합하는 압타머는 또한, 본 발명에서 PK 조절 리간드로서 부합된다.

- [0398] 본 발명에 부합되는 다른 리간드 콘쥬게이트는, 2004년 8월 10일에 출원된 미국 특허 출원 USSN: 10/916,185호; 2004년 9월 21일에 출원된 USSN: 10/946,873호; 2007년 8월 3일에 출원된 USSN: 10/833,934호; 2005년 4월 27일에 출원된 USSN: 11/115,989호 및 2007년 11월 21일에 출원된 USSN: 11/944,227호에 기술되어 있으며, 이들은 그 전체가 참조로 본 명세서에 포함되어 있다.
- [0399] 2개 이상의 리간드가 존재하는 경우, 리간드는 모두 동일한 특성을 갖거나, 모두 상이한 특성들을 가질 수 있거나, 또는 일부 리간드들은 동일한 특성들을 가지는 한편 다른 것들은 상이한 특성들을 가진다. 예를 들어, 리간드는 표적화 특성을 가지거나, 엔도솜용해성 활성을 가지거나, 또는 PK 조절 특성을 가질 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 리간드들은 모두 상이한 특성들을 가진다.
- [0400] 리간드는 3' 말단, 5' 말단, 및/또는 내부 위치와 같은 다양한 위치에서 올리고뉴클레오타이드에 결합될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 리간드는 본원에서 기술되는 캐리어와 같은 개재 테터를 통해 올리고뉴클레오타이드에 부착된다. 리간드 또는 테터링된 리간드는, 단량체가 성장중인 가닥에 혼입되는 경우, 상기 단량체 상에 존재할 수 있다. 일부 실시형태에서, 리간드는, "전구체" 단량체가 성장중인 가닥에 혼입된 후에, 상기 "전구체" 단량체로의 결합을 통해 혼입될 수 있다. 예를 들어, 아미노-말단 테터를 가진(즉, 회합된 리간드를 가지지 않는) 단량체, 예를 들어, TAP-(CH₂)_nNH₂는 성장중인 올리고뉴클레오타이드 가닥에 혼입될 수 있다. 후속적인 작업에서, 즉, 전구체 단량체를 가닥에 혼입시킨 후, 친전자성 기를 가지는 리간드, 예를 들어, 펜타플루오로페닐 에스테르 또는 알데하이드 기는 후속해서, 리간드의 친전자성 기를 전구체 단량체의 테터의 말단 친핵성 기와 결합시킴으로써 전구체 단량체에 부착될 수 있다.
- [0401] 다른 예에서, 클릭 화학 반응에 참여하는데 적절한 화학적 기를 가지는 단량체, 예를 들어, 아자이드 또는 알카인 말단 테터/링커가 혼입될 수 있다. 후속적인 작업에서, 즉, 전구체 단량체를 가닥에 혼입시킨 후, 알카인 또는 아자이드와 같은 상보적인 화학적 기를 가지는 리간드는 알카인 및 아자이드를 함께 결합시킴으로써 전구체 단량체에 부착될 수 있다.
- [0402] 이중 가닥 올리고뉴클레오타이드의 경우, 리간드는 한쪽 가닥 또는 양쪽 가닥에 부착될 수 있다. 일부 실시형태에서, 이중-가닥 iRNA 작용제는 센스 가닥에 콘쥬게이트된 리간드를 포함한다. 다른 실시형태에서, 이중-가닥 iRNA 작용제는 안티센스 가닥에 콘쥬게이트된 리간드를 포함한다.
- [0403] 일부 실시형태에서, 리간드는 핵산 분자의 핵염기, 당 모이어티, 또는 뉴클레오시드간 결합에 콘쥬게이트될 수 있다. 퓨린 핵염기 또는 이의 유도체와의 콘쥬게이션은 엔도시클릭 원자 및 엑소시클릭 원자를 비롯한 임의의 위치에서 발생할 수 있다. 일부 실시형태에서, 퓨린 핵염기의 2-위치, 6-위치, 7-위치, 또는 8-위치는 콘쥬게이트 모이어티에 부착된다. 피리미딘 핵염기 또는 이의 유도체와의 콘쥬게이션은 임의의 위치에서 발생할 수도 있다. 일부 실시형태에서, 피리미딘 핵염기의 2-위치, 5-위치, 및 6-위치는 콘쥬게이트 모이어티로 치환될 수 있다. 뉴클레오시드의 당 모이어티와의 콘쥬게이션은 임의의 탄소 원자에서 발생할 수 있다. 콘쥬게이트 모이어티에 부착될 수 있는 당 모이어티의 예시적인 탄소 원자는 2', 3', 및 5' 탄소 원자를 포함한다. 1' 위치는 또한, 무염기(무염기성) 잔기에서와 같이 콘쥬게이트 모이어티에 부착될 수도 있다. 뉴클레오시드간 결합은 또한, 콘쥬게이트 모이어티를 가질 수 있다. 인-함유 결합의 경우(예를 들어, 포스포디에스테르, 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포로아미데이트 등), 콘쥬게이트 모이어티는 인 원자에 직접 부착되거나, 또는 인 원자에 결합된 O, N, 또는 S 원자에 부착될 수 있다. 아민-함유 또는 아미드-함유 뉴클레오시드간 결합(예를 들어, PNA)의 경우, 콘쥬게이트 모이어티는 아민 또는 아미드의 질소 원자 또는 연속한 탄소 원자에 부착될 수 있다.
- [0404] RNA 간섭 분야에서 임의의 적절한 리간드가 사용될 수 있지만, 리간드는 전형적으로 탄수화물, 예를 들어 단당류(예컨대 GalNAc), 이당류, 삼당류, 사당류, 다당류이다.
- [0405] 리간드를 핵산에 콘쥬게이트시키는 링커로는 전술한 것들이 포함된다. 예를 들어, 리간드는, 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc (N-아세틸글루코사민) 유도체일 수 있다.
- [0406] 일 실시형태에서, 본 발명의 dsRNA는 화학식 (IV) 내지 식 (VII) 중 임의의 것에 나타난 구조들을 포함하는 2가 및 3가 분지형 링커에 콘쥬게이트된다:



[0407]

[0408]

[0409]

[0410]

[0411]

[0412]

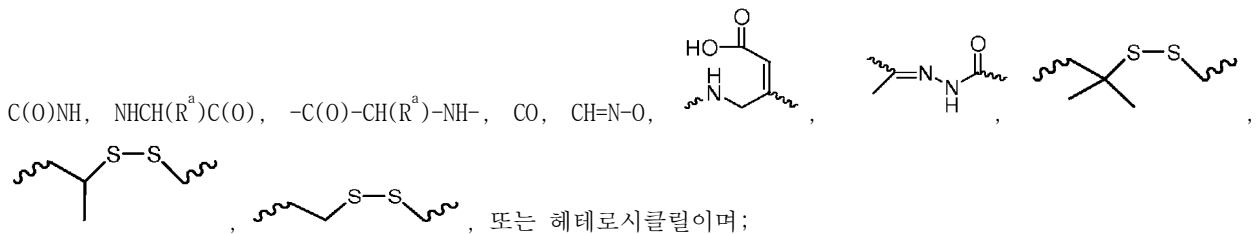
상기 식에서,

q^{2A} , q^{2B} , q^{3A} , q^{3B} , q^{4A} , q^{4B} , q^{5A} , q^{5B} 및 q^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 0 내지 20을 나타내고, 반복 단위는 동일하거나 또는 상이할 수 있으며;

P^{2A} , P^{2B} , P^{3A} , P^{3B} , P^{4A} , P^{4B} , P^{5A} , P^{5B} , P^{5C} , T^{2A} , T^{2B} , T^{3A} , T^{3B} , T^{4A} , T^{4B} , T^{5A} , T^{5B} , T^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 부재이거나, CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH₂, CH₂NH 또는 CH₂O이고;

Q^{2A} , Q^{2B} , Q^{3A} , Q^{3B} , Q^{4A} , Q^{4B} , Q^{5A} , Q^{5B} , Q^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 부재이거나, 알킬렌, 치환된 알킬렌이며, 하나 이상의 메틸렌은 O, S, S(O), SO₂, N(R^N), C(R')=C(R''), C≡C 또는 C(O) 중 하나 이상에 의해 중단되거나 또는 종결될 수 있으며;

R^{2A} , R^{2B} , R^{3A} , R^{3B} , R^{4A} , R^{4B} , R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 부재이거나, NH, O, S, CH₂, C(O)O,



[0413]

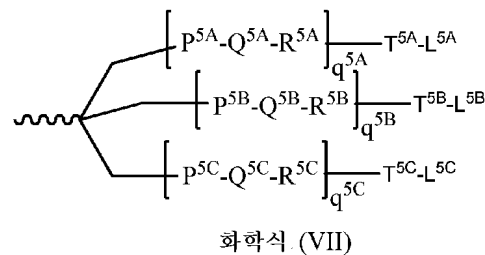
[0414]

[0415]

L^{2A} , L^{2B} , L^{3A} , L^{3B} , L^{4A} , L^{4B} , L^{5A} , L^{5B} 및 L^{5C} 는 리간드; 즉, 각각 독립적으로 각각의 경우 단당류(예컨대 GalNAc), 이당류, 삼당류, 사당류, 올리고당류, 또는 다당류를 나타내고;

R^a는 H 또는 아미노산 측쇄이다.

3가 콘쥬게이팅 GalNAc 유도체, 예를 들어, 식 (VII)의 것은 특히, 표적 유전자의 발현을 억제하기 위한 RNAi 작용제와 함께 이용하기에 특히 유용하다:

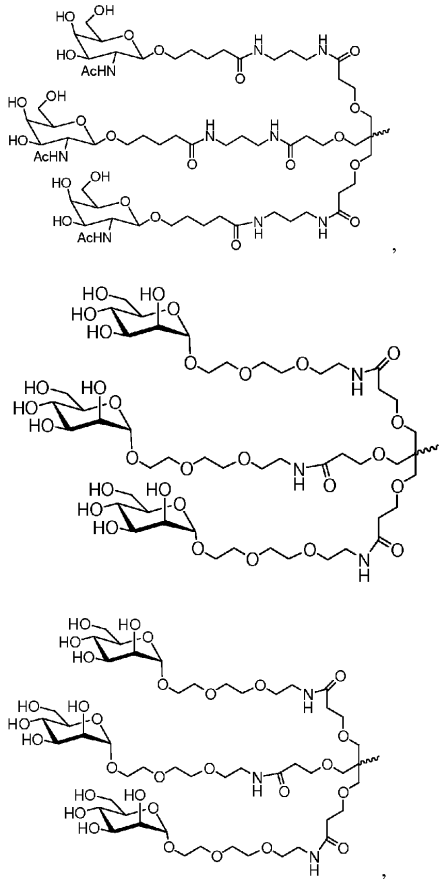


[0416]

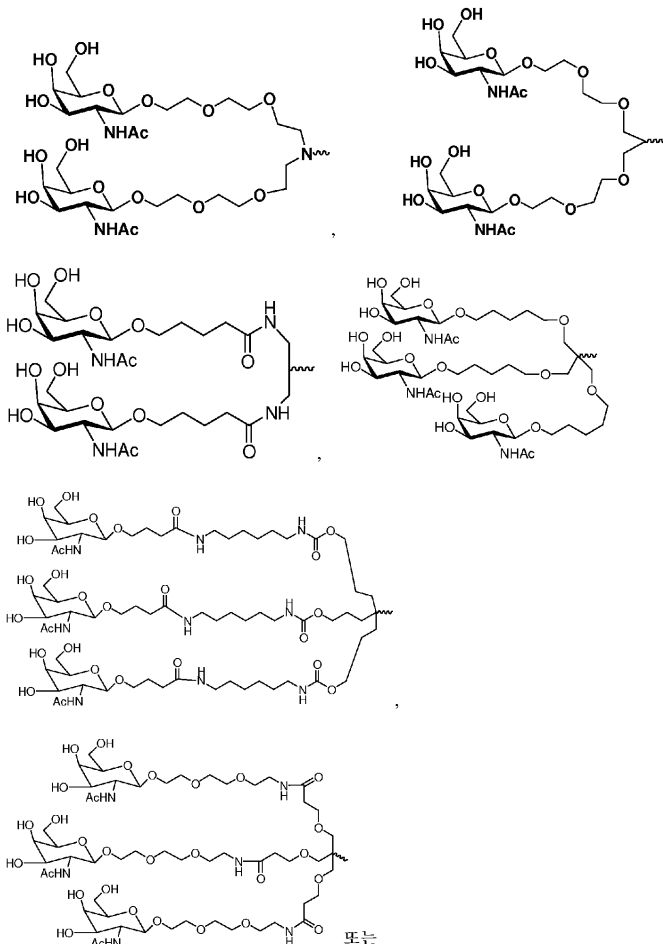
[0417]

상기 식에서,

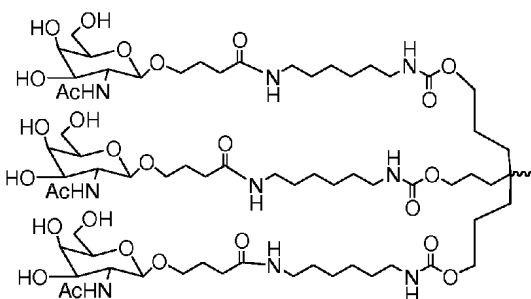
[0418] L^{5A} , L^{5B} 및 L^{5C} 는 단당류, 예를 들어, GalNAc 유도체를 나타낸다. GalNAc 유도체를 콘쥬게이트시키는 적절한 2가 및 3가 분지형 링커 기의 예에는 하기의 화합물이 포함되나 이들에 한정되지 않는다:



[0419]



[0420]



[0421]

[0422]

다른 실시형태에서, 본 발명의 방법에 이용하기 위한 RNAi 작용제는 AD-59743이다.

[0423]

III. 본 발명의 iRNA의 전달

[0424]

본 발명의 iRNA 작용제의 세포, 예컨대, 인간 대상체와 같은 대상체(예컨대, TMPRSS6 연관 질환, 예를 들어, 혈색소침착증이 있는 대상체와 같이 이를 필요로 하는 대상체) 내의 세포로의 전달은 수많은 상이한 방법으로 달성될 수 있다. 예를 들어, 전달은 세포를 본 발명의 iRNA와 시험관 내 또는 생체 내에서 접촉시킴으로써 수행될 수 있다. 생체 내 전달은 iRNA, 예컨대, dsRNA를 포함하는 조성물을 대상체에게 투여함으로써 직접적으로 수행될 수도 있다. 대안적으로, 생체 내 전달은 iRNA를 인코딩하고 그의 발현을 지시하는 하나 이상의 벡터를 투여함으로써 간접적으로 수행될 수 있다. 이러한 대안은 하기에서 더 토의된다.

[0425]

일반적으로, (시험관 내 또는 생체 내에서) 핵산 분자를 전달하는 임의의 방법은 본 발명의 iRNA와의 이용을 위해 적합하게 할 수 있다(예컨대, 본원에서 그 전체가 참조로 포함되어 있는, 문헌[Akhtar S. and Julian RL., (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144] 및 W094/02595 참조). 생체 내 전달을 위해, iRNA 분자를 전달하기 위해 고려하는 인자는 예를 들어, 전달된 분자의 생물학적 안정성, 비-특이적 효과의 방지 및 표적 조직 내에서 전달된 분자의 축적을 포함한다. iRNA의 비-특이적인 효과는 예를 들어, 조직으로의 직접 주사 또는 이식에 의해 또는 제제를 국소적으로 투여함으로써 국소 투여에 의하여 최소화될 수 있다. 치료 부위로의 국소 투여는 작

용제의 국소 농도를 최대화하고, 다르게는 작용제에 의하여 해를 입을 수 있거나 작용제를 분해할 수 있는 전신 조직으로의 작용제의 노출을 제한하며, iRNA 분자의 더 낮은 총 용량이 투여될 수 있도록 한다. 몇몇 연구에 따르면, iRNA가 국소적으로 투여되는 경우 유전자 생성물의 성공적인 녹다운(knockdown)을 보였다. 예를 들어, 시노물구스 원숭이 내에 유리체내 주사(문헌[Tolentino, MJ. 등, (2004) *Retina* 24:132-138]) 및 마우스 내의 망막하 주사(문헌[Reich, SJ. 등, (2003) *Mol. Vis.* 9:210-216])에 의한 VEGF dsRNA의 안구 내 전달은 양쪽 모두 연령-관련 황반 변성의 실험적 모델에서 신혈관신생을 방지하는 것으로 밝혀졌다. 또한, 마우스들 내로 dsRNA의 직접적인 종양 내 주사는 종양 부피를 감소시키고(문헌[Pille, J. 등(2005) *Mol. Ther.*11:267-274]), 종양 보유 마우스들의 생존을 연장시킬 수 있다(문헌[Kim, WJ. 등, (2006) *Mol. Ther.*14:343-350; Li, S. 등, (2007) *Mol. Ther.*15:515-523]). RNA 간섭은 직접 주사에 의하여 CNS에(문헌[Dorn, G. 등, (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH. 등, (2005) *Gene Ther.*12:59-66; Makimura, H. 등(2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., 등, (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER., 등 (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*101:17270-17275; Akaneya, Y., 등 (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602]) 그리고 비강 내 투여에 의하여 허파에(문헌[Howard, KA. 등, (2006) *Mol. Ther.*14:476-484; Zhang, X. 등, (2004) *J. Biol. Chem.* 279:10677-10684; Bitko, V. 등, (2005) *Nat. Med.*11:50-55]) 국소 전달이 성공하는 것도 보였다. 질병의 치료를 위해 iRNA를 전신으로 투여하기 위하여, RNA가 변형되거나 약물 전달 시스템을 이용하여 대안적으로 전달될 수 있으며; 양쪽 방법은 생체 내 엔도뉴클레아제 및 엑소뉴클레아제에 의하여 dsRNA의 급속한 분해를 방지하는 작용을 한다. RNA 또는 약학적 담체의 변형으로 iRNA 조성물이 표적 조직으로 표적되도록 할 수도 있으며, 바람직하지 않은 비표적 효과를 회피할 수 있다. iRNA 분자는 콜레스테롤과 같은 친지방성기로서의 화학적 콘쥬게이션에 의하여 변형되어 세포 흡수를 향상시키고 분해를 방지할 수 있다. 예를 들어, 친지방성 콜레스테롤 모이어티에 콘쥬게이트된 ApoB에 대하여 지시된 iRNA는 마우스들에게 전신으로 주사되어 간 및 공장 내에서 apoB mRNA의 녹다운을 일어나게 하였다(문헌[Soutschek, J. 등, (2004) *Nature* 432:173-178]). iRNA의 압타머로서의 콘쥬게이션은 전립선암의 마우스 모델 내에서 종양 성장을 억제하고 종양 퇴화를 조정하는 것이 밝혀졌다(문헌[McNamara, JO. 등, (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015]). 대안적인 일 실시형태에서, iRNA는 나노입자, 덴드리머, 중합체, 리포솜 또는 양이온성 전달 시스템과 같은 약물 전달 시스템을 이용하여 전달될 수 있다. 양으로 대전된 양이온성 전달 시스템은 iRNA 분자(음으로 대전됨)의 결합을 용이하게 하고, 음으로 대전된 세포막에서의 상호작용을 향상시켜 세포에 의하여 iRNA의 효율적인 흡수를 가능하게도 한다. 양이온 지질, 덴드리머 또는 중합체는 iRNA에 결합될 수 있거나 유도되어 iRNA를 둘러싸는 소낭 또는 미셀을 형성할 수 있다(예컨대, 문헌[Kim SH. 등, (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116] 참조). 소낭 또는 미셀의 형성은 iRNA가 전신으로 투여되는 경우 iRNA의 분해를 더 방지한다. 양이온성 iRNA 복합체를 제조하고 투여하는 방법은 충분히 당업자의 능력 내에 있다(예컨대, 그 전체가 본원에서 참조로 포함되어 있는 문헌[Sorensen, DR., 등 (2003) *J. Mol. Biol.* 327:761-766; Verma, UN. 등, (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300; Arnold, AS 등, (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205] 참조). iRNA의 전신 전달에 유용한 약물 전달 시스템의 일부 비-한정 예는 DOTAP(Sorensen, DR., 등 (2003), 상기; Verma, UN. 등, (2003), 상기), 올리고펙타민, "고체 핵산 지질 입자"(문헌[Zimmermann, TS. 등, (2006) *Nature* 441:111-114]), 카르디올리핀(문헌[Chien, PY. 등, (2005) *Cancer Gene Ther.*12:321-328; Pal, A. 등, (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091]), 폴리에틸렌이민(문헌[Bonnet ME. 등, (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659]), Arg-Gly-Asp (RGD) 펩티드(문헌[Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487]), 및 폴리아미도아민(문헌[Tomalia, DA. 등, (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H. 등, (1999) *Pharm. Res.*16:1799-1804])을 포함한다. 일부 실시형태에서, iRNA는 전신 투여를 위해 시클로덱스트린과 복합체를 형성한다. iRNA 및 시클로덱스트린의 투여 방법 및 약학적 조성물은 그 전체가 본원에 참조로 포함되어 있는, 미국 특허 제7,427,605호에서 찾을 수 있다.

[0426] A. 본 발명의 벡터 인코딩된 iRNA

[0427] TMPRSS6 유전자를 표적하는 iRNA는 DNA 또는 RNA 벡터로 삽입된 전사 단위로부터 발현될 수 있다(예컨대, 문헌[Couture, A. 등, *TIG.* (1996), 12:5-10]; Skillern, A., 등, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/22113호, Conrad, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/22114호, 및 Conrad, 미국 특허 제6,054,299호 참조). 발현은 이용된 특이적인 컨스트럭트(construct) 및 표적 조직 또는 세포 유형에 따라 일시적(수시간 내지 수주) 또는 지속적(수주 내지 수개월 이상)일 수 있다. 이러한 이식 유전자는 통합 또는 비-통합 벡터일 수 있는 선형 컨스트럭트, 원형 플라스미드, 또는 바이러스성 벡터로 도입될 수 있다. 이식 유전자는 염색체외 플라스미드로서 유전될 수 있도록 구성될 수도 있다(문헌[Gassmann 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292]).

[0428] iRNA의 개별 가닥 또는 가닥들은 발현 벡터 상의 프로모터로부터 전사될 수 있다. 2개의 개별 가닥들이 발현되

어 예를 들어, dsRNA를 발생시킬 경우, 2개의 개별 발현 벡터는 표적 세포로 (예컨대, 형질감염(transfection) 또는 감염에 의하여) 공-도입(co-introduced)될 수 있다. 대안적으로, dsRNA의 각 개별 가닥은 둘 모두가 동일한 발현 플라스미드 상에 위치되어 있는 프로모터들에 의하여 전사될 수 있다. 일 실시형태에서, dsRNA는 링커 폴리뉴클레오타이드 서열에 의하여 합쳐진 역반복(역 repeat) 폴리뉴클레오타이드로 발현되어 dsRNA는 줄기 및 루프 구조를 가진다.

[0429] iRNA 발현 벡터는 일반적으로 DNA 플라스미드 또는 바이러스성 벡터이다. 진핵 세포와 양립하는 발현 벡터, 바람직하게는 척추동물 세포와 양립하는 발현 벡터는 본원에 기술된 바와 같이 iRNA의 발현을 위한 재조합 컨스트럭트를 생성하는데 이용될 수 있다. 진핵 세포 발현 벡터는 업계에 주지되어 있으며 수많은 상업적 원천으로부터 이용 가능하다. 통상적으로, 원하는 핵산 세그먼트의 삽입을 위한 간편한 제한 부위를 포함하는 그러한 벡터가 제공된다. iRNA 발현 벡터의 전달은 정맥 내 또는 근육 내 투여에 의하거나, 환자로부터 빼낸 표적 세포에 투여하고 이후 환자에 재도입하거나 소기의 표적 세포로 도입하도록 하는 기타 수단에 의해서와 같이 전신적일 수 있다.

[0430] iRNA 발현 플라스미드는 양이온성 지질 담체(예컨대, 올리고펙타민) 또는 비-양이온성 지질계 담체(예컨대, Transit-TKOTM)와의 복합체로서 표적 세포에 형질감염될 수 있다. 일 주일 이상의 기간에 걸쳐 표적 RNA의 상이한 영역을 표적하는 iRNA-매개 녹다운에 대한 복수의 지질 형질감염도 본 발명에 의하여 고려된다. 숙주 세포로 벡터를 성공적으로 도입하는 것은 다양한 알려진 방법을 이용하여 모니터링될 수 있다. 예를 들어, 일시 형질감염은 녹색 형광 단백질(GFP)과 같은 형광 마커와 같은 리포터로 표시될 수 있다. 생체 외에서 세포의 안정된 형질감염은 하이그로마이신 B 내성과 같이, 특정 환경 요인(예컨대, 항생제 및 약물)에 내성을 갖는 형질감염된 세포를 제공하는 마커를 이용하여 확보할 수 있다.

[0431] 본원에 기술된 방법 및 조성물을 이용하여 활용될 수 있는 바이러스성 벡터 시스템은 (a) 아데노바이러스 벡터; (b) 렌티바이러스성 벡터, 몰로니 무린 백혈병 바이러스 등을 포함하지만 여기에 한정되지 않는 레트로바이러스 벡터; (c) 아데노-연관 바이러스 벡터; (d) 헤르페스 심플렉스 바이러스 벡터; (e) SV 40 벡터; (f) 폴리오마 바이러스 벡터; (g) 유두종 바이러스 벡터; (h) 피코르나바이러스 벡터; (i) 오르토폭스(orthopox)와 같은 수두 바이러스 벡터, 예컨대, 우두 바이러스 벡터 또는 조류두, 예컨대, 카나리아 수두 또는 계두; 및 (j) 헬퍼(helper)-종속 또는 무력화(gut less) 아데노바이러스를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 복제-결합 바이러스도 유리할 수 있다. 상이한 벡터가 세포 계층으로 혼입되거나 혼입되지 않을 수 있다. 컨스트럭트는 원한다면, 형질감염용 바이러스성 서열들을 포함할 수 있다. 대안적으로, 컨스트럭트는 에피솜의 복제가 가능한 벡터, 예컨대, EPV 및 EBV 벡터로 혼입될 수 있다. iRNA의 재조합 발현용 컨스트럭트는 일반적으로 표적 세포 내에서 iRNA의 발현을 확보하는데 조절 요소들, 예컨대, 프로모터, 인핸서 등을 필요로 할 것이다. 벡터 및 컨스트럭트에 대하여 고려되는 기타 양태는 하기에 더 기술된다.

[0432] iRNA의 전달에 유용한 벡터는 소기의 표적 세포 또는 조직 내에서 iRNA의 발현에 충분한 조절 요소들(프로모터, 인핸서 등)을 포함할 것이다. 조절 요소들을 선택하여 구성적 또는 조절된/유도성 발현을 제공할 수 있다.

[0433] iRNA의 발현은 예를 들어, 특정한 생리학적 조절제, 예컨대, 순환하는 포도당 수준 또는 호르몬에 민감한 유도성 조절 서열을 이용함으로써 정확히 조절될 수 있다(Docherty 등, 1994, FASEB J. 8:20-24). 세포 내 또는 포유류 내에서 dsRNA 발현의 조절에 적당한 그러한 유도성 발현 시스템은 예를 들어, 엑디손, 에스트로젠, 프로그스테론, 테트라시클린, 이합체화의 화학적 유도체 및 이소프로필-베타-D1-티오갈락토피라노사이드(IPTG)에 의한 조절을 포함한다. 당업자는 iRNA 이식 유전자의 의도된 이용을 기초로 하여 적절한 조절/프로모터 서열을 선택할 수 있게 된다.

[0434] iRNA를 인코딩하는 핵산 서열들을 포함하는 바이러스성 벡터를 이용할 수 있다. 예를 들어, 레트로바이러스성 벡터를 이용할 수 있다(문헌[Miller 등, *Meth. Enzymol.* 217:581-599 (1993)] 참조). 이러한 레트로바이러스성 벡터는 바이러스성 게놈의 올바른 패키징 및 숙주 세포 DNA로의 통합에 필요한 구성요소들을 포함한다. iRNA를 인코딩하는 핵산 서열들은 환자에로의 핵산의 전달을 용이하게 하는 하나 이상의 벡터로 클로닝된다. 레트로바이러스성 벡터에 대한 더 상세한 사항은 예를 들어, 줄기 세포를 화학요법에 더 내성이 있게 하기 위하여 조절 줄기 세포로 *mdr1* 유전자를 전달하는 레트로바이러스성 벡터의 사용을 기술하는 문헌[Boesen 등, *Biotherapy* 6:291-302 (1994)]에서 찾을 수 있다. 유전자 요법에서 레트로바이러스성 벡터의 사용을 예시하는 기타 참조문헌은 다음과 같다: 문헌[Clowes 등, *J. Clin. Invest.* 93:644-651 (1994); Kiem 등, *Blood* 83:1467-1473 (1994); Salmons and Gunzberg, *Human Gene Therapy* 4:129-141 (1993); 및 Grossman and Wilson, *Curr. Opin. in Genetics and Devel.* 3:110-114 (1993)]. 사용이 고려되는 렌티바이러스성 벡터는 예를 들어, 본원에 참조

로 포함된 미국 특허 제6,143,520호; 5,665,557호; 및 5,981,276호에 기술된 HIV계 벡터를 포함한다.

[0435] 아데노바이러스는 본 발명의 iRNA의 전달에 사용이 고려되기도 한다. 아데노바이러스는 예컨대, 유전자를 호흡성 상피(respiratory epithelia)에 전달하기에 특히 매력적인 운반체이다. 아데노바이러스는 호흡성 상피를 자연적으로 감염시키는데, 여기서 아데노바이러스는 가벼운 질병을 유발한다. 아데노바이러스계 전달 시스템에 대한 기타 표적은 간, 중추 신경계, 내피 세포 및 근육이다. 아데노바이러스는 비분할 세포를 감염시킬 수 있는 장점을 가진다. 문헌[Kozarsky and Wilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993)]은 아데노바이러스계 유전자 요법의 리뷰를 제시한다. 문헌[Bout 등, *Human Gene Therapy* 5:3-10 (1994)]은 레서스 원숭이의 호흡성 상피에 유전자를 전달하는 아데노바이러스 벡터의 사용을 보여주었다. 유전자 요법에서 아데노바이러스의 사용의 다른 경우는 문헌[Rosenfeld 등, *Science* 252:431-434 (1991); Rosenfeld 등, *Cell* 68:143-155 (1992); Mastrangeli 등, *J. Clin. Invest.* 91:225-234 (1993)]; PCT 출원 공개번호 WO94/12649; 및 문헌[Wang 등, *Gene Therapy* 2:775-783 (1995)]에서 찾을 수 있다. 본 발명에 특징된 iRNA를 발현하기 위한 적당한 AV 벡터, 재조합 AV 벡터를 구성하는 방법 및 벡터를 표적 세포로 전달하는 방법은 문헌[Xia H 등 (2002), *Nat. Biotech.* 20:1006-1010]에 기술되어 있다.

[0436] 아데노 연관 바이러스(AAV) 벡터는 본 발명의 iRNA를 전달하는데 이용될 수도 있다(문헌[Walsh 등, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 204:289-300 (1993)]; 미국 특허 제5,436,146호). 일 실시형태에서, iRNA는 예를 들어, U6 또는 H1 RNA 프로모터, 또는 거대세포바이러스(CMV) 프로모터를 갖는 재조합 AAV 벡터로부터 유래한 2개의 분리된 상보적인 단일-가닥 RNA 분자로 발현될 수 있다. 본 발명에서 특징된 dsRNA를 발현하는데 적당한 AAV 벡터, 재조합 AV 벡터를 구성하는 방법 및 벡터를 표적 세포로 전달하는 방법은 그 전체 개시가 본원에 참조로 포함되어 있는, 문헌[Samulski R 등 (1987), *J. Virol.* 61: 3096-3101; Fisher K J 등 (1996), *J. Virol.* 70: 520-532; Samulski R 등 (1989), *J. Virol.* 63: 3822-3826]; 미국 특허 제5,252,479호; 미국 특허 제5,139,941호; 국제 특허 출원 번호 WO 94/13788호; 및 국제 특허 출원 번호 WO 93/24641호에 기술되어 있다.

[0437] 본 발명의 iRNA 전달에 적당한 다른 바이러스성 벡터는 우두 바이러스와 같은 수두 바이러스, 예를 들어, 변형된 바이러스 앙카라(MVA) 또는 NYVAC와 같은 약독화된 우두, 계두 또는 카나리아 수두와 같은 조류두이다.

[0438] 바이러스성 벡터의 친화성(tropism)은 벡터를 다른 바이러스로부터 유래한 외피 단백질(envelope protein) 또는 다른 표면 항원으로 슈도타이핑(pseudotyping)하거나 적절히, 상이한 바이러스성 캡시드 단백질(viral capsid protein)을 치환함으로써 변형될 수 있다. 예를 들어, 렌티바이러스성 벡터는 수포성 구내염 바이러스(VSV), 광견병, 에볼라, 모콜라 등으로부터 유래한 표면 단백질로 슈도타이핑될 수 있다. AAV 벡터는 벡터를 상이한 캡시드 단백질 혈청형을 발현하도록 조작(engineering)함으로써 상이한 세포를 표적하도록 할 수 있으며; 예컨대, 그 전체 개시가 본원에 참조로 포함되어 있는 문헌[Rabinowitz J E 등. (2002), *J Virol* 76:791-801]을 참조한다.

[0439] 벡터의 약학적 제제는 허용 가능한 희석제 내에서 벡터를 포함할 수 있거나, 유전자 전달 운반체가 심어져 있는 서방성 매트릭스를 포함할 수 있다. 대안적으로, 완전한 유전자 전달 벡터가 재조합 세포, 예컨대, 레트로바이러스성 벡터로부터 손상되지 않고 생성될 수 있는 경우에, 약학적 제제는 유전자 전달 시스템을 생성하는 하나 이상의 세포들을 포함할 수 있다.

[0440] IV. 본 발명의 약학적 조성물

[0441] 본 발명은 본 발명의 iRNA를 포함하는 약학적 조성물 및 제형도 포함한다. 일 실시형태에서, 본원에 기술된 바와 같은 iRNA 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다. iRNA를 포함하는 약학적 조성물은 TMPRSS6 연관 질병 또는 질환, 예컨대, 혈색소침착증을 치료하는데 유용하다. 그러한 약학적 조성물은 전달의 방식에 기초하여 제형화된다. 일례는 비경구 전달을 통한, 예컨대, 정맥 내(IV) 전달에 의한 전신 투여용으로 제형화되는 조성물이다. 다른 예는 예컨대, 연속 펌프 주입에 의한 것과 같이, 뇌로의 주입에 의한 뇌실질로의 직접 전달을 위해 제형화되는 조성물이다.

[0442] 본 발명의 RNAi 작용제를 포함하는 약학적 조성물은 예를 들어, 완충제가 있거나 그것이 없는 용액, 또는 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 조성물일 수 있다. 이러한 조성물은 예를 들어, 수성 또는 결정질 조성물, 리포솜 제형, 미셀 제형, 에멀전 및 유전자 요법 벡터를 포함한다.

[0443] 본 발명의 방법에서, RNAi 작용제는 용액 중에서 투여될 수 있다. 유리 RNAi 작용제는 비완충 용액 중에서, 예를 들어, 염수 중에서 또는 수 중에서 투여될 수 있다. 대안적으로, 유리 siRNA는 또한 적절한 완충 용액 중에서 투여될 수 있다. 완충 용액은 아세트산염, 시트르산염, 프롤라민, 탄산염 또는 인산염 또는 그들의 임의의

조합을 포함할 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 완충 용액은 인산염 완충 식염수(PBS)이다. RNAi 작용제를 함유하는 완충 용액의 pH 및 오스몰농도는 그것이 대상체로의 투여에 적절하도록 조정될 수 있다.

[0444] 일부 실시형태에서, 완충 용액은 오스몰농도가 요망되는 값으로, 예를 들어, 인간 혈장의 생리적 값으로 유지되도록, 용액의 오스몰농도를 조절하기 위한 작용제를 더 포함한다. 오스몰농도를 조절하기 위하여 완충 용액에 첨가될 수 있는 용질은 단백질, 펩티드, 아미노산, 비-대사된 중합체, 비타민, 이온, 당, 대사물질, 유기산, 지질 또는 염을 포함하나 이들에 한정되지 않는다. 일부 실시형태에서, 용액의 오스몰농도를 조절하기 위한 작용제는 염이다. 특정 실시형태에서, 용액의 오스몰농도를 조절하기 위한 작용제는 염화나트륨 또는 염화칼륨이다.

[0445] 본 발명의 약학적 조성물은 TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는데 충분한 투여량으로 투여될 수 있다.

[0446] 일반적으로, 본 발명의 iRNA의 적당한 용량은 일당 수여자의 체중 kg당 약 0.001 밀리그램 내지 약 200.0 밀리그램의 범위에 있으며, 일반적으로 일당 체중 kg당 약 1 내지 50 mg의 범위에 있을 것이다. 예를 들어, dsRNA는 단일 용량당 약 0.01 mg/kg, 약 0.05 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 1.5 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 40 mg/kg, 또는 약 50 mg/kg으로 투여될 수 있다.

[0447] 예를 들어, RNAi 작용제, 예를 들어, dsRNA는 약 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg, 2.6 mg/kg, 2.7 mg/kg, 2.8 mg/kg, 2.9 mg/kg, 3 mg/kg, 3.1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 3.3 mg/kg, 3.4 mg/kg, 3.5 mg/kg, 3.6 mg/kg, 3.7 mg/kg, 3.8 mg/kg, 3.9 mg/kg, 4 mg/kg, 4.1 mg/kg, 4.2 mg/kg, 4.3 mg/kg, 4.4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 4.6 mg/kg, 4.7 mg/kg, 4.8 mg/kg, 4.9 mg/kg, 5 mg/kg, 5.1 mg/kg, 5.2 mg/kg, 5.3 mg/kg, 5.4 mg/kg, 5.5 mg/kg, 5.6 mg/kg, 5.7 mg/kg, 5.8 mg/kg, 5.9 mg/kg, 6 mg/kg, 6.1 mg/kg, 6.2 mg/kg, 6.3 mg/kg, 6.4 mg/kg, 6.5 mg/kg, 6.6 mg/kg, 6.7 mg/kg, 6.8 mg/kg, 6.9 mg/kg, 7 mg/kg, 7.1 mg/kg, 7.2 mg/kg, 7.3 mg/kg, 7.4 mg/kg, 7.5 mg/kg, 7.6 mg/kg, 7.7 mg/kg, 7.8 mg/kg, 7.9 mg/kg, 8 mg/kg, 8.1 mg/kg, 8.2 mg/kg, 8.3 mg/kg, 8.4 mg/kg, 8.5 mg/kg, 8.6 mg/kg, 8.7 mg/kg, 8.8 mg/kg, 8.9 mg/kg, 9 mg/kg, 9.1 mg/kg, 9.2 mg/kg, 9.3 mg/kg, 9.4 mg/kg, 9.5 mg/kg, 9.6 mg/kg, 9.7 mg/kg, 9.8 mg/kg, 9.9 mg/kg 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0448] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, dsRNA는 약 0.1 내지 약 50 mg/kg, 약 0.25 내지 약 50 mg/kg, 약 0.5 내지 약 50 mg/kg, 약 0.75 내지 약 50 mg/kg, 약 1 내지 약 50 mg/kg, 약 1.5 내지 약 50 mg/kg, 약 2 내지 약 50 mg/kg, 약 2.5 내지 약 50 mg/kg, 약 3 내지 약 50 mg/kg, 약 3.5 내지 약 50 mg/kg, 약 4 내지 약 50 mg/kg, 약 4.5 내지 약 50 mg/kg, 약 5 내지 약 50 mg/kg, 약 7.5 내지 약 50 mg/kg, 약 10 내지 약 50 mg/kg, 약 15 내지 약 50 mg/kg, 약 20 내지 약 50 mg/kg, 약 20 내지 약 50 mg/kg, 약 25 내지 약 50 mg/kg, 약 25 내지 약 50 mg/kg, 약 30 내지 약 50 mg/kg, 약 35 내지 약 50 mg/kg, 약 40 내지 약 50 mg/kg, 약 45 내지 약 50 mg/kg, 약 0.1 내지 약 45 mg/kg, 약 0.25 내지 약 45 mg/kg, 약 0.5 내지 약 45 mg/kg, 약 0.75 내지 약 45 mg/kg, 약 1 내지 약 45 mg/kg, 약 1.5 내지 약 45 mg/kg, 약 2 내지 약 45 mg/kg, 약 2.5 내지 약 45 mg/kg, 약 3 내지 약 45 mg/kg, 약 3.5 내지 약 45 mg/kg, 약 4 내지 약 45 mg/kg, 약 4.5 내지 약 45 mg/kg, 약 5 내지 약 45 mg/kg, 약 7.5 내지 약 45 mg/kg, 약 10 내지 약 45 mg/kg, 약 15 내지 약 45 mg/kg, 약 20 내지 약 45 mg/kg, 약 20 내지 약 45 mg/kg, 약 25 내지 약 45 mg/kg, 약 25 내지 약 45 mg/kg, 약 30 내지 약 45 mg/kg, 약 35 내지 약 45 mg/kg, 약 40 내지 약 45 mg/kg, 약 0.1 내지 약 40 mg/kg, 약 0.25 내지 약 40 mg/kg, 약 0.5 내지 약 40 mg/kg, 약 0.75 내지 약 40 mg/kg, 약 1 내지 약 40 mg/kg, 약 1.5 내지 약 40 mg/kg, 약 2 내지 약 40 mg/kg, 약 2.5 내지 약 40 mg/kg, 약 3 내지 약 40 mg/kg, 약 3.5 내지 약 40 mg/kg, 약 4 내지 약 40 mg/kg, 약 4.5 내지 약 40 mg/kg, 약 5 내지 약 40 mg/kg, 약 7.5 내지 약 40 mg/kg, 약 10 내지 약 40 mg/kg, 약 15 내지 약 40 mg/kg, 약 20 내지 약 40 mg/kg, 약 20 내지 약 40 mg/kg, 약 25 내지 약 40 mg/kg, 약 25 내지 약 40 mg/kg, 약 30 내지 약 40 mg/kg, 약 35 내지 약 40 mg/kg, 약 0.1 내지 약 30 mg/kg, 약 0.25 내지 약 30 mg/kg, 약 0.5 내지 약 30 mg/kg, 약 0.75 내지 약 30 mg/kg, 약 1 내지 약 30 mg/kg, 약 1.5 내지 약 30 mg/kg, 약 2 내지 약 30 mg/kg, 약 2.5 내지 약 30 mg/kg, 약 3 내지 약 30 mg/kg, 약 3.5 내지 약 30 mg/kg, 약 4 내지 약 30 mg/kg, 약 4.5 내지 약 30 mg/kg, 약 5 내지 약 30 mg/kg, 약 7.5 내지 약 30 mg/kg, 약 10 내지 약 30 mg/kg, 약 15 내지 약 30 mg/kg, 약 20 내지 약 30 mg/kg, 약 20 내지 약 30 mg/kg, 약 25 내지 약 30 mg/kg, 약 0.1 내지 약 20 mg/kg, 약 0.25 내지 약 20 mg/kg, 약 0.5 내지 약 20 mg/kg, 약 0.75 내지 약 20 mg/kg, 약 1 내지 약 20 mg/kg, 약 1.5 내지 약 20 mg/kg, 약 2 내지 약 20 mg/kg.

20 mg/kg, 약 2.5 내지 약 20 mg/kg, 약 3 내지 약 20 mg/kg, 약 3.5 내지 약 20 mg/kg, 약 4 내지 약 20 mg/kg, 약 4.5 내지 약 20 mg/kg, 약 5 내지 약 20 mg/kg, 약 7.5 내지 약 20 mg/kg, 약 10 내지 약 20 mg/kg, 또는 약 15 내지 약 20 mg/kg의 용량으로 투여된다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0449] 예를 들어, RNAi 작용제, 예를 들어, dsRNA는 약 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg, 2.6 mg/kg, 2.7 mg/kg, 2.8 mg/kg, 2.9 mg/kg, 3 mg/kg, 3.1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 3.3 mg/kg, 3.4 mg/kg, 3.5 mg/kg, 3.6 mg/kg, 3.7 mg/kg, 3.8 mg/kg, 3.9 mg/kg, 4 mg/kg, 4.1 mg/kg, 4.2 mg/kg, 4.3 mg/kg, 4.4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 4.6 mg/kg, 4.7 mg/kg, 4.8 mg/kg, 4.9 mg/kg, 5 mg/kg, 5.1 mg/kg, 5.2 mg/kg, 5.3 mg/kg, 5.4 mg/kg, 5.5 mg/kg, 5.6 mg/kg, 5.7 mg/kg, 5.8 mg/kg, 5.9 mg/kg, 6 mg/kg, 6.1 mg/kg, 6.2 mg/kg, 6.3 mg/kg, 6.4 mg/kg, 6.5 mg/kg, 6.6 mg/kg, 6.7 mg/kg, 6.8 mg/kg, 6.9 mg/kg, 7 mg/kg, 7.1 mg/kg, 7.2 mg/kg, 7.3 mg/kg, 7.4 mg/kg, 7.5 mg/kg, 7.6 mg/kg, 7.7 mg/kg, 7.8 mg/kg, 7.9 mg/kg, 8 mg/kg, 8.1 mg/kg, 8.2 mg/kg, 8.3 mg/kg, 8.4 mg/kg, 8.5 mg/kg, 8.6 mg/kg, 8.7 mg/kg, 8.8 mg/kg, 8.9 mg/kg, 9 mg/kg, 9.1 mg/kg, 9.2 mg/kg, 9.3 mg/kg, 9.4 mg/kg, 9.5 mg/kg, 9.6 mg/kg, 9.7 mg/kg, 9.8 mg/kg, 9.9 mg/kg 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0450] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제, 예를 들어, dsRNA는 약 0.5 내지 약 50 mg/kg, 약 0.75 내지 약 50 mg/kg, 약 1 내지 약 50 mg/kg, 약 1.5 내지 약 50 mg/kg, 약 2 내지 약 50 mg/kg, 약 2.5 내지 약 50 mg/kg, 약 3 내지 약 50 mg/kg, 약 3.5 내지 약 50 mg/kg, 약 4 내지 약 50 mg/kg, 약 4.5 내지 약 50 mg/kg, 약 5 내지 약 50 mg/kg, 약 7.5 내지 약 50 mg/kg, 약 10 내지 약 50 mg/kg, 약 15 내지 약 50 mg/kg, 약 20 내지 약 50 mg/kg, 약 20 내지 약 50 mg/kg, 약 25 내지 약 50 mg/kg, 약 25 내지 약 50 mg/kg, 약 30 내지 약 50 mg/kg, 약 35 내지 약 50 mg/kg, 약 40 내지 약 50 mg/kg, 약 45 내지 약 50 mg/kg, 약 0.5 내지 약 45 mg/kg, 약 0.75 내지 약 45 mg/kg, 약 1 내지 약 45 mg/kg, 약 1.5 내지 약 45 mg/kg, 약 2 내지 약 45 mg/kg, 약 2.5 내지 약 45 mg/kg, 약 3 내지 약 45 mg/kg, 약 3.5 내지 약 45 mg/kg, 약 4 내지 약 45 mg/kg, 약 4.5 내지 약 45 mg/kg, 약 5 내지 약 45 mg/kg, 약 7.5 내지 약 45 mg/kg, 약 10 내지 약 45 mg/kg, 약 15 내지 약 45 mg/kg, 약 20 내지 약 45 mg/kg, 약 20 내지 약 45 mg/kg, 약 25 내지 약 45 mg/kg, 약 25 내지 약 45 mg/kg, 약 30 내지 약 45 mg/kg, 약 35 내지 약 45 mg/kg, 약 40 내지 약 45 mg/kg, 약 0.5 내지 약 40 mg/kg, 약 0.75 내지 약 40 mg/kg, 약 1 내지 약 40 mg/kg, 약 1.5 내지 약 40 mg/kg, 약 2 내지 약 40 mg/kg, 약 2.5 내지 약 40 mg/kg, 약 3 내지 약 40 mg/kg, 약 3.5 내지 약 40 mg/kg, 약 4 내지 약 40 mg/kg, 약 4.5 내지 약 40 mg/kg, 약 5 내지 약 40 mg/kg, 약 7.5 내지 약 40 mg/kg, 약 10 내지 약 40 mg/kg, 약 15 내지 약 40 mg/kg, 약 20 내지 약 40 mg/kg, 약 20 내지 약 40 mg/kg, 약 25 내지 약 40 mg/kg, 약 25 내지 약 40 mg/kg, 약 30 내지 약 40 mg/kg, 약 35 내지 약 40 mg/kg, 약 0.5 내지 약 30 mg/kg, 약 0.75 내지 약 30 mg/kg, 약 1 내지 약 30 mg/kg, 약 1.5 내지 약 30 mg/kg, 약 2 내지 약 30 mg/kg, 약 2.5 내지 약 30 mg/kg, 약 3 내지 약 30 mg/kg, 약 3.5 내지 약 30 mg/kg, 약 4 내지 약 30 mg/kg, 약 4.5 내지 약 30 mg/kg, 약 5 내지 약 30 mg/kg, 약 7.5 내지 약 30 mg/kg, 약 10 내지 약 30 mg/kg, 약 15 내지 약 30 mg/kg, 약 20 내지 약 30 mg/kg, 약 25 내지 약 30 mg/kg, 약 0.5 내지 약 20 mg/kg, 약 0.75 내지 약 20 mg/kg, 약 1 내지 약 20 mg/kg, 약 1.5 내지 약 20 mg/kg, 약 2 내지 약 20 mg/kg, 약 2.5 내지 약 20 mg/kg, 약 3 내지 약 20 mg/kg, 약 3.5 내지 약 20 mg/kg, 약 4 내지 약 20 mg/kg, 약 4.5 내지 약 20 mg/kg, 약 5 내지 약 20 mg/kg, 약 7.5 내지 약 20 mg/kg, 약 10 내지 약 20 mg/kg, 또는 약 15 내지 약 20 mg/kg의 용량으로 투여된다. 일 실시형태에서, dsRNA는 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0451] 예를 들어, 대상체는 iRNA의 치료량, 예컨대 약 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg, 2.6 mg/kg, 2.7 mg/kg, 2.8 mg/kg, 2.9 mg/kg, 3 mg/kg, 3.1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 3.3 mg/kg, 3.4 mg/kg, 3.5 mg/kg, 3.6 mg/kg, 3.7 mg/kg, 3.8 mg/kg, 3.9 mg/kg, 4 mg/kg, 4.1 mg/kg, 4.2 mg/kg, 4.3 mg/kg, 4.4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 4.6 mg/kg, 4.7 mg/kg, 4.8 mg/kg, 4.9 mg/kg, 5 mg/kg, 5.1 mg/kg, 5.2 mg/kg, 5.3 mg/kg, 5.4 mg/kg, 5.5 mg/kg, 5.6 mg/kg, 5.7 mg/kg, 5.8 mg/kg, 5.9 mg/kg, 6 mg/kg, 6.1 mg/kg, 6.2 mg/kg, 6.3 mg/kg, 6.4

mg/kg, 6.5 mg/kg, 6.6 mg/kg, 6.7 mg/kg, 6.8 mg/kg, 6.9 mg/kg, 7 mg/kg, 7.1 mg/kg, 7.2 mg/kg, 7.3 mg/kg, 7.4 mg/kg, 7.5 mg/kg, 7.6 mg/kg, 7.7 mg/kg, 7.8 mg/kg, 7.9 mg/kg, 8 mg/kg, 8.1 mg/kg, 8.2 mg/kg, 8.3 mg/kg, 8.4 mg/kg, 8.5 mg/kg, 8.6 mg/kg, 8.7 mg/kg, 8.8 mg/kg, 8.9 mg/kg, 9 mg/kg, 9.1 mg/kg, 9.2 mg/kg, 9.3 mg/kg, 9.4 mg/kg, 9.5 mg/kg, 9.6 mg/kg, 9.7 mg/kg, 9.8 mg/kg, 9.9 mg/kg, 10 mg/kg, 10.5 mg/kg, 11 mg/kg, 11.5 mg/kg, 12 mg/kg, 12.5 mg/kg, 13 mg/kg, 13.5 mg/kg, 14 mg/kg, 14.5 mg/kg, 15 mg/kg, 15.5 mg/kg, 16 mg/kg, 16.5 mg/kg, 17 mg/kg, 17.5 mg/kg, 18 mg/kg, 18.5 mg/kg, 19 mg/kg, 19.5 mg/kg, 20 mg/kg, 20.5 mg/kg, 21 mg/kg, 21.5 mg/kg, 22 mg/kg, 22.5 mg/kg, 23 mg/kg, 23.5 mg/kg, 24 mg/kg, 24.5 mg/kg, 25 mg/kg, 25.5 mg/kg, 26 mg/kg, 26.5 mg/kg, 27 mg/kg, 27.5 mg/kg, 28 mg/kg, 28.5 mg/kg, 29 mg/kg, 29.5 mg/kg, 30 mg/kg, 31 mg/kg, 32 mg/kg, 33 mg/kg, 34 mg/kg, 34 mg/kg, 35 mg/kg, 36 mg/kg, 37 mg/kg, 38 mg/kg, 39 mg/kg, 40 mg/kg, 41 mg/kg, 42 mg/kg, 43 mg/kg, 44 mg/kg, 45 mg/kg, 46 mg/kg, 47 mg/kg, 48 mg/kg, 49 mg/kg 또는 약 50 mg/kg를 투여받을 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0452] 소정의 실시형태에서, 예를 들어, 본 발명의 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 dsRNA 및 지질을 포함하는 경우, 대상체는 iRNA를 치료량으로, 예컨대 0.01 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.2 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.4 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.4 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 1.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 2.5 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 3.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 4.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 6 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 6.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 7 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 7.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 8 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 8.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 9 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 9.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg으로 투여받을 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0453] 예를 들어, dsRNA는 약 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg, 2.6 mg/kg, 2.7 mg/kg, 2.8 mg/kg, 2.9 mg/kg, 3 mg/kg, 3.1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 3.3 mg/kg, 3.4 mg/kg, 3.5 mg/kg, 3.6 mg/kg, 3.7 mg/kg, 3.8 mg/kg, 3.9 mg/kg, 4 mg/kg, 4.1 mg/kg, 4.2 mg/kg, 4.3 mg/kg, 4.4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 4.6 mg/kg, 4.7 mg/kg, 4.8 mg/kg, 4.9 mg/kg, 5 mg/kg, 5.1 mg/kg, 5.2 mg/kg, 5.3 mg/kg, 5.4 mg/kg, 5.5 mg/kg, 5.6 mg/kg, 5.7 mg/kg, 5.8 mg/kg, 5.9 mg/kg, 6 mg/kg, 6.1 mg/kg, 6.2 mg/kg, 6.3 mg/kg, 6.4 mg/kg, 6.5 mg/kg, 6.6 mg/kg, 6.7 mg/kg, 6.8 mg/kg, 6.9 mg/kg, 7 mg/kg, 7.1 mg/kg, 7.2 mg/kg, 7.3 mg/kg, 7.4 mg/kg, 7.5 mg/kg, 7.6 mg/kg, 7.7 mg/kg, 7.8 mg/kg, 7.9 mg/kg, 8 mg/kg, 8.1 mg/kg, 8.2 mg/kg, 8.3 mg/kg, 8.4 mg/kg, 8.5 mg/kg, 8.6 mg/kg, 8.7 mg/kg, 8.8 mg/kg, 8.9 mg/kg, 9 mg/kg, 9.1 mg/kg, 9.2 mg/kg, 9.3 mg/kg, 9.4 mg/kg, 9.5 mg/kg, 9.6 mg/kg, 9.7 mg/kg, 9.8 mg/kg, 9.9 mg/kg 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0454] 본 발명의 소정의 실시형태에서, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제가 변형(예를 들어, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프(작용제의 절단 부위 또는 그 근처에서 이러한 모티프를 포함하는 것을 포함함)), 6개의 포스포로티오에이트 결합, 및 리간드를 포함하는 경우, 이러한 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.03

mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg 또는 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg의 용량으로 투여된다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도되며, 예를 들어, RNAi 작용제는 약 0.015 mg/kg 내지 약 0.45 mg/kg의 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다.

[0455] 예를 들어, RNAi 작용제, 예를 들어, 약학적 조성물 내의 RNAi 작용제는 약 0.01 mg/kg, 0.0125 mg/kg, 0.015 mg/kg, 0.0175 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.0225 mg/kg, 0.025 mg/kg, 0.0275 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.0325 mg/kg, 0.035 mg/kg, 0.0375 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.0425 mg/kg, 0.045 mg/kg, 0.0475 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.0525 mg/kg, 0.055 mg/kg, 0.0575 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.0625 mg/kg, 0.065 mg/kg, 0.0675 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.0725 mg/kg, 0.075 mg/kg, 0.0775 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.0825 mg/kg, 0.085 mg/kg, 0.0875 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.0925 mg/kg, 0.095 mg/kg, 0.0975 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.125 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.175 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.225 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.275 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.325 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.375 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.425 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.475 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 상기 인용된 값에 중간인 값도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0456] 약학적 조성물은 매일 1회 투여될 수 있거나 iRNA는 하루 전체에 걸쳐 적절한 간격으로 2, 3 또는 그 이상의 하루 용량으로 또는 심지어 연속 주입 또는 방출 제어 제형(controlled release formulation)을 통한 전달을 이용하여 투여될 수 있다. 그러한 경우, 각각의 하루-용량에 포함된 iRNA는 총 일간 투여량을 달성하기 위하여 이에 상응하게 더 적어야 한다. 투여량 단위는 예컨대, 며칠간의 기간에 걸쳐 iRNA의 지속 방출을 제공하는 종래 지속 방출 제형을 이용하여 며칠간에 걸쳐서 전달되기 위해 배합될 수도 있다. 지속 방출 제형은 업계에 주지되어 있으며, 본 발명의 작용제와 함께 이용될 수 있는 바와 같이, 특정 부위에서 작용제의 전달을 위해 특히 유용하다. 이 실시형태에서, 투여량 단위는 일간 용량의 상응하는 배수를 포함한다.

[0457] 다른 실시형태에서, 단일 용량의 약학적 조성물은 장기적으로 지속하여, 이후 용량은 3일, 4일 또는 5일 간격 이하, 또는 1주, 2주, 3주 또는 4주 간격 이하로 투여된다. 본 발명의 일부 실시형태에서, 단일 용량의 본 발명의 약학적 조성물은 주 1회 투여된다. 본 발명의 다른 실시형태에서, 단일 용량의 본 발명의 약학적 조성물은 2개월마다 투여된다.

[0458] 당업자는 질병 또는 질환의 중증도, 이전 치료, 대상체의 일반 건강 및/또는 연령 및 기타 현재 질병을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 특정 인자는 대상체를 효과적으로 치료하는데 필요한 투여량 및 타이밍(timing)에 영향을 줄 수 있다는 것을 알 것이다. 또한, 대상체를 치료적 유효량의 조성물로 치료하는 것은 단일 치료 또는 일련의 치료를 포함할 수 있다. 본 발명에 포함되는 개별 iRNA들에 대한 효과적인 투여량 및 생체 내 반감기의 측정은 본원의 어디에선가 기술된 바와 같이, 종래 방법론을 이용하거나 적절한 동물 모델을 이용한 생체 내 시험을 기초로 하여 이루어질 수 있다.

[0459] 마우스 유전학의 진보로 인하여 TMPRSS6의 발현 감소로 이득을 보는 철분 과부하와 관련된 병증과 같이, 다양한 인간 질병의 연구에 대한 수많은 마우스 모델들을 생성하였다. 그러한 모델은 치료적 유효 용량의 결정뿐만 아니라 iRNA의 생체 내 시험을 위해 이용될 수 있다. 적당한 마우스 모델은 업계에 알려져 있으며 예를 들어, β -탈라세미아의 모델로서 탈라세미아 Th3/+ 마우스(문헌[Douet 등, *Am. J. Pathol.* (2011), 178(2):774-83]), 유전성 혈색소침착증의 모델로서 HFE 녹아웃 마우스(문헌[Zhou et al. (1998) *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 85:2492-2497]); 선천성 적혈구조혈성 포르피린증의 모델로서 Uros(mut248) 마우스(문헌[Ged et al. (2006) *Genomics*, 87(1):84-92])를 포함한다.

[0460] 본 발명의 약학적 조성물은 국소 또는 전신 치료를 요하는지 여부 및 치료될 부위에 따라 수많은 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 (예컨대, 경피 패치에 의한) 국소, 폐, 예컨대, 분무기에 의하는 것을 비롯하여 분말 또는 에어로졸의 흡입 또는 통기(insufflation)에 의하고; 기관삽관, 비강 내, 표피 및 경피, 경구 또는 비경구일 수 있다. 비경구 투여는 정맥 내, 동맥 내, 피하, 복막 내 또는 근육 내 주사 또는 주입; 피하, 예컨대, 이식된 장치를 통한; 또는 두개 내, 예컨대, 뇌실질 내, 척수강 내 또는 뇌실 내 투여를 포함한다.

- [0461] iRNA는 간(예컨대, 간의 간세포)과 같은 특정 조직을 표적하는 방식으로 전달될 수 있다.
- [0462] 국소 투여를 위한 약학적 조성물 및 제형은 경피 패치, 연고, 로션, 크림, 젤, 드롭, 좌약, 스프레이, 액체 및 분말을 포함할 수 있다. 종래 약학적 담체, 수성, 분말 또는 유성 베이스(oily base), 증점제 등은 필요하거나 바람직할 수 있다. 코팅된 콘돔, 장갑 등도 유용할 수 있다. 적당한 국소 제형으로는 본 발명에서 특징된 iRNA가 지질, 리포솜, 지방산, 지방산 에스테르, 스테로이드, 킬레이트제 및 계면활성제와 같은 국소 전달 작용제와 혼합되어 있는 것들을 포함한다. 적당한 지질 및 리포솜으로는 중성(예컨대, 디올레오일포스파티딜 DOPE 에탄올아민, 디미리스토일포스파티딜 콜린 DMPC, 디스테아로일포스파티딜 콜린), 음성(예컨대, 디미리스토일포스파티딜 글리세롤 DMPG) 및 양이온성(예컨대, 디올레오일테트라메틸아미노프로필 DOTAP 및 디올레오일포스파티딜 에탄올아민 DOTMA)이 포함된다. 본 발명에서 특징된 iRNA는 리포솜 내에서 캡슐화될 수 있거나 거기에, 특히 양이온성 리포솜에 복합체를 형성할 수 있다. 대안적으로, iRNA는 지질, 특히 양이온성 지질에 복합될 수 있다. 적당한 지방산 및 에스테르는 아라키돈산, 올레산, 에이코산산, 라우르산, 카프릴산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인, 디라우린, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자시클로헥탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 C₁₋₂₀ 알킬 에스테르(예컨대, 이소프로필미리스테이트 IPM), 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 국소 제형은 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제6,747,014호에 상세히 기술되어 있다.
- [0463] A. 막 분자 어셈블리를 포함하는 iRNA 제형
- [0464] 본 발명의 조성물 및 방법에 이용되는 iRNA는 막 분자 어셈블리, 예컨대, 리포솜 또는 미셀 내에서 전달을 위해 제형화될 수 있다. 본원에서 사용된 "리포솜"이라는 용어는 적어도 하나의 이중층, 예컨대, 하나의 이중층 또는 복수개의 이중층내에서 배열된 양친매성 지질로 구성된 소낭을 지칭한다. 리포솜은 친지방성 물질로부터 형성된 막 및 수성 내부를 갖는 단일층상 또는 다중층상 소낭을 포함한다. 수성 부분은 iRNA 조성물을 포함한다. 친지방성 물질은 비록 일부 예들에서는 포함할 수 있어도, 통상적으로는 iRNA 조성물을 포함하지 않는 수성 외부로부터 수성 내부를 분리한다. 리포솜은 작용 부위의 활성 성분의 수송 및 전달에 유용하다. 리포솜막은 생물학적 막과 구조적으로 유사하기 때문에, 리포솜이 조직에 적용되는 경우, 리포솜 이중층이 세포막의 이중층과 융합한다. 리포솜 및 세포의 융합이 진행됨에 따라, iRNA를 포함하는 내부 수성 내용물이 세포로 전달되며, 여기서, iRNA는 표적 RNA와 특이적으로 결합할 수 있고 RNAi를 매개할 수 있다. 일부 경우에 있어서, 리포솜도 특이적으로 표적되어, 예컨대, iRNA를 특정 세포 유형으로 지시한다.
- [0465] RNAi 작용제를 포함하는 리포솜은 다양한 방법에 의하여 제조될 수 있다. 일례에서, 리포솜의 지질 구성성분은 미셀이 지질 구성성분으로 형성되도록 세제에 용해된다. 예를 들어, 지질 구성성분은 양친매성 양이온성 지질 또는 지질 콘쥬게이트일 수 있다. 세제는 높은 임계 미셀 농도를 가질 수 있으며, 비이온성일 수 있다. 예시적인 세제는 콜산염, CHAPS, 옥틸글루코시드, 테옥시콜산염 및 라우로일 사르코신을 포함한다. 이후 RNAi 작용제 제제는 지질 구성성분을 포함하는 미셀에 첨가된다. 지질상의 양이온기는 RNA 작용제와 상호작용하고 RNAi 작용제 주위에서 응축하여 리포솜을 형성한다. 응축 이후에는, 세제는 예컨대, 투석에 의하여 제거되어 RNAi 작용제의 리포솜 제제를 산출한다.
- [0466] 필요하다면, 응축을 보조하는 담체 화합물은 응축 반응 동안에 예컨대, 조절된 첨가에 의하여 첨가될 수 있다. 예를 들어, 담체 화합물은 핵산 이외의 중합체(예컨대, 스페르민 또는 스페르미딘)일 수 있다. 또한, pH는 조절되어 응축을 유리하게도 할 수 있다.
- [0467] 전달 운반체의 구조적 구성성분으로서 폴리뉴클레오타이드/양이온 지질 복합체를 포함하는 안정한 폴리뉴클레오타이드 전달 운반체를 생성하는 방법은 예컨대, 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함되어 있는 WO 96/37194호에 더 기술되어 있다. 리포솜 형성은 문헌[Felgner, P. L. 등, *Proc. Natl. Acad. Sci., USA* 8:7413-7417, 1987]; 미국 특허 제4,897,355호; 미국 특허 제5,171,678호; 문헌[Bangham, 등 *M. Mol. Biol.* 23:238, 1965; Olson, 등 *Biochim. Biophys. Acta* 557:9, 1979; Szoka, 등 *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75: 4194, 1978; Mayhew, 등 *Biochim. Biophys. Acta* 775:169, 1984; Kim, 등 *Biochim. Biophys. Acta* 728:339, 1983; 및 Fukunaga, 등 *Endocrinol.* 115:757, 1984]에 기술된 예시적인 방법의 하나 이상의 양태를 포함할 수도 있다. 전달 운반체로서 이용되는데 적당한 크기의 지질 응집체를 제조하는 흔히 이용되는 기법은 초음파처리 및 동결-해동 플러스 압출(freeze-thaw plus extrusion)을 포함한다(예컨대, 문헌[Mayer 등, *Biochim. Biophys. Acta* 858:161, 1986] 참조). 일관되게 작고(50 내지 200 nm) 및 상대적으로 균일한 응집체를 원하는 경우 미세유동화를 이용할 수 있다(문헌[Mayhew 등, *Biochim. Biophys. Acta* 775:169, 1984]). 이러한 방법은 RNAi 작용제 제제를 리포솜으로 패키징하도록 용이하게 개조된다.

- [0468] 리포솜은 2개의 광범위한 종류에 속한다. 양이온성 리포솜은 음으로 대전된 핵산 분자와 상호작용하여 안정한 복합체를 형성하는 양으로 대전된 리포솜이다. 양으로 대전된 핵산/리포솜 복합체는 음으로 대전된 세포 표면과 결합하고 엔도솜에 내재된다. 엔도솜 내의 산성 pH로 인하여, 리포솜은 파열되어 그 내용물을 세포 세포질로 방출한다(문헌[Wang 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985]).
- [0469] pH-민감성 또는 음으로 대전된 리포솜은 핵산과 복합하기 보다는 핵산을 트래핑한다. 핵산 및 지질이 유사하게 대전되기 때문에, 복합체 형성보다는 반발력이 발생한다. 그럼에도 불구하고, 일부 핵산이 이러한 리포솜의 수성 내부 내에서 트래핑된다. pH-민감성 리포솜은 배양되는 세포 단일층들로 티미딘 키나아제 유전자를 인코딩하는 핵산을 전달하는데 이용되어 왔다. 외인성 유전자의 발현은 표적 세포에서 검출되었다(문헌[Zhou 등, *Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274]).
- [0470] 리포솜 조성물의 하나의 중요한 유형은 천연-유래 포스파티딜콜린이 아닌 인지질을 포함한다. 중성 리포솜 조성물은, 예를 들어, 디미리스토일 포스파티딜콜린(DMPC) 또는 디팔미토일 포스파티딜콜린(DPPC)으로부터 형성될 수 있다. 음이온성 리포솜 조성물은 일반적으로 디미리스토일 포스파티딜글리세롤로부터 형성되는 반면에, 음이온성 융합성 리포솜은 주로 디올레오일 포스파티딜에탄올아민(DOPE)으로부터 형성된다. 다른 유형의 리포솜 조성물은 예를 들어, 대두 PC 및 계란 PC와 같이 포스파티딜콜린(PC)으로부터 형성된다. 다른 유형은 인지질 및/또는 포스파티딜콜린 및/또는 콜레스테롤의 혼합물로부터 형성된다.
- [0471] 시험관 내 및 생체 내에서 세포로 리포솜을 도입하는 다른 방법의 예는 미국 특허 번호 5,283,185호; 미국 특허 번호 5,171,678호; WO 94/00569호; WO 93/24640호; WO 91/16024호; 문헌[Felgner, *J. Biol. Chem.* 269:2550, 1994]; Nabel, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 90:11307, 1993; Nabel, *Human Gene Ther.* 3:649, 1992; Gershon, *Biochem.* 32:7143, 1993; 및 Strauss, *EMBO J.* 11:417, 1992]를 포함한다.
- [0472] 비이온성 리포솜 시스템, 특히, 비이온성 계면활성제 및 콜레스테롤을 포함하는 시스템도 피부로의 약물의 전달에 있어서 그 유용성을 결정하기 위해 조사되었다. Novasome™ I(글리세릴 디라우레이트/콜레스테롤/폴리옥시에틸렌-10-스테아릴 에테르) 및 Novasome™ II(글리세릴 디스테아레이트/콜레스테롤/폴리옥시에틸렌-10-스테아릴 에테르)를 포함하는 비이온성 리포솜 제형을 이용하여 마우스 피부의 진피로 시클로스포린-A를 전달하였다. 결과에 따르면 그러한 비이온성 리포솜 시스템은 시클로스포린-A의 피부의 상이한 층들로의 침착을 촉진시키는데 효과적이었다(문헌[Hu 등, *S.T.P. Pharma. Sci.*, 1994, 4(6) 466]).
- [0473] 리포솜은 "입체적으로 안정화된" 리포솜도 포함하는데, 본원에 사용된 이 용어는 하나 이상의 특수화된 지질이 리포솜으로 혼입되는 경우, 그러한 특수화된 지질이 부족한 리포솜과 비교하여 순환 수명을 향상시키는 결과를 갖는 하나 이상의 특수화된 지질을 포함하는 리포솜을 지칭한다. 입체적으로 안정화된 리포솜의 예로는 리포솜의 소낭-형성 지질 부분(A)의 일부가 모노시알로강글리오시드 G_{M1} 등과 같은 하나 이상의 글리코지질을 포함하거나 (B)가 폴리에틸렌 글리콜(PEG) 모이어티와 같은 하나 이상의 친수성 중합체로 유도체화되는 것들이다. 어느 특정한 이론에 구속되려 하지 않으면서, 적어도 강글리오시드, 스펅고미엘린 또는 PEG-유도체화 지질을 포함하는 입체적으로 안정화된 리포솜에 대하여, 이러한 입체적으로 안정화된 리포솜의 향상된 순환 반감기는 세망내피계통(RES)의 세포로의 감소된 흡수로부터 유래한다고 업계에서 간주된다(문헌[Allen 등, *FEBS Letters*, 1987, 223, 42; Wu 등, *Cancer Research*, 1993, 53, 3765]).
- [0474] 하나 이상의 글리코지질을 포함하는 다양한 리포솜이 업계에 알려져 있다. Papahadjopoulos 등(문헌[*Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1987, 507, 64])은 모노시알로강글리오시드 G_{M1} , 갈락토세레브로시드 설페이트 및 포스파티딜리노시톨이 리포솜의 혈액 반감기를 향상시키는 능력을 보고하였다. 이러한 발견은 Gabizon 등(문헌[*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1988, 85, 6949])에 의하여 상세히 설명되었다. 양쪽 모두가 Allen 등에 속하는 미국 특허 번호 4,837,028호 및 국제 특허 출원 번호 WO 88/04924호는 스펅고미엘린을 포함하는 리포솜(1) 및 강글리오시드 G_{M1} 또는 갈락토세레브로시드 설페이트 에스테르를 포함하는 리포솜(2)을 개시한다. 미국 특허 번호 5,543,152 호(Webb 등)는 스펅고미엘린을 포함하는 리포솜을 개시한다. 1,2-sn-디미리스토일포스파티딜콜린을 포함하는 리포솜은 국제 특허 출원 번호 WO 97/13499 호(Lim 등)에 개시되어 있다.
- [0475] 일 실시형태에서, 양이온성 리포솜이 이용된다. 양이온성 리포솜은 세포막으로 융합할 수 있는 이점을 가진다. 비-양이온성 리포솜은 비록 원형질막과 효율적으로 융합할 수 없다고 하더라도 생체 내에서 대식세포들에 의하여 취해지고, RNAi 작용제를 대식세포들로 전달하기 위해 이용될 수 있다.
- [0476] 리포솜의 다른 이점은 다음을 포함한다; 천연 인지질로부터 얻은 리포솜은 생물학적 적합성 및 생물분해성이 있

고; 리포솜은 광범위한 물 및 지질 용해성 약물이 혼입될 수 있고; 리포솜은 그 내부 격실에 있는 캡슐화된 RNAi 작용제를 물질 대사 및 분해로부터 보호할 수 있다(문헌[Rosoff, in "Pharmaceutical Dosage Forms," Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p. 245]). 리포솜 제형의 제제에 있어서 중요한 고려 사항은 리포솜의 지질 표면 전하, 소낭 크기 및 수성 부피이다.

[0477] 양으로 대전된 합성 양이온성 지질인 N-[1-(2,3-디올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTMA A)를 이용하여 핵산과 자발적으로 상호작용하는 작은 리포솜을 형성하여 조직 배양 세포의 세포막의 음으로 대전된 지질과 융합할 수 있는 지질-핵산 복합체를 형성하여, RNAi 작용제의 전달이 이루어질 수 있다(예컨대, 문헌[Felgner, P. L. 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:7413-7417, 1987] 및 DOTMA의 설명 및 DNA와의 그 용도에 대한 미국 특허 번호 4,897,355호 참조).

[0478] DOTMA 유사체인 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니아)프로판(DOTAP)을 인지질과 병용하여 DNA-복합 소낭을 형성할 수 있다. Lipofectin™ (Bethesda Research Laboratories, 게이더스버그, 메릴랜드)은 고도의 음이온성 핵산을 음으로 대전된 폴리뉴클레오타이드와 자발적으로 상호작용하는 양으로 대전된 DOTMA 리포솜을 포함하는 살아있는 조직 배양 세포로 전달하여 복합체를 형성하는데 효과적인 작용제이다. 충분히 양으로 대전된 리포솜을 이용하는 경우, 이로 인해 생성된 복합체 상의 순전하 또한 양이다. 이런 식으로 제조된 양으로 대전된 복합체는 음으로 대전된 세포 표면에 자발적으로 부착하고, 원형질막과 융합하며, 기능적 핵산을 예를 들어, 조직 배양 세포로 효율적으로 전달한다. 다른 상업적으로 허용 가능한 양이온성 지질, 1,2-비스(올레오일옥시)-3,3-(트리메틸암모니아)프로판("DOTAP") (Boehringer Mannheim, 인디애나폴리스, 인디애나)은 올레오일 모이어티들이 에테르 연결보다는 에스테르에 의하여 연결된다는 점에서 DOTMA와 상이하다.

[0479] 다른 보고된 양이온성 지질 화합물은 예를 들어, 두가지 유형의 지질 중 하나에 콘주게이트되고 5-카르복시스페르밀글리신 디옥타올레오일아미드("DOGS")(Transfectam™, Promega, 매디슨, 위스콘신) 및 디팔미토일포스파티딜에탄올아민 5-카르복시스페르밀-아미드("DPPE")와 같은 화합물을 포함하는 카르복시스페르민을 포함하는 다양한 모이어티들에 콘주게이션된 것들을 포함한다(예컨대, 미국 특허 번호 5,171,678호 참조).

[0480] 다른 양이온성 지질 콘주게이트는 DOPE와 조합되어 리포솜으로 제형화되는 콜레스테롤("DC-Chol")과 지질의 유도체화를 포함한다(문헌[Gao, X. and Huang, L., *Biochim. Biophys. Res. Commun.* 179:280, 1991] 참조). 폴리리신을 DOPE에 콘주게이트하여 제조되는 지질폴리리신(lipopolylysine)은 혈청의 존재하에 형질감염에 대하여 유효한 것으로 보고되었다(문헌[Zhou, X. 등, *Biochim. Biophys. Acta* 1065:8, 1991]). 특정 세포주에 대하여, 콘주게이트된 양이온성 지질을 포함하는 이러한 리포솜은 DOTMA-함유 조성물보다 더 낮은 독성을 보이며 더 효율적인 형질감염을 제공하는 것으로 전해진다. 기타 상업적으로 이용 가능한 양이온성 지질 생성물은 DMRIE 및 DMRIE-HP(Vical, 라 줄라, 캘리포니아) 및 리포펙타민(DOSPA)(Life Technology, Inc., 게이더스버그, 메릴랜드)을 포함한다. 올리고뉴클레오타이드의 전달에 적합한 기타 양이온성 지질은 WO 98/39359호 및 WO 96/37194호에 기술되어 있다.

[0481] 리포솜 제형은 국소 투여에 특히 적합하며, 리포솜은 기타 제형보다 더 몇몇 장점을 제시한다. 그러한 장점은 투여된 약물의 높은 전신 흡수에 관한 감소된 부작용, 소기의 표적에서 투여된 약물의 증가된 축적 및 피부로 RNAi 작용제를 투여할 수 있는 능력을 포함한다. 일부 구체예들에 있어서, 리포솜은 RNAi 작용제를 상피 세포로 전달하는데 이용되며, 또한, RNAi 작용제의 피부 조직, 예컨대, 피부로의 투과를 향상시키기 위해서 이용된다. 예를 들어, 리포솜은 국소적으로 도포될 수 있다. 리포솜으로 제형화되는 약물의 피부로의 국소 전달은 문서화되었다(예컨대, 문헌[Weiner 등, *Journal of Drug Targeting*, 1992, vol. 2, 405-410] 및 문헌[du Plessis 등, *Antiviral Research*, 18, 1992, 259-265; Mannino, R. J. and Fould-Fogerite, S., *Biotechniques* 6:682-690, 1988; Itani, T. 등 *Gene* 56:267-276, 1987; Nicolau, C. 등 *Meth. Enz.* 149:157-176, 1987; Straubinger, R. M. and Papahadjopoulos, D. *Meth. Enz.* 101:512-527, 1983; Wang, C. Y. and Huang, L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:7851-7855, 1987] 참조).

[0482] 비이온성 리포솜 시스템, 특히, 비이온성 계면활성제 및 콜레스테롤을 포함하는 시스템도 피부로의 약물의 전달에 있어서 그 유용성을 결정하기 위해 조사되었다. Novasome I(글리세릴 디라우레이트/콜레스테롤/폴리옥시에틸렌-10-스테아릴 에테르) 및 Novasome II(글리세릴 디스테아레이트/콜레스테롤/폴리옥시에틸렌-10-스테아릴 에테르)를 포함하는 비이온성 리포솜 제형을 이용하여 마우스 피부의 표피로 약물을 전달하였다. RNAi 작용제와의 그러한 제형은 피부 질환을 치료하는데 유용하다.

[0483] iRNA를 포함하는 리포솜은 고도로 변형가능하게 할 수 있다. 그러한 변형가능함은 리포솜이 리포솜의 평균 반경보다 더 작은 기공을 통과하도록 할 수 있다. 예를 들어, 트랜스퍼솜은 변형가능한 리포솜의 일 유형이다. 트랜

스퍼숨은 표면단 활성화제, 통상적으로 계면활성제를 표준 리포숨 조성물에 첨가함으로써 제조될 수 있다. RNAi 작용제를 포함하는 트랜스퍼숨은 예를 들어, RNAi 작용제를 피부 내에서 케라틴 생성 세포로 전달하기 위하여 감염에 의하여 피하적으로 전달될 수 있다. 무손상 포유류의 피부를 가로지르기 위하여, 지질 소낭은 적당한 경피 구배의 영향 하에서 각각의 직경이 50 nm 미만인 일련의 미세 기공들을 통과하여야 한다. 또한, 지질 특성으로 인하여, 이러한 트랜스퍼숨은 자가-최적화하고(예컨대, 피부 내의 기공의 형상에 적응됨), 자가-복구할 수 있으며, 종종 단편화하지 않고 그 표적에 도달하며 자주 자가-로딩(loading)할 수 있다.

[0484] 본 발명에 부합하는 기타 제형은 2008년 1월 2일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/018,616호; 2008년 1월 2일에 출원된 61/018,611호; 2008년 3월 26일에 출원된 61/039,748호; 2008년 4월 22일에 출원된 61/047,087호 및 2008년 5월 8일에 출원된 61/051,528호에 기술되어 있다. 2007년 10월 3일에 출원된 PCT 출원 번호 PCT/US2007/080331호도 본 발명에 부합하는 제형을 기술한다.

[0485] 트랜스퍼숨은 또 다른 유형의 리포숨이며, 약물 전달 운반체에 대한 매력적인 후보인 고도로 변형가능한 지질 응집체이다. 트랜스퍼숨은 고도로 변형가능하여 소적보다 더 작은 기공을 용이하게 침투할 수 있는 지질 소적으로 기술될 수 있다. 트랜스퍼숨은 이들이 이용되는 환경에 적응될 수 있으며, 예컨대, 이들은 자가-최적화하고(피부 내의 기공의 형상에 적응됨), 자가-복구하며, 종종 단편화하지 않고 그 표적에 도달하며 자주 자가-로딩한다. 트랜스퍼숨을 제작하기 위하여, 표면단-활성화제, 통상적으로 계면활성제를 표준 리포숨 조성물에 첨가하는 것이 가능하다. 트랜스퍼숨은 피부에 혈청 알부민을 전달하는데 이용되어 왔다. 혈청 알부민의 트랜스퍼숨-매개 전달은 혈청 알부민을 포함하는 용액의 피하 주사만큼 유효하다고 밝혀져 있다.

[0486] 계면활성제는 (마이크로에멀전을 포함하는) 에멀전 및 리포숨과 같은 제형에서 광범위한 응용이 있다. 천연 및 합성인 많은 상이한 유형의 계면활성제의 특성을 분류하고 등급화하는 가장 흔한 방법은 친수성/친지방성 균형(HLB)의 이용에 의한 것이다. ("머리"로도 알려진) 친수성기의 특성은 제형에서 이용되는 상이한 계면활성제를 범주로 나누는 가장 유용한 수단을 제공한다(문헌[Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285]에서).

[0487] 계면활성제 분자가 이온화되지 않으면, 이는 비이온성 계면활성제로 분류된다. 비이온성 계면활성제는 약학적 및 화장품 제품에서 광범위한 응용이 있으며 넓은 범위의 pH 값에 걸쳐 사용할 수 있다. 일반적으로, 그 HLB 값은 그 구조에 따라 2 내지 약 18에 이른다. 비이온성 계면활성제는 에틸렌 글리콜 에스테르, 프로필렌 글리콜 에스테르, 글리세릴 에스테르, 폴리글리세릴 에스테르, 소르비탄 에스테르, 수크로스 에스테르 및 에톡실화된 에스테르와 같은 비이온성 에스테르를 포함한다. 지방 알코올 에톡실레이트, 프로폭실화된 알코올 및 에톡실화/프로폭실화 블록 중합체와 같은 비이온성 알칸올아미드 및 에테르도 이 분류에 포함된다. 폴리옥시에틸렌 계면활성제는 비이온성 계면활성제 클래스의 가장 인기있는 요소이다.

[0488] 만약 계면활성제 분자가 물에 용해되거나 분산되는 경우 음전하를 보유한다면, 계면활성제는 비이온성으로 분류된다. 음이온성 계면활성제는 비누와 같은 카브록실레이트, 아실 락틸레이트, 아미노산의 아실 아마이드, 알킬 설페이트 및 에톡실화 알킬 설페이트와 같은 황산의 에스테르, 알킬 벤젠 설포네이트와 같은 설포네이트, 아실 이세티오네이트, 아실 타우레이트 및 설포석시네이트 및 포스페이트를 포함한다. 음이온성 계면활성제 클래스의 가장 중요한 요소는 알킬 설페이트 및 비누이다.

[0489] 만약 계면활성제 분자가 물에 용해되거나 분산되는 경우 양전하를 보유한다면, 계면활성제는 양이온성으로 분류된다. 양이온성 계면활성제는 4급 암모늄 염 및 에톡실화 아민을 포함한다. 4급 암모늄 염은 이 클래스의 가장 많이 이용되는 요소이다.

[0490] 만약 계면활성제 분자가 양전하 또는 음전하를 보유하는 능력을 가진다면, 계면활성제는 양쪽성으로 분류된다. 양쪽성 계면활성제는 아크릴산 유도체, 치환된 알킬아미드, N-알킬베타인 및 포스파티드를 포함한다.

[0491] 계면활성제를 약물 제품, 제형 및 에멀전에 이용하는 것을 검토하였다(문헌[Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285]에서).

[0492] 본 발명의 방법에 이용되는 iRNA는 미셀 제형으로 제공될 수도 있다. "미셀"은 분자의 모든 소수성 부분들이 안으로 향하게 되어, 친수성 부분들이 주위의 수상과 접촉하도록, 양친매성 분자들이 구형 구조로 배열되어 있는 특정 유형의 분자 어셈블리로서 본원에 정의되어 있다. 환경이 소수성이면 반대 배열이 존재한다.

[0493] 경피막을 통한 전달에 적당한 혼합된 미셀 제형은 siRNA 조성물, 알칼리 금속 C₈ 내지 C₂₂ 알킬 설페이트 및 미셀 형성 화합물의 수용액을 혼합함으로써 제조될 수 있다. 예시적인 미셀 형성 화합물은 레시틴, 히알루론산,

히알루론산의 약학적으로 허용 가능한 염, 글리콜산, 락트산, 카모마일 추출물, 오이 추출물, 올레산, 리놀레산, 리놀렌산, 모노올레인, 모노올리에이트, 모노라우레이트, 보라지유, 달맞이꽃유, 멘톨, 트리히트록시 옥소 콜라닐 글리신 및 그 약학적으로 허용 가능한 염, 글리세린, 폴리글리세린, 리신, 폴리로신, 트리올레인, 폴리옥시에틸렌 에테르 및 그 유사체, 폴리도카놀 알킬 에테르 및 그 유사체, 케노데옥시콜산염, 데옥시콜산염, 및 그 혼합물을 포함한다. 미셀 형성 화합물은 알칼리 금속 알킬 설페이트와 동시에 또는 이의 첨가 이후에 첨가될 수 있다. 혼합된 미셀은 더 작은 크기의 미셀을 제공하기 위하여 실질적으로 임의의 성분과 혼합하지만 격렬한 혼합으로 형성될 것이다.

[0494] 하나의 방법에 있어서, siRNA 조성물 및 적어도 알칼리 금속 알킬 설페이트를 포함하는 제1 미셀 조성물이 제조된다. 이후 제1 미셀 조성물은 적어도 3개의 미셀 형성 혼합물과 혼합되어 혼합된 미셀 조성물을 형성한다. 다른 방법에 있어서, 미셀 조성물은 siRNA 조성물, 알칼리 금속 알킬 설페이트 및 미셀 형성 화합물들 중 적어도 하나를 혼합한 이후, 나머지 미셀 형성 화합물들을 격렬히 혼합하면서 첨가함으로써 제조된다.

[0495] 페놀 및/또는 m-크레솔은 혼합된 미셀 조성물에 첨가되어 제형을 안정화시키고 세균 성장에 대항하여 보호할 수 있다. 대안적으로, 페놀 및/또는 m-크레솔은 미셀 형성 성분들과 함께 첨가될 수 있다. 글리세린과 같은 등장제는 혼합된 미셀 조성물을 형성한 이후에 첨가될 수도 있다.

[0496] 미셀 제형을 스프레이로 전달하기 위하여, 제형은 에어로졸 분배기로 들어갈 수 있고, 분배기는 추진제로 충전된다. 압력 하에 있는 추진제는 분배기 내에서 액체 형태이다. 성분들의 비율은 수상 및 추진제상이 하나가 되도록, 즉, 하나의 상이 존재하도록, 조정된다. 2가지 상들이 존재한다면, 예컨대, 계량 밸브를 통해 내용물의 일부를 분배하기 전에 분배기를 흔들 필요가 있다. 약학 제제의 분배된 용량은 미세한 스프레이의 계량 밸브로부터 추진된다.

[0497] 추진제는 수소-함유 염화불화탄소, 수소-함유 불화탄소, 디메틸 에테르 및 디에틸 에테르를 포함할 수 있다. 특정 실시형태에서, HFA 134a(1,1,1,2 테트라플루오로에탄)를 이용할 수 있다.

[0498] 필수 성분들의 특정 농도는 상대적으로 간단한 실험에 의하여 측정될 수 있다. 구강을 통한 흡수를 위해, 주사를 통한 투약량 또는 위장관을 통한 투여를 예컨대, 적어도 2배 또는 3배 증가시키는 것이 종종 바람직하다.

[0499] B. 지질 입자

[0500] iRNA, 예컨대, 본 발명의 dsRNA는 지질 제형, 예컨대, LNP 또는 기타 핵산-지질 입자 내에 완전히 캡슐화된다.

[0501] 본원에 사용된 "LNP"라는 용어는 안정한 핵산-지질 입자를 지칭한다. LNP는 양이온성 지질, 비양이온성 지질 및 입자의 응집을 방지하는 지질(예컨대, PEG-지질 콘주게이트)을 포함한다. LNP는 이들이 정맥 내(i.v.) 주사 이후에 순환 수명이 연장된 것을 보이며, 원위(예컨대, 투여 부위로부터 물리적으로 분리된 부위들)에서 축적되기 때문에 전신적인 응용에 극히 유용하다. LNP는 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/03683호에서 설명된 캡슐화된 축합제-핵산 복합체를 포함하는 "pSPLP"를 포함한다. 본 발명의 입자는 통상적으로 약 50 nm 내지 약 150 nm, 더 통상적으로는 약 60 nm 내지 약 130 nm, 더 통상적으로는 약 70 nm 내지 약 110 nm, 가장 통상적으로는 약 70 nm 내지 약 90 nm의 평균 직경을 가지며, 실질적으로는 비독성이다. 또한, 핵산이 본 발명의 핵산-지질 입자 내에 존재하는 경우, 핵산은 수용액 내에서 뉴클레아제로 분해되는 것에 내성이 있다. 핵산-지질 입자 및 그 제조 방법은 예컨대, 미국 특허 번호 5,976,567호; 5,981,501호; 6,534,484호; 6,586,410호; 6,815,432호; 미국 특허 출원 공개 번호 2010/0324120호 및 국제 특허 출원 공개 번호 WO 96/40964호에 개시되어 있다.

[0502] 일 실시형태에서, 지질 대 약물 비율(질량/질량 비율)(예컨대, 지질 대 dsRNA 비율)은 약 1:1 내지 약 50:1, 약 1:1 내지 약 25:1, 약 3:1 내지 약 15:1, 약 4:1 내지 약 10:1, 약 5:1 내지 약 9:1, 또는 약 6:1 내지 약 9:1의 범위에 있을 것이다. 상기 인용된 범위에 중간인 범위도 본 발명의 일부로 고려된다.

[0503] 양이온성 지질은 예를 들어, N,N-디올레일-N,N-디메틸암모늄 클로라이드(DODAC), N,N-디스테아릴-N,N-디메틸암모늄 브로마이드(DDAB), N-(1-(2,3-디올레오일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTAP), N-(1-(2,3-디올레일옥시)프로필)-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTMA), N,N-디메틸-2,3-디올레일옥시)프로필아민(DODMA), 1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLinDMA), 1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLenDMA), 1,2-디리놀레일카르바모일옥시-3-디메틸아미노프로판(DLin-C-DAP), 1,2-디리놀레이옥시-3-(디메틸아미노)아세톡시프로판(DLin-DAC), 1,2-디리놀레이옥시-3-모르폴리노프로판(DLin-MA), 1,2-디리놀레오일-3-디메틸아미노프로판(DLinDAP), 1,2-디리놀레일티오-3-디메틸아미노프로판(DLin-S-DMA), 1-리놀레오일-2-리놀레일옥시-3-디메틸아미노프로판(DLin-2-DMA), 1,2-디리놀레일옥시-3-트리메틸아미노프로판 클로라이드 염(DLin-TMA.Cl), 1,2-디리놀레오일-3-트리메틸아미노프로판 클로라이드 염(DLin-TAP.Cl), 1,2-디리놀레일옥시-3-(N-메틸피페라지

노)프로판(DLin-MPZ), 또는 3-(N,N-디리놀레일아미노)-1,2-프로판디올(DLinAP), 3-(N,N-디올레일아미노)-1,2-프로판디올(DOAP), 1,2-디리놀레일옥소-3-(2-N,N-디메틸아미노)에톡시프로판(DLin-EG-DMA), 1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLinDMA), 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노메틸-[1,3]-디옥솔란(DLin-K-DMA) 또는 그 유사체, (3aR,5s,6aS)-N,N-디메틸-2,2-디((9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디에닐)테트라하이드로-3aH-시클로펜타[d][1,3]디옥솔-5-아민(ALN100), (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일 4-(디메틸아미노)부타노에이트(MC3),

1,1'-(2-(4-(2-((2-(비스(2-히드록시도데실)아미노)에틸)(2-히드록시도데실)아미노)에틸)피페라진-1-일)에틸아자네디일)디도데칸-2-올(Tech G1), 또는 그 혼합물일 수 있다. 양이온 지질은 입자 내에 존재하는 총 지질의 약 20 몰% 내지 약 50 몰% 또는 약 40 몰%로 포함될 수 있다.

[0504] 다른 실시형태에서, 화합물 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란을 이용하여 지질-siRNA 나노입자를 제조할 수 있다. 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란의 합성은 본원에 참조로 포함된 2008년 10월 23일에 출원된 미국 특허 가출원 번호 61/107,998호에 기술되어 있다.

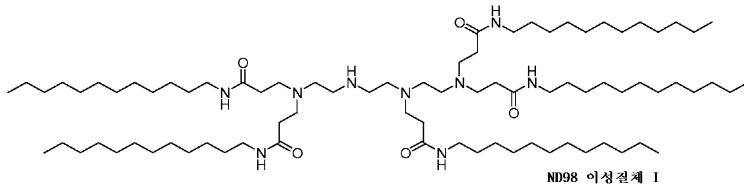
[0505] 일 실시형태에서, 지질-siRNA 입자는 63.0 ± 20 nm의 입자 크기 및 0.027 siRNA/지질 비율을 갖는 40% 2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란: 10% DSPC: 40% 콜레스테롤: 10% PEG-C-DOMG(몰 퍼센트)를 포함한다.

[0506] 이온화가능/비-양이온성 지질은 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 디올레오일-포스파티딜에탄올아민(DOPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 팔미토일올레오일포스파티딜에탄올아민(POPE), 디올레오일-포스파티딜에탄올아민 4-(N-말레이미도메틸)-시클로헥산-1-카르복실레이트(DOPE-말), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민(DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민(DMPE), 디스테아로일-포스파티딜-에탄올아민(DSPE), 16-0-모노메틸 PE, 16-0-디메틸 PE, 18-1-트랜스 PE, 1-스테아로일-2-올레오일-포스파티딜에탄올아민(SOPE), 콜레스테롤, 또는 그 혼합물을 포함하지만, 여기에 한정되지 않은 음이온성 지질 또는 중성 지질일 수 있다. 비양이온성 지질은 콜레스테롤이 포함된다면, 입자 내에 존재하는 총 지질의 약 5 몰% 내지 약 90 몰%, 약 10 몰% 또는 약 58 몰%일 수 있다.

[0507] 입자의 응집을 억제하는 콘주게이트된 지질은 예를 들어, PEG-디아실글리세롤(DAG), PEG-디아킬옥시프로필(DAA), PEG-인지질, PEG-세라미드(Cer) 또는 이들의 혼합물을 포함하지만 여기에 한정되지 않는 폴리에틸렌글리콜(PEG)-지질일 수 있다. PEG-DAA 콘주게이트는 예를 들어, PEG-디라우릴옥시프로필(Ci₂), PEG-디미리스틸옥시프로필(Ci₄), PEG-디팔미틸옥시프로필(Ci₆), 또는 PEG-디스테아릴옥시프로필(Ci₁₈)일 수 있다. 입자의 응집을 방지하는 콘주게이트 지질은 입자 내에 존재하는 총 지질의 0 몰% 내지 약 20 몰% 또는 약 2 몰%일 수 있다.

[0508] 일부 실시형태에서, 핵산-지질 입자는 콜레스테롤을 입자 내에 존재하는 총 지질의 예컨대, 약 10 몰% 내지 약 60 몰% 또는 약 48 몰%로 더 포함한다.

[0509] 일 실시형태에서, 리피도이드(lipidoid) ND98 · 4HCl (분자량 1487)(본원에서 참조로 포함되어 있는 2008년 3월 26일에 출원된 미국 특허 출원 번호 12/056,230 호 참조), 콜레스테롤(Sigma-Aldrich) 및 PEG-세라미드 C16(Avanti Polar Lipids)을 이용하여 지질-dsRNA 나노입자(즉, LNP01 입자)를 제조할 수 있다. 각각이 에탄올 내에 용해된 스톱 용액은 하기와 같이 제조될 수 있다: ND98, 133 mg/ml; 콜레스테롤, 25 mg/ml, PEG-세라미드 C16, 100 mg/ml. ND98, 콜레스테롤 및 PEG-세라미드 C16 스톱 용액은 이후 예컨대, 42:48:10 몰 비율로 조합될 수 있다. 조합된 지질 용액은 최종 에탄올 농도가 약 35 내지 45%이고 최종 아세트산 나트륨 농도가 약 100 내지 300 mM가 되도록 수성 dsRNA(예컨대, 아세트산 나트륨 pH 5에서)와 혼합될 수 있다. 지질-dsRNA 나노입자는 통상적으로 혼합시에 자발적으로 형성된다. 소기의 입자 크기 분포에 따라, 이로 생성된 나노입자 혼합물은 예를 들어, Lipex Extruder(Northern Lipids, Inc)와 같은 열배럴 압출기(thermobarrel extruder)를 이용하여 폴리카보네이트막(예컨대, 100 nm 컷-오프(cut-off))을 통해 압출될 수 있다. 일부 경우에 있어서, 압출 단계는 생략될 수 있다. 에탄올 제거 및 동시적인 완충제 교환은 예를 들어, 투석 또는 점선 유동 여과에 의하여 달성될 수 있다. 완충제는 예를 들어, 인산염 완충 식염수(PBS)와 약 pH 7, 예컨대, 약 pH 6.9, 약 pH 7.0, 약 pH 7.1, 약 pH 7.2, 약 pH 7.3 또는 약 pH 7.4에서 교환될 수 있다.



화학식 1

LNP01 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된 국제 출원 공개 번호 WO 2008/042973호에 기술되어 있다.

추가적 예시적인 지질-dsRNA 제형은 하기 표 A에 기술되어 있다.

표 A.

	이온화가능/양이온성 지질	양이온성 지질/비-양이온성 지질/콜레스테롤/PEG-지질 콘쥬게이트 지질:siRNA 비율
LNP-1	1,2-디리놀레닐옥시-N,N-디메틸아미노프로판 (DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/콜레스테롤/PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 지질:siRNA ~ 7:1
2-XTC	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DPPC/콜레스테롤/PEG-cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 지질:siRNA ~ 7:1
LNP05	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 지질:siRNA ~ 6:1
LNP06	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 지질:siRNA ~ 11:1
LNP07	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 지질:siRNA ~ 6:1
LNP08	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5, 지질:siRNA ~ 11:1
LNP09	2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란 (XTC)	XTC/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA 10:1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-디메틸-2,2-디((9Z,12Z)-옥타데카-9,12-디에닐)테트라하드로-3aH-시클로펜타[d][1,3]디옥솔-5-아민 (ALN100)	ALN100/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA 10:1
LNP11	(6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일 4-(디메틸아미노)부타노에이트 (MC3)	MC3/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA 10:1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(비스(2-히드록시도데실)아미노)에틸)(2-히드록시도데실)아미노)에틸)피페라진-1-일)에틸아잔다일)디도데칸-2-올 (Tech G1)	Tech G1/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA 10:1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 33:1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 지질:siRNA: 11:1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GaINAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 지질:siRNA: 11:1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 7:1

LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 10:1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 12:1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 지질:siRNA: 8:1
LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 10:1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 7:1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 지질:siRNA: 10:1

[0515]

[0516] DSPC: 디스테아로일포스파티딜콜린

[0517] DPPC: 디팔미토일포스파티딜콜린

[0518] PEG-DMG: PEG-디디미리스토일 글리세롤(C14-PEG, 또는 PEG-C14) (평균 2000의 몰 wt의 PEG)

[0519] PEG-DSG: PEG-디스티릴 글리세롤(C18-PEG, 또는 PEG-C18) (평균 2000의 몰 wt의 PEG)

[0520] PEG-cDMA: PEG-카르바모일-1,2-디미리스틸옥시프로필아민(평균 2000의 몰 wt의 PEG)

[0521] LNP(1,2-디리놀레닐옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLinDMA))를 포함하는 제형은 본원에 참조로 포함된 2009년 4월 15일에 출원된 국제 공개 번호 W02009/127060 호에 기술되어 있다.

[0522] XTC를 포함하는 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된, 2009년 1월 29일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/148,366 호; 2009년 3월 2일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/156,851 호; 2009년 6월 10일에 출원된 미국 가출원 계열 번호; 2009년 7월 24일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/228,373 호; 2009년 9월 3일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/239,686 호 및 2010년 1월 29일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US2010/022614 호에 기술되어 있다.

[0523] MC3을 포함하는 제형은 예컨대, 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함된, 2010년 6월 10일에 출원된 미국 특허 공개 번호 2010/0324120 호에 기술되어 있다.

[0524] ALNY-100을 포함하는 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된, 2009년 11월 10일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US09/63933 호에 기술되어 있다.

[0525] C12-200을 포함하는 제형은 본원에 참조로 포함된, 2009년 5월 5일에 출원된 미국 가출원 계열 번호 61/175,770 호 및 2010년 5월 5일에 출원된 국제 출원번호 PCT/US10/33777 호에 기술되어 있다.

[0526] 이온화가능/양이온성 지질의 합성

[0527] 본 발명의 핵산-지질 입자에 사용된 화합물들 중 어느 하나는, 예컨대, 양이온성 지질 등은 실시예에 더 상세히 기술된 방법을 포함하는 알려진 유기 합성 기법에 의하여 제조될 수 있다. 모든 치환기는 달리 지시되지 않으면 하기에 정의된 바와 같다.

[0528] "알킬"은 직쇄 또는 분지쇄, 비고리형 또는 고리형인 탄소 원자 1 내지 24 개를 포함하는 포화 지방족 탄화수소를 의미한다. 대표적인 포화 직쇄 알킬은 메틸, 에틸, n-프로필, n-부틸, n-펜틸, n-헥실 등을 포함하는 반면에, 포화된 분지쇄 알킬은 이소프로필, sec-부틸, 이소부틸, tert-부틸, 이소펜틸 등을 포함한다. 대표적인 포화 고리형 알킬은 시클로프로필, 시클로부틸, 시클로펜틸, 시클로헥실 등을 포함하는 반면에, 불포화된 고리형 알킬은 시클로펜테닐 및 시클로헥세닐 등을 포함한다.

[0529] "알케닐"은 상기에 정의된 바와 같이, 연속 탄소 원자들 사이의 적어도 하나의 이중 결합을 포함하는 알킬을 의미한다. 알케닐은 시스 및 트랜스 이성질체 양쪽 모두를 포함한다. 대표적인 직쇄 및 분지쇄 알케닐은 에틸레닐, 프로필레닐, 1-부테닐, 2-부테닐, 이소부틸레닐, 1-펜테닐, 2-펜테닐, 3-메틸-1-부테닐, 2-메틸-2-부

테닐, 2,3-디메틸-2-부테닐 등을 포함한다.

[0530] "알킬닐"은 상기에 정의된 바와 같이, 연속 탄소들 사이의 적어도 하나의 3중 결합을 더 포함하는 임의의 알킬 또는 알케닐을 의미한다. 대표적인 직쇄 및 분지쇄 알킬닐은 아세틸레닐, 프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 3-메틸-1 부티닐 등을 포함한다.

[0531] "아실"은 임의의 알킬, 알케닐 또는 알킬닐을 의미하며, 부착 지점에서의 탄소가 하기에 정의된 바와 같이 옥소기로 치환된다. 예를 들어, $-C(=O)$ 알킬, $-C(=O)$ 알케닐, 및 $-C(=O)$ 알킬닐은 아실기이다.

[0532] "헤테로사이클"은 포화, 불포화 또는 방향족이며, 질소, 산소 및 황으로부터 독립적으로 선택된 1 또는 2 개의 헤테로원자를 포함하는 5원 내지 7원 모노사이클릭, 또는 7원 내지 10원 바이사이클릭 헤테로사이클릭 고리를 의미하며, 상기 헤테로사이클들 중 어느 하나는 벤젠 고리로 융합되는 바이사이클릭 고리를 포함하여, 질소 및 황 헤테로원자는 선택적으로 산화될 수 있고, 질소 헤테로원자는 선택적으로 사원화(quaternized)될 수 있다. 헤테로사이클은 임의의 헤테로원자 또는 탄소 원자를 통하여 부착될 수 있다. 헤테로사이클은 하기에 정의된 바와 같은 헤테로아틸을 포함한다. 헤테로사이클은 모르폴리닐, 피롤리디노닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페리지닐, 히단토이닐, 발레로락타밀, 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라하이드로푸라닐, 테트라하이드로피라닐, 테트라하이드로피리디닐, 테트라하이드로피리미디닐, 테트라하이드로티오펜, 테트라하이드로티오피라닐, 테트라하이드로피리미디닐, 테트라하이드로티오펜, 테트라하이드로티오피라닐 등을 포함한다.

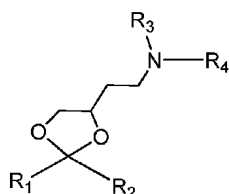
[0533] "선택적으로 치환된 알킬", "선택적으로 치환된 알케닐", "선택적으로 치환된 알킬닐", "선택적으로 치환된 아실" 및 "선택적으로 치환된 헤테로사이클"이라는 용어는 치환되는 경우, 적어도 하나의 수소 원자가 치환기로 대체되는 것을 의미한다. 옥소 치환기($=O$)의 경우, 2 개의 수소 원자들이 대체된다. 이런 점에 있어서, 치환기는 옥소, 할로젠, 헤테로사이클, $-CN$, $-OR_x$, $-NR_xR_y$, $-NR_xC(=O)R_y$, $-NR_xSO_2R_y$, $-C(=O)R_x$, $-C(=O)OR_x$, $-C(=O)NR_xR_y$, $-SO_nR_x$ 및 $-SO_nNR_xR_y$ 를 포함하며, n 은 0, 1 또는 2이고, R_x 및 R_y 은 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소, 알킬 또는 헤테로사이클이며, 상기 알킬 및 헤테로사이클 치환기들의 각각은 옥소, 할로젠, $-OH$, $-CN$, 알킬, $-OR_x$, 헤테로사이클, $-NR_xR_y$, $-NR_xC(=O)R_y$, $-NR_xSO_2R_y$, $-C(=O)R_x$, $-C(=O)OR_x$, $-C(=O)NR_xR_y$, $-SO_nR_x$ 및 $-SO_nNR_xR_y$ 중 하나 이상으로 더 치환될 수 있다.

[0534] "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 의미한다.

[0535] 일부 실시형태에서, 본 발명의 방법은 보호기의 사용을 필요로 할 수 있다. 보호기 방법론은 당업자에게 주지되어 있다(예를 들어, Protective Groups in Organic Synthesis, Green, T.W. 등, Wiley-Interscience, New York City, 1999 참조). 요컨대, 본 발명의 문맥 내에서 보호기는 기능기의 원하지 않는 반응성을 감소시키거나 제거하는 임의의 기이다. 보호기는 기능기에 첨가되어 특정 반응 도중에 그 반응성을 감추고, 이후 제거되어 최초 기능기를 드러낼 수 있다. 일부 실시형태에서, "알코올 보호기"가 사용된다. "알코올 보호기"는 알코올 기능기의 원하지 않는 반응성을 감소시키거나 제거하는 임의의 기이다. 보호기는 업계에 주지된 기법을 이용하여 첨가되고 제거될 수 있다.

[0536] 식 A의 합성

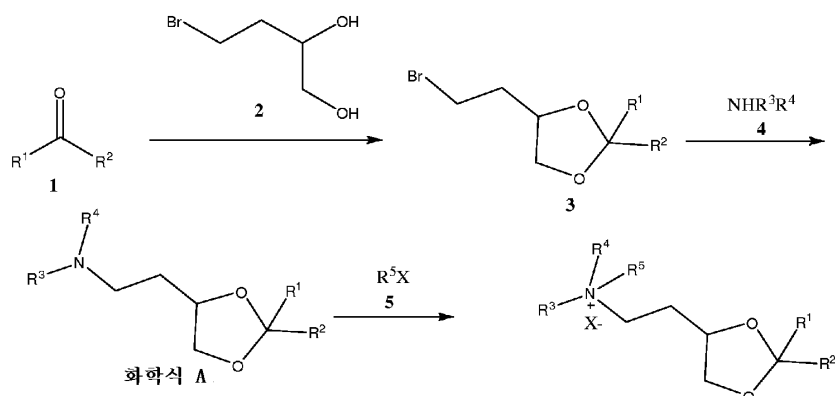
[0537] 일부 실시형태에서, 본 발명의 핵산-지질 입자는 식 A의 양이온성 지질을 이용하여 공식화된다:



[0538]

[0539] 여기서, R_1 및 R_2 는 독립적으로 알킬, 알케닐 또는 알킬닐이고, 각각은 선택적으로 치환될 수 있으며, R_3 및 R_4 는 독립적으로 저급 알킬이거나 R_3 및 R_4 는 함께 취하여 선택적으로 치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성할 수 있다. 일부 실시형태에서, 양이온성 지질은 XTC(2,2-디리놀레일-4-디메틸아미노에틸-[1,3]-디옥솔란)이다. 일반적으로, 상기 식 A의 지질은 달리 지시되지 않으면 모든 치환기가 상기 정의된 바와 같은, 하기 반응식 1 또는 2에 의하여 제조될 수 있다.

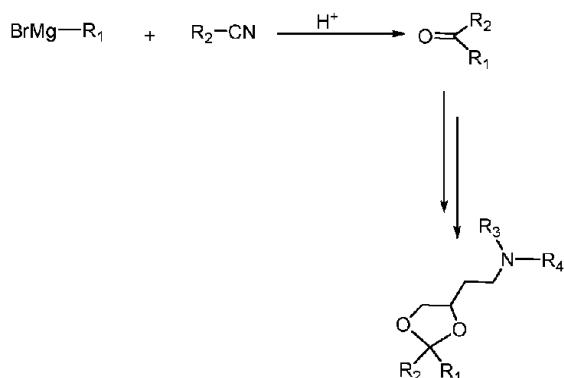
[0540] 반응식 1



[0541]

[0542] R1 및 R2는 독립적으로 알킬, 알케닐 또는 알키닐이고, 각각이 선택적으로 치환될 수 있으며, R3 및 R4는 독립적으로 저급 알킬이거나, R3 및 R4는 함께 취하여 선택적으로 치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성할 수 있는 지질 A는 반응식 1에 따라 제조될 수 있다. 케톤 1 및 브롬화물 2는 구입되거나 당업자에게 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 1 및 2의 반응으로 케탈 3을 산출한다. 케탈 3을 아민 4로 처리하면 식 A의 지질을 산출한다. 식 A의 지질은 식 5의 유기염을 갖는 해당 암모늄 염으로 변환될 수 있으며, X는 할로젠, 수산화물, 포스페이트, 설페이트 등으로부터 선택된 음이온 반대 이온이다.

[0543] 반응식 2



[0544]

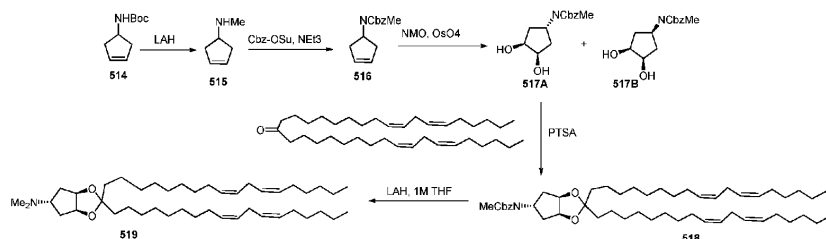
[0545] 대안적으로, 케톤 1 시작 물질은 반응식 2에 따라 제조될 수 있다. 그리냐르 시약 6 및 시안화물 7은 구입되거나 당업자에게 알려진 방법에 따라 제조될 수 있다. 6 및 7의 반응은 케톤 1을 산출한다. 케톤 1의 식 A의 해당 지질로의 변환은 반응식 1에 기술된 바와 같다.

[0546] MC3의 합성

[0547] DLin-M-C3-DMA(즉, (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-일-4-(디메틸아미노)부타노에이트)의 제조는 다음과 같다. 디클로로메탄(5 mL)에 (6Z,9Z,28Z,31Z)-헵타트리아콘타-6,9,28,31-테트라엔-19-올(0.53 g), 4-N,N-디메틸아미노부티르산 염산염(0.51 g), 4-N,N-디메틸아미노피리딘(0.61 g) 및 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 염산염(0.53 g)을 용해시킨 용액을 실온에서 하룻밤 동안 교반시켰다. 용액은 묽은 염산으로 세척하고 묽은 수성 중탄산 나트륨으로 세척하였다. 유기 분획을 무수 황산 마그네슘 상에서 건조하고, 여과하며 용매를 로타베이퍼(rotavap) 상에서 제거하였다. 잔사는 1 내지 5% 메탄올/디클로로메탄 용리 구배를 이용하여 실리카 겔 칼럼(20 g)으로 통과시켰다. 정제된 생성물을 포함하는 분획을 조합하고 용매를 제거하여 무색의 오일(0.54 g)을 산출하였다.

[0548] ALNY-100의 합성

[0549] 케탈 519[ALNY-100]의 합성은 하기 반응식 3을 이용하여 수행되었다:



[0550]

[0551] 515의 합성

[0552] 2 구 RBF(1 L) 내의 200 ml 무수 THF에 LiAlH₄ (3.74 g, 0.09852 mol)의 교반된 현탁액에 THF 70 mL에 514(10 g, 0.04926 mol)을 용해시킨 용액을 0℃의 질소 분위기 하에서 천천히 첨가하였다. 완전히 첨가한 이후에, 반응 혼합물을 실온으로 가온하고 이후 4 시간 동안 환류 가열하였다. 반응의 진행은 TLC로 모니터링하였다. (TLC에 의한) 반응의 완료 이후에, 혼합물은 0℃로 냉각하였으며, 포화 Na₂SO₄ 용액을 조심스럽게 첨가하여 켄칭하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4 시간 동안 교반하고 여별하였다. 잔사를 THF로 충분히 세척하였다. 여과액 및 세척액을 혼합하고, 400 mL 디옥산 및 26 mL의 진한 HCl로 희석하고, 실온에서 20 분 동안 교반하였다. 휘발 성분들을 진공 하에서 제거하여 백색 고체로서 515의 염산염을 생성하였다. 수율: 7.12 g ¹H-NMR (DMSO, 400MHz): δ = 9.34 (broad, 2H), 5.68 (s, 2H), 3.74 (m, 1H), 2.66-2.60 (m, 2H), 2.50-2.45 (m, 5H).

[0553] 516의 합성

[0554] 250 mL 2 구 RBF 내의 100 mL 무수 DCM에 화합물 515를 용해시킨 교반된 용액에 NEt₃(37.2 mL, 0.2669 mol)을 첨가하고 질소 분위기 하에서 0℃로 냉각하였다. N-(벤질옥시-카르보닐옥시)-숙신이미드(20 g, 0.08007 mol)를 50 mL 무수 DCM에 천천히 첨가한 이후에, 반응 혼합물을 실온으로 가온하였다. (TLC에 의하여 2 내지 3 시간) 반응을 완료한 이후에, 혼합물을 1 N HCl 용액(1 x 100 mL) 및 포화 NaHCO₃ 용액(1 x 50 mL)으로 연속적으로 세척하였다. 이후, 유기층을 무수 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고 용매를 증발시켜 미정제 물질을 생성하고, 이를 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의하여 정제하여 끈적한 덩어리로서 516을 얻었다. 수율: 11g (89%). ¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz): δ = 7.36-7.27(m, 5H), 5.69 (s, 2H), 5.12 (s, 2H), 4.96 (br., 1H) 2.74 (s, 3H), 2.60(m, 2H), 2.30-2.25(m, 2H). LC-MS [M+H] -232.3 (96.94%).

[0555] 517A 및 517B의 합성

[0556] 시클로펜텐 516(5g, 0.02164 mol)을 단일 구 500 mL RBF 내의 220 mL 아세톤 및 물(10:1)의 용액에 용해시키고, 여기에 N-메틸 모르폴린-N-옥사이드(7.6 g, 0.06492 mol)를 첨가하고, 실온에서 tert-부탄올에 용해시킨 OsO₄(0.275 g, 0.00108 mol)의 7.6% 용액 4.2 mL를 첨가하였다. 반응(약 3 시간)을 완료한 이후에, 혼합물을 고체 Na₂SO₃를 첨가하여 켄칭하고, 이로 생성된 혼합물을 실온에서 1.5 시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 DCM(300 mL)로 희석시키고 물(2 x 100 mL)로 세척하고, 이후 포화 NaHCO₃(1 x 50 mL) 용액, 물(1 x 30 mL)로 세척하고, 마지막으로 염수(1 x 50 mL)로 세척하였다. 유기상을 Na₂SO₄ 상에서 건조시키고, 용매를 진공 중에 제거하였다. 미정제 물질의 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피 정제로 부분 입체 이성질체의 혼합물을 생성하였고, 이를 예비 고성능 액체 크로마토그래피로 분리하였다. 수율: - 6 g 미정제

[0557] 517A - 피크-1 (백색 고체), 5.13 g (96%). ¹H-NMR (DMSO, 400MHz): δ = 7.39-7.31(m, 5H), 5.04(s, 2H), 4.78-4.73 (m, 1H), 4.48-4.47(d, 2H), 3.94-3.93(m, 2H), 2.71(s, 3H), 1.72-1.67(m, 4H). LC-MS - [M+H]-266.3, [M+NH₄ +]-283.5 존재, HPLC-97.86%. 입체화학을 X-선으로 확인하였다.

[0558] 518의 합성

[0559] 화합물 505의 합성에 대해 기술된 절차와 유사한 절차를 이용하여, 무색 오일로서 화합물 518(1.2 g, 41%)을 얻었다. ¹H-NMR (CDCl₃, 400MHz): δ = 7.35-7.33(m, 4H), 7.30-7.27(m, 1H), 5.37-5.27(m, 8H), 5.12(s, 2H), 4.75(m, 1H), 4.58-4.57(m, 2H), 2.78-2.74(m, 7H), 2.06-2.00(m, 8H), 1.96-1.91(m, 2H), 1.62(m, 4H), 1.48(m, 2H), 1.37-1.25(br m, 36H), 0.87(m, 6H). HPLC-98.65%.

[0560] 화합물 519의 합성을 위한 일반 절차

[0561] 헥산(15 mL)에 화합물 518(1 당량)을 용해시킨 용액을 LAH를 THF(1 M, 2 당량)에 용해시킨 냉각된 용액에 적하 방식으로 첨가하였다. 완전히 첨가한 이후에, 혼합물을 40℃에서 0.5 시간에 걸쳐서 가열하고, 이후 얼음조상에 서 다시 냉각시켰다. 혼합물을 포화 수성 Na_2SO_4 으로 조심스럽게 가수분해시키고 이후 셀라이트를 통해 여과시키고, 오일이 되게 하였다. 칼럼 크로마토그래피로 인하여 순수한 519(1.3 g, 68%)가 제공되고, 순수한 519는 무색 오일로 수득되었다. ^{13}C NMR δ = 130.2, 130.1 (x2), 127.9 (x3), 112.3, 79.3, 64.4, 44.7, 38.3, 35.4, 31.5, 29.9 (x2), 29.7, 29.6 (x2), 29.5 (x3), 29.3 (x2), 27.2 (x3), 25.6, 24.5, 23.3, 226, 14.1; 전기분무 MS (+ve): $\text{C}_{44}\text{H}_{80}\text{NO}_2$ (M + H)+에 대한 분자량 계산값. 654.6, 실제값 654.6.

[0562] 표준 또는 무압출(extrusion-free) 방법에 의해 제조된 제형은 유사한 방식으로 특징될 수 있다. 예를 들어, 제형은 통상적으로 육안 검사에 의해 특징된다. 이들은 응집체 또는 침전물이 없는 약간 흰색의 반투명 용액이어야 한다. 지질-나노입자의 입자 크기 및 입자 크기 분포는 예를 들어, 맬번 제타사이저 나노 ZS(맬번, 미국)을 이용하여 광산란에 의하여 측정될 수 있다. 입자는 크기가 40 내지 100 nm인 것과 같이 약 20 내지 300 nm이어야 한다. 입자 크기 분포는 단봉형이어야 한다. 트랩된 분율뿐만 아니라 제형 내의 총 dsRNA 농도는 염색 배제 분석법을 이용하여 추정한다. 제형화된 dsRNA의 표본은 예컨대, 0.5% 트리톤-X100과 같은 계면활성제를 파열시키는 제형의 존재 또는 부재 하에 리보그린(Molecular Probes)과 같은 RNA-결합 염료와 함께 배양될 수 있다. 제형 내의 총 dsRNA는 표준 곡선에 대하여 계면활성제를 포함하는 표본으로부터 나온 신호에 의하여 결정될 수 있다. 트랩된 분율은 (계면활성제의 부재 하의 신호에 의해 측정되는 바와 같이) 총 dsRNA 함량으로부터 "유리(free)" dsRNA 함량을 차감함으로써 결정된다. 트랩된 dsRNA 퍼센트는 통상적으로 85%를 초과한다. LNP 제형에 대하여, 입자 크기는 적어도 30 nm, 적어도 40 nm, 적어도 50 nm, 적어도 60 nm, 적어도 70 nm, 적어도 80 nm, 적어도 90 nm, 적어도 100 nm, 적어도 110 nm, 및 적어도 120 nm이다. 적당한 범위는 통상적으로 약 적어도 50 nm 내지 약 적어도 110 nm, 약 적어도 60 nm 내지 약 적어도 100 nm, 또는 약 적어도 80 nm 내지 약 적어도 90 nm이다.

[0563] 경구 투여용 조성물 및 제형은 분말 또는 과립, 마이크로미립자, 나노미립자, 물 또는 비수성 매질 내의 현탁액 또는 용액, 캡슐, 젤 캡슐, 향낭, 정제 또는 미니정제를 포함한다. 증점제, 풍미제, 희석제, 유화제, 분산 조제 또는 결합제는 바람직할 수 있다. 일부 실시형태에서, 경구 제형은 본 발명에서 특징된 dsRNA가 하나 이상의 침투 향상제 계면활성제 및 킬레이트제와 함께 투여되는 경구 제형이다. 적당한 계면활성제는 지방산 및/또는 이들의 에스테르 또는 염, 이들의 담즙산 및/또는 염을 포함한다. 적당한 담즙산/염은 케노데옥시콜산(CDCA) 및 우르소데옥시케노데옥시콜산(UDCA), 콜산, 테하이드로콜산, 테옥시콜산, 글루콜산, 글리콜산, 글리코데옥시콜산, 타우로콜산, 타우로테옥시콜산, 나트륨 타우로-24,25-디하이드로-푸시테이트 및 나트륨 글리코디하이드로푸시테이트를 포함한다. 적당한 지방산은 아라키돈산, 운데칸산, 올레산, 라우르산, 카프릴산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인, 디라우린, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자시클로헥탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염(예컨대, 나트륨)을 포함한다. 일부 실시형태에서, 예를 들어, 담즙산/염과 조합된 지방산/염과 같은 침투 향상제의 조합이 이용된다. 예시적인 일 조합은 라우르산, 카프르산 및 UDCA의 나트륨 염이다. 다른 침투 향상제는 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르, 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르를 포함한다. 본 발명에서 특징된 dsRNA는 스프레이된 건조 입자를 포함하여 과립 형태로 경구적으로 전달되거나 복합화되어 마이크로 또는 나노입자를 형성할 수 있다. dsRNA 복합화제는 폴리아미노산; 폴리이민; 폴리아크릴레이트; 폴리알킬아크릴레이트, 폴리옥세탄, 폴리알킬시아노아크릴레이트; 양이온화 젤라틴, 알부민, 전분, 아크릴레이트, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 및 전분; 폴리알킬시아노아크릴레이트; DEAE-유도체화된 폴리이민, 폴루란, 셀룰로오스 및 전분을 포함한다. 적당한 복합화제는 키토산, N-트리메틸키토산, 폴리-L-라이신, 폴리히스티딘, 폴리오르니틴, 폴리스페르민, 프로타민, 폴리비닐피리딘, 폴리티오디에틸아미노메틸에틸렌 P(TDAE), 폴리아미노스티렌(예컨대, p-아미노), 폴리(메틸시아노아크릴레이트), 폴리(에틸시아노아크릴레이트), 폴리(부틸시아노아크릴레이트), 폴리(이소부틸시아노아크릴레이트), 폴리(이소헥실시아노아크릴레이트), DEAE-메타크릴레이트, DEAE-헥실아크릴레이트, DEAE-아크릴아미드, DEAE-알부민 및 DEAE-덱스트란, 폴리메틸아크릴레이트, 폴리헥실아크릴레이트, 폴리(D,L-락트산), 폴리(DL-락틱-코-글리콜산(PLGA), 알기네이트, 및 폴리에틸렌글리콜(PEG)을 포함한다. dsRNA용 경구 제형 및 그 제제는 그 각각이 본원에 참조로 포함된, 미국 특허 번호 6,887,906 호, 미국 특허 공개 번호 20030027780 호 및 미국 특허 번호 6,747,014 호에 상세히 기술되어 있다.

[0564] 비경구, (뇌로의) 실질세포 내, 척수강 내, 뇌실 내 또는 간 내 투여용 조성물 및 제형은 완충제, 희석제, 및

침투 향상제, 담체 화합물 및 기타 약학적으로 허용 가능한 담체 또는 부형제와 같은, 그러나 여기에 한정되지 않은 기타 적당한 첨가제도 포함할 수 있는 살균 수용액을 포함할 수 있다.

[0565] 본 발명의 약학적 조성물은 용액, 에멀전 및 리포솜-함유 제형을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 이 조성물은 사전형성된 액체, 자가-유화 고체 및 자가-유화 반고체를 포함하지만, 여기에 한정되지 않은 다양한 성분으로부터 생성될 수 있다. 간 암종과 같은 간 질환을 치료하는 경우 간을 표적하는 제형이 특히 바람직하다.

[0566] 단위 제형으로 간편하게 제시될 수 있는, 본 발명의 약학적 제제는 제약 업계에 주지된 종래 기법에 따라 제조될 수 있다. 그러한 기법으로는 활성 성분을 약학적 담체(들) 또는 부형제(들)와 회합시키는 단계를 포함한다. 일반적으로, 제형은 활성 성분을 액체 담체 또는 미세 분할된 고체 담체 또는 양쪽 모두와 균일하고 밀접하게 회합시키고 이후 필요하다면, 생성물을 형상화함으로써 제조된다.

[0567] 본 발명의 조성물은 정제, 캡슐, 젤 캡슐, 액체 시럽, 연질 젤, 좌약 및 관장제와 같은, 그러나 여기에 한정되지 않은 수많은 가능한 제형 중 어느 하나로 제형화될 수 있다. 본 발명의 조성물은 수성, 비수성 또는 혼합 매질 내의 현탁액으로 제형화될 수도 있다. 수성 현탁액은 예를 들어, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 소르비톨 및/또는 텍스트란을 포함하는 현탁액의 점도를 증가시키는 물질을 더 포함할 수 있다. 현탁액은 안정화제를 포함할 수도 있다.

[0568] C. 추가 제형

[0569] i. 에멀전

[0570] 본 발명의 조성물은 에멀전으로 제조 및 제형화될 수 있다. 에멀전은 통상적으로 직경이 보통 0.1 μm 를 초과하는 소적의 형태로 하나의 액체를 다른 액체에 분산시킨 이중 시스템이다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8판), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi 등, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301]에서 참조). 에멀전은 종종 서로 서로 밀접하게 혼합되고 분산된 2 개의 혼합되지 않는 액체상을 포함하는 2상계이다. 일반적으로, 에멀전은 유중수(w/o) 또는 수중유(o/w) 종류일 수 있다. 수상이 크기가 큰 유상으로 미세하게 분할되고 미세한 소적으로 분산되는 경우, 이로 인한 조성물은 유중수(w/o) 에멀전이라고 불린다. 대안적으로, 유상이 크기가 큰 수상으로 미세하게 분할되고 미세한 소적으로 분산되는 경우, 이로 인한 조성물은 수중유(o/w) 에멀전이라고 불린다. 에멀전은 분산된 상 및 수상, 유상의 용액으로 또는 분리상으로서 자체적으로 존재할 수 있는 활성 약물에 더하여 추가적인 성분을 포함할 수 있다. 유화제, 안정화제, 염료 및 항산화제와 같은 약학적 부형제는 필요하다면 에멀전에 존재할 수도 있다. 약학적 에멀전은 예를 들어, 유중수중유(o/w/o) 및 수중유중수(w/o/w) 에멀전의 경우에서와 같이 2 상을 초과하여 구성된 다중 에멀전일 수도 있다. 그러한 복합체 제형은 종종 단순 2상 에멀전이 제공하지 않는 특정 장점을 제공한다. o/w 에멀전의 개별 유성 소적이 작은 물 소적을 둘러싸는 복수의 에멀전들은 w/o/w 에멀전을 구성한다. 마찬가지로, 유성 연속상 내에 안정화된 물의 소구체립에 둘러싸인 유성 소적의 시스템은 o/w/o 에멀전을 제공한다.

[0571] 에멀전은 열역학적 안정성이 거의 없거나 열역학적 안정성이 전혀 없는 것에 의하여 특징된다. 종종, 에멀전의 분산되거나 불연속적 상은 외부 또는 연속상으로 잘 분산되며, 유화제의 이용을 통하거나 제형의 점도를 통해 이 형태로 유지된다. 에멀전의 상 중 어느 하나는 에멀전-스타일 연고 베이스 및 크림의 경우에서 처럼, 반고체 또는 고체일 수 있다. 에멀전을 안정화시키는 다른 수단은 에멀전의 어느 상으로 포함될 수 있는 유화제의 이용을 수반한다. 유화제는 합성 계면활성제, 자연발생적 유화제, 흡수 베이스 및 미세하게 분산된 고체의 4 개 카테고리로 넓게 분류될 수 있다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8판), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199]에서 참조).

[0572] 표면 활성제라고도 알려진 합성 계면활성제는 에멀전의 제형에서 광범위한 적용가능성을 찾으며 문헌에서 검토되었다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV.,

Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8판), New York, NY; Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199]에서 참조). 계면활성제는 통상적으로 양친매성이며 친수성 및 소수성 부분을 포함한다. 계면활성제의 친수성 대 소수성의 비율은 친수성/친지방성 균형(HLB)라고 칭하며 제형의 제조에서 계면활성제를 분류하고 선택하는데 있어서 가치있는 도구이다. 계면활성제는 친수성기의 성질에 기초하여 상이한 클래스로 분류될 수 있다: 비이온성, 음이온성, 양이온성 및 양쪽성(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8판), New York, NY Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285에서 참조).

[0573] 에멀전 제형에 이용되는 자연발생적 유화제는 라놀린, 밀랍, 인지질, 레시틴 및 아카시아를 포함한다. 흡수 베이스는 친수성을 소지하여, 이들이 물을 흡수하여 w/o 에멀전을 형성하지만, 무수 라놀린 및 친수성 광유(petrolatum)와 같은 이들의 반고체 연경도(consistencies)를 유지할 수 있다. 미세하게 분할된 고체는 특히 계면활성제와의 조합에서, 그리고 점성 제제에 있어서 양호한 유화제로서 이용되기도 한다. 이것은 중금속 수산화물과 같은 극성 무기 고체, 벤토나이트, 아타폴자이트, 헥토라이트, 고령토, 몬모릴로나이트, 콜로이드성 알루미늄 실리케이트 및 콜로이드성 마그네슘 알루미늄 실리케이트와 같은 비-팽윤성 점토, 안료 및 탄소 또는 글리세릴 트리스테아레이트와 같은 비극성 고체를 포함한다.

[0574] 대단히 다양한 비-유화 물질들도 에멀전 제형에 포함되며 에멀전의 특성에 기여한다. 이들은 지방, 오일, 왁스, 지방산, 지방 알코올, 지방 에스테르, 보습제, 친수성 콜로이드, 보존제 및 향산화제를 포함한다(문헌[Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199]).

[0575] 친수성 콜로이드 또는 수성콜로이드는 다당류(예를 들어, 아카시아, 아가, 알긴산, 카라기난, 구아검, 카라야검 및 트라가칸트), 셀룰로오스 유도체(예를 들어, 카르복시메틸셀룰로오스 및 카르복시프로필셀룰로오스) 및 합성 중합체(예를 들어, 카르보머, 셀룰로오스 에테르 및 카르복시비닐 중합체)와 같은 자연발생적 검 및 합성 중합체를 포함한다. 이들은 물에서 분산하거나 팽창하여 분산된 상의 소적 주위에 강한 계면 필름을 형성하고 외부 상의 점도를 증가시킴으로써 에멀전을 안정화시키는 콜로이드성 용액을 형성한다.

[0576] 에멀전은 종종 미생물의 성장을 용이하게 지지할 수 있는 탄수화물, 단백질, 스테롤 및 인지질과 같은 많은 성분을 포함하기 때문에, 이러한 제형은 종종 보존제를 포함한다. 에멀전 제형에 포함되는 흔히 이용되는 보존제는 메틸 파라벤, 프로필 파라벤, 4급 암모늄 염, 염화 벤잘코늄, p-히드록시벤조산의 에스테르 및 붕산을 포함한다. 향산화제도 에멀전 제형에 흔히 추가되어 제형의 열화를 방지한다. 이용된 향산화제는 토크페롤과 같은 유리 라디칼 스캐빈저, 알킬 갈레이트, 부틸화 히드록시아니솔, 부틸화 히드록시톨루엔, 또는 아스코르브산 및 메타중아황산 나트륨과 같은 환원제, 및 시트르산, 주석산 및 레시틴과 같은 향산화 상승제일 수 있다.

[0577] 피부, 경구 및 비경구 경로를 통한 에멀전 제형의 응용 및 그 제조법은 문헌에서 되었다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8 판), New York, NY; Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p.199]에서 참조). 경구 전달용 에멀전 제형은 흡수 및 생물이용도 관점에서 효능뿐만 아니라 제형의 용이성으로 인하여 매우 광범위하게 이용되었다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8 판), New York, NY; Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245에서; Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p.199]에서 참조). 광유 베이스 완하제, 유용성 비타민 및 고지방 영양 제제는 o/w 에멀전으로 경구로 흔히 투여되는 물질들이다.

[0578] ii. 마이크로에멀전

[0579] 본 발명의 일 실시형태에서, iRNA 및 핵산의 조성물은 마이크로에멀전으로 제형화된다. 마이크로에멀전은 단일 광학적 등방성이며 열역학적으로 안정한 액체 용액인 물, 기름 및 양친매성 물질의 시스템으로 정의될 수 있다

(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8 판), New York, NY; Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245]에서 참조). 통상적으로 마이크로에멀전은 우선 오일을 수성 계면활성제 용액에 분산시킨 후 일반적으로, 중간 사슬-길이 알코올인 제4 성분의 충분량을 첨가하여 투명 시스템을 형성하여 제조되는 시스템이다. 그러므로, 마이크로에멀전은 표면-활성 분자의 계면 필름에 의하여 안정화된 2 개의 비혼화성 액체의 열역학적으로 안정하고 등방성으로 맑은 분산액으로 기술되었다(문헌[Leung and Shah, Controlled Release of Drugs에서: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215]). 마이크로에멀전은 오일, 물, 계면활성제, 공계면활성제 및 전해질을 포함하는 3 내지 5 개의 성분의 조합을 통해 흔히 제조된다. 마이크로에멀전이 유중수(w/o) 또는 수중유(o/w) 형인지의 여부는 이용된 오일 및 계면활성제의 성질에 의존하며, 계면활성제 분자의 극성 머리 및 탄화수소 꼬리의 구조 및 기하학적인 패키징에 의존한다(문헌[Schott, Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271]).

[0580] 상 다이어그램을 활용하는 현상학적 접근법은 광범위하게 연구되었으며, 마이크로에멀전을 제형화하는 방법의 폭넓은 지식을 당업자에게 부여하였다(예컨대, 문헌[Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8 판), New York, NY; Rosoff, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245에서; Block, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335]에서 참조). 종래 에멀전과 비교하여, 마이크로에멀전은 자발적으로 형성되는 열역학적으로 안정한 소적의 제형에 있어서 수-불용성 약물을 가용화하는 장점을 제공한다.

[0581] 마이크로에멀전의 제조에 이용되는 계면활성제는 이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, Brij 96, 폴리옥시에틸렌 올레일 에테르, 폴리글리세롤 지방산 에스테르, 테트라글리세롤 모노라우레이트(ML310), 테트라글리세롤 모노올리레이트(MO310), 헥사글리세롤 모노올리레이트(PO310), 헥사글리세롤 펜타올리레이트(PO500), 데카글리세롤 모노카프레이트(MCA750), 데카글리세롤 모노올리레이트(MO750), 데카글리세롤 세퀴올리레이트(SO750), 데카글리세롤 데카올리레이트(DA0750)를 단독으로 또는 공계면활성제와 조합하여 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 에탄올, 1-프로판올 및 1-부탄올과 같은 주로 단쇄 알코올인 공계면활성제는 계면활성제 분자들 사이에서 발생된 빈 공간으로 인하여 계면활성제 필름으로 침투하고 그에 따라 무질서한 필름을 생성함으로써 계면 유동성을 증가시키는 역할을 한다. 그러나, 마이크로에멀전은 업계에 알려진 공계면활성제 및 무알코올 자가-유화 마이크로에멀전 시스템의 이용 없이 제조될 수 있다. 수상은 통상적으로는 물, 약물의 수용액, 글리세롤, PEG300, PEG400, 폴리글리세롤, 프로필렌 글리콜 및 에틸렌 글리콜의 유도체일 수 있지만, 여기에 한정되지 않는다. 유상은 Captex 300, Captex 355, Capmul MCM, 지방산 에스테르, 중간 사슬 (C8-C12) 모노, 디, 및 트리-글리세리드, 폴리옥시에틸화 글리세릴 지방산 에스테르, 지방 알코올, 폴리글리콜화 글리세리드, 포화 폴리글리콜화 C8-C10 글리세리드, 식물성유 및 실리콘유와 같은 물질을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0582] 마이크로에멀전은 약물 용해화 및 약물의 향상된 흡수의 관점에서 특히 관심의 대상이 된다. (o/w 및 w/o)인 지질계 마이크로에멀전은 펩티드를 포함하는, 약물의 경구 생물이용도를 향상시키는 것으로 제안되었다(예컨대, 미국 특허 번호 6,191,105; 7,063,860; 7,070,802; 7,157,099 호; 문헌[Constantinides 등, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385-1390; Ritschel, Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol., 1993, 13, 205] 참조). 마이크로에멀전은 개선된 약물 용해화, 약물을 효소적 가수분해로부터 보호, 막 유동성 및 침투성에서 계면활성제-유도된 변경으로 인한 약물 흡수의 가능한 향상, 제조의 용이성, 고체 제형에 비해 경구 투여의 용이성, 개선된 임상적 역가 및 감소된 독성의 장점을 부여한다(예컨대, 미국 특허 번호 6,191,105; 7,063,860; 7,070,802; 7,157,099 호; 문헌[Constantinides 등, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385; Ho 등, *J. Pharm. Sci.*, 1996, 85, 138-143] 참조). 종종, 마이크로에멀전은 그 구성성분들이 주위 온도에서 함께 도입되는 경우 자발적으로 형성될 수 있다. 이는 불안정성 약물, 펩티드 또는 iRNA를 제형화하는 경우 특히 장점이 될 수 있다. 마이크로에멀전은 화장품 및 약학적 응용에 있어서 활성 성분들의 경피적 전달에서 효과적이기도 하다. 본 발명의 마이크로에멀전 조성물 및 제형은 iRNA 및 핵산의 국소 세포 흡수를 개선시킬뿐 아니라, 위장관으로부터 iRNA 및 핵산의 증가된 전신 흡수를 촉진할 것이라고 기대된다.

[0583] 본 발명의 마이크로에멀전은 소르비탄 모노스테아레이트(Grill 3), 라브라졸(Labrasol), 및 침투 향상제와 같은 추가적인 구성성분 및 첨가제도 함유하여 제형의 특성을 개선시키고 본 발명의 iRNA 및 핵산의 흡수를 향상시킬 수 있다. 본 발명의 마이크로에멀전에 이용된 침투 향상제는 다섯 개의 광범위한 범주- 계면활성제, 지방산, 담

즙산염, 킬레이트제 및 비킬레이트 비계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(문헌[Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92]). 이들 클래스의 각각은 상기에서 토의되었다.

[0584] *iii. 미세입자*

[0585] 본 발명의 RNAi 작용제는 입자, 예컨대, 미세입자로 포함될 수 있다. 미세입자는 스프레이-건조에 의하여 생성될 수 있지만, 동결 건조, 증발, 유동층 건조, 진공 건조 또는 이 기법들의 조합을 포함하는 기타 방법에 의하여 생성될 수도 있다.

[0586] *iv. 침투 향상제*

[0587] 일 실시형태에서, 본 발명은 다양한 침투 향상제를 채용하여 동물의 피부에 핵산, 특히 iRNA를 효율적으로 전달한다. 대부분의 약물들은 이온화 및 비이온화 형태 양쪽 모두로 용액 내에 존재한다. 그러나, 주로 지질 용해성 또는 친지방성 약물은 세포막을 용이하게 관통한다. 심지어 비친지방성 약물은 관통되는 막이 침투 향상제로 처리되면 세포막을 관통할 수 있다는 것을 알게 되었다. 세포막을 통과하여 비친지방성 약물의 확산을 돕는 것뿐만 아니라, 침투 향상제는 친지방성 약물의 침투성도 향상시킨다.

[0588] 침투 향상제는 다섯 개의 광범위한 범주, 즉, 계면활성제, 지방산, 담즙산염, 킬레이트제 및 비킬레이트 비계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(예컨대, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92] 참조). 상기 언급된 침투 향상제의 클래스들의 각각은 하기에 더 상세히 기술된다.

[0589] 계면활성제(또는 "표면-활성제")는 수용액에 용해되는 경우, 용액의 표면 장력 또는 수용액 및 다른 액체 사이의 계면 장력을 감소시켜 점막을 통해 iRNA의 흡수가 향상되는 화학적 실체이다. 담즙산염 및 지방산에 더하여, 이러한 침투 향상제는 예를 들어, 나트륨 라우릴 설페이트, 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르 및 폴리옥시에틸렌-20-세틸 에테르(예컨대, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92] 참조); 및 FC-43과 같은 수소를 불소로 치환한 화합물의 에멀전을 포함한다(문헌[Takahashi 등, J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252]).

[0590] 침투 향상제로 작용하는 다양한 지방산 및 이들의 유도체는 예를 들어, 올레산, 라우르산, 카프르산(n-데카노산), 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인(1-모노올레오일-락-글리세롤), 디라우린, 카프틸산, 아라키돈산, 글리세롤 1-모노카프레이트, 1-도데실아자시클로헥탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 이의 C₁₋₂₀ 알킬 에스테르(예컨대, 메틸, 이소프로필 및 t-부틸), 및 이의 모노글리세리드 및 디글리세리드(즉, 올리에이트, 라우레이트, 카프레이트, 미리스테이트, 팔미테이트, 스테아레이트, 리놀리에이트 등)을 포함한다(예컨대, 문헌[Touitou, E., 등. *Enhancement in Drug Delivery*, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; El Hariri 등, J. Pharm. Pharmacol., 1992, 44, 651-654] 참조).

[0591] 담즙의 생리학적 역할은 지질 및 지용성 비타민의 분산 및 흡수의 촉진을 포함한다(예컨대, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Brunton, Chapter 38 in: Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Ed., Hardman 등. Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935] 참조). 다양한 천연 담즙산염 및 이들의 합성 유도체는 침투 향상제로서 작용한다. 따라서, "담즙산염"이라는 용어는 담즙의 합성 유도체 중 어느 하나뿐만 아니라 담즙의 자연 발생적 구성성분 중 어느 하나를 포함한다. 적당한 담즙산염은 예를 들어, 콜산(또는 그 약학적으로 허용 가능한 나트륨염, 나트륨 콜레이트), 디하이드로콜린산(나트륨 디하이드로콜레이트), 데옥시콜린산(나트륨 데옥시콜레이트), 글루콜산(나트륨 글루콜레이트), 글리콜산(나트륨 글리콜레이트), 글리코데옥시콜린산(나트륨 글리코데옥시콜레이트), 타우로콜린산(나트륨 타우로콜레이트), 타우로데옥시콜산(나트륨 타우로데옥시콜레이트), 케노데옥시콜린산(나트륨 케노데옥시콜레이트), 우르소데옥시콜산(UDCA), 나트륨 타우로-24,25-디하이드로-푸스테이트(STDHF), 나트륨 글리코디하이드로푸스테이트 및 폴리옥시에틸렌-9-라우릴 에테르(POE) (예컨대, 문헌[Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Swinyard, Chapter 39 In:

Remington's Pharmaceutical Sciences, 18 판, Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1990, pages 782-783; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Yamamoto 등, J. Pharm. Exp. Ther., 1992, 263, 25; Yamashita 등, J. Pharm. Sci., 1990, 79, 579-583] 참조)를 포함한다.

[0592] 본 발명과 관련하여 이용되는 킬레이트제는 금속 이온과 함께 복합체를 형성함으로써 용액으로부터 금속 이온을 제거하여 점막을 통해 iRNA의 흡수가 향상시키는 화합물로 정의될 수 있다. 본 발명에서 침투 향상제로의 이용에 대하여, 킬레이트제는 대부분의 특징이 되는 DNA 뉴클레아제는 촉매작용에 대한 2가 금속 이온을 필요로 하며, 따라서 킬레이트제에 의하여 억제되므로 DNase 억제제로서도 작용하는 추가 장점을 가진다(문헌[Jarrett, J. Chromatogr., 1993, 618, 315-339]). 적당한 킬레이트제는 디소듐 에틸렌디아민테트라아세트레이트(EDTA), 시트르산, 살리실레이트(예컨대, 나트륨 살리실레이트, 5-메톡시살리실레이트 및 호모바닐레이트), 콜라겐의 N-아실 유도체, 라우레스-9 및 베타-디케톤의 N-아미노 아실 유도체(엔아민)를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다(예컨대, 문헌[Katdare, A. 등, Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006; Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33; Buur 등, J. Control Rel., 1990, 14, 43-51] 참조).

[0593] 본원에 사용된 바와 같이, 비킬레이트 비계면활성제 침투 향상 화합물은 킬레이트제로서 또는 계면활성제로서 현저하지 않은 활성을 보이지만, 그림에도 불구하고 영양 점막(alimentary mucosa)을 통해 iRNA의 흡수를 향상시키는 화합물로 정의될 수 있다(예컨대, 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33] 참조). 이러한 클래스의 침투 향상제는 예를 들어, 불포화 사이클릭 요소, 1-알킬- 및 1-알케닐아자시클로-알칸온 유도체(Lee 등, 문헌[Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92]); 및 디클로페낙 나트륨, 인도메타신 및 페닐부타존과 같은 비스테로이드성 소염제(문헌[Yamashita 등, J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626])를 포함한다.

[0594] 세포 수준에서 iRNA의 흡수를 향상시키는 작용제는 본 발명의 약학적 조성물 및 기타 조성물에 첨가될 수도 있다. 예를 들어, 리포펙틴(Junichi 등, 미국특허 번호 5,705,188 호)과 같은 양이온성 지질, 양이온성 글리세롤 유도체 및 폴리리신(Lollo 등, PCT 출원 WO 97/30731 호)과 같은 폴리양이온성 분자는 dsRNA의 세포 흡수를 향상시키는 것으로 알려져 있기도 하다. 상업적으로 이용 가능한 형질감염 시약의 예는 예를 들어, 다른 것들 중에서, Lipofectamine™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Lipofectamine 2000™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), 293fectin™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Cellfectin™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), DMRIE-C™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), FreeStyle™ MAX(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Lipofectamine™ 2000 CD(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Lipofectamine™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), RNAiMAX(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Oligofectamine™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), Optifect™(Invitrogen; 칼즈배드, 캘리포니아), X-tremeGENE Q2 형질감염 시약(Roche; 그렌짜허스트라쎄, 스위스), DOTAP 리포솜 형질감염 시약(그렌짜허스트라쎄, 스위스), DOSPER 리포솜 형질감염 시약(그렌짜허스트라쎄, 스위스), 또는 Eugene(그렌짜허스트라쎄, 스위스), Transfectam® 시약(Promega; 매디슨, 위스콘신), TransFast™ 형질감염 시약(Promega; 매디슨, 위스콘신), Tfx™-20 시약(Promega; 매디슨, 위스콘신), Tfx™-50 시약(Promega; 매디슨, 위스콘신), DreamFect™(OZ Biosciences; 마르세유, 프랑스), EcoTransfect(OZ Biosciences; 마르세유, 프랑스), TransPass^a D1 형질감염 시약(New England Biolabs; 입시치, 메사추세츠주, 미국), LyoVec™/LipoGen™(Invitrogen; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), PerFectin 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), NeuroPORTER 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), GenePORTER 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), GenePORTER 2 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), Cytofectin 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), BaculoPORTER 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), TroganPORTER™ 형질감염 시약(Genlantis; 샌디에고, 캘리포니아, 미국), RiboFect(Bioline; 톤턴, 메사추세츠주, 미국), PlasFect(Bioline; 톤턴, 메사추세츠주, 미국), UniFECTOR(B-Bridge International; 마운틴 뷰, 캘리포니아, 미국), SureFECTOR(B-Bridge International; 마운틴 뷰, 캘리포니아, 미국), 또는 HiFect™(B-Bridge International, 마운틴 뷰, 캘리포니아, 미국)을 포함한다.

[0595] 기타 작용제를 활용하여 에틸렌 글리콜 및 프로필렌 글리콜과 같은 글리콜, 2-피롤과 같은 피롤, 아존 및 리모넨 및 멘톤과 같은 테르펜을 포함하여, 투여된 핵산의 침투를 향상시킬 수 있다.

[0596] v. 담체

[0597] 본 발명의 특정 조성물은 제형에 담체 화합물도 포함한다. 본원에 사용된 "담체 화합물" 또는 "담체"는 비활성 (즉, 그 자체로 생물학적 활성을 가지지 않음)이지만, 예를 들어, 생물학적으로 활성인 핵산을 분해하거나 순환 으로부터 이의 제거를 촉진함으로써 생물학적 활성을 갖는 핵산의 생물이용도를 감소시키는 생체 내 공정에 의 하여 핵산으로 인지되는 핵산 또는 이의 유사체를 지칭할 수 있다. 통상적으로 담체 화합물이 과잉으로 있는, 핵산 및 담체 화합물의 공투여로 인해 아마도 공통의 수용체에 대한 담체 화합물 및 핵산 사이의 경쟁으로 인하여, 간, 신장 또는 기타 특별한 순환 조수(extracirculatory reservoirs) 내에서 회수된 핵산의 양의 실질적인 감소로 이어질 수 있다. 예를 들어, 간 조직 내에서 부분적으로 포스포포티오에이트 dsRNA의 회수는 폴리이노신 산, 텍스트란 설페이트, 폴리시티드산 또는 4-아세트아미도-4' 이소티오시아노-스틸벤-2,2'-디설폰산과 함께 공 투여되는 경우, 감소될 수 있다(문헌[Miyao 등, DsRNA Res. Dev., 1995, 5, 115-121; Takakura 등, DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183]).

[0598] vi. 부형제

[0599] 담체 화합물과 달리, "약학적 담체" 또는 "부형제"는 약학적으로 허용 가능한 용매, 현탁제 또는 하나 이상의 핵산을 동물에게 전달하기 위한 임의의 기타 약리적 비활성 운반체이다. 부형제는 액체 또는 고체일 수 있으며, 선택되어 염두에 둔 계획된 투여 방식으로 핵산 및 주어진 약학적 조성물의 기타 구성성분들과 조합되는 경우 소기의 벌크, 연경도 등을 제공하게 된다. 통상적인 약학적 담체는 결합체(예컨대, 사전에 젤라틴화한 옥수수 전분, 폴리비닐피롤리돈 또는 히드록시프로필 메틸셀룰로오스 등); 충전제(예컨대, 락토오스 및 기타 당, 마이 크로결정질 셀룰로오스, 펙틴, 젤라틴, 칼슘 설페이트, 에틸 셀룰로오스, 폴리아크릴레이트 또는 칼슘 수소 포 스페이트 등); 윤활제(예컨대, 스테아르산 마그네슘, 활석, 실리카, 콜로이드성 이산화 실리콘, 스테아르산, 금 속성 스테아레이트, 수소화 식물성유, 옥수수 전분, 폴리에틸렌 글리콜, 벤조산 나트륨, 아세트산 나트륨 등); 붕해제(예컨대, 전분, 전분 글리콜산 나트륨 등); 및 습윤제(예컨대, 황산 나트륨 라우릴 등)을 포함하지만, 여 기에 한정되지 않는다.

[0600] 핵산과 유해하게 반응하지 않는, 비경구가 아닌 투여에 적당한 약학적으로 허용 가능한 유기 또는 무기 부형제 를 이용하여 본 발명의 조성물을 제형화할 수도 있다. 적당한 약학적으로 허용 가능한 담체는 물, 염 용액, 알 코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토오스, 아밀로오스, 스테아르산 마그네슘, 활석, 규산, 점성 파라핀, 히 드록시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0601] 핵산의 국소 투여용 제형은 살균 및 비살균 수용액, 알코올과 같은 통상적인 용매의 비수성 용액 또는 액체 또 는 고체 베이스에서의 핵산의 용액을 포함할 수 있다. 용액은 완충제, 희석제 및 기타 적당한 첨가제도 포함할 수 있다. 핵산과 유해하게 반응하지 않는 비경구가 아닌 투여에 적당한 약학적으로 허용 가능한 유기 또는 무기 부형제가 이용될 수 있다.

[0602] 적당한 약학적으로 허용 가능한 부형제는 물, 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 젤라틴, 락토오스, 아밀로 오스, 스테아르산 마그네슘, 활석, 규산, 점성 파라핀, 히드록시메틸셀룰로오스, 폴리비닐피롤리돈 등을 포함하 지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0603] vii. 기타 구성요소

[0604] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물에서 종래 발견되는 기타 부가 구성요소를 업계에 확립된 이용 수준에서 추가 적으로 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 조성물은 예를 들어, 항소양제, 수렴제, 국소 마취제 또는 소염제 와 같은 추가의 융합성인 약학적으로 활성인 물질을 포함할 수 있거나, 염료, 풍미제, 보존제, 항산화제, 불투 명화제, 증점제 및 안정화제와 같이, 본 발명의 조성물의 다양한 제형을 물리적으로 제형화하는데 유용한 추가 적인 물질을 포함할 수 있다. 그러나, 그러한 물질은 첨가되는 경우, 본 발명의 조성물의 구성성분의 생물학적 활성을 과도하게 방해해서는 안 된다. 제형은 살균될 수 있으며, 원한다면, 제형의 핵산(들)과 유해하게 반응하 지 않는, 예컨대, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 주기 위한 염, 완충제, 착색제, 풍미 및/또는 방향 물질 등과 같은 보조제와 혼합될 수 있다.

[0605] 수성 현탁액은 예를 들어, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 소르비톨 및/또는 텍스트란을 포함하는 현탁액의 점 도를 증가시키는 물질을 포함할 수 있다. 현탁액은 안정화제를 포함할 수도 있다.

[0606] 일부 실시형태에서, 본 발명에서 특징된 약학적 조성물은 (a) 하나 이상의 iRNA 화합물 및 (b) 비-RNAi 메커니 즘에 의하여 기능하고 출혈 질환을 치료하는데 유용한 하나 이상의 작용제를 포함한다. 그러한 작용제의 예는

소염제, 항-지방증제, 항-바이러스제 및/또는 항-섬유증제를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 또한, 실리마린과 같이 간을 보호하는데 흔히 이용되는 기타 물질은 본원에 기술된 iRNA와 연계하여 이용될 수도 있다. 간 질병을 치료하는데 유용한 기타 작용제는 텔비부딘, 엔테카비르 및 텔라프레비어와 같은 프로테아제 억제제 및 예를 들어, Tung 등, 미국 출원 공개 번호 2005/0148548, 2004/0167116, 및 2003/0144217 호; 및 Hale 등, 미국 출원 공개 번호 2004/0127488 호에 기술된 기타 작용제를 포함한다.

[0607] 그러한 화합물의 독성 및 치료학적 효능은 예컨대, LD₅₀(개체군의 50%까지 치사하는 용량) 및 ED₅₀(개체군의 50%에서 치료학적으로 효과적인 용량)을 결정하기 위해, 세포 배양 또는 실험 동물에 있어서 표준 약학적 절차에 의하여 결정될 수 있다. 독성 및 치료적 효과 사이의 용량 비율은 치료 지수이며, 이는 LD₅₀/ED₅₀의 비율로 표현될 수 있다. 높은 치료 지수를 보이는 화합물이 바람직하다.

[0608] 세포 배양 분석법 및 동물 연구로부터 얻은 데이터는 투여량의 범위를 인간용으로 제형화하는데 이용될 수 있다. 본 발명에서 특징된 조성물의 투여량은 일반적으로 독성이 거의 없거나 전혀 없는 ED₅₀을 포함하는 순환 농도의 범위 내에 있다. 투여량은 채용된 제형 및 활용된 투여 경로에 따라 이 범위 내에서 달라질 수 있다. 본 발명에서 특징된 방법에 이용된 임의의 화합물에 대하여, 치료학적 유효 용량은 세포 배양 분석법으로부터 최초로 추정될 수 있다. 용량은, 상기 화합물의 순환 혈장 농도 범위, 또는 적절한 경우 세포 배양에서 결정된 바와 같이 IC₅₀(즉, 증상의 절반-최대 억제를 달성하는 시험 화합물의 농도)를 포함하는 표적 서열의 폴리펩티드 생성물의 순환 혈장 농도 범위를 달성하도록(예컨대, 감소된 농도의 폴리펩티드를 달성) 동물 모델 내에서 제형화될 수 있다. 그러한 정보는 인간에서 유용한 용량을 더 정확하게 결정하는데 이용될 수 있다. 혈장 수준은 예를 들어, 고성능 액체 크로마토그래피에 의하여 측정될 수 있다.

[0609] 상기에서 토의된 바와 같이, 이의 투여뿐만 아니라, 본 발명에서 특징된 iRNA는 철분 과부하에 의해 매개되며 TMPRSS6 발현을 억제함으로써 치료될 수 있는 병적 과정의 치료에 효과적인 기타 알려진 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 좌우간, 투여하는 의사는 업계에 알려지거나 본원에 기술된 효능의 표준 척도를 이용하여 관찰된 결과에 기초하여 iRNA 투여의 양 및 타이밍을 조정할 수 있다.

[0610] V. TMPRSS6 발현의 억제 방법

[0611] 본 발명은 세포에서의 TMPRSS6(마트립타제-2)의 발현의 억제 방법을 제공한다. 본 방법은 세포를 세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제하기 위한 유효량의 RNAi 작용제, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제와 접촉시켜, 세포에서 TMPRSS6의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0612] 세포를 이중 가닥 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계는 시험관 내 또는 생체 내에서 행해질 수 있다. 세포를 생체 내에서 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계는 대상체, 예를 들어, 인간 대상체 내의 세포 또는 세포의 군을 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계를 포함한다. 시험관 내 및 생체 내 접촉 방법의 조합도 또한 가능하다. 접촉시키는 단계는 상술된 바와 같이 직접적 또는 간접적일 수 있다. 또한, 세포를 접촉시키는 단계는 본원에 기술되거나 당 업계에 공지되어 있는 임의의 리간드를 포함하는 표적화 리간드를 통해 달성될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 표적화 리간드는 탄수화물 모이어티, 예를 들어, GalNAc₃ 리간드 또는 RNAi 작용제를 관심 대상 부위, 예를 들어, 대상체의 간으로 유도하는 임의의 다른 리간드이다.

[0613] 본원에 사용되는, "억제하는"이라는 용어는 "감소시키는", "침묵화하는", "하향조절하는" 및 기타 유사 용어와 교환가능하게 이용되며, 임의의 수준의 억제를 포함한다.

[0614] "TMPRSS6의 발현을 억제하는"이라는 어구는 임의의 TMPRSS6 유전자(예컨대, 마우스 TMPRSS6 유전자, 생쥐 TMPRSS6 유전자, 원숭이 TMPRSS6 유전자 또는 인간 TMPRSS6 유전자와 같은) 뿐만 아니라 TMPRSS6 유전자의 변이체 또는 돌연변이체의 발현의 억제를 지칭하는 의도이다. 따라서, TMPRSS6 유전자는 유전자 조작된 세포, 세포의 그룹 또는 유기체의 맥락에서 야생형 TMPRSS6 유전자, 돌연변이 TMPRSS6 유전자 또는 형질전환 TMPRSS6 유전자일 수 있다.

[0615] "TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는"은 TMPRSS6 유전자의 임의의 수준의 억제, 예를 들어, TMPRSS6 유전자의 발현의 적어도 부분적인 저해를 포함한다. TMPRSS6 유전자의 발현은 TMPRSS6 유전자 발현과 연관된 임의의 변수의 수준, 예컨대, TMPRSS6 mRNA 수준, TMPRSS6 단백질 수준, 또는 지질 수준 또는 그 수준의 변화에 기초하여 측정될 수 있다. 이러한 수준은 예를 들어, 대상체로부터 유래된 표본을 포함하는 개별 세포 또는 세포의 군에서 측정될 수 있다.

[0616] 억제는 대조군 수준과 비교하여 TMPRSS6 발현과 관련된 하나 이상의 변수들의 절대 또는 상대 수준의 감소에 의

하여 측정될 수 있다. 대조군 수준은 업계에 활용되는 임의의 형태의 대조군 수준, 예컨대, 투여전 기저 수준, 또는 (예컨대, 완충제 유일 대조군 또는 비활성 작용제 대조군과 같은) 대조군으로 처리 또는 미처리된 유사한 대상체, 세포 또는 표본으로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0617] 본 발명의 방법의 일부 실시형태들에서, TMPRSS6 유전자의 발현은 적어도 약 5%, 적어도 약 10%, 적어도 약 15%, 적어도 약 20%, 적어도 약 25%, 적어도 약 30%, 적어도 약 35%, 적어도 약 40%, 적어도 약 45%, 적어도 약 50%, 적어도 약 55%, 적어도 약 60%, 적어도 약 65%, 적어도 약 70%, 적어도 약 75%, 적어도 약 80%, 적어도 약 85%, 적어도 약 90%, 적어도 약 91%, 적어도 약 92%, 적어도 약 93%, 적어도 약 94%, 적어도 약 95%, 적어도 약 96%, 적어도 약 97%, 적어도 약 98%, 또는 적어도 약 99% 억제된다.

[0618] TMPRSS6 유전자의 발현의 억제는 제1 세포 또는 세포의 군(이러한 세포는 예를 들어, 대상체로부터 유래된 표본에 존재할 수 있음)에 의해 발현되는 mRNA의 양의 감소에 의해 나타날 수 있으며, 여기서, TMPRSS6 유전자가 전사되고, (예를 들어, 세포 또는 세포들을 본 발명의 RNAi 작용제와 접촉시키거나, 본 발명의 RNAi 작용제를 상기 세포가 존재하거나 존재하였던 대상체에게 투여함으로써) 제1 세포 또는 세포들의 군과 실질적으로 동일하지만, 그렇게 처리되지 않은 제2 세포 또는 세포들의 군(대조군 세포들)과 비교하여, TMPRSS6 유전자의 발현이 억제되도록 처리된다. 바람직한 실시형태에서, 억제는 처리된 세포에서 mRNA의 수준을 하기의 식을 이용하여 대조군 세포에서의 mRNA의 수준의 백분율로서 표현함으로써 측정된다:

$$\frac{(\text{대조군 세포들에서의 mRNA}) - (\text{처리된 세포들에서의 mRNA})}{(\text{대조군 세포들에서의 mRNA})} \bullet 100\%$$

[0619]

[0620] 대안적으로, TMPRSS6 유전자의 발현의 억제는 기능적으로 TMPRSS6 유전자 발현, 예를 들어, 조직 또는 혈청 내 TMPRSS6 단백질 발현, 헵시딘 유전자 또는 단백질 발현, 또는 철 수준과 관련된 매개변수의 감소의 면에서 측정될 수 있다. TMPRSS6 유전자 침묵화는 구성적으로 또는 게놈 조작에 의해, 그리고 업계에 공지되어 있는 임의의 분석에 의해 TMPRSS6을 발현하는 임의의 세포에서 결정될 수 있다. 간은 주요 TMPRSS6 발현 부위이다. 기타 유의미한 발현 부위는 신장 및 자궁을 포함한다.

[0621] TMPRSS6 단백질의 발현의 억제는 세포 또는 세포의 군에 의해 발현되는 TMPRSS6 단백질의 수준(예를 들어, 대상체로부터 유래된 표본에 의해 발현되는 TMPRSS6 단백질의 수준)의 감소에 의해 나타날 수 있다. mRNA 억제의 측정에 대하여 상기 설명된 바와 같이, 처리된 세포 또는 세포의 군에서의 단백질 발현 수준의 억제는 대조군 세포 또는 세포의 군에서의 단백질의 수준의 백분율로서 유지하게 표현될 수 있다.

[0622] TMPRSS6 유전자의 발현의 억제를 측정하기 위해 사용될 수 있는 대조군 세포 또는 세포의 군은 본 발명의 RNAi 작용제와 접촉된 적이 없는 세포 또는 세포의 군을 포함한다. 예를 들어, 대조군 세포 또는 세포의 군은 대상체를 RNAi 작용제로 처리하기 전에 개별 대상체(예를 들어, 인간 또는 동물 대상체)로부터 유래될 수 있다.

[0623] 세포 또는 세포의 군에 의해 발현되는 TMPRSS6 mRNA의 수준은 mRNA 발현을 측정하기 위한 업계에 공지되어 있는 임의의 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 일 실시형태에서, 표본에서의 TMPRSS6의 발현 수준은 전사된 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 부분, 예를 들어, TMPRSS6 유전자의 mRNA를 검출함으로써 결정된다. RNA는 예를 들어, 산페놀/구아니딘 이소티오시아네이트 추출(RNAzol B; Biogenesis), RNeasy RNA 제조 키트(Qiagen) 또는 PAXgene(PreAnalytix, 스위스)을 이용하는 것을 포함하는 RNA 추출 기술을 이용하여 세포로부터 추출될 수 있다. 리보핵산 혼성화를 이용하는 전형적인 분석 형식은 핵 런-온 분석(nuclear run-on assay), RT-PCR, RNase 보호 분석(문헌[Melton 등, Nuc. Acids Res. 12:7035]), 노던 블롯팅(Northern blotting), 동소 혼성화(in situ hybridization) 및 마이크로어레이 분석을 포함한다.

[0624] 일 실시형태에서, TMPRSS6의 발현 수준은 핵산 탐침을 이용하여 결정된다. 본원에 사용된, "탐침"이라는 용어는 특정 TMPRSS6에 선택적으로 결합할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 탐침은 당업자에 의해 합성되거나, 적절한 생물학적 체계로부터 유래될 수 있다. 탐침은 특이적으로 표지되도록 설계될 수 있다. 탐침으로 사용될 수 있는 분자의 예에는 RNA, DNA, 단백질, 항체 및 유기 분자가 포함되나, 이들에 한정되지 않는다.

[0625] 분리된 mRNA는 서던(Southern) 또는 노던 분석, 중합효소 연쇄 반응(PCR) 분석 및 탐침 분석을 포함하나 이들에 한정되지 않는 혼성화 또는 증폭 분석에서 사용될 수 있다. mRNA 수준의 결정을 위한 하나의 방법은 분리된 mRNA를 TMPRSS6 mRNA에 혼성화할 수 있는 핵산 분자(탐침)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 실시형태에서, mRNA는 예를 들어, 아가로스 겔 위에 분리된 mRNA를 전개시키고, mRNA를 겔로부터 막, 예를 들어 니트로셀룰로오스로 옮김으로써, 고체 표면상에서 고정되고, 탐침과 접촉한다. 대안적 실시형태에서, 탐침(들)은 고체 표면에 고정되고, 예를 들어, 아피메트릭스(Affymetrix) 유전자 칩 어레이에서 mRNA가 탐침(들)과 접촉된다. 당업자

는 TMPRSS6 mRNA의 수준을 측정하는데 이용하기 위한 공지된 mRNA 검출방법들을 쉽게 적응시킬 수 있다.

[0626] 표본 내의 TMPRSS6의 발현 수준을 측정하기 위한 대안적 방법은 예를 들어, RT-PCR(Mullis의 미국 특허 제 4,683,202호 (1987)에 개시된 실험예), 리가아제 연쇄반응(문헌[Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193]), 자립 서열복제(문헌[Guatelli 등 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878]), 전사 증폭 시스템(문헌[Kwoh 등 (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177]), Q-베타 복제효소(문헌[Lizardi 등 (1988) Bio/Technology 6:1197]), 회전환 복제(Lizardi 등, 미국 특허 제5,854,033호), 또는 임의의 다른 핵산 증폭 방법 후, 당업자에게 잘 알려진 기술들을 사용한 증폭된 분자의 검출에 의해, 표본 내 mRNA의 핵산 증폭 과정 및/또는 (cDNA를 제조하기 위한) 역전사효소를 포함한다. 이러한 분자들이 매우 적은 수로 존재한다면, 상기 검출 계획들이 핵산 분자들을 검출하는데 특히 유용하다. 본 발명의 특정 양태에서, TMPRSS6의 발현수준은 정량적 형광원 RT-PCR(즉, TaqMan™ 시스템)에 의해 측정된다.

[0627] TMPRSS6 mRNA의 발현 수준은 막 블롯(예를 들어, 노던, 서던, 도트 등과 같은 혼성화 분석법에 사용됨) 또는 마이크로웰, 표본 튜브, 젤, 비드 또는 섬유(또는 결합 핵산을 포함하는 임의의 고체 지지체)를 이용하여 모니터링될 수 있다. 미국 특허 제5,770,722호, 제5,874,219호, 제5,744,305호, 제5,677,195호 및 제5,445,934호를 참조하며, 이는 이후에 본원에 포함된다. TMPRSS6 발현 수준의 측정은 용액내 핵산 탐침을 이용하는 것을 포함할 수 있다.

[0628] 바람직한 실시형태에서, mRNA 발현 수준은 분지형 DNA(bDNA) 분석법 또는 실시간 PCR(qPCR)을 이용하여 측정된다. 상기 방법들의 용도는 본원에 설명되고, 실시예에 예시되어 있다.

[0629] TMPRSS6 단백질 발현 수준은 단백질 수준의 측정 분야에 공지된 임의의 방법을 이용하여 측정될 수 있다. 상기 방법들은 예를 들어, 전기영동법, 모세관 전기영동법, 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC), 박막 크로마토그래피(TLC), 고분산(hyperdiffusion) 크로마토그래피, 유체 또는 겔 침강반응, 흡수 분광법, 비색분석법, 분광분석법, 유동세포 분석법, 면역확산법(단일 또는 이중), 면역전기영동법, 웨스턴 블롯팅, 방사면역분석법(RIA), 효소-결합된 면역흡착 분석법(ELISA), 면역형광 분석법, 전기화학발광 분석법 등을 포함한다.

[0630] 본원에 사용된 "표본"이라는 용어는 대상체 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직뿐만 아니라 대상체로부터 분리된 유사한 유체, 세포 또는 조직의 집합을 지칭한다. 생물학적 유체의 예는 혈액, 혈청 및 장막 유체, 혈장, 림프, 소변, 뇌척수액, 타액, 안 유체 등을 포함한다. 조직 표본은 조직, 기관 또는 국소화된 영역으로부터 나온 표본을 포함할 수 있다. 예를 들어, 표본은 특정 기관, 기관의 부분 또는 그러한 기관 내의 유체 또는 세포로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 표본은 간(예컨대, 전 간(whole 간) 또는 간의 특정 분절 또는 예컨대, 간세포와 같이 간 내의 특정 유형의 세포)으로부터 유래될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, "대상체로부터 유래된 표본"은 대상체로부터 뽑은 혈액 또는 혈장을 지칭한다. 추가의 실시형태에서, "대상체로부터 유래된 표본"은 대상체로부터 유래된 간 조직을 지칭한다.

[0631] 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 RNAi 작용제가 대상체 내의 특정 부위에 전달되도록 대상체에게 투여된다. TMPRSS6의 발현의 억제제는 대상체 내의 특정 부위로부터의 유체 또는 조직으로부터 유래된 표본에서 TMPRSS6 mRNA 또는 TMPRSS6 단백질의 수준 또는 그의 수준의 변화의 측정을 이용하여 측정될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 상기 부위는 간이다. 상기 부위는 또한 전술된 부위 중 임의의 것으로부터의 세포의 세포부항목 또는 하위그룹일 수도 있다. 또한, 상기 부위는 특정 수용체 유형을 발현하는 세포를 포함할 수 있다.

[0632] VI. TMPRSS6-관련 질환의 치료 또는 예방 방법

[0633] 본 발명은 또한, TMPRSS6 유전자 발현에 의해 조절될 수 있는 질병 및 질환의 치료 또는 예방 방법을 제공한다. 예를 들어, 본원에 기술된 조성물은 철분 과부하와 연관된 임의의 장애, 예를 들어, 탈라세미아 (예를 들어, β -탈라세미아 또는 α -탈라세미아), 원발성 혈색소침착증, 이차성 혈색소침착증, 중증 소아 혈색소침착증, 적혈구조혈성 포르피린증, 철적모구 빈혈, 용혈성 빈혈, 적혈구형성이상 빈혈 또는 겸상적혈구 빈혈의 치료에 사용될 수 있다. 일 실시형태에서, TMPRSS6 iRNA는 이상혈색소증(헤모글로빈병증)의 치료에 사용된다. 본 발명의 TMPRSS6 iRNA는 또한, 만성 알코올중독과 같은 다른 질환으로 인한 상승된 철 수준을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0634] 탈라세미아에서, 골수는 헤모글로빈 사슬을 불충분한 양으로 합성하며; 이는 다시, 적혈구 생성을 감소시키고, 빈혈을 유발한다. α 사슬 또는 β 사슬이 영향을 받을 수 있지만, β -탈라세미아가 보다 보편적이다. 신생아들은 이들의 신체가, β 사슬을 가지지 않는 HbF를 여전히 생성하기 때문에 건강하며; 생후 첫 몇 달 동안 골수는

HbA를 생성하도록 스위치되며, 증상이 출현하기 시작한다.

- [0635] β -탈라세미아는 HBB 유전자의 비-발현 (β°) 대립형질 또는 저-발현 (β^+) 대립형질을 가진 돌연변이로 인해 발병되며, β -탈라세미아는 유전형에 따라 중증도가 다양하며, 경증성/소질 β -탈라세미아(β/β° 또는 β/β^+), 중간성 β -탈라세미아(β°/β^+) 및 중증성 β -탈라세미아(β°/β° 또는 β^7/β^+)를 포함한다.
- [0636] 중간성 탈라세미아(TI) 전형적으로 용혈을 거의 제시하지 않는 한편, 중증성 β -탈라세미아(TM)는 전형적으로, 예를 들어, 빈혈 및 비장 비대증을 유발하는 충분한 용혈; 및 골수 구동, 증가된 에리트르포이에틴 합성, 간비종대증(hepato-splenomegaly), 헤마티닉스(haematinics)의 소모(거대적모구성 빈혈(megablasic anemia)) 및 혈중 높은 요산을 유발하는 매우 비효율적인 적혈구생성(골격 변화, 골연화증(osteopenia))을 수반한다. 본 발명의 iRNA, 예를 들어, TMPRSS6 iRNA는 전형적으로, TI와 보다 유사한 탈라세미아를 수반하는 철분 과부하를 치료(예를 들어, β°/β^+ , β/β° 또는 β/β^+ 유전형을 가진 개체를 치료)하는 데 더욱 적합하다.
- [0637] β -탈라세미아의 증상은 또한, 예를 들어, 철분 과부하와 같이 치료로 인한 합병증을 포함하며, 이는 내분비병증, 간 섬유증 및 심장 섬유증을 유발한다. TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA 작용제의 투여는 이들 증상 중 하나 이상의 치료에 효과적일 수 있다.
- [0638] α -탈라세미아는 HBA1 유전자 또는 HBA2 유전자의 비-발현 (α°) 대립형질 또는 저-발현 (α^+) 대립형질을 가진 돌연변이로 인해 발병되거나, α -탈라세미아는 유전형에 따라 중증도가 다양하며, 소질 탈라세미아($-\alpha/\alpha\alpha$), Hb Bart 및 태아 수종(Hydrops fetalis)($\alpha^\circ/\alpha^\circ$), 경증성 α -탈라세미아($-/\alpha\alpha$), ($-\alpha/-\alpha$) 및 HbH 질병($-/-\alpha$)을 포함한다. 저급 α -글로빈 사슬이 생성되며, 성인에서 과량의 β 사슬이 생성되고, 신생에서 과량의 γ 사슬이 생성된다. 과량의 β 사슬은 불안정한 사량체(4개의 베타 사슬의 헤모글로빈 H 또는 HbH로 지칭됨)를 형성하며, 이는 비정상적인 산소 해리 곡선을 가진다. TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA 작용제의 투여는 α -탈라세미아를 가진 대상체에서 철분 과부하의 치료에 효과적일 수 있다.
- [0639] 혈액소침착증의 증상으로는, 예를 들어, 복통, 관절통, 피로, 에너지 결핍, 허약함, 피부의 칙칙해짐(종종 "갈색화(bronzing)"로 지칭됨) 및 체중 소실을 포함한다. TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA 작용제의 투여는 이들 증상 중 하나 이상의 치료에 효과적일 수 있다.
- [0640] 철분 과부하와 연관된 다른 증상으로는, 간 질병(간경변, 암), 심장마비 또는 심부전, 당뇨병, 골관절염, 골다공증, 대사 증후군, 갑상선기능 저하증, 생식기능 저하증 및 일부 사례에서 조기사망의 증가된 위험도를 포함한다. 과부하를 초래하는 철 관리소홀은 또한, 알츠하이머병, 조기 발병되는 파킨슨병, 헌팅턴병, 간질 및 다발성 경화증과 같은 신경퇴행성 질병을 가속화할 수 있다. TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA 작용제, 예를 들어, 표 1 또는 표 2에 기술된 iRNA의 투여는 이들 증상 중 하나 이상을 치료할 수 있거나, 증가된 철분 수준에 의해 악화되는 질병 또는 장애의 발병 또는 진행을 방지할 수 있다.
- [0641] 본 발명의 방법은 나아가, 철분 과부하와 연관된 장애의 치료를 위한, 예를 들어, 다른 약학적 방법 및/또는 다른 치료학적 방법, 예를 들어, 공지된 약학적 방법 및/또는 공지된 치료학적 방법, 예컨대 현재 이들 장애의 치료에 적용되는 방법과 조합된, iRNA 작용제 또는 이의 약학적 조성물의 용도에 관한 것이다. 예를 들어, 소정의 실시형태에서, TMPRSS6을 표적으로 하는 iRNA 작용제는 예를 들어, 철분 킬레이터(예를 들어, 데스페록사민(desferoxamine)), 엽산, 수혈, 정맥절개술(phlebotomy), 케양 관리제, 태아 헤모글로빈 수준을 증가시키는 작용제(예를 들어, 하이드록시우레아), 감염 조절제(예를 들어, 항생제 및 항바이러스제), 혈전 상태 치료제, 또는 줄기세포나 골수 이식과 조합하여 투여된다. 줄기세포 이식은 탭줄 줄기세포, 예컨대 형제자매와 같은 친척의 줄기세포를 이용할 수 있다. 예시적인 철분 킬레이터로는 데스페록사민(desferoxamine), 데페라시록스(deferasirox) (Exjade), 데페리프론(deferiprone), 비타민 E, 밀 배아유, 토코페솔란(tocopherol) 및 인디카산틴(indicaxanthin)을 포함한다.
- [0642] iRNA 작용제 및 부가적인 치료제는 동일한 조성물에서, 예를 들어 비경구 투여될 수 있거나, 부가적인 치료제는 개별 조성물의 일부로서 또는 본원에 기술된 또 다른 방법에 의해 투여될 수 있다. iRNA 작용제 및 부가적인 치료제의 투여는 동시에 수행될 수 있거나 상이한 시점에 임의의 순서대로 수행될 수 있다.
- [0643] 본 발명의 iRNA 작용제의 투여는 철분 수준을 낮추거나, 페리틴 수준을 낮추거나, 및/또는 트랜스페린 포화 수준을 낮출 수 있다. 예를 들어, dsRNA의 투여는 혈청 철분 수준을 낮추거나 및/또는 혈청 페리틴 수준을 낮출 수 있다. 트랜스페린 포화 수준은 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85% 또는 그 이상 낮아질 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 트랜스페린 포화 수준은 투여 후, 7일, 10일, 20일, 30일 또는 그 이상 동안 낮아진 채로 유지된다.

- [0644] 트랜스페린 포화 수준은 50% 미만, 45% 미만, 40% 미만, 35% 미만, 35% 미만, 30% 미만, 25% 미만, 20% 미만, 15% 미만 또는 그 이하로 낮아질 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 보다 낮은 트랜스페린 포화 수준은 투여 후, 7일, 10일, 20일, 30일 또는 그 이상 동안 유지된다. 트랜스페린 포화도는 혈청 트랜스페린에 결합된 철의 양의 측정값이며, 혈청 철분 및 총 철분-결합력의 비율에 상응한다.
- [0645] 혈청 철분 수준은 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 낮아질 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 혈청 철분 수준은 투여 후, 7일, 10일, 20일, 30일 또는 그 이상 동안 낮아진 채로 유지된다.
- [0646] 본 발명의 iRNA 작용제의 투여는 바람직하게는, 혈액 내, 보다 특히 혈청 내, 또는 포유류의 하나 이상의 조직 내 철분 수준을 낮춘다. 일부 실시형태에서, 철분 수준은 처리전 수준과 비교하여 적어도 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 또는 그 이상 저하된다.
- [0647] 본 맥락에서 "보다 낮은"이란, 이러한 수준의 통계학적으로 유의한 저하를 의미한다. 저하는 예를 들어, 10% 이상, 20% 이상, 30% 이상, 40% 이상 또는 그 이상일 수 있으며, 바람직하게는 이러한 장애를 가지지 않는 개체에 대한 정상 범위 내의 허용된 수준까지 경감된다.
- [0648] 본 발명의 iRNA 작용제의 투여는 혈청 헵시딘 수준을 증가시키고/거나 헵시딘 유전자 발현을 증가시킬 수 있다. 예를 들어, dsRNA의 투여는 혈청 헵시딘을 적어도 약 10%, 25%, 50%, 100%, 150%, 200%, 250%, 300% 또는 그 이상 증가시킬 수 있다. 추가적인 예에서, dsRNA의 투여는 헵시딘 mRNA 수준을 적어도 약 1.5배, 2배, 3배, 4배, 5배 또는 그 이상 증가시킬 수 있다.
- [0649] 질병의 치료 또는 예방 효능은 예를 들어, 질병의 진행, 질병의 차도, 증상의 중증도, 통증 감소, 삶의 질, 치료 효과를 지속하는 데 필요한 약제의 용량, 질병 마커 또는 치료 또는 예방을 목적으로 하는 해당 질병에 적절한 임의의 다른 측정가능한 매개변수의 수준을 측정함으로써 평가될 수 있다. 이러한 매개변수들 중 임의의 하나 또는 매개변수들의 임의의 조합을 측정함으로써, 치료 또는 예방 효능을 모니터링하는 것은 당업자의 능력 내에 존재한다. 예를 들어, 트랜스페린 포화 또는 혈청 페리틴의 수준은 해당 치료 계획의 효능에 대해 모니터링될 수 있다.
- [0650] 철분 수준 시험은 전형적으로, 환자의 혈액 표본에서 수행된다. 철분 수준 시험은, 트랜스페린 단백질에 의해 운반되는 혈액 혈청 내 철분의 양을 측정한다. TIBC(총 철분-결합력) 시험은 트랜스페린이 완전히 포화된 경우, 혈액이 운반할 철분의 양을 측정한다. 트랜스페린은 간에 의해 생성되기 때문에, TIBC는 간 기능 및 영양을 모니터링하는 데 사용될 수 있다. 트랜스페린 시험은 혈액 내 트랜스페린(시데로필린(siderophilin)으로도 지칭됨) 수준의 직접적인 측정법이다. 트랜스페린의 포화 수준은 혈청 철분 수준을 TIBC로 나눔으로써 계산될 수 있다. 페리틴 시험은, 나중에 신체에 의해 사용되도록 철분을 저장하는 혈액 내 단백질의 수준을 측정한다.
- [0651] 본원에 기술된 iRNA 치료는 TMPRSS6과 연관된 장애, 예를 들어, 상승된 철분 수준을 가진 개체를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 상승된 철분 수준은 혈청 내 철분 수준, 예를 들어, 350 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과, 500 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과, 1000 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과 또는 그 이상인 것으로 측정되는 철분 수준에 의해 지시될 수 있다. 일 실시형태에서, 혈청 내 철분의 상승된 수준은 예를 들어, 건조 중량 1 g 당 15 mg 초과, 20 mg 초과, 25 mg 초과 또는 30 mg 초과이다.
- [0652] 본원에 기술된 iRNA 치료는 또한, 상승된 철분 수준을 가진 개체를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 상승된 철분 수준은 혈청 내 상승된 페리틴 수준, 예를 들어, 300 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 1500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 2000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 2500 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과, 3000 $\mu\text{g}/\text{L}$ 초과 또는 그 이상인 것으로 측정되는 페리틴 수준에 의해 지시될 수 있다.
- [0653] 나아가, 본원에 기술된 iRNA 치료는 상승된 철분 수준을 가진 개체를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 상승된 철분 수준은 혈청 내 상승된 트랜스페린 수준, 예를 들어, 400 mg/dL 초과, 500 mg/L 초과, 1000 mg/dL 초과 또는 그 이상인 것으로 측정되는 트랜스페린 수준에 의해 지시될 수 있다.
- [0654] 본원에 기술된 iRNA 치료는 또한, 중간 정도로 상승된 철분 수준을 가진 개체를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 상승된 철분 수준은 중간 정도로 상승된 트랜스페린 포화 수준, 예를 들어, 40%, 45%, 50% 또는 그 이상인 포화 수준에 의해 지시될 수 있다. 또한, 본원에 기술된 치료는 트랜스페린 포화도가 단지 미미하게 상승된 개체에서 상승된 철분 수준을 예방하는 데 사용될 수 있다. 당업자는, 본원에 기술된 바와 같이 iRNA 치료를 받는 대상체에서 트랜스페린 포화 수준을, 트랜스페린 포화 수준의 적어도 5% 또는 10% 감소에 대해 분석법을 이용하여 쉽게 모니터링할 수 있다.
- [0655] 본원에 기술된 iRNA 치료는 상승된 철분 수준을 가진 개체를 치료하는 데 사용될 수 있으며, 상승된 철분 수준

은 400 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과, 500 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과, 1000 $\mu\text{g}/\text{dL}$ 초과 또는 그 이상인 것으로 측정되는 TIBC 값에 의해 지시될 수 있다.

- [0656] 일부 실시형태에서, 본 발명의 iRNA 작용제를 사용한 치료가 필요한 개체는 저하된 헤마토크릿(hematocrit) 수준, 저하된 헤모글로빈 수준, 증가된 적혈구 분포 폭, 증가된 망상적혈구 수, 감소된 성숙 적혈구 세포의 수, 증가된 불포화된 철분-결합력, 저하된 비효과적인 적혈구생성, 저하된 수질외(extramedullary) 조혈 및/또는 저하된 HAMP1 발현 수준을 가진다.
- [0657] 환자는 또한, 혈당(포도당) 수준 또는 태아단백질 수준의 분석법에 의해, 초음파 심장 진단도(예를 들어, 심장 기능을 검사함), 심전도(ECG)(예를 들어, 심장의 전기 활성을 확인함), 이미지 시험(imaging test)(예컨대 CT 스캔, MRI 및 초음파) 및 간 기능 시험에 의해 모니터링될 수 있다. 과량의 철분 염색 또는 철분 농도는 간 생검 표본에서 측정될 수 있거나, 간 손상 범위, 예를 들어, 간 질병의 단계를 확인하기 위해 측정될 수 있다.
- [0658] 치료 또는 예방 효과는, 질병 상태를 나타내는 하나 이상의 매개변수가 통계학적으로 유의하게 개선된 경우 또는 치료를 받지 않을 경우 예상되는 증상의 악화 또는 발병에 실패한 경우에 명백해진다. 일례로서, 질병의 측정가능한 매개변수에서 적어도 10%, 바람직하게는 적어도 20%, 30%, 40%, 50% 또는 그 이상의 바람직한 변화는 효과적인 치료를 가리킬 수 있다. 해당 iRNA 약물 또는 해당 약물의 제형의 효능은 또한, 당업계에 공지된 바와 같이 주어진 질병에 대한 실험 동물 모델을 이용하여 판단될 수 있다. 실험 동물 모델을 이용하는 경우, 치료 효능은 마커 또는 증상의 통계학적으로 유의한 감소가 관찰되는 경우, 명백해진다.
- [0659] 다른 예로, 효능은, 임상적으로 허용되는 질병 중증도 등급화 척도에 기초한 진단 분야의 당업자에 의해 확인되는 바와 같이, 질병 중증도의 감소에 의해 측정될 수 있다.
- [0660] 본원에서 사용된 바와 같이, "대상체"는 인간 또는 비-인간 동물, 바람직하게는 척추동물, 더욱 바람직하게는 포유류를 포함한다. 대상체는 형질전환 유기체를 포함할 수 있다. 가장 바람직하게는, 대상체는 인간, 예를 들어, TMPRSS6-관련 질병을 앓고 있거나, 이것이 발생하기 쉬운 인간이다.
- [0661] 본 발명의 방법의 일부 실시형태에서, TMPRSS6 발현은 연장된 기간, 예를 들어, 적어도 1주, 2주, 3주 또는 4주 또는 그 이상 동안 감소된다. 예를 들어, 소정의 경우에서, TMPRSS6 유전자의 발현은 본원에 기술된 iRNA 작용제의 투여에 의해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 98%, 또는 100% 저해된다. 일부 실시형태에서, TMPRSS6 유전자는 iRNA 작용제의 투여에 의해 적어도 약 60%, 70% 또는 80% 저해된다. 일부 실시형태에서, TMPRSS6 유전자는 이중 가닥 올리고뉴클레오타이드의 투여에 의해 적어도 약 85%, 90% 또는 95% 저해된다. 또 다른 실시형태에서, TMPRSS6 유전자는 투여 후, 7일, 10일, 20일, 30일 또는 그 이상 동안 저해된 채로 유지된다.
- [0662] 본 발명의 RNAi 작용제는 피하, 정맥 내, 근육 내, 안구 내, 기관지 내, 흉막 내, 복강 내, 동맥 내, 림프, 뇌척수 및 그들의 임의의 조합을 포함하나 이들에 한정되지 않는 업계에 공지되어 있는 임의의 투여 방식을 이용하여 대상체에게 투여될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 작용제는 피하 투여된다.
- [0663] 일부 실시형태에서, 투여는 데포 주사를 통한 것이다. 데포 주사는 오랜 시간에 걸쳐서 일관된 방식으로 RNAi 작용제를 방출할 수 있다. 따라서, 데포 주사는 소기의 효과, 예컨대, TMPRSS6의 소기의 억제 또는 치료적 또는 예방적 효과를 얻는데 필요한 투여의 빈도를 감소시킬 수 있다. 데포 주사는 더 일관적인 혈청 농도를 제공할 수도 있다. 데포 주사는 피하 주사 또는 근육 내 주사를 포함할 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 데포 주사는 피하 주사이다.
- [0664] 일부 실시형태에서, 투여는 펌프를 통한 것이다. 펌프는 외부 펌프 또는 외과적으로 이식된 펌프일 수 있다. 특정 실시형태에서, 펌프는 피하로 이식된 삼투 펌프이다. 기타 실시형태에서, 펌프는 주입 펌프이다. 주입 펌프는 정맥 내, 피하, 동맥 또는 경막의 주입용으로 이용될 수 있다. 바람직한 실시형태에서, 주입 펌프는 피하 주입 펌프이다. 기타 실시형태에서, 펌프는 RNAi 작용제를 간에 전달하는 외과적으로 이식된 펌프이다.
- [0665] 기타 투여 양식은 경막외, 뇌내, 뇌실내, 비강 투여, 동맥내, 심장내, 골내 주입, 경막내 및 유리체내 및 폐를 포함한다. 투여의 양식은 국소 또는 전신 치료가 요망되는지의 여부에 기초하여 그리고 치료되는 부분에 기초하여 선택될 수 있다. 투여의 경로 및 부위는 표적하는 것을 향상시키기 위해 선택될 수 있다.
- [0666] 상기 방법은 예를 들어, 적어도 5일, 더욱 바람직하게는 7일, 10일, 14일, 21일, 25일, 30일 또는 40일 동안 TMPRSS6 mRNA의 수준을 감소시키기 위해 충분한 용량의 iRNA 작용제를 투여하는 단계; 및 선택적으로, 단일 용량의 제2 dsRNA를 투여하여, 대상체에서 TMPRSS6 유전자의 발현을 억제하는 단계로서, 제2 단일 용량을 제1 단일 용

량을 투여하고 적어도 5일, 더욱 바람직하게는 7일, 10일, 14일, 21일, 25일, 30일 또는 40일 후에 투여하는 단계를 포함한다.

- [0667] 일 실시형태에서, 본 발명의 iRNA 작용제의 용량은 매 4주 1회 이하, 매 3주 1회 이하, 매 2주 1회 이하, 또는 매 1주 1회 이하로 투여된다. 다른 실시형태에서, 투여를 1, 2, 3 또는 6개월, 또는 1년 이상 유지할 수 있다. 또 다른 실시형태에서, 본 발명의 iRNA 작용제의 용량은 3주 동안 1주일에 1회 투여된다.
- [0668] 일반적으로, iRNA 작용제는 면역계를 활성화시키지 않으며, 예컨대 TNF-알파 또는 IFN-알파 수준과 같은 시토카인 수준을 증가시키지 않는다. 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 시험관 내 PBMC 분석과 같은 분석에 의해 측정하는 경우, TNF-알파 또는 IFN-알파 수준의 증가는 대조군 dsRNA, 예컨대 TMPRSS6을 표적으로 하지 않는 대조군 dsRNA로 처리한 대조군 세포의 30%, 20% 또는 10% 미만이다.
- [0669] 예를 들어, 대상체에는 치료량의 iRNA 작용제, 예를 들어, 0.3 mg/kg, 0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2.0 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 3 mg/kg의 dsRNA를 투여할 수 있다. iRNA 작용제는 소정의 기간에 걸쳐, 예를 들어, 5분, 10분, 15분, 20분 또는 25분 기간에 걸쳐 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 투여는 예를 들어, 규칙적으로 예를 들어, 한달, 두달, 세달, 네달 이상 동안에 격주로(즉, 2 주 마다) 반복된다. 최초 치료 요양법 이후에, 치료는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 예를 들어, 세달 동안 격주로 투여한 이후에, 투여는 여섯달 또는 1년 이상 동안 한달에 1회 반복될 수 있다. iRNA 작용제의 투여로 인해 예컨대, 환자의 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 다른 격실 내에서 TMPRSS6 수준이 적어도 10%, 적어도 15%, 적어도 20%, 적어도 25%, 적어도 30%, 적어도 40%, 적어도 50%, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80% 또는 적어도 90% 또는 그 이상 감소할 수 있다.
- [0670] iRNA 작용제의 전체 용량을 투여하기 이전에, 환자는 5% 미만의 주입 반응을 초래하는 용량과 같이 더 적은 용량을 투여받을 수 있으며, 알레르기 반응과 같은 불리한 효과에 대하여 또는 상승된 지질 수준 또는 혈압에 대하여 모니터링될 수 있다. 다른 예에 있어서, 환자는 증가된 시토킨(예컨대, TNF-알파 또는 INF-알파) 수준과 같이 원하지 않는 면역자극 효과에 대하여 모니터링될 수 있다.
- [0671] 상승된 철분 수준과 연관된 많은 장애들은 유전성이다. 따라서, TMPRSS6 iRNA가 필요한 환자는 가족력을 조사함으로써 확인될 수 있다. 의료인, 예컨대 의사, 간호사 또는 가족 구성원은 TMPRSS6 dsRNA의 처방 또는 투여 전에 가족력을 조사할 수 있다. 또한, TMPRSS6 dsRNA를 환자에게 투여하기 전에, DNA 시험을 환자에서 수행하여 TMPRSS6 유전자의 돌연변이를 확인할 수 있다. 예를 들어, 유전성 혈색소침착증의 진단은 진뱅크 등록 번호 CAB07442.1(GI: 1890180, 2008년 10월 23일자 기록)에 따라, 2개의 HFE(혈색소침착증) 유전자 돌연변이 C282Y 및 H63D를 확인함으로써 확인될 수 있다.
- [0672] 치료 또는 방지 효과는 질병 상태의 하나 이상의 매개변수들에 있어서 통계적으로 유의한 개선이 있거나, 달리 예상되는 증상을 악화시키거나 진전시키지 않는 것에 의해 명백해진다. 일례로, 질병의 측정가능한 매개변수에 있어서 적어도 10%의 바람직한 변화 및 바람직하게는, 적어도 20%, 30%, 40%, 50% 이상은 효과적인 치료를 나타낼 수 있다. 주어진 본 발명의 iRNA 작용제 또는 그러한 iRNA 작용제 제형에 대한 효능은 업계에 알려진 바와 같이 주어진 질병에 대하여 실험적 동물 모델을 이용하여 판단될 수도 있다. 실험적 동물 모델을 이용하는 경우, 치료의 효능은 마커 또는 증상에 있어서 통계적으로 유의한 감소가 관찰되는 경우 입증된다.
- [0673] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 약 0.25 mg/kg 내지 약 50 mg/kg, 예를 들어, 약 0.25 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.25 mg/kg 내지 약 1 mg/kg, 약 0.25 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.25 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg, 약 10 mg/kg 내지 약 20 mg/kg, 약 15 mg/kg 내지 약 25 mg/kg, 약 20 mg/kg 내지 약 30 mg/kg, 약 25 mg/kg 내지 약 35 mg/kg 또는 약 40 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0674] 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 약 0.25 mg/kg, 약 0.5 mg/kg, 약 1 mg/kg, 약 2 mg/kg, 약 3 mg/kg, 약 4 mg/kg, 약 5 mg/kg, 약 6 mg/kg, 약 7 mg/kg, 약 8 mg/kg, 약 9 mg/kg, 약 10 mg/kg, 약 11 mg/kg, 약 12 mg/kg, 약 13 mg/kg, 약 14 mg/kg, 약 15 mg/kg, 약 16 mg/kg, 약 17 mg/kg, 약 18 mg/kg, 약 19 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 21 mg/kg, 약 22 mg/kg, 약 23 mg/kg, 약 24 mg/kg, 약 25 mg/kg, 약 26 mg/kg, 약 27 mg/kg, 약 28 mg/kg, 약 29 mg/kg, 30 mg/kg, 약 31 mg/kg, 약 32 mg/kg, 약 33 mg/kg, 약 34 mg/kg, 약 35 mg/kg, 약 36 mg/kg, 약 37 mg/kg, 약 38 mg/kg, 약 39 mg/kg, 약 40 mg/kg, 약 41 mg/kg, 약 42 mg/kg, 약 43 mg/kg, 약 44 mg/kg, 약 45 mg/kg, 약 46 mg/kg, 약 47 mg/kg, 약 48 mg/kg, 약 49 mg/kg 또는 약 50 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0675] 소정의 실시형태에서, 예를 들어, 본 발명의 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 dsRNA 및 지질을 포함하는

경우, 대상체는 iRNA를 치료량, 예컨대 약 0.01 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.2 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.4 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.4 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 0.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 1 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 1.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 1.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 2.5 mg/kg, 약 2 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 3 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 3 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 3.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4.5 mg/kg 내지 약 5 mg/kg, 약 4 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 4.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 5.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 6 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 6.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 7 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 7.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 8 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 8.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 약 9 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 9.5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg으로 수여받을 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0676] 예를 들어, dsRNA는 약 0.1 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.9 mg/kg, 1 mg/kg, 1.1 mg/kg, 1.2 mg/kg, 1.3 mg/kg, 1.4 mg/kg, 1.5 mg/kg, 1.6 mg/kg, 1.7 mg/kg, 1.8 mg/kg, 1.9 mg/kg, 2 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg, 2.6 mg/kg, 2.7 mg/kg, 2.8 mg/kg, 2.9 mg/kg, 3 mg/kg, 3.1 mg/kg, 3.2 mg/kg, 3.3 mg/kg, 3.4 mg/kg, 3.5 mg/kg, 3.6 mg/kg, 3.7 mg/kg, 3.8 mg/kg, 3.9 mg/kg, 4 mg/kg, 4.1 mg/kg, 4.2 mg/kg, 4.3 mg/kg, 4.4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 4.6 mg/kg, 4.7 mg/kg, 4.8 mg/kg, 4.9 mg/kg, 5 mg/kg, 5.1 mg/kg, 5.2 mg/kg, 5.3 mg/kg, 5.4 mg/kg, 5.5 mg/kg, 5.6 mg/kg, 5.7 mg/kg, 5.8 mg/kg, 5.9 mg/kg, 6 mg/kg, 6.1 mg/kg, 6.2 mg/kg, 6.3 mg/kg, 6.4 mg/kg, 6.5 mg/kg, 6.6 mg/kg, 6.7 mg/kg, 6.8 mg/kg, 6.9 mg/kg, 7 mg/kg, 7.1 mg/kg, 7.2 mg/kg, 7.3 mg/kg, 7.4 mg/kg, 7.5 mg/kg, 7.6 mg/kg, 7.7 mg/kg, 7.8 mg/kg, 7.9 mg/kg, 8 mg/kg, 8.1 mg/kg, 8.2 mg/kg, 8.3 mg/kg, 8.4 mg/kg, 8.5 mg/kg, 8.6 mg/kg, 8.7 mg/kg, 8.8 mg/kg, 8.9 mg/kg, 9 mg/kg, 9.1 mg/kg, 9.2 mg/kg, 9.3 mg/kg, 9.4 mg/kg, 9.5 mg/kg, 9.6 mg/kg, 9.7 mg/kg, 9.8 mg/kg, 9.9 mg/kg 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0677] 본 발명의 소정의 실시형태에서, 예를 들어, 이중 가닥 RNAi 작용제가 하나 이상의 변형(예를 들어, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 동일한 변형의 모티프(작용제의 절단 부위 또는 그 근처에 이러한 모티프를 하나 포함함)), 6개의 포스포로티오에이트 결합 및 리간드를 포함하는 경우, 이러한 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.01 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.02 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.03 mg/kg 내지 약 0.05 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg, 약 0.04 mg/kg 내지 약 0.06 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.1 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.09 mg/kg, 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.08 mg/kg 또는 약 0.05 mg/kg 내지 약 0.07 mg/kg의 용량을 투여된다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도되며, 예를 들어, RNAi 작용제는 약 0.015 mg/kg 내지 약 0.45 mg/mg의 용량으로 대상체에게 투여될 수 있다.

[0678] 예를 들어, RNAi 작용제, 예를 들어, 약학적 조성물 내의 RNAi 작용제는 약 0.01 mg/kg, 0.0125 mg/kg, 0.015 mg/kg, 0.0175 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.0225 mg/kg, 0.025 mg/kg, 0.0275 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.0325 mg/kg, 0.035 mg/kg, 0.0375 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.0425 mg/kg, 0.045 mg/kg, 0.0475 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.0525

mg/kg, 0.055 mg/kg, 0.0575 mg/kg, 0.06 mg/kg, 0.0625 mg/kg, 0.065 mg/kg, 0.0675 mg/kg, 0.07 mg/kg, 0.0725 mg/kg, 0.075 mg/kg, 0.0775 mg/kg, 0.08 mg/kg, 0.0825 mg/kg, 0.085 mg/kg, 0.0875 mg/kg, 0.09 mg/kg, 0.0925 mg/kg, 0.095 mg/kg, 0.0975 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.125 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.175 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.225 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.275 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.325 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.375 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.425 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.475 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg의 용량을 투여될 수 있다. 상기 인용된 값에 중간인 값도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0679] 대상체에게 투여되는 RNAi 작용제의 용량은 원하는 수준의 TMPRSS6 유전자 저해(예를 들어, TMPRSS6 mRNA 저해, TMPRSS6 단백질 발현 또는 지질 수준의 감소에 기초하여 측정됨) 또는 원하는 치료적 또는 예방적 효과를 얻기 위해 특정 용량의 위험 및 이익의 균형을 맞추고 동시에 원치않는 부작용을 피하기 위해 조정될 수 있다.

[0680] 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 둘 또는 그 이상의 투여량으로 투여된다. 반복된 또는 빈번한 주입을 용이하게 하길 원한다면, 전달 장치, 예를 들어 펌프, 반-영구적 스텐트(예를 들어, 정맥내, 복강내, 수조내 또는 관절내), 또는 저장소(reservoir)의 이식이 바람직하다. 일부 실시형태에서, 차후 투여량의 수 또는 양은 원하는 효과의 달성, 예를 들어 TMPRSS6 유전자의 저해, 또는 치료적 또는 예방적 효과의 달성, 예를 들어 철분 과부하의 감소에 의존한다. 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 스케줄에 따라 투여된다. 예를 들어, RNAi 작용제는 1주일에 1회, 1주일에 2회, 1주일에 3회, 1주일에 4회, 또는 1주일에 5회 투여될 수 있다. 일부 실시형태에서, 스케줄은 규칙적으로 간격을 둔 투여, 예를 들어 1시간마다, 4시간마다, 6시간마다, 8시간마다, 12시간마다, 매일, 2일마다, 3일마다, 4일마다, 5일마다, 매주, 격주로 또는 매월로 간격을 둔 투여를 포함한다. 다른 실시형태에서, 스케줄은 자주 투여한 후, 장시간동안 작용제를 투여하지 않는 것을 포함한다. 예를 들어, 스케줄은 비교적 짧은 시간내에(예를 들어, 약 6시간마다, 약 12시간마다, 약 24시간마다, 약 48시간마다 또는 약 72시간마다) 투여되고, 그 후 장시간동안(예를 들어, 약 1주, 약 2주, 약 3주, 약 4주, 약 5주, 약 6주, 약 7주 또는 약 8주) RNAi 작용제가 투여되지 않는 초기 투여셋트를 포함한다. 한 실시형태에서, RNAi 작용제는 초기에 1시간마다 투여되며, 그 이후에는 더 긴 간격으로(예를 들어, 매일, 1주일마다, 격주로 또는 매월) 투여된다. 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 초기에 매일 투여되며, 그 이후에는 더 긴 간격으로(예를 들어, 매주, 격주, 또는 매월) 투여된다. 특정 실시형태에서, 더 긴 간격은 시간이 지남에 따라 늘어나거나, 또는 원하는 효과의 달성에 기초하여 결정된다. 특정 실시형태에서, RNAi 작용제는 제1 주 동안 매일 1회 투여되며, 그후 8일째 투여일에 매주 투여를 시작한다. 다른 특정 실시형태에서, RNAi 작용제는 제1 주 동안 하루 걸러 투여되며, 그후 8일째 투여일에 매주 투여를 시작한다.

[0681] 일부 실시형태에서, RNAi 작용제는 가까이 이격된 "로딩기"의 투여를 포함하며 "유지기"로 이어질 수 있는 투여 요양법으로 투여되며, RNAi 작용제는 보다 길게 이격된 간격으로 투여된다. 일 실시형태에서, 로딩기는 제1 주 동안 RNAi 작용제의 5회의 매일의 투여를 포함한다. 다른 실시형태에서, 유지기는 RNAi 작용제의 주 1회 또는 2회의 투여를 포함한다. 추가의 실시형태에서, 유지기는 5주 동안 지속된다.

[0682] 이들 스케줄 중 임의의 스케줄은 선택적으로 1회 이상 반복될 수 있다. 반복 횟수는 원하는 효과, 예를 들어 TMPRSS6 유전자의 저해 및/또는 치료 효과나 예방 효과의 달성, 예를 들어, 철분 수준의 감소 또는 탈라세미아, 예를 들어, β -탈라세미아 또는 혈색소침착증의 증상 감소에 따라 다를 수 있다.

[0683] 다른 양태에 있어서, 본 발명은 최종 사용자, 예컨대 돌보미 또는 대상체에게 본원에 기재된 iRNA 작용제를 투여하는 방식에 대한 지시 방법을 제공하는 것을 특징으로 한다. 이 방법에는 선택적으로 iRNA 작용제의 하나 이상의 용량을 최종 사용자에게 제공하고, 최종 사용자에게 본원에 기재된 요양법으로 iRNA 작용제를 투여하도록 지시하여 최종 사용자에게 지침을 주는 것이 포함된다.

[0684] VII. 키트

[0685] 본 발명은 또한, 본 발명의 방법 중 임의의 것을 수행하고/수행하거나 iRNA 작용제를 이용하기 위한 키트들을 제공한다. 상기 키트들은 1개 또는 그 이상의 RNAi 작용제(들) 및 사용설명서, 예를 들어 세포를 TMPRSS6 발현 억제에 효과적인 양으로 RNAi 작용제(들)과 접촉시킴으로써, 세포내 TMPRSS6 발현을 억제하기 위한 설명서를 포함한다. 키트는 세포를 RNAi 작용제와 접촉시키기 위한 수단(예를 들어, 주사장치), 또는 TMPRSS6 억제를 측정하기 위한 수단(예를 들어, TMPRSS6 mRNA 또는 TTR 단백질의 억제 측정 수단)을 선택적으로 더 포함할 수 있다. TMPRSS6 억제를 측정하기 위한 상기 수단들은 혈장 표본과 같은 대상체로부터 표본을 얻기 위한 수단을 포함할 수 있다. 본 발명의 키트는 대상체에게 RNAi 작용제(들)를 투여하기 위한 수단 또는 치료적 유효량 또는 예방적 유효량을 측정하기 위한 수단을 선택적으로 더 포함할 수 있다.

- [0686] 달리 정의되지 않으면, 본원에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의하여 공통적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 가진다. 본원에 기술된 방법 및 물질과 유사하거나 균등한 방법 및 물질이 본 발명에 특징된 iRNA 및 방법의 실제 또는 시험에 이용될 수 있다고 하더라도, 적당한 방법 및 물질은 하기에 기술되어 있다. 본원에 언급된 모든 간행물, 특허 출원, 특허 및 기타 참고문헌은 그 전체가 참고로 포함된다. 상충이 있는 경우, 정의를 포함하여, 본 명세서가 우세할 것이다. 또한, 물질, 방법 및 실시예는 예시적인 것일 뿐이며 한정되는 의도는 아니다.
- [0687] **실시예**
- [0688] **재료 및 방법**
- [0689] 하기의 재료 및 방법을 실시예에서 이용하였다.
- [0690] *ABI 고품량 cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, 포스터 시티, 캘리포니아, Cat #4368813)을 이용한 cDNA 합성*
- [0691] 반응마다 2 μ l 10X 완충제, 0.8 μ l 25 $\times$ dNTP, 2 μ l 랜덤 프라이머, 1 μ l 역전사효소, 1 μ l RNase 억제제 및 3.2 μ l H₂O의 마스터 믹스를 10 μ l의 전체 RNA에 첨가하였다. cDNA를 하기 단계들을 통해 Bio-Rad C-1000 또는 S-1000 열 사이클러(허큘레스, 캘리포니아)를 이용하여 생성하였다: 25 $^{\circ}$ C 10분, 37 $^{\circ}$ C 120분, 85 $^{\circ}$ C 5 초, 4 $^{\circ}$ C 유지.
- [0692] *세포 배양 및 형질감염:*
- [0693] Hep3B 세포(ATCC, 머내서스, 버지니아)를 트립신처리에 의하여 플레이트로부터 방출시키기 전에 10% FBS, 스트렙토마이신 및 글루타민(ATCC)이 보충된 EMEM(ATCC) 내에서 5% CO₂의 분위기 하에 37 $^{\circ}$ C에서 컨플루언스(confluence) 근처까지 성장시켰다. 형질감염은, 웰(Invitrogen, 칼스배드 캘리포니아 카탈로그 번호 13778-150)당 Opti-MEM 14.8 μ l 및 리포펙타민 RNAiMax 0.2 μ l를 96-웰 플레이트 내에 웰당 siRNA 듀플렉스 5 μ l에 첨가하여 수행하고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 이후, 약 2 $\times 10^4$ 개 Hep3B 세포를 포함하는 항생제-무함유 완전 성장 배지 80 μ l를 siRNA 혼합물에 첨가하였다. 세포를 RNA 정제 전 24시간 동안 인큐베이션하였다. 단일 용량 실험을 10 nM 및 0.1 nM 최종 듀플렉스 농도에서 수행하였다.
- [0694] *DYNABEADS mRNA 분리 키트(Invitrogen, part #: 610-12)를 사용한 총 RNA 분리*
- [0695] 세포를 수집하고, 파쇄/결합 완충제 150 μ l에서 파쇄한 다음, 플랫폼 셰이커를 이용하여 850 rpm에서 5분 동안 혼합하였다(혼합 속도는 전 과정 동안 동일하였음). 자기 비드 10 μ l 및 파쇄/결합 완충제 혼합물 80 μ l를 둥근 바닥 플레이트에 첨가하고, 1분 동안 혼합하였다. 자기 비드를 자기 스탠드를 이용하여 포착하고, 비드를 어지럽히지 않으면서 상층액을 제거하였다. 상층액 제거 후, 파쇄된 세포를 잔여 비드에 첨가하고, 5분 동안 혼합하였다. 상층액 제거 후, 자기 비드를 세정 완충제 A 150 μ l로 2회 세정하고, 1분 동안 혼합하였다. 비드를 다시 포착하였고, 상층액을 제거하였다. 그런 다음, 비드를 세정 완충제 B 150 μ l로 세정하고, 포착하고, 상층액을 제거하였다. 이후, 비드를 용출 완충제 150 μ l로 세정하고, 포착하고, 상층액을 제거하였다. 비드를 2분 동안 건조되도록 놔두었다. 건조 후, 용출 완충제 50 μ l를 첨가하고, 75 $^{\circ}$ C에서 5분 동안 혼합하였다. 비드를 자석 상에서 5분 동안 포착하고, 정제된 RNA를 함유하는 상층액 50 μ l를 제거하고, 새 96웰 플레이트에 첨가하였다.
- [0696] *실시간 PCR*
- [0697] cDNA 2 μ l를 384 웰 플레이트(Roche cat # 04887301001) 내에서 웰 당 0.5 μ l의 인간 GAPDH TaqMan 탐침(Applied Biosystems Cat #4326317E), 0.5 μ l의 인간 TMPRSS6 TaqMan 탐침(Applied Biosystems cat # Hs00542184_m1) 및 5 μ l의 라이트사이클러(Lightcycler) 480 탐침 마스터 믹스(Roche Cat #04887301001)를 포함하는 마스터 믹스에 첨가하였다.
- [0698] 실시간 PCR은 $\Delta\Delta C_t(RQ)$ 분석법을 이용하는 Roche LC480 Real Time PCR 시스템(Roche)에서 수행하였다. 달리 표시되지 않으면, 각각의 듀플렉스는 2가지 독립된 형질감염에서 시험하였으며, 각각의 형질감염을 2별로 분석하였다.
- [0699] 상대적 배수 변화를 계산하기 위하여, 실시간 데이터를 $\Delta\Delta C_t$ 방법을 이용하여 분석하였으며, 10 nM AD-1955로 형질감염된 세포 또는 모의 형질감염된 세포로 수행된 분석법에 정규화시켰다.
- [0700] AD-1955의 센스 및 안티센스 서열은 다음과 같다: 센스: 5'-cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT-3' (SEQ ID NO: 15); 및

안티센스: 5'-UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT-3' (SEQ ID NO: 16).

[0701] 표 B: 핵산 서열표에서 사용되는 뉴클레오타이드 단량체의 약어

약어	뉴클레오타이드(들)
A	아데노신-3'-포스페이트
Ab	베타-L-아데노신-3'-포스페이트
Af	2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트
Afs	2'-플루오로아데노신-3'-포스포티오에이트
As	아데노신-3'-포스포티오에이트
C	시티딘-3'-포스페이트
Cb	베타-L-시티딘-3'-포스페이트
Cf	2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트
Cfs	2'-플루오로시티딘-3'-포스포티오에이트
Cs	시티딘-3'-포스포티오에이트
G	구아노신-3'-포스페이트
Gb	베타-L-구아노신-3'-포스페이트
Gbs	베타-L-구아노신-3'-포스포티오에이트
Gf	2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트
Gfs	2'-플루오로구아노신-3'-포스포티오에이트
Gs	구아노신-3'-포스포티오에이트
T	5'-메틸우리딘-3'-포스페이트
Tf	2'-플루오로-5-메틸우리딘-3'-포스페이트
Tfs	2'-플루오로-5-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
Ts	5-메틸우리딘-3'-포스포티오에이트
U	우리딘-3'-포스페이트
Uf	2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트
Ufs	2'-플루오로우리딘-3'-포스포티오에이트
Us	우리딘-3'-포스포티오에이트
N	임의의 뉴클레오타이드 (G, A, C, T 또는 U)
a	2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트
as	2'-O-메틸아데노신-3'-포스포티오에이트
c	2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트
cs	2'-O-메틸시티딘-3'-포스포티오에이트
g	2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트
gs	2'-O-메틸구아노신-3'-포스포티오에이트
t	2'-O-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스페이트

[0702]

약어	뉴클레오타이드(들)
ts	2'-O-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
u	2'-O-메틸우리딘-3'-포스페이트
us	2'-O-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
dT	2'-데옥시티미딘
dTs	2'-데옥시티미딘-3'-포스포로티오에이트
dU	2'-데옥시우리딘
s	포스포로티오에이트 연결
L96	N-[트리스(GalNAc-알킬)-아미도테카노일]-4-하이드록시프롤리놀 Hyp-(GalNAc-알킬) ₃
(Aeo)	2'-O-메톡시에틸아데노신-3'-포스페이트
(Aeos)	2'-O-메톡시에틸아데노신-3'-포스포로티오에이트
(Geo)	2'-O-메톡시에틸구아노신-3'-포스페이트
(Geos)	2'-O-메톡시에틸구아노신-3'-포스포로티오에이트
(Teo)	2'-O-메톡시에틸-5-메틸우리딘-3'-포스페이트
(Teos)	2'-O-메톡시에틸-5-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
(m5Ceo)	2'-O-메톡시에틸-5-메틸시티딘-3'-포스페이트
(m5Ceos)	2'-O-메톡시에틸-5-메틸시티딘-3'-포스포로티오에이트
(A3m)	3'-O-메틸아데노신-2'-포스페이트
(A3mx)	3'-O-메틸-자일로푸라노실아데노신-2'-포스페이트
(G3m)	3'-O-메틸구아노신-2'-포스페이트
(G3mx)	3'-O-메틸-자일로푸라노실구아노신-2'-포스페이트
(C3m)	3'-O-메틸시티딘-2'-포스페이트
(C3mx)	3'-O-메틸-자일로푸라노실시티딘-2'-포스페이트
(U3m)	3'-O-메틸우리딘-2'-포스페이트
(U3mx)	3'-O-메틸자일로우리딘-2'-포스페이트
(Chd)	2'-O-핵사테실-시티딘-3'-포스페이트
(pshe)	하이드록시에틸포스포로티오에이트
(Uhd)	2'-O-핵사테실-우리딘-3'-포스페이트
(Tgn)	티미딘-글리콜 핵산 (GNA) S-이성질체
(Cgn)	시티딘-글리콜 핵산 (GNA)
(Chd)	2'-O-핵사테실-시티딘-3'-포스페이트
(Ggn)	2'-O-핵사테실-시티딘-3'-포스페이트
(Agn)	아데노신-글리콜 핵산 (GNA)
P	5'-포스페이트
(m5Cam)	2'-O-(N-메틸아세타미드)-5-메틸시티딘-3'-포스페이트
(m5Cams)	2'-O-(N-메틸아세타미드)-5-메틸시티딘-3'-포스포로티오에이트

[0703]

약어	뉴클레오타이드(들)
(Tam)	2'-O-(N-메틸아세타미드)티미딘-3'-포스페이트
(Tams)	2'-O-(N-메틸아세타미드)티미딘-3'-포스포로티오에이트
(Aam)	2'-O-(N-메틸아세타미드)아데노신-3'-포스페이트
(Aams)	2'-O-(N-메틸아세타미드)아데노신-3'-포스포로티오에이트
(Gam)	2'-O-(N-메틸아세타미드)구아노신-3'-포스페이트
(Gams)	2'-O-(N-메틸아세타미드)구아노신-3'-포스포로티오에이트
Y44	2-하이드록시메틸-테트라하이드로퓨란-5-포스페이트

[0704]

[0705]

[0706]

실시예 1. 올리고뉴클레오타이드의 설계, 특이성 및 효능 예측

전사물

- [0707] siRNA 설계를 수행하여, NCBI 유전자 데이터베이스 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)에서 주석화된 인간, 레서스(*마카카 물라타*(*Macaca mulatta*)), 마우스 및 래트 TMPRSS6 전사물을 표적으로 하는 siRNA를 확인하였다. 설계를 NCBI RefSeq 수집물 유래의 하기 전사물에 이용하였다: 인간 -NM_153609.2; 레서스 - XM_001085203.2 및 XM_001085319.1; 마우스 - NM_027902.2; 래트 - NM_001130556.1. 영장류/설치류 서열 분화가 높기 때문에, siRNA 듀플렉스를 몇몇 별개의 배치에서 설계하였으며, 이러한 배치들로는 인간 및 레서스 전사물 단독; 인간, 레서스 및 마우스 전사물 단독; 인간, 레서스, 마우스 및 래트 전사물 단독; 및 마우스 및 래트 전사물 단독을 매칭하는 듀플렉스를 함유하는 배치들을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 모든 siRNA 듀플렉스들은 각각의 설계 배치(상기)에서 고려되는 열거된 인간 전사물 및 다른 종의 전사물과 100% 일치성을 공유하도록 설계하였다.
- [0708] 모든 가능한 19량체들의 특이성을 각각의 서열로부터 예측하였다. 이후, 길이가 7개보다 긴 뉴클레오타이드 반복부가 결여된 후보 19량체들을 선별하였다. 이들 1259개 후보 인간/레서스, 91개의 인간/레서스/마우스, 37개의 인간/레서스/마우스/래트 및 810개의 마우스/래트 siRNA들을, 파이톤 스크립트(python script) 'BruteForce.py'에서 시행된 철저한 "브루트-포스(brute-force)" 알고리즘을 이용하여 적절한 전사물(인간, 레서스, 마우스 또는 래트 NCBI Refseq 세트 내의 NM_ 및 XM_ 기록의 세트로서 정의됨)에 대한 포괄적인 연구에 이용하였다. 이후, 스크립트는 전사물-올리고 정렬을 분석하여, siRNA와 임의의 잠재적인 '표적외' 전사물 간의 미스매치의 위치 및 수에 기초하여 점수를 생성하였다. 표적외 점수를 가중하여, 분자의 5' 말단으로부터 위치 2 내지 위치 9에서 siRNA의 '시드' 영역의 차이를 강조한다. 브루트-포스 연구의 각각의 올리고-전사물 쌍은 개별 미스매치 점수를 합하여 미스매치 점수를 받았으며; 위치 2 내지 위치 9에서의 미스매치는 2.8로서 계수하였으며, 절단 부위 위치 10 내지 위치 11에서의 미스매치는 1.2로서 계수하였으며, 영역 12 내지 영역 19에서의 미스매치는 1.0으로서 계수하였다. 부가적인 표적외 예측은, 각각의 올리고의 3개의 별도의, 시드-유래의 6량체로부터 유래되는 7량체 및 8량체의 빈도를 비교함으로써 수행하였다. 5' 시작에 대한 위치 2 내지 위치 7로부터의 6량체를 이용하여, 2개의 7량체 및 1개의 8량체를 제조하였다. 7량체1은 6량체에 3' A를 첨가함으로써 제조하였으며; 7량체2는 6량체에 5' A를 첨가함으로써 제조하였으며; 8량체는 6량체의 5' 말단 및 3' 말단에 A를 첨가함으로써 제조하였다. 인간, 레서스, 마우스 또는 래트 3'UTRome(NCBI's Refseq 데이터베이스의 전사물의 하위서열로서 정의되며, 여기서, 코딩 영역 'CDS'의 말단은 명확하게 정의됨)에서 8량체 및 7량체의 빈도를 미리 계산하였다. 8량체 빈도를, 8량체 빈도의 범위의 중앙값을 이용하여 7량체 빈도로 정규화하였다. 이후, 'mirSeedScore'를 ((3 X 정규화된 8량체 계수) + (2 X 7량체2 계수) + (1 X 7량체1 계수))의 합을 계산함으로써 계산하였다.
- [0709] siRNA 가닥 둘 다 계산된 점수에 따라 특이성의 범주에 할당하였다: 3보다 높은 점수는 매우 특이성인 것으로 정성화하며, 3은 특이성인 것으로 정상화하고, 2.2 내지 2.8은 중간 정도의 특이성인 것으로 정상화하였다. siRNA를 안티센스 가닥의 특이성에 의해 소팅하였다. 이후, 안티센스 올리고의 제1 위치에 GC가 결여되었으며, 위치 13 및 14 둘 다에서 G가 결여되어 있으며, 시드 영역에 3개 이상의 U 또는 A를 가진(높은 예측된 효능을 가진 듀플렉스의 특징) 인간/레서스 및 마우스/래트 세트의 듀플렉스를 선별하였다. 마찬가지로, 시드 영역에 3개 이상의 U 또는 A를 가진 인간/레서스/마우스 및 인간/레서스/마우스/래트 세트의 듀플렉스를 선별하였다.
- [0710] 각각 센스 가닥 및 안티센스 가닥에서 길이가 21개 및 23개 뉴클레오타이드인 후보 GalNAc-콘주게이트된 듀플렉스를, 안티센스 19량체 4개의 부가적인 뉴클레오타이드를 3' 방향으로 신장함으로써 설계하였다(표적 전사물과의 완전한 상보성은 유지함). 센스 가닥을, 안티센스 23량체의 처음 21개 뉴클레오타이드의 역보체(reverse complement)로서 명시하였다. 모든 23개의 뉴클레오타이드에 대한 모든 선별된 중 전산물에 대한 완전한 매치를 유지한 듀플렉스를 선별하였다.
- [0711] *siRNA 서열 선별*
- [0712] 총 39개의 센스 및 39개의 안티센스로부터 유래된 인간/레서스, 6개의 센스 및 6개의 안티센스로부터 유래된 인간/레서스/마우스, 3개의 센스 및 3개의 안티센스로부터 유래된 인간/레서스/마우스/래트, 및 16개의 센스 및 16개의 안티센스로부터 유래된 마우스/래트 siRNA 21/23량체 올리고들을 합성하고, GalNAc-콘주게이트된 듀플렉스로 형성하였다.
- [0713] 변형된 듀플렉스의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열을 표 1에 나타내며, 비변형된 듀플렉스의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열을 표 2에 나타낸다.

[0714]

표 1. TMRSS6 변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD-58686.1	A-119159.1	UfsgsGfcCfuGfgAfGfAfgCfuCfcUfuCfL96	17	A-119160.1	usUfsgAfaGfgAfcAfcuCfuCfcAfgGfcsCfsa	65
AD-58687.1	A-119175.1	GfsgsGfgUfgCfuAfCfUfcUfgGfuAfuUfuCfL96	18	A-119176.1	asGfsgAfaAfuAfcCfagaGfuAfgCfaCfcsCfsc	66
AD-58688.1	A-119191.1	CfsasAfcGfgCfcUfGfGfaUfgAfgAfaAfl96	19	A-119192.1	asGfsuUfuCfuCfuCfaucCfaGfgCfcGfusUfsg	67
AD-58689.1	A-119207.1	AfsusCfGfcAfcUfUfCfuCfcCfaGfgAfuCfL96	20	A-119208.1	asAfsGfaAfuCfcUfgGfgagAfaGfuGfgCfGfsAfsu	68
AD-58690.1	A-119223.1	GfsgsUfgCfcAfgGfAfGfgUfgGfcAfuCfuUfL96	21	A-119224.1	asCfsaAfgAfuGfcCfaccUfcCfuGfcCfasCfsc	69
AD-58692.1	A-119161.1	GfsasCfcGfaCfuGfGfCfcAfuGfuAfuGfaCfL96	22	A-119162.1	asCfsgUfcAfuAfcAfuggCfcAfgUfcGfGfsUfsc	70
AD-58693.1	A-119177.1	GfsgsUfgUfgCfGfGfUfgCfaAfuAfuGfgCfL96	23	A-119178.1	asAfsGcCfcAfuAfgUfgcaCfcCfGcCfaCfasCfsc	71
AD-58694.1	A-119193.1	GfsgsCfcUfgGfaUfGfAfgAfgAfcUfgCfL96	24	A-119194.1	asCfsgCfaGfuUfuCfucCfaUfcCfaGfGfsCfsc	72
AD-58695.1	A-119209.1	CfsusCfuGfgUfaUfUfUfcCfuAfgGfgUfaCfL96	25	A-119210.1	usUfsgUfaCfcCfuAfgggaAfaUfaCfcAfgsAfsG	73
AD-58696.1	A-119225.1	GfscsCfcCfuGfgUfCfUfaAfcUfuGfgGfaUfL96	26	A-119226.1	asGfsaUfcCfcAfaGfuuaGfaCfcAfgGfGfsGfsc	74

[0715]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD-58698.1	A-119163.1	GfsasGfgCfaGfaAfGfUfaUfgAfuUfuGfcCfL96	27	A-119164.1	asCfsgGfcAfaAfuCfaaaCfuUfcUfgCfcsUfsc	75
AD-58699.1	A-119179.1	AfsasGfcCfaGfaGfUfGfaAfaGfaCfaUfaGfL96	28	A-119180.1	asGfscUfaUfgUfcUfuucAfcAfcUfgGfcsUfsu	76
AD-58700.1	A-119195.1	GfscsCfGfgAfcCfGfAfcUfgGfcCfaUfgUfL96	29	A-119196.1	asUfsaCfaUfgGfcCfaguCfGfuCfcCfGfsGfsc	77
AD-58701.1	A-119211.1	CfsusCfcAfgGfuUfCfGfgGfgUfcGfaCfaCfL96	30	A-119212.1	asUfsgUfgUfcGfaCfcccGfaAfcCfuGfGfsAfsG	78
AD-58702.1	A-119227.1	AfsgsCfcCfcUfgGfUfCfuAfaCfuUfgGfgAfl96	31	A-119228.1	gsAfsuCfcCfaAfgUfuagAfcCfaGfgGfGfsCfsu	79
AD-58704.1	A-119165.1	UfscsGfcCfaCfuUfCfUfcCfcAfgGfaUfcUfL96	32	A-119166.1	usAfsaGfaUfcCfuGfggaGfaAfgUfgGfcsGfsa	80
AD-58705.1	A-119181.1	AfscsUfcUfgGfuAfuUfuCfcUfaGfgGfuAfl96	33	A-119182.1	usGfsuAfcCfcUfaGfgaaAfuAfcCfaGfasGfsu	81
AD-58706.1	A-119197.1	UfscsGfcUfgAfcCfGfCfuGfgGfuGfaUfaAfl96	34	A-119198.1	usGfsuUfaUfcAfcCfcagCfGfuCfaGfcsGfsa	82
AD-58707.1	A-119213.1	GfscsCfcCfaAfcGfGfCfcUfgGfaUfgAfgAfl96	35	A-119214.1	usCfsuCfuCfaUfcCfaggCfcGfuUfgGfGfsGfsc	83
AD-58708.1	A-119229.1	GfscsCfaAfgCfaGfGfGfgGfaCfaAfgUfaUfL96	36	A-119230.1	gsAfsaUfaCfuUfgUfcccCfcUfgCfuUfGfsGfsc	84
AD-	A-119167.1	UfscsCfcCfuAfcAfGfGfgCfcGfaGfuAfcGfL96	37	A-119168.1	usUfscGfuAfcUfcGfgccCfuGfuAfgGfGfsGfsa	85

[0716]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:
58710.1						
AD- 58711.1	A-119183.1	CfsusGfgGfuUfgUFfAfCfCfGfCfuAfcAfgCfL96	38	A-119184.1	usAfsGfCfuGfuAfgCfGguAfaCfaAfcCfcsAfsG	86
AD- 58712.1	A-119199.1	CfsusGfgCfcUfgGfAfGfAfgUfgUfcCfuUfL96	39	A-119200.1	usGfsaAfgGfaCfaCfcUfcCfaGfgCfcsAfsG	87
AD- 58713.1	A-119215.1	GfsusGfcGfgGfuGfCfAfcUfaUfgGfcUfuGfL96	40	A-119216.1	usAfsCfaAfaGfcCfaUfaguGfcAfcCfcGfcsAfsC	88
AD- 58714.1	A-119231.1	UfsgsGfcAfgGfaGfGfUfgGfcAfuCfuUfgUfL96	41	A-119232.1	asGfsaCfaAfgAfuGfccCfcUfcCfuGfcsCfsa	89
AD- 58716.1	A-119169.1	CfscsCfuAfcAfgGfGfCfcGfaGfuAfcGfaAfL96	42	A-119170.1	asCfsuUfcGfuAfcUfcggCfcCfuGfuAfgsGfsg	90
AD- 58717.1	A-119185.1	AfscsCfuGfcUfuCfUfUfcUfgGfuUfcAfuUfL96	43	A-119186.1	asGfsaAfuGfaAfcCfagaAfgAfaGfcAfgsGfsu	91
AD- 58718.1	A-119201.1	UfsgsCfcUfgUfgAfUfGfgGfgUfcAfaGfgAfL96	44	A-119202.1	asGfsuCfcUfuGfaCfccCfcAfaCfaGfgsCfsa	92
AD- 58719.1	A-119217.1	CfsasGfcUfuCfGfAfAfgCfcCfcUfgGfuCfL96	45	A-119218.1	usAfsGfAfcCfaGfgGfgcuUfcCfGfAfaGfcsUfsg	93
AD- 58720.1	A-119233.1	CfscsCfcUfgGfuCfUfAfaCfuUfgGfgAfuCfL96	46	A-119234.1	csAfsGfAfuCfcCfaAfguuAfgAfcCfaGfgsGfsg	94
AD- 58721.1	A-119171.1	UfsgsCfuUfcUfuCfUfGfgUfuCfaUfuCfuCfL96	47	A-119172.1	usGfsgAfgAfaUfgAfaCfcAfgAfaGfaAfgsCfsa	95

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD- 58722.1	A-119187.1	CfscsCfaAfcGfgCfCfUfgGfaUfgAfgAfaL96	48	A-119188.1	usUfsuCfuCfuCfaUfccCfaGfgCfcGfuUfsgGfsg	96
AD- 58723.1	A-119203.1	AfsasGfgGfcCfuGfCfAfcAfgCfuAfcUfaCfL96	49	A-119204.1	usCfsgUfaGfuAfgCfuGuGfcAfgGfcCfcsUfsu	97
AD- 58724.1	A-119219.1	GfsusCfuAfaCfuUfGfGfgAfuCfuGfgGfaAfL96	50	A-119220.1	csAfsuUfcCfcAfgAfuCccCfaAfgUfuAfgsAfsC	98
AD- 58725.1	A-119235.1	AfsgsCfuUfcGfgAfAfgCfcCfcUfgUfcUfL96	51	A-119236.1	usUfsaGfaCfcAfgGfggcUfuCfcGfaAfgsCfsu	99
AD- 58726.1	A-119173.1	CfscsAfgUfgUfgAfaAfgAfaCfuAfgCfuGfL96	52	A-119174.1	usGfscAfgCfuAfuGfucuUfuCfaCfaCfusGfsg	100
AD- 58727.1	A-119189.1	CfscsAfgGfuUfcGfGfGfgUfcGfaCfaCfaUfL96	53	A-119190.1	asGfsaUfgUfgUfcGfaccCfcGfaAfcCfusGfsg	101
AD- 58728.1	A-119205.1	UfscsCfaCfGfCfuGfGfGfuUfgUfuAfcCfGfL96	54	A-119206.1	usAfsGfGfgGfuAfaCfaacCfcAfgCfGfGfsa	102
AD- 58729.1	A-119221.1	UfsgsCfcAfaGfcAfgGfGfgGfgAfaGfuAfL96	55	A-119222.1	asAfsuAfcUfuGfuCfccCfuGfcUfuGfGfsCfsa	103
AD- 58697.1	A-119241.1	AfsusCfcAfgAfaCfAfgGfgAfgGfcUfgUfL96	56	A-119242.1	csCfsaCfaCfaGfcCfuCfUfgUfuGfGfsAfsu	104
AD- 58703.1	A-119243.1	UfsusCfaCfcUfcCfCfAfgAfuCfuCfcCfuCfL96	57	A-119244.1	gsUfsgAfgGfgAfgAfuCfuGfgGfaGfgUfGfsAfsa	105
AD- 58724.1	A-119245.1	CfscsUfcCfGfAfgGfGfUfgAfgUfgGfcCfaUfL96	58	A-119246.1	csCfsaUfgGfcCfaCfuCfaCfcCfuCfGfGfsGfsg	106

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열	안티센스 서열 :	SEQ ID NO:
58709.1						
AD- 58715.1	A-119247.1	UfscsCfaGfaAfcAfGfGfaGfgCfuGfuGfL96	59	A-119248.1	gsCfscAfcAfcAfgCfcuCfuGfuUfcUfgsGfsa	107
AD- 58730.1	A-119237.1	GfsusGfuCfcUfcCfGfAfgGfgUfgAfgUfgGfL96	60	A-119238.1	gsGfscCfaCfuCfaCfcuGfgGfaGfcsAfcsc	108
AD- 58731.1	A-119249.1	UfsusCfGfgGfuCfGfAfcAfcAfuCfuGfuGfL96	61	A-119250.1	csCfscAfcAfgAfuGfuguCfGfAfcCfcCfcsAfsa	109
AD- 58734.1	A-119251.1	UfscsGfgGfgUfcGfAfcCfaCfaUfcUfgUfgGfL96	62	A-119252.1	csCfscCfaCfaGfaUfgugUfcGfAfcCfcGfsa	110
AD- 58737.1	A-119253.1	UfgsCfuUfcCfaGfGfAfgGfaCfaGfcAfuGfL96	63	A-119254.1	gsCfscAfuGfcUfgUfcuUfcUfgGfaAfgsCfsa	111
AD- 59743.1	A-120243.1	UfscsUfgGfuAfuUfUfCfcUfaGfgGfuAfcAfcL96	64	A-120244.1	usGfsuAfcCfcUfaGfgaaAfuAfcCfaGfsgsu	112

[0719]

[0720]

표 2. *TMPRSS6* 비변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
AD- 58686.1	A- 119159.1	UGGCCUGGAGAGGUGUCCUUC	113	2041-2063	A- 119160.1	UUGAAGGACACCUCUCCAGGCCA	161	2041-2063

[0721]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
AD- 58687.1	A- 119175.1	GGGGUGCUACUCUGUAUUUC	114	319-341	A- 119176.1	AGGAAAUACCAGAGUAGCACCCC	162	319-341
AD- 58688.1	A- 119191.1	CAACGCCUGGAUGAGAGAAA	115	1557-1579	A- 119192.1	AGUUUCUCUCAUCCAGGCCGUUG	163	1557-1579
AD- 58689.1	A- 119207.1	AUCGCCACUUCUCCAGGAUC	116	401-423	A- 119208.1	AAGAUCUGGAGAAGUGGCGAU	164	401-423
AD- 58690.1	A- 119223.1	GGUGGCAGGAGUGGCAUCUU	117	2665-2688	A- 119224.1	ACAAGAUGCCACCUCUGCCACC	165	2665-2688
AD- 58692.1	A- 119161.1	GACCGACUGGCCAUGUAUGAC	118	922-944	A- 119162.1	ACGUCAUACUAGGCCAGUCGGUC	166	922-944
AD- 58693.1	A- 119177.1	GGUGUGCGGGUGCACUAUGGC	119	1444-1466	A- 119178.1	AAGCCAUGAGGCACCCGACACC	167	1444-1466
AD- 58694.1	A- 119193.1	GGCCUGGAUGAGAGAAACUGC	120	1561-1583	A- 119194.1	ACGCAGUUUCUCAUCCAGGCC	168	1561-1583
AD- 58695.1	A- 119209.1	CUCUGGUAAUUCCUAGGGUAC	121	328-350	A- 119210.1	UUGUACCCUAGGAAAUACCAGAG	169	328-350
AD- 58696.1	A- 119225.1	GCCCCUGGUCUAAAUUGGGAU	122	2966-2989	A- 119226.1	AGAUCCAAGUAGACCAGGGGC	170	2966-2989
AD- 58698.1	A- 119163.1	GAGGCAGAAGUAUAUUUGCC	123	1281-1303	A- 119164.1	ACGGCAAAUCAUUCUGCCUC	171	1281-1303
AD- 58699.1	A- 119163.1	AAGCCAGUGUGAAAGACAUAG	124	731-753	A- 119164.1	AGCUAUGUCUUUCACACUGGCUU	172	731-753

[0722]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
58699.1	119179.1				119180.1			
AD- 58700.1	A- 119195.1	GCCGGGACCGACUGGCCAUGU	125	917-939	A- 119196.1	AUACAUGGCCAGUCGGUCCGGC	173	917-939
AD- 58701.1	A- 119211.1	CUCCAGGUUCGGGUCGACAC	126	1894-1916	A- 119212.1	AUGUGUCGACCCGAACCUGGAG	174	1894-1916
AD- 58702.1	A- 119227.1	AGCCCCUGGUCUAACUUGGGA	127	2965-2988	A- 119228.1	GAUCCCAAGUUAGACCAGGGGCU	175	2965-2988
AD- 58704.1	A- 119165.1	UCGCCACUUCUCCAGGAUCU	128	402-424	A- 119166.1	UAAGAUCUGGGAGAAGUGGCGA	176	402-424
AD- 58705.1	A- 119181.1	ACUCUGGUUUUCCUAGGGUA	129	327-349	A- 119182.1	UGUACCUAGGAAAACCAGAGU	177	327-349
AD- 58706.1	A- 119197.1	UCGUGACCGCUGGGUGAUAA	130	1934-1956	A- 119198.1	UGUUUACCCAGCGGUCAGCGA	178	1934-1956
AD- 58707.1	A- 119213.1	GCCCCAACGGCUGGAUGAGA	131	1553-1575	A- 119214.1	UCUCUCAUCCAGGCCGUUGGGG	179	1553-1575
AD- 58708.1	A- 119229.1	GCCAAGCAGGGGACAAGUUA	132	2610-2633	A- 119230.1	GAAUACUUGUCCCCUGCUUGGC	180	2610-2633
AD- 58710.1	A- 119167.1	UCCCCUACAGGCCGAGUACG	133	680-702	A- 119168.1	UUCGUACUCGGCCUGUAGGGGA	181	680-702
AD- 58711.1	A- 119183.1	CUGGGUUGUUACCGCUACAGC	134	769-791	A- 119184.1	UAGCUGUAGCGGUACAACCCAG	182	769-791

[0723]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
AD- 58712.1	A- 119199.1	CUGGCCUGGAGAGGUGUCCUU	135	2040-2062	A- 119200.1	UGAAGGACACCUCUCCAGGCCAG	183	2040-2062
AD- 58713.1	A- 119215.1	GUGCGGGUGCAUAUGGCUUG	136	1447-1469	A- 119216.1	UACAAGCCAUGUGCACCACCCAC	184	1447-1469
AD- 58714.1	A- 119231.1	UGGCAGAGGUGGCAUCUUGU	137	2667-2690	A- 119232.1	AGACAAGAUGCCACCUCUGCCA	185	2667-2690
AD- 58716.1	A- 119169.1	CCCUACAGGGCCGAGUACGAA	138	682-704	A- 119170.1	ACUUCGUACUCGGCCUGUAGGG	186	682-704
AD- 58717.1	A- 119185.1	ACCUGCUUCUUGGUUCAUU	139	559-581	A- 119186.1	AGAAUGAACAGAGAAGCAGGU	187	559-581
AD- 58718.1	A- 119201.1	UGCCUGUGAUGGGUCAAGGA	140	1530-1552	A- 119202.1	AGUCCUUGACCCCAUCACAGGCA	188	1530-1552
AD- 58719.1	A- 119217.1	CAGCUUCGGAAGCCCCUGGUC	141	2955-2978	A- 119218.1	UAGACCAGGGGUUCCGAAGCUG	189	2955-2978
AD- 58720.1	A- 119233.1	CCCCUGGUCUAACUUGGAUC	142	2967-2990	A- 119234.1	CAGAUCCAAGUUAGACCAGGGG	190	2967-2990
AD- 58721.1	A- 119171.1	UGCUUCUUCUGGUUCAUUCUC	143	562-584	A- 119172.1	UGGAGAAUGAACAGAGAAGCA	191	562-584
AD- 58722.1	A- 119187.1	CCCAACGGCCUGGAGAGAGA	144	1555-1577	A- 119188.1	UUUCUCUACUCCAGGCCGUUGGG	192	1555-1577
AD- 58723.1	A- 119183.1	AAGGGCCUGCAGCAGCUACUAC	145	1054-1076	A- 119184.1	UCGUAGUAGCUGUGCAGGCCUUU	193	1054-1076

[0724]

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
58723.1	119203.1				119204.1			
AD- 58724.1	A- 119219.1	GUCUAACUUGGGAUCUGGGAA	146	2973-2996	A- 119220.1	CAUUCCCAGAUCCCAAGUUAGAC	194	2973-2996
AD- 58725.1	A- 119235.1	AGCUUCGGAAGCCCUUGGUCU	147	2956-2979	A- 119236.1	UUAGACCAGGGGCUUCCGAAGCU	195	2956-2979
AD- 58726.1	A- 119173.1	CCAGUGUGAAAGACAUAGCUG	148	734-756	A- 119174.1	UGCAGCUAUGUCUUACACACUGG	196	734-756
AD- 58727.1	A- 119189.1	CCAGGUUCGGGUGCGACACAU	149	1896-1918	A- 119190.1	AGAUGUGUCGACCCGACCCUGG	197	1896-1918
AD- 58728.1	A- 119205.1	UCCACGUGGGUUGUUAACCGC	150	763-785	A- 119206.1	UAGCGGUAACAACCCAGCGUGGA	198	763-785
AD- 58729.1	A- 119221.1	UGCCAAGCAGGGGACAAGUA	151	2609-2632	A- 119222.1	AAUACUUGUCCCCUGCUUGGCA	199	2609-2632
AD- 58697.1	A- 119241.1	AUCCAGAACAGGAGGCGUGUGU	152	1324-1346	A- 119242.1	CCACACAGCCUCCUGUUCUGGAU	200	1324-1346
AD- 58703.1	A- 119243.1	UUCACCUCGAGAUUCCUCUC	153	1414-1436	A- 119244.1	GUGAGGGAGAUUCUGGAGGUGAA	201	1414-1436
AD- 58709.1	A- 119245.1	CCUCCGAGGGUGAGUGGCAU	154	1862-1884	A- 119246.1	CCAUGGCCACUACCCUCCGGAGG	202	1862-1884
AD- 58715.1	A- 119247.1	UCCAGAACAGGAGGCGUGUGUG	155	1325-1347	A- 119248.1	GCCACACAGCCUCCUGUUCUGGA	203	1325-1347

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치	안티센스 서열	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
AD- 58730.1	A- 119237.1	GUGUCCUCCGAGGUGAGUGG	156	1858-1880	A- 119238.1	GGCCACUACCCUCCGAGGACAC	204	1858-1880
AD- 58731.1	A- 119249.1	UUCGGGUGCGACACAUCUGUG	157	1901-1923	A- 119250.1	CCCACAGAUUGUGUGACCCCGAA	205	1901-1923
AD- 58734.1	A- 119251.1	UCGGGUGCGACACAUCUGUGG	158	1902-1924	A- 119252.1	CCCCACAGAUUGUGUGACCCCGA	206	1902-1924
AD- 58737.1	A- 119253.1	UGCUUCCAGGAGGACAGCAUG	159	1966-1988	A- 119254.1	GCCAUGCUGUCCUCCUGGAAGCA	207	1966-1988
AD- 59743.1	A- 120243.1	UCUGGUAUUCCUAGGGUACA	160		A- 120244.1	UGUACCUAGGAAUACCAGAGU	208	

실시예 2. 시험관 내 단일 용량 스크린.

또한, 변형된 및 콘주게이트된 TMPRSS6 siRNA 듀플렉스를 인간 세포주 Hep3B에서 형질감염 분석에 의해 효능에 대하여 평가하였다. TMPRSS6 siRNA를 2가지 용량, 10 nM 및 0.1 nM에서 형질감염시켰다. 이들 분석의 결과는 표 3에 나타나 있으며, 데이터는 음성 대조군 siRNA, AD-1955로 형질감염한 세포와 비교하여, TMPRSS6을 표적으로 하는 siRNA로 형질감염한 세포에 잔류한 전령의 분율 $\pm$ 표준 편차(SD)로서 표현되어 있다.

[0729]

표 3. *TMPRSS6* 단일 용량 스크린

듀플렉스 명칭	평균 10nM	SD 10nM	평균 0.1nM	SD 0.1nM
AD-58686.1	71.58	18.94	103.29	32.00
AD-58687.1	89.33	13.14	104.94	20.06
AD-58688.1	34.16	11.36	87.18	8.43
AD-58689.1	79.82	7.28	110.37	6.08
AD-58690.1	69.10	9.83	99.92	24.84
AD-58692.1	79.21	5.67	136.49	0.84
AD-58693.1	77.29	12.12	106.01	17.97
AD-58694.1	50.51	10.36	89.47	3.84
AD-58695.1	54.37	5.75	87.66	13.59
AD-58696.1	93.26	0.06	84.79	3.84
AD-58697.1	72.95	23.41	98.98	10.29
AD-58698.1	42.61	7.81	109.98	16.78
AD-58699.1	24.93	8.58	79.71	12.55
AD-58700.1	74.10	15.37	89.75	7.80
AD-58701.1	79.18	8.18	89.70	9.98
AD-58702.1	96.43	18.38	113.05	10.65
AD-58703.1	79.15	28.50	97.30	6.79
AD-58704.1	67.92	0.87	92.26	1.24
AD-58705.1	59.50	20.47	99.25	3.28
AD-58706.1	71.67	0.75	102.38	14.88
AD-58707.1	77.89	22.26	97.52	1.31
AD-58708.1	73.87	9.61	98.38	1.81
AD-58709.1	94.62	4.69	100.73	16.10
AD-58710.1	59.19	10.57	95.23	11.99
AD-58711.1	63.62	16.83	103.11	3.66
AD-58712.1	65.79	6.96	81.58	1.50
AD-58713.1	84.14	26.41	101.56	5.60

[0730]

듀플렉스 명칭	평균 10nM	SD 10nM	평균 0.1nM	SD 0.1nM
AD-58714.1	64.73	6.06	102.37	1.63
AD-58715.1	91.05	18.67	101.08	11.00
AD-58716.1	70.07	13.02	97.20	2.98
AD-58717.1	11.27	6.91	66.56	4.32
AD-58718.1	62.10	18.62	89.01	15.30
AD-58719.1	72.94	18.26	91.58	9.97
AD-58720.1	60.51	14.43	90.92	5.68
AD-58721.1	17.72	7.70	56.72	2.57
AD-58722.1	51.65	11.33	81.44	0.50
AD-58723.1	53.27	21.60	94.25	16.20
AD-58724.1	58.03	49.89	77.11	4.63
AD-58725.1	54.58	40.10	76.12	1.59
AD-58726.1	10.33	9.88	42.75	7.97
AD-58727.1	62.80	26.45	83.23	13.10
AD-58728.1	49.36	36.27	83.30	1.74
AD-58729.1	43.83	61.99	73.54	19.33
AD-58730.1	59.60	41.85	76.12	1.03
AD-58731.1	85.29	24.78	128.06	32.14
AD-58734.1	85.71	10.74	101.75	6.11
AD-58737.1	79.87	10.59	114.89	7.46

[0731]

[0732]

실시예 3. AD-59743을 사용한 시험관내 단일 용량 스크린

[0733]

TMPRSS6 단백질의 발현을 저해하는 AD-59743의 능력을, AD-59743의 투여 후, 야생형 C57BL/6 마우스의 간에서 TMPRSS6 mRNA 및 헵시딘 mRNA의 수준을 측정함으로써 평가하였다. 1 mg/kg, 3 mg/kg 또는 10 mg/kg의 AD-59743을 단일 용량으로 피하 투여하고, 마우스를 제3일 또는 제7일에 안락사시켰다. 간에서 TMPRSS6 mRNA 및 헵시딘 mRNA의 수준을, 상기 기술된 방법을 이용하여 qPCR에 의해 측정하였다. 대조군에는 PBS를 주사하였다.

[0734]

AD-59743의 투여 후, TMPRSS6 mRNA의 수준은 도 1에 도시되어 있으며, AD-59743의 투여 후, 헵시딘 mRNA의 수준은 도 2에 도시되어 있다. 그 결과는, TMPRSS6 전사물의 수준이 용량-의존적으로 저하되며 7일 동안 지속됨을 보여준다.

[0735]

실시예 4. 철분 킬레이터와 조합된 TMPRSS6 iRNA 작용제의 생체 내 효과

[0736]

본 연구의 목적은, TMPRSS6 특이성 siRNA와 철분 킬레이터의 공동-투여가 철분 수준에 미치는 효과를 시험하는 것이었다. 연구에서, 6주령의 야생형 C57BL/6 및 탈라세미아 Th3/+ 마우스(문헌[Douet 등, *Am. J. Pathol.* (2011), 178(2):774-83])에 3 ppm 내지 5 ppm의 철분을 함유하는 저-철분 식이요법을 공급하였다. 마우스에게, 테페리프론, 250 mg/kg/day 용량의 철분 킬레이터 및 하기 구조를 가진 iRNA 작용제를 함유하는 제형 AF-011-46273을 정맥내 투여하였다: 올리고Seq-센스 - uGGuAuuuccuAGGGuAcAdTsdT (SEQ ID NO: 209); 올리고Seq-안티센스 - UGuACCCuAGGAAuACcAdTsdT (SEQ ID NO: 210). 제형은 또한, MC-3/DSPC/콜레스테롤/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5를 함유하였다. 간 및 비장 조직을 수집하고, 조직의 비헴성(nonheme) 철분 농도를 전술한 바와 같이 확인하였다(예를 들어, 문헌[Schmidt 등 (2013) *Blood* 121(7):1200-8; Cook, JD, 등, *Tissue iron stores*. In: Cook JD, editor. *Methods in Hematology*. Vol 1. New York, NY: Churchill Livingstone Press; 1980. p. 104-109] 참조).

[0737]

이들 실험의 결과는 Th3/+ 마우스에서 AD-46273 및 테페리프론의 상가 효과를 나타내며, 음성 대조군과 비교하여 철분 수준은 저하되어 있다.

[0738]

실시예 5. 올리고뉴클레오타이드의 설계, 특이성 및 효능 예측

[0739]

전사물

[0740]

siRNA 설계를 수행하여, NCBI 유전자 데이터베이스 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)에서 주석화된 인간,

시노몰구스 원숭이(*마카카 파스시쿨라리스*(*Macaca fascicularis*)), 마우스 및 래트 TMPRSS6 전사물을 표적으로 하는 siRNA를 확인하였다. 설계를 NCBI RefSeq 수집물 유래의 하기 전사물에 이용하였다: 인간 -NM_153609.2; 마우스 - NM_027902.2; 래트 - NM_001130556.1. 시아노의 경우, 2개의 등록(accession)으로부터 조립된 서열의 인간 TMPRSS6과의 정렬을 통해 전사물 서열을 수득하였다: *M. 파스시쿨라리스*(*M. fascicularis*) 게놈 프로젝트 및 NCBI 뉴클레오타이드 데이터베이스로부터 입수가능한"ENSP00000384964 [mRNA] locus=chr10:82446450:82485403:-" 및 FR874253.1(<http://macaque.genomics.org.cn/page/species/download.jsp>) 및 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>). 영장류/설치류 서열 분화가 높기 때문에, siRNA 듀플렉스를 몇몇 별개의 배치에서 설계하였으며, 이러한 배치들로는 인간 및 시노스 전사물 단독; 인간, 시노 및 마우스 전사물 단독; 및 인간, 시노, 마우스 및 래트 전사물 단독을 매칭하는 듀플렉스를 함유하는 배치들을 포함하지만, 이들 로 한정되는 것은 아니다. 대부분의 siRNA 듀플렉스들은 각각의 설계 배치(상기)에서 고려되는 열거된 인간 전사물 및 다른 종의 전사물과 설계된 영역에서 100% 일치성을 공유하도록 설계하였다. 일부 경우에, 듀플렉스와 mRNA 표적 간의 미스매치는, 안티센스 가닥:표적 mRNA 상보적인 염기쌍이 GC 또는 CG 쌍인 경우, 제1 안티센스(마지막 센스) 위치에서 허용되었다. 이들 경우에, 제1 안티센스:마지막 센스 쌍에 UA 또는 AU 쌍이 존재하도록 듀플렉스를 설계하였다. 따라서, 듀플렉스는 상보성을 유지하였으나, 표적과 미스매치되었다(U:C, U:G, A:C 또는 A:G).

[0741] 모든 가능한 19량체들의 특이성을 각각의 서열로부터 예측하였다. 이후, 길이가 7개보다 긴 뉴클레오타이드 반복부가 결여된 후보 19량체들을 선별하였다. 이들 1128개 후보 인간/시노, 69개의 인간/시노/마우스 및 23개의 인간/시노/마우스/래트 siRNA들을, 파이톤 스크립트 'BruteForce.py'에서 시행된 철저한 "브루트-포스" 알고리즘을 이용하여 적절한 전사물(인간, 마우스 또는 래트 NCBI Refseq 세트 및 NCBI 뉴클레오타이드 내의 시노 전사물 세트 내의 NM_ 및 XM_ 기록의 세트로서 정의됨)에 대한 포괄적인 연구에 이용하였다. 이후, 스크립트는 전사물-올리고 정렬을 분석하여, siRNA와 임의의 잠재적인 '표적외' 전사물 간의 미스매치의 위치 및 수에 기초하여 점수를 생성하였다. 표적외 점수를 가중하여, 분자의 5' 말단으로부터 위치 2 내지 위치 9에서 siRNA의 '시드' 영역의 차이를 강조한다. 브루트-포스 연구의 각각의 올리고-전사물 쌍은 개별 미스매치 점수를 합하여 미스매치 점수를 받았으며; 위치 2 내지 위치 9에서의 미스매치는 2.8로서 계수하였으며, 절단 부위 위치 10 내지 위치 11에서의 미스매치는 1.2로서 계수하였으며, 영역 12 내지 영역 19에서의 미스매치는 1.0으로서 계수하였다. 부가적인 표적외 예측은, 각각의 올리고의 3개의 별도의, 시드-유래의 6량체로부터 유래되는 7량체 및 8량체의 빈도를 비교함으로써 수행하였다. 5' 시작에 대한 위치 2 내지 위치 7로부터의 6량체를 이용하여, 2개의 7량체 및 1개의 8량체를 제조하였다. 7량체1은 6량체에 3' A를 첨가함으로써 제조하였으며; 7량체2는 6량체에 5' A를 첨가함으로써 제조하였으며; 8량체는 6량체의 5' 말단 및 3' 말단에 A를 첨가함으로써 제조하였다. 인간, 시노, 마우스 또는 래트 3'UTRome(NCBI's Refseq 데이터베이스의 전사물의 하위서열로서 정의되며, 여기서, 코딩 영역 'CDS'의 말단은 명확하게 정의됨)에서 8량체 및 7량체의 빈도를 미리 계산하였다. 8량체 빈도를, 8량체 빈도의 범위의 중앙값을 이용하여 7량체 빈도로 정규화하였다. 이후, 'mirSeedScore'를 ((3 X 정규화된 8량체 계수) + (2 X 7량체2 계수) + (1 X 7량체1 계수))의 합을 계산함으로써 계산하였다.

[0742] siRNA 가닥 둘 다 계산된 점수에 따라 특이성의 범주에 할당하였다: 3보다 높은 점수는 매우 특이성인 것으로 정성화하며, 3은 특이성인 것으로 정상화하고, 2.2 내지 2.8은 중간 정도의 특이성인 것으로 정상화하였다. 본 발명자들은 안티센스 가닥의 특이성에 의해 소팅하였다. 이후, 본 발명자들은, 안티센스 올리고가 시드 영역에 최대 UA 함량 및 낮은 총 GC 함량을 포함하여, 높은 예측된 효능을 가진 듀플렉스의 특징을 가진, 중간 정도의 (또는 보다 높은) 특이적인 듀플렉스를 선별하였다.

[0743] GalNaC-콘주게이트된 듀플렉스에 대해, 센스 21량체 및 안티센스 23량체 올리고를, 안티센스 19량체(상기 기술됨)를 표적-상보적인 서열의 23개의 뉴클레오타이드로 신장함으로써 설계하였다. 설계 배치에 포함된 모든 종들의 전사물에 대해 상보성을 체크하였다. 각각의 듀플렉스에 대해, 센스 21량체를, 안티센스 가닥의 처음 21개의 뉴클레오타이드의 역보체로서 명시하였다.

[0744] siRNA 서열 선별

[0745] 총 5개의 센스 및 5개의 안티센스 인간, 32개의 센스 및 32개의 안티센스로부터 유래된 인간/시노, 4개의 센스 및 4개의 안티센스로부터 유래된 인간/시노/마우스, 8개의 센스 및 8개의 안티센스로부터 유래된 인간/시노/마우스/래트, 19개의 센스 및 19개의 안티센스로부터 유래된 인간/시노/래트, 2개의 센스 및 2개의 안티센스로부터 유래된 인간/마우스, 및 1개의 센스 및 1개의 안티센스로부터 유래된 인간/마우스/래트 siRNA 21/23량체 올

리고들을 합성하고, GalNAc-콘주게이트된 듀플렉스로 형성하였다.

[0746] 비변형된 듀플렉스의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열을 표 4에 나타내며, 변형된 듀플렉스의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열을 표 5에 나타낸다.

[0747] 표 4. *TMPRSS6* - 비변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열 명칭	안티센스 서열	SEQ ID NO:	NM_153609.2 에서의 위치
AD-60944.1	A-122732.1	GGUGCUACUCUGGUAUUUCCU	211	A-122733.1	AGGAAAUACCAGAGUAGCACCCC	280	318
AD-59743.1	A-120243.1	UCUGGUAAUUCCUAGGGUACA	212	A-120244.1	UGUACCCUAGGAAAUACCAGAGU	281	326
AD-60940.1	A-122745.1	CUGGUAAUUCCUAGGGUACAA	213	A-122746.1	UUGUACCCUAGGAAAUACCAGAG	282	327
AD-61002.2	A-122838.1	UGGUAAUUCCUAGGGUACAAA	214	A-122839.1	UUUGUACCCUAGGAAAUACCAGA	283	328
AD-61000.1	A-122852.1	GGUAAUUCCUAGGGUACAAGA	215	A-122853.1	UCUUGUACCCUAGGAAAUACCAG	284	329
AD-46273.1	A-96908.1	UGGUAAUUCCUAGGGUACA	216	A-96909.1	UGUACCCUAGGAAAUACCA	285	330
AD-61003.1	A-122854.1	GUAAUUCCUAGGGUACAAGGA	217	A-122855.1	UCCUUGUACCCUAGGAAAUACCA	286	330
AD-60994.1	A-122848.1	AUUUCCUAGGGUACAAGGCGA	218	A-122849.1	UCGCUUGUACCCUAGGAAAUAC	287	332
AD-60990.1	A-122830.1	UUUCCUAGGGUACAAGGCGGA	219	A-122831.1	UCCGCCUUGUACCCUAGGAAUA	288	333
AD-60956.1	A-122736.1	CGCCACUUCUCCAGGAUCUU	220	A-122737.1	AAGAUCCUGGGAGAAGUGGCGAU	289	400
AD-60981.1	A-122757.1	GCCACUUCUCCAGGAUCUUA	221	A-122758.1	UAAGAUCUGGGAGAAGUGGCGA	290	401
AD-60953.1	A-122775.1	CUGCUUCUUCUGGUUUAUUCU	222	A-122776.1	AGAAUGAACCAAGAAGCAGGU	291	558
AD-60977.1	A-122783.1	CUUCUUCUGGUUUAUUCUCA	223	A-122784.1	UGGAGAAUGAACCAAGAAGCA	292	561
AD-60964.1	A-119169.2	CCCUACAGGGCCGAGUACGAA	224	A-122764.1	UUCGUACUCGGCCUGUAGGGGA	293	679
AD-60947.1	A-122773.1	CUACAGGGCCGAGUACGAAGU	225	A-122774.1	ACUUCGUACUCGGCCUGUAGGGG	294	681
AD-60957.1	A-122751.1	GCCAGUGUGAAAGACAUAGCU	226	A-122752.1	AGCUAUGUCUUUACACUGGCUU	295	730
AD-60960.1	A-122792.1	AGUGUGAAAGACAUAGCUGCA	227	A-122793.1	UGCAGCUAUGUCUUUACACUGG	296	733
AD-60972.1	A-122796.1	CACGCUUGGUUGUUAACCGCUA	228	A-122797.1	UAGCGGUAACAACCCAGCGUGGA	297	762
AD-60970.1	A-122765.1	GGGUUGUUAACCGCUACAGCUA	229	A-122766.1	UAGCUGUAGCGGUAACAACCCAG	298	768
AD-60963.1	A-122753.1	CGGGACCGACUGGCCAUGUAU	230	A-122754.1	AUACAUGGCCAGUCGGUCCGCG	299	916
AD-60968.1	A-122739.1	CCGACUGGCCAUGUAUGACGU	231	A-122740.1	ACGUACAUAUGGCCAGUCGGUC	300	921
AD-60942.1	A-122786.1	GGGCCUGCACAGCUACUACGA	232	A-122787.1	UCGUAGUAGCUGUGCAGGCCUUU	301	1053
AD-60951.1	A-122749.1	GGCAGAAGUAUGAUUUGCCGU	233	A-122750.1	ACGGCAAUAUAUUCUGCCUC	302	1280
AD-60984.1	A-122800.1	CCAGAACAGGAGGCGUGUGGG	234	A-122801.1	CCACACAGCCUCCUGUUCUGGAU	303	1323

[0748]

AD-60955.1	A-122806.1	CAGAACAGGAGGCGUGUGGC	235	A-122807.1	GCCACACAGCCUCCUGUUCUGGA	304	1324
AD-60943.1	A-122802.1	CACCUCCAGAUUCCUAC	236	A-122803.1	GUGAGGGAGAUUCGGAGGUGAA	305	1413
AD-61001.1	A-122823.1	CACCUCCAGAUUCCUCAA	237	A-122824.1	UUGAGGGAGAUUCGGAGGUGAA	306	1413
AD-60974.1	A-122741.1	UGUGCGGUGCACUAUGGCUU	238	A-122742.1	AAGCCAUAGUGCACCCGCACACC	307	1443
AD-60982.1	A-122769.1	GCGGGUGCACUAUGGCUUGUA	239	A-122770.1	UACAAGCCAUAGUGCACCCGCAC	308	1446
AD-60996.1	A-122834.1	CCCUUGCCUGGAGAGUUCU	240	A-122835.1	AGGAACUCCAGGGCAGGGGUC	309	1479
AD-60997.1	A-122850.1	CCCUGCCUGGAGAGUUCUA	241	A-122851.1	UAGGAACUCCAGGGCAGGGGU	310	1480
AD-61006.1	A-122856.1	CCUGCCUGGAGAGUUCUCU	242	A-122857.1	AGAGGAACUCCAGGGCAGGGG	311	1481
AD-60988.1	A-122844.1	CUGCCUGGAGAGUUCUCUA	243	A-122845.1	UAGAGGAACUCCAGGGCAGGGG	312	1482
AD-60959.1	A-122777.1	CCUGUGAUGGGGUCAAGGACU	244	A-122778.1	AGUCCUUGACCCCAUCACAGGCA	313	1529
AD-60999.1	A-122836.1	GGACUGCCCAACGGCCUGGA	245	A-122837.1	UCCAGGCCGUUGGGCAGUCCU	314	1545
AD-60991.1	A-122846.1	ACUGCCCAACGGCCUGGAUA	246	A-122847.1	UAUCCAGGCCGUUGGGCAGUCC	315	1547
AD-60993.1	A-122832.1	CUGCCCAACGGCCUGGAUGA	247	A-122833.1	UCAUCCAGGCCGUUGGGCAGUC	316	1548
AD-61005.1	A-122840.1	UGCCCAACGGCCUGGAUGAA	248	A-122841.1	UUCAUCCAGGCCGUUGGGCAGU	317	1549
AD-60987.1	A-119213.2	GCCCCAACGGCCUGGAUGAGA	249	A-122829.1	UCUCAUCCAGGCCGUUGGGCAG	318	1550
AD-60986.1	A-122842.1	CCCCAACGGCCUGGAUGAGAA	250	A-122843.1	UUCUCAUCCAGGCCGUUGGGGCA	319	1551
AD-60952.1	A-119187.2	CCCAACGGCCUGGAUGAGAGA	251	A-122761.1	UCLUCUAUCCAGGCCGUUGGGGC	320	1552
AD-60983.1	A-119191.2	CAACGGCCUGGAUGAGAGAAA	252	A-122785.1	UUUCUCAUCCAGGCCGUUGGGG	321	1554
AD-60950.1	A-122734.1	ACGGCCUGGAUGAGAGAAACU	253	A-122735.1	AGUUCUCUCAUCCAGGCCGUUG	322	1556
AD-60980.1	A-122743.1	CCUGGAUGAGAGAAACUGCGU	254	A-122744.1	ACGCAGUUCUCUCAUCCAGGCC	323	1560
AD-60998.1	A-122821.1	CACUGGACUGUGGCCUCAA	255	A-122822.1	UUGGAGGCCACAGUCACAGUGCU	324	1804
AD-60961.1	A-122808.1	GUCCUCCAGGGUGAGUGGCC	256	A-122809.1	GGCCACUACCCUCGGAGGACAC	325	1857
AD-61004.1	A-122825.1	AUUGAGGGUGAGUGGCCAUA	257	A-122826.1	UAUUGCCACUACCCUCGGAGGA	326	1860
AD-60949.1	A-122804.1	UCCGAGGGUGAGUGGCCAUGG	258	A-122805.1	CCAUGGCCACUACCCUCGGAGG	327	1861
AD-60969.1	A-119189.2	CCAGGUUCGGGUCGACACAU	259	A-122755.1	AUGUGUCGACCCGAACCUAGGAG	328	1893
AD-60966.1	A-122794.1	AGGUUCGGGUCGACACAU	260	A-122795.1	AGAUGUGUCGACCCGAACCUAGG	329	1895
AD-60967.1	A-122810.1	CGGGGUCGACACAUUGUGGG	261	A-122811.1	CCCACAGAUUGUCCAGCCCGAA	330	1900
AD-60989.1	A-122816.1	CGGGGUCGACACAUUGUGGA	262	A-122817.1	UCCACAGAUUGUGCAGCCCGAA	331	1900

[0749]

AD-60973.1	A-122812.1	GGGGUCGACACAUCUGUGGG	263	A-122813.1	CCCCACAGAUUGUGGACCCCGA	332	1901
AD-60992.1	A-122818.1	GGGGUCGACACAUCUGUGGGA	264	A-122819.1	UCCCCACAGAUUGUGGACCCCGA	333	1901
AD-60985.1	A-122827.1	GGGUCGACACAUCUGUGGGA	265	A-122828.1	UCCCCACAGAUUGUGGACCCCG	334	1902
AD-60946.1	A-122759.1	GCUGACCGCUGGGUGAUACA	266	A-122760.1	UGUUUAUACCCAGCGGUCAGCGA	335	1933
AD-60979.1	A-122814.1	CUUCCAGGAGGACAGCAUGGC	267	A-122815.1	GCCAUUCUGUCCUCCUGGAAGCA	336	1965
AD-60976.1	A-122767.1	GGCCUGGAGAGGUGCCUUA	268	A-122768.1	UGAAGGACACCUCCAGGCCAG	337	2039
AD-60939.1	A-122730.1	GCCUGGAGAGGUGUCCUCAA	269	A-122731.1	UUGAAGGACACCUCCAGGCCA	338	2040
AD-60978.1	A-122798.1	CCAAGCAGGGGGACAAGUAUU	270	A-122799.1	AAUACUUGUCCCCUGCUUGGCA	339	2608
AD-60958.1	A-122762.1	CAAGCAGGGGGACAAGUAUUC	271	A-122763.1	GAAUACUUGUCCCCUGCUUGGC	340	2609
AD-60962.1	A-119231.2	UGGCAGGAGGUGGCAUCUUGU	272	A-122738.1	ACAAGAUGCCACCUCCGCCACC	341	2664
AD-60941.1	A-122771.1	GCAGGAGGUGGCAUCUUGUCU	273	A-122772.1	AGACAAGAUGCCACCUCCGCCA	342	2666
AD-60965.1	A-122779.1	GCUUCGGAAGCCCCUGGUCUA	274	A-122780.1	UAGACCAGGGGCUUCCGAAGCUG	343	2954
AD-60954.1	A-122790.1	CUUCGGAAGCCCCUGGUCUAA	275	A-122791.1	UUAGACCAGGGGCUUCCGAAGCU	344	2955
AD-60975.1	A-119233.2	CCCCUGGUCUAAAUUGGGAUC	276	A-122756.1	GAUCCCAAGUUAAGACCAGGGCU	345	2964
AD-60945.1	A-122747.1	CCUGGUCUAAAUUGGGAUCU	277	A-122748.1	AGAUCCAAGUUAAGACCAGGGGC	346	2965
AD-60971.1	A-122781.1	CCUGGUCUAAAUUGGGAUCUG	278	A-122782.1	CAGAUCCCAAGUUAAGACCAGGGG	347	2966
AD-60948.1	A-122788.1	CUAACUUGGGAUCUGGGAAUG	279	A-122789.1	CAUUCCCAGAUCCCAAGUAGAC	348	2972

[0750]

[0751]

표 5. TMRSS6 변형된 서열

뉴플렉스 명칭	센스 서열 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 서열 명칭	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD-46273.1	A-96908.1	uGGuAuuuccuAGGGuAcAdTsdT	349	A-96909.1	UGuACCCuAGGAAuACcAdTsdT	418
AD-59743.1	A-120243.1	UfscsUfgGfuAfuUfCfCfUfaGfgGfuAfcAfl96	350	A-120244.1	usGfsuAfcCfcUfaGfgaaAfuAfcCfaGfasgsu	419
AD-60939.1	A-122730.1	GfscsCfuGfgAfgAfgGfuGfuCfCfUfuCfaAfl96	351	A-122731.1	usUfsgAfaGfgAfcAfcCuCfuCfcAfgGfscsa	420
AD-60940.1	A-122745.1	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfUfaGfgGfuCfaAfl96	352	A-122746.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	421
AD-60941.1	A-122771.1	GfscsAfgGfaGfgUfGfGfCfAfuUfGfUfCfl96	353	A-122772.1	asGfsaCfaAfgAfuGfccaCfcUfcCfuGfscsa	422
AD-60942.1	A-122786.1	GfsgsGfcCfuGfCfCfAfgCfuAfcUfaCfGfAfl96	354	A-122787.1	usCfsgUfaGfuAfgCfuguGfCfGfCfcsusu	423

[0752]

AD-60943.1	A-122802.1	CfsasCfcUfcCfcAfgfAfuCfuCfcCfuCfaCfl96	355	A-122803.1	gsUfsgAfgGfgAfgAfuCfuGfgGfaGfgUfsgasa	424
AD-60944.1	A-122732.1	GfsgsUfgCfuAfcUfCfUfgGfuAfuUfuCfUfl96	356	A-122733.1	asGfsgAfaAfuAfcCfagaGfuAfgCfaCfcsusc	425
AD-60945.1	A-122747.1	CfscsCfuGfgUfcUfAfaCfuUfuGfgGfaUfcUfl96	357	A-122748.1	asGfsaUfcCfaAfaGfuuaGfaCfaAfgGfsgsc	426
AD-60946.1	A-122759.1	GfscsUfgAfcCfGfUfGfgGfuGfaUfaAfcAfl96	358	A-122760.1	usGfsuUfaUfcAfcCfcagCfGfgGfuCfaGfcsgsa	427
AD-60947.1	A-122773.1	CfsusAfcAfgGfgCfCfGfaGfuAfcGfaAfgUfl96	359	A-122774.1	asCfsuUfcGfuAfcUfGfgCfcCfuGfuAfgsgsg	428
AD-60948.1	A-122788.1	CfsusAfaCfuUfgGfgAfuCfuGfgGfaAfuGfl96	360	A-122789.1	csAfsuUfcCfcAfgAfuCfcCfaAfgUfuAfgsasc	429
AD-60949.1	A-122804.1	UfscsCfGfAfgUfGfAfgUfgGfCfCfaUfgGfl96	361	A-122805.1	csCfsaUfgGfcCfaCfuCfcaCfcCfuCfGfGfsgsg	430
AD-60950.1	A-122734.1	AfscsCfGfCfcUfGfAfuUfgAfgAfaAfcUfl96	362	A-122735.1	asGfsuUfuCfuCfuCfaucCfaGfgCfcGfcsusc	431
AD-60951.1	A-122749.1	GfsgsCfaGfaAfgUfAfuUfgAfuUfuGfcCfGfl96	363	A-122750.1	asCfsgGfcAfaAfuCfaucCfuUfcUfgCfcsusc	432
AD-60952.1	A-119187.2	CfscsCfaAfaGfgCfCfUfGfgGfaUfgAfgAfl96	364	A-122761.1	usCfsuCfuCfaUfcCfaggCfcGfuUfgGfsgsc	433
AD-60953.1	A-122775.1	CfsusGfcUfuCfuUfCfUfgGfuUfcAfuUfcUfl96	365	A-122776.1	asGfsaAfuGfaAfcCfagaAfgAfaGfcAfgsgsu	434
AD-60954.1	A-122790.1	CfsusUfcGfgAfaGfCfCfcCfuGfgUfcUfaAfl96	366	A-122791.1	usUfsaGfaCfcAfgGfggCfuCfcGfaAfgscsu	435
AD-60955.1	A-122806.1	CfsasGfaAfcAfgGfAfgGfCfuGfuGfuGfCfl96	367	A-122807.1	gsCfscAfcAfcAfgCfcucCfuGfuUfcUfsgsa	436
AD-60956.1	A-122736.1	CfsgsCfcAfcUfuCfUfcCfCfaGfgAfuCfuUfl96	368	A-122737.1	asAfgsAfuCfcUfgGfgagAfaGfuGfgCfsgasu	437
AD-60957.1	A-122751.1	GfscsCfaGfuGfuGfAfaGfaCfaUfaGfcUfl96	369	A-122752.1	asGfscUfaUfgUfcUfuucAfcAfcUfgGfcsusc	438
AD-60958.1	A-122762.1	CfsasAfgCfaGfgGfGfGfaCfaAfgUfaUfcUfl96	370	A-122763.1	gsAfsaUfaCfuUfgUfcccCfcUfgCfuUfsgsg	439
AD-60959.1	A-122777.1	CfscsUfgUfgAfuGfGfGfgUfcAfaGfgAfcUfl96	371	A-122778.1	asGfsuCfcUfuGfaCfcccAfuCfaCfaGfsgsa	440
AD-60960.1	A-122792.1	AfsgsUfgUfgAfaAfgAfcAfuAfgCfuGfcAfl96	372	A-122793.1	usGfscAfgCfuAfuGfucUfuCfaCfaCfsgsg	441
AD-60961.1	A-122808.1	GfsusCfcUfcCfGfAfgGfGfgUfgAfgUfgGfcfl96	373	A-122809.1	gsGfscCfaCfuCfaCfcccCfGfGfaGfAfcasasc	442
AD-60962.1	A-119231.2	UfsgsGfcAfgGfaGfGfUfgGfcAfuCfuUfgUfl96	374	A-122738.1	asCfsaAfgAfuGfCfaccUfcCfuGfcCfcsusc	443
AD-60963.1	A-122753.1	CfsgsGfgAfcCfGfAfcUfGfGfcCfaUfgUfaUfl96	375	A-122754.1	asUfsaCfaUfgGfcCfaguCfGfCfcCfsgsgsc	444
AD-60964.1	A-119169.2	CfscsCfuAfcAfgGfGfCfcGfaGfuAfcGfaAfl96	376	A-122764.1	usUfscGfuAfcUfcGfgccCfuGfuAfgGfsgsgsa	445
AD-60965.1	A-122779.1	GfscsUfuCfGfGfaAfgGfCfcCfcUfgGfuCfuAfl96	377	A-122780.1	usAfgAfcCfaGfgGfgcuUfcCfGfAfaGfcsusc	446
AD-60966.1	A-122794.1	AfsgsGfuUfcGfgGfGfUfcGfaCfaCfaUfcUfl96	378	A-122795.1	asGfsaUfgUfgUfcGfaccCfcGfaAfcCfsgsg	447
AD-60967.1	A-122810.1	CfsgsGfgGfuCfGfAfcAfcAfuCfuGfuGfgGfl96	379	A-122811.1	csCfscAfcAfgAfuGfuguCfGfAfcCfcCfsgasa	448
AD-60968.1	A-122739.1	CfscsGfaCfuGfgCfCfAfuGfuAfuGfaCfGfUfl96	380	A-122740.1	asCfsgUfcAfuAfcAfuGfgCfAfgUfcGfcsusc	449
AD-60969.1	A-119189.2	CfscsAfgGfuUfcGfGfGfgUfcGfaCfaUfl96	381	A-122755.1	asUfsgUfgUfcGfaCfcccGfaAfcCfuGfsgsasg	450
AD-60970.1	A-122765.1	GfsgsGfuUfgUfuAfcCfCfGfCfuAfcAfgCfuAfl96	382	A-122766.1	usAfgsCfuGfuAfgCfgguaAfaCfaAfcCfcsasg	451

AD-60971.1	A-122781.1	CfscsUfgGfuCfuAfaCfcUfgGfgAfuCfuCfuAfl96	383	A-122782.1	csAfsGfuCfcCfaAfguuAfgAfcCfaGfgsgsg	452
AD-60972.1	A-122796.1	CfsasCfGfuGfgGfuUfgUfuAfcCfGfuAfl96	384	A-122797.1	usAfsGfuCfcGfuAfaCfaaCfcAfgCfGfuUfgsgsa	453
AD-60973.1	A-122812.1	GfsgsGfgUfcGfaCfaCfaCfuUfgUfgGfgAfl96	385	A-122813.1	csCfscCfaCfaGfaUfgUfcGfaCfcCfsgsa	454
AD-60974.1	A-122741.1	UfsgsUfgCfGfgUfgGfaCfuAfuGfgCfuUfl96	386	A-122742.1	asAfsGfuCfcAfuAfgUfgccCfcCfGfuCfascsc	455
AD-60975.1	A-119233.2	CfscsCfcUfgGfuCfuUfaCfuUfgGfgAfuCfl96	387	A-122756.1	gsAfsuCfcCfaAfgUfuagAfcCfaGfgGfgscsu	456
AD-60976.1	A-122767.1	GfsgsCfcUfgGfaGfaGfgUfgUfuCfuAfl96	388	A-122768.1	usGfsaAfgGfaCfaCfcUfcCfaGfgCfscasg	457
AD-60977.1	A-122783.1	CfsusUfcUfuCfuGfgGfuCfuUfuCfuCfcAfl96	389	A-122784.1	usGfsgAfgAfaUfgAfacAfgAfaGfaAfgscsa	458
AD-60978.1	A-122798.1	CfscsAfaGfcAfgGfgGfgAfcAfaGfuUfl96	390	A-122799.1	asAfsuAfcUfuGfuCfcccCfuGfcUfuGfgscsa	459
AD-60979.1	A-122814.1	CfsusUfcCfaGfgAfgGfaCfaGfcAfuGfgCfl96	391	A-122815.1	gsCfscAfuGfcUfgUfccuUfcUfgGfaAfgscsa	460
AD-60980.1	A-122743.1	CfscsUfgGfaUfgAfgAfaAfcUfgCfGfuUfl96	392	A-122744.1	asCfsgCfaGfuUfuCfucCfaUfcCfaGfgscsc	461
AD-60981.1	A-122757.1	GfscsCfaCfuUfcUfcCfcAfgGfaUfuAfl96	393	A-122758.1	usAfsaGfaUfcCfuGfggaGfaAfgUfgGfgscsa	462
AD-60982.1	A-122769.1	GfscsGfgGfuGfcAfcUfuUfgGfcUfuGfuAfl96	394	A-122770.1	usAfsaAfaGfcCfaUfaguGfcAfcCfcGfgscasc	463
AD-60983.1	A-119191.2	CfsasAfcUfgCfcUfgGfaUfgAfgAfl96	395	A-122785.1	usUfsuCfuCfuCfaUfccAfgCfcGfuUfgsgsg	464
AD-60984.1	A-122800.1	CfscsAfgAfaCfaGfgAfgGfcUfuUfgUfgGfl96	396	A-122801.1	csCfsaCfaCfaGfcCfuccUfgUfuCfuGfgsas	465
AD-60985.1	A-122827.1	GfsgsGfuCfGfaAfcAfuCfuGfgGfgAfl96	397	A-122828.1	usCfscCfcAfcAfgAfuGfuCfuCfcCfscsg	466
AD-60986.1	A-122842.1	CfscsCfcAfaCfGfcCfcUfgGfaAfuGfaAfl96	398	A-122843.1	usUfscUfcAfuCfcAfggCfcUfgGfgGfgscsa	467
AD-60987.1	A-119213.2	GfscsCfcCfaAfcGfgCfcUfgGfaUfgAfgAfl96	399	A-122829.1	usCfsuCfaUfcCfaGfgccGfuUfgGfgGfgscasg	468
AD-60988.1	A-122844.1	CfsusGfcCfcUfgGfaGfaGfuUfcCfuCfuAfl96	400	A-122845.1	usAfsGfgGfaUfcUfcuCfaGfgGfaAfgsgsg	469
AD-60989.1	A-122816.1	CfscsGfgGfuCfGfaAfcAfuCfuGfgAfl96	401	A-122817.1	usCfscAfcAfgAfuGfuguCfGfcCfcCfsgasa	470
AD-60990.1	A-122830.1	UfscsUfcCfuAfgGfgGfaCfaAfgGfcGfgAfl96	402	A-122831.1	usCfscGfcCfuUfgUfaccCfuAfgGfaAfasusa	471
AD-60991.1	A-122846.1	AfscsUfgCfcCfcAfaCfcGfgGfcCfuGfaAfl96	403	A-122847.1	usAfsuCfcAfgGfcCfuguGfgGfgGfgscsc	472
AD-60992.1	A-122818.1	GfsgsGfgUfcGfaCfaCfaCfuUfgUfgGfgAfl96	404	A-122819.1	usCfscCfaCfaGfaUfgUfcGfaCfcCfsgsa	473
AD-60993.1	A-122832.1	CfsusGfcCfcCfaAfcCfGfgCfcUfgGfaUfgAfl96	405	A-122833.1	usCfsaUfcCfaGfgCfcguUfgGfgGfgAfgscusc	474
AD-60994.1	A-122848.1	AfscsUfuCfcUfaGfgGfgAfaCfaGfgCfGfaAfl96	406	A-122849.1	usCfsgCfcUfuGfuAfcCfuccUfaGfgAfaAfasusc	475
AD-60996.1	A-122834.1	CfscsCfcUfgCfcCfuUfgGfgAfgAfuCfuAfl96	407	A-122835.1	asGfsgAfaCfuCfuCfaccGfgCfaGfgGfgscusc	476
AD-60997.1	A-122850.1	CfscsCfuGfcCfcUfgGfgGfaGfuUfcCfuAfl96	408	A-122851.1	usAfsGfaAfcUfcUfccAfgGfcAfgGfgsgsu	477
AD-60998.1	A-122821.1	CfsasCfuGfuGfaCfuUfgGfgCfcUfcCfaAfl96	409	A-122822.1	usUfsgGfaGfgCfcAfcagUfcAfcAfgUfgscsu	478
AD-60999.1	A-122836.1	GfsgsAfcUfgCfcCfcAfaCfGfgCfuGfgAfl96	410	A-122837.1	usCfscAfgGfcCfGfuUfgGfgCfaGfuCfcscsu	479

AD-61000.1	A-122852.1	GfsgsUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfgAfl96	411	A-122853.1	usCfsuUfgUfaCfcCfuagGfaAfaUfaCfscasg	480
AD-61001.1	A-122823.1	CfsasCfcUfcCfcAfgGfaCfuCfcCfuCfaAfl96	412	A-122824.1	usUfsgAfgGfgAfgAfcuGfgGfaGfgUfgsasa	481
AD-61002.1	A-122838.1	GfsgsGfuAfuUfuCfCfuAfgGfgGfuAfaAfl96	413	A-122839.1	usUfsuGfuAfcCfcUfaggAfaAfaAfcCfsgsa	482
AD-61003.1	A-122854.1	UfscsAfuUfuCfuUfaAfgGfgGfaAfaAfl96	414	A-122855.1	usCfscUfuGfuAfcCfcuaGfgAfaAfaAfcscsa	483
AD-61004.1	A-122825.1	CfsusCfcGfaGfgUfgGfaGfuGfgCfuAfl96	415	A-122826.1	usAfsuGfgCfcAfcUfccCfcUfcGfgAfgsgsa	484
AD-61005.1	A-122840.1	UfsgsCfcCfaCfaCfGfgCfcUfgGfgAfuGfaAfl96	416	A-122841.1	usUfscAfuCfcAfgGfgccUfuGfgGfgCfsgsu	485
AD-61006.1	A-122856.1	CfscsUfgCfcCfuGfgAfgAfuCfuCfuUfl96	417	A-122857.1	asGfsaGfgAfaCfuCfuccAfgGfgCfaGfgsgsg	486

실시예 6. 시험관 내 단일 용량 스크린

단일 용량 및 용량 반응 연구를 위한 세포 배양 및 형질감염

Hep3B 세포(ATCC, 머내서스, 버지니아)를 트립신처리에 의하여 플레이트로부터 방출시키기 전에 10% FBS, 스트렙토마이신 및 글루타민(ATCC)이 보충된 DMEM(ATCC) 내에서 5% CO₂의 분위기 하에 37℃에서 컨플루언스 근처까지 성장시켰다. 형질감염은, 웰(Invitrogen, 칼스배드 캘리포니아 카탈로그 번호 13778-150)당 Opti-MEM 14.8 μ l 및 리포펙타민 RNAiMax 0.2 μ l를 96-웰 플레이트 내에 웰당 siRNA 듀플렉스 5 μ l에 첨가하여 수행하고, 실온에서 15분 동안 인큐베이션하였다. 약 2 x10⁴개 Hep3B 세포를 포함하는 항생제-무함유 완전 성장 배지 80 μ l를 siRNA 혼합물에 첨가하였다. 세포를 RNA 정제 전 24시간 동안 인큐베이션하였다. 실험을 10 nM 및 0.1 nM 최종 듀플렉스 농도에서 수행하였다.

DYNABEADS mRNA 분리 키트(Invitrogen, part #: 610-12)를 사용한 총 RNA 분리

세포를 수집하고, 파쇄/결합 완충제 150 μ l에서 파쇄한 다음, 에펜도르프 서모믹서(Eppendorf Thermomixer)를 이용하여 850 rpm에서 5분 동안 혼합하였다(혼합 속도는 전 과정 동안 동일하였음). 자기 비드 10 μ l 및 파쇄/결합 완충제 혼합물 80 μ l를 둥근 바닥 플레이트에 첨가하고, 1분 동안 혼합하였다. 자기 비드를 자기 스탠드를 이용하여 포착하고, 비드를 어지럽히지 않으면서 상층액을 제거하였다. 상층액 제거 후, 파쇄된 세포를 잔여 비드에 첨가하고, 5분 동안 혼합하였다. 상층액 제거 후, 자기 비드를 세정 완충제 A 150 μ l로 2회 세정하고, 1분 동안 혼합하였다. 비드를 다시 포착하였고, 상층액을 제거하였다. 그런 다음, 비드를 세정 완충제 B 150 μ l로 세정하고, 포착하고, 상층액을 제거하였다. 이후, 비드를 용출 완충제 150 μ l로 세정하고, 포착하고, 상층액을 제거하였다. 비드를 2분 동안 건조되도록 놔두었다. 건조 후, 용출 완충제 50 μ l를 첨가하고, 70℃에서 5분 동안 혼합하였다. 비드를 자석 상에서 5분 동안 포착하였다. 상층액 40 μ l를 제거하고, 또 다른 96웰 플레이트에 첨가하였다.

ABI 고효율 cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, 포스터 시티, 캘리포니아, Cat #4368813)을 이용한 cDNA 합성

[0761] 반응마다 2 μl 10X 완충제, 0.8 μl 25 $\times$ dNTP, 2 μl 랜덤 프라이머, 1 μl 역전사효소, 1 μl RNase 억제제 및 3.2 μl H₂O의 마스터 믹스를 10 μl 의 전체 RNA에 첨가하였다. cDNA를 하기 단계들을 통해 Bio-Rad C-1000 또는 S-1000 열 사이클러(허큘레스, 캘리포니아)를 이용하여 생성하였다: 25 $^{\circ}\text{C}$ 10분, 37 $^{\circ}\text{C}$ 120분, 85 $^{\circ}\text{C}$ 5초, 4 $^{\circ}\text{C}$ 유지.

[0762] 실시간 PCR

[0763] cDNA 2 μl 를 384 웰 50 플레이트(Roche cat # 04887301001) 내에서 웰 당 0.5 μl 의 GAPDH TaqMan 탐침(Applied Biosystems Cat #4326317E), 0.5 μl 의 TMPRSS6 TaqMan 탐침(Applied Biosystems cat # Hs00542184_m1) 및 5 μl 의 라이트사이클러(Lightcycler) 480 탐침 마스터 믹스(Roche Cat #04887301001)를 포함하는 마스터 믹스에 첨가하였다. 실시간 PCR은 $\Delta\Delta\text{Ct}$ (RQ) 분석법을 이용하는 Roche 라이트사이클러 Real Time PCR 시스템(Roche)에서 수행하였다. 요약 표에서 달리 표시되지 않으면, 각각의 듀플렉스는 2가지 독립된 형질감염에서 시험하였으며, 각각의 형질감염을 2별로 분석하였다.

[0764] 상대적 배수 변화를 계산하기 위하여, 실시간 데이터를 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 방법을 이용하여 분석하였으며, 10 nM AD-1955로 형질감염된 세포 또는 모의 형질감염된 세포로 수행된 분석법에 정규화시켰다.

[0765] 데이터는, 본래의(naive) 세포와 비교하여, TMPRSS6을 표적으로 하는 siRNA로 형질감염된 세포에 잔류하는 TMPRSS6 전령의 분율로서 표현한다. 모든 siRNA를 적어도 2회 형질감염시키고, qPCR 반응을 2벌 수행하였다. 데이터는 표 6에 나타나 있다.

[0766] 표 6. TMPRSS6 단일 용량 스크린

듀플렉스 명칭	평균 10nM	Avg 0.1nM	평균 0.1nM	SD 0.1nM
AD-46273	76.5	112.1	14.3	18.6
AD-59743	61.4	108.2	8.7	4.4
AD-60939	38.0	85.7	19.3	25.2
AD-60940	24.2	22.6	10.1	9.7
AD-60941	48.5	84.7	11.7	29.7
AD-60942	102.9	111.2	4.3	44.8
AD-60943	86.2	96.5	2.3	28.8
AD-60944	24.6	78.5	1.1	36.5
AD-60945	65.8	140.9	0.5	59.2
AD-60946	50.3	105.9	4.1	31.2
AD-60947	79.1	147.2	12.3	51.2
AD-60948	81.0	113.9	0.6	32.7
AD-60949	111.3	96.2	8.2	28.1
AD-60950	53.8	93.2	7.6	42.3
AD-60951	74.1	121.6	6.4	56.2
AD-60952	47.6	118.3	8.1	52.4
AD-60953	22.0	56.7	8.3	18.0
AD-60954	23.3	55.8	5.3	31.7
AD-60955	110.8	117.5	1.6	38.7
AD-60956	15.8	29.6	1.7	10.2
AD-60957	22.3	58.3	1.5	6.1
AD-60958	106.4	136.0	24.1	61.7
AD-60959	79.6	123.3	0.6	49.9
AD-60960	17.4	49.4	8.6	10.2
AD-60961	107.7	129.0	6.6	50.5
AD-60962	90.2	113.3	8.0	67.2

[0767]

AD-60963	117.4	138.1	2.6	16.8
AD-60964	80.7	123.2	24.2	18.9
AD-60965	30.1	80.2	9.0	20.8
AD-60966	54.1	133.6	4.6	44.0
AD-60967	122.2	147.4	11.7	42.0
AD-60968	86.9	142.0	39.9	49.7
AD-60969	106.2	116.3	16.6	39.1
AD-60970	54.6	112.6	7.3	11.8
AD-60971	50.5	118.8	6.9	47.0
AD-60972	55.6	94.2	6.5	3.4
AD-60973	126.1	133.6	8.0	36.8
AD-60974	82.6	115.0	8.7	43.7
AD-60975	88.2	114.3	13.6	43.9
AD-60976	46.3	71.0	11.6	30.2
AD-60977	13.5	26.4	3.4	9.2
AD-60978	72.7	92.9	6.4	31.7
AD-60979	103.8	97.0	13.7	29.2
AD-60980	28.4	58.0	12.3	21.1
AD-60981	56.0	80.6	18.3	4.5
AD-60982	102.4	137.4	15.2	16.4
AD-60983	60.8	87.1	10.1	20.3
AD-60984	53.6	116.7	1.2	47.8
AD-60985	72.6	99.2	0.7	21.7
AD-60986	90.1	96.4	6.6	29.5
AD-60987	83.1	90.7	1.6	13.7
AD-60988	69.4	102.3	2.4	55.4
AD-60989	112.4	105.7	0.6	14.7
AD-60990	90.4	93.4	6.2	4.1
AD-60991	97.6	95.6	15.5	23.4
AD-60992	104.0	131.4	6.9	33.7
AD-60993	118.6	129.2	10.5	30.1
AD-60994	25.9	57.2	6.8	0.3
AD-60996	77.3	94.2	7.8	12.6
AD-60997	60.1	80.9	18.8	7.5
AD-60998	32.6	61.4	5.7	24.6
AD-60999	133.6	110.9	39.7	15.4
AD-61000	55.8	117.6	14.2	24.9
AD-61001	57.9	85.2	8.1	42.0
AD-61002	15.4	31.4	1.5	10.1
AD-61003	82.3	98.1	4.0	11.8
AD-61004	106.4	97.7	38.5	18.8
AD-61005	138.0	141.2	65.7	20.0
AD-61006	31.7	70.9	7.8	6.6

[0768]

[0769] 실시예 7. TMPRSS6 iRNA 작용제의 단일 용량 투여의 생체 내 효과

[0770] 암컷 C57BL/6 마우스에게, AD-60940을 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg 또는 3.0 mg/kg으로 1회 피하 주사하거나 PBS 단독을 1회 피하 주사(대조군)하였다. 3마리의 마우스에서, 다양한 시점들에서 간 TMPRSS6 mRNA, 간 헵시딘 mRNA, 혈청 헵시딘, 총 혈청 철분 및 트랜스페린 포화%를 용량 당 평가하였다. 1.0 mg/kg 또는 3.0 mg/kg의 AD-60940 또는 PBS를 수여받은 마우스를 0일(처리전) 및 치료 후 7일, 11일, 14일 및 21일째에 평가하였다. 0.3 mg/kg AD-60940을 수여받은 마우스를 0일(치료전) 및 치료 후 7일 및 11일째에 평가하였다. 간 TMPRSS6 mRNA 및 간 헵시딘 mRNA 수준을 qPCR에 의해 확인하고, GAPDH mRNA 수준으로 정규화하고, PBS만 투여한 마우스에서의 mRNA 수준과 비교하여 표현하였다. 혈청 헵시딘을 ELISA(Intrinsic Life Sciences)에 의해 측정하였다. 총 혈청 철분 및 트랜스페린 포화%(% TfSat)를 Olympus AU400 혈청 화학 분석기를 이용하여 측정하였다. 각각의 데이터 지점은 3마리 마우스의 평균값을 나타낸다. 평균의 표준 편차를 오차 막대로 나타낸다.

[0771] AD-60940의 단일 용량 투여는 대조군과 비교하여 간 TMPRSS6 mRNA의 강력하고 지속력있는 저해를 초래하였다.

TMPRSS6 mRNA 농도는 3.0 mg/kg 용량의 투여 후, 3주 이하 동안 90% 넘게 저해되었다(도 3a). 간 TMPRSS6 mRNA 농도의 저해 결과, 헵시딘 mRNA 수준은 대조군과 비교하여 2배 증가하였으며(도 3b), 혈청내 헵시딘 농도는 대조군과 비교하여 2배 넘게 증가하였다(도 3c). 또한, 총 혈청 철분(도 3d)은 대조군과 비교하여 저하되었으며, 트랜스페린 포화%는 50% 넘게 저하되었다(도 3e). 총 혈청 철분 및 트랜스페린 포화%의 저하는 AD-60940의 투여 후 3주 이하 동안 지속되었다. 도 3f는 투여 후 11일째에 상대적인 간 TMPRSS6 mRNA 농도를 AD-60940 용량의 함수로서 도시한 것이다. 각각의 데이터 지점은 각각의 용량 수준에서 관찰된 TMPRSS6 mRNA 농도의 최대 저해를 나타낸다. 데이터는 Hi11 방정식으로 맞춰졌다.

[0772] AD-60940이 헵시딘 및 혈청 철분 고정을 조정하는 정도는 이전의 *Hbb^{th3/+}* 마우스 연구에서 관찰된 것과 거의 동일하며(문헌[Schmidt 등, *Blood* (2013), 121(7), 1200-1208]), AD-60940은 β -탈라세미아에서 질병 변형 효과를 발휘하기 위한 강력한 RNAi 치료제임을 가리킨다.

[0773] **실시예 8. TMPRSS6 iRNA 작용제의 복수-용량 투여의 생체 내 효과**

[0774] 암컷 C57BL/6 마우스에, AD-60940을 3주일 동안 1주일에 1회 0.3 mg/kg, 1.0 mg/kg으로 피하 주사하거나 PBS 단독을 피하 주사(대조군)한 다음, 최종 투여 후 7일째에 안락사시켰다(도 4a). 3마리의 마우스에서, 간 TMPRSS6 mRNA, 간 헵시딘 mRNA 및 트랜스페린 포화%를 용량 당 평가하였다. 간 TMPRSS6 mRNA 및 간 헵시딘 mRNA 수준을 qPCR에 의해 확인하고, GAPDH mRNA 수준으로 정규화하고, PBS만 투여한 마우스에서의 mRNA 수준과 비교하여 표현하였다. 트랜스페린 포화%(% TfSat)를 Olympus AU400 혈청 화학 분석기를 이용하여 측정하였다. 각각의 데이터 지점은 3마리 마우스의 평균값을 나타낸다. 평균의 표준 편차를 오차 막대로 나타낸다.

[0775] 1.0 mg/kg AD-60940의 복수-용량 투여는 TMPRSS6 mRNA 농도를 90% 넘게 저해하였다(도 4b). 헵시딘 mRNA 농도는 대조군과 비교하여 2배 증가하였으며, 트랜스페린 포화%는 50% 넘게 저하되었다(도 4b). 도 4c는 상대적인 간 TMPRSS6 mRNA 농도를 AD-60940 용량의 함수로서 도시한 것이다. 데이터는 Hi11 방정식으로 맞춰졌다. 이들 데이터는 복수-용량 ED80이 1.0 mg/kg 미만임을 가리킨다.

[0776] 본 연구는, AD-60940이 TMPRSS6 mRNA의 강력하고 지속력있는 저해를 나타내며, 헵시딘 유도 및 전신 철분 제한을 초래함을 나타내고, AD-60940이 β -탈라세미아에서 질병을 변경하는 효과를 창출하는 강력한 RNAi 치료제임을 가리킨다.

[0777] **실시예 9. 간 TMPRSS6 mRNA 수준 및 혈청내 헵시딘 농도와 트랜스페린 포화% 간의 관계**

[0778] AD-59743, AD-61002, AD-60940 및 다른 TMPRSS6 iRNA 작용제를 이용하여 생성한 데이터를 더 분석하여, 간 TMPRSS6 mRNA 수준 및 혈청 헵시딘 수준과 트랜스페린 포화% 간의 관계를 평가하였다. 혈청내 헵시딘 농도는 Hi11 방정식을 이용하여 TMPRSS6 mRNA 수준에 대한 비-선형 관계를 나타내었다(도 5a). 트랜스페린 포화%는 단순한 선형 회귀 방정식에 적합화된 경우, TMPRSS6 mRNA 수준에 대한 선형 관계를 나타내었다(도 5b). TMPRSS6 mRNA 수준과 트랜스페린 포화% 간의 선형 관계는, 철분 제한이 AD-60940에 의해 정확하고 예측가능하게 조정될 수 있음을 가리킨다. 혈청내 헵시딘 농도 및 상대적인 헵시딘 mRNA 수준은 또한, 단순한 선형 회귀 방정식에 맞춰진 경우, 선형 관계를 나타내었다(도 5c). 대조적으로, 트랜스페린 포화%와 혈청내 헵시딘 농도 간의 관계는 비선형이었으며 Hi11 방정식에 맞춰졌다(도 5d).

[0779] **실시예 10. 생체 내 단일 용량 스크린**

[0780] 도 6에 도시된 바와 같이 TMPRSS6 siRNA 듀플렉스를, siRNA 듀플렉스의 투여 후, 암컷 C57BL/6 마우스의 간에서 TMPRSS6 mRNA의 수준을 저해하는 듀플렉스의 능력에 의해 효능을 평가하였다. 3 mg/kg의 단일 피하 용량의 TMPRSS6 siRNA 듀플렉스를 투여하고, 마우스를 7일 후 안락사시켰다. 간에서 TMPRSS6 mRNA의 수준을 상기 기술된 방법을 이용하여 qPCR에 의해 측정하였다. 대조군의 마우스에는 PBS를 주사하였다.

[0781] TMPRSS6 siRNA 듀플렉스의 투여 후, TMPRSS6 mRNA의 수준을 도 6에 도시한다. 그 결과는, AD-60940, AD-59743 및 AD-61002의 투여가 간 TMPRSS6 mRNA를 실질적으로 저해하였으며, AD60940이 가장 큰 침묵화를 생성함을 나타낸다. 상세하게는, TMPRSS6 siRNA 듀플렉스 AD-60940은 TMPRSS6 mRNA를 대조군과 비교하여 80% 넘게 감소시켰다. 데이터는 또한, AD-59743, AD-60940, AD-61002, AD-60994, AD-60998 및 AD-61001을 사용한 치료는 TMPRSS6 전사물의 수준을 감소시키며, 이 감소는 7일 동안 유지됨을 나타낸다.

[0782] **실시예 11. 생체 내 복수-용량 스크린**

[0783] 도 7에 도시된 바와 같이 TMPRSS6 siRNA 듀플렉스를, siRNA 듀플렉스의 투여 후, 야생형 C57BL/6 마우스의 간에

서 TMPRSS6 mRNA의 수준을 저해하는 듀플렉스의 능력에 의해 효능을 평가하였다. 0.3 mg/kg 또는 1.0 mg/kg의 피하 용량의 TMPRSS6 siRNA 듀플렉스를 3주일 동안 1주일에 1회 투여하였다. 마지막 투여 후 7일째에 마우스를 안락사시켰다. 간에서 TMPRSS6 mRNA의 수준을 상기 기술된 방법을 이용하여 qPCR에 의해 측정하였다. 대조군의 마우스에는 PBS를 주사하였다.

[0784] TMPRSS6 siRNA 듀플렉스의 투여 후, TMPRSS6 mRNA의 수준을 도 7에 도시한다. 그 결과는, TMPRSS6 siRNA 듀플렉스 AD-60940의 1.0 mg/kg 투약 계획이 TMPRSS6 mRNA를 대조군과 비교하여 80% 넘게 감소시킴을 나타낸다.

[0785] 실시예 12. AD-60940의 최적화

[0786] AD-60940의 투여가 TMPRSS6 mRNA를 대조군과 비교하여 80% 넘게 지속적으로 감소시킨 관찰을 기초로 하여, 다양한 화학적 변형들이 이루어진 AD-60940의 부모(parent) 서열을 기초로 하는 부가적인 siRNA를 Hep3B 세포에서 형질감염에 의해 10 nM 및 0.1 nM에서 단일 용량 스크린에서의 효능에 대해 평가하였다. 이들 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열은 표 8에 나타나 있으며, 이 스크린의 결과는 표 9에 나타나 있다. 표 9의 데이터는 대조군과 비교하여, 잔류 전령의 평균 분율로서 표현되어 있다.

[0787] 또한, 상기 표 4 및 표 5에 기술된 siRNA의 서브셋을, 센스 가닥의 5'-말단에서 2'F를 2'OMe 변형으로 대체하고, 안티센스 가닥 상에 5'-포스페이트를 첨가하도록 변형하였다. 이들 siRNA 작용제를 또한, Hep3B 세포에서 형질감염에 의해 10 nM 및 0.1 nM에서 단일 용량 스크린에서의 시험관 내 효능에 대해 평가하였다. 이들 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 서열은 표 10에 나타나 있으며, 이 스크린의 결과는 표 11에 나타나 있다. 표 11의 데이터는 대조군과 비교하여, 잔류 전령의 평균 분율로서 표현되어 있다.

[0788] 표 8. TMPRSS6 변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 명칭	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD-63214	A-126586.2	Y44CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	487	A-126587.2	PusUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	544
AD-63240	A-122745.11	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	488	A-126607.1	usUfsguaCfcCfuAfggaAfaUfaccagsasg	545
AD-63209	A-126594.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfdTacaal96	489	A-122746.13	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	546
AD-63208	A-122745.6	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	490	A-126587.1	PusUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	547
AD-63202	A-126586.1	Y44CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	491	A-122746.6	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	548
AD-63216	A-122745.7	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	492	A-126603.1	usUfsgUfaCfccuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	549
AD-63219	A-126617.1	gsusUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	493	A-126618.1	PusUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcsasg	550
AD-63228	A-122745.9	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	494	A-126605.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaccagsasg	551
AD-63205	A-122745.13	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	495	A-126609.1	usUfsgUfaccCfuaggaAfaUfaccAfgsasg	552
AD-63241	A-126589.2	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuacaal96	496	A-126611.3	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	553
AD-63243	A-126621.3	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	497	A-126624.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	554
AD-63203	A-126593.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuadCaal96	498	A-122746.12	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	555
AD-63223	A-122745.16	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	499	A-126612.1	usUfsguaCfccuaggaAfaUfaccagsasg	556
AD-63231	A-126621.1	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	500	A-126622.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	557
AD-63199	A-122745.12	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	501	A-126608.1	usUfsgUfaccCfuAfggaAfaUfaccAfgsasg	558
AD-63217	A-122745.15	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	502	A-126611.1	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	559
AD-63229	A-122745.17	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	503	A-126613.1	usUfsguaCfcCfuAfggaAfaUfaccagsasg	560
AD-63255	A-126621.5	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	504	A-126626.1	usUfsGfuaAfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	561
AD-63226	A-126589.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuacaal96	505	A-122746.8	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	562
AD-63211	A-122745.14	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	506	A-126610.1	usUfsgUfaccuAfggaAfaUfaccAfgsasg	563
AD-63273	A-126621.8	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	507	A-126629.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaAfcaccagsasg	564
AD-60940	A-122745.1	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	508	A-122746.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	565
AD-63249	A-126621.4	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	509	A-126625.1	usUfsGfuaAfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfgsasg	566
AD-63256	A-122745.19	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	510	A-126634.1	usUfsgUfaccCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	567

[0789]

AD-63280	A-126639.1	csusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	511	A-126587.3	PusUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	568
AD-63237	A-126621.2	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	512	A-126623.1	usUfsGfuAfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	569
AD-63285	A-126621.10	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	513	A-126631.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfgsasg	570
AD-63215	A-126595.1	csusgguaUfuUfcCfuCuaggGfuacaaL96	514	A-122746.14	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	571
AD-63222	A-122745.8	CfsusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	515	A-126604.1	usUfsguaCfcCfuAfggaAfaUfaccAfgsasg	572
AD-63232	A-126590.1	csusgguaAfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	516	A-122746.9	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	573
AD-63218	A-126594.2	csusgguaUfuUfcCfuaggGfdTacaal96	517	A-126611.7	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	574
AD-63261	A-126621.6	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	518	A-126627.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaAfcCagsasg	575
AD-63267	A-126621.7	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	519	A-126628.1	usUfsGfuAfcCfuAfggaAfaUfaAfcCagsasg	576
AD-63234	A-122745.10	CfsusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	520	A-126606.1	usUfsguaCfccuAfggaAfaUfaccAfgsasg	577
AD-63250	A-122745.18	CfsusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	521	A-126633.1	ususgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	578
AD-63212	A-126593.2	csusgguaUfuUfcCfuaggGfuadCaal96	522	A-126611.6	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	579
AD-63210	A-126602.1	csusgguuuuucdCuaggg(Tgn)acaaL96	523	A-122746.21	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	580
AD-63244	A-126621.11	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	524	A-126632.1	usUfsGfuAfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfgsasg	581
AD-63235	A-126588.2	csusgguaAfuuuCfcCfuAfgGfuacaaL96	525	A-126611.2	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	582
AD-63279	A-126621.9	csusGfguaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	526	A-126630.1	usUfsGfuAfcCfuAfggaAfaUfaAfcCagsasg	583
AD-63227	A-126597.1	csusgguaAfuuucCfuagggdTacaal96	527	A-122746.16	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	584
AD-63220	A-126588.1	csusgguaAfuuuCfcCfuAfgGfuacaaL96	528	A-122746.7	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	585
AD-63238	A-126591.1	csusgguaAfuuucCfuaggguacaaL96	529	A-122746.10	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	586
AD-63242	A-126598.2	csusgguaAfuuucCfdTaggguaacaaL96	530	A-126611.11	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	587
AD-63239	A-126599.1	csusgguauuuucCfdTaggguaacaaL96	531	A-122746.18	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	588
AD-63233	A-126598.1	csusgguaAfuuucCfdTaggguaacaaL96	532	A-122746.17	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	589
AD-63268	A-126636.1	CfsusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	533	A-122746.22	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	590
AD-63221	A-126596.1	csusgguaAfuuucCfuaggguadCaal96	534	A-122746.15	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	591
AD-63236	A-126597.2	csusgguaAfuuucCfuagggdTacaal96	535	A-126611.10	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	592
AD-63197	A-126592.1	csusgguauuuucCfuaggguacaaL96	536	A-122746.11	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	593
AD-63224	A-126595.2	csusgguaUfuUfcCfuCuaggGfuacaaL96	537	A-126611.8	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	594

AD-63200	A-126590.2	csusgguaAfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	538	A-126611.4	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	595
AD-63262	A-122745.20	CfsusGfgUfaUfuUfcCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	539	A-126635.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaaaUfaCfcAfgsasg	596
AD-63204	A-126601.1	csusgguauuuucdCuaggguacaaL96	540	A-122746.20	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	597
AD-63230	A-126596.2	csusgguaAfuuucCfuaggguadCaal96	541	A-126611.9	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	598
AD-63198	A-126600.1	csusgguauuuucdCdTaggguaacaaL96	542	A-122746.19	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfgsasg	599
AD-63206	A-126591.2	csusgguaAfuuucCfuaggguacaaL96	543	A-126611.5	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	600

[0792] 표 9. TMRSS6 단일 용량 스크린

	10nM	0.1nM
듀플렉스 명칭	평균	평균
AD-63214	12.40	19.46
AD-63240	12.29	27.03
AD-63209	17.11	23.38
AD-63208	14.77	23.31
AD-63202	14.87	27.08
AD-63216	15.97	34.05
AD-63219	18.47	27.82
AD-63228	19.44	34.52
AD-63205	15.44	38.23
AD-63241	18.81	41.42
AD-63243	19.15	30.87
AD-63203	17.06	42.12
AD-63223	21.98	27.52
AD-63231	22.42	30.68
AD-63199	17.74	39.50
AD-63217	18.81	38.99
AD-63229	22.33	33.42
AD-63255	21.06	34.31
AD-63226	18.36	41.65
AD-63211	26.00	32.07
AD-63273	23.11	34.96
AD-60940	22.99	34.34
AD-63249	30.83	28.35
AD-63256	23.18	35.19
AD-63280	25.10	32.42
AD-63237	23.95	35.43
AD-63285	21.53	39.60
AD-63215	29.27	42.54
AD-63222	23.88	38.24
AD-63232	30.29	35.04
AD-63218	27.02	37.31
AD-63261	24.22	46.61
AD-63267	28.32	38.90
AD-63234	24.42	55.83
AD-63250	26.77	47.92
AD-63212	28.43	46.01
AD-63210	27.91	44.35
AD-63244	30.66	45.65
AD-63235	32.75	51.82
AD-63279	38.00	48.80

[0793]

AD-63227	33.15	58.12
AD-63220	38.31	54.08
AD-63238	45.56	51.50
AD-63242	47.96	54.26
AD-63239	51.98	49.22
AD-63233	51.37	65.83
AD-63268	41.22	82.16
AD-63221	57.02	65.11
AD-63236	49.86	71.66
AD-63197	47.67	78.29
AD-63224	67.73	60.88
AD-63200	62.89	67.68
AD-63262	64.25	79.72
AD-63204	68.01	80.99
AD-63230	66.88	81.04
AD-63198	65.67	78.28
AD-63206	65.10	82.71

[0794]

[0795]

표 10. Tmprss6 변형된 서열

듀플렉스 명칭	센스 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 명칭	안티센스 서열	SEQ ID NO:
AD-63214	A-126586.2	Y44CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	601	A-126587.2	PusUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	658
AD-63240	A-122745.11	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	602	A-126607.1	usUfsguaCfcCfuAfiggaAfaUfaccagsasg	659
AD-63209	A-126594.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfdTacaal.96	603	A-122746.13	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	660
AD-63208	A-122745.6	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	604	A-126587.1	PusUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	661
AD-63202	A-126586.1	Y44CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	605	A-122746.6	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	662
AD-63216	A-122745.7	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	606	A-126603.1	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	663
AD-63219	A-126617.1	gsusUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	607	A-126618.1	PusUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	664
AD-63228	A-122745.9	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	608	A-126605.1	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaccagsasg	665
AD-63205	A-122745.13	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	609	A-126609.1	usUfsgUfaccCfuagggaAfaUfaccAfigsasg	666
AD-63241	A-126589.2	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuacaal.96	610	A-126611.3	usUfsguaCfccUfagggaAfaUfaccagsasg	667
AD-63243	A-126621.3	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfguaAfcfaal.96	611	A-126624.1	usUfsGfuaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	668
AD-63203	A-126593.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuadCaal.96	612	A-122746.12	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	669
AD-63223	A-122745.16	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	613	A-126612.1	usUfsguaCfccuagggaAfaUfaccagsasg	670
AD-63231	A-126621.1	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfguaAfcfaal.96	614	A-126622.1	usUfsGfuaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	671
AD-63199	A-122745.12	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	615	A-126608.1	usUfsgUfaccCfuAfiggaAfaUfaccAfigsasg	672
AD-63217	A-122745.15	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	616	A-126611.1	usUfsguaCfccUfagggaAfaUfaccagsasg	673
AD-63229	A-122745.17	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	617	A-126613.1	usUfsguaCfcCfuagggaAfaUfaccagsasg	674
AD-63255	A-126621.5	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfguaAfcfaal.96	618	A-126626.1	usUfsGfuaAfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	675
AD-63226	A-126589.1	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuacaal.96	619	A-122746.8	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	676
AD-63211	A-122745.14	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	620	A-126610.1	usUfsgUfaccuAfiggaAfaUfaccAfigsasg	677
AD-63273	A-126621.8	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfguaAfcfaal.96	621	A-126629.1	usUfsGfuaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	678
AD-60940	A-122745.1	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	622	A-122746.1	usUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	679
AD-63249	A-126621.4	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfguaAfcfaal.96	623	A-126625.1	usUfsGfuaAfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	680
AD-63256	A-122745.19	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	624	A-126634.1	usUfsgUfaccCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	681
AD-63280	A-126639.1	csusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl.96	625	A-126587.3	PusUfsgUfaCfcCfuAfiggaAfaUfaCfcAfigsasg	682

[0796]

AD-63237	A-126621.2	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	626	A-126623.1	usUfsGfuAfcfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	683
AD-63285	A-126621.10	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	627	A-126631.1	usUfsGfuaCfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfigsasg	684
AD-63215	A-126595.1	csusgguaUfuUfCfCfuCuaggGfuacaaL96	628	A-122746.14	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	685
AD-63222	A-122745.8	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	629	A-126604.1	usUfsguaCfcCfuAfggaAfaUfaccAfigsasg	686
AD-63232	A-126590.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	630	A-122746.9	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	687
AD-63218	A-126594.2	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfdTacaL96	631	A-126611.7	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	688
AD-63261	A-126621.6	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	632	A-126627.1	usUfsGfuAfcfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfigsasg	689
AD-63267	A-126621.7	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	633	A-126628.1	usUfsGfuAfcfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfigsasg	690
AD-63234	A-122745.10	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	634	A-126606.1	usUfsguaCfccuAfggaAfaUfaccAfigsasg	691
AD-63250	A-122745.18	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	635	A-126633.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	692
AD-63212	A-126593.2	csusgguaUfuUfCfCfuaggGfuadCaaL96	636	A-126611.6	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	693
AD-63210	A-126602.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	637	A-122746.21	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	694
AD-63244	A-126621.11	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	638	A-126632.1	usUfsGfuAfcfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfigsasg	695
AD-63235	A-126588.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	639	A-126611.2	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	696
AD-63279	A-126621.9	csusGfguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	640	A-126630.1	usUfsGfuAfcfcCfuAfggaAfaUfaAfcAfigsasg	697
AD-63227	A-126597.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	641	A-122746.16	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	698
AD-63220	A-126588.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	642	A-122746.7	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	699
AD-63238	A-126591.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	643	A-122746.10	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	700
AD-63242	A-126598.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	644	A-126611.11	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	701
AD-63239	A-126599.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	645	A-122746.18	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	702
AD-63233	A-126598.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	646	A-122746.17	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	703
AD-63268	A-126636.1	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	647	A-122746.22	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	704
AD-63221	A-126596.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	648	A-122746.15	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	705
AD-63236	A-126597.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	649	A-126611.10	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	706
AD-63197	A-126592.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	650	A-122746.11	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	707
AD-63224	A-126595.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	651	A-126611.8	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	708
AD-63200	A-126590.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	652	A-126611.4	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	709
AD-63262	A-122745.20	CfsusGfgUfaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaCfaAfl96	653	A-126635.1	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	710

AD-63204	A-126601.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	654	A-122746.20	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	711
AD-63230	A-126596.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	655	A-126611.9	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	712
AD-63198	A-126600.1	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	656	A-122746.19	usUfsgUfaCfcCfuAfggaAfaUfaCfcAfigsasg	713
AD-63206	A-126591.2	csusgguaUfuUfCfCfuAfgGfgUfaAcaL96	657	A-126611.5	usUfsguaCfccUfaggaAfaUfaccagsasg	714

[0799] 표 11. TMPRSS6 단일 용량 스크린

듀플렉스 명칭	10nM		0.1nM	
	평균	표준편차	평균	표준편차
AD-60998	26.1	3.1	42.9	13.3
AD-60970	24.3	9.3	39.0	24.2
AD-61002	27.5	8.5	32.1	9.8
AD-60994	19.9	5.8	28.2	9.3
AD-60992	57.9	15.4	67.5	13.6
AD-61006	25.8	2.5	33.4	8.7
AD-59743	21.1	3.2	31.7	8.1
AD-60966	64.6	15.6	76.0	18.2
AD-60952	44.1	10.7	76.9	16.5
AD-61000	37.2	5.8	43.3	12.7
AD-60949	94.9	22.3	91.3	13.2
AD-60969	100.7	18.5	124.5	43.0
AD-60967	93.7	6.4	112.1	31.5
AD-60984	44.7	21.4	58.2	9.6
AD-60943	65.6	11.0	61.7	9.8
AD-61001	69.2	8.3	100.8	8.4
AD-60986	38.9	13.9	58.9	4.8
AD-60988	61.7	12.0	68.6	15.2
AD-60993	92.1	13.1	86.5	10.0
AD-60987	113.9	15.3	97.9	21.0
AD-60997	54.8	7.2	75.8	16.4
AD-60973	61.5	15.7	80.8	9.3
AD-61005	116.8	23.4	128.1	10.8
AD-60985	71.2	15.1	78.7	14.6
AD-61003	101.0	15.2	97.5	15.8
AD-60989	75.8	9.8	97.2	20.8
AD-60955	108.6	23.4	102.0	16.6
AD-60991	96.6	19.4	95.6	12.4
AD-61004	111.1	6.4	110.9	18.3
AD-60961	96.9	36.0	84.1	28.2
AD-60999	106.7	12.7	92.3	24.6
AD-60990	92.9	38.4	97.6	16.8
AD-60996	71.2	7.5	101.5	8.9

[0800]

[0801] 실시예 13. AD-60940의 최적화

[0802] TMPRSS6을 표적으로 하는 부가적인 듀플렉스를 생성하고, 하기 물질 및 방법을 이용하여 효능에 대해 시험관 내에서 스크리닝하였다.

[0803] 부가적인 siRNA의 설계, 합성 및 시험관 내 스크리닝

[0804] siRNA 설계

[0805] 센스 가닥 및 안티센스 가닥 둘 다에 대한 길이가 19개 뉴클레오타이드인 TMPRSS6 듀플렉스를, 진뱅크 등록 번호 NM_153609.3에 나타난 인간 TMPRSS6 mRNA 서열을 이용하여 설계하였다. 3180개의 듀플렉스는 처음에, 총 3209개의 뉴클레오타이드 전사물을 실질적으로 스패닝(spanning)하는 길이가 7개 뉴클레오타이드보다 긴 반복부를 함유하지 않는 것으로 확인되었다. 이후, 모든 3180개의 듀플렉스를, 각각의 듀플렉스 위치에서 뉴클레오타이드 쌍을 평가하는 선형 모델에 따라 예측된 효능에 대해 점수화하고, 용량 및 세포주를 스크리닝에 사용하였다. 듀플렉스는 또한, 통상적인 브루트 포스 알고리즘을 이용하여 인간 RefSeq 수집에서 모든 전사물들에 대해 매칭되었으며, TMPRSS6 이외의 전사물에 대한 미스매치의 (가닥 당) 최저 횟수에 대해 점수화하였다. 이후, 합성 및 스크리닝되는 듀플렉스를 하기의 도식에 따라 3180개로부터 선별하였다: 전사물의 5' 말단에서 시작하여, 듀플렉스를, 최고 예측 효능을 가지며, TMPRSS6 이외의 모든 전사물들에 대해 2개 가닥 모두에서 적어도 하나의 미스매치를 가지고, 다른 듀플렉스 세트의 부분으로서 합성 및 스크리닝되지 않은 모든 10 ± 2개의 뉴클레오타이드의 "창" 내에서 선별하였다.

[0806] 듀플렉스가 모든 기준들을 충족하는 주어진 창(window) 내에서 확인되지 않는 경우, 해당 창을 스킵(skip)하였다. 303개의 듀플렉스를 상기 기준에 따라 선별하였다.

[0807] 부가적인 31개의 듀플렉스를 또한, 선별하였다.

[0808] 334개의 TMPRSS6 센스 가닥 서열 및 안티센스 가닥 서열의 상세한 목록은 표 12에 나타나 있다.

[0809] 세포 배양 및 형질감염

[0810] Hep3B2.1-7 세포를 아메리칸 타입 컬처 컬렉션(American Type Culture Collection)(록빌, 메릴랜드, 카탈로그 번호 HB-8064)에서 수득하고, 10% 태아 소 혈청(FCS)(Biochrom AG, 베를린, 독일, 카탈로그 번호 S0115) 및 페니실린 100 U/ml, 스트렙토마이신 100 mg/ml(Biochrom AG, 베를린, 독일, 카탈로그 번호 A2213)를 함유하도록 보충된 EMEM (ATCC #30-2003)에서 37°C, 5% CO₂의 분위기에서 보습화된 인큐베이터(Heraeus HERAcCell, Kendro Laboratory Products, 랑겐셀볼트, 독일)에서 배양하였다.

[0811] dsRNA의 형질감염을 96-웰 플레이트에서 웰 당 15,000개 세포를 접종한 후 직접 수행하고, 제조업체에 의해 기술된 바와 같이 리포펙타민 2000(Invitrogen GmbH, 칼스루헤, 독일, 카탈로그 번호 11668-019)을 사용하여 수행하였다. 형질감염을 4벌 수행하였으며, dsRNA를 10 nM의 농도에서 형질감염시켰다.

[0812] 분지형 DNA 분석법 - QunatiGene 2.0(Panomix 카탈로그 번호: QS0011)

[0813] TMPRSS6 mRNA의 측정을 위해, 세포를 형질감염 후 24시간째에 수집하고, TMPRSS6의 경우 Quantigene II Kit의 제조업체 및 bDNA의 경우 Quantigene I Explore Kit(각각 Panomics, 프레몬트, 캘리포니아, 미국, 카탈로그 번호 15735 또는 QG0004)의 제조업체가 권고한 절차에 따라 53°C에서 파쇄하였다. 이후, 50 µl의 파쇄물을 인간 TMPRSS6에 특이적인 탐침세트 및 인간 GAPDH에 대한 파쇄물 10 µl과 함께 인큐베이션하고, QuantiGene에 대한 제조업체의 프로토콜에 따라 처리하였다. 화학발광을 Victor2-Light(Perkin Elmer, 비스바덴, 독일)에서 RLU(상대적인 광 유닛)로서 측정하고, 인간 TMPRSS6 탐침세트로 수득한 값을 각각의 웰에 대한 각각의 인간 GAPDH 값으로 정규화한 다음, 3개의 비처리 대조군 dsRNA의 평균과 관련시켰다.

[0814] 화합물의 시험관 내 효능은 표 13에 나타나 있다.

[0815] 표 12. 부가적인 변형된 TMPRSS6 siRNA

듀플렉스 명칭	센스 서열	SEQ ID NO:	센스 명칭	NM_153609.3에서의 위치	안티센스 서열	SEQ ID NO:	안티센스 명칭
AD-63290.1	UGAGCCAGACCCAGUCCAGdTdT	715	A-126858.1	3-21	CUGGACUGGGUCUGGCAdTdT	1049	A-126859.1
AD-63296.1	GACCCAGUCCAGCUCUGGdTdT	716	A-126860.1	10-28	ACCCAGAGCUGGACUGGGUCdTdT	1050	A-126861.1
AD-63302.1	CUCUGGUGCCUGCCUCUGdTdT	717	A-126862.1	22-40	CAGAGGGCAGGCCACAGAdTdT	1051	A-126863.1
AD-63308.1	GCCUCUGGUGCGAGCUGAdTdT	718	A-126864.1	33-51	UCAGCUCGCACACAGAGGCdTdT	1052	A-126865.1
AD-63314.1	GGUGCGAGCUGACCGAGAdTdT	719	A-126866.1	40-58	UCUCAGGUCAGCUCGCACdTdT	1053	A-126867.1
AD-63320.1	UGACCUAGAGUACUUCCTdTdT	720	A-126868.1	49-67	GGAAGUGCAUCUAGGUCAdTdT	1054	A-126869.1
AD-63326.1	UGCACUCCUCCUGUGdTdT	721	A-126870.1	59-77	CACAGAGGAGGAAGUCAdTdT	1055	A-126871.1
AD-63332.1	CUGUGAGCUGUCUGGCAdTdT	722	A-126872.1	73-91	GUGCCGAGACGUCACAGdTdT	1056	A-126873.1
AD-63291.1	GUCUCGGACCCCAUUGCAdTdT	723	A-126874.1	82-100	UGCAAGUGGUGCCGAGAdTdT	1057	A-126875.1
AD-63297.1	CCACUUGCAGUCACGCCdTdT	724	A-126876.1	92-110	CGGCAGUGACUGCAAGUGdTdT	1058	A-126877.1
AD-63303.1	GUCACUGCCGCCUGAUUdTdT	725	A-126878.1	101-119	AACAUCAGGCGGCAGUACdTdT	1059	A-126879.1
AD-63309.1	GCCUGAUGUUGUUAUUdTdT	726	A-126880.1	110-128	AAGAGUAACAACUAGGCdTdT	1060	A-126881.1
AD-63315.1	UUACUUCACUCCAAAdTdT	727	A-126882.1	121-139	UUUUGGAGUGGAAGUAAdTdT	1061	A-126883.1
AD-63321.1	ACUCCAAAAGGAUCCCGdTdT	728	A-126884.1	131-149	ACGGGCAUCCUUUGGAGdTdT	1062	A-126885.1
AD-63327.1	UGCCCGUGGCGGAGCCCTdTdT	729	A-126886.1	143-161	GGGGCCUCGGCCAGGGCAdTdT	1063	A-126887.1
AD-63333.1	UGCCCGAGGCCCGCAGdTdT	730	A-126888.1	149-167	ACCUGGGGGCCUCGGCAdTdT	1064	A-126889.1
AD-63292.1	CCAGUGGUGGCGGGCAGdTdT	731	A-126890.1	162-180	CUGCCCGCCAGCCAGGdTdT	1065	A-126891.1
AD-63298.1	GCGGGCAGGGGACGAGdTdT	732	A-126892.1	173-191	CCUCCGUCUCCCGUCCCGdTdT	1066	A-126893.1
AD-63304.1	GGACGGAGGUGAUGGCGAdTdT	733	A-126894.1	183-201	CUCGCCAUACCCUCCGdTdT	1067	A-126895.1
AD-63310.1	GUGAUGGCGAGGAAGCGAdTdT	734	A-126896.1	191-209	UCCGUUCCUGGCCAUACdTdT	1068	A-126897.1
AD-63316.1	GAAAGCGAGCGGAGGGAdTdT	735	A-126898.1	202-220	UCCCCCGGCGUCCGUUdTdT	1069	A-126899.1
AD-63322.1	GCCGGAGGGGAUGUUAAGdTdT	736	A-126900.1	210-228	CUUGAACAUCCCCCGGdTdT	1070	A-126901.1

[0816]

AD-63328.1	UGUUAAGGCCUGUGAGGAdTdT	737	A-126902.1	221-239	UCCUCACAGGCCUUGAACAdTdT	1071	A-126903.1
AD-63334.1	CUGUGAGGACUCCAAGAGAdTdT	738	A-126904.1	231-249	UCUCUUGGAGUCCUCACAGdTdT	1072	A-126905.1
AD-63293.1	ACUCCAAGAGAAAAGCCGdTdT	739	A-126906.1	239-257	CGGGCUUUUCUCUUGGAGUdTdT	1073	A-126907.1
AD-63299.1	GCCCGGGGCUACCUCCGdTdT	740	A-126908.1	253-271	GGCGGAGUAGCCCCGGCdTdT	1074	A-126909.1
AD-63305.1	ACCUCGGCUGGUGGCCUdTdT	741	A-126910.1	263-281	AGGGGACCAAGCGGAGGdTdT	1075	A-126911.1
AD-63311.1	GCCUGGUGCCCUUUUGdTdT	742	A-126912.1	269-287	ACAAACAGGGGACCAAGCdTdT	1076	A-126913.1
AD-63317.1	UGUUUGUGUGUGGCCUdTdT	743	A-126914.1	281-299	AGGGCCAGCAGCACAAACdTdT	1077	A-126915.1
AD-63323.1	UGCUGGCCUGCUGGUCdTdT	744	A-126916.1	290-308	AGCACGAGCAGGGCCAGCAdTdT	1078	A-126917.1
AD-63329.1	GCUCUGUGUGGUUGGCGdTdT	745	A-126918.1	300-318	CGCCGAAGCCAGCAGAGdTdT	1079	A-126919.1
AD-63335.1	UCGCGGGGGUGCUACUCdTdT	746	A-126920.1	313-331	AGAGUAGCACCCTCCGCCAdTdT	1080	A-126921.1
AD-63294.1	CGCGGGGGUGCUACUCdTdT	747	A-126922.1	314-332	CAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1081	A-126923.1
AD-63300.1	GGCGGGGGUGCUACUCdTdT	748	A-126924.1	315-333	CCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1082	A-126925.1
AD-63306.1	GCGGGGGUGCUACUCdTdT	749	A-126926.1	316-334	ACCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1083	A-126927.1
AD-63312.1	CGGGGGUGCUACUCGUAdTdT	750	A-126928.1	317-335	UACCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1084	A-126929.1
AD-63318.1	GGGGUGCUACUCUGGUAUdTdT	751	A-126930.1	318-336	AUACCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1085	A-126931.1
AD-63324.1	GGGUGCUACUCUGGUAUUdTdT	752	A-126932.1	320-338	AAAUACCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1086	A-126933.1
AD-63330.1	GGUGCUACUCUGGUAUUdTdT	753	A-126934.1	321-339	GAAAUACCAGAGUAGCACCCTCCGCCdTdT	1087	A-126935.1
AD-63336.1	GUGCUACUCUGGUAUUCCdTdT	754	A-126936.1	322-340	GGAAUACCAGAGUAGCACCdTdT	1088	A-126937.1
AD-63295.1	GUACUCUGGUAUUUCCAdTdT	755	A-126938.1	324-342	UAGGAAUACCAGAGUAGCdTdT	1089	A-126939.1
AD-63301.1	CUACUCUGGUAUUUCCAdTdT	756	A-126940.1	325-343	CUAGGAAUACCAGAGUAGdTdT	1090	A-126941.1
AD-63307.1	UACUCUGGUAUUUCCAGGdTdT	757	A-126942.1	326-344	CCUAGGAAUACCAGAGUAdTdT	1091	A-126943.1
AD-63313.1	ACUCUGGUAUUUCCAGGdTdT	758	A-126944.1	327-345	CCCUAGGAAUACCAGAGUdTdT	1092	A-126945.1
AD-63319.1	CUCUGGUAUUUCCUAGGdTdT	759	A-126946.1	328-346	ACCCUAGGAAUACCAGAGdTdT	1093	A-126947.1
AD-63325.1	CUGGUAUUUCCUAGGGUAdTdT	760	A-126948.1	330-348	GUACCCUAGGAAUACCAGdTdT	1094	A-126949.1
AD-63331.1	GUAAUUCUAGGGUACAAGdTdT	761	A-126950.1	333-351	CUUGUACCCUAGGAAUACdTdT	1095	A-126951.1
AD-63337.1	UAUUUCCUAGGGUACAAGdTdT	762	A-126952.1	334-352	CCUUGUACCCUAGGAAUAdTdT	1096	A-126953.1
AD-63343.1	AUUUCCUAGGGUACAAGGdTdT	763	A-126954.1	335-353	GCCUUGUACCCUAGGAAUdTdT	1097	A-126955.1
AD-63349.1	UUUCCUAGGGUACAAGGdTdT	764	A-126956.1	336-354	CGCCUUGUACCCUAGGAAdTdT	1098	A-126957.1

AD-63355.1	UUCCUAGGGUACAAGGCGdTdT	765	A-126958.1	337-355	CCGCCUUGUACCCUAGGAdTdT	1099	A-126959.1
AD-63361.1	CCUAGGGUACAAGGCGAGdTdT	766	A-126960.1	339-357	CUCCGCCUUGUACCCUAGGdTdT	1100	A-126961.1
AD-63367.1	CUAGGGUACAAGGCGAGdTdT	767	A-126962.1	340-358	CCUCCGCCUUGUACCCUAGdTdT	1101	A-126963.1
AD-63373.1	UAGGGUACAAGGCGAGGdTdT	768	A-126964.1	341-359	ACCUCGCCUUGUACCCUAdTdT	1102	A-126965.1
AD-63379.1	AGGGUACAAGGCGAGGdTdT	769	A-126966.1	342-360	CACCUCGCCUUGUACCCUdTdT	1103	A-126967.1
AD-63338.1	GGGUACAAGGCGAGGUGAdTdT	770	A-126968.1	343-361	UCACCUCGCCUUGUACCCdTdT	1104	A-126969.1
AD-63344.1	GGUACAAGGCGAGGUGAdTdT	771	A-126970.1	344-362	AUCACCUCGCCUUGUACCCdTdT	1105	A-126971.1
AD-63350.1	GUACAAGGCGAGGUGAdTdT	772	A-126972.1	345-363	CAUACCCUCGCCUUGUACdTdT	1106	A-126973.1
AD-63356.1	UACAAGGCGAGGUGAGdTdT	773	A-126974.1	346-364	CCAUACCCUCGCCUUGUAdTdT	1107	A-126975.1
AD-63362.1	ACAAGGCGAGGUGAGdTdT	774	A-126976.1	347-365	ACCAUACCCUCGCCUUGdTdT	1108	A-126977.1
AD-63368.1	CAAGGCGAGGUGAGGUCdTdT	775	A-126978.1	348-366	GACCAUACCCUCGCCUUGdTdT	1109	A-126979.1
AD-63374.1	AAGGCGAGGUGAGGUCAdTdT	776	A-126980.1	349-367	UGACCAUACCCUCGCCUdTdT	1110	A-126981.1
AD-63380.1	AGGCGAGGUGAGGUCAdTdT	777	A-126982.1	350-368	CUGACCAUACCCUCGCCUdTdT	1111	A-126983.1
AD-63339.1	UGAGGUGACGACAGGUGAdTdT	778	A-126984.1	359-377	UACACCGGUGACCAUCAdTdT	1112	A-126985.1
AD-63345.1	CCAGGUGUACUCAGGAGUdTdT	779	A-126986.1	369-387	ACUGCCUGAGUACACCUGdTdT	1113	A-126987.1
AD-63351.1	GCAGUCUGGUGUACUAdTdT	780	A-126988.1	383-401	UUGAGUACACGACAGUCdTdT	1114	A-126989.1
AD-63357.1	GCGUGUACUAAUCGCACdTdT	781	A-126990.1	390-408	GUGGCGAUUGAGUACACGdTdT	1115	A-126991.1
AD-63363.1	UCGCCACUUCUCCAGGAdTdT	782	A-126992.1	402-420	AUCCUGGAGAGUGGCGAdTdT	1116	A-126993.1
AD-63369.1	CUCCAGGAUCUACCCGdTdT	783	A-126994.1	411-429	GCGGGUAAGAUCCUGGGAdTdT	1117	A-126995.1
AD-63375.1	UACCCGCCGGAUUCUAGdTdT	784	A-126996.1	423-441	ACUAGAUUCCGGCGGUAdTdT	1118	A-126997.1
AD-63381.1	CCGGGAUUCUAGUCCUUCdTdT	785	A-126998.1	429-447	GAAGGCACUAGAUUCCGGdTdT	1119	A-126999.1
AD-63340.1	AGUGCCUUCGAGUGAAAdTdT	786	A-127000.1	439-457	UUUACUCGCGGAAGGCACUdTdT	1120	A-127001.1
AD-63346.1	GUGAAACGCCAAAGCCAdTdT	787	A-127002.1	452-470	UGGGCUUUGGCGUUAUCAdTdT	1121	A-127003.1
AD-63352.1	CGCCAAAGCCGAAGAUdTdT	788	A-127004.1	459-477	CAUCUUCUGGCUUUGGCGdTdT	1122	A-127005.1
AD-63358.1	CAGAAGUAGCUAAGGAGCAdTdT	789	A-127006.1	469-487	GCUCUUGAGCAUUCUGdTdT	1123	A-127007.1
AD-63364.1	UCAAGGAGCUCAUACCAAdTdT	790	A-127008.1	479-497	CUGGUGAGGAGCUUCUAdTdT	1124	A-127009.1
AD-63370.1	ACCAGCACCCGCCUGGGAAdTdT	791	A-127010.1	493-511	UUCCAGGCGGGUGUGGdTdT	1125	A-127011.1
AD-63376.1	GCCUGGAAUCUACUAAAdTdT	792	A-127012.1	503-521	UUGUAGUAAGUUCACAGCAdTdT	1126	A-127013.1

AD-63382.1	GAACUUAACUACAUCCAGdTdT	793	A-127014.1	509-527	CUGGAGUUGUAGUAAGUUCdTdT	1127	A-127015.1
AD-63341.1	AACUCCAGCUCGUCUUAUdTdT	794	A-127016.1	520-538	AAUAGACGGAGCUGGAGUdTdT	1128	A-127017.1
AD-63347.1	CCGUCUUAUCCUUGGGAdTdT	795	A-127018.1	530-548	UCCCCAAAGGAAUAGACGGdTdT	1129	A-127019.1
AD-63353.1	UUGGGGAGGACCCUACdTdT	796	A-127020.1	542-560	GUGAGGGGUCCUCCCCAdTdT	1130	A-127021.1
AD-63359.1	CCCCUACCCUGUUUCUdTdT	797	A-127022.1	553-571	AGAAGAAGCAGGUGAGGGdTdT	1131	A-127023.1
AD-63365.1	CUGCUUCUUGGUUUAUdTdT	798	A-127024.1	561-579	AAUGAACCAAGAAGCAGdTdT	1132	A-127025.1
AD-63371.1	CUGGUUUAUUCCAAUCdTdT	799	A-127026.1	570-588	GAUUUGGAGAAUGAACCAgdTdT	1133	A-127027.1
AD-63377.1	UCUCCAAAUCCCCAGCAdTdT	800	A-127028.1	579-597	GUGCUCGGGGAUUUGGAGAdTdT	1134	A-127029.1
AD-63383.1	CCGAGCACCGCCGUGAUdTdT	801	A-127030.1	590-608	AUCAGCCGCGGUGCUCGGdTdT	1135	A-127031.1
AD-63342.1	GGCUGAUGCUGAGCCCAgdTdT	802	A-127032.1	602-620	UCGGGGCUCAGCAUCAGCCdTdT	1136	A-127033.1
AD-63348.1	UGAGCCCCGAGGUGUGCAdTdT	803	A-127034.1	611-629	UGCACCACCUCCGGGCUAdTdT	1137	A-127035.1
AD-63354.1	UGGUGCAGGCACUGGUGdTdT	804	A-127036.1	623-641	ACCAGCAGUGCCUGCACCAdTdT	1138	A-127037.1
AD-63360.1	AGGCACUGCUGGAGGAdTdT	805	A-127038.1	629-647	UCCUCCACCAAGAGUCCUdTdT	1139	A-127039.1
AD-63366.1	GUGGAGGAGCUGCUGCCAdTdT	806	A-127040.1	640-658	UGGACAGCAGCUCUCCAdTdT	1140	A-127041.1
AD-63372.1	UGUCCACAGUCAACAGCUCdTdT	807	A-127042.1	653-671	GAGCUGUUGACUGUGGACAdTdT	1141	A-127043.1
AD-63378.1	UCAACAGCUCGCGUGCCUdTdT	808	A-127044.1	662-680	ACGGCAGCCGAGCUGUAdTdT	1142	A-127045.1
AD-63384.1	UCGGCUGCCGUCCCCUAdTdT	809	A-127046.1	670-688	UGUAGGGGACGGCAGCCAdTdT	1143	A-127047.1
AD-63390.1	AGUGGACCCGAGGGCUAdTdT	810	A-127048.1	702-720	UAGGCCUCGGGUCCACUdTdT	1144	A-127049.1
AD-63396.1	AGGGCCUAGUGAUCCUGGAdTdT	811	A-127050.1	713-731	UCCAGGAUACUAGGCCUdTdT	1145	A-127051.1
AD-63402.1	UAGUGAUCCUGGAAGCCAdTdT	812	A-127052.1	719-737	CUGGCUUCCAGGAUCUAdTdT	1146	A-127053.1
AD-63408.1	AAGCCAGUGUGAAGACAUdTdT	813	A-127054.1	731-749	AUGUCUUUACACUUGCCUdTdT	1147	A-127055.1
AD-63414.1	UGAAAGACAUAGCUGCAUdTdT	814	A-127056.1	740-758	AAUGCAGCUAUGUCUUAdTdT	1148	A-127057.1
AD-63420.1	UGCAUUGAAUCCACGCUdTdT	815	A-127058.1	753-771	CAGCGUGGAUUCAUUGCAdTdT	1149	A-127059.1
AD-63426.1	CUACAGCUACGUGGGCAdTdT	816	A-127060.1	783-801	CUGGCCACGUGAGCUAGdTdT	1150	A-127061.1
AD-63385.1	CUACGUGGGCAGGGCAdTdT	817	A-127062.1	789-807	CUGGCCUCGGCCACGUAdTdT	1151	A-127063.1
AD-63391.1	AGGGCCAGUCCUCCGCUdTdT	818	A-127064.1	800-818	AGCCGAGGAGCUGGCCUdTdT	1152	A-127065.1
AD-63397.1	CCGGCUGAAGGGGCGUGAdTdT	819	A-127066.1	813-831	GUCAGGCCCCUUCAGCCGdTdT	1153	A-127067.1
AD-63403.1	GGGCCUGACCACCUGGCCUdTdT	820	A-127068.1	823-841	AGGCCAGGUGGUCAGGCCdTdT	1154	A-127069.1

[0819]

AD-63409.1	CCACCUGGCCUCCAGCUGdTdT	821	A-127070.1	831-849	GCAGCUGGAGGCCAGGUGdTdT	1155	A-127071.1
AD-63415.1	CCAGCUGCCUGGACCUdTdT	822	A-127072.1	842-860	AGGUGCCACAGGCAGCUGdTdT	1156	A-127073.1
AD-63421.1	CUGUGGCACCGCAGGGCAdTdT	823	A-127074.1	850-868	GGCCUCGACAGGUGCCACAGdTdT	1157	A-127075.1
AD-63427.1	CUGCAGGGCCCCAAGACdTdT	824	A-127076.1	859-877	GGUCCUUGGGGCCUAGCAdTdT	1158	A-127077.1
AD-63386.1	CCAAGGACCUCAUGCUAdTdT	825	A-127078.1	869-887	UUGAGCAUGAGGUCCUUGdTdT	1159	A-127079.1
AD-63392.1	UGUCUCAAUCCGCGUUGAdTdT	826	A-127080.1	881-899	UCCAGCCGAGUUUAGCAdTdT	1160	A-127081.1
AD-63398.1	CCGGCUGGAGUGGACGCUdTdT	827	A-127082.1	891-909	CAGCGUCCAUCCAGCCGdTdT	1161	A-127083.1
AD-63404.1	GACGCUGGCAGAGUGCCGdTdT	828	A-127084.1	903-921	CCGGCAGCUCUCCAGGCUdTdT	1162	A-127085.1
AD-63410.1	GGCAGAGUGCCGGGACGAdTdT	829	A-127086.1	909-927	UCGGUCCCGGCACUCUCCdTdT	1163	A-127087.1
AD-63416.1	ACCGACUGGCCAUGUAUAdTdT	830	A-127088.1	923-941	UCAUACAUGGCCAGUCGUdTdT	1164	A-127089.1
AD-63422.1	CCAUUAUGACGUGGCCGdTdT	831	A-127090.1	932-950	CCGGCCAGCUCAUAGGdTdT	1165	A-127091.1
AD-63428.1	GUGGCCGGGCCUUGAGAdTdT	832	A-127092.1	943-961	UCUCCAGGGGCCCGCCAdTdT	1166	A-127093.1
AD-63387.1	CCCUUGGAGAAGAGCUCAdTdT	833	A-127094.1	953-971	AUGAGCCUCUUCUCCAGGdTdT	1167	A-127095.1
AD-63393.1	AGAAGAGGCUCAUACCUdTdT	834	A-127096.1	959-977	GAGGUUAUGAGCCUUCUdTdT	1168	A-127097.1
AD-63399.1	ACCUCGGUGUACGGCUGAdTdT	835	A-127098.1	973-991	UGCAGCCGUACACGAGGUdTdT	1169	A-127099.1
AD-63405.1	ACGGCUGCAGCCGCCAGGAdTdT	836	A-127100.1	983-1001	UCCUGGCGGUGCAGCCGUdTdT	1170	A-127101.1
AD-63411.1	GCCGCGAGGAGCCGUGGdTdT	837	A-127102.1	992-1010	ACCACGGGCUCCUGCGGdTdT	1171	A-127103.1
AD-63417.1	AGCCCGUGUGGAGGUUCUdTdT	838	A-127104.1	1001-1019	AGAACCUCCACACGGGCUdTdT	1172	A-127105.1
AD-63423.1	GUGGAGGUUCUGGCGUCdTdT	839	A-127106.1	1009-1027	CCGACGCCAGAACCUCAdTdT	1173	A-127107.1
AD-63429.1	UGGCGUGGGGGCCAUAUdTdT	840	A-127108.1	1019-1037	AUGAUGGCCCCGACGCCAdTdT	1174	A-127109.1
AD-63388.1	CCAUCAUGGCGGUGCUGdTdT	841	A-127110.1	1031-1049	CAGACGACCGCCAUGAGGdTdT	1175	A-127111.1
AD-63394.1	GCGGUCGUCUGGAAGAAGdTdT	842	A-127112.1	1039-1057	CCUUCUCCAGACGACCGCAdTdT	1176	A-127113.1
AD-63400.1	GGAAGAAGGGCCUGCACAdTdT	843	A-127114.1	1049-1067	CUGUGCAGGCCCUUCUCCdTdT	1177	A-127115.1
AD-63406.1	CCUGCACAGCUACGACdTdT	844	A-127116.1	1059-1077	GUCGUAGUAGCUGUGCAGGdTdT	1178	A-127117.1
AD-63412.1	ACUACGACCCUUCGUCUdTdT	845	A-127118.1	1070-1088	AGCACGAAGGGGUCGUAdTdT	1179	A-127119.1
AD-63418.1	CCUUCGUGCUCUCCUGCAdTdT	846	A-127120.1	1079-1097	UGCACGGAGAGCACGAAGdTdT	1180	A-127121.1
AD-63424.1	CCGUGACGCGGUGGUCUdTdT	847	A-127122.1	1091-1109	AAGACCACCGGUCGACGGdTdT	1181	A-127123.1
AD-63430.1	CGGUGGUCUCCAGGCCUdTdT	848	A-127124.1	1100-1118	CAGGCCUGGAAGACCACGdTdT	1182	A-127125.1

[0820]

AD-63389.1	AGGCCUGUGAAGUGAACCUdTdT	849	A-127126.1	1112-1130	AGGUUCACUUCACAGGCCUdTdT	1183	A-127127.1
AD-63395.1	AAGUGAACCCUGACGCGGAdTdT	850	A-127128.1	1121-1139	UCCAGCGCAGGUUCACUdTdT	1184	A-127129.1
AD-63401.1	GACGUGGACACACGCGCdTdT	851	A-127130.1	1131-1149	GAGCCGUUGUCCAGCGUCdTdT	1185	A-127131.1
AD-63407.1	ACAACAGGCUAGACUCCAdTdT	852	A-127132.1	1139-1157	UGGGAGUCGAGCCUUGUdTdT	1186	A-127133.1
AD-63413.1	ACUCCAGGGGCGUCCUAGdTdT	853	A-127134.1	1151-1169	CUGAGGACGCCUGGGAGUdTdT	1187	A-127135.1
AD-63419.1	CCCCUACUCCCCAGCUdTdT	854	A-127136.1	1172-1190	UAGCUGGGGAAGUACGGGdTdT	1188	A-127137.1
AD-63425.1	UUCCCCAGCUACUACGCGdTdT	855	A-127138.1	1180-1198	GCGAGUAGUAGCUGGGAAdTdT	1189	A-127139.1
AD-63431.1	ACUACUGGCCCAACCCAdTdT	856	A-127140.1	1190-1208	UGGGUUUGGGGCGAGUAGdTdT	1190	A-127141.1
AD-63437.1	CCCAAAACCCACUGCUCCUdTdT	857	A-127142.1	1199-1217	CAGGAGCAGUUGGUUUGGGdTdT	1191	A-127143.1
AD-63443.1	GCUCUGGCAACUACCGUdTdT	858	A-127144.1	1211-1229	ACCGUAGGUGCCAGGAGCdTdT	1192	A-127145.1
AD-63449.1	ACCUCACGGUGCCCUUCUdTdT	859	A-127146.1	1220-1238	AGAGAGGGCACCGUGAGGUdTdT	1193	A-127147.1
AD-63455.1	CUCUCUGGACUACGGCUdTdT	860	A-127148.1	1233-1251	CAAGCCGUAGUCCAGAGAdTdT	1194	A-127149.1
AD-63461.1	GACUACGGCUUGGCCUdTdT	861	A-127150.1	1240-1258	AGAGGGCCAAGCCUAGUCdTdT	1195	A-127151.1
AD-63467.1	CCCUUGGUUUUGAGCCUdTdT	862	A-127152.1	1253-1271	UAGGCAUCAAACAGAGGGdTdT	1196	A-127153.1
AD-63473.1	GUUUGAGCCUAGUACUGdTdT	863	A-127154.1	1260-1278	CAGUGCAUAGGCAUAAAdTdT	1197	A-127155.1
AD-63432.1	GCAUCUGAGGAGCAAGAdTdT	864	A-127156.1	1273-1291	ACUUCUGCCUCCUAGUGCdTdT	1198	A-127157.1
AD-63438.1	GGAGGCAAGAUAUGAUUdTdT	865	A-127158.1	1280-1298	AAAUCAUACUUCUGCCUCCdTdT	1199	A-127159.1
AD-63444.1	AUGAUUUGCCGUGACCCAdTdT	866	A-127160.1	1292-1310	UGGGUGCACGGCAAUAUdTdT	1200	A-127161.1
AD-63450.1	UGCACCCAGGGCCAGUGAdTdT	867	A-127162.1	1303-1321	UCCACUGGCCUGGGUGCdTdT	1201	A-127163.1
AD-63456.1	GCCAGUGGACGUAUCCAGAdTdT	868	A-127164.1	1313-1331	UUCUGGAUGUCCACUGGCdTdT	1202	A-127165.1
AD-63462.1	GGACGAUCCAGACAGGAdTdT	869	A-127166.1	1319-1337	CUCCUUGUUCUGGACUGCCdTdT	1203	A-127167.1
AD-63468.1	ACAGGAGGCGUGUGGCUdTdT	870	A-127168.1	1331-1349	AAGCCACACAGCCUCCUGdTdT	1204	A-127169.1
AD-63474.1	CUGUGUGGCUUGCGCAUCCdTdT	871	A-127170.1	1339-1357	GGAGGCGCAAGCCACAGdTdT	1205	A-127171.1
AD-63433.1	UGCGCAUCCUGGACGCCUdTdT	872	A-127172.1	1349-1367	UAGGGCUGCAGGAUGCGCdTdT	1206	A-127173.1
AD-63439.1	AGCCCUACGCCGAGGAGUdTdT	873	A-127174.1	1361-1379	AUCCUCUGGCGUAGGGCUdTdT	1207	A-127175.1
AD-63445.1	CCGAGAGGAUCCCGUGUdTdT	874	A-127176.1	1370-1388	ACCACGGGGAUCCUUCGGdTdT	1208	A-127177.1
AD-63451.1	CCGUGGUGGCCACGGCCGdTdT	875	A-127178.1	1382-1400	CCGGCCGUGGCCACCGGdTdT	1209	A-127179.1
AD-63457.1	CCACGGCCGGGAUACCAUdTdT	876	A-127180.1	1391-1409	AUGGUGAUCCGGCCGUGdTdT	1210	A-127181.1

[0821]

AD-63463.1	GGAUACCAUAACUUCAdTdT	877	A-127182.1	1400-1418	GUGAAGUUGAUGGUAUCCdTdT	1211	A-127183.1
AD-63469.1	UCAAUUCACCUCCAGAUdTdT	878	A-127184.1	1409-1427	AUCUGGGAGGUGAAGUUGAdTdT	1212	A-127185.1
AD-63475.1	CCCAUGAUCUCCUACCCGdTdT	879	A-127186.1	1421-1439	CCGGUGAGGGAGAUUGGGdTdT	1213	A-127187.1
AD-63434.1	CCCUACCCGGCCCGGUGdTdT	880	A-127188.1	1430-1448	ACACCCGGCCCGGUGAGGGdTdT	1214	A-127189.1
AD-63440.1	CCCGGUGUGCGGCGACUdTdT	881	A-127190.1	1441-1459	AGUGCACCCGCACACGGGdTdT	1215	A-127191.1
AD-63446.1	GCUUGUAACAACAGUCGAdTdT	882	A-127192.1	1463-1481	UCCGACUGGUUGUACAAGCdTdT	1216	A-127193.1
AD-63452.1	ACAACAGUCGAGCCCUdTdT	883	A-127194.1	1469-1487	CAGGGGUCCGACUGGUUGdTdT	1217	A-127195.1
AD-63458.1	ACCCUGGCCUGGAGAGUdTdT	884	A-127196.1	1481-1499	AACUCUCCAGGGCAGGGUdTdT	1218	A-127197.1
AD-63464.1	CCUGAGAGAUUCCUCUGUdTdT	885	A-127198.1	1489-1507	AACAGAGGAACUCCAGGdTdT	1219	A-127199.1
AD-63470.1	UCUGUUCUGUGAUGGACUdTdT	886	A-127200.1	1502-1520	AGUCCAUAUCAGAAACAGdTdT	1220	A-127201.1
AD-63476.1	GAAUGGACUCUGUGUCCUdTdT	887	A-127202.1	1512-1530	AGGGACACAGAGUCCAUCdTdT	1221	A-127203.1
AD-63435.1	CUGUGUCCUGCCUGUGAUdTdT	888	A-127204.1	1521-1539	AUCACAGGCAGGGACAGdTdT	1222	A-127205.1
AD-63441.1	CUGCCUGUGAUGGGGUCAAdTdT	889	A-127206.1	1529-1547	UUGACCCCAUCACAGGCAdTdT	1223	A-127207.1
AD-63447.1	GGUCAAGGACUGCCCAACdTdT	890	A-127208.1	1542-1560	GUUGGGGACUGUCCUAGCCdTdT	1224	A-127209.1
AD-63453.1	UGCCCCAACGGCCUGGAUGdTdT	891	A-127210.1	1552-1570	CAUCCAGGCGGUUGGGCdTdT	1225	A-127211.1
AD-63459.1	CGGCCUGGAUGAGAAACdTdT	892	A-127212.1	1560-1578	GUUUCUUCUAUCCAGGCCdTdT	1226	A-127213.1
AD-63465.1	GAGAGAAACUGCGUUUGAdTdT	893	A-127214.1	1570-1588	UGCAAACGCAGUUUCUCdTdT	1227	A-127215.1
AD-63471.1	UUUGCAGAGCCAUUCCAdTdT	894	A-127216.1	1583-1601	UGGAUUGUGGCUUGCAAAdTdT	1228	A-127217.1
AD-63477.1	GCCACAUUCCAGUGCAAGdTdT	895	A-127218.1	1591-1609	CUUUGCACUGGAUUGGCGdTdT	1229	A-127219.1
AD-63436.1	GUGCAAAGAGGACAGCAdTdT	896	A-127220.1	1602-1620	UGUGCUGUCCUUCUUGCAdTdT	1230	A-127221.1
AD-63442.1	GAGGACAGCACAUCAUCdTdT	897	A-127222.1	1609-1627	AGAUGCAUGUGCUGUCCUdTdT	1231	A-127223.1
AD-63448.1	GCAUUCACUGCCCAAGGUdTdT	898	A-127224.1	1622-1640	ACCUUGGGCAGUGAGUdCdTdT	1232	A-127225.1
AD-63454.1	GCCCAAGGUCUGUGAUGGGdTdT	899	A-127226.1	1632-1650	CCCAUCACAGACCUUGGGCdTdT	1233	A-127227.1
AD-63460.1	UGUGAUGGGCAGCCUGAUdTdT	900	A-127228.1	1642-1660	AAUCAGGCUGCCAUACAdTdT	1234	A-127229.1
AD-63466.1	GCAGCCUGAUUGUCUACAdTdT	901	A-127230.1	1650-1668	GUUGAGACAAUCAGGCGCdTdT	1235	A-127231.1
AD-63472.1	GUCUCAACGCGACGACAdTdT	902	A-127232.1	1661-1679	UCGUCGUGCCGUUGAGACdTdT	1236	A-127233.1
AD-63478.1	GCGACGAGAGCAGUGCCAdTdT	903	A-127234.1	1673-1691	UGGCACUGCUCUUCGUCdTdT	1237	A-127235.1
AD-63484.1	AGCAGUGCCAGGAAGGGUdTdT	904	A-127236.1	1682-1700	ACCCUUCUGGCACUGCUdTdT	1238	A-127237.1

[0822]

AD-63490.1	GAAGGGGUGCCAUGUGGAdTdT	905	A-127238.1	1693-1711	UCCCAUAUGGCACCCCUdTdT	1239	A-127239.1
AD-63496.1	CCAUGUGGGACAUUACCUdTdT	906	A-127240.1	1702-1720	AGGUGAAUGUCCCAUUGdTdT	1240	A-127241.1
AD-63502.1	CAUUCACCUUCCAGUGUGAdTdT	907	A-127242.1	1712-1730	UCACACUUGAAGUGAAUGdTdT	1241	A-127243.1
AD-63508.1	CAGUGUGAGGACCGGAGCUdTdT	908	A-127244.1	1723-1741	AGCUCGGGUCCUACACUGdTdT	1242	A-127245.1
AD-63514.1	GACCGGAGCUGCGUGAAGAdTdT	909	A-127246.1	1732-1750	UCUUCACGCAGCUCGGUCdTdT	1243	A-127247.1
AD-63520.1	CUGCGUGAAGAAGCCCAAdTdT	910	A-127248.1	1740-1758	GUUGGGCUUCUUCACGAdTdT	1244	A-127249.1
AD-63479.1	AGCCCAACCGCAGUGUGAdTdT	911	A-127250.1	1751-1769	UCACACUCGGGUUGGGCUdTdT	1245	A-127251.1
AD-63485.1	CAGUGUGAUGGGCGGCCGdTdT	912	A-127252.1	1762-1780	CGGGCCGCCAUACACUGdTdT	1246	A-127253.1
AD-63491.1	GCGGCGGACUGCAGGACdTdT	913	A-127254.1	1773-1791	GUCCCUGCAGUCGGGCCdTdT	1247	A-127255.1
AD-63497.1	CUGCAGGGACGCGUCGAdTdT	914	A-127256.1	1782-1800	AUCCGAGCGUCCUGCAGdTdT	1248	A-127257.1
AD-63503.1	ACGGCUCGGAUGAGGAGCAdTdT	915	A-127258.1	1790-1808	UGCUCUUAUCCGAGCCGdTdT	1249	A-127259.1
AD-63509.1	UGAGGAGCACUGACUGAdTdT	916	A-127260.1	1800-1818	ACAGUCACAGUGCUCCAdTdT	1250	A-127261.1
AD-63515.1	CUGGACUGUGGCCUCCAGdTdT	917	A-127262.1	1809-1827	CUGGAGGCCACAGUCACAdTdT	1251	A-127263.1
AD-63521.1	GCCUCCAGGGCCCUCCAGdTdT	918	A-127264.1	1820-1838	CUGGAGGGCCCUGGAGGdTdT	1252	A-127265.1
AD-63480.1	CCCUCCAGCCGCAUUGUdTdT	919	A-127266.1	1830-1848	AACAUAUGCGCUGGAGGGdTdT	1253	A-127267.1
AD-63486.1	CCGCAUUGUUGUGGAGCUdTdT	920	A-127268.1	1839-1857	AGCUCCACCAACAUGCGGdTdT	1254	A-127269.1
AD-63492.1	GUGGAGCUGUCCUCCGAdTdT	921	A-127270.1	1850-1868	UCGGAGGACACAGCUCCAdTdT	1255	A-127271.1
AD-63498.1	CUCGAGGGUGAGUGGCAAdTdT	922	A-127272.1	1863-1881	UGGCCACUACCCUGCAGdTdT	1256	A-127273.1
AD-63504.1	GGGUGAGUGGCAUUGCAGdTdT	923	A-127274.1	1869-1887	CUGCAUUGGCCACUACCCdTdT	1257	A-127275.1
AD-63510.1	AUGGAGGCCAGCCUCCAGdTdT	924	A-127276.1	1881-1899	CUGGAGCGUGCCUGCCAdTdT	1258	A-127277.1
AD-63516.1	CCUCCAGGUUCGGGUGCAdTdT	925	A-127278.1	1893-1911	UCGACCCGAACCCUGAGGdTdT	1259	A-127279.1
AD-63522.1	GGUUCGGGUGACACAUdTdT	926	A-127280.1	1899-1917	GAUGUGUGACCCCGAACdTdT	1260	A-127281.1
AD-63481.1	ACAUCUGUGGGGGGCCUdTdT	927	A-127282.1	1913-1931	AGGGCCCCCACAGAUUGdTdT	1261	A-127283.1
AD-63487.1	GUGGGGGGGCCUCAUCGdTdT	928	A-127284.1	1919-1937	GCGAUGAGGGCCCCCACdTdT	1262	A-127285.1
AD-63493.1	AUCGUGACCGCUGGGUGAdTdT	929	A-127286.1	1933-1951	UCACCCAGCGGUCAGCGAdTdT	1263	A-127287.1
AD-63499.1	ACCGCUGGGUGAUAACGAdTdT	930	A-127288.1	1940-1958	GCUUUUAUACCCAGCGGUdTdT	1264	A-127289.1
AD-63505.1	UGAUAACAGCUGCCCAUGdTdT	931	A-127290.1	1949-1967	CAGUGGGCAGCUGUUAUCAdTdT	1265	A-127291.1
AD-63511.1	CCCACUGCUCCAGGAGGAdTdT	932	A-127292.1	1961-1979	UCCUCCUGAAGCAGUGGdTdT	1266	A-127293.1

[0823]

AD-63517.1	CCAGGAGGACAGCAUGGCCdTdT	933	A-127294.1	1971-1989	GGCCAUGCUGUCCUCCUGdTdT	1267	A-127295.1
AD-63523.1	ACAGCAUGGGCCUACCGUdTdT	934	A-127296.1	1979-1997	ACCGUGGAGGCCAUGCUdTdT	1268	A-127297.1
AD-63482.1	CCACGGUGCUGUGGACCGUdTdT	935	A-127298.1	1991-2009	ACGGUCCACAGCAGCGUGdTdT	1269	A-127299.1
AD-63488.1	GGACCGUGUUCUGGGCAAdTdT	936	A-127300.1	2003-2021	UUGCCCAAGGAACAGGUCdTdT	1270	A-127301.1
AD-63494.1	UCCUGGGCAAGGUGGCGAdTdT	937	A-127302.1	2012-2030	UGCCACACCUUGCCAGGAdTdT	1271	A-127303.1
AD-63500.1	GUGUGGCAGAACUCGCGUdTdT	938	A-127304.1	2023-2041	AGCGCGAGUUCUGCCACdTdT	1272	A-127305.1
AD-63506.1	GAACUCGCGCUGGCCUGAdTdT	939	A-127306.1	2031-2049	UCCAGGCCAGCGCAGUUCdTdT	1273	A-127307.1
AD-63512.1	GGCUGGAGAGGUGUCCUdTdT	940	A-127308.1	2042-2060	AAGGACACCUUCUCCAGGCCdTdT	1274	A-127309.1
AD-63518.1	AGGUGUCCUUAAGGUGAGdTdT	941	A-127310.1	2051-2069	CUCACCUUAAGGACCUdTdT	1275	A-127311.1
AD-63524.1	CAAGGUGAGCCGCGUCUdTdT	942	A-127312.1	2061-2079	GAGCAGGCGGCUACCUUGdTdT	1276	A-127313.1
AD-63483.1	GCCUGUCCUGCACCCGUAdTdT	943	A-127314.1	2072-2090	UACGGGUGCAGGAGCAGCAdTdT	1277	A-127315.1
AD-63489.1	GCACCCGUACCAAGAGAdTdT	944	A-127316.1	2082-2100	CUCUUCUGGUAGCGGUGCAdTdT	1278	A-127317.1
AD-63495.1	CCACGAAGAGGACAGCAUdTdT	945	A-127318.1	2091-2109	AUGGCUUCCUUCUGUGGdTdT	1279	A-127319.1
AD-63501.1	AGGACAGCAUGACUACGAdTdT	946	A-127320.1	2099-2117	UCGUAGUCAUGGCUUCCUdTdT	1280	A-127321.1
AD-63507.1	ACUACGACGUGGCGUCUdTdT	947	A-127322.1	2111-2129	AGCAGCGCCACGUCGUAGUdTdT	1281	A-127323.1
AD-63513.1	UGGCGCUGUGCAGCUGCAdTdT	948	A-127324.1	2120-2138	UCGAGCUGCAGCAGGCCAdTdT	1282	A-127325.1
AD-63519.1	AGCUGACCAACCGGUGGUdTdT	949	A-127326.1	2132-2150	ACCACGGGUGGUCGAGCUdTdT	1283	A-127327.1
AD-63525.1	CCGGUGGUGCGCUGCGCCGdTdT	950	A-127328.1	2143-2161	CGGCCGAGCGCACCCCGGdTdT	1284	A-127329.1
AD-63531.1	UGCGCUGGCGCCGUGCGdTdT	951	A-127330.1	2150-2168	CGCACGGCGCCGAGCGAdTdT	1285	A-127331.1
AD-63537.1	CCGUGCGCCCGUCUGCCUdTdT	952	A-127332.1	2162-2180	AGGCAGACGGGCGCACGGdTdT	1286	A-127333.1
AD-63543.1	CCGUCUGCCUGCCGCGCAdTdT	953	A-127334.1	2171-2189	CGCGCGGCGAGCAGCGGdTdT	1287	A-127335.1
AD-63549.1	CCGCGCGUCCCAUUCUdTdT	954	A-127336.1	2183-2201	AAGAAGUGGAGCGCGGdTdT	1288	A-127337.1
AD-63555.1	CCCACUUCUUGAGCCCGGdTdT	955	A-127338.1	2192-2210	CCGGGCUUGAAGUGGGdTdT	1289	A-127339.1
AD-63561.1	GAGCCGCGCUGCAGUAdTdT	956	A-127340.1	2203-2221	AGCAGUCAGCGCGGCGUdTdT	1290	A-127341.1
AD-63567.1	GGCCUGCACUGCUGGAUAdTdT	957	A-127342.1	2209-2227	UAUCCAGCAGUCGAGGCCdTdT	1291	A-127343.1
AD-63526.1	UGGAUUCAGGGCUGGGCGdTdT	958	A-127344.1	2221-2239	CGCCCCAGCCGUAAUCCAdTdT	1292	A-127345.1
AD-63532.1	GCUGGGGCGCCUUGCGCAdTdT	959	A-127346.1	2231-2249	UCGCGCAAGGCGCCACGAdTdT	1293	A-127347.1
AD-63538.1	UGCGCAGGGCGGCCCAUdTdT	960	A-127348.1	2243-2261	AUGGGCGGCCUUCGCGAdTdT	1294	A-127349.1

[0824]

AD-63544.1	AGGGCGGCCCCAUCAGCAAdTdT	961	A-127350.1	2249-2267	UUGCUGAUGGGGCCGCCUdTdT	1295	A-127351.1
AD-63550.1	UCAGCAACGCUCUGCAGAAAdTdT	962	A-127352.1	2261-2279	UUCUGCAGAGCGUUGCUGAdTdT	1296	A-127353.1
AD-63556.1	UGCAGAAAGUGGUAUGCAdTdT	963	A-127354.1	2273-2291	UGCACAUCCACUUUCGAdTdT	1297	A-127355.1
AD-63562.1	AAGUGGAUGUGCAGUUAUdTdT	964	A-127356.1	2279-2297	AUCAACUGCACAUCACUdTdT	1298	A-127357.1
AD-63568.1	GCAGUUGAUCCACAGGACdTdT	965	A-127358.1	2289-2307	GUCCUGUGGGGAUACUAdTdT	1299	A-127359.1
AD-63572.1	CACAGGACCUUGUGCAGGAdTdT	966	A-127360.1	2300-2318	UCGUGCACAGGUCCUGUGdTdT	1300	A-127361.1
AD-63533.1	GCAGCGAGGUCUAUCCUAdTdT	967	A-127362.1	2312-2330	UAGCGAUAGACCUUGCUGAdTdT	1301	A-127363.1
AD-63539.1	GUCUAUCGCUACCGAGUAdTdT	968	A-127364.1	2320-2338	UCACCGUGUAGCGAUAGAdTdT	1302	A-127365.1
AD-63545.1	CCAGGUGACGCCACGCAUGdTdT	969	A-127366.1	2331-2349	CAUGCGUGGCGUACCGUGdTdT	1303	A-127367.1
AD-63551.1	CCACGCAUGCUGUGUGCCGdTdT	970	A-127368.1	2341-2359	CGGCACACAGCAUGCGUGdTdT	1304	A-127369.1
AD-63557.1	CUGUGUGCCGGCUACCGCAdTdT	971	A-127370.1	2350-2368	UGCGGUAGCCGGCACACAdTdT	1305	A-127371.1
AD-63563.1	ACCGCAAGGGCAAGAAGAdTdT	972	A-127372.1	2363-2381	UCCUUCUUGCCCUUGCGUGdTdT	1306	A-127373.1
AD-63569.1	GCAAGAAGGAUCCUGUCAdTdT	973	A-127374.1	2372-2390	UGACAGGCAUCCUUCUGCdTdT	1307	A-127375.1
AD-63528.1	GCCUGUCAGGGUGACUCAGdTdT	974	A-127376.1	2383-2401	CUGAGUCACCCUGACAGCdTdT	1308	A-127377.1
AD-63534.1	GUGACUCAGGUGGUGCCGdTdT	975	A-127378.1	2393-2411	AGCGGACCAUUGAGUCAdTdT	1309	A-127379.1
AD-63540.1	GUGGUCCGUGGUGUGCAAdTdT	976	A-127380.1	2402-2420	UUGCACACCAAGCGGACAdTdT	1310	A-127381.1
AD-63546.1	UGGUGUGCAAGCACUCAGdTdT	977	A-127382.1	2411-2429	CUGAGUGCCUUGCACACAdTdT	1311	A-127383.1
AD-63552.1	GCACUGUGGGCCGUGUGdTdT	978	A-127384.1	2422-2440	ACCAGCGGCCACUGAGUGCdTdT	1312	A-127385.1
AD-63558.1	GCCGUGGUUCCUGGCGGdTdT	979	A-127386.1	2432-2450	CCCAGGCAAGGACGCGCdTdT	1313	A-127387.1
AD-63564.1	UCCUGGCGGGGUGGUCAGdTdT	980	A-127388.1	2441-2459	CUGACCAAGCCCGCAGGAdTdT	1314	A-127389.1
AD-63570.1	GCUGGUCAGUGGGGCCUGdTdT	981	A-127390.1	2451-2469	CAGGCCCCAGCUGACCAAdTdT	1315	A-127391.1
AD-63529.1	GGCCUGGGGUGUGGCCGdTdT	982	A-127392.1	2463-2481	CCGGCCACAGCCAGGCCdTdT	1316	A-127393.1
AD-63535.1	GGCUGUGGCGGCCUAACUdTdT	983	A-127394.1	2470-2488	AGUUAAGGCCGCGCACAGCdTdT	1317	A-127395.1
AD-63541.1	CUAACUACUUGGCGUCUAdTdT	984	A-127396.1	2483-2501	UAGACGCCGAAGUAGUAdTdT	1318	A-127397.1
AD-63547.1	CGGCGUUCACCCGCAUCdTdT	985	A-127398.1	2493-2511	GAUGCGGGUGUAGACGCCdTdT	1319	A-127399.1
AD-63553.1	ACACCCGUAACAGGUGdTdT	986	A-127400.1	2501-2519	ACACCGUGAUGCGGGUGdTdT	1320	A-127401.1
AD-63559.1	ACAGGUGUGAUCAGCUGGAdTdT	987	A-127402.1	2512-2530	UCCAGCUGAUCACACCUUGdTdT	1321	A-127403.1
AD-63565.1	UCAGCUGGAUCCAGCAUGdTdT	988	A-127404.1	2522-2540	ACUUGCGGAUCCAGCUGAdTdT	1322	A-127405.1

[0825]

AD-63571.1	CAGCAAGUGGUGACCUAGAdTdT	989	A-127406.1	2533-2551	CUCAGGUCACCAUCUUGCdTdT	1323	A-127407.1
AD-63530.1	UGACCUAGGAAACUGCCCTdT	990	A-127408.1	2543-2561	GGGGCAGUUCUACAGGUCAdTdT	1324	A-127409.1
AD-63536.1	GGAACUGCCCCUGCAAAAdTdT	991	A-127410.1	2551-2569	UUUGCAGGGGGGAGUUCdTdT	1325	A-127411.1
AD-63542.1	CUGCAAAGCAGGGCCACCTdT	992	A-127412.1	2563-2581	GGUGGGCCUUGCUUUGCAGdTdT	1326	A-127413.1
AD-63548.1	GCAGGGCCACCUCCUGGAdTdT	993	A-127414.1	2570-2588	UCCAGGAGGUGGGCCUGCdTdT	1327	A-127415.1
AD-63554.1	CCUCCUGGAGCAGAGAGCdTdT	994	A-127416.1	2580-2598	GCUCUCUGAGUCCAGGAGdTdT	1328	A-127417.1
AD-63560.1	CUCAGAGAGCCAGGGCAAdTdT	995	A-127418.1	2589-2607	UUGCCUUGGUCUCUGAGdTdT	1329	A-127419.1
AD-63566.1	CCAGGGCAACUGCCAAGCAdTdT	996	A-127420.1	2599-2617	UGCUUUGGAGUUGCCUGdTdT	1330	A-127421.1
AD-63572.1	GGACAAGUAUUGGCGGGdTdT	997	A-127422.1	2621-2639	CCCCCAGAAUACUUGUCCdTdT	1331	A-127423.1
AD-63578.1	CUGGCGGGGGUGGGGAGdTdT	998	A-127424.1	2632-2650	CUCCCCACCCCGCCAGdTdT	1332	A-127425.1
AD-63584.1	GGUGGGGGAGAGAGCAGdTdT	999	A-127426.1	2640-2658	CCUGCUCUCUCCCCACCCdTdT	1333	A-127427.1
AD-63590.1	AGAGAGAGGCCCUUGUGUdTdT	1000	A-127428.1	2649-2667	ACCACAGGGCCUGCUCUdTdT	1334	A-127429.1
AD-63596.1	CCCUGUGGUGGACGAGGUGdTdT	1001	A-127430.1	2659-2677	ACCUCCUGCCACCAAGGdTdT	1335	A-127431.1
AD-63602.1	GGAGGUGGCAUCUUGUCdTdT	1002	A-127432.1	2672-2690	GAGACAAGAUGCCACCUCCdTdT	1336	A-127433.1
AD-63608.1	CAUCUUGUCUGUCCUGAdTdT	1003	A-127434.1	2680-2698	UCAGGGACGAGACAAGUAdTdT	1337	A-127435.1
AD-63614.1	CCCUGAUGUCUGUCCAGUdTdT	1004	A-127436.1	2693-2711	ACUGGAGCAGACAUCAGGdTdT	1338	A-127437.1
AD-63573.1	CUGCUCCAGUGAUGGACGdTdT	1005	A-127438.1	2702-2720	CCUGCCAUCACUGGACGAdTdT	1339	A-127439.1
AD-63579.1	AUGGCAGGAGGAUGGAAAdTdT	1006	A-127440.1	2713-2731	UUCUCAUCCUCCUGCAUdTdT	1340	A-127441.1
AD-63585.1	GGAUGGAGAAGUCCAGCAdTdT	1007	A-127442.1	2722-2740	UGCUGGCACUUCUCCAUCCdTdT	1341	A-127443.1
AD-63591.1	UGCCAGCAGCUGGGGUGAdTdT	1008	A-127444.1	2733-2751	UGACCCCAAGCUGUGGCAdTdT	1342	A-127445.1
AD-63597.1	AGCUGGGGGUCAAGAGCUCdTdT	1009	A-127446.1	2740-2758	GACGUUUGUACCCCCAGCUCdTdT	1343	A-127447.1
AD-63603.1	UCAAGAGUCCCCUGAGGAdTdT	1010	A-127448.1	2749-2767	UCCUCAGGGGACGUCUGAdTdT	1344	A-127449.1
AD-63609.1	CCUGAGGACCAAGGCCAdTdT	1011	A-127450.1	2759-2777	UGGGCCUGGGUCCUACGGdTdT	1345	A-127451.1
AD-63615.1	GCCACACCCAGCCUUCUdTdT	1012	A-127452.1	2773-2791	AGAAAGGCGUGGUGUGGGCdTdT	1346	A-127453.1
AD-63574.1	AGCCUUCUGCCUCCAAUdTdT	1013	A-127454.1	2783-2801	AUUGGAGGCGAGAAGGCUdTdT	1347	A-127455.1
AD-63580.1	CCUCCAAUUCUCUCCUdTdT	1014	A-127456.1	2793-2811	AGGAGAGAGAAUUGGAGGdTdT	1348	A-127457.1
AD-63586.1	CUCUCUCCUCCGUCUCCUdTdT	1015	A-127458.1	2803-2821	AAGGGGACGGAGAGAGdTdT	1349	A-127459.1
AD-63592.1	UCCGUCUCCUCCUCCAdTdT	1016	A-127460.1	2811-2829	AGUGGAGGAAGGGACGAdTdT	1350	A-127461.1

[0826]

AD-63598.1	CUUCCUCCACUGCUGCCUAdTdT	1017	A-127462.1	2819-2837	UAGGCAGCAGUGGAGGAAGdTdT	1351	A-127463.1
AD-63604.1	CUGCCUAAUGCAAGGCAGUdTdT	1018	A-127464.1	2831-2849	ACUGCCUUGCAUAGGCAGdTdT	1352	A-127465.1
AD-63610.1	GCAAGGCAGUGGCUCAGCAdTdT	1019	A-127466.1	2840-2858	UGCUGAGCCACUGCCUUGCdTdT	1353	A-127467.1
AD-63616.1	UGGCUCAGCAGCAAGAAUGdTdT	1020	A-127468.1	2849-2867	CAUUCUUGCUGCUGAGCCAdTdT	1354	A-127469.1
AD-63575.1	CAAGAAUGCUGGUUUCACAdTdT	1021	A-127470.1	2860-2878	UGUAGAACCAGCAUUCUUGdTdT	1355	A-127471.1
AD-63581.1	UGGUUCUACAUCCGAGGAdTdT	1022	A-127472.1	2869-2887	UCCUGGGGAUGUAGAACCAdTdT	1356	A-127473.1
AD-63587.1	CCCAGAGAGUUCUGAGGUdTdT	1023	A-127474.1	2880-2898	ACCUCAGACACUCCUGGGdTdT	1357	A-127475.1
AD-63593.1	GUCUGAGGUGCGCCACUdTdT	1024	A-127476.1	2890-2908	AGUGGGGCGACCCACAGAdTdT	1358	A-127477.1
AD-63599.1	GCCCCACUCUGACAGAGGdTdT	1025	A-127478.1	2901-2919	CCUCUGUACAGAGUGGGGdTdT	1359	A-127479.1
AD-63605.1	CUGUACAGAGGCUUUGGdTdT	1026	A-127480.1	2909-2927	CCAAACAGCCUCUGUACAGdTdT	1360	A-127481.1
AD-63611.1	CUGUUUGGGCAGCCUUGCCdTdT	1027	A-127482.1	2920-2938	GGCAAGGCUGCCAAACAGdTdT	1361	A-127483.1
AD-63617.1	CUUGCCUCCAGAGAGCAGAdTdT	1028	A-127484.1	2933-2951	UCUGCUCUCUGGAGGCAAGdTdT	1362	A-127485.1
AD-63576.1	UCCAGAGAGCAGAUUCCAGdTdT	1029	A-127486.1	2939-2957	CUGGAAUCUGCUCUCUGGAdTdT	1363	A-127487.1
AD-63582.1	GAUUCAGCUCUGGAAGCCdTdT	1030	A-127488.1	2950-2968	GGCUUCCGAAGCUGGAUUCdTdT	1364	A-127489.1
AD-63588.1	GAAUGGAAGGUGCUCCAUdTdT	1031	A-127490.1	2991-3009	AUGGGAGCACCUUCCAUUCdTdT	1365	A-127491.1
AD-63594.1	GUGCUCCAUCCGAGGGGAdTdT	1032	A-127492.1	3000-3018	UCCCCUCCGAUGGGAGCACdTdT	1366	A-127493.1
AD-63600.1	UCGGAGGGGACCCUCAGAdTdT	1033	A-127494.1	3009-3027	CUCUGAGGGUCCCCUGGAdTdT	1367	A-127495.1
AD-63606.1	CCUCACAGAGCCUGGAGACdTdT	1034	A-127496.1	3019-3037	GUCUCCAGGGCUCUGAGGGdTdT	1368	A-127497.1
AD-63612.1	GAGACUGCCAGGUGGGCCUdTdT	1035	A-127498.1	3033-3051	AGGCCACCUGGCAGUCUdTdT	1369	A-127499.1
AD-63618.1	AGGUGGGCCUGCUGCCACUdTdT	1036	A-127500.1	3042-3060	AGUGGCAGCAGGCCACCUdTdT	1370	A-127501.1
AD-63577.1	CUGCCACUGUAAAGCAAAAdTdT	1037	A-127502.1	3053-3071	UUUUGGCUUACAGUGGCAGdTdT	1371	A-127503.1
AD-63583.1	CUGUAAGCCAAAAGGUGGGdTdT	1038	A-127504.1	3059-3077	CCCACCUUUUGGCUUACAGdTdT	1372	A-127505.1
AD-63589.1	GUGGGGAAGUCCUGACUCCdTdT	1039	A-127506.1	3073-3091	GGAGUCAGGACUCCCCACdTdT	1373	A-127507.1
AD-63595.1	CCUGACUCCAGGGUCCUUGdTdT	1040	A-127508.1	3083-3101	CAAGGACCCUGGAGUCAGGdTdT	1374	A-127509.1
AD-63601.1	GGGUCCUUGCCCCACCCUdTdT	1041	A-127510.1	3093-3111	AGGGGUGGGGCAAGGACCCdTdT	1375	A-127511.1
AD-63607.1	GCCCCACCCUGCCUGCCAdTdT	1042	A-127512.1	3101-3119	UGGCAGGCAGGGUGGGGdTdT	1376	A-127513.1
AD-63613.1	CCUGCCACUGGGGCCUAdTdT	1043	A-127514.1	3113-3131	UGAGGGCCCAGGUGGCAGGdTdT	1377	A-127515.1
AD-63619.1	CUGGGCCUCACAGCCAGdTdT	1044	A-127516.1	3121-3139	CUGGGCUGUGAGGGCCAGdTdT	1378	A-127517.1

AD-63620.1	UCACAGCCAGACCCUACdTdT	1045	A-127518.1	3129-3147	GUGAGGGUCUGGGCUGUGAdTdT	1379	A-127519.1
AD-63621.1	CUCACUGGGAGGUGAGCUCdTdT	1046	A-127520.1	3143-3161	GAGCUCACCUCCAGUGAGdTdT	1380	A-127521.1
AD-63622.1	GGUGAGCUCAGCUGCCUAdTdT	1047	A-127522.1	3153-3171	AAGGGCAGCUGAGCUCACCCdTdT	1381	A-127523.1
AD-63623.1	UGGAAUAAAGCUGCCUGAUdTdT	1048	A-127524.1	3172-3190	AUCAGGAGCUUUAUCCAdTdT	1382	A-127525.1

[0829] 표 13. dT 변형된 siRNA를 가진 Hep3B 세포에서 TMPRSS6 단일 용량 스크린 (10 nM)

듀플렉스 명칭	잔류 전령의 평균%	표준편차
AD-63290.1	122.8	18.0
AD-63296.1	87.4	6.0
AD-63302.1	71.4	16.9
AD-63308.1	82.1	10.3
AD-63314.1	59.1	5.3
AD-63320.1	90.7	4.5
AD-63326.1	121.0	18.2
AD-63332.1	114.4	11.6
AD-63291.1	84.7	15.0
AD-63297.1	82.8	3.9
AD-63303.1	67.6	5.5
AD-63309.1	55.8	6.5
AD-63315.1	64.2	7.4
AD-63321.1	85.8	6.4
AD-63327.1	91.9	14.9
AD-63333.1	76.4	5.2
AD-63292.1	54.4	22.9
AD-63298.1	54.6	5.0
AD-63304.1	24.6	7.3
AD-63310.1	23.3	0.6
AD-63316.1	50.9	7.2
AD-63322.1	53.7	10.5
AD-63328.1	29.2	2.3
AD-63334.1	28.5	1.2
AD-63293.1	50.9	6.8
AD-63299.1	85.5	2.3
AD-63305.1	43.0	7.2
AD-63311.1	28.9	2.6
AD-63317.1	40.9	2.7
AD-63323.1	40.2	7.3
AD-63329.1	27.9	12.0
AD-63335.1	82.0	4.2
AD-63294.1	21.8	1.0
AD-63300.1	32.3	8.0
AD-63306.1	32.9	8.3
AD-63312.1	26.5	4.6
AD-63318.1	31.3	2.4
AD-63324.1	25.7	1.9
AD-63330.1	24.5	2.0

[0830]

AD-63336.1	36.1	8.6
AD-63295.1	29.2	1.8
AD-63301.1	28.9	5.2
AD-63307.1	68.8	10.6
AD-63313.1	90.2	8.2
AD-63319.1	21.9	3.3
AD-63325.1	26.1	4.8
AD-63331.1	36.7	4.5
AD-63337.1	67.7	9.3
AD-63343.1	83.9	15.0
AD-63349.1	71.6	3.5
AD-63355.1	62.8	10.4
AD-63361.1	56.0	3.3
AD-63367.1	49.3	8.7
AD-63373.1	54.1	8.2
AD-63379.1	47.5	6.3
AD-63338.1	28.0	2.8
AD-63344.1	29.7	5.7
AD-63350.1	23.0	2.3
AD-63356.1	81.5	13.7
AD-63362.1	19.7	2.9
AD-63368.1	42.2	4.7
AD-63374.1	24.5	2.0
AD-63380.1	24.9	4.9
AD-63339.1	28.9	10.1
AD-63345.1	29.9	5.6
AD-63351.1	20.4	3.7
AD-63357.1	35.8	6.8
AD-63363.1	30.4	2.5
AD-63369.1	29.0	3.1
AD-63375.1	36.6	2.4
AD-63381.1	29.1	4.3
AD-63340.1	40.4	18.8
AD-63346.1	36.4	3.5
AD-63352.1	25.8	3.9
AD-63358.1	42.6	8.1
AD-63364.1	48.1	6.6
AD-63370.1	24.6	2.8
AD-63376.1	22.1	4.2
AD-63382.1	31.0	7.5
AD-63341.1	37.6	13.7
AD-63347.1	27.6	2.0
AD-63353.1	76.4	14.5
AD-63359.1	25.3	1.1

[0831]

AD-63365.1	27.3	3.4
AD-63371.1	16.3	1.3
AD-63377.1	65.4	7.1
AD-63383.1	72.2	7.0
AD-63342.1	30.8	7.3
AD-63348.1	72.7	9.2
AD-63354.1	38.7	5.0
AD-63360.1	28.7	3.0
AD-63366.1	30.9	6.8
AD-63372.1	84.0	9.0
AD-63378.1	64.1	8.6
AD-63384.1	38.0	2.6
AD-63390.1	48.3	10.6
AD-63396.1	45.6	7.0
AD-63402.1	42.0	9.9
AD-63408.1	40.4	9.1
AD-63414.1	23.8	6.2
AD-63420.1	55.3	5.2
AD-63426.1	61.6	8.5
AD-63385.1	61.6	10.2
AD-63391.1	38.0	3.1
AD-63397.1	66.7	16.8
AD-63403.1	77.2	15.4
AD-63409.1	60.3	10.7
AD-63415.1	35.0	5.4
AD-63421.1	60.6	2.9
AD-63427.1	40.5	7.2
AD-63386.1	42.0	7.4
AD-63392.1	34.2	3.1
AD-63398.1	62.6	18.5
AD-63404.1	65.9	8.1
AD-63410.1	19.7	4.0
AD-63416.1	51.3	9.0
AD-63422.1	59.3	2.7
AD-63428.1	58.2	9.7
AD-63387.1	42.2	4.8
AD-63393.1	27.9	4.4
AD-63399.1	49.6	8.4
AD-63405.1	72.5	9.3
AD-63411.1	45.4	14.9
AD-63417.1	36.7	9.4
AD-63423.1	76.8	4.9
AD-63429.1	77.8	14.4
AD-63388.1	37.4	4.4

[0832]

AD-63394.1	31.5	4.6
AD-63400.1	60.9	28.6
AD-63406.1	40.7	14.3
AD-63412.1	22.0	7.0
AD-63418.1	22.8	4.3
AD-63424.1	25.5	2.8
AD-63430.1	21.5	3.2
AD-63389.1	34.4	5.3
AD-63395.1	31.1	0.7
AD-63401.1	44.3	9.5
AD-63407.1	41.5	4.9
AD-63413.1	52.4	6.4
AD-63419.1	26.3	5.6
AD-63425.1	78.8	4.6
AD-63431.1	32.8	6.6
AD-63437.1	42.3	1.4
AD-63443.1	56.4	8.9
AD-63449.1	26.0	5.9
AD-63455.1	28.0	9.7
AD-63461.1	32.1	11.1
AD-63467.1	33.8	19.8
AD-63473.1	28.9	3.4
AD-63432.1	36.5	7.4
AD-63438.1	27.3	4.3
AD-63444.1	54.6	36.0
AD-63450.1	42.0	6.1
AD-63456.1	36.6	10.2
AD-63462.1	23.3	3.0
AD-63468.1	48.8	27.3
AD-63474.1	23.8	3.2
AD-63433.1	51.8	13.8
AD-63439.1	41.7	5.5
AD-63445.1	74.6	6.1
AD-63451.1	49.6	9.0
AD-63457.1	26.7	4.9
AD-63463.1	27.8	3.8
AD-63469.1	48.4	14.0
AD-63475.1	40.3	1.4
AD-63434.1	93.3	9.9
AD-63440.1	37.6	4.7
AD-63446.1	38.1	15.4
AD-63452.1	42.3	4.0
AD-63458.1	29.7	7.9
AD-63464.1	25.7	3.4

[0833]

AD-63470.1	44.8	7.8
AD-63476.1	33.9	4.7
AD-63435.1	23.4	5.2
AD-63441.1	37.1	4.5
AD-63447.1	46.5	9.0
AD-63453.1	73.1	16.8
AD-63459.1	31.8	4.6
AD-63465.1	27.3	6.6
AD-63471.1	19.5	3.1
AD-63477.1	35.2	4.7
AD-63436.1	21.8	4.7
AD-63442.1	44.1	11.2
AD-63448.1	33.6	6.0
AD-63454.1	58.2	16.8
AD-63460.1	27.7	2.4
AD-63466.1	27.1	4.4
AD-63472.1	20.5	4.1
AD-63478.1	36.3	7.3
AD-63484.1	48.4	31.3
AD-63490.1	44.0	6.1
AD-63496.1	45.5	19.9
AD-63502.1	49.0	18.3
AD-63508.1	41.4	2.7
AD-63514.1	36.0	5.1
AD-63520.1	40.9	4.2
AD-63479.1	35.1	6.5
AD-63485.1	45.5	24.0
AD-63491.1	69.0	14.5
AD-63497.1	57.1	25.1
AD-63503.1	36.0	15.3
AD-63509.1	29.7	6.4
AD-63515.1	33.9	5.7
AD-63521.1	117.2	10.2
AD-63480.1	38.6	0.7
AD-63486.1	48.5	12.1
AD-63492.1	38.7	3.7
AD-63498.1	64.6	20.3
AD-63504.1	41.7	1.9
AD-63510.1	39.6	4.0
AD-63516.1	30.9	4.8
AD-63522.1	56.4	15.6
AD-63481.1	72.0	7.3
AD-63487.1	128.8	48.9
AD-63493.1	31.7	6.7

[0834]

AD-63499.1	44.2	17.7
AD-63505.1	69.4	7.6
AD-63511.1	43.8	5.3
AD-63517.1	75.3	2.2
AD-63523.1	82.1	10.6
AD-63482.1	40.1	12.2
AD-63488.1	42.3	12.7
AD-63494.1	19.0	1.1
AD-63500.1	30.2	11.2
AD-63506.1	30.5	7.6
AD-63512.1	38.1	15.2
AD-63518.1	35.0	7.3
AD-63524.1	60.5	3.7
AD-63483.1	22.7	3.6
AD-63489.1	47.6	13.7
AD-63495.1	31.0	12.7
AD-63501.1	24.3	2.1
AD-63507.1	37.4	7.0
AD-63513.1	32.3	5.1
AD-63519.1	46.0	6.6
AD-63525.1	66.5	14.5
AD-63531.1	104.0	24.1
AD-63537.1	32.1	3.4
AD-63543.1	31.2	3.8
AD-63549.1	35.2	5.2
AD-63555.1	41.7	9.3
AD-63561.1	44.2	7.0
AD-63567.1	39.2	4.9
AD-63526.1	66.9	15.7
AD-63532.1	90.3	17.8
AD-63538.1	50.8	11.5
AD-63544.1	31.9	2.4
AD-63550.1	35.0	8.8
AD-63556.1	31.0	6.0
AD-63562.1	20.2	2.4
AD-63568.1	30.6	2.7
AD-63527.1	28.8	2.4
AD-63533.1	63.3	6.9
AD-63539.1	28.4	3.5
AD-63545.1	26.9	8.5
AD-63551.1	52.5	4.7
AD-63557.1	26.7	2.2
AD-63563.1	28.1	2.7
AD-63569.1	29.2	2.8

[0835]

AD-63528.1	52.9	9.0
AD-63534.1	42.5	6.8
AD-63540.1	50.5	10.9
AD-63546.1	53.6	10.5
AD-63552.1	38.8	5.0
AD-63558.1	49.3	3.0
AD-63564.1	69.2	3.1
AD-63570.1	50.6	6.0
AD-63529.1	59.5	6.5
AD-63535.1	21.0	1.7
AD-63541.1	40.1	23.4
AD-63547.1	26.0	9.6
AD-63553.1	31.5	6.0
AD-63559.1	34.9	2.7
AD-63565.1	43.3	5.3
AD-63571.1	41.6	4.4
AD-63530.1	127.6	15.0
AD-63536.1	38.0	16.0
AD-63542.1	48.3	8.4
AD-63548.1	41.9	7.9
AD-63554.1	88.2	15.2
AD-63560.1	48.8	17.7
AD-63566.1	33.6	6.8
AD-63572.1	82.4	67.9
AD-63578.1	78.5	11.5
AD-63584.1	55.7	7.2
AD-63590.1	53.4	2.9
AD-63596.1	63.5	8.6
AD-63602.1	49.3	3.6
AD-63608.1	29.2	4.4
AD-63614.1	30.0	7.4
AD-63573.1	96.1	14.7
AD-63579.1	38.1	4.5
AD-63585.1	40.0	2.1
AD-63591.1	30.5	2.5
AD-63597.1	55.1	5.8
AD-63603.1	43.6	4.0
AD-63609.1	37.7	2.7
AD-63615.1	44.4	9.7
AD-63574.1	44.3	10.3
AD-63580.1	33.1	3.5
AD-63586.1	39.3	2.9
AD-63592.1	73.7	1.6
AD-63598.1	32.4	6.6

[0836]

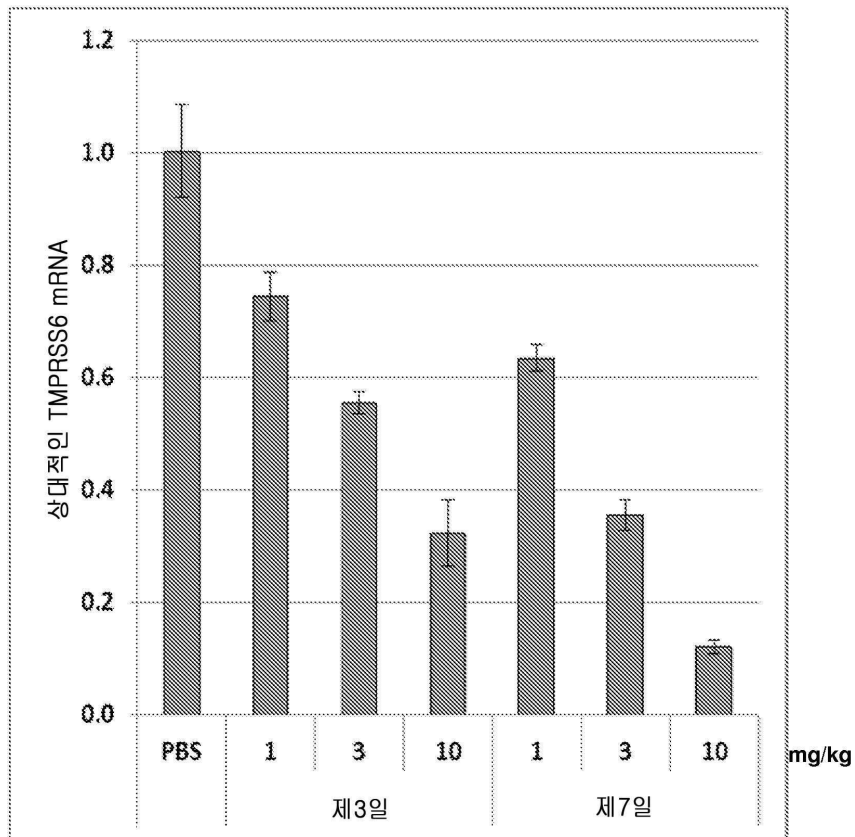
AD-63604.1	98.7	7.1
AD-63610.1	42.1	7.1
AD-63616.1	55.2	10.4
AD-63575.1	27.8	3.0
AD-63581.1	36.3	3.2
AD-63587.1	36.1	3.3
AD-63593.1	39.2	4.7
AD-63599.1	37.0	5.6
AD-63605.1	49.3	3.7
AD-63611.1	88.8	7.7
AD-63617.1	45.6	6.6
AD-63576.1	59.9	2.9
AD-63582.1	82.9	8.3
AD-63588.1	33.5	6.7
AD-63594.1	64.7	18.0
AD-63600.1	99.5	11.9
AD-63606.1	40.8	2.7
AD-63612.1	44.5	5.3
AD-63618.1	41.7	4.6
AD-63577.1	31.1	0.3
AD-63583.1	57.3	8.6
AD-63589.1	61.9	5.9
AD-63595.1	51.2	8.5
AD-63601.1	70.7	15.4
AD-63607.1	39.4	1.9
AD-63613.1	36.8	2.7
AD-63619.1	83.8	13.8
AD-63620.1	69.4	7.3
AD-63621.1	30.6	3.1
AD-63622.1	51.8	8.4
AD-63623.1	37.3	8.6

[0837]

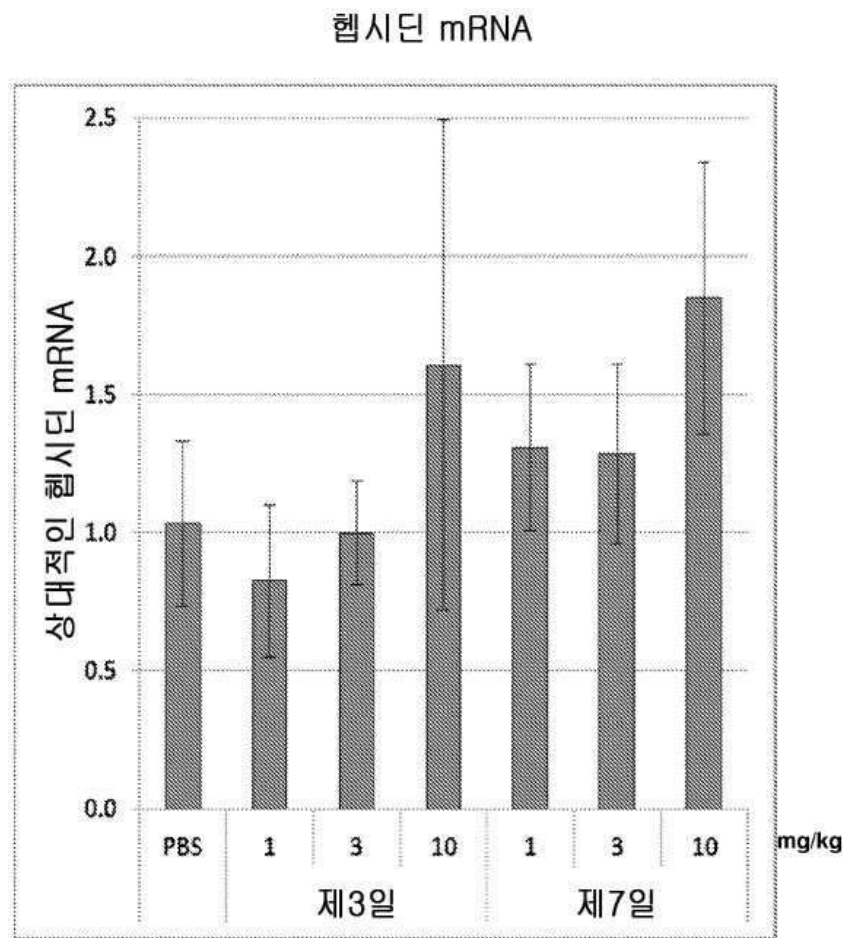
도면

도면1

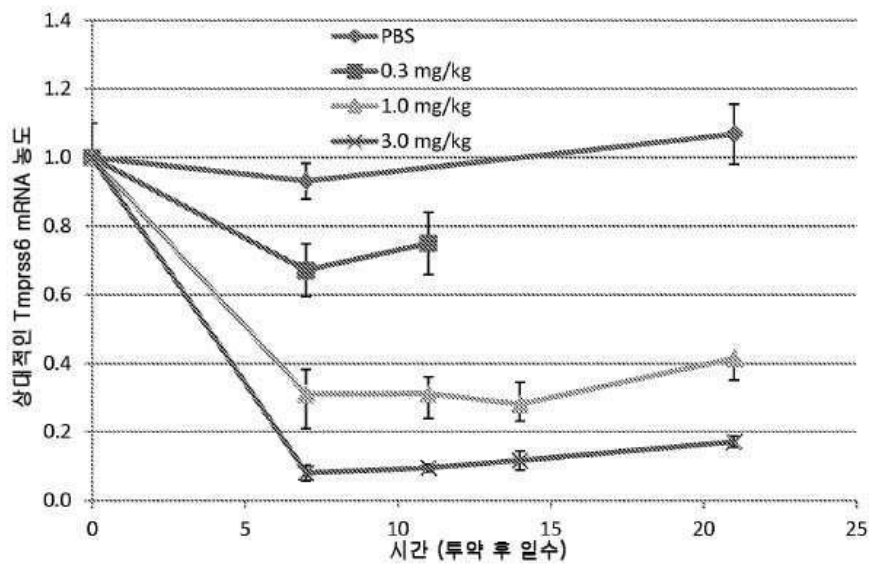
TMPRSS6 mRNA



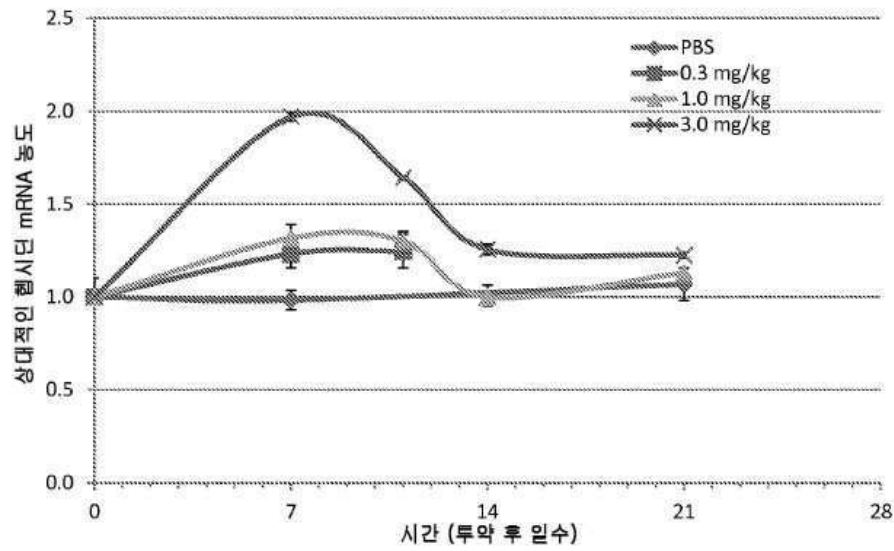
도면2



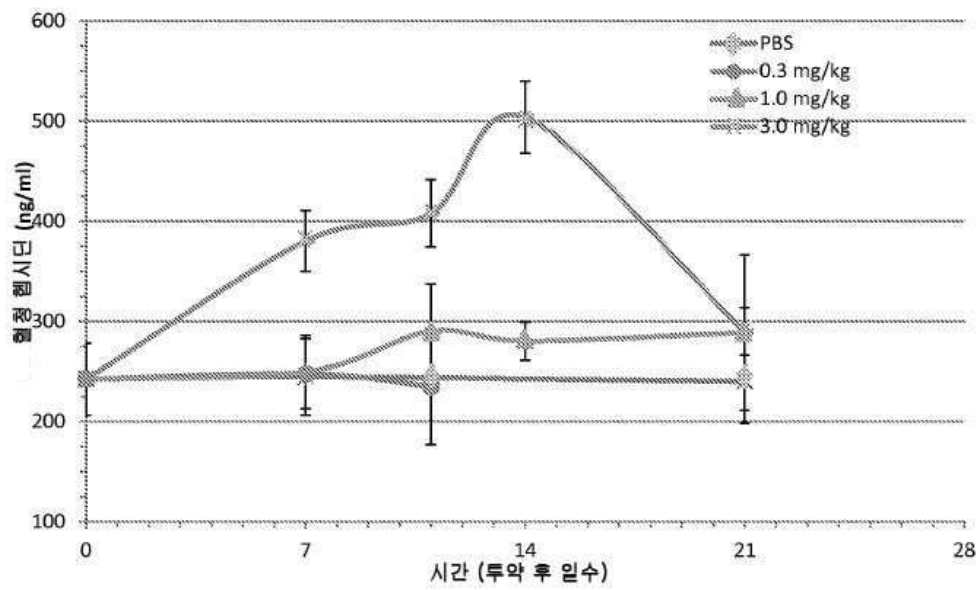
도면3a



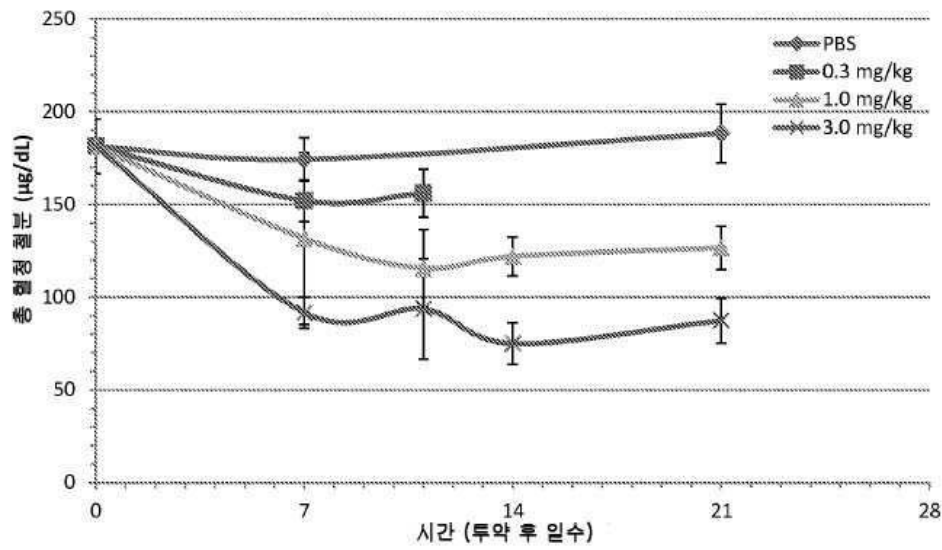
도면3b



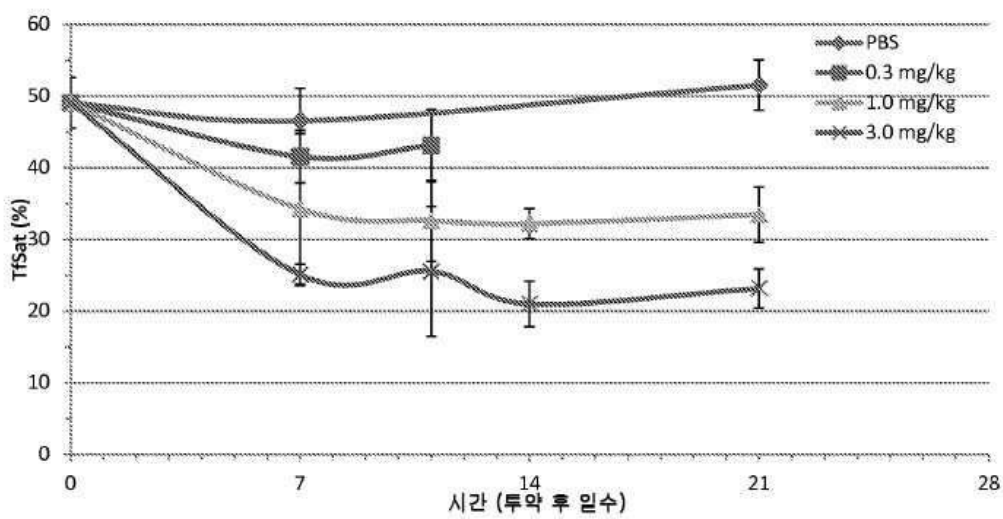
도면3c



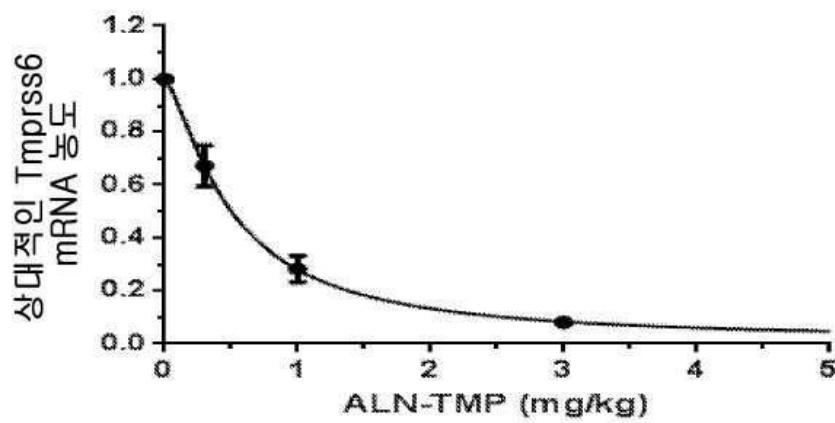
도면3d



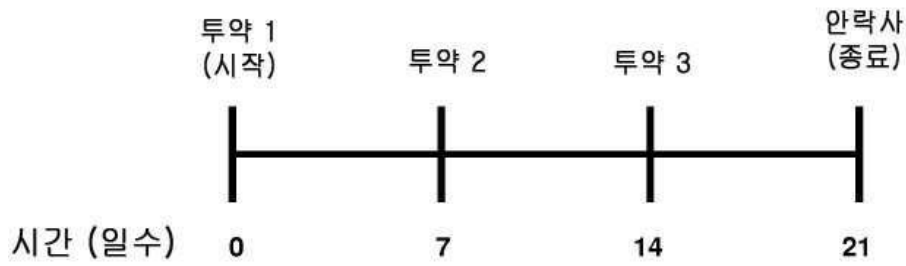
도면3e



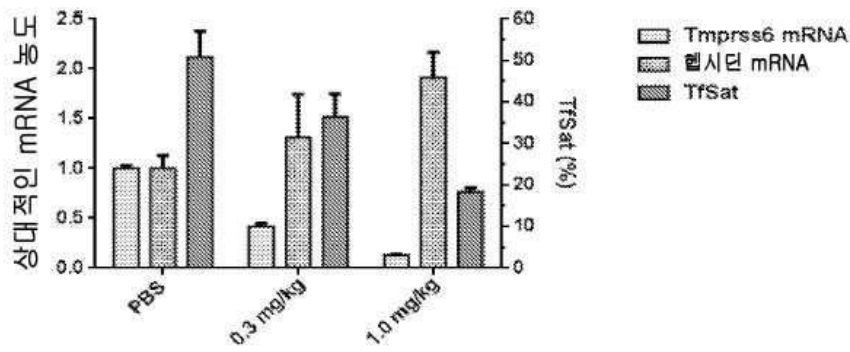
도면3f



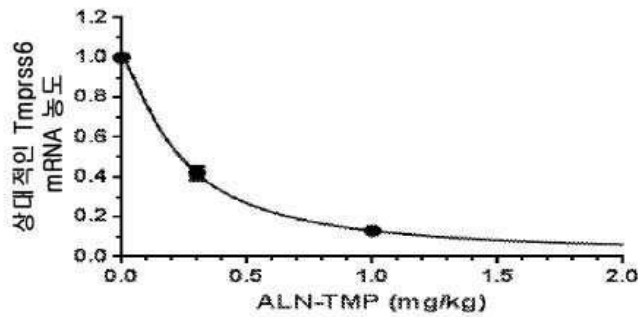
도면4a



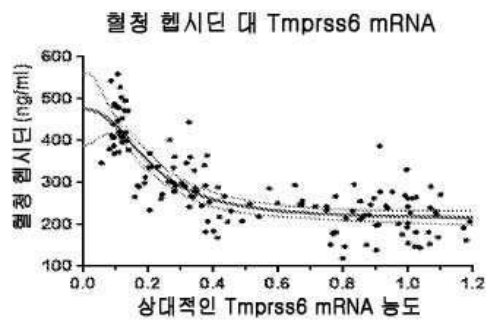
도면4b



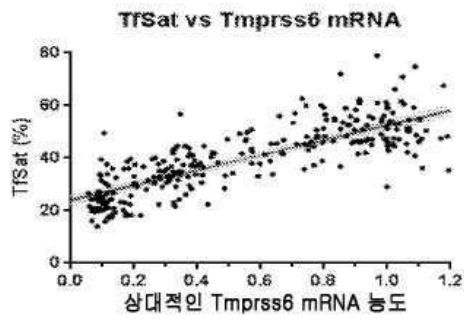
도면4c



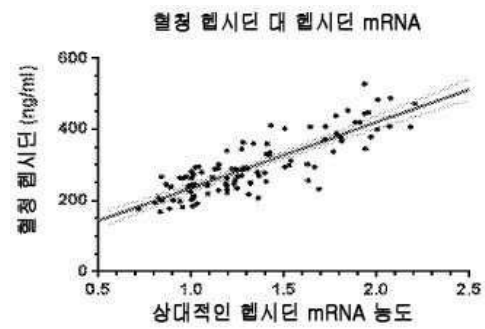
도면5a



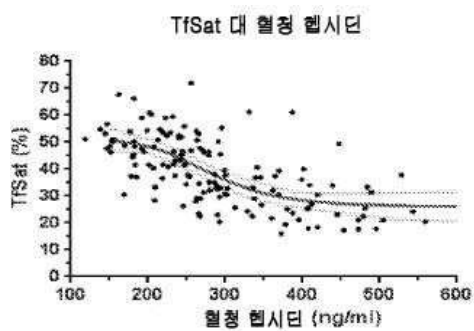
도면5b



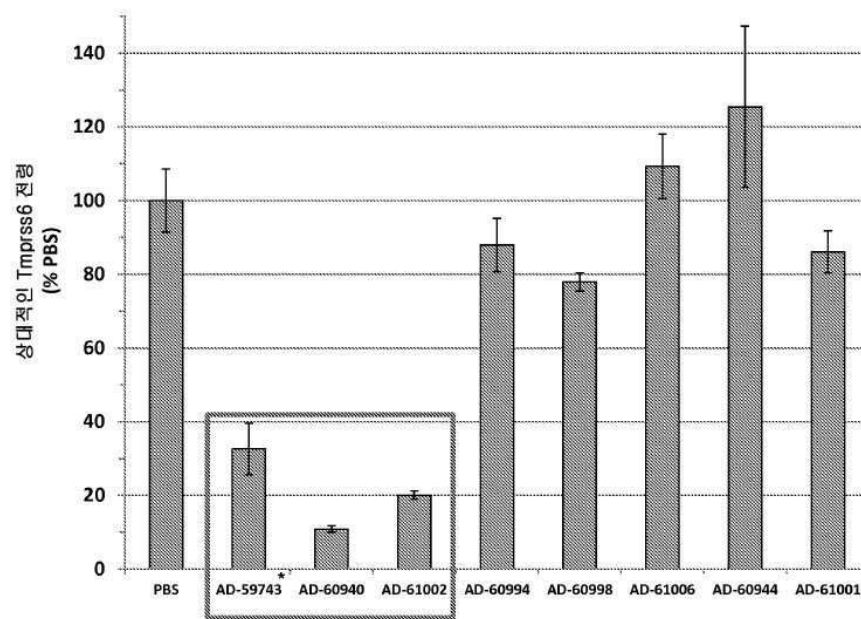
도면5c



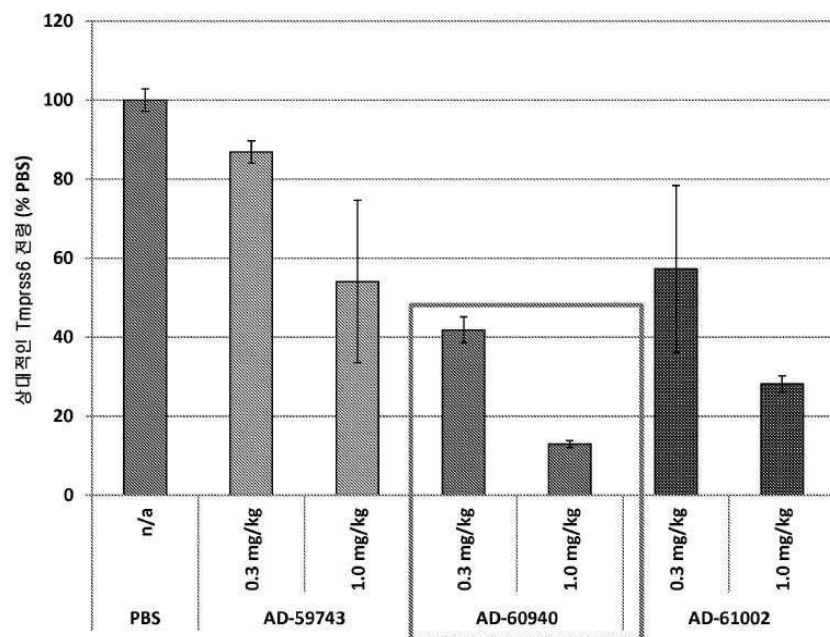
도면5d



도면6



도면7



도면8

```

SEQ ID NO:1
>gi|56682967|ref|NM_153609.2| 호모 사피엔스 막관통 프로테아제,
세린 6 (TMPRSS6), mRNA
CTTGAGCCAGACCCAGTCCAGCTCTGGTGCCTGCCCTCTGGTGCGAGCTGACCTGAGATGCACTTCCCTC
CTCTGTGAGCTGTCTCGGCACCCACTTGCAGTCACTGCCGCTGATGTTGTTACTCTTCCACTCCAAAAG
GATGCCCGTGGCCGAGGCCCCCAAGTGGCTGGCGGGCAGGGGACGGAGGTGATGGCGAGGAAGCGGAG
CCGGAGGGGATGTTCAAGGCCTGTGAGGACTCCAAGAGAAAAGCCGGGGCTACCTCCGCTGGTGCCCC
TGTTTGTGCTGCTGGCCCTGCTCGTGTGCTGGCTTCGGCGGGGTGCTACTCTGGTATTTCCTAGGGTACAA
GGCGGAGGTGATGGTCAAGCAGGTGTACTCAGGCAGTCTGCGTGTACTCAATCGCCACTTCTCCAGGAT
CTTACCCCGCCGGGAATCTAGTGCCTTCCGCAGTGAAACCGCCAAAGCCAGAAGATGCTCAAGGAGCTCA
TCACCAGCACCCGCTGGGAACCTTACTACAATCCAGCTCCGCTCTATTCTTTGGGGAGGGACCCCTCAC
CTGCTTCTTCTGGTTCATTTCTCCAAATCCCGAGCACCGCCGGCTGATGCTGAGCCCGAGGTGGTGACG
GCACGTGCTGGTGGAGGAGCTGCTGTCCACAGTCAACAGCTCGGCTGCCGTCCCTACAGGGCCGAGTACG
AAGTGGACCCCGAGGGGCTAGTGATCTTGAAGCCAGTGTGAAAGACATAGCTGCATTGAATTCCACGCT
GGGTGTACCGCTACAGCTACGTGGGCGAGGGCCAGGTCTCCGGCTGAAGGGGCCGTGACCACCTGGCC
TCCAGCTGCTGTGGCCTTGCAGGGCCCAAGGACCTCATGCTCAAATCCGGCTGGAGTGGACGCTGG
CAGAGTGCCGGGACCGACTGGCCATGTATGAGCTGGCCGGGCCCCGGAGAAGAGGCTCATCACCTCGGT
GTACGGCTCGAGCCGCCAGGAGCCCGTGGTGGAGGTTCTGGCGTCGGGGGCCATCATGGCGGTGCTCTGG
AAGAAGGGCCTGCACAGCTACTACGACCCTTCGTGCTCTCCGTGCAGCCGGTGGTCTTCCAGGCCTGTG
AAGTGAACCTGAGGAGGAGGACAGGCTCGACTCCAGGGCGTCCAGCACCCGCTACTTCCCGAGCTA
CTACTCGCCCCAAACCCACTGCTCCTGGCACCTCACGGTGCCTCTCTGGACTACGGCTTGGCCCTCTGG
TTTGATGCTATGCACTGAGGAGGAGAGATGATTGCGGTGCACCCAGGGCCAGTGGACGATCCAGA
ACAGGAGGCTGTGTGGCTTGCATCTTGCAGCCCTACGCCGAGAGGATCCCGTGGTGGCCACGGCCGG
GATACCATCAACTTCACCTTCCAGATCTCCCTCACCGGGCCCGGTGTGCGGGTGCACTATGGCTTGATC
AACCAGTCGGACCCCTGCCCTGGAGAGTTCTCTGTCTGTGAATGGACTCTGTGTCCCTGCCTGTGATG
GGGTCAAGGACTGCCCCAACGGCCTGGATGAGAGAACTGCGTTTGCAAGGCCACATTCAGTGCAGAGA
GGACAGCACATGCATCTCACTGCCCCAAGGTCTGTGATGGGCAGCCTGATTGTCTCAACGGCAGCGACGAA
GAGCAGTGCCAGGAAGGGGTGCCATGTGGGACATTCACCTTCCAGTGTGAGGACCGGAGCTGCGTGAAAG
AGCCCAACCCGAGTGTGATGGGCGGCCGACTGCAGGGACGGCTCGGATGAGGAGCACTGTGACTGTGG
CCTCCAGGGCCCCCTCCAGCCGCAATTGTGGTGGAGCTGTGTCTCCGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCC
AGCCTCCAGGTTCCGGGTCGACACATCTGTGGGGGGGCCCTCATCGCTGACCCTGGGTGATAACAGCTG
CCCACTGCTTCCAGGAGGACAGCATGGCCCTCCACGGTGTGTGGACCGTGTTCCTGGGCAAGGTGTGGCA
GAATCGCGCTGGCCTGGAGAGGTGTCTTCAAGGTGAGCCGCTGCTCTGCACCCGTACCAAGAGAG
GACAGCCATGACTACGACGTGGCGCTGCTGCAGCTCGACACCCCGGTGGTGGCTCGGCCGCGCTGCGCC
CCGTCTGCTGCCCCGCGCTCCCACTTCTTCGAGCCCGGCTGCACTGCTGGATTACGGGCTGGGGCGC
CTTGCGCGAGGGGGGGCCCATCAGCAACGCTCTGCAGAAAGTGAGTGTGCAAGTTGATCCACAGGACCTG
TGCAGCGAGGTCTATCGCTACAGGTGACGCCACGCATGCTGTGTGCGGCTACCGCAAGGGCAAGAAGG
ATGCTGTGAGGGTGACTCAGGTGGTCCGCTGGTGTGCAAGGCACTCAGTGGCCGCTGGTTCTTGGCGGG
GCTGGTCACTGGGGCTGGGCTGTGGCCGGCTAACTACTTCGGCGCTTACACCCGCATCACAGGTGTG
ATCAGCTGGATCCAGCAAGTGGTGACCTGAGGAACTGCCCCCTGCAAAAGCAGGGCCACCTCCTGGACT
CAGAGAGCCAGGGCAACTGCCAAGCAGGGGGACAAGTATTCTGGCGGGGGTGGGGAGAGAGCAGGCC
CTGTGGTGGCAGGAGGTGGCATCTTGTCTCGTCCCTGATGTCTGCTCCAGTGTGGCAGGAGGATGGAGA
AGTGCCAGCAGCTGGGGGTCAAAGCGTCCCTGAGGACCCAGGCCACACCCAGCCCTTCTGCCTCCCAA
TTCTCTCTCTCCGCTCCCTTCCCTCCACTGCTGCCTAATGCAAGGCAGTGGCTCAGCAGCAAGAATGCTG
GTTCTACATCCCGAGGAGTGTCTGAGGTGCGCCCCACTCTGTACAGAGGCTGTTTGGGCAGCCTTGCTC
CAGAGAGCAGATTCCAGCTTCGGAAGCCCTGGTCTAACTTGGGATCTGGGAATGGAAGGTGCTCCCATC
GGAGGGGACCCCTCAGAGCCCTGGAGACTGCCAGGTGGGCTGCTGCCACTGTAAGCCAAAAGGTGGGGAA
GTCTGACTCCAGGGTCTTGGCCCAACCCCTGCTGCCACCTGGGCCCTCACAGCCAGACCCCTCACTGG
GAGGTGAGCTCAGCTGCCCTTTGGAATAAAGCTGCCTGATCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```


도면9

```

SEQ ID NO:2
>gi|125656151|ref|NM_027902.2| 무스 무스쿨루스 막관통 세린
프로테아제 6(Tmprss6), mRNA
AGTTTCATTGTCGCCCTGGACCTGACAGGAGAGGCCCATGGAACCTTGGGGCCACAGGCCACAAGGGACAA
GGGCCAGACACCCAGCCATTGGCTCCAGGCCATTGATCCAACTTAAGCTGGCCAGTTGGGGTGGAAGA
CCTTGGCCTGGATAAAACAGAGGCCCTCCAGGCCCTGTGTGCAGGCCCGGCACCTACCTTCCACTCTTGAAGA
TGCCGAGATGTTTCCAGCTCCCTGTTCTACCAGGATGCCCACCACCGAGGTCCCCAAGCGGCTGATGG
TCAGGGCGATGCGGGTGATGGAGAGGAAGCTGCTGAGCCAGAGGGGAAGTTCAAGCCCCAAAAAACACC
AAGAGAAAAAACCGGGACTACGTCCGCTTCACGCCACTGTTGCTGGTCTTGGCTGCGCTGGTCTCAGCAG
GGGTGATGCTTTGGTATTTCCTAGGGTACAAAGCGGAAGTGACCGTAAGCCAGGTGTACTCTGGCAGCCT
CCGGGTGCTCAACCGTCATTTCCTCCAGGACCTGGGCCGACGGGAGTCTATTGCTTTCCGCAGTGAATCT
GCCAAAGCCAGAGAGATGCTCCAAAGAACTGGTTGCCAGCACCCGCTGGGTACTTACTACAACTCTAGTT
CTGTCTACTCCTTTGGGGAGGGACCCCTCACCIGCTTCTTCTGGTTTATCCTTGACATCCCTGAGTACCA
GCGACTGACCCCTGAGCCCTGAGTAGTGCAGGCTCCTGGTGGATGAGCTACTGTCCAAAGCTCAACC
CTGGCTTCTCTATAAGACCGAATATGAGGTGGACCCGGAAGGCTGGTGATCTTGGAAGCCAGTGTGAACG
ACATAGGCCAGTGAATTCCAGCTGGGCTGTTATCGCTACAGCTATGTGAACCCAGGCAGGTCTCTCC
ATTGAAGGGGCTGACAGCAGACCACAAGCTGCCTGTGGCATCTGCAAGGGCCCGAAGACCTCATGATC
AAAGTGCCTGAGTGGACCCGGGTGATTGAGAGACAGGGTGGCGATGTAGCAGCAGCTGGGCCCT
TGGAGAAGAGACTTATCACCCTCGGTCTATGGGTGCAGCCGCCAGGAACCTGTGATGGAGGTGCTGGCCTC
GGGCTCCGTCATGGCCGTGGTGTGGAAAAAGGGCATGCATAGCTACTATGACCCCTTCCIGCTCTCAGTG
AAGTCTGTGGCCTTCCAGGACTGCCAGGTGAACCTGACACTGGAGGGCCGGCTGGACACACAGGGCTTCC
TCCGTACACCCCTACTACCCAGTTACTACTCTCCAGTACCCACTGCTCCTGGCATCTCACGGTACCCCTC
TCTGGACTACGGCTTGGCGCTCTGGTTCGATGCCCTACGCACCTGAGGAGGCAGAGTACAACCGACTGTGT
ACTAGGGCCAGTGGATGATCCAGAACAGGAGGCTGTGTGGCTTCCGTACCCCTGCAGCCATATGCTGAGA
GGATCCCCATGTTGGCCTCAGATGGTGTCACTCACTTCACTCCAGATCTCCCTCACAGGCCCGGG
TGTGCAAGTGTACTACAGCTTGTACAACCAATCAGACCCCTGCCCTGGTGAGTTCCTCTGCTCTGTGAAT
GGACTGTGTGCTCCCTGCGTGTGACGGGATCAAGGACTGCCCAATGGCCTGGATGAGAGAACTGTGTCT
GCAGAGCCATGTTCCAGTGCCCAAGAGGACAGCACGTGCATTTCAGTGCCTAGAGTCTGTGACCGGCAGCC
CGACTGTCTCAATGGCAGTGACGAAGAAGAGTGCCTGAGAGGAGTGCCTGTGGGACATTCACTTTCCAG
TGTGAGGACCGGAGCTGTGTGAAGAAGCCCAACCCAGAGTGTGACGGCCAGTCAAGTTCAGAGACGGCT
CAGATGAGCAACACTGTGACTGTGGCCTCCAGGGCTCTCCAGCCGTATTGTGGGCGGGACCGTGTCTCTC
CGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGCTCCAGATTCCGGGTGACACATCTGTGGGGGGGCTCTCATC
GCTGACCGCTGGGTCTAACGGCCGCCACTGCTTCCAGGAGGACAGCATGGCCTCCCCGAAGCTGTGGA
CCGTGTTCTGGGAAAGATGCGGCAGAACTCGCGCTGGCCAGGCGAGGTGTCCTTCAAGGTGAGCCGTCT
GTTCTGCAACCCGTACACAGGAGGACAGCCATGACTACGACCTGGCCCTGCTGCAGCTCGACACCCCTC
GTGGTGTACTCGGCCACTGTGCGCCCCGTCTGCTGCTGCTGCGCCCTCCCACTTCTTTGAGCCAGGCCAGC
ACTGCTGGATCACAGGCTGGGGAGCCAGCGAGAGGGTGGTCCGGTGAGCAACCCCTGCAGAAAGGTGGA
CGTACAGCTGGTCCCTCAGGACCTCTGAGTGAGGCCCTACCGCTACCGAGGTGTCCTCCACGCATGCTCTGT
GCTGGCTACCGCAAGGGCAAGAAAGATGCCTGCCAGGGTGACTCTGGAGGCCCACTGGTTTGCAGGGAGC
CCAGTGGCCGTGTTTCTTGGCAGGGTTGGTTAGCTGGGGCTGGGCTGTGGCCGACCCAAATTTCTTTGG
CGTCTACACCCGTGTCAACAGTGTGATCAACTGGATCCAGCAGGTGCTGACCTGAGGGCTGTTCTACAGA
GCTGGACCTGCTCCAGGCCAAGTTCAGGGTGTCCACCCAGCCAGGACACAAGTATTCTGGGGCAAGTGA
CCCTGCTAAGGCCGTGTTTCCCTCAGGCCCTACCCAGTGACAGTACAGAGAAGGATGTGAGCTGGTGGTTA
GGATGCTCTCTGAGGTCCAGGGCCAGCCTCGGCTAGGTTTCACTTCTAACCCCTTCTTATTCTAGTCCT
TTCCCTTCCCTGCTCTCTACCACTGTTTTGGAGTGGGGTCTGGCGGCCATGACCTTGGCTCCGGGTCTCT
GTAGGAAAGAAAGATCCTTCCCTTGCAAAAGCCTCTTGGGGGAAGTGCACAGAGAAAGAGGTGCCCTC
TATCAAGGCTCTATCAGAGCCCTTGTGCTGCCAAGTGGGCTGTACTCTAAGCCAAATCACCGGGCAGCC
TCAGCTGCAGATGCTGTGAGCTCTGCTGCTACAGGGGCTCCTGCCATTCACTGGAGGCCCACTG
TCTGTTCTGGGAATAAAGCACTTGACCAAGCCCTGACACTGAAAAAAAAAAAAA

```


도면10

```

SEQ ID NO:3
>gi|194474097|ref|NM_001130556.1| 라투스 노르베기쿠스 막관통
프로테아제, 세린 6 (Tmprss6), mRNA
ATTGTCCGTCTGGACCTGACAGGAGGCCCATGGAACCTTGGGGCCACAGGCCACAGGGGACAAGGGCCAG
ACACCCCAAGTCATGGTTCCAGGCTATTGATCCAACCTAAGCTGGCCAGTTGTGGGTGGAGAGACCTTGGC
CTGGATAAACAGAGGGCTCCAGGCTGTGTTCAAGGCCAGCACCTACCTTCCACTCTTGAAGATGCCAAG
ATGTTTCCAGCTCCCTGTCTACCAAGGATGCCACCGCTGAGGTTCCCAAGCAGCTGGTGGTCAGGGT
GATGGAGGTGATGGAGAGGAAGCTGCAGAGCCAGAGGGGGTGTTCAGGGCCCCAGAAACGCCAAGAGAA
AAGACAGGGACTACGTCGCTTACACCACTGTTGCTGGTCTTGGCTGCGTTGGCTTCGGCAGGAGTCAT
GCTCTGTTATTCTTAGGGTACAAGGCCGAAGTGACCATAAGCCAGGTGTACTCTGGCAGCCTCCGGGTG
CTCAACCGCCATTTTTCACAGGACTTGGCCCGACGGGAGTCTATTGCTTTCGCACTGAAACTGCCAAAG
CCAGAAGATGTTCCAAGAGCTGGTTGCCAGCACCCGCTTGGGTACTTACTACAACTCCAGTTCCATCTA
CGCCTTTGGGGAGGGACCCCTTATCTGCTTCTTCTGGTTTCATCCTTGACATCCCCGAGTACCAGCGACTG
ACCCTGAGCCCTGAGGTGGTGGCGGAGCTCCCTGGTGGGTGAGCTACTGTCCACAGCTCAGCCTTGGCTT
CCTATAGGACCGAATATGAGGTGGACCCGGAAGGCCCTGGTGATACTAGAAGCCAGCGTGAACGACATAGT
CGTACTGAATTCCACGCTGGGCTGTACCGCTACAGCTACGTGAACCCGGGGCCAGGTCTCCGGTTGAGG
GGGCCCGACAGCAGACCACTAGCTGCCCTGTGGCACCTGCAGGGGGCCGAGGACCTCATGCTCAAAGTGC
AGCTAGAGTGGACTCGGGTTGATTGCAGAGACAGGGTGGCGATGTACGACGAGCTGGGCCCTGGAGAA
GAGACTTATCACTCGGTCTATGGGTGCAGCCGCCAGGAACCCGTGATGGAGGTGCTGGCGTCCGGGCTCT
GTGATGGCCGTGGTGTGGAGAGAGGGCTTGATAGCTTCTATGACCTTTTCTGCTCTCAGTGAAGTCTG
TGGCCTTCCAGGACTGCCAGGTGAACCTGACCTGGGAAGGCCGGCTGGATCCACAGGGCTTCTCCGTAC
ACCCTACTACCCAGTTACTACTCGCCAGTACCCACTGCTCCTGGCATCTCAGGTTCCCTCTCTGGAC
TATGGCTTGGCACTCTGGTTTGACGCCATGCACTGAGGAGGCAGAACTACAACCTACTATGTACTCAGG
GCCAGTGGATGATCCAGAAGAGGACAGCGCTATGGCTTCCGTACCTGCAGCCATATGCTGAGAGGATCCC
CGTGGTGGCCTCGGATGGTATCACCATCAACTTCACTCCAGATCTCCCTCACAGGGCCGGGTGTGCAA
GTGTACTACAGCTTGTAACAACCAATCAGACCCCTGCCCTGGAGAGTTCTCTGCTCTGTGAATGGATTGT
GTGTCCTGCTTGTGACGGAATCAAGGACTGCCCAACGGCCCTGGATGAGAGGAAGTGTGTCTGCAGAGC
CATGTTCCAGTGCACAGAGGACAGCAGCTGCATCTCACTGCCGAGAGTCTGTGACCGGCAGCCGACTGT
CTCAATGGTAGCGACGAAGAGCAGTGCCCAAGAGGAGTGCCCTGTGGGACATTCACTTTCCAGTGTGAGG
ACCGGAGCTGTGTGAAGAAGCCCCAACCCGAGTGTGACGGGCAGGCAGACTGCAGGGATGGCTCGGATGA
GGAGCACTGTGACTGTGGCTCCAGGGCCCCCTCCAGCCGCATTGTGGGCGGGGCCATGTCTCGGAGGGT
GAGTGGCCCTGGCAGGCCAGTCTCCAGATTCCGGGTGACACATCTGTGGGGGGGCTCTCATCGCTGACC
GCTGGGTCATAACAGCCGCTCACTGCTTCCAGGAGGACAGCATGGCCTCCCCGAGGCTGTGGACCGTGT
TCTGGGAAAGATGCGGCAGAAATTCAGCTGGCCGGGCGAGGTGTCTTCAAGGTGAGCCCGCTGTTCCTG
CACCCGTATCATGAGGAGGACAGCCATGACTACGACGTGGCCCTGCTGCAGCTGGACCAACCTGTGGTGT
ACTCGGCCACCGTGCCGCCCGTCTGCTGCCCGCACGCTCTCACTTCTTTGAGCCAGGCCAGCACTGCTG
GATCACAGGCTGGGGAGCCAGCGAGAGGGTGGTCTGGTAGCAGCACCTTCAGAAGGTGGATGTGCAA
CTGATCCCTCAGGACCTGTGCAATGAGGCCCTACCGTTACCAGGTGACCCACGCATGCTCTGTGCTGGTT
ATCGCAAGGGCAAGAAAGATGCTGTCAGGGCGACTCTGGAGGCCCACTGGTTTGAAGGAGCCAGGTG
ACCACCCAGCCAGGGCACAAAGTATTCGGGGCGAGCGACCCTGCTAAGGCCTGTCCCTCATGCTTACCC
CAGGGACAGTACAGAGAAGGATGTCACTGGTGGTTAGGATGCCCTCCAGGGGCTAGCCTCAGCTCGGCCT
CACTTCCAACCCCTTTCTTATTCTAGTCTTTCCCTCTCCCTCTCTACTGCTGTTTTGGGGTGGGGTCTG
GTGGCAATGATGCTGGTTCCAAGGCTGTGGGAAAGTAAGATTCCTTCCCTTGCAAAAGCCTCTAGGGG
GAAGTGGATCCGAGAAAGAGGTGCTCTATCAAGGCTCTGTGAGAGCCCTTGAGACTGCCAAGTAGGGC
CATACCGTAAGCCAAATCATGGGGCAGCCTCAGCTGCGGGTGCCTGCTGTGCTCTGCTGTACAGGGCC
CTCCCTGCCATTCACTGGAGGCCCACTGTCTTCCGGAATAAAGCAGTTGGCCAAGC

```

도면11

SEQ ID NO: 4
 >gi|297260989|ref|XM_001085203.2| 예상: 마카카 몰라타 막관통 프로테아제, 세린 6,
 전사물 변이체 3 (TMPRSS6), mRNA
 CAGGATGCCTGTGGCCAAGGCCCCCCAGGTGGCTGGTGGGCAGGGGGACGGAGGTGATGGCGAGGAAGCG
 GAGCCAGAGGGGATGTTTCGAGGCCCGTGAGGACTCCAAGAGAAAAGCCCGGGGCTACCTCCGCCIGGCGC
 CCCTGTGGCTGACCTGGTTGTGCTGACTTCAGTGGGGGTGCTACTCTGGTATTTCTTAGGGTACAAGGC
 GGAGGTGACGGTCAGCCAGGTGTACTCAGGCAGCCTGCGCGTGCTCAATCGCCACTTCTCCCAGGATCTT
 ACCCGCCGGAATCCAGTGCCTTCCGAGTGAAACCGCCAAAGCCAGAAGATGCTCAAGGAGCTCATCG
 CCAGCACCCGCTGGGAACCTATTACAACCTCCAGCTCCGTCATTCTTTGGGGAGGGACCGCTCACCCTG
 CTTCTTCTGGTTCATTCTCCAAATCCCCGAGCACCGCCGGCTGATGCTGAGCCCCGAGGTGGTGCAAGCA
 CTGCTGGTGGAGGAGCTGCTGTCCACAGTCAACAGCTCGGCGGCTGTCCCCTACAGGGCCGAGTACGAAG
 TGGACCCCGAGGGCCTAGTGATCTTAGAAGCCAGTGTGAAAGACATAGCTGCACTGAATTCCACGCTGGG
 TTGTTACCGCTACAGCTACGTGGGCCAGGGTCAGGTCTCCGGCTGAAGGGACCCGACCACCTGGCCTCC
 AGCTGCCTGTGGCAGCTGACGGGCCCCGAAGACCTCATGCTGAAACTCCGGCTGGAGTGGACGCTGGCCG
 AGTGCCGGGACCGACTGGCCATGTATGACGTGGCTGGGCCCCGGAGAAAGAGGCTCATCACCTCGGTGTA
 TGGCTGCAGCGCCAGGAGCCTGTGGTGGAAGTCTGGCATCGGGGGCCATCATGGCGGTGGTCTGGAAG
 AAGGGCCTGCACAGCTACTACGACCCCTTTATGCTCTCCGTGCAGTCCGTGGTCTTCCAGGCCTGCGAGG
 TAAACCTGACGCTGGATGACAGGCTGGACTCCCAGGGCGTCTCAGCACCCCGTACTTCCCCAGCTACTA
 CTCGCCCCGAACCCACTGCTCCTGGCACCTCACGGTGCCCTCTCTGGACTACGGCTTGGCCCTCTGGTTT
 GACGCCCTACGCACTGCGGAGGCGAGAAGTATGATTTGCCGTGCACCCAGGGCCAGTGGACGATCCAGAACA
 GGAGGCTGTGTGGCCTGCGCATCTTGCAGCCTTACGCCGAGAGGATCCCCGTGGTGGCCACGGCCGGCAT
 CACCATCAATTTACCTCCAGATCTCCCTCACAGGGCCTGGTGTGCGGGTGCACTATGGCTTGTACAAC
 CAGTCGGACCCCTGCCCTGGAGAGTTCCTCTGCTCTGTGAACGGAAGTCTGCGTCCCTGCTGTGATGGGG
 TCAAGGACTGCCCCAACGGCCTGGATGAGAGAACTGCGTTTGAGAGCCACATTCCAGTGCCAAAGAGGA
 CAGCACGTGCATCTCACTGCTTAAAGTCTGTGACGGGCAGCCTGACTGTCTCAACGGCAGCGATGAAGAG
 CGGTGCCAGGAAGGGGTGCCCTGCGGGACATTACCTTCCAGTGTGAGGACCAGAGCTGCGTGAAGAAGC
 CCAACCCACAGTGTGATGGGCGGCCGACTGCAGGGACGGCTCAGACGAGCAGCACTGTGACTGTGGCCT
 CCAGGGCCCTCCAGTCCGCAATTGTGTGGGGCCGTGTCCTCCGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGC
 CTCCAGGTTCCGGGTCGACACATCTGTGGGGCGCCCTCATCGCTGACCCTGGGTGATAACAGCTGCC
 ATTGCTTCCAGGAGGACAGCATGGCCTCCCCGGCGCTGTGGACGGTGTCTCTGGGCAAGGTGTGGCAGAA
 CTCGCGCTGGCCTGGAGAGGTGTCTTCAAGGTGAGCCGCTACTCTGCATCCGTATCACGAAGAGGAC
 AGCCACGACTACGACGTGGCGCTGTGTGAGCTCGACCAACCGGTGGTGGCTCGGCCGCCGTGCGTCCAG
 TCTGCTGCCCGCGCGCTCCCACTTCTTCGAACCCGGCTGCACTGCTGGATCACTGGCTGGGGCGCCCT
 GCGCGAAGGCGGCCCCACAGCAATGCTCTGCAGAAAGTGGACGTGAGTTGATCCACAGGACCTGTGC
 AGCGAGGCTATCGCTACCAGGTGACGCCACGCATGCTGTGTGCCGGCTACCGCAAGGGCAAGAAGGATG
 CCTGCCAGGGTGACTCGGGTGGTCCGCTGGTATGCAAGGCACTCAGTGGCCGCTGGTTCTTGGCAGGGCT
 GGTCAGCTGGGGCTGGGCTGTGGCGGCCCTAACTACTTCGGCGTCTACACCCGATCACAGGTGTGATC
 GGCTGGATCCAGCAAGTGGTGACCTGAGGAAGTGCCTCCCTGCAGAGCAGGTCCACCTC

도면12

SEQ ID NO:5
>gi|109094061|ref|XM_001085319.1| 예상: 마카카 몰라타 유사 막관통 프로테아제, 세틴 6, 전사물 변이체 4 (LOC696094), mRNA
CTTGAGCCACACCCAGTCCAGCTCTGGTGCTGCCCTCTGGGGTGAGCTGCCTTGAGATGCACTTCGCTC
CTCTGTGAAGTGTCTCGGCACCCACTTCCGGTCACTGCCGCTGATGTTGTTACTCTTCCACTCTGAAAG
GATGCTGTGGCCAAAGCCCCCAGGTGGCTGGTGGGCAGGGGGACGGAGGTGATGGCGAGGAAGCGGAG
CCAGAGGGGATGTTTCGAGGCCCGTGAGGACTCCAAGAGAAAAGCCCGGGGCTACCTCCGCTGGCGCCCC
TGTGGCTGACCTTGTGTTGTGCTGACTTCAGTGGGGTGCTACTCTGGTATTTCTAGGGTACAAGCGGA
GGTGACGGTCAGCCAGGTGTACTCAGGCAGCCTGCGCGTGCTCAATCGCCACTTCTCCAGGATCTTACC
CGCCGGGAATCCAGTGCTTCCGCACTGAAACCGCCAAAGCCAGAAAGTGTCAAGGAGCTCATCGCCA
GCACCCGCTGGGAATTTATTACAACCTCCAGCTCCGCTCTATTCCTTTGGGGAGGGACCGCTCACCCTGCTT
CTTCTGGTTTCACTTCCAAATCCCGAGCACCGCGCTGATGCTGAGCCCCAGGTGGTGACGGCACTG
CTGGTGGAGGAGCTGTGTCCACAGTCAACAGCTCGGCGGTGTCCCTACAGGGCCGAGTACGAAGTGG
ACCCCGAGGGCTAGTGATCTTAGAAGCCAGTGTGAAAGACATAGCTGCACTGAATTCCACGCTGGGTG
TTACCGCTACAGCTACGTGGGCCAGGGTCAGGTCTCCGGCTGAAGGGACCCGACCACCTGGCTCCAGC
TGCTGTGTGACCTTCCAGGGCCCCGAAGACCTCATGTGAACTCCGGCTGGAGTGGACGCTGGCCGAGT
GCCGGGACCGAGTGGCCATGTATGACGTGGCTGGGCCCTGGAGAAGAGGCTCATCACTCGGTGTATGG
CTGACGCCGCCAGGAGCTGTGGTGGAACTCTGGCATCGGGGGCATCATGGCGGTGGTCTGGAAGAAG
GGCTGACAGCTACTACGACCCCTTTATGCTCTCCGTGCACTGGTGGTCTTCCAGGCTGCGAGGTAA
ACCTGACGCTGGATGACAGCTGGACTCCAGGGCGTCTCAGCACCCCGTACTTCCCGAGCTACTACTC
GCCCCGAACCCACTGCTCTTGGCACCTCAGCGTCCCTCTCTGGACTACGGCTTGGCCCTCTGGTTTGAC
GCCTACGCACTGCGGAGGCGAGAAGTATGATTGCGGTCACCCAGGGCCAGTGGACGATCCAGAACAGGA
GGCTGTGTGGCTGCGCATCTGCAAGCTTACGCCAGAGGATCCCGTGGTGGCCACGGCCGCGCATCAC
CATCAATTTCACTTCCAGATCTCCCTCAGAGGGCTGGTGTGCGGGTGCACTATGGCTTGTACAACAG
TCGGACCCCTGCCCTGGAGATTTCTCTGCTCTGTGAACGGACTCTGCGTCCCTGCCGTGTATGGGGTCA
AGGACTGCCCAACGGCTGGATGAGAGAACTGCGTTTGAGAGCCACATTCAGTGCCAAAGAGGACAG
CACGTGCATCTCACTGCTTAAGGTCTGTGACGGGACGCTGACTGTCTCAACGGCAGCGATGAAGAGCGG
TGCCAGGAAGGGGTGCCCTGCGGGACATTCACCTTCCAGTGTGAGGACAGAGCTGCGTGAAGAAGCCCA
ACCCACAGTGTGATGGGCGGCCGACTGCAAGGACGGCTCAGACGAGCAGCACTGTGACTGTGGCTCCA
GGGCCCTCCAGTGCATTTGTGTGGGGCCGTGTCTCCGAGGGTGAGTGGCCATGGCAGGCCAGCCTC
CAGGTTTCGGGGTCGACACATCTGTGGGGCGCCCTCATCGCTGACCGCTGGGTGATAACAGCTGCCCAT
GCTTCCAGGAGGACAGCATGGCTCCCGGCGCTGTGGACGGTGTCTTGGGCAAGGTGTGGCAGAACTC
GCGCTGGCTGGAGAGGTGTCTTCAAGGTGAGCGGCTACTCCTGCATCCGTATCACGAAGAGGACAGC
CACGACTACGACGTGGCGCTGTGACGCTGACACCCGGTGGTGGCTCGGCCGCGTGCCTCCAGTCT
GCCTGCCCGCGCTCCCACTTCTTTCGAACCCGGCTGCACGTGCTGGATCACTGGCTGGGGCGCCCTGGC
CGAAGGCGGGCCCCACAGCAATGCTCTGCAGAAAGTGGACGTGCACTGATCCACAGGACCTGTGCAGC
GAGGCTATCGCTACAGGTGACGCCACGCTGCTGTGTGCCGGCTACCGCAAGGGCAAGAAGGATGCCT
GCCAGGGTGACTCGGGTGGTCCGCTGGTATGCAAGGCACTCAGTGGCCGCTGGTTCCGGCAGGGCTGGT
CAGCTGGGGCTGGGCTGTGGCCGGCTAACTACTTCCGGCTCTACACCCGATCACAGGTGTGATCGGC
TGGATCCAGCAAGTGGTGACCTGAGGAATGCCCCCTGCAGAGCAGGTCCACCTCTTGGACTCAGAGA
GCCCAGGGCAATTGCCAAGCAGGGGACAAGTATTCTGGGGGGAGGGGGCGCGAGCAGGCCCTGTGGTG
GCAGGAGGTGGCATCTTGTCTTGTCTTGTCTGCTCCAGTGATGGCAGGAGGATGGAGGAGTGCCAG
CAGCTGGGGGTCAAGACGTCCCTAGGGACCCAGGGCCACACCCAGCCCTTCTGCTCCCGATTCTCTCT
CCTCTGTCCCTTCTTCCACTGTGCTTATTGCAAGGAAGTGGCTCAGCAGCAAGAATGCTGGCTCTACG
TCCCCAGGAGTGTCTGAGCTGTGCCCCACTCTGTACAGAGGCTGCTTGGGCAGCCTTGCCTCTAGAGAGC
AGATGCCAGCTTCGGAAGCCCTGTCTAACTTGGGATCTGGGAATGGAAGGTGCCCCCATAGGAGGGGA
CCCTCACAGCCCCGGGACTGCCAGGTGGGCGGCTGCCACCGTAAGCCAAAAAGGTGGGGGAAGCCCTG
ACTCCAAGTCTTGGCCACCCCTGCTGCACTGGCCCCCTCACAGCCAGACCTCACCGGCAGGTG
AGCTCAGCTGCCCTTTGGAATAAAGCTGCCTGATCCAA

도면13

```

SEQ ID NO:6
>gi | 56682967 | ref | NM_153609.2 | 의 역보체
호모 사피엔스 막관통 프로테아제, 세린 6 (TMPRSS6), mRNA
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGATCAGGCAGCTTTATTCCAAAGGGCAGCTGAGCTCACCTCCCAGTGAGGG
TCTGGGCTGTGAGGGGCCAGGTGGCAGGCAGGGGTGGGGCAAGGACCCCTGGAGTCAGGACTTCCCCACCTTT
TGGCTTACAGTGGCAGCAGGCCACCTGGCAGTCTCCAGGGCTCTGAGGGTCCCCTCCGATGGGAGCACCTT
CCATTCACAGATCCCAAGTTAGACCAGGGGCTTCCGAAGCTGGAATCTGCTCTCTGGAGGCAAGGCTGCCCCA
AACAGCCTCTGTACAGAGTGGGGCGACCTCAGACACTCCTCGGGATGTAGAACCAGCATTCCTTGCTGCTGA
GCCACTGCCTTGATTAGGCAGCAGTGGAGGAAGGGGACGGAGGAGAGAGAATTGGGAGGCAGAAGGGCTGG
GTGTGGGCTGGGTCTCAGGGGACGCTTTGACCCCCAGCTGCTGGCACTTCTCCATCCTCTGCCATCACT
GGAGCAGACATCAGGGACGAGACAAGATGCCACCTCCTGCCACCACAGGGGCTGCTCTCTCCCCACCCCCC
GCCGAATACTTGTCCCCCTGCTTGGCAGTTGCCCTGGGCTCTCTGAGTCCAGGAGGTGGGCCCTGCTTTGC
AGGGGGGCAGTCTCTCAGGTTCACCATTGCTGGATCCAGCTGATCACACCTGTGATGCGGGTGTAGACGCCG
AAGTAGTTAGGCCGGGCCAGGCCAGGGCCCCAGCTGACCGCCCCGCCAGGAACAGCGGCCACAGTAGTGCC
TTGCACACCAGCGGACCACTGAGTCACCTGACAGGCATCCTTCTTGCCCTTGCGGTAGCCGGGCACACAGC
ATCGTGGCTGCTGCCAGGCTGAGTACCTCGCTGCACAGGTCTCTGAGGATCAACTGCACATCCACTTTC
TGCAGAGCGTTGCTGATGGGGCCGCCCTCGCGCAAGGCGGCCAGGCCGTAATCCAGCAGTGCAGGCCGGC
TCGAAGAAGTGGGAGCGCGGGGGCAGGCAGACGGGGCGCACGGCGGCCGAGCGCACCCACGGGTGGTGGAGC
TGCAGCAGCGCCACGTCGTAGTCATGGCTGTCTCTCTGTTGTTACGGGTGACGGGTCAGGAGCAGCGGGCTCACCTTG
AAGGACACCTCTCCAGGCCAGCGGGAGTTCTGCCACACCTTGCCAGGAACAGGTCCACAGCACCGTGGAG
GCCATGCTGTCTCTCTGGAAGCAGTGGGCAGCTGTTATCACCCAGCGGTGACGATGAGGGCCCCCCCCACAG
ATGTGTGACGCCGAACCTGGAGGCTGGCCTGCCATGGCCACTCACCTCGGAGGACACAGCTCCACCAACA
ATGCGGGCTGGAGGGGGCCCTGGAGGCCACAGTCACAGTGTCTCTCATCCGAGCCGTCCTGCACTGCGGGCCGC
CCATCACACTGCGGGTTGGGCTTCTTACGCGAGCTCCGGTCTCACACTGGAAGGTGAATGTCCACATGGC
ACCCCTTCTGCGCACTGCTCTTCTGCTGCTGCGGTTGAGACAATCAGGCTGCCCATCACAGACCTTGGGCAGT
GAGATGATGTGCTGTCTCTTTGCACTGGAATGTGGCTCTGCAAACGCAGTTCTCTCATCCAGGCCGTTG
GGGCAGTCTCTGACCCATCACAGGCAGGGACACAGAGTCCATTACAGAACAGAGGAACCTCTCCAGGGCAG
GGTCCGACTGTTGTACAAAGCCATAGTGCACCCGACACCGGGGCCGGGTGAGGGAGATCTGGGAGGTGAAG
TTGATGTTGATCCCGGCCGTGGCCACCACGGGGATCCTCTCGGGCTAGGGCTGCAGGATGCGCAAGCCACAC
AGCCTCCTGTTCTGGATCGTCCACTGGCCCTGGGTGCACGGCAAATCATACTCTGCTCTCTCAGTGCATAG
GCATCAAACCAGAGGGCCAGGCCGTAGTCCAGAGAGGGCACCGTGAGGTGCCAGGAGCAGTGGGTTTGGGGC
GAGTAGTAGCTGGGGAAGTACGGGGTGTGAGGACGCCCTGGGAGTCGAGGCTGTTGTCCAGCGTCAGGTTT
ACTTCACAGGCCTGGAAGACCAACCGGCTGCACGGAGAGCACGAAGGGGTCTGATGAGCTGTGAGGCCCTTC
TTCCAGACGACCGCCATGATGGCCCGGCAGCCAGAACCTCCACCACGGGCTCCTGGCGGCTGCAGCCGTAC
ACCGAGGTGATGAGCCTCTCTCCAGGGGCCCGGCCACGTCATACATGGCCAGTCCGTCCCGGCACCTTGCC
AGCGTCCACTCCAGCCGAGTTTGGAGCATGAGGTCTTGGGGCCCTGCAGGTGCCACAGGCAGCTGGAGGCC
AGGTGGTCAGGCCCTTCAGCCGGAGGACCTGGCCCTGGCCACGTAAGTGTAGCGGTAAACAACCCAGCGTG
GAATTCATGCACTATGCTTTTCACTAGGCTTCCAGGATCACTAGGCCCTCGGGGTCCACTTCGTACTCG
GCCCTGTAGGGGACGGCAGCCGAGCTGTTGACTGTGGACAGCAGCTCTCCACCAGCAGTGCCTGCACCACT
TCGGGGCTCAGCATCAGCCGGCGGTGCTCGGGGATTGGAGAATGAACCAGAGAAGCAGGTGAGGGGTCCC
TCCCCAAAGGAATAGACGGAGCTGGAGTTGTAGTAAGTTCCAGGCGGGTGC TGGTGATGAGCTCCTTGAGC
ATCTTCTGGGCTTTGGCGGTTTCACTGCGGAAGGCACTAGATTCCCGGCGGGTAAGATCTGGGAGAAGTGG
CGATTGAGTACAGCAGACTGCCTGAGTACACCTGGCTGACCATCACTCCGCCTTGTACCTTAGGAAATAC
CAGAGTAGCACCCCCGCCAAGCCAGCACGAGCAGGGCCAGCAGCACAAACAGGGGCACCAGGCGGAGGTAG
CCCCGGGCTTTTCTCTTGAGTCTCTACAGGCCCTTGAACATCCCCCTCCGGCTCCGCTTCTCGCCATCACCT
CCGTCCCCCTGCCCGCCAGCCACCTGGGGGGCTCGGCCACGGGCATCCTTTTGAGTGGAAAGTAACAAC
ATCAGGCGGCAGTGAAGTGGGTGCCGAGACAGCTCACAGAGGAGGAAGTGCATCTCAGGTGAGCTC
GCACCAGAGGGCAGGCACAGAGCTGGACTGGGTCTGGCTCAAG

```


도면14

```

SEQ ID NO:7
>gi | 125656151 | ref | NM_027902.2 | 의 역보체
무스 무스쿨루스 막관통 세린 프로테아제 6 (Tmprss6), mRNA
TTTTTTTTTTTTTTTCAGTGTCAAGGCTTGGTCAAGTGCTTTATTCCCAGAAACAGACAGTGGGCTCCAGTG
AATGGCAGGGAGGGCCCTGTAGCAGGCAGAGCTTCAGCAGGCATCTGCAGCTGAGGCTGCCCGGTGATTTGG
CTTAGAGTACAGCCCACTTGGCAGACTCAAGGGCTCTGATAGAGCCTTGATAGAGGCACCTTCTTTCTCTGT
GCAGTTCCTCCCAAGAGGCTTTTGCAAGGGGAAGGATTCTTTCTTTCTACAGAGACCCGGAGGCCAAGGTCA
TGGCCGCCAGACCCCACTCCAAAACAGTGGTAGGAGCAGGGAGGGGAAAGGACTAGAATAAGAAAGGTTAG
AAGTGAAACCTAGCCGAGGCTGGCCCTGGACCTCAGGAGGCATCCTAACCAACCAGCTGACATCCTTCTCTG
TACTGTCACTGGGTAGGCTTGGGGAAACAGGCCTTAGCAGGGTCACTTGGCCCAAGAACTTGTGTCTCTG
GCTGGGTGGACACCTGAACTTGGCTGGAGGCAGGTCCAGCTCTGTAGAACAGCCCTCAGGTGAGCAGCTG
CTGGATCCAGTGTGATCAGCTGTGACACGGGTGTAGACGCCAAAGAAATTGGGTGGCCACAGCCAGGCC
CCAGCTAACCAACCTTGCAGGAACACAGCGGCCACTGGGCTCCCTGCAAAACAGTGGGCTCCAGAGTCAAC
CTGGCAGGCATCTTTCTTGGCTTGGGTAGCCAGCAGAGCATGCGTGGGGACACCTGGTAGCGGTAGGC
CTCACTGCAGAGGTCCTGAGGGACAGCTGTACGTCCACCTTCTGCAAGGTGTTGCTCACCAGGACACCCCTC
TGCTGGGTCCCTCAGGCTGTGATCAGCAGTGTGCTTGGCTTGGCTCAAAGAAGTGGGAGCGGGCAGGCAGGCA
GACGGGGCGCACAGTGGCCGAGTACACACGGGGTGGTGCAGCTGCAGCAGGGCCACGTCTGTAGTATGGCT
GTCTCTCTCGTGGTACGGGTGCAGGAACAGACGGCTCACCTTGAAGGACACCTCGCTTGGCCAGCGCGAGTT
CTGCCGATCTTTCCAGGAACACGGTCCACAGCTTCGGGGAGGGCCATGCTGTCTCTCTGGAAGCAGTGGGC
GGCCGTATAGACCCAGGCTGAGCTGAGAGCCGCCACACAGATGTGTGACCCGAATCTGGAGGCTGGC
CTGCCATGGCCACTCACCTCGGAGGACACGGTCCCGCCCAATAAGGCTGGAGAGGCCCTGGAGGCCACA
GTCACAGTGTGCTCATCTGAGCCGTCTCTGCAATCTGACTGGCCGTACACCTCTGGGTGGGCTTCTTTCAC
ACAGCTCCGGTCTCACACTGGAAGTGAATGTCCACAGGGCACTCTTCTTGGCACTGTTCTTCGTCACT
GCCATTGAGACAGTCGGCTGCGGTGACAGACTCTAGGCAGTGAAATGCAGCTGCTGCTCTTGGCACTG
GAACATGGCTCTGCAGACACAGTTCTCTCATCCAGGCCATTGGGGCAGTCTTGATCCCGTACACGCGAGG
GACACACAGTCCATTACAGAGCAGAGGAACCTACCAAGGGCAGGGGTCTGATTGGTTGTACAAGCTGTAGTA
CACTTGCACACCCGGGCTGTGAGGGAGATCTGGGAGGTGAAGTTGATGTTGACACCATCTGAGGCCACCAT
GGGGATCCCTCTCAGCATACTGGCTGAGGGTACGGGAAGCCACACAGCCCTCTGTTCTGGATCATCTCACTGGCC
CTGAGTACACAGTCGGTTGTACTTCTGCCTCTCAGTGCCTAGGCATCGAACCAGAGCGCCAAAGCCGTAGTC
CAGAGAGGGTACCGTGAGATGCCAGGAGCAGTGGGTACTGGGAGAGTAGTAACCTGGGTAGTAGGGTGTACG
GAGGAAGCCCTGTGTGTCCAGCCGGCCCTCCAGTGTCAAGTTCACTGGCAGTCTTGGAGGCCACAGACTT
CACTGAGAGCAGGAAGGGTCAATAGTAGCTATGCATGCCCTTTTCCACACCACGGCCATGACGGAGCCCGA
TGCCAGCACCTCCATCACAGGTTCTTGGCGGTGCACCCATAGACCGAGGTGATAAGTCTCTTCTCCAGGGG
CCCAGCTGCGTCTGATACCTGCCACCCCTGTCTCTGCAATCGACCCGGGTCCACTCCAGCCGCACTTTGATCAT
GAGGTCTTCGGGCCCTTGAGATGCCACAGGCAGCTTGTGGTCTGTGGTCAGGCCCCCTTCAATGGGAGGAC
CTGGCCCTGGGTTACATAGCTGTAGCGATAACAGCCAGCGTGGAAATTCAGTACGACTATGTGCTTCACT
GGCTTCCAGGATCACAGGCCCTTCCGGGTCCACCTCATATTCCGTTCTTATAGGAAGCCAGGGTTGAGCTGTT
GGACAGTAGCTCATTCACAGGAGCTTCGCGCACTACTTCAGGGCTCAGGGTCAGTCGTTGGTACTCAGGGAT
GTCAAGGATAAAACAGAAAGCAGGTGAGGGGTCCCTCCCCAAAGGAGTAGACAGAAGTAGAGTTGTAGTA
AGTACCCAGGCGGGTGTGGCAACAGTTCTTGGAGCATCTTCTGGGCTTTGGCAGATTCACTGCGGAAAGC
AATAGACTCCCGTCGGCCAGGTCCTGGGAGAAATGACGGTTGAGCACCCGGAGGCTGCCAGAGTACACCTG
GCTTACGGTCACTTCCGCTTTGTACCTAGGAAATACCAAGCATGACCCCTGCTGAGACACAGCGCAGCCAA
GACCAGCAACAGTGGCGTGAAGCGGACGTAGTCCCGGTTTTTCTCTTGTGTGTTTTTGGGGGCTTGAACCT
CCCCCTGGCTCAGCAGCTTCTCTCCATCACCCGCATCGCCCTGACCATCAGCCGCTTGGGGGACCTCGGT
GGTGGGCATCTCTGTAGAACAGGGGAGCTGGAAACATCTCGGCATCTTCAAGAGTGGAAAGGTAGGTGCCGGG
CCTGCACACAGGCCCTGGAGGCCCTCTGTTTATCCAGGCCAAGGTCTTCCACCCCAACTGGCCAGCTTAGGT
TGGATCAATGGCTGGAGCCATGGCTGGGGTGTCTGGCCCTTGTCCCTTGTGGCTGTGGCCCAAGTTCCA
TGGGCTCTCTCTGTCAAGTCCAGGGCGACAATGAACT

```


도면15

SEQ ID NO:8
>gi | 194474097 | ref | NM_001130556.1 | 의 역보체
라투스 노르베키쿠스 막관통 프로테아제, 세린 6 (Tmprss6), mRNA
GCTTGGCCAACTGCTTTATTTCCGGAACAGACAGTGGGCCTCCAGTGAATGGCAGGGAGGGCCCTGTAGCAG
GCAGAGCACAGCAGGCCACCCGAGCTGAGGCTGCCCATGATTTGGCTTACGGTATGGCCCTACTTGGCAGT
CTCAAGGGCTCTGACAGAGCCTTGATAGAGGCACCTTCTTTCTCGGATCCAGTTCCTCCCTAGAGGCTTTTGC
AAGGGGAAGGAATCTTACTTTCCACAGACCTTGGAACACAGCATCATTGCCACCAGACCCCAACCAAAACA
GCAGTAGGAGGGGAGAGGGGAAAGGACTAGAATAAGAAAGGTTGGAAGTGAAGCCGAGCTGAGGCTAGCCC
CTGGAGGCATCCTAACCCAGCTGACATCCTTCTCTGTACTGTCCCTGGGGTAGGCATGAGGGGACAGGCC
TTAGCAGGGTCGCTCGCCCCAGAATACTTGTGCCCTGGCTGGGTGGTCACCTGGGCTCCTTGCAAACCAAGTG
GGCCTCCAGAGTCGCCCTGGCAGGCATCTTTCTTGCCCTTGCGATAACACAGCACAGAGCATGCGTGGGGTCA
CCTGGTAACGGTATGGCCTCATTGCACAGGCTCTGAGGGATCAGTTGCACATCCACCTTCTGAAGGGTGCTGC
TACCAGGACCACCTCTCGCTGGGCTCCCCAGCCTGTGATCCAGCAGTGTGCGCTGGCTCAAAGAAGTGAG
AGCGTGGGGCAGGCAGACGGGGCGCACGGTGGCCGAGTACCCACAGGGTGGTCCAGCTGCAGCAGGGCCA
CGTCGTAGTCATGGCTGTCTCTCATGATACGGGTGCAGGAACAGGGCGGCTCACCTTGAAGGACACCTCGC
CCGGCCAGCGTGAATTCTGCCGCACTTTTCCAGAAACACGGTCCACAGCCTCGGGGAGGCCATGCTGTCTCT
CCTGGAAGCAGTGAGCGGCTGTTATGACCCAGCGGTGACGATGAGAGCCCCCACAGATGTGTCGACCCCC
GAATCTGGAGACTGGCCTGCCAGGGCCACTCACCTCCGAGGACATGGCCCCGCCACAATGCGGCTGGAGG
GGCCTGGAGGCCACAGTCACAGTGCTCCTCATCCGAGCCATCCCTGCAGTCTGCCTGCCCGTCACACTCGG
GGTTGGGCTTCTTACACAGCTCCGGTCCCTCACACTGGAAAGTGAATGTCCACAGGGCACTCCTTCTTGGC
ACTGCTCTTCTGCTGCTACCATTTGAGACAGTGGGCTGCCGGTCACAGACTCTCGGCAGTGAGATGCACGTGC
TGTCCTCTTGGCACTGGAACATGGCTCTGACAGACACAGTTCCTCTCATCCAGGCCGTTGGGGCAGTCCCTGA
TTCCGTCACAAGCAGGGACACACAATCCATTACAGAGCAGAGGAACCTCCAGGGCAGGGGTCTGATTGGT
TGTAACAAGCTGTAGTACACTTGCACACCCGGGCCCTGTGAGGGAGATCTGGGAGGTGAAGTTGATGGTGATA
CATCCGAGGCCACCCAGGGGATCCTCTCAGCATATGGCTGCAGGGTACGGAAGCCACATAGCCTCCTGTTCT
GGATCATCCACTGGCCCTGAGTACATAGTAGGTTGTACTTCTGCCCTCCTCAGTGCATAGGCGTCAAACCA
GTGCCAAGCCATAGTCCAGAGAGGAACCGTGAGATGCCAGGAGCAGTGGGTACTGGGCAGTAGTAACCTGG
GGTAGTAGGGTGTACGGAGGAAGCCCTGTGGATCCAGCCGGCCTTCCAGGGTCAGGTTACCTGGCAGTCTCT
GGAAGGCCACAGACTTCACTGAGAGCAGAAAGGTCATAGAAGCTATGCAAGCCCTTCTTCCACACCACGG
CCATGACAGAGCCCAGCGCCAGCACCTCCATCACGGGTTCTTGCCGGCTGCACCCATAGACCAGGATGATAA
GTCTCTTCTCCAGGGGCCCAGCTGCGTCGTACATCGCCACCCTGTCTCTGCAATCAACCCGAGTCCACTCTA
GCTGCACTTTGAGCATGAGGTCTCGGGCCCTGCAGGTGCCACAGGCAGCTAGTGGTCTGCTGGTCCGGGCC
CCCTCAACCGGAGGACCTGGCCGGGTTACGTAAGCTGTAGCGGTAACAGCCCAGCGTGGAATTCAGTACGA
CTATGTCGTTACGCTGGCTTCTAGTATACCAAGGCCCTTCCGGGTCACCTCATATTGCGTCTATAGGAAG
CCAAGGCTGAGCTGTTGGACAGTAGCTCACCCACAGGAGCTCGCGCACCACTCAGGGCTCAGGGTCAGTC
GCTGGTACTCGGGGATGTCAAGGATGAACCAAGAGAGCAGATAAGGGGTCCCTCCCCAAAGGCGTAGATGG
AACTGGAGTTGTAGTAAGTACCAAGCGGGTGCTGGCAACCAAGCTCTTGGAACATCTTCTGGGCTTTGGCAG
TTTCAGTGCAGAAAGCAATAGACTCCCGTCGGGCCAAGTCCGTGTAAGAAATGGCGGTTGAGCACCCGGAGGC
TGCCAGAGTACACCTGGCTTATGGTCACTTCCGCCCTGTACCTTAGGAAATACCAGAGCATGACTCCTGCCG
AAGCCAACGCAGCCAAAGACCAGCAACAGTGGTGTGAAGCGGACGTAGTCCCTGTCTTTCTCTTGCGCTTTC
TGGGGGCCCTTGAACACCCCTCTGGCTCTGCAGCTTCTCTCCATCACCTCCATCACCTTGACCACCAAGCTG
CTTGGGGAACCTCAGCGGTGGGCATCTCGGTAGAACAGGGGAGCTGGAACATCTTGGCATCTTCAAGAGTG
GAAGGTAGGTGCTGGGCCGTAACACAGGCCTGGAGGCCTCTGTTTATCCAGGCCAAGGTCTCTCCACCACA
ACTGGCCAGCTTAGGTTGGATCAATAGCCTGGAACCATGACTGGGGTGTCTGGCCCTGTGCCCTCTGTCGCT
GTGCCCCAAGTTCCATGGGCCCTCTGTGAGTCCAGGACGGACAAT

도면16

SEQ ID NO:9

>gi | 297260989 | ref | XM_001085203.2 | 의 역보체

예상: 마카카 몰라타 막관통 프로테아제, 세린 6, 전사물 변이체 3
(TMPRSS6), mRNA

GAGGTGGGACCTGCTCTGCAGGGGGGCGAGTTCCTCAGGTACCACTTGCTGGATCCAGCCGATCACACCTGT
GATGCGGGTGTAGACGCCGAAGTAGTTAGGCCGGCCACAGCCAGGCCCCAGCTGACCAAGCCCTGCCAGGAA
CCAGCGGCCACTGAGTGCCCTTGCAACAGCGGACCACCCGAGTCACCCCTGGCAGGCATCCTTCTTGCCCTT
GCGGTAGCCGGCACACAGCATGCGTGCGTCACCTGGTAGCGATAGGCCCTCGCTGCACAGGTCTGTGGGAT
CAACTGCACGTCACCTTTCTGCAGAGCATTTGCTGGTGGGGCCGCCCTTCGCGCAGGGCCGCCAGCCAGTGAT
CCAGCAGTGCAAGGCCGGTTTCAAGAAGTGGGAGCGCGCGGGCAGGCAGACTGGACGCACGGCGGGCCAGCG
CACACCGGGTGGTCTGAGCTGCAACAGCGGCCACGTCGTAGTCGTGGCTGTCTCTTCGTGATACGGATGCAG
GAGTAGGCGGCTCACCTTGAAGGACACCTCTCCAGGCCAGCGCGAGTTCTGCACACCTTGCCAGGAACAC
CGTCCACAGCGCCGGGAGGCCATGCTGTCTCTTGAAGCAATGGGCAGCTGTTATCACCCAGCGGTGAGC
GATGAGGGCGCCCCACAGATGTGTGACCCCGAACCTGGAGGCTGGCTGCTGATGGCCACTCACCCCTCGGA
GGACACGGGCCACCAACAAATGCACTGGAGGGCCCTGGAGGCCACAGTCACAGTGCTGCTGCTGTGAGCC
GTCTCTGCAGTCGGGGCCGCCATCACACTGTGGGTTGGGCTTCTTACGCGAGCTCTGGTCTTCACTGGAA
GGTGAATGTCCGCGAGGGCACCCCTTCTGGCACCGCTCTTCATCGCTGCCGTTGAGACAGTCAGGCTGCC
GTACACAGACCTTAAGCAGTGAGATGCACGTGCTGTCTCTTGGCACTGGAATGTGGCTCTGCAACCGCAGTT
TCTCTCATCCAGGCCGTTGGGGCAGTCTTGACCCCATCACAGGCAGGGACGCAGAGTCCGTTACAGAGCA
GAGGAACCTCTCCAGGGCAGGGGTCCGACTGTTGTACAAGCCATAGTGACCCGCACACCAGGCCCTGTGAG
GGAGATCTGGGAGGTGAAATTGATGGTGATGCGGGCCGTGGCCACCACGGGGATCCTCTCGGCGTAAGGCTG
CAGGATGCGCAGGCCACACAGCCTCCTGTTCTGGATCGTCCACTGGCCCTGGGTGCACGGCAATCATACTT
CTGCTCCGCGAGTGCGTAGGCGTCAAACAGAGGGCCAAAGCCGAGTCCAGAGAGGGCACCGTGAGGTGCCA
GGAGCAGTGGGTTTCGGGGCAGTAGTAGCTGGGGAAGTACGGGGTGCTGAGGACGCCCTGGGAGTCCAGCCT
GTATCCAGCGTCAGGTTTACCTCGCAGGCCGGAAGACACCGACTGCACGGAGAGCATAAAGGGGTGTA
GTAGCTGTGCAGGCCCTTCTCCAGACCACGCCATGATGGCCCCGATGCCAGGACTTCCACCACAGGCTC
CTGGCGGCTGCAGCCATACACCGAGGTGATGAGCCTCTTCTCCAGGGGCCAGCCAGTCTATACATGGCCAG
TCGGTCCCGGCACTCGGCCAGCTCCACTCCAGCCGAGTTTACGATGAGGTCTTCGGGGCCCTGCAGGTG
CCACAGGCAGCTGGAGGCCAGGTGGTCCGGTCCCTTCCAGCCGAGGACCTGACCTGGCCACGTAGCTGTA
GCGGTAAACACCCAGCGTGGAAATTCAGTGACGATATGCTTTTACACATGGCTTCTAGGATCACTAGGCCCTC
GGGTCCACTTCGTACTCGGCCCTGTAGGGGACAGCCGCGGAGCTGTTGACTGTGGACAGCAGCTCCTCCAC
CAGCAGTGCTTGCACACCTCGGGGCTCAGCATCAGCCGGCGGTCTCGGGGATTTGGAGAATGAACAGAA
GAAGCAGGTGAGCGGTCCCTCCCAAAGGAATAGACGGAGCTGGAGTTGTAATAAGTTCCAGGCCGGGTGCT
GGCGATGAGCTCCTTGAGCATCTTCTGGGCTTTGGCGGTTTCACTGCGGAAGGCACTGGATTCCCGGGGGGT
AAGATCCTGGGAGAAGTGGCGATTGAGCACGCGCAGGCTGCCTGAGTACACTGGCTGACCGTCACTCCGC
CTTGTAACCTAGGAAATACAGAGTAGCACCCCACTGAAGTCAGCACAAACAGGTCAGCCACAGGGGCGC
CAGGCGGAGGTAGCCCCGGGCTTTCTCTTGGAGTCTCACGGGCTCGAACATCCCTCTGGCTCCGCTTC
CTCGCATACCTCCGTCCCTCTGCCACCAACCCACCTGGGGGGCTTGGCCACAGGCATCTCTG

도면17

SEQ ID NO:10
>gi | 109094061 | ref | XM_001085319.1 | 의 역보체
예상: 막관통 프로테아제, 세린 6, 전사물 변이체 4와 유사한 마카카 몰라타 (LOC696094), mRNA
TTGGATCAGGCAGCTTTATTCCAAAGGGCAGCTGAGCTCACCTGCCGGTGAGGGTCTGGGCTGTGAGGGGCC
AGGTGGCAGGCAGGGGTGGGGCAAGGACCTTGGAGTCAGGGCTTCCCCACCTTTTGGCTTACGGTGGCAG
CCGGCCACCTGGCAGTCCCCGGGGCTGTGAGGGTCCCCCTCTATGGGGGCACCTTCCATTCCCAGATCCCA
AGTTAGACCAGGGGCTTCCGAAGCTGGCATCTGCTCTCTAGAGGCAAGGCTGCCAAGCAGCCTCTGTACAG
AGTGGGGCAGAGCTCAGACACTCTTGGGGACGTAGAGCCAGCATTCTTGCTGCTGAGCCACTTCTTGCAAT
AGGCAGCAGTGGAGGAAGGGGACAGAGGAGAGAGAATCGGAGGGCAGAAGGGCTGGGTGTGGGCTGGGTCC
CTAGGGGACGTCTTGACCCCCAGCTGCTGGCACTCCCTCATCTCTGCCATCACTGGAGCAGACATCAGGG
ACAAGACAAGATGCCACCTTCGTGCCACACAGGGCCTGCTCGCGCCCCCTCCCCCAGAATACTTGTCCCC
CTGCTTGGCAATTGCCCTGGGCTCTCTGAGTCCAAGAGGTGGGACCTGCTCTGCAGGGGGGAGTTCTCTCAG
GTCACCACTTGTGTGGATCAGCCGATCACACCTGTGATGCGGGGTAGACGCCGAAGTAGTTAGGCCGGCCA
CAGCCCAGGCCCCAGCTGACCAGCCCTGCCAGGAACAGCGGCCACTGAGTGCCCTTGCAATACCAGCGGACCA
CCCCAGTCAACCTGGCAGGTATGCTTCTTGCCCTTGCGGTAGCCGGCACAAGCATGCGTGGCGTCACTGG
TAGCGATAGGCCCTCGCTGCACAGGTCTGTGGGATCAACTGCACGTCCACTTTCTGCAGAGCATTGCTGGTG
GGGCGCCCTTCGCGCAGGGGCGCCAGCCAGTGATCCAGCAGTGCCAGGCCGGGTTCGAAGAAGTGGGAGCGC
GCGGGCAGGCAGACTGGACGCACGGCGGCCGAGCGCACCCACCGGGTGGTTCGAGCTGCAACAGCGCCACGTCTG
TAGCTGGCTGTCTCTCTGCTGATGCGAGGAGTAGGGCGCTCACCTTGAAGGACACCTCTCCAGGC
CAGCGCAGGTTCTGCCACACCTTGCCAGGAACACCGTCCACAGCGCCGGGAGGCCATGCTGTCTCTCTGG
AAGCAATGGGCAGCTGTATACCCAGCGGTGACGATGAGGGCGCCCCACAGATGTGTCGACCCCGAACCT
TGGAGGCTGGCTGCCATGGCCACTCACCTCGGAGGACAGGGCCCCACCAACAATGCGACTGGAGGGGCC
TGGAGGTCACCTGGCAGGTATGCTTCTGCTGAGCCGCTCCCTGCACTGCGGGCGCCCATCACTGTGGGTG
GGCTTCTTACGCAGCTCTGGTCTCACACTGGAAGGTGAATGTCCCGCAGGGCACCCCTTCTTGGCACCGC
TCTTCATCGCTGCCGTGTGAGCAGTCAGGCTGCCCGTCACAGACCTTAAGCAGTGAGATGCACGTGCTGTCC
TCTTGGCACTGGAATGTGGCTCTGCAAAACGAGTTTCTCTCATCCAGGCCGTGGGGCAGTCTTGACCCCA
TCACAGGCAGGGACGACAGAGTCCGTTTACAGAGCAGAGGAACCTTCCAGGGCAGGGGTCCGACTGGTTGTAC
AAGCCATAGTGACCCGCACACAGGCCCTGTGAGGGAGATCTGGGAGGTGAAATTGATGGTGATGCCGGCC
GTGGCCACCACGGGGATCTCTCGGCGTAAGGCTGCAGGATGCGCAGGCCACACAGCCTCTGTCTTGGATC
GTCCACTGGCCCTGGGTGACCGGCAATCATACTTCTGCTCCGCACTGCGTAGGCGTCAAAACAGAGGGCC
AAGCCGTAGTCCAGAGAGGGCACCGTGTGAGGTGCCAGGAGCAGTGGGTTCGGGGCGAGTAGTAGCTGGGGAAG
TACGGGGTGTCTGAGGACGCCCTGGGAGTCCAGCCTGTATCCAGCGTCAAGGTTTACCTCGCAGGCCCTGGAAG
ACCACCGACTGCACGGAGAGCATAAAGGGGTGCTAGTAGCTGTGACAGGCCCTTCTTCCAGACCACCGCATG
ATGGCCCCCGATGCCAGGACTTCCACCACAGGCTCTGGCGGGTGCAGCCATACACCGAGGTGATGAGCCTC
TCTCCAGGGGGCCAGCCAGCTCATATGAGTGGCCAGTCCGTTCCCGGCACTCGGCCAGCGTCCACTCCAGCCGG
AGTTTCAGCATGAGGTCTTCCGGGGCCCTGCAGGTGCCACAGGCAGCTGGAGGCCAGGTGGTCCGGTCCCTTC
AGCCGGAGGACCTGACCTTGGCCACGTAGCTGTAGCGGTAAACAACCCAGCGTGGAAATTCAGTGCAGCTATG
TCTTTCACACTGGCTTCTAGGATCACTAGGCCCTCGGGGTCCACTTCGTACTCGGCCCTGTAGGGGACAGCC
GCCAGCTGTGTACTGTGGACAGCAGTCTCTCCACCAGCAGTGCCTGACCACTTCGGGGCTCAGCATCAGC
CGGCGGTGCTCGGGGATTGGAGAATGAACAGAAGAAGCAGGTGAGCGGTCCCTCCCCAAAGGAATAGACG
GAGCTGGAGTTGTAATAAGTTCACAGGGGGTGTGCGCATGAGCTCTTGAGCATCTTCTGGGCTTTGGCG
GTTTCACTGCGGAAGGCACTGGATTCCCGGCGGGTAAGATCTGGGAGAAGTGGCGATTGAGCACGCGCAGG
CTGCCGTAGTACACTTGGCTGACCGTCACTCCGCTTGTACCTTAGGAAATACCAGAGTAGCACCCCCACT
GAAGTCAGCACAAACAGGGTCAGCCACAGGGGCGCCAGGCGGAGGTAGCCCCGGGCTTTTCTCTTGGAGTCC
TCACGGGCTCGAACATCCCTCTGGCTCCGCTTCTCGCCATCACCTCCGTCCTCCCTGCCCCACAGCCACC
TGGGGGGCTTGGCCACAGGCATCTTTTCAAGTGGAGAGTAACAATCAGGCGGCAGTGACCGGAAGTG
GGTCCGAGACAGTTTACAGAGGAGCGAAGTGATCTCAAGGCAGCTCACCCAGAGGGCAGGCACCCAGAGC
TGGACTGGGTGTGGCTCAAG

서열목록

SEQUENCE LISTING

<110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

<120> TMPRSS6 IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

<130> 121301-00720

<150> US 61/826,178

<151> 2013-05-22

<150> US 61/912,988

<151> 2013-12-06

<160> 1382

<170> KopatentIn 2.0

<210> 1

<211> 3212

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

cttgagccag acccagtcga gctctgggtgc ctgccctctg gtgcgagctg acctgagatg	60
cacttcctc ctctgtgagc tgtctcggca cccacttgca gtcactgccg cctgatgttg	120
ttactcttcc actccaaaag gatgcccgtg gccgaggccc cccaggtggc tggcgggcag	180
ggggacggag gtgatggcga ggaagcggag ccggaggggga tgttcaagc ctgtgaggac	240
tccaagagaa aagcccgggg ctacctccgc ctgggtgcccc tgtttgtgct gctggccctg	300
ctcgtgctgg ctctggcggg ggtgctactc tggtaattcc tagggtacaa ggcggaggtg	360
atggtcagcc aggtgtactc aggcagtctg cgtgtactca atcgccactt ctcccaggat	420
cttaccgcc gggaaatctag tgccttccgc agtgaaaccg ccaaagccca gaagatgctc	480
aaggagctca tcaccagcac ccgcctggga acttactaca actccagctc cgtctattcc	540
tttggggagg gacccctcac ctgcttcttc tggttcattc tccaaatccc cgagcaccgc	600
cggtgatgc tgagccccga ggtggtgcag gcactgctgg tggaggagct gctgtccaca	660
gtcaacagct cggtgccgt cccctacagg gccgagtacg aagtggaccg cgagggccta	720
gtgatcctgg aagccagtgt gaaagacata gctgcattga attccacgt gggttgttac	780
cgctacagct acgtgggcca gggccaggtc ctccggctga aggggcctga ccactggcc	840
tccagctgcc tgtggcacct gcagggcccc aaggacctca tgcacaaact ccggctggag	900
tggacgctgg cagagtgccg ggaccgactg gccatgtatg acgtggccgg gccctggag	960
aagaggctca tcacctcggg gtacggctgc agccgccagg agcccgtggt ggaggttctg	1020
gcgtcggggg ccacatggc ggtcgtctgg aagaagggcc tgcacagcta ctacgacccc	1080
ttcgtgctct ccgtgcagcc ggtggtcttc caggcctgtg aagtgaacct gacgtggac	1140
aacaggtctg actcccaggg cgtcctcagc acccgtact tcccagcta ctactgccc	1200
caaaccact gtccttgga cctcagggtg cctctctggt actacgctt ggccctctgg	1260
tttgatgcct atgcactgag gaggcagaag tatgatttgc cgtgcacca gggccagtgg	1320
acgatccaga acaggaggtg gtgtggcttg cgcacctgc agccctacgc cgagaggatc	1380
cccgtggtgg ccacggccgg gatcaccatc aacttcacct cccagatctc cctcaccggg	1440
cccgtgtgc ggggtgacta tggttgttac aaccagtcgg acccctgccc tggagagttc	1500

ctctgttctg tgaatggact ctgtgtccct gcctgtgatg gggccaagga ctgcccacac 1560
ggcctggatg agagaaactg cgtttgcaga gccacattcc agtgcaaaga ggacagcaca 1620
tgcatctcac tgcccaaggt ctgtgatggg cagcctgatt gtctcaacgg cagcgacgaa 1680
gagcagtgcc aggaaggggt gccatgtggg acattcacct tccagtgtga ggaccggagc 1740
tgcgtgaaga agcccaaccc gcagtgtgat gggcggcccg actgcaggga cggtcggat 1800
gaggagcact gtgactgtgg cctccagggc cctccagcc gcattgttgg tggagctgtg 1860

tcttccgagg gtgagtggcc atggcaggcc agcctccagg ttcggggtcg acacatctgt 1920
ggggggggccc tcatcgctga ccgctgggtg ataacagctg cccactgctt ccaggaggac 1980
agcatggcct ccacggtgct gtggaccgtg ttcctgggca aggtgtggca gaactcgcg 2040
tggcctggag aggtgtcctt caaggtgagc cgctgtctcc tgcacccgta ccacgaagag 2100
gacagccatg actacgactg ggcgctgctg cagctcgacc acccggtggt gcgtcggcc 2160
gccgtgcgcc ccgtctgcct gcccgcgcgc tcccacttct tcgagcccg cctgcactgc 2220
tggattacgg gctggggcgc cttgcgcgag ggcggcccca tcagcaacgc tctgcagaaa 2280

gtggatgtgc agttgatccc acaggacctg tgcagcgagg tctatcgcta ccaggtgacg 2340
ccacgcatgc tgtgtgccgg ctaccgcaag ggcaagaagg atgcctgtca gggtagctca 2400
ggtaggtccgc tgggtgtgcaa ggcactcagt ggccgctggt tcttggcggg gctggtcagc 2460
tggggcctgg gctgtggccg gcctaactac ttcggcgtct acacccgcat cacaggtgtg 2520
atcagctgga tccagcaagt ggtgacctga ggaactgccc cctgcaaag cagggccac 2580
ctctggact cagagagccc agggcaactg ccaagcaggg ggacaagtat tctggcgggg 2640
ggtgggggag agagcaggcc ctgtggtggc aggaggtggc atcttgtctc gtccctgatg 2700

tctgtccag tgatggcagg aggatggaga agtgccagca gctgggggtc aagacgtccc 2760
ctgaggacce aggccacac ccagcccttc tgcctccaa ttctctctcc tccgtccct 2820
tctccactg ctgcctaag caaggcagt gctcagcagc aagaatgctg gttctacatc 2880
ccgaggagt tctgaggtgc gcccactct gtacagaggc tgtttgggca gccttgctc 2940
cagagagcag attccagctt cggaagcccc tggcttaact tgggatctgg gaatggaagg 3000
tgctcccatc ggaggggacc ctacagagccc tggagactgc caggtgggcc tgctgccact 3060
gtaagccaaa aggtggggaa gtctgactc cagggtcctt gcccacccc tgcctgccac 3120

ctgggccctc acagcccaga ccctcactgg gaggtgagct cagctgcctt ttggaataaa 3180
gctgcctgat caaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 3212

<210> 2

<211> 3206

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 2

```

agtttcattg tcgccctgga cctgacagga gaggcccatg gaacttgggg ccacaggcca      60
caagggacaa gggccagaca cccagccat ggctccaggc cattgatcca acctaagctg      120
gccagtggg ggtggaaaga ccttggcctg gataaacaga ggctccagg cctgtgtgca      180
ggccccggcac ctaccttcca ctcttgaaga tgccgagatg tttccagctc ccctgttcta      240

ccaggatgcc caccaccgag gtccccaag cggtgatgg tcaggcgat gcgggtgatg      300
gagaggaaagc tgctgagcca gaggggaagt tcaagcccc aaaaaacacc aagagaaaaa      360
accgggacta cgtccgcttc acgccactgt tgctggtctt ggctgcgctg gtctcagcag      420
gggtcatgct ttggtatttc ctaggttaca aagcgggaagt gaccgtaagc caggtgtact      480
ctggcagcct ccgggtgtct aaccgtcatt tctcccagga cctgggccga cgggagtcta      540
ttgctttccg cagtgaatct gccaaagccc agaagatgct ccaagaactg gttgccagca      600
cccgcctggg tacttactac aactctagtt ctgtctactc ctttggggag ggaccctca      660

cctgtctctt ctggtttatc cttgacatcc ctgagtacca gcgactgacc ctgagccctg      720
aagtagtgcg cgagctcctg gtggatgagc tactgtccaa cagctcaacc ctggcttctt      780
ataagaccga atatgagggtg gaccgggaag gcctggatgat cctggaagcc agtgtgaacg      840
acatagtctg actgaattcc acgttgggct gttatcgcta cagctatgtg aaccagggcc      900
aggtcctccc attgaagggg cctgaccagc agaccacaag ctgcctgtgg catctgcaag      960
ggcccgaaga cctcatgac aaagtgcggc tggagtggac ccgggtcgat tgcagagaca     1020
gggtggcgat gtacgacgca gctgggcccc tggagaagag acttatcacc tcggtctatg     1080

gggtgcagccg ccaggaacct gtgatggagg tgctggcatc gggtccgtc atggccgtgg     1140
tgtggaaaaa gggcatgcat agctactatg accctttctt gctctcagt aagtctgtgg     1200
ccttcaggga ctgccagggtg aacctgacac tggagggccg gctggacaca cagggttcc     1260
tccgtacacc ctactacccc agttactact ctcccagtae ccaactgtcc tggcatctca     1320
cggtagcctc tcaggactac ggcttggcgc tctggttcga tgcctacgca ctgaggaggc     1380
agaagtacaa ccgactgtgt actcagggcc agtggatgat ccagaacagg aggtgtgtg     1440
gttccgtac cctgcagcca tatgtgaga ggatcccat ggtggcctca gatggtgtca     1500

ccatcaactt cacctccag atctccctca caggccggg tgtgcaagt tactacagct     1560
tgtacaacca atcagacccc tgccctgggtg agttcctctg ctctgtgaat ggactgtgtg     1620
tcctgcgtg tgacgggatc aaggactgcc ccaatggcct ggatgagaga aactgtgtct     1680

```

gcagagccat gticcagtc caagaggaca gcacgtgcat ttactgcct agagtctgtg 1740

accggcagcc cgactgtctc aatggcagtg acgaagaaca gtgccaagaa ggagtgcctt 1800

gtgggacatt cactttccag tgttaggacc ggagctgtgt gaagaagccc aaccagagt 1860

gtgacggcca gtcagattgc agagacggct cagatgagca aactgtgac tgtggcctcc 1920

aggcctctc cagccgtatt gtggcgagg cctgtctctc cgagggtgag tggccatggc 1980

aggccagcct ccagattcgg ggtcgacaca tctgtggggg ggctctctc gctgaccgt 2040

gggtcataac ggccgcccac tcttccagg aggacagcat ggcctccccg aagctgtgga 2100

ccgtgttctt gggaagatg cggcagaact cgcgtggcc aggcgaggtg tccttcaagg 2160

tgagccgtct gtctctgac ccgtaccacg aggaggacag ccatgactac gacgtggccc 2220

tgctgcagct cgaccacccc gtggtgtact cgccactgt gcgccccgtc tgcctgcctg 2280

cccgtccca cttctttgag ccaggccagc actgctggat cacaggctgg ggagccagc 2340

gagagggtgg tccggtgagc aacaccctgc agaaggtgga cgtacagctg gtccctcagg 2400

acctctgcag tgaggcctac cgctaccagg tgtccacacg catgctctgt gctggctacc 2460

gcaagggcaa gaaagatgcc tgccagggtg actctggagg cccactggtt tgcaggagc 2520

ccagtggcgg ctggttctct gcagggttgg ttagctgggg cctgggctgt ggccgacca 2580

atttctttgg cgtctacac cgtgtcacac gtgtgatcaa ctggatccag caggtgctga 2640

cctgagggtt gtctacaga gctggacctg cctccaggcc aagttcaggg tgtccacca 2700

gccaggacac aagtattctg gggcaagtga ccctgctaag gcctgtttcc ctcaggccta 2760

ccccagtac agtacagaga aggatgtcag ctggtggtta ggatgcctcc tgaggccag 2820

gggccagcct cggctagggt tcaattctaa ccttttctta ttctagtctt tccccctcc 2880

tgctctacc actgttttgg agtggggctt ggcgcccatg accttggcct ccgggtctct 2940

gtaggaaaga aagaatcctt ccccttgcaa aagcctcttg gggaactgc acagagaaag 3000

aaggtgcctc tatcaaggct ctatcagac ccttgagtct gccaagtggg ctgtactcta 3060

agccaaatca ccgggcagcc tcagctgcag atgctgctg aagctctgcc tgctacagg 3120

gcctccctgc cattactgg aggccactg tctgttctgg gaataaagca cttgaccaag 3180

ccctgacact gaaaaaaaa aaaaaa 3206

<210> 3

<211> 2999

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 3

attgtccgtc ctggacctga caggaggccc atggaacttg gggccacagg ccacaggga	60
caagggccag acacccagct catgtttcca ggctattgat ccaacctaag ctggccagtt	120
gtgggtggag agaccttggc ctggataaac agaggcctcc aggcctgtgt tcaggcccag	180
cacctacctt ccactcttga agatgccaaag atgtttccag ctccctgtt ctaccaggat	240
gcccaccgct gaggttcccc aagcagctgg tggtcagggt gatggagggt atggagagga	300
agctgcagag ccagaggggg tgttcaaggc cccagaaac gccaaagaa aagacaggga	360
ctacgtccgc ttacaccac tgttctgtgt ctggctgctg ttggcttcgg caggagtcac	420
gctctgttat ttctagggt acaaggcggg agtgaccata agccagggtg actctggcag	480
cctccgggtg ctcaaccgcc atttttcaca ggacttggcc cgacgggagt ctattgcttt	540
ccgcactgaa actgccaaag cccagaagat gttccaagag ctggttgcca gcaccgctt	600
gggtacttac tacaactcca gtccatcta cgcctttggg gagggacccc ttatctgctt	660
cttctgggtc atccttgaca tccccgagta ccagcgactg accctgagcc ctgaggtggt	720
gcgcgagctc ctggtgggtg agctactgtc caacagctca gccttggctt cctataggac	780
cgaatatgag gtggaccggg aaggcctggt gatactagaa gccagcgtga acgacatagt	840
cgtactgaat tccacgtgg gctgttaccg ctacagctac gtgaaccgg gccaggtcct	900
ccggttgagg gggccccgacc agcagaccac tagctgcctg tggcacctgc agggggccga	960
ggacctcatg ctcaaagtgc agctagagt gactcgggtt gattgcagag acagggtggc	1020
gatgtacgac gcagctgggc ccctggagaa gagacttacc acctcggctc atgggtgcag	1080
ccgccaggaa cccgtgatgg aggtgctggc gtcgggctct gtcattggccg tgggttgga	1140
gaagggttg catagcttct atgaccttt tctgtctca gtgaagtctg tggccttcca	1200
ggactgccag gtgaacctga ccctggaagg ccggtggat ccacagggt tctccgtac	1260
acctactac ccagttact actcggccag taccactgc tctggcatc tcacgttcc	1320
ctctctggac tatggcttgg cactctggtt tgacgcctat gcaactgagga ggcagaagta	1380
caacctacta tgtactcagg gccagtggat gatccagaac aggaggctat gtggcttccg	1440
tacctgcag ccatatgctg agaggatccc cgtggtggcc tcggatggtg tcacatcaa	1500
cttcaacctc cagatctccc tcacaggccc ggtgtgcaa gtgtactaca gcttgtacaa	1560
ccaatcagac cctgccctg gagagtacct ctgctctgtg aatggattgt gtgtccctgc	1620
ttgtgacgga atcaaggact gcccacacgg cctggatgag aggaactgtg tctgcagagc	1680
catgttccag tgccaagagg acagcacgtg catctcactg ccgagagtct gtgaccggca	1740
gcccactgt ctcaatggtg gcgacgaaga gcagtgcga gaaggagtgc cctgtgggac	1800
attcactttc cagtgtgagg accggagctg tgtgaagaag cccaaccccg agtgtgacgg	1860

gcaggcagac tgcagggatg gctcggatga ggagcactgt gactgtggcc tccagggccc 1920
ctccagccgc attgtgggcg gggccatgtc ctccgagggt gagtggccct ggcaggccag 1980

tctccagatt cggggtcgac acatctgtgg gggggctctc atcgtgacc gctgggtcat 2040
aacagccgct cactgcttcc aggaggacag catggcctcc ccgaggctgt ggaccgtgtt 2100
tctgggaaag atcgggcaga attcacgtg gccgggagag gtgtccttca aggtgagccg 2160
cctgttcttg caccctgata atgaggagga cagccatgac tacgacgtgg ccctgctgca 2220
gctggaccac cctgtgggtg actcggccac cgtgcgcccc gtctgcctgc ccgcacgctc 2280
tcacttcttt gagccaggcc agcactgctg gatcacaggc tggggagccc agcgagaggg 2340
tggtcctggt agcagacccc ttcagaaggt ggatgtgcaa ctgatccctc aggacctgtg 2400

caatgaggcc taccgttacc aggtgacccc acgcatgctc tgtgctggtt atcgcaaggg 2460
caagaaagat gcctgccagg gcgactctgg agggccactg gtttgcaagg agcccagggtg 2520
accaccagc cagggcacaa gtattctggg gcgagcgacc ctgctaaggc ctgtccctc 2580
atgcctacc cagggacagt acagagaagg atgtcagctg gtggttagga tgcctccagg 2640
ggctagcctc agctcggtt cacttccaac cttttcttat tctagtctt tccccctcc 2700
cctcctactg ctgttttggg gtgggtctg gtggcaatga tgctggttcc aaggtctgtg 2760
ggaaagtaag attccttccc cttgcaaaag cctctagggg gaactggatc cgagaaagaa 2820

ggtgcctcta tcaaggctct gtcagagccc ttgagactgc caagtagggc cataccgtaa 2880
gccaaatcat ggggcagcct cagctgcggg tgctgtctgt gctctgcctg ctacagggcc 2940
ctccctgcca ttactggag gccactgtc tgttccggaa ataaagcagt tggccaagc 2999

<210> 4
<211> 2440
<212> DNA
<213> Macaca mulatta
<400> 4

caggatgcct gtggccaagg cccccaggt ggctggtggg cagggggagc gaggtgatgg 60
cgaggaagcg gagccagagg ggatgttcca gggcgtgag gactccaaga gaaaagcccg 120
gggtacctc cgctggcg cctgtggct gacctggtt gtgctgactt cagtgggggt 180

gctactctgg tatttctag ggtacaaggc ggaggtgacg gtcagccagg tgtactcagg 240
cagcctgcgc gtgctcaatc gccacttctc ccaggatctt acccgccggg aatccagtgc 300
cttccgagt gaaaccgcca aagcccagaa gatgtcaag gagtcatcg ccagcacccg 360
cctgggaact tattacaact ccagctccgt ctattccttt ggggagggac cgctcacctg 420

cttcttcttg ttatttctcc aaatccccga gcaccgccgg ctgatgctga gccccgaggt 480
 ggtgcaggca ctgctggtag aggagctgct gtccacagtc aacagctcgg cggctgtccc 540
 ctacagggcc gactacgaag tggaccccga gggcctagt atcctagaag ccagtgtgaa 600

agacatagct gactgaatt ccacgtggg ttgttaccgc tacagctacg tgggccaggg 660
 tcaggctctc cggctgaagg gacccgacca cctggcctcc agctgcctgt ggcacctgca 720
 gggccccgaa gacctcatgc tgaactccg gctggagtgg acgtggccg agtgccggga 780
 ccgactggcc atglatgacg tggctgggccc cctggagaag aggctcatca cctcgtgtga 840
 tggctgcagc cgccaggagc ctgtgggtgga agtcttgcca tcgggggcca tcatggcgggt 900
 ggtctggaag aagggcctgc acagctacta cgacccttt atgtcttccg tgcagtcgggt 960
 ggtcttccag gcctgcgagg taaacctgac gctggatgac aggctggact cccagggcgt 1020

cctcagcacc ccgtacttcc ccagctacta ctgcgccga acccactgct cctggcacct 1080
 cacggtgccc tctctggact acggcttggc cctctggttt gacgcctacg cactgcggag 1140
 gcagaagtat gatttgccgt gcaccaggg ccagtggacg atccagaaca ggaggctgtg 1200
 tggcctgcgc atctgcagc cttacgccga gaggatcccc gtggtggcca cggccggcat 1260
 caccatcaat ttacactccc agatctccct cacagggcct ggtgtgcggg tgcactatgg 1320
 cttgtacaac cagtcggacc cctgccttgg agagttctc tgcctgtga acggactctg 1380
 cgtccctgcc tigtatgggg tcaaggactg cccaacggc ctggatgaga gaaactgcgt 1440

ttgcagagcc acattccagt gccaagagga cagcacgtgc atctcactgc ttaaggtctg 1500
 tgacgggcag cctgactgtc tcaacggcag cgatgaagag cggtgccagg aagggtgcc 1560
 ctgcgggaca ttacacttcc agtgtgagga ccagagctgc gtgaagaagc ccaaccaca 1620
 gtgtgatggg cgccccact gcaggacgg ctacagcag cagcactgtg actgtggcct 1680
 ccaggggccc tccagtgcga ttgttggtgg ggcctgtcc tccgagggtg agtgccatg 1740
 gcaggccagc ctccaggttc ggggtcgaca catctgtggg ggcgccctca tcgctgaccg 1800
 ctgggtgata acagctgccc attgttcca ggaggacagc atggcctccc cggcgtgtg 1860

gacggtgttc ctgggcaagg tgtggcagaa ctgcgctgg cctggagagg tgtccttcaa 1920
 ggtgagccgc ctactctgc atccgtatca cgaagaggac agccacgact acgacgtggc 1980
 gctgttgca ctgcaccac cgggtgtgct ctgcgccgc gtgcgtccag tctgcctgcc 2040
 cgcgctctcc cacttcttcg aaccggcct gactgctgg atcactggct ggggcgccct 2100
 gcgcgaaggc ggccccacca gcaatgtct gcagaaagt gacgtgcagt tgatccaca 2160
 ggacctgtgc agcaggcct atcgtacca ggtgacgcca cgcatgctgt gtgccggcta 2220

ccgcaagggc aagaaggatg cctgccaggg tgactcgggt ggtccgctgg tatgcaaggc 2280

actcagtggc cgctggttcc tggcagggtt ggtcagctgg ggcttgggtt gtggccggcc 2340

taactacttc ggctgttaca cccgcatcac aggtgtgatc ggctggatcc agcaagtggc 2400

gacctgagga actgcccccc tgcagagcag gtccacctc 2440

<210> 5

<211> 3188

<212> DNA

<213> Macaca mulatta

<400> 5

cttgagccac acccagtcca gctctgggtg ctgccctctg gggtagctg ccttgagatg 60

catttcgtc ctctgtgaac tgtctcgga cccacttccg gtcactgccg cctgatgttg 120

ttactcttc actctgaaag gatgcctgtg gcccaaggccc cccaggtggc tggtaggcag 180

ggggacggag gtgatggcga ggaagcggag ccagagggga tgttcgagc ccgtgaggac 240

tccaagagaa aagccccggg ctacctccgc ctggcgcccc tgtggctgac cctggttgtg 300

ctgacttcag tgggggtgct actctggtat ttctagggt acaaggcgga ggtgacggtc 360

agccaggtgt actcaggcag cctgcgcgtg ctcaatgcc acttctcca ggatcttacc 420

cgccgggaat ccagtgcctt ccgcagtga accgcaaaag cccagaagat gctcaaggag 480

ctcatcgcca gcacccgct gggaacttat tacaactcca gtcctgtcta ttctttggg 540

gagggaccgc tcacctgctt cttctggttc attctccaaa tccccgagca ccgccggtg 600

atgctgagcc ccgaggtggt gcaggcacct ctggtggagg agctgctgtc cacagtcaac 660

agctcggcgg ctgtcccta caggcccgag tacgaagtgg accccgaggg cctagtatc 720

ctagaagcca gtgtgaaaga catagctgca ctgaattcca cgctgggttg ttaccgtac 780

agctactgtg gccagggtca ggtcctccgg ctgaaggac ccgaccacct ggctccagc 840

tgctgtggc acctgcaggg cccgaagac ctcatgtga aactccggt ggagtggacg 900

ctggccgagt gccgggaccg actggccatg tatgacgtgg ctgggccct ggagaagagg 960

ctcatcacct cgggtgatgg ctgcagccgc caggagcctg tggtagaagt cctggcatcg 1020

ggggccatca tggcgtggt ctggaagaag ggctgcaca gctactacga ccccttatg 1080

ctctccgtgc agtcggtggt cttccaggcc tgcgaggtaa acctgacgt ggatgacagg 1140

ctggactccc agggcgtcct cagcaccggt tacttccca gctactact gccccgaacc 1200

cactgtcctt ggcacctcac ggtgcctct ctggactacg gcttggcct ctggtttgac 1260

gcctacgcac tgcggaggca gaagtatgat ttgccgtgca cccagggcc gtggacgatc 1320

cagaacagga ggctgtgtgg cctgcgcata ctgcagcctt acgccgagag gatccccgtg	1380
gtggccacgg ccggcatcac catcaatttc acctcccaga tctccctcac agggcctggt	1440
gtgcgggtgc actatggctt gtacaaccag tcggaccctt gccctggaga gttcctctgc	1500
tctgtgaacg gactctgcgt ccctgcctgt gatgggttca aggactgccc caacggcctg	1560
gatgagagaa actgcgtttg cagagccaca ttccagtcc aagaggacag cacgtgcata	1620
tcactgctta aggtctgtga cgggcagcct gactgtctca acggcagcga tgaagagcgg	1680
tgccaggaag gggtagccctg cgggacattc accttcaggt gtgaggacca gagctgcgtg	1740
aagaagccca acccacagtg tgatgggcgg ccgactgca gggacggctc agacgagcag	1800
cactgtgact gtggcctcca gggccctcc agtcgcattg ttggtggggc cgtgtcctcc	1860
gagggtgagt ggccatggca ggccagcctc caggttcggg gtcgacacat ctgtgggggc	1920
gccctcatcg ctgaccgtg ggtgataaca gctgccatt gcttcagga ggacagcatg	1980
gcctccccgg cgctgtggac ggtgttcttg ggcaaggtgt ggcagaactc gcgtggcct	2040
ggagaggtgt cttcaaggt gagccgcta ctctgcata cgtatcacga agaggacagc	2100
cacgactacg acgtggcgtt gttgcagctc gaccaccggg tggcgcgtc ggccgccgtg	2160
cgtccagtct gcctgcccg gcgctccac ttcttcgaac ccggcctgca ctgctggatc	2220
actggctggg gcgccctgcg cgaaggcggc cccaccagca atgctctgca gaaagtggac	2280
gtgcagttga tcccacagga cctgtgcagc gaggcctatc gctaccaggt gacgccacgc	2340
atgctgtgtg ccggctaccg caagggaag aaggatgcct gccagggtga ctcggtggt	2400
ccgctggtat gcaaggcact cagtggccgc tggttcctgg cagggtggt cagctggggc	2460
ctgggctgtg gccggcctaa ctacttcggc gtctacacc gcatcacagg tgtgatcggc	2520
tggatccagc aagtggtag ctgaggaact gccccctgc agagcaggtc ccacctcttg	2580
gactcagaga gccaggga attgccaagc agggggacaa gtattctggg gggagggggg	2640
cgcgagcagg ccctgtggtg gcaggaggtg gcatcttgtc ttgtccctga tgtctgctcc	2700
agtgatggca ggaggatgga ggagtgccag cagctggggg tcaagacgtc ccctagggac	2760
ccaggccac acccagcct tctgcctccc gattctctct cctctgtccc ctctctccac	2820
tgctgcctat tgcaaggaag tggctcagca gcaagaatgc tggctctacg tcccaggag	2880
tgtctgagct gtccccact ctgtacagag gctgcttggg cagccttgcc tctagagagc	2940
agatgccagc ttcggaagcc cctggtctaa cttgggatct ggggaatgaa ggtgccccca	3000
taggagggga cctcacagc cccggggact gccagggtggg ccggctgcca ccgtaagcca	3060

aaaaagggtgg ggaagccctg actccaaggt ccttgcccca cccctgcctg ccacctggcc	3120
cctcacagcc cagaccctca ccggcagggtg agctcagctg ccccttgga taaagctgcc	3180
tgatccaa	3188
<210> 6	
<211> 3212	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 6	
tttttttttt tttttttttt tgatcaggca gctttattcc aaagggcagc tgagctcacc	60
tcccagtgag ggtctgggct gtgagggccc aggtggcagg caggggtggg gcaaggaccc	120
tggagtcagg acttccccac cttttggctt acagtggcag caggcccacc tggcagtcct	180
cagggctctg agggtcacct ccgatgggag caccttccat tcccagatcc caagttagac	240
caggggcttc cgaagctgga atctgctctc tggaggcaag gctgccccaa cagcctctgt	300
acagagtggg gcgcacctca gacactctc gggatgtaga accagcattc ttgctgctga	360
gccactgcct tgcattaggc agcagtgagg gaaggggacg gaggagagag aattgggagg	420
cagaagggtt ggggtgtggc ctgggtctc aggggacgtc ttgaccccc gctgctggca	480
cttctccatc ctctgccat cactggagca gacatcaggg acgagacaag atgccacctc	540
ctgccaccac agggcctgct ctctcccca ccccccca gaatacttgt cccctgctt	600
ggcagttgcc ctgggctctc tgagtccagg aggtgggccc tgctttgcag gggggcagtt	660
cctcaggta ccaattgctg gatccagctg atcacacctg tgatgcgggt gtagacgccg	720
aagtagttag gccggccaca gccaggccc cagctgacca gccccccag gaaccagcgg	780
ccaactgagt ccttgccac cagcggacca cctgagtcac cctgacaggc atccttcttg	840
cccttgcggt agccggcaca cagcatgcgt ggcgtcacct ggtagcgata gacctcgctg	900
cacagtcct gtgggatcaa ctgcacatcc actttctgca gagcgttgct gatggggccg	960
ccctcgcgca aggcgcccc gcccgtaatc cagcagtgca ggccgggctc gaagaagtgg	1020
gagcgcgagg gcaggcagac ggggagcacg gcggccgagc gcaccaccgg gtggtcgagc	1080
tgcagcagcg ccacgtcgta gtcattggctg tcctctctgt ggtacgggtg caggagcagg	1140
cggtcacct tgaaggacac ctctccaggc cagcgcgagt tctgccacac cttgccagg	1200
aacacgggcc acagcaccgt ggaggccatg ctgtctctc ggaagcagtg ggcagctgtt	1260
atcaccagc ggtcagcgat gaggggcccc ccacagatgt gtcgaccccg aacctggagg	1320
ctggcctgcc atggccactc accctcggag gacacagctc caccaacaat gcggctggag	1380

gggccctgga ggccacagtc acagtgtctc tcatccgagc cgtccctgca gtcgggcccgc	1440
cctacacact gcgggttggg cttcttcacg cagctccggt cctcacactg gaaggtgaat	1500
gtcccatatg gcaccccttc ctggcactgc tcttcgtcgc tgccgttgag acaatcaggc	1560
tgcccatcac agaccttggg cagtgtgatg catgtgctgt cctctttgca ctggaatgtg	1620
gctctgcaaa cgcagtttct ctcattccagg ccgttggggc agtccttgac cccatcacag	1680
gcagggacac agagtccatt cacagaacag aggaactctc cagggcaggg gtccgactgg	1740
ttgtacaagc catagtgcac ccgcacaccg ggcccgttga gggagatctg ggaggtgaag	1800
ttgatgtga tccggccgt ggccaccacg gggatcctct cggcgtaggg ctgcaggatg	1860
cgcaagccac acagcctcct gttctggatc gtccactggc cctgggtgca cggcaaatca	1920
tacttctgcc tctcagtc atagcatca aaccagaggg ccaagccgta gtccagagag	1980
ggcacctga ggtgccagga gcagtgggtt tggggcgagt agtagctggg gaagtacggg	2040
gtgctgagga cgccttggga gtcgagcctg ttgtccagcg tcaggttcac ttcacaggcc	2100
tggaagacca ccggctgcac ggagagcacg aagggtcgt agtagctgtg caggcccttc	2160
ttccagacga ccgcatgat gggcccgac gccagaacct ccaccacggg ctcctggcgg	2220
ctgcagccgt acaccgaggt gatgagcctc ttctccaggg gcccgccac gtcatacatg	2280
gccagtcggt cccggcactc tgccagcgtc cactccagcc ggagtttgag catgaggtec	2340
ttggggccct gcaggtgcca caggcagctg gaggccaggt ggtcaggccc cttcagccgg	2400
aggacctggc cctggcccc gtagctgtag cggtacaac ccagcgtgga attcaatgca	2460
gctatgtctt tcacactggc ttccaggatc actaggccct cggggtccac ttcgtactcg	2520
gcctgtagg ggacggcagc cgagctgttg actgtggaca gcagctctc caccagcagt	2580
gcctgcacca cctcggggct cagcatcagc cggcgggtgt cggggatttg gagaatgaac	2640
cagaagaagc aggtgagggg tcctcccca aaggataga cggagctgga gttgtagtaa	2700
gttccaggc ggtgtctggt gatgagctc ttgagcatc tctgggcttt ggcggtttca	2760
ctgcggaagg cactagattc ccggcgggta agatcctggg agaagtggcg attgagtaca	2820
cgcagactgc ctgagtacac ctggctgacc atcacctccg ccttgtacc taggaaatac	2880
cagagtagca cccccccga agccagcacg agcagggccca gcagcacaaa caggggcacc	2940
aggcggaggt agccccgggc tttctcttg gactctcac aggccttgaa cateccctcc	3000
ggctccgctt cctcgccatc acctccgtcc cctgccccgc cagccacctg gggggcctcg	3060
gccacgggca tccttttga gtggaagagt aacaacatca ggcggcagt actgcaagtg	3120

gggtgccgaga cagctcacag aggaggggaag tgcattctcag gtcagctcgc accagagggc 3180

aggcaccaga gctggactgg gtctggctca ag 3212

<210> 7

<211> 3206

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

tttttttttt tttttcagtg tcagggttg gtcaagtgt ttattcccag aacagacagt 60

gggcctccag tgaatggcag ggagggccct gtagcaggca gagcttcagc aggcatctgc 120

agctgaggct gcccggatgat ttggcttaga gtacagccca cttggcagac tcaagggtc 180

tgatagagcc ttgatagagg cactttcttt ctctgtgcag ttccccaag aggtttttgc 240

aagggaagg attctttctt tcctacagag acccgaggc caaggtcatg gccgccagac 300

cccactccaa aacagtggta ggagcaggga ggggaaagga ctagaataag aaagggttag 360

aagtgaacc tagccgagge tggcccctgg acctcaggag gcatcctaac caccagctga 420

catctttctc tgiactgtca ctgggtagg cctgaggga acaggcctta gcagggtcac 480

ttgccccaga atacttgtgt cctggctggg tggacacct gaacttggcc tggaggcagg 540

tccagctctg tagaacagcc ctacaggtcag cacctgtctg atccagttga tcacacgtgt 600

gacacgggtg tagacgcca agaaattggg tcggccacag cccaggcccc agctaacca 660

ccctgccagg aaccagcgge cactgggtct cctgcaaacc agtgggctc cagagtcacc 720

ctggcaggca tctttcttgc ctttgcgtta gccagcacag agcatgcgtg gggacacctg 780

gtagcggtag gcctcactgc agaggtcctg agggaccagc tgtacgtcca ctttctgcag 840

ggtgttgctc accgaccac cctctcgtg ggtccccag cctgtgatcc agcagtgtg 900

gcctggctca aagaagtggg agcgggcagg caggcagacg gggcgcacag tggccgagta 960

caccacgggg tggctgagct gcagcagggc cacgtcgtag tcatggctgt cctcctcgtg 1020

gtacgggtgc agaacagac ggctcacctt gaaggacacc tcgctggcc agcgcgagtt 1080

ctgccgcatc ttcccagga acacgtcca cagcttcggg gaggccatgc tgtcctcctg 1140

gaagcagtgg gcggccgtta tgaccagcg gtacagcatg agagcccc caccagatgtg 1200

tcgacccga atctggagge tggcctgcca tggccactca ccctcgagg acacgtccc 1260

gcccacaata cgcttgaga ggccctggag gccacagtca cagtgttgct catctgagcc 1320

gtctctgcaa tctgactggc cgtcacctc tgggttgggc ttcttcacac agctccggtc 1380

ctcacactgg aaagtgaatg tcccacagg cactccttct tggcactgtt cttcgtcact 1440

gccattgaga cagtcgggct gccggtcaca gactctaggc agtgaaatgc acgtgctgtc 1500
ctcttggcac tggaacatgg ctctgcagac acagtttctc tcatccaggc cattggggca 1560

gtccttgatc ccgtcacacg caggacacaca cagtcattc acagagcaga ggaactcacc 1620
agggcagggg tctgatttgt tgtacaagct gtagtacact tgcacaccg gccctgtgag 1680
ggagatctgg gaggtgaagt tgatggtgac accatctgag gccacatgg ggatcctctc 1740
agcatatggc tgcagggtac ggaagccaca cagcctcctg ttctggatca tccactggcc 1800
ctgagtacac agtcggttgt acttctgcct cctcagtgcg taggcatcga accagagcgc 1860
caagccgtag tccagagagg gtaccgtgag atgccaggag cagtgggtac tgggagagta 1920
gtaactgggg tagtagggtg tacggaggaa gccctgtgtg tccagccggc cctccagtgt 1980

caggttcacc tggcagtcct ggaaggccac agacttcact gagagcagga aagggtcata 2040
gtagctatgc atgccctttt tccacaccac ggccatgacg gagcccgatg ccagcacctc 2100
catcacaggt tcttggcggc tgcacccata gaccgagggtg ataagtctct tctccagggg 2160
cccagctgcg tcttacctg ccacctgtc tctgcaatcg acccggttcc actccagccg 2220
cactttgate atgaggtctt cgggcccctt cagatgccac aggcagcttg tggctctgtg 2280
gtcaggcccc ttcaatggga ggacctggcc tgggttcaca tagctgtagc gataacagcc 2340
cagcgtggaa ttcagtacga ctatgtcgtt cacactggct tccaggatca ccaggccttc 2400

cgggtccacc tcatattcgg tcttatagga agccagggtt gagctgttgg acagtagctc 2460
atccaccagg agctcgcgca ctacttcagg gctcagggtc agtcgctggt actcagggat 2520
gtcaaggata aaccagaaga agcagggtgag gggtccctcc ccaaaggagt agacagaact 2580
agagtgttag taagtaccca ggcggtgtgt ggcaaccagt tcttgagca tcttctgggc 2640
tttggcagat tcttgcgga aagcaataga ctcccgctcg ccaggtcct gggagaaatg 2700
acggttgagc acccgagggc tgccagagta cacctggctt acggtcactt ccgctttgta 2760
ccctaggaaa taccaaagca tgaccctgc tgagaccagc gcagccaaga ccagcaacag 2820

tggcgtgaag cggacgtagt cccggttttt tctcttggtg ttttttgggg gcttgaactt 2880
cccctctggc tcagcagctt cctctccatc acccgcatcg ccctgacat cagccgcttg 2940
ggggacctcg gtggtgggca tcttggtaga acaggggagc tggaacatc tcggcatctt 3000
caagagtgga aggtagggtc cgggcctgca cacaggcctg gaggcctctg tttatccagg 3060
ccaaggtctt tccaccccca actggccagc ttaggttggga tcaatggcct ggagccatgg 3120
ctggggtgtc tggcccttgt ccttctgtgc ctgtggcccc aagttccatg ggcctctcct 3180

gtcaggtcca gggcgacaat gaaact 3206

<210> 8

<211> 2999

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

gcttggccaa ctgctttatt tccggaacag acagtgggcc tccagtgaat ggcagggagg	60
gccctgtagc aggacagaca cagcaggcac ccgcagctga ggctgcccc tgatttggt	120
tacggtatgg cctacttgg cagtctcaag ggctctgaca gagccttgat agaggcacct	180
tctttctcgg atccagttcc ccctagaggc ttttgcaagg ggaaggaatc ttactttccc	240
acagaccttg gaaccagcat cattgccacc agacccccacc ccaaaacagc agtaggaggg	300
gagaggggaa aggactagaa taagaaaggg ttggaagtga agccgagctg aggctagccc	360
ctggaggcat cctaaccacc agctgacatc cttctctgta ctgtccctgg ggtaggcatg	420
aggggacagg ccttagcagg gtcgctcgcc ccagaatact tgtgccctgg ctgggtggtc	480
acctgggctc ctigcaaacc agtgggcctc cagagtcgcc ctggcaggca tctttcttgc	540
ccttgcgata accagcacag agcatgcgtg gggtcacctg gtaacggtag gcctcattgc	600
acaggtcctg agggatcagt tgcacatcca cttctgaag ggtgctgcta ccaggaccac	660
cctctcgctg ggctccccac cctgtgatcc agcagtgtg gcctggctca aagaagttag	720
agcgtgcggg caggcagacg gggcgcacgg tggccgagta caccacaggg tggctcagct	780
gcagcagggc cagtcgtag tcatggctgt cctcctcatg atacgggtgc aggaacaggc	840
ggctcacctt gaaggacacc tcgcccggcc agcgtgaatt ctgccgcatc tttcccagaa	900
acacggtcca cagcctcggg gaggccatgc tgtcctcctg gaagcagtga gcggctgtta	960
tgaccacgcg gtcagcatg agagcccccc cacagatgtg tcgacccga atctggagac	1020
tggcctgcca gggccactca cctccgagg acatggcccc gccacaatg cggctggagg	1080
ggccctggag gccacagtca cagtgtcctt catccgagcc atccctgcag tetgectgcc	1140
cgtcacactc ggggttgggc ttcttcacac agctccggtc ctcacactgg aaagtgaatg	1200
tcccacaggg cactccttct tggcactgct ctctgtcgt accattgaga cagtcgggct	1260
gccggtcaca gactctcggc agtgagatgc acgtgtgtc ctcttggcac tggacatgg	1320
ctctgcagac acagttcctc tcatccaggc cgttggggca gtccttgatt ccgtcacaag	1380
caggacaca caatccattc acagagcaga ggaactctcc agggcagggg tctgattggt	1440
tgtacaagct gtagtacact tgcacaccg ggctgtgag ggagatctgg gaggtgaagt	1500

tgatggtgat accatccgag gccaccacgg ggatcctctc agcatatggc tgcagggtac	1560
ggaagccaca tagcctcctg ttctggatca tccactggcc ctgagtacat agtaggttgt	1620
acttctgcct cctcagtga taggcgtcaa accagagtgc caagccatag tccagagagg	1680
gaaccgtgag atgccaggag cagtgggtac tgggcgagta gtaactgggg tagtagggtg	1740
tacggaggaa gccctgtgga tccagccggc ctccagggt caggttcacc tggcagtcct	1800
ggaagccac agacttcact gagagcagaa aagggtcata gaagctatgc aagcccttct	1860
tccacaccac ggccatgaca gagcccgacg ccagcacctc catcacgggt tcctggcggc	1920
tgcaccata gaccgaggtg ataagtctct tctccagggg cccagctgcg tcgtacatcg	1980
ccacctgtc tctgcaatca acccgagtcc actctagctg cacittgagc atgaggtcct	2040
cgggccctg caggtgccac aggcagctag tggctctctg gtcgggcccc ctcaaccgga	2100
ggacctggcc cgggttcacg tagctgtagc ggtaacagcc cagcgtggaa ttcagtacga	2160
ctatgtcgtt cacgtggct tctagtatca ccaggccttc cgggtccacc tcataatcg	2220
tcctatagga agccaaggt gagctgttg acagtagctc acccaccagg agctcgcga	2280
ccacctcagg gctcagggtc agtcgttgt actcggggat gtcaaggatg aaccagaaga	2340
agcagataag gggtcctcc ccaaaggcgt agatggaact ggagttgtag taagtaccca	2400
agcgggtgct ggcaaccagc tcttgaaca tcttctgggc tttggcagtt tcagtgcgga	2460
aagcaataga ctcccgctcg gccaaagtct gtgaaaaatg gcggttgagc acccgagggc	2520
tgccagagta cacctggctt atggtcactt ccgccttgta ccctaggaaa taccagagca	2580
tgactcctgc cgaagccaac gcagccaaga ccagcaacag tgggtggaag cggacgtagt	2640
ccctgtcttt tctcttggcg tttctggggg ccttgaacac cccctctggc tctgcagctt	2700
cctctccatc acctccatca cctgaccac cagctgcttg gggaacctca gcggtgggca	2760
tcctggtaga acaggggagc tggaaacatc ttggcatctt caagagtga aggtaggtgc	2820
tgggcctgaa cacaggcctg gaggcctctg tttatccagg ccaaggtctc tccaccaca	2880
actggccagc ttaggttga tcaatagcct ggaacatga ctggggtgtc tggcccttgt	2940
ccctctggc ctgtggcccc aagtccatg ggccctctgt caggtccagg acggacaat	2999
<210> 9	
<211> 2440	
<212> DNA	
<213> Macaca mulatta	
<400> 9	
gaggtgggac ctgctctgca ggggggcagt tcctcaggtc accacttgct ggatccagcc	60

gatcacacct gtgatgcggg tgtagacgcc gaagtagtta ggccggccac agcccaggcc	120
ccagctgacc agccctgcc aagaaccagc gccactgagt gccttgata ccagcggacc	180
acccgagtca ccttggcagg catccttctt gcccttgcgg tagccggcac acagcatgcg	240
tggcgtcacc tggtagcgat aggcctcgct gcacaggtcc tgtgggatca actgcacgtc	300
cactttctgc agagcattgc tggtagggcc gccttcgcgc agggcgcccc agccagtgat	360
ccagcagtgc agggcggtt cgaagaagtg ggagcgcgcg ggacggcaga ctggacgcac	420
ggcgcccgag cgcaccaccg ggtggtcgag ctgcaacagc gccacgtcgt agtcgtggct	480
gtcctcttcg tgatacggat gcaggagtag gcggctcacc ttgaaggaca cctctccagg	540
ccagcgcgag ttctgccaca ccttggccag gaacaccgtc cacagcgccg gggaggccat	600
gctgtcctcc tggaagcaat gggcagctgt tatcaccag cggtcagcga tgaggcgcc	660
cccacagatg tctgacccc gaacctggag gctggcctgc catggccact caccctcgga	720
ggacacggcc ccaccaaca tgcactgga ggggcccctgg agggcacagt cacagtgtg	780
ctcgtctgag ccgtccctgc agtcgggccc cccatcacac tgtgggttgg gcttcttcac	840
gcagctctgg tctcacact ggaaggtgaa tctccgcag ggacccctt cctggcacgc	900
ctcttcacgc ctgccgtga gacagtcagg ctcccgctca cagacctaa gcagtgcgat	960
gcagctgtgc tctcttggc actggaatgt ggctctgcaa acgcagtttc tctcatccag	1020
gccgttgggg cagtccttga cccatcaca ggacgggacg cagagtcgt tcacagagca	1080
gaggaactct ccagggcagg ggtccgactg gtgtgacaag ccatagtga cccgcacacc	1140
aggccctgtg agggagatct gggaggtgaa attgatggg atgccggccg tggccaccac	1200
ggggatctc tcggcgtaag gctgcaggat gcgcaggcca cacagcctcc tgttctggat	1260
cgtccactgg ccttgggtgc acggcaaatc atacttctgc ctccgcagt cgtaggcgtc	1320
aaaccagagg gccaagccgt agtcagaga gggcacctg aggtgccagg agcagtgggt	1380
tcggggcgag tagtagctgg ggaagtacgg ggtgctgagg acgccctggg agtcagcct	1440
gtcatccagc gtcaggttta cctgcaggc ctggaagacc accgactga cggagagcat	1500
aaaggggtcg tagtagctgt gcaggccctt ctccagacc accgcatga tggccccga	1560
tgccaggact tccaccacag gctcctggcg gctgcagcca tacaccagg tgatgacct	1620
cttctccagg ggcccgcca cgtcatacat ggccagtcgg tcccggcact cggccagcgt	1680
ccactccagc cggagtttca gcatgaggtc ttcggggccc tgcagggtcc acaggcagct	1740
ggaggccagg tggtcgggtc ccttcagccg gaggacctga ccctggcca cgtagctgta	1800
gcggtacaaa ccagcgtgg aattcagtgc agctatgtct ttacactgg cttctaggat	1860

cactaggccc tcgggggtcca ctctgtactc ggccctgtag gggacagccg ccgagctgtt	1920
gactgtggac agcagctcct ccaccagcag tgcctgcacc acctcggggc tcagcatcag	1980
ccggcgggtgc tcgggggattt ggagaatgaa ccagaagaag caggtgagcg gtccttcccc	2040
aaaggaatag acggagctgg agtttgaata agttcccagg cgggtgctgg cgatgagctc	2100
cttgagcatc ttctgggctt tggcgggtttc actgcggaag gcactggatt cccggcgggt	2160
aagatcctgg gagaagtggc gattgagcac gcgcaggctg cctgagtaca cctggctgac	2220
cgtaacctcc gccttgtaac ctaggaaata ccagagtagc acccccactg aagtcagcac	2280
aaccagggtc agccacaggg gcgccaggcg gaggtagccc cgggcttttc tcttggagtc	2340
ctcacgggcc tcgaacatcc cctctggctc cgcttctctg ccatcacctc cgtccccctg	2400
cccaccagcc acctggggggg ccttggccac aggcacacctg	2440
<210> 10	
<211> 3188	
<212> DNA	
<213> Macaca mulatta	
<400> 10	
ttggatcagg cagctttatt ccaaagggca gctgagctca cctgccggtg agggctctggg	60
ctgtgagggg ccaggtggca ggcaggggtg gggcaaggac cttggagtca gggcttcccc	120
accttttttg gcttacggtg gcagccggcc cacctggcag tccccggggc tgtgagggtc	180
ccctcctatg ggggcacctt ccattcccag atcccaagtt agaccagggg ctccgaagc	240
tggcactctg tccttagagg caaggctgcc caagcagcct ctgtacagag tggggcacag	300
ctcagacact cctgggggac tagagccagc attcttctgt ctgagccact tccttgcaat	360
aggcagcagt ggaggaaggg gacagaggag agagaatcgg gaggcagaag ggctgggtgt	420
gggcctgggt ccctagggga cgtcttgacc ccagctgct ggcactcctc catcctctg	480
ccatcactgg agcagacatc agggacaaga caagatgcca cctcctgcca ccacagggcc	540
tgctcgcgc cccctccccc cagaatactt gtccccctgc ttggcaattg ccctgggctc	600
tctgagtcca agaggtggga cctgctctgc aggggggcag ttcctcaggt caccacttgc	660
tggtatccag cgatcacacc tgtgatgcgg gtgtagacgc cgaagtagtt aggccggcca	720
cagcccaggc cccagctgac cagccctgcc aggaaccagc ggccactgag tgccttgcat	780
accagcggac cacccgagtc accctggcag gcaccttct tgccttgcg gtagccggca	840
cacagcatgc gtggcgtcac ctggtagcga taggcctcgc tgcacaggtc ctgtgggac	900
aactgcacgt ccactttctg cagagcattg ctggtggggc cgccttcgcg cagggcgccc	960

cagccagtga tccagcagtg caggccgggt tcgaagaagt gggagcgcgc gggcaggcag	1020
actggacgca cggcggccga gcgcaccacc ggggtggtcga gctgcaacag cgccacgtcg	1080
tagtcgtggc tgtcctcttc gtgatacggg tgcaggagta ggcggtcac ctggaaggac	1140
acctctccag gccagcgcga gttctgccac accttgccca ggaacaccgt ccacagcgcc	1200
ggggaggcca tctgtctctc ctggaagcaa tgggcagctg ttatcaccca gcggtcagcg	1260
atgagggcgc cccacagat gtgtcgacc cgaacctgga ggctggcctg ccatggccac	1320
tcaccctcgg aggacacggc cccaccaaca atgcgactgg aggggccctg gaggccacag	1380
tcacagtgt gctcgtctga gccctccctg cagtcgggcc gcccatcaca ctgtgggttg	1440
ggcttcttca cgcagctctg gtcctcacac tgggaaggta atgtcccga gggcacccct	1500
tcctggcacc gctcttcac gctgccgttg agacagtcag gctgcccgtc acagacctta	1560
agcagtgaga tgcagtgct gtcctcttgg cactggaatg tggtcttgca aacgcagttt	1620
ctctcatcca ggccgttggg gcagtccttg acccatcac aggcaggac gcagagtcg	1680
ttcacagagc agaggaactc tccagggcag gggtccgact ggttgtacaa gccatagtgc	1740
accgcacac caggccctgt gaggagatc tgggaggtga aattgatgt gatgccggcc	1800
gtggccacca cggggatcct ctcggcgtaa ggctgcagga tgcgcaggcc acacagcctc	1860
ctgttctgga tcttccactg gccctgggtg cacggcaaat catacttctg cctccgcagt	1920
gcgtaggcgt caaaccagag ggccaagccg tagtccagag agggcacctg gaggtgccag	1980
gagcagtggg ttcggggcga gtagtagctg gggaagtacg ggggtctgag gacgccctgg	2040
gagtccagcc tgtcatccag cgtcaggttt acctcgagg cctggaagac caccgactgc	2100
acggagagca taaaggggtc gtagtagctg tgcaggccct tcttcagac caccgccatg	2160
atggccccc atgccaggac ttccaccaca ggctcctggc ggctgcagcc atacaccgag	2220
gtgatgagcc tcttctccag gggcccagcc acgtcataca tggccagtcg gtcccggcac	2280
tcggccagcg tccactccag ccggagtttc agcatgaggt cttcggggcc ctgcaggtgc	2340
cacaggcagc tggaggccag gtggtcgggt cccttcagcc ggaggacctg accctggccc	2400
acgtagctgt agcggtaaca acccagcgtg gaattcagtg cagctatgtc tttcacactg	2460
gcttctagga tctactaggcc ctcgggggtc acttcgtact cggccctgta ggggacagcc	2520
gccgagctgt tgactgtgga cagcagctcc tccaccagca gtgcctgcac cacctcgggg	2580
ctcagcatca gccggcgggtg ctcggggatt tggagaatga accagaagaa gcaggtagc	2640
ggtcctccc caaaggaata gacggagctg gagttgtaat aagttcccag gcgggtgctg	2700

gcgatgagct ccttgagcat cttctgggct ttggcggttt cactgcggaa ggcactggat 2760

tcccggcggg taagatcctg ggagaagtgg cgattgagca cgcgcaggct gcctgagtac 2820

acctggctga ccgtcacctc cgccttgtag cctaggaat accagagtag caccaccaact 2880

gaagtcagca caaccagggt cagccacagg ggcgccaggc ggaggtagcc cggggctttt 2940

ctcttggagt cctcacgggc ctgaacatc ccctctggct ccgttctctc gccatcacct 3000

ccgtcccccct gccaccagc cacctggggg gccttggcca caggcatcct ttcagagtgg 3060

aagagtaaca acatcaggcg gcagtgaccg gaagtgggtg ccgagacagt tcacagagga 3120

gcgaagtgca tctcaaggca gctcaccca gagggcaggc accagagctg gactgggtgt 3180

ggctcaag 3188

<210> 11

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

<223> /note="Description of Unknown: Exemplary
hydrophobic membrane translocation peptide"

<400> 11

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

1 5 10 15

<210> 12

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

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

<400> 12

Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 13

<211> 13

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus

<400> 13

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

1 5 10

<210> 14

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila sp.

<400> 14

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

1 5 10 15

<210> 15

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 15

cuuacgcuga guacuucgat t

21

<210> 16

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 16
ucgaaguacu cagcguaagt t 21
<210> 17
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 17
uggccuggag agguguccuu c 21
<210> 18
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 18
ggggugcuac ucugguauuu c 21
<210> 19
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 19
caacggccug gaugagagaa a 21
<210> 20
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<

220><221> source

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

<400> 20

aucgccacuu cuccaggau c 21

<210> 21

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 21

gguggcagga gguggcaucu u 21

<210> 22

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<400> 22

gaccgacugg ccaugauga c 21

<210> 23

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 23

ggugugcggg ugcacuaugg c 21

<210> 24

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 <221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 24
 ggccuggaug agagaaacug c 21
 <210> 25
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 25
 cucugguauu uccuaggua c 21
 <210> 26
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><
 221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 26
 gccccugguc uaacuugga u 21
 <210> 27
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 27

gaggcagaag uaugauuugc c 21

<210> 28

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<400> 28

aagccagugu gaaagacaua g 21

<210> 29

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 29

gccgggaccg acuggccaug u 21

<210> 30

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221>

source

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

<400> 30

cuccagguuc ggggucgaca c 21

<210> 31

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 31
agccccuggu cuaacuuggg a 21
<210> 32
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 32
ucgccacuuc ucccaggauc u 21
<210> 33
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 33
acucugguau uuccuaggu a 21
<210> 34
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 34
ucgcugaccg cugggugau a 21
<210> 35
<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 35
 gcccacacgg ccuggaugag a 21
 <210> 36
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223>
 > /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 36
 gccaaagcagg gggacaagua u 21
 <210> 37
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 37
 ucccuacag ggccgaguac g 21
 <210> 38
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223>
 /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 38

cuggguuguu accgcuacag c 21

<210> 39

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 39

cuggccugga gagguguccu u 21

<210> 40

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 40

gugcgggugc acuauggcuu g 21

<210> 41

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

uggcaggagg uggaucuug u 21

<210> 42

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 42
 ccuacaggg ccgaguacga a 21

<210> 43
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 43
 accugcuucu ucugguucau u 21

<210> 44
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<
 400> 44
 ugccugugau ggggucaagg a 21

<210> 45
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 45
 cagcuucgga agccccuggu c 21

<210> 46
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400

> 46

ccccuggucu aacuugggau c 21

<210> 47

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

ugcuucuucu gguucauucu c 21

<210> 48

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400>

48

cccaacggcc uggaugagag a 21

<210> 49

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

aagggccugc acagcuacua c 21

<210> 50
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 50

gucuaacuug ggaucuggga a 21

<210> 51
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 51

agcuucggaa gccccugguc u 21

<210> 52
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 52

ccagugugaa agacauagcu g 21

<210> 53
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 53

ccagguucgg ggucgacaca u 21

<210> 54

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

uccacgcugg guuguuaccg c 21

<

210> 55

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 55

ugccaagcag ggggacaagu a 21

<210> 56

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 56

auccagaaca ggaggcugug u 21

<210

> 57

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 57

uucaccuccc agaucuccu c 21

<210> 58

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 58

ccuccgaggg ugaguggcca u 21

<210>

59

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

uccagaacag gaggcugugu g 21

<210> 60

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

guguccuccg agggugagug g 21

<210> 61

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

uucggggucg acacaucugu g

21

<210> 62

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

ucggggucga ccaucugug g

21

<210> 63

<

211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

ugcuuccagg aggacagcau g

21

<210> 64

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 64

ucugguauuu ccuagggua a 21

<210> 65

<211

> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

uugaaggaca ccucuccagg cca 23

<210> 66

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

aggaaauacc agaguagcac ccc 23

<210> 67

<211>

23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

aguuucucuc auccaggccg uug 23

<210> 68

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

aagauccugg gagaaguggc gau 23

<210> 69

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

acaagaugcc accuccugcc acc 23

<210> 70

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

acgucauaca ugcccagucg guc 23

<210> 71

<211> 23

<

212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

aagccauagu gcacccgcac acc 23

<210> 72
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 72
 acgcaguuuc ucucauccag gcc 23
 <210> 73
 <211> 23
 <212>
 > RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 73
 uuguacccua ggaaauacca gag 23
 <210> 74
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 74
 agaucccaag uuagaccagg ggc 23
 <210> 75
 <211> 23
 <212>
 RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 75

acggcaaauc auacuucugc cuc 23

<210> 76

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 76

agcuaugucu uucacacugg cuu 23

<210> 77

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

auacauggcc agucgguccc ggc 23

<210> 78

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 78

augugcgac cccgaaccug gag 23

<210> 79

<211> 23

<212> RNA

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

gaucccaagu uagaccaggg guu 23

<210> 80

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 80

uaagaucug ggagaagugg cga 23

<210> 81

<211> 23

<212> RNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 81

uguacccuag gaaauaccag agu 23

<210> 82

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 82

uguuauacc cagcgguacg cga 23

<210> 83

<211> 23

<212> RNA

<213>

Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

ucucucaucc aggccguugg ggc

23

<210> 84

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 84

gaauacuugu cccccugcuu ggc

23

<210> 85

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

uucguacucg gccucguagg gga

23

<210> 86

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 86
uagcuguagc gguaacaacc cag 23
<210> 87
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<
220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 87
ugaaggacac cucuccaggc cag 23
<210> 88
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 88
uacaagccau agugcacccg cac 23
<210> 89
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 89
agacaagaug ccaccuccug cca 23
<210> 90
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 90

acuucguacu cggcccugua ggg 23

<210> 91

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 91

agaaugaacc agaagaagca ggu 23

<210> 92

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 92

aguccuugac cccaucacag gca 23

<210> 93

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 93

uagaccaggg gcuuccgaag cug 23

<210> 94

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 94
 cagaucctcaa guuagaccag ggg 23
 <210> 95
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221>
 > source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 95
 uggagaauga accagaagaa gca 23
 <210> 96
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 96
 uuucucucuu ccaggccguu ggg 23
 <210> 97
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221>
 source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 97
ucguaguagc ugugcaggcc cuu 23
<210> 98
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 98
cauucccaga uccaaguua gac 23
<210> 99
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 99
uuagaccagg ggcuuccgaa gcu 23
<210> 100
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 100
ugcagcuaug ucuuucacac ugg 23
<210> 101
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 101

agaugugucg accccgaacc ugg 23

<210> 102

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 102

uagcgguaac aaccagcgu gga 23

<210> 103

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 103

aaauacuuguc cccugcuug gca 23

<210> 104

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 104

ccacacagcc uccuguucug gau 23

<210> 105

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 105

gugagggaga ucugggaggu gaa 23

<210> 106

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 106

ccauggccac ucaccucgg agg 23

<210> 107

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 107

gccacacagc cuccuguucu gga 23

<210> 108

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 108
ggccacucac ccucggagga cac 23
<210> 109
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 109
cccacagaug ugucgacccc gaa 23
<210> 110
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 110
ccccacagau gugucgaccc cga 23
<210> 111
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 111
gccaugcugu ccuccuggaa gca 23
<210> 112
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

uguacccuag gaaauaccag agu 23

<210> 113

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 113

uggccuggag agguguccuu c 21

<210> 114

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 114

ggggugcuac ucugguauuu c 21

<210> 115

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 115

caacggccug gaugagagaa a 21

<210> 116

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 116

aucgccacuu cuccaggau c 21

<210> 117

<211> 21

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 117

gguggcagga gguggcaucu u	21
<210> 118	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 118	
gaccgacugg ccaugauga c	21
<210> 119	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 119	
ggugugcggg ugcacuaugg c	21
<210> 120	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 120	
ggccuggaug agagaaacug c	21
<210> 121	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 121	
cucugguauu uccuaggua c	21
<210> 122	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 122	
gccccugguc uaacuugga u	21
<210> 123	
<211> 21	

<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 123	
gaggcagaag uaugauuugc c	21
<210> 124	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 124	
aagccagugu gaaagacaua g	21
<210> 125	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 125	
gccgggaccg acuggccaug u	21
<210> 126	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 126	
cuccagguuc ggggucgaca c	21
<210> 127	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 127	
agccccuggu cuaacuuggg a	21
<210> 128	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 128	
ucgccacuuc ucccaggauc u	21

<210> 129	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 129	
acucugguau uuccuaggu a	21
<210> 130	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 130	
ucgcugaccg cugggugaua a	21
<210> 131	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 131	
gccccaacgg ccuggaugag a	21
<210> 132	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 132	
gccaagcagg gggacaagua u	21
<210> 133	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 133	
uccccuacag ggccgaguac g	21
<210> 134	
<211> 21	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 134
 cuggguuguu accgcuacag c 21
 <210> 135
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 135
 cuggccugga gagguguccu u 21
 <210> 136
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 136
 gugcgggugc acuauggccu g 21
 <210> 137
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 137
 uggcaggagg uggcaucuug u 21

 <210> 138
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 138
 ccuacaggg ccgaguacga a 21
 <210> 139
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 139
 accugcuucu ucugguucau u 21
 <210> 140

<211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 140
 ugccugugau ggggucaagg a 21
 <210> 141
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 141
 cagcuucgga agccccuggu c 21

 <210> 142
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 142
 cccucggucu aacuugggau c 21
 <210> 143
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 143
 ugcuuuuuuu gguucauuu c 21
 <210> 144
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 144
 cccaacggcc uggaugagag a 21
 <210> 145
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 145

aagggccugc acagcuacua c	21
<210> 146	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 146	
gucuaacuug ggauucuggga a	21
<210> 147	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 147	
agcuucggaa gccccugguc u	21
<210> 148	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 148	
ccagugugaa agacauagcu g	21
<210> 149	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 149	
ccagguucgg ggucgacaca u	21
<210> 150	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 150	
uccacgcugg guuguuaccg c	21
<210> 151	
<211> 21	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 151
 ugccaagcag ggggacaagu a 21
 <210> 152
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 152
 auccagaaca ggaggcugug u 21
 <210> 153
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 153
 uucaccuccc agaucuccu c 21
 <210> 154
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 154
 ccuccgaggg ugaguggcca u 21
 <210> 155
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 155
 uccagaacag gaggcugugu g 21
 <210> 156
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 156
 guguccuccg agggugagug g 21

<210> 157	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 157	
uucggggucg acacaucugu g	21
<210> 158	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 158	
ucggggucga cacaucugug g	21
<210> 159	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 159	
ugcuuccagg aggacagcau g	21
<210> 160	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 160	
ucugguauuu ccuagguac a	21
<210> 161	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 161	
uugaaggaca ccucuccagg cca	23
<210> 162	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 162
 aggaauacc agaguagcac ccc 23
 <210> 163
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 163
 aguuucucuc auccaggccg uug 23
 <210> 164
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 164
 aagaucugg gagaaguggc gau 23
 <210> 165
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 165
 acaagaugcc accuccugcc acc 23
 <210> 166
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 166
 acgucauaca ugcccagucg guc 23
 <210> 167
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 167
 aagccauagu gcacccgcac acc 23
 <210> 168

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 168
 acgcaguuuc ucucauccag gcc 23
 <210> 169
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 169
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

 <210> 170
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 170
 agaucccaag uuagaccagg ggc 23
 <210> 171
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 171
 acggcaaauc auacuucugc cuc 23
 <210> 172
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 172
 agcuaugucu uucacacugg cuu 23
 <210> 173
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 173

auacauggcc agucgguccc ggc	23
<210> 174	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 174	
augugucgac cccgaaccug gag	23
<210> 175	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 175	
gaucCCAAGU uagaccaggG gcU	23
<210> 176	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 176	
uaagauccug ggagaagugg cga	23
<210> 177	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 177	
uguacCCUAG gaaauaccag agu	23
<210> 178	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 178	
uguuauCACC cagcggucag cga	23
<210> 179	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 179
 ucucucaucc aggccguugg ggc 23
 <210> 180
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 180
 gaauacuugu cccccugcuu ggc 23
 <210> 181
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 181
 uucguacucg gcccuguagg gga 23
 <210> 182
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 182
 uagcuguagc gguaacaacc cag 23
 <210> 183
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 183
 ugaaggacac cucuccaggc cag 23
 <210> 184
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 184
 uacaagccau agugcacccg cac 23

<210> 185
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 185
 agacaagaug ccaccuccug cca 23

<210> 186
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 186
 acuucguacu cggcccugua ggg 23

<210> 187
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 187
 agaaugaacc agaagaagca ggu 23

<210> 188
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 188
 aguccuugac cccaucacag gca 23

<210> 189
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 189
 uagaccaggg gcuuccgaag cug 23

<210> 190
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Homo sapiens
 <400> 190
 cagaucceaa guuagaccag ggg 23
 <210> 191
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 191
 uggagaauga accagaagaa gca 23
 <210> 192
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 192
 uuucucucan ccaggccguu ggg 23
 <210> 193
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 193
 ucguaguagc ugucaggcc cuu 23

 <210> 194
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 194
 cauucccaga uccaaguua gac 23
 <210> 195
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 195
 uuagaccagg ggcuccgaa gcu 23
 <210> 196

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 196
 ugcagcuaug ucuuucacac ugg 23
 <210> 197
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 197
 agaugugucg accccgaacc ugg 23

 <210> 198
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 198
 uagcguaac aaccagcgu gga 23
 <210> 199
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 199
 aaacuuguc cccugcuug gca 23
 <210> 200
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 200
 ccacacagcc uccuguucug gau 23
 <210> 201
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 201

gugagggaga ucugggaggu gaa	23
<210> 202	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 202	
ccauggccac ucaccucgg agg	23
<210> 203	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 203	
gccacacagc cuccuguucu gga	23
<210> 204	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 204	
ggccacucac ccucggagga cac	23
<210> 205	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 205	
cccacagaug ugucgacccc gaa	23
<210> 206	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 206	
ccccacagau gugugaccc cga	23
<210> 207	
<211> 23	

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 207

gccaugcugu ccuccuggaa gca 23

<210> 208

<211> 23

<212> RNA

<213> Homo sapiens

<400> 208

uguacccuag gaaauaccag agu 23

<210> 209

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 209

ugguauuucc uagguacat t 21

<210> 210

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 210

uguacccuag gaaauacat t	21
<210> 211	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 211	
ggugcuacuc ugguauuucc u	21
<210> 212	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 212	
ucugguauuu ccuagguac a	21
<210> 213	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 213	
cugguauuuc cuagguaca a	21
<210> 214	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 214	
ugguauuucc uagguacaa a	21
<210> 215	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 215	
gguauuuccu agguacaag a	21
<210> 216	
<211> 19	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens	
<400> 216	
ugguauuucc uagguuaca	19
<210> 217	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 217	
guauuuccua gguuacaagg a	21
<210> 218	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 218	
auuuccuagg guacaaggcg a	21
<210> 219	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 219	
uuuccuaggg uacaaggcgg a	21
<210> 220	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 220	
cgccacuucu cccaggaucu u	21
<210> 221	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 221	
gccacuucuc ccaggaucuu a	21

<210> 222	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 222	
cugcuucuuc ugguucauuc u	21
<210> 223	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 223	
cuucuucugg uucauucucc a	21
<210> 224	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 224	
cccuacaggg ccgaguacga a	21
<210> 225	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 225	
cuacagggcc gaguacgaag u	21
<210> 226	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 226	
gccaguguga aagacauagc u	21
<210> 227	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 227	
agugugaaag acauagcugc a	21
<210> 228	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 228	
cacgcugggu uguuaccgcu a	21
<210> 229	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 229	
ggguuguuac cgcuaacgcu a	21
<210> 230	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 230	
cgggaccgac uggccaugua u	21
<210> 231	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 231	
ccgacuggcc auguaugacg u	21
<210> 232	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 232	
gggccugcac agcuacuacg a	21
<210> 233	
<211> 21	

<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 233	
ggcagaagua ugauuugccg u	21
<210> 234	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 234	
ccagaacagg aggcugugug g	21
<210> 235	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 235	
cagaacagga ggcugugugg c	21
<210> 236	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 236	
caccucccag aucucccuca c	21
<210> 237	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 237	
caccucccag aucucccuca a	21
<210> 238	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 238	

ugugcgggug cacuauggcu u	21
<210> 239	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 239	
gcgggugcac uauggcuugu a	21
<210> 240	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 240	
ccccugcccu ggagaguucc u	21
<210> 241	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 241	
cccugcccug gagaguuccu a	21
<210> 242	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 242	
ccugcccugg agaguuccuc u	21
<210> 243	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 243	
cugcccugga gaguuccuc a	21
<210> 244	
<211> 21	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 244
 ccugugaugg ggucaaggac u 21
 <210> 245
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 245
 ggacugcccc aacggccugg a 21
 <210> 246
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 246
 acugccccaa cggccuggau a 21
 <210> 247
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 247
 cugccccaac ggccuggaug a 21
 <210> 248
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 248
 ugccccaacg gccuggauga a 21
 <210> 249
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 249
 gccccaacgg ccuggaugag a 21

<210> 250
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 250
 ccccaacggc cuggaugaga a 21
 <210> 251
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 251
 cccaacggcc uggaugagag a 21
 <210> 252
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 252
 caacggccug gaugagagaa a 21
 <210> 253
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 253
 acggccugga ugagagaaac u 21
 <210> 254
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 254
 ccuggaugag agaaacugcg u 21
 <210> 255
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 255	
cacugugacu guggccucca a	21
<210> 256	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 256	
guccuccgag ggugaguggc c	21
<210> 257	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 257	
cuccgagggg gaguggccau a	21
<210> 258	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 258	
uccgagggg aguggccaug g	21
<210> 259	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 259	
ccagguucgg ggucgacaca u	21
<210> 260	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 260	
agguucgggg ucgacacau u	21
<210> 261	
<211> 21	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 261
 cggggucgac acaucugugg g 21

 <210> 262
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 262
 cggggucgac acaucugugg a 21
 <210> 263
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 263
 ggggucgaca caucuguggg g 21
 <210> 264
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 264
 ggggucgaca caucuguggg a 21
 <210> 265
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 265
 gggucgacac aucugugggg a 21

 <210> 266
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 266

gcugaccgcu gggugauaac a	21
<210> 267	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 267	
cuuccaggag gacagcaugg c	21
<210> 268	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 268	
ggccuggaga gguguccuuc a	21
<210> 269	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 269	
gccuggagag guguccuuc a	21
<210> 270	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 270	
ccaagcaggg ggacaaguau u	21
<210> 271	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 271	
caagcagggg gacaaguauu c	21
<210> 272	
<211> 21	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens	
<400> 272	
uggcaggagg uggcaucuug u	21
<210> 273	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 273	
gcaggaggug gcaucuuguc u	21
<210> 274	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 274	
gcuucggaag cccuggucu a	21
<210> 275	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 275	
cuucggaagc cccuggucua a	21
<210> 276	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 276	
ccccuggucu aacuugggau c	21
<210> 277	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 277	
cccuggucua acuugggauc u	21

<210> 278
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 278
 ccuggucuaa cuugggaucu g 21
 <210> 279
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 279
 cuaacuuggg aucugggaau g 21
 <210> 280
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 280
 aggaaauacc agaguagcac ccc 23
 <210> 281
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 281
 uguacccuag gaaauaccag agu 23
 <210> 282
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 282
 uuguaccua ggaaauacca gag 23
 <210> 283
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 283	
uuuguacccu aggaauuacc aga	23
<210> 284	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 284	
ucuuguaccc uaggaaauac cag	23
<210> 285	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 285	
uguacccuag gaaauacca	19
<210> 286	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 286	
uccuuguacc cuaggaaaua cca	23
<210> 287	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 287	
ucgccuugua ccuaggaaa uac	23
<210> 288	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 288	
uccgccuugu acccuaggaa aua	23
<210> 289	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 289
 aagauccugg gagaaguggc gau 23

<210> 290
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 290
 uaagauccug ggagaagugg cga 23

<210> 291
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 291
 agaaugaacc agaagaagca ggu 23

<210> 292
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 292
 uggagaauga accagaagaa gca 23

<210> 293
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 293
 uucguacucg gcccuguagg gga 23

<210> 294
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 294

acuucguacu cggcccugua ggg	23
<210> 295	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 295	
agcuaugucu uucacacugg cuu	23
<210> 296	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 296	
ugcagcuaug ucuuucacac ugg	23
<210> 297	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 297	
uagcgguaac aacccagcgu gga	23
<210> 298	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 298	
uagcuguagc gguuacaacc cag	23
<210> 299	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 299	
auacaaggcc agucgguccc ggc	23
<210> 300	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens
 <400> 300
 acgucauaca uggccagucg guc 23
 <210> 301
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 301
 ucguaguagc ugucaggcc cuu 23
 <210> 302
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 302
 acggcaaauc auacuucugc cuc 23
 <210> 303
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 303
 ccacacagcc uccuguucug gau 23
 <210> 304
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 304
 gccacacagc cuccuguucu gga 23
 <210> 305
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 305
 gugagggaga ucugggaggu gaa 23

<210> 306
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 306
 uugagggaga ucugggaggu gaa 23
 <210> 307
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 307
 aagccauagu gcacccgcac acc 23
 <210> 308
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 308
 uacaagccau agugcacccg cac 23
 <210> 309
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 309
 aggaacucuc cagggcaggg guc 23
 <210> 310
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 310
 uaggaacucu ccagggcagg ggu 23
 <210> 311
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 311	
agaggaacuc uccagggcag ggg	23
<210> 312	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 312	
uagaggaacu cuccagggca ggg	23
<210> 313	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 313	
aguccuugac cccaucacag gca	23
<210> 314	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 314	
uccagggccgu uggggcaguc cuu	23
<210> 315	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 315	
uauccaggcc guuggggcag ucc	23
<210> 316	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 316	
ucauccaggc cguuggggca guc	23
<210> 317	
<211> 23	

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 317
 uucauccagg ccguuggggc agu 23

<210> 318
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 318
 ucucauccag gccguugggg cag 23

<210> 319
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 319
 uucucaucca ggccguuggg gca 23

<210> 320
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 320
 ucucucaucc aggccguugg ggc 23

<210> 321
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 321
 uuucucucau ccaggccguu ggg 23

<210> 322
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 322

aguuucucuc auccaggccg uug	23
<210> 323	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 323	
acgcaguuuc ucucauccag gcc	23
<210> 324	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 324	
uuggaggcca cagucacagu gcu	23
<210> 325	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 325	
ggccacucac ccucggagga cac	23
<210> 326	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 326	
uauggccacu caccucgga gga	23
<210> 327	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 327	
ccauggccac ucaccucgg agg	23
<210> 328	
<211> 23	
<212> RNA	

<213> Homo sapiens	
<400> 328	
augugucgac cccgaaccug gag	23
<210> 329	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 329	
agaugugucg accccgaacc ugg	23
<210> 330	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 330	
cccacagaug ugucgacccc gaa	23
<210> 331	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 331	
uccacagaug ugucgacccc gaa	23
<210> 332	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 332	
ccccacagau gugucgaccc cga	23
<210> 333	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Homo sapiens	
<400> 333	
uccacagau gugucgaccc cga	23

<210> 334
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 334
 uccccacaga ugugucgacc ccg 23
 <210> 335
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 335
 uguuauacacc cagcggucag cga 23
 <210> 336
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 336
 gccaucgugu ccuccuggaa gca 23
 <210> 337
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 337
 ugaaggacac cucuccaggc cag 23
 <210> 338
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 338
 uugaaggaca ccuccagg cca 23
 <210> 339
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens

<400> 339
aauacuuguc cccugcuug gca 23
<210> 340
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 340
gaauacuugu cccugcuu ggc 23
<210> 341
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 341
acaagaugcc accuccugcc acc 23
<210> 342
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 342
agacaagaug ccaccuccug cca 23
<210> 343
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 343
uagaccaggg gcuuccgaag cug 23
<210> 344
<211> 23
<212> RNA
<213> Homo sapiens
<400> 344
uuagaccagg ggcuuccgaa gcu 23
<210> 345
<211> 23

<212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 345
 gaucccaagu uagaccaggg gcu 23

<210> 346
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 346
 agaucccaag uuagaccagg ggc 23

<210> 347
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 347
 cagaucccaa guuagaccag ggg 23

<210> 348
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Homo sapiens
 <400> 348
 cauucccaga uccaaguua gac 23

<210> 349
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 349

ugguauuuucc uaggguat t 21

<210> 350

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 350

ucugguauuu ccuagggua a 21

<210> 351

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 351

gccuggagag guguccu a 21

<210> 352

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 352

cugguauuuc cuagggua a 21

<210> 353

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 353

gcaggaggug gcaucuuguc u 21

<210> 354

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 354

gggccugcac agcuacuacg a 21

<210> 355

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 355

caccucccag aucucccuca c 21

<210> 356

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 356

ggugcuacuc ugguuuuucc u 21

<210> 357

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 357
 cccugggucua acuugggauc u 21
 <210> 358
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 358
 gcugaccgcu gggugauaac a 21
 <210> 359
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 359
 cuacagggcc gaguacgaag u 21
 <210> 360
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 360

cuaacuuggg aucugggaau g 21

<210> 361

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 361

uccgagggug aguggccaug g 21

<210> 362

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 362

acggccugga ugagagaaac u 21

<210> 363

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 363

ggcagaagua ugauuugccg u 21

<210> 364

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 364
cccaacggcc uggaugagag a 21

<210> 365
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 365
cugcuucuuc ugguucauuc u 21

<210> 366
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 366
cuucggaagc ccuggucua a 21

<210> 367
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 367
cagaacagga ggcugugugg c 21

<210> 368
<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 368
 cgccacuucu cccaggaucu u 21

<210> 369
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 369
 gccaguguga aagacauagc u 21

<210> 370
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 370
 caagcagggg gacaaguauu c 21

<210> 371
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 371

ccugugaugg ggucaaggac u 21

<210> 372

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 372

agugugaaag acauagcugc a 21

<210> 373

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 373

guccuccgag ggugaguggc c 21

<210> 374

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 374

uggcaggagg uggcaucuug u 21

<210> 375

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 375

cgggaccgac uggccaugua u 21

<210> 376

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 376

cccuacaggg ccgaguacga a 21

<210> 377

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 377

gcuucggaag cccugguu a 21

<210> 378

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 378

agguucgggg ucgacacauc u 21

<210> 379

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 379
 cggggucgac acaucugugg g 21
 <210> 380
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 380
 ccgacuggcc augaugacg u 21
 <210> 381
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 381
 ccagguucgg ggucgacaca u 21
 <210> 382
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 382

ggguuguuac cgcuaacagcu a 21

<210> 383

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 383

ccuggucuaa cuugggaucu g 21

<210> 384

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 384

cacgcugggu uguuaccgcu a 21

<210> 385

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 385

ggggucgaca caucuguggg g 21

<210> 386

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 386
ugugcgggug cacuauggcu u 21

<210> 387
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 387
ccccuggucu aacuugggau c 21

<210> 388
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 388
ggccuggaga gguguccuuc a 21

<210> 389
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 389
cuucuucugg uucauuccc a 21
<210> 390
<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 390
 ccaagcaggg ggacaaguau u 21

<210> 391
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 391
 cuuccaggag gacagcaugg c 21

<210> 392
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 392
 ccuggaugag agaaacugcg u 21

<210> 393
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 393

gccacuucuc ccaggaucuu a 21

<210> 394

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 394

gcgggugcac uauggcuugu a 21

<210> 395

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 395

caacggccug gaugagagaa a 21

<210> 396

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 396

ccagaacagg aggcugugug g 21

<210> 397

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 397

gggucgacac aucugugggg a 21

<210> 398

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 398

ccccaacggc cuggaugaga a 21

<210> 399

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 399

gccccaacgg ccuggaugag a 21

<210> 400

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 400

cugcccugga gaguuccucu a 21

<210> 401

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 401

cggggucgac acaucugugg a 21

<210> 402

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 402

uuuccuaggg uacaaggcgg a 21

<210> 403

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 403

acugccccaa cggccuggau a 21

<210> 404

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 404

ggggucgaca caucuguggg a 21

<210> 405

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 405

cugccccaac ggccuggaug a 21

<210> 406

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 406

auuuccuagg guacaaggcg a 21

<210> 407

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 407

ccccugcccu ggagaguucc u 21

<210> 408

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 408
cccugcccug gagaguuccu a 21

<210> 409
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 409
cacugugacu guggccucca a 21
<210> 410
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 410
ggacugcccc aacggccugg a 21

<210> 411
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 411
gguauuuccu agguacaag a 21
<210> 412
<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 412
 caccucccag aucuccuca a 21

<210> 413
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 413
 ugguaauuucc uagguacaa a 21

<210> 414
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 414
 guauuuuccua gguuacaagg a 21

<210> 415
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 415

cuccgaggggu gaguggccau a 21

<210> 416

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 416

ugccccaacg gccuggauga a 21

<210> 417

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 417

ccugcccugg agaguuccuc u 21

<210> 418

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 418

uguacccuag gaaauacat t 21

<210> 419

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 419

uguacccuag gaaauaccag agu 23

<210> 420

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 420

uugaaggaca ccucuccagg cca 23

<210> 421

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 421

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 422

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 422

agacaagaug ccaccuccug cca 23

<210> 423

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 423

ucguaguagc ugugcaggcc cuu 23

<210> 424

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 424

gugagggaga ucugggaggu gaa 23

<210> 425

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 425

aggaaauacc agaguagcac ccc 23

<210> 426

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 426

agaucccaag uuagaccagg ggc

23

<210> 427

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 427

uguuaucaacc cagcggucag cga

23

<210> 428

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 428

acuucguacu cggcccugua ggg

23

<210> 429

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 429

cauucccaga uccaaguua gac

23

<210> 430

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 430

ccauggccac ucaccucgg agg 23

<210> 431

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 431

aguuucucuc auccaggccg uug 23

<210> 432

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 432

acggcaaauc auacuucugc cuc 23

<210> 433

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 433

ucucucaucc aggccguugg ggc 23

<210> 434

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 434

agaaugaacc agaagaagca ggu 23

<210> 435

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 435

uuagaccagg ggcuuccgaa gcu 23

<210> 436

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 436

gccacacagc cuccuguucu gga 23

<210> 437

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 437

aagauccugg gagaaguggc gau 23

<210> 438

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 438

agcuaugucu uucacacugg cuu 23

<210> 439

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 439

gaauacuugu cccccugcuu ggc 23

<210> 440

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 440

aguccuugac cccaucacag gca 23

<210> 441

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 441

ugcagcuaug ucuuucacac ugg 23

<210> 442

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 442

ggccacucac ccucggagga cac 23

<210> 443

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 443

acaagaugcc accuccugcc acc 23

<210> 444

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 444

auacauggcc agucgguccc ggc 23

<210> 445

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 445

uucguacucg gccucguagg gga 23

<210> 446

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 446

uagaccaggg gcuuccgaag cug 23

<210> 447

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 447

agaugugucg accccgaacc ugg 23

<210> 448

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 448

cccacagaug ugucgacccc gaa

23

<210> 449

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 449

acgucauaca uggccagucg guc

23

<210> 450

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 450

augugucgac cccgaaccug gag

23

<210> 451

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 451

uagcuguagc gguaacaacc cag

23

<210> 452

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 452

cagaucaccaa guuagaccag ggg 23

<210> 453

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 453

uagcgguaac aaccagcgu gga 23

<210> 454

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 454

ccccacagau gugucgaccc cga 23

<210> 455

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 455

aagccauagu gcacccgcac acc 23

<210> 456

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 456

gaucCCAAGU uagaccaggg gcu 23

<210> 457

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 457

ugaaggacac cucuccaggc cag 23

<210> 458

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 458

uggagaauga accagaagaa gca 23

<210> 459

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 459

aauacuuguc cccugcuug gca 23

<210> 460

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 460

gccaucgugu ccuccuggaa gca 23

<210> 461

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 461

acgcaguuuc ucucauccag gcc 23

<210> 462

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 462

uaagauccug ggagaagugg cga 23

<210> 463

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 463

uacaagccau agugcacccg cac 23

<210> 464

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 464

uuucucuc au ccaggccguu ggg 23

<210> 465

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 465

ccacacagcc uccuguucug gau 23

<210> 466

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 466

uccccacaga ugugucgacc ccg 23
 <210> 467
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 467
 uucucaucca ggccguuggg gca 23
 <210> 468
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 468
 ucucauccag gccguugggg cag 23
 <210> 469
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 469
 uagaggaacu cuccagggca ggg 23
 <210> 470
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 470

uccacagaug ugucgacccc gaa

23

<210> 471

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 471

uccgccuugu acccuaggaa aua

23

<210> 472

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 472

uauccaggcc guuggggcag ucc

23

<210> 473

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 473

uccacagau gugucgacc cga

23

<210> 474

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 474

ucauccaggc cguuggggca guc 23

<210> 475

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 475

ucgccuugua ccuaggaaa uac 23

<210> 476

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 476

aggaacucuc cagggcaggg guc 23

<210> 477

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 477

uaggaacucu ccagggcagg ggu 23

<210> 478

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 478

uuggaggcca cagucacagu gcu 23

<210> 479

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 479

uccaggccgu uggggcaguc cuu 23

<210> 480

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 480

ucuuguaccc uaggaaauc cag 23

<210> 481

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 481

uugagggaga ucugggaggu gaa 23

<210> 482

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 482

uuuguacccu aggaaauacc aga 23

<210> 483

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 483

uccuuguacc cuaggaaaua cca 23

<210> 484

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 484

uauggccacu caccucgga gga 23

<210> 485

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 485

uucauccagg ccguuggggc agu 23

<210> 486

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 486

agaggaacuc uccagggcag ggg 23

<210> 487

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 487

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 488

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 488

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 489

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 489

cugguauuuc cuaggggtaca a 21

<210> 490

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 490

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 491

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 491

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 492

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 492

cugguauuuc cuagguaca a

21

<210> 493

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 493

gguaauuuccu agguuacaa

19

<210> 494

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 494

cugguauuuc cuagguaca a

21

<210> 495

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 495

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 496

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 496

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 497

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 497

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 498

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 498

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 499

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 499

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 500
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 500

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 501
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 501

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 502
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 502

cugguauuuc cuaggguaaca a	21
<210> 503	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 503	
 cugguauuuc cuaggguaaca a	 21
<210> 504	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 504	
 cugguauuuc cuaggguaaca a	 21
<210> 505	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 505	
 cugguauuuc cuaggguaaca a	 21
<210> 506	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	

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

<400> 506

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 507

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 507

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 508

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 508

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 509

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 509

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 510

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 510
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 511
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 511

 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 512
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 512
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 513
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 513

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 514

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 514

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 515

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<400> 515

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 516

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 516

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 517

<211> 21

<212> DNA

```

<213> Artificial Sequence
<
220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 517
cugguauuuc cuagggtaga a                                21
<210> 518
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 518
cugguauuuc cuagggguaca a                                21

<210> 519
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 519
cugguauuuc cuagggguaca a                                21
<210> 520
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

```

oligonucleotide"
 <400> 520
 cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 521
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 521
 cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 522
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"
 <400> 522
 cugguauuuc cuagguaca a 21
 <210> 523
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> Thymidine-glycol nucleic acid (GNA) S-Isomer

<400> 523

cugguauuuc cuaggtaca a 21

<210> 524

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 524

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 525

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 525

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 526

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 526

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 527
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 527
 cugguauuuc cuaggggtaca a 21
 <210> 528
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 528
 cugguauuuc cuagggguaca a 21
 <210> 529
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 529
 cugguauuuc cuagggguaca a 21
 <210> 530
 <211> 21
 <212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 530

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 531

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 531

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 532

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 532

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 533
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 533
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 534
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 534
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 535
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 535
 cugguauuuc cuagggta a 21

<210> 536
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 536
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 537
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 537
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 538
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 538
 cugguauuuc cuaggguaa a 21
 <210> 539
 <211> 21
 <212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 539

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 540

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 540

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 541

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 541

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 542

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 542

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 543

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 543

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 544

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 544

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 545

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 545
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 546
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 546
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 547
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 547
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 548
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 548
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 549
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 549

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 550

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 550

uuguaccua ggaaauacca g 21

<210> 551

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 551

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 552

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 552

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 553

<211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 553
 uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 554
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 554
 uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 555
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 555
 uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 556
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 556
uuguaccua ggaaauacca gag 23
<210> 557
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 557
uuguaccua ggaaauacca gag 23
<210> 558
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 558
uuguaccua ggaaauacca gag 23
<210> 559
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 559
uuguaccua ggaaauacca gag 23
<210> 560
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 560

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 561

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 561

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 562

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 562

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 563

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 563

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 564

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 564

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 565

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 565

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 566

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 566

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 567

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 567

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 568

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 568

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 569

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 569

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 570

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 570

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 571

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 571

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 572

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 572

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 573

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 573

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 574

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 574

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 575

<211> 23

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 575
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 576
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 576
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 577
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 577
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 578
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 578

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 579

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 579

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 580

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 580

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 581

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 581

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 582

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 582

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 583

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 583

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 584

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 584

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 585

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 585

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 586

<211> 23

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 586
 uuguacccua ggaaauacca gag 23
 <210> 587
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 587
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

 <210> 588
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 588
 uuguacccua ggaaauacca gag 23
 <210> 589
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 589

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 590

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 590

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 591

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 591

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 592

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 592

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 593

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 593
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 594
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 594
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 595
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 595
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 596
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 596
uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 597
<211> 23

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 597
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 598
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 598
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 599
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 599
 uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 600
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 600

uuguacccua ggaaauacca gag 23

<210> 601

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 601

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 602

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 602

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 603

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 603

cugguauuuc cuagggtaga a 21

<210> 604

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 604

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 605

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 605

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 606

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 606

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 607

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 607

gguaauuuccu aggguaaca	19
<210> 608	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 608	
cugguauuuc cuaggguaa a	21
<210> 609	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 609	
cugguauuuc cuaggguaa a	21
<210> 610	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400> 610	
cugguauuuc cuaggguaa a	21
<210> 611	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial Sequence	
<220><221> source	

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

oligonucleotide"

<400> 611

cugguauuuc cuaggguaa a

21

<210> 612

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 612

cugguauuuc cuaggguaa a

21

<210> 613

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 613

cugguauuuc cuaggguaa a

21

<210> 614

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 614

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 615

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 615

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 616

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 616

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 617

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 617

cugguauuuc cuaggguaca a 21

<210> 618

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 618

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 619

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 619

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 620

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 620

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 621

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 621

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 622

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 622

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 623

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 623

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 624

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 624

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 625

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 625

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 626

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 626

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 627

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 627

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 628

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 628

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 629

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 629

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 630

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 630

cugguauuuc cuaggguaaca a 21

<210> 631

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 631

cugguauuuc cuagggtaaca a 21

<210> 632

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<400> 632

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 633

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 633

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 634

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 634

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 635

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 635

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 636

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 636

cugguauuuc cuaggguaca a

21

<210> 637

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> modified_base

<222> (17)..(17)

<223> Thymidine-glycol nucleic acid (GNA) S-Isomer

<400> 637

cugguauuuc cuagggta a

21

<210> 638

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 638

cugguauuuc cuaggguaca a

21

<210> 639

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 639

cugguauuuc cuaggguaca a

21

<210> 640

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 640

cugguauuuc cuaggguaca a

21

<210> 641

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 641

cugguauuuc cuagggtaga a

21

<210> 642

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 642
 cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 643
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 643
 cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 644
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 644
 cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 645
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 645

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 646

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 646

cugguauuuc ctagguaca a 21

<210> 647

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 647

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 648

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 648

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 649

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 649

cugguauuuc cuaggtaca a 21

<210> 650

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 650

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 651

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 651

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 652

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 652

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 653

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 653

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 654

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 654

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 655

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 655

cugguauuuc cuaggguaa a 21

<210> 656

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 656

cugguauuuc ctaggguaa a 21

<210> 657

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 657

cugguauuuc cuagguaca a 21

<210> 658

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 658

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 659

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 659

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 660

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 660

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 661

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 661

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 662

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 662

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 663

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 663

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 664

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 664

uuguaccua ggaaauacca g

21

<210> 665

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 665

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 666

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 666

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 667

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 667

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 668

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 668

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 669

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 669

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 670

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 670

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 671

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 671

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 672

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 672

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 673

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 673

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 674

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 674

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 675

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 675

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 676

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 676

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 677

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 677

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 678

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 678

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 679

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 679

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 680

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 680

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 681

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 681

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 682

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 682

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 683

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 683

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 684

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 684

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 685

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 685

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 686

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 686

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 687

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 687

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 688

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 688

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 689

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 689

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 690

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 690

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 691

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 691

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 692

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 692

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 693

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 693

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 694

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 694

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 695

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 695

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 696

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 696

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 697

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 697

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 698

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 698

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 699

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 699

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 700

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 700

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 701

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 701

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 702

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 702

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 703

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 703

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 704

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 704

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 705

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 705

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 706

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 706

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 707

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 707

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 708

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 708

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 709

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 709

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 710

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 710

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 711

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 711

uuguaccua ggaaauacca gag

23

<210> 712

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 712

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 713

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 713

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 714

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 714

uuguaccua ggaaauacca gag 23

<210> 715

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 715

ugagccagac ccaguccagt t 21

<210> 716

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 716

gacccagucc agcucuggut t 21

<210> 717

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 717

cucuggugcc ugcccucugt t 21

<210> 718

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 718

gcccucuggu gcgagcugat t 21

<210> 719

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 719

ggugcgagcu gaccugagat t 21

<210> 720

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 720

ugaccugaga ugcacuuuct t 21

<210> 721

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 721

ugcacuuccc uccucugugt t 21

<210> 722

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 722

cugugagcug ucucggcact t 21

<210> 723

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 723

gucucggcac ccacuugcat t 21

<210> 724

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 724

ccacuugcag ucacugccgt t 21

<210> 725

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 725

gucacugccg ccugauguut t 21

<210> 726

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 726

gccugauguu guuacucuut t 21

```

<210> 727
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 727
uuacucuucc acuccaaaat t                21
<210> 728
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 728
acuccaaaag gaugcccgut t                21
<210> 729
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

```

oligonucleotide"

<400> 729

ugcccguggc cgaggccct t 21

<210> 730

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 730

uggccgaggc ccccaggut t 21

<210> 731

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 731

ccagguggcu ggcgggcagt t 21

<210> 732

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 732

gcgggcaggg ggacggaggt t 21

<210> 733

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 733

ggacggaggu gauggcgagt t 21

<210> 734

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 734

gugauggcga ggaagcgat t 21

<210> 735

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 735
gaagcggagc cggaggggat t 21
<210> 736
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 736
gccggagggg augucaaagt t 21
<210> 737
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 737
uguucaaaggc cugugaggat t 21
<210> 738

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 738

cugugaggac uccaagagat t

21

<210> 739

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 739

acuccaagag aaaagccgt t

21

<210> 740

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 740

gcccggggcu accucgcct t

21

<210> 741

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 741

accucgccu ggugcccut t

21

<210> 742

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 742

gccuggugcc ccuguugut t

21

<210> 743

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 743

uguuugugcu gcuggcccut t 21
 <210> 744
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 744

ugcuggcccu gcucgugcut t 21
 <210> 745
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 745

gcucgugcug gcuucggcgt t 21
 <210> 746
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 746
 ucggcggggg ugcuaucut t 21
 <210> 747
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 747
 cggcgggggu gcuacucugt t 21
 <210> 748
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 748
 ggcgggggug cuacucuggt t 21
 <210> 749

```

<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 749
gcgggggugc uacucuggut t                21
<210> 750
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 750
cgggggugcu acucugguat t                21

<210> 751
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"

```

<400> 751
 ggggggugcua cucugguaut t 21
 <210> 752
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 752
 gggugcuacu cugguauuut t 21
 <210> 753
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 753
 ggugcuacuc ugguauuuct t 21
 <210> 754
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 754

gugcuacucu gguauuucct t 21

<210> 755

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 755

gcuacucugg uauuuccuat t 21

<210> 756

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 756

cuacucuggu auuuccuagt t 21

<210> 757

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

```

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 757
uacucuggua uuuccuaggt t                21
<210> 758
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 758
acucugguau uuuccuaggt t                21
<210> 759
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 759
cucugguauu uccuagggut t                21
<210> 760

```

<211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 760
 cugguauuuc cuagguact t 21

<210> 761
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 761
 guauuuccua ggguaacaagt t 21

<210> 762
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 762
uauuuccuag gguacaaggt t 21
<210> 763
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 763

auuuccuagg guacaaggct t 21
<210> 764
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 764
uuuccuaggg uacaaggcgt t 21
<210> 765
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 765

uuccuagggg acaaggcggt t 21

<210> 766

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 766

ccuagggguac aaggcggagt t 21

<210> 767

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 767

cuagggguaca aggcggaggt t 21

<210> 768

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 768
 uagggguacaa ggcggaggut t 21
 <210> 769
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221>
 > source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 769
 agggguacaag gcggaggugt t 21
 <210> 770
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 770
 gggguacaagg cggaggugat t 21
 <210> 771

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 771

gguacaaggc ggaggugaut t 21

<210> 772

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 772

guacaaggcg gaggugaugt t 21

<210> 773

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 773

uacaaggcgg aggugauggt t

21

<210> 774

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 774

acaaggcggga ggugauggut t

21

<210> 775

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 775

caaggcggag gugaugguct t

21

<210> 776

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 776

aaggcggagg ugaugguca t 21

<210> 777

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 777

aggcggaggu gaugguca t 21

<210> 778

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 778

ugauggucag ccaggugua t 21

<210> 779

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

```

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 779
ccagguguac ucaggcagut t                21
<210> 780
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 780
gcagucugcg uguacucaat t                21

<210> 781
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 781
gcguguacuc aaugccact t                21
<210> 782

```

<211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 782
 ucgccacuuc ucccaggaut t 21
 <210> 783
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 783

 cucccaggau cuuacccgct t 21
 <210> 784
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 784
uacccgccgg gaaucaugut t 21
<210> 785
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 785
ccgggaauca agugccuuct t 21
<210> 786
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 786
agugccuucc gcagugaaat t 21
<210> 787
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 787

gugaaaccgc caaagccat t 21

<210> 788

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 788

cgccaaagcc cagaagaug t 21

<210> 789

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 789

cagaagaugc ucaaggagct t 21

<210> 790

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 790
 ucaaggagcu cauccaccgt t 21

<210> 791
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 791
 accagcaccc gccugggaat t 21

<210> 792
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 792
 gccugggaac uuacuacaat t 21

<210> 793

<211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 793

 gaacuuacua caacuccagt t 21
 <210> 794
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 794
 aacuccagcu cgcucuaaut t 21
 <210> 795
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220>
 ><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 795
ccgucuaauuc cuuuggggat t 21
<210> 796
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 796
uuggggaggg accccucact t 21
<210> 797
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 797
ccccuaccu gcuucuucut t 21
<210> 798
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

```

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 798
cugcuucuuc ugguucaut t                21
<210> 799
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 799
cugguucauu cuccaaau t                21
<210> 800
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 800
ucuccaaauc cccgagcact t                21

<210> 801
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

```

<220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 801
 ccgagcaccg ccggcugaut t 21
 <210> 802
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 802
 ggcugaugcu gagccccgat t 21
 <210> 803
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 803
 ugagccccga gguggugcat t 21
 <210> 804

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 804

uggugcaggc acugcuggut t 21

<210> 805

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 805

aggcacugcu gguggaggat t 21

<210> 806

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 806
guggaggagc ugcuguccat t 21
<210> 807
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 807
uguccacagu caacagcuct t 21
<210> 808
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 808
ucaacagcuc ggcugccgut t 21
<210> 809
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221>

```

> source

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

<400> 809
ucggcugccg ucccuacat t                21

<210> 810
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
      oligonucleotide"
<400> 810
aguggacccc gagggccuat t                21

<210> 811
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
      oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
      oligonucleotide"
<400> 811
agggccuagu gauccuggat t                21

<210> 812
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 812

uagugauccu ggaagccagt t

21

<210> 813

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 813

aagccagugu gaaagacaut t

21

<210> 814

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 814

ugaaagacau agcugcaut t

21

<210> 815

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 815

ugcauugaau uccacgcugt t 21

<210> 816

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 816

cuacagcuac gugggccagt t 21

<210> 817

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 817

cuacgugggc cagggccagt t 21

<210> 818

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 818

agggccaggu ccuccggcut t 21

<210> 819

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 819

ccggcugaag gggccugact t 21

<210> 820

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 820
gggccugacc accuggccut t 21

<210> 821
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 821
ccaccuggcc uccagcugct t 21

<210> 822
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 822
ccagcugccu guggcacct t 21

<210> 823
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 823

cuguggcacc ugcagggcct t 21
<210> 824
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 824
cugcagggcc ccaaggacct t 21
<210> 825
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 825
ccaaggaccu caugcucaat t 21
<210> 826
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 826

ugcucaaacu ccggcuggat t

21

<210> 827

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 827

ccggcuggag uggacgcugt t

21

<210> 828

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 828

gacgcuggca gagugccggt t 21

<210> 829

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 829

ggcagagugc cgggaccgat t 21

<210> 830

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 830

accgacuggc cauguaugat t 21

<210> 831

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 831

ccauguauga cguggccggt t 21

<210> 832

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 832

guggccgggc ccuggagat t 21

<210> 833

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 833

cccuggagaa gaggcucat t 21

<210> 834

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 834
agaagaggcu caucaccuct t 21
<210> 835
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 835
accucggugu acggcugcat t 21
<210> 836
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 836
acggcugcag ccgccaggat t 21
<210> 837
<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 837
gccgccagga gcccguggut t
<210> 838
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 838
agcccguggu ggagguucut t
<210> 839
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 839

```

21

21

guggagguuc uggcgucggt t 21

<210> 840

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 840

uggcgucggg ggccauc t 21

<210> 841

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 841

ccaucauggc ggucgucgt t 21

<210> 842

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 842
gcggucgucu ggaagaaggt t 21
<210> 843
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 843

ggaagaaggg ccugcacagt t 21
<210> 844
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 844
ccugcacagc uacuagact t 21
<210> 845
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 845
acuacgaccc cuucgugcut t 21
<210> 846
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 846
ccuucgugcu cuccgugcat t 21
<210> 847
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 847
ccgugcagcc gguggucuut t 21
<210> 848
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 848

cgguggucuu ccaggccugt t

21

<210> 849

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 849

aggccuguga agugaacut t

21

<210> 850

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 850

aagugaaccu gacgcuggat t 21

<210> 851

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 851

gacgcuggac aacaggcuct t 21

<210> 852

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 852

acaacaggcu cgacuccat t 21

<210> 853

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 853

acucccaggg cguccucagt t

21

<210> 854

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 854

ccccguacuu cccagcuat t

21

<210> 855

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 855

uuccccagcu acuacucgct t

21

<210> 856

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 856
acuacucgcc ccaaaccat t 21
<210> 857
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 857
cccaaaccca cugcuccugt t 21
<210> 858
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 858
gcuccuggca ccucacggut t 21
<210> 859
<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 859
accucacggu gcccucucut t                21
<210> 860
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 860
cucucuggac uacggcuugt t                21

<210> 861
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 861

```

gacuacggcu ugccccucut t 21

<210> 862

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 862

cccucugguu ugaugccuat t 21

<210> 863

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 863

guuugaugcc uaugcacugt t 21

<210> 864

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 864

gcacugagga ggcagaagut t 21

<210> 865

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 865

ggaggcagaa guaugauuut t 21

<210> 866

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 866

augauuugcc gugcacccat t 21

<210> 867

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 867
ugcaccagg gccaguggat t 21
<210> 868
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 868
gccaguggac gauccagaat t 21
<210> 869
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 869
ggacgaucca gaacaggagt t 21
<210> 870
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 870

acaggaggcu guguggcuut t

21

<210> 871

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 871

cuguguggcu ugcgcaucct t

21

<210> 872

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 872

ugcgcauccu gcagccuat t 21

<210> 873

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 873

agcccuacgc cgagaggaut t 21

<210> 874

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 874

ccgagaggau ccccguggut t 21

<210> 875

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 875
ccgugguggc cacggccggt t 21
<210> 876
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 876
ccacggccgg gaucaccat t 21
<210> 877
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 877
ggaucaccau caacuact t 21
<210> 878
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source


```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 878
ucaacuucac cuccagaut t
<210> 879
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 879
cccagaucuc ccucaccggt t
<210> 880
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 880
cccucaccgg gcccgugut t
<210> 881
<211> 21

```

21

21

21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 881

cccggugugc gggugcacut t 21

<210> 882

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 882

gcuuguacaa ccagucggat t 21

<210> 883

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 883

acaaccaguc ggaccccgct t 21

<210> 884

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 884

accccgccc uggagaguut t 21

<210> 885

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 885

ccuggagagu uccucuguut t 21

<210> 886

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 886
ucuguucugu gaauggacut t 21
<210> 887
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 887
gaauggacuc ugugucccut t 21
<210> 888
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 888
cugugucccu gccugugaut t 21
<210> 889
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 889
cugccuguga ugagggucaat t                21
<210> 890
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 890
ggucaaggac ugcccgaact t                21

<210> 891
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 891
ugcccgaacg gccuggaagt t                21
<210> 892
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 892

cggccuggau gagagaaact t

21

<210> 893

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 893

gagagaaacu gcguuugcat t

21

<210> 894

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 894

uuugcagagc cacauccat t 21

<210> 895

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 895

gccacaucc agugcaaagt t 21

<210> 896

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 896

gugcaaagag gacagcacat t 21

<210> 897

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 897
gaggacagca caugcaucut t 21
<210> 898
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 898
gcaucucacu gcccaaggut t 21
<210> 899
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 899
gcccaagguc ugugaugggt t 21
<210> 900
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 900
ugugaugggc agccugauut t 21

<210> 901
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 901
gcagccugau ugucucaact t 21
<210> 902
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 902
gucucaacgg cagcgacgat t 21
<210> 903
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 903

gcgacgaaga gcagugccat t 21

<210> 904

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 904

agcagugcca ggaaggggut t 21

<210> 905

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 905

gaaggggugc caugugggat t 21

<210> 906

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 906

ccauguggga caucaccut t 21

<210> 907

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 907

caucaccuu ccagugugat t 21

<210> 908

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 908

cagugugagg accggagcut t 21

<210> 909

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221

> source

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

<400> 909

gaccggagcu gcgugaagat t 21

<210> 910

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 910

cugcgugaag aagcccaact t 21

<210> 911

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 911

agcccaaccc gcagugugat t 21

<210> 912

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 912

cagugugaug ggcggcccgt t 21

<210> 913

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 913

gcggcccgac ugcagggact t 21

<210> 914

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 914

cugcagggac ggcucggaut t 21

<210> 915

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 915

acggcucgga ugaggagcat t 21

<210> 916

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 916

ugaggagcac ugugacugut t 21

<210> 917

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 917

cugugacugu ggccuccagt t 21

<210> 918

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 918

gccuccaggg cccuccagt t 21

<210> 919

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 919

ccccuccagc cgcauguut t 21

<210> 920

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 920

ccgcauguu gguggagcut t 21

<210> 921

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 921

guggagcugu guccuccgat t 21

<210> 922

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 922

cuccgagggg gaguggccat t

21

<210> 923

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 923

gggugagugg ccauggcagt t

21

<210> 924

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 924

auggcaggcc agccuccagt t

21

<210> 925

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 925

ccuccagguu cggggucgat t 21

<210> 926

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 926

gguucggggu cgacacauct t 21

<210> 927

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 927

acaucugugg gggggcccut t 21

<210> 928

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 928

gugggggggc ccucaucgt t 21

<210> 929

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 929

aucgcugacc gcugggugat t 21

<210> 930

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 930
accgcugggu gauaacagct t 21

<210> 931
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 931
ugauaacagc ugcccacugt t 21
<210> 932
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 932
cccacugcuu ccaggaggat t 21
<210> 933
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 933

ccaggaggac agcauggcct t 21
<210> 934
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 934

acagcauggc cuccacggut t 21
<210> 935
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 935

ccacggugcu guggaccgut t 21
<210> 936
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 936

ggaccguguu ccugggcaat t 21

<210> 937

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 937

uccugggcaa ggugggcat t 21

<210> 938

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 938

guguggcaga acucgcgc t 21

<210> 939

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 939

gaacucgcgc uggccuggat t 21

<210> 940

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 940

ggccuggaga gguguccuut t 21

<210> 941

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 941

agguguccuu caaggugagt t 21

<210> 942

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 942

caaggugagc cgccugcuct t 21

<210> 943

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 943

gccuguccuu gcacccguat t 21

<210> 944

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 944
gcacccguac cacgaagagt t 21
<210> 945
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 945
ccacgaagag gacagccaut t 21
<210> 946
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 946
aggacagcca ugacuacgat t 21
<210> 947
<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 947
 acuacgacgu ggcgugcut t 21
 <210> 948
 <211> 21
 <212> DNA

 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 948
 uggcgugcu gcagcugat t 21
 <210> 949
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221>
 > source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 949

agcucgacca cccgguggut t 21

<210> 950

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 950

ccgguggugc gcucggccgt t 21

<210> 951

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 951

ugcgcucggc cgccgugcgt t 21

<210> 952

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 952

ccgugcgccc cgucugccut t 21

<210> 953

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 953

ccgucugccu gcccgcgcgt t 21

<210> 954

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 954

ccgcgcgcuc ccacuucuut t 21

<210> 955

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 955
cccacuucuu cgagcccgg t 21
<210> 956
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 956
gagcccgcc ugcacugcut t 21
<210> 957
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 957
ggccugcacu gcuggauuat t 21
<210> 958
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 958

uggauuacgg gcuggggcgt t

21

<210> 959

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221>

> source

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

<400> 959

gcuggggcgc cuugcgcgat t

21

<210> 960

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 960

ugcgcgaggg cggcccaut t 21

<210> 961

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 961

agggcggccc caucagcaat t 21

<210> 962

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 962

ucagcaacgc ucugcagaat t 21

<210> 963

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 963

ugcagaaagu ggaugugcat t 21

<210> 964
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 964

aaguggaugu gcaguugaut t 21

<210> 965
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 965

gcaguugauc ccacaggact t 21

<210> 966
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 966
cacaggaccu ggcagcgat t 21
<210> 967
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 967
gcagcgaggu cuaucguat t 21
<210> 968
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 968
gucuaucgcu accaggugat t 21
<210> 969
<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 969
ccaggugacg ccacgcaugt t                21
<210> 970
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 970
ccacgcaugc ugugugccgt t                21

<210> 971
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 971

```

cugugugccg gcuaccgcat t 21

<210> 972

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 972

accgcaaggg caagaaggat t 21

<210> 973

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 973

gcaagaagga ugccugucat t 21

<210> 974

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 974

gccugucagg gugacucagt t 21

<210> 975

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 975

gugacucagg ugguccgcut t 21

<210> 976

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 976

gugguccgcu ggugugcaat t 21

<210> 977

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 977
uggugugcaa ggcacucagt t 21
<210> 978
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 978
gcacucagug gccgcuggut t 21
<210> 979
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 979
gccgcugguu ccuggcgggt t 21
<210> 980
<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 980
 uccuggcgagg gcuggucagt t 21

<210> 981
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 981
 gcuggucagc ugaggccagt t 21

<210> 982
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 982

gggccugggc ugugccggt t 21

<210> 983

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 983

ggcuguggcc ggccuaacut t 21

<210> 984

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 984

cuaacuacuu cggcgucuat t 21

<210> 985

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 985

cggcgucuaac acccgcauct t 21

<210> 986

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 986

acacccgcgau cacaggugut t 21

<210> 987

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 987

acagguguga ucagcuggat t 21

<210> 988

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source


```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 988
ucagcuggau ccagcaagut t                21
<210> 989
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 989
cagcaagugg ugaccugagt t                21
<210> 990
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 990
ugaccugagg aacugcccct t                21

<210> 991
<211> 21

```

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 991
ggaacugccc ccugcaaat t                21
<210> 992
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 992
cugcaaagca gggcccacct t                21
<210> 993
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 993

```

gcaggggccca ccuccuggat t 21

<210> 994

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 994

ccuccuggac ucagagagct t 21

<210> 995

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 995

cucagagagc ccagggaat t 21

<210> 996

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 996
ccagggaac ugccaagcat t 21
<210> 997
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 997
ggacaaguau ucuggcgggt t 21
<210> 998
<211> 21
<212> DNA

<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 998
cuggcggggg gugggggagt t 21
<210> 999
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221>
> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 999
ggguggggga gagagcaggt t                21
<210> 1000
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1000
agagagcagg ccuguggut t                21

<210> 1001
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1001
cccuguggug gcaggaggut t                21
<210> 1002
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1002

ggagguggca ucuugucuct t

21

<210> 1003

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400>

> 1003

caucuugucu cgucccugat t

21

<210> 1004

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1004

cccugauguc ugcuccagut t 21

<210> 1005

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1005

cugcuccagu gauggcaggt t 21

<210> 1006

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1006

auggcaggag gauggagaat t 21

<210> 1007

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1007
ggauggagaa gugccagcat t
21
<210> 1008
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1008
ugccagcagc ugggggucat t
21
<210> 1009
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1009
agcugggggu caagacguct t
21
<210> 1010
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1010
ucaagacguc ccugaggat t 21

<210> 1011
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1011
cccugaggac ccaggccat t 21
<210> 1012
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1012
gcccacaccc agcccuucut t 21
<210> 1013
<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400
 > 1013
 agcccuucug ccucccaut t 21
 <210> 1014
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1014
 ccucccauu cucucucut t 21
 <210> 1015
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1015

cucucuccuc cguccecuut t 21

<210> 1016

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1016

uccguccecu uccuccacut t 21

<210> 1017

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1017

cuuccuccac ugcugccuat t 21

<210> 1018

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1018

cugccuaaug caaggcagut t 21

<210> 1019

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1019

gcaaggcagu ggcucagcat t 21

<210> 1020

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1020

uggcucagca gcaagaaugt t 21

<210> 1021

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1021
caagaaugcu gguucuacat t 21
<210> 1022
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1022
ugguucuaca ucccgaggat t 21
<210> 1023
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400>
> 1023
cccgaggagu gucugaggut t 21
<210> 1024
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1024

gucugaggug cgccccacut t 21

<210> 1025

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1025

gccccacucu guacagaggt t 21

<210> 1026

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1026

cuguacagag gcuguuuggt t 21

<210> 1027

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1027

cuguuugggc agccuugcct t 21

<210> 1028

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1028

cuugccucca gagagcagat t 21

<210> 1029

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1029

uccagagagc agauuccagt t 21

<210> 1030

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1030

gauuccagcu ucggaagcct t 21

<210> 1031

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1031

gaauggaagg ugcucccaut t 21

<210> 1032

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1032

gugcucccau cggaggggat t

21

<210> 1033

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400>

> 1033

ucggagggga cccucagagt t

21

<210> 1034

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1034

cccucagagc ccuggagact t

21

<210> 1035

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1035

gagacugcca ggugggcut t

21

<210> 1036

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1036

aggugggcu gcugccacut t

21

<210> 1037

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1037

cugccacugu aagccaaaat t 21

<210> 1038

<211> 21

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1038

cuguaagcca aaaggugggt t 21

<210> 1039

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1039

guggggaagu ccugacucct t 21

<210> 1040

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1040
ccugacucca ggguccuugt t 21

<210> 1041
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1041
ggguccuugc cccaccccut t 21
<210> 1042
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1042
gccccacccc ugccugccat t 21
<210> 1043
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"

<400
> 1043
ccugccaccu gggcccat t                21
<210> 1044
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1044
cugggcccuc acagcccagt t                21
<210> 1045
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1045
ucacagccca gaccucact t                21
<210> 1046
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1046

cucacuggga ggugagcuct t 21

<210> 1047

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1047

ggugagcuca gcugcccuut t 21

<210> 1048

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1048

uggaauaaag cugccugaut t 21

<210> 1049

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1049

cuggacuggg ucuggcucat t 21

<210> 1050

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1050

accagagcug gacuggguct t 21

<210> 1051

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1051
cagagggcag gcaccagagt t
21
<210> 1052
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1052
ucagcucgca ccagagggt t
21
<210> 1053
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400>
> 1053
ucucagguca gcucgcacct t
21
<210> 1054
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


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

<220><221> source

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

<400> 1054

ggaagugcau cucaggucat t 21

<210> 1055

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1055

cacagaggag ggaagugcat t 21

<210> 1056

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1056

gugccgagac agcucacagt t 21

<210> 1057

<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1057
ugcaaguggg ugccgagact t                21
<210> 1058
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1058
cggcagugac ugcaaguggt t                21
<210> 1059
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1059

```

aacaucaaggc ggcagugact t 21

<210> 1060

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1060

aagaguaaca acaucaggct t 21

<210> 1061

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1061

uuuuggagug gaagaguaat t 21

<210> 1062

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1062

acgggcaucc uuuuggagut t 21

<210> 1063

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400>

> 1063

ggggccucgg ccacgggcat t 21

<210> 1064

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1064

accugggggg ccucggccat t 21

<210> 1065

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1065
cugcccgcca gccaccuggt t 21
<210> 1066
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1066
ccuccgucce ccugcccgt t 21
<210> 1067
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1067
cucgccauc cccuccguc t 21
<210> 1068
<211> 21
<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1068

uccgcuuccu cgccaucact t

21

<210> 1069

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1069

uccccuccgg cuccgcuuct t

21

<210> 1070

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1070

cuugaacauc ccucggct t 21

<210> 1071

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1071

uccucacagg ccuugaacat t 21

<210> 1072

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1072

ucucuuggag uccucacagt t 21

<210> 1073

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400
> 1073
cgggcuuuuc ucuuggagut t                21
<210> 1074
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1074
ggcggaggua gccccgggct t                21
<210> 1075
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1075
aggggcacca ggcggaggut t                21
<210> 1076
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1076
acaaacaggg gcaccaggct t 21
<210> 1077
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1077
agggccagca gcacaaacat t 21
<210> 1078
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1078
agcacgagca gggccagcat t 21
<210> 1079
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1079

cgccgaagcc agcacgagct t 21

<210> 1080

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1080

agaguagcac ccccgccgat t 21

<210> 1081

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1081

cagaguagca cccccgcgt t 21

<210> 1082

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 1082

ccagaguagc accccgcgt t 21

<210> 1083

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400>

> 1083

accagaguag cccccgcgt t 21

<210> 1084

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<220><221> source

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

<400> 1084

uaccagagua gcacccccgt t 21

<210> 1085

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1085

auaccagagu agcaccccct t 21

<210> 1086

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1086

aaauaccaga guagcacct t 21

<210> 1087

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1087
gaaauaccag aguagcacct t                21
<210> 1088
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1088
ggaaauacca gaguagcact t                21
<210> 1089
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1089
uaggaaauac cagaguagct t                21
<210> 1090
<211> 21

```

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1090
 cuaggaaaua ccagaguagt t 21

<210> 1091
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1091
 ccuaggaaau accagaguat t 21

<210> 1092
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1092

cccuaggaaa uaccagagut t 21

<210> 1093

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400

> 1093

acccuaggaa auaccagagt t 21

<210> 1094

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1094

guaccuagg aaauaccagt t 21

<210> 1095

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1095
cuuguacccu aggaauact t 21
<210> 1096
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1096
ccuuguaccc uaggaaauat t 21
<210> 1097
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1097
gccuuguacc cuaggaaat t 21
<210> 1098
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1098

cgccuuguac ccuaggaaat t 21

<210> 1099

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1099

ccgccuugua ccuaggaat t 21

<210> 1100

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1100

cuccgccuug uacccuaggt t 21

<210> 1101

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1101

ccuccgccuu guaccuagt t 21

<210> 1102

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1102

accuccgccu uguaccuat t 21

<210> 1103

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400>

> 1103

caccuccgcc uuguaccut t 21

<210> 1104

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1104

ucaccuccgc cuuguaccct t 21

<210> 1105

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1105

aucaccuccg ccuuguacct t 21

<210> 1106

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1106
caucaccucc gccuuguact t                21
<210> 1107
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1107
ccaucaccuc cgccuuguat t                21
<210> 1108
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1108
accaucaccu ccgccuugut t                21
<210> 1109
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

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

<220><221> source

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

<400> 1109

gaccaucacc uccgccuugt t

21

<210> 1110

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1110

ugaccaucac cuccgccuut t

21

<210> 1111

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1111

cugaccauca ccuccgccut t

21

<210> 1112

<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1112
uacaccuggc ugaccaucat t                21
<210> 1113
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400>
> 1113
acugccugag uacaccuggt t                21
<210> 1114
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1114

```

uugaguacac gcagacugct t 21

<210> 1115

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 1115

guggcgauug aguacacgct t 21

<210> 1116

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1116

auccugggag aaguggcgat t 21

<210> 1117

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1117
gcggguaaga uccugggagt t                21
<210> 1118
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1118
acuagauucc cggcggguat t                21
<210> 1119
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1119
gaaggcacua gauuuccggt t                21
<210> 1120
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1120
uuucacugcg gaaggcacut t 21

<210> 1121
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1121
ugggcuuugg cgguuucact t 21

<210> 1122
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1122
caucuucugg gcuuuggcgt t 21

<210> 1123
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1123

gcuccuugag caucuucgt t 21

<210> 1124

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1124

cuggugauga gcuccuugat t 21

<210> 1125

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1125

uucccaggcg ggugcuggut t 21

<210> 1126

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1126

uuguaguaag uucccaggct t 21

<210> 1127

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1127

cuggaguugu aguaaguuct t 21

<210> 1128

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1128

aauagacgga gcuggaguut t 21

<210> 1129

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1129

uccccaaagg aauagacggt t 21

<210> 1130

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1130

gugagggguc ccucccaat t 21

<210> 1131

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1131
agaagaagca ggugaggggt t                21
<210> 1132
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1132
aaugaaccag aagaagcagt t                21
<210> 1133
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400>
> 1133
gauuuggaga augaaccagt t                21
<210> 1134
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1134

gugcucgggg auuuggagat t 21

<210> 1135

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1135

aucagccggc ggugcucggt t 21

<210> 1136

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1136

```

ucggggcuca gcaucagcct t                21
<210> 1137
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1137
ugcaccaccu cggggcucac t                21
<210> 1138
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1138
accagcagug ccugcacca t                21
<210> 1139
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1139

uccuccacca gcagugccut t 21

<210> 1140

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1140

uggacagcag cuccuccact t 21

<210> 1141

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1141

gagcuguuga cuguggacat t 21

<210> 1142

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1142
acggcagccg agcuguugat t 21
<210> 1143
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400>
> 1143
uguaggggac ggcagccgat t 21
<210> 1144
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1144
uagggccucg ggguccacut t 21
<210> 1145
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1145

uccaggauca cuaggcccut t

21

<210> 1146

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1146

cuggcuucca ggaucacuat t

21

<210> 1147

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1147

augucuuuca cacuggcuut t 21

<210> 1148

<211> 21

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1148

aaugcagcua ugucuuucat t 21

<210> 1149

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1149

cagcguggaa uucaaugcat t 21

<210> 1150

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1150
cuggcccacg uagcuguagt t 21

<210> 1151
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1151
cuggcccugg cccacguagt t 21
<210> 1152
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1152
agccggagga ccuggcccut t 21
<210> 1153
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"

<400
> 1153
gucaggcccc uucagccggt t                21
<210> 1154
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1154
aggccaggug gucaggccct t                21
<210> 1155
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1155
gcagcuggag gccagguggt t                21
<210> 1156
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1156

aggugccaca ggcagcuggt t

21

<210> 1157

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1157

ggcccugcag gugccacagt t

21

<210> 1158

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1158

gguccuuggg gcccgagcag t 21

<210> 1159

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1159

uugagcauga gguccuuggt t 21

<210> 1160

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1160

uccagccgga guuugagcat t 21

<210> 1161

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1161
cagcguccac uccagccggt t                21
<210> 1162
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1162
ccggcacucu gccagcguct t                21
<210> 1163
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400>
> 1163
ucggucccgg cacucugcct t                21
<210> 1164
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1164

ucauacaugg ccagucggut t 21

<210> 1165

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1165

ccggccacgu cauacauggt t 21

<210> 1166

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1166

ucuccagggg cccggccact t 21

<210> 1167

<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1167
augagccucu ucuccagggt t                21
<210> 1168
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1168
gaggugauga gccucuucut t                21
<210> 1169
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1169

```

ugcagccgua caccgaggut t 21

<210> 1170

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1170

uccuggcggc ugcagccgut t 21

<210> 1171

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1171

accacgggcu ccuggcggt t 21

<210> 1172

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1172

agaaccucca ccacgggcut t 21

<210> 1173

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400>

> 1173

ccgacgccag aaccuccact t 21

<210> 1174

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1174

augauggccc ccgacgccat t 21

<210> 1175

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1175
cagacgaccg ccaugauggt t 21
<210> 1176
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1176
ccuucuucca gacgaccgct t 21
<210> 1177
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1177
cugugcaggc ccuucuucct t 21
<210> 1178
<211> 21
<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1178

gucguaguag cugugcaggt t

21

<210> 1179

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1179

agcacgaagg ggucguagut t

21

<210> 1180

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1180

ugcacggaga gcacgaaggt t 21

<210> 1181

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1181

aagaccaccg gcugcacggt t 21

<210> 1182

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1182

caggccugga agaccaccgt t 21

<210> 1183

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1183

agguucacuu cacaggccut t 21

<210> 1184

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1184

uccagcguca gguucacuut t 21

<210> 1185

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1185

gagccuguug uccagcguct t 21

<210> 1186

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1186
ugggagucga gccuguugut t 21
<210> 1187
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1187
cugaggacgc ccugggagut t 21
<210> 1188
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1188
uagcugggga aguacggggt t 21
<210> 1189
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1189

gcgaguagua gcuggggaat t

21

<210> 1190

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1190

uggguuuggg gcgaguagut t

21

<210> 1191

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1191

caggagcagu ggguuugggt t 21

<210> 1192

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1192

accgugaggu gccaggagct t 21

<210> 1193

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400>

> 1193

agagagggca ccgugaggut t 21

<210> 1194

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1194

caagccguag uccagagagt t 21

<210> 1195

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1195

agagggccaa gccguaguct t 21

<210> 1196

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1196

uaggcauca accagagggt t 21

<210> 1197

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1197
cagugcauag gcaucaaact t                21
<210> 1198
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1198
acuucugccu ccucagugct t                21
<210> 1199
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1199
aaaaucauacu ucugccucct t                21
<210> 1200
<211> 21

```

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1200
 ugggugcacg gcaaauc t 21

<210> 1201
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1201
 uccacuggcc cugggugcat t 21

<210> 1202
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1202

uucuggaucg uccacuggct t 21

<210> 1203

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1203

cuccuguucu ggaucgucct t 21

<210> 1204

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1204

aagccacaca gccuccugut t 21

<210> 1205

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1205

ggaugcgcaa gccacacagt t 21

<210> 1206

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1206

uagggcugca ggaugcgcat t 21

<210> 1207

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1207

auccucucgg cguagggcut t 21

<210> 1208

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1208

accacgggga uccucucggt t 21

<210> 1209

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1209

ccggccgugg ccaccacggt t 21

<210> 1210

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1210

auggugaucc cggccguggt t 21

<210> 1211

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1211

gugaaguuga uggugaucct t 21

<210> 1212

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1212

aucugggagg ugaaguugat t 21

<210> 1213

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400>

> 1213

ccggugaggg agaucugggt t 21

<210> 1214

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1214

acaccgggcc cggugagggt t 21

<210> 1215

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1215

agugcaccg cacaccgggt t 21

<210> 1216

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1216
uccgacuggu uguacaagct t                21
<210> 1217
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1217
caggggucgc acugguugut t                21
<210> 1218
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1218
aacucuccag ggcaggggut t                21
<210> 1219
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1219

aacagaggaa cucuccaggt t 21

<210> 1220

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1220

aguccauuca cagaacagat t 21

<210> 1221

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1221

agggacacag aguccauuct t 21

<210> 1222

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1222

aucacaggca gggacacagt t

21

<210> 1223

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400>

> 1223

uugaccccau cacaggcagt t

21

<210> 1224

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1224

guuggggcag uccuugacct t 21

<210> 1225

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1225

cauccaggcc guuggggcat t 21

<210> 1226

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1226

guuucucuca uccaggccgt t 21

<210> 1227

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1227
ugcaaacgca guuucucuct t                21
<210> 1228
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1228
uggaaugugg cucugcaaat t                21
<210> 1229
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1229
cuuugcacug gaauguggct t                21
<210> 1230
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1230
ugugcugucc ucuuugcact t 21

<210> 1231
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1231
agaugcaugu gcuguccuct t 21

<210> 1232
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1232
accuugggca gugagaugct t 21

<210> 1233
<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400
 > 1233
 cccaucacag accuugggct t 21
 <210> 1234
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1234
 aaucaggcug cccaucacat t 21
 <210> 1235
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1235

guugagacaa ucaggcugct t 21

<210> 1236

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1236

ucgucgcugc cguugagact t 21

<210> 1237

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1237

uggcacugcu cuucgucgt t 21

<210> 1238

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1238

accccuuccu ggcacugcut t 21

<210> 1239

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1239

ucccacaugg caccccuuct t 21

<210> 1240

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1240

aggugaaugu cccacauggt t 21

<210> 1241

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1241
ucacacugga aggugaagt t 21
<210> 1242
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1242
agcuccgguc cucacacugt t 21
<210> 1243
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400>
> 1243
ucuucacgca gcuccgguct t 21
<210> 1244
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1244

guugggcuuc uucacgcagt t 21

<210> 1245

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1245

ucacacugcg gguugggcut t 21

<210> 1246

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1246

cgggccgccc aucacacugt t 21

<210> 1247

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1247

guccugcag ucgggccgct t 21

<210> 1248

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1248

auccgagccg ucccugcagt t 21

<210> 1249

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1249

ugcuccucau ccgagccgut t 21

<210> 1250

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1250

acagucacag ugcuccucat t 21

<210> 1251

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1251

cuggaggcca cagucacagt t 21

<210> 1252

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source


```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1252
cuggaggggc ccuggaggct t                21
<210> 1253
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400>
> 1253
aacaaugcgg cuggaggggt t                21
<210> 1254
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1254
agcuccacca acaaugcggt t                21
<210> 1255
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1255

ucggaggaca cagcuccact t

21

<210> 1256

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1256

uggccacuca cccucggagt t

21

<210> 1257

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1257

cugccauggc cacucaccct t 21

<210> 1258

<211> 21

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1258

cuggaggcug gccugccaut t 21

<210> 1259

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1259

ucgaccccga accuggaggt t 21

<210> 1260

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1260
gaugugucga ccccgaaact t 21

<210> 1261
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1261
aggcccccc cacagaugut t 21
<210> 1262
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1262
gcgaugaggg cccccccact t 21
<210> 1263
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"

<400
> 1263
ucaccacgacg gacagcgaut t                21
<210> 1264
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1264
gcuguuauca cccagcgut t                21
<210> 1265
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1265
cagugggcag cuguuauca t                21
<210> 1266
<211> 21

```

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1266

uccuccugga agcagugggt t 21

<210> 1267

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1267

ggccaugcug uccuccuggt t 21

<210> 1268

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1268

accguggagg ccaugcugut t 21

<210> 1269

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1269

acgguccaca gcaccguggt t 21

<210> 1270

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1270

uugcccagga acacggucct t 21

<210> 1271

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1271
ugccacaccu ugcccaggat t 21
<210> 1272
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1272
agcgcgaguu cugccacact t 21
<210> 1273
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400>
> 1273
uccaggccag cgcgaguuct t 21
<210> 1274
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1274

aaggacaccu cuccaggcct t 21

<210> 1275

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1275

cucaccuuga aggacacut t 21

<210> 1276

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1276

gagcaggcgg cucaccuugt t 21

<210> 1277

<211> 21

```

<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1277
uacgggugca ggagcaggct t
<210> 1278
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1278
cucuucgugg uacggguget t
<210> 1279
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1279

```

21

21

auggcugucc ucuucguggt t 21

<210> 1280

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1280

ucguagucan ggcuguccut t 21

<210> 1281

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1281

agcagcgcca cgucguagut t 21

<210> 1282

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1282

ucgagcugca gcagcgccat t 21

<210> 1283

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400>

> 1283

accaccgggu ggucgagcut t 21

<210> 1284

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1284

cggccgagcg caccaccgt t 21

<210> 1285

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1285
cgcacggcgg ccgagcgcat t 21
<210> 1286
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1286
aggcagacgg ggcgcacggt t 21
<210> 1287
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1287
cgcgcgggca ggcagacggt t 21
<210> 1288
<211> 21
<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1288

aagaaguggg agcgcgcggt t

21

<210> 1289

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1289

ccgggcucga agaagugggt t

21

<210> 1290

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1290

agcagugcag gccgggcuct t 21

<210> 1291

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1291

uaauccagca gugcaggcct t 21

<210> 1292

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1292

cgccccagcc cguaauccat t 21

<210> 1293

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"

<400
> 1293
ucgcgcaagg cgccccagct t                21
<210> 1294
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1294
auggggccgc ccucgcgat t                21
<210> 1295
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1295
uugcugaugg ggccgcccut t                21
<210> 1296
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1296
uucugcagag cguugcugat t 21
<210> 1297
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1297
ugcacaucca cuuucugcat t 21
<210> 1298
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1298
aucaacugca cauccacuut t 21
<210> 1299
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1299

guccuguggg aucaacugct t

21

<210> 1300

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1300

ucgcugcaca gguccugugt t

21

<210> 1301

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1301

uagcgauaga ccucgcugct t 21

<210> 1302

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1302

ucaccuggua gcgauagact t 21

<210> 1303

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400>

> 1303

caugcguggc gucaccuggt t 21

<210> 1304

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1304

cggcacacag caugcguggt t 21

<210> 1305

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1305

ugcggguagcc ggcacacagt t 21

<210> 1306

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1306

uccuucuugc ccuugcggut t 21

<210> 1307

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1307
ugacaggcau ccuucuugct t                21
<210> 1308
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1308
cugagucacc cugacaggct t                21
<210> 1309
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1309
agcggaccac cugagucact t                21
<210> 1310
<211> 21

```

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1310
 uugcacacca gcggaccact t 21

<210> 1311
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1311
 cugagugccu ugcacaccat t 21

<210> 1312
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1312

accagcggcc acugagugct t 21

<210> 1313

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1313

cccgccagga accagcggct t 21

<210> 1314

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1314

cugaccagcc ccgccaggat t 21

<210> 1315

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1315

caggccccag cugaccagct t 21

<210> 1316

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1316

ccggccacag cccaggccct t 21

<210> 1317

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1317

aguuaggccg gccacagcct t 21

<210> 1318

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1318

uagacgccga aguaguuagt t 21

<210> 1319

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1319

gaugcgggug uagacgccgt t 21

<210> 1320

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1320

acaccuguga ugcgggugut t 21

<210> 1321

<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1321
 uccagcugau cacaccugut t 21
 <210> 1322
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1322
 acuugcugga uccagcugat t 21
 <210> 1323
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400>
 > 1323

cucaggucac cacuugcugt t 21

<210> 1324

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1324

ggggcaguuc cucaggucat t 21

<210> 1325

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1325

uuugcagggg ggcaguucct t 21

<210> 1326

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1326
gguggggcccu gcuuugcagt t
<210> 1327
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1327
uccaggaggu gggcccu gct t
<210> 1328
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
    oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
    oligonucleotide"
<400> 1328
gcucucugag uccaggaggt t
<210> 1329
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```

21

21

21

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1329

uugcccuggg cucucugagt t 21

<210> 1330

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1330

ugcuuggcag uugcccuggt t 21

<210> 1331

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1331

cccgccagaa uacuugucct t 21

<210> 1332

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1332

cucccccacc ccccgccagt t

21

<210> 1333

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400>

> 1333

ccugcucucu cccccaccct t

21

<210> 1334

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1334

accacagggc cugcucucut t 21

<210> 1335

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1335

accuccugcc accacagggt t 21

<210> 1336

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1336

gagacaagau gccaccucct t 21

<210> 1337

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

```

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1337
ucagggacga gacaagaugt t                21
<210> 1338
<211> 21
<212>
> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1338
acuggagcag acaucagggt t                21
<210> 1339
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
        oligonucleotide"

<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
        oligonucleotide"
<400> 1339
ccugccauga cuggagcagt t                21
<210> 1340
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

```


<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1340
uucuccaucc uccugccaut t 21

<210> 1341
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1341
ugcuggcacu ucuccaucct t 21

<210> 1342
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1342
ugacccccag cugcuggcat t 21

<210> 1343
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1343

gacgucuuga cccccagcut t

21

<210> 1344

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1344

uccucagggg acgucuugat t

21

<210> 1345

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1345

ugggccuggg uccucagggt t 21

<210> 1346

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1346

agaagggcug ggugugggt t 21

<210> 1347

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1347

auugggaggc agaagggcut t 21

<210> 1348

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1348

aggagagaga auugggaggt t 21

<210> 1349

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1349

aaggggacgg aggagagagt t 21

<210> 1350

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1350

aguggaggaa ggggacggat t 21

<210> 1351

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1351
uaggcagcag uggaggaagt t 21
<210> 1352
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1352
acugccuugc auuaggcagt t 21
<210> 1353
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400>
> 1353
ugcugagcca cugccuugct t 21
<210> 1354
<211> 21

<212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1354
 cauccuugcu gcugagccat t 21
 <210> 1355
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence

 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 1355
 uguagaacca gcuccuugt t 21
 <210> 1356
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

 oligonucleotide"
 <400> 1356

uccucgggau guagaacat t 21

<210> 1357

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1357

accucagaca cuccucgggt t 21

<210> 1358

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1358

aguggggcgc accucagact t 21

<210> 1359

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1359

ccucuguaca gaguggggct t 21

<210> 1360

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1360

ccaaacagcc ucuguacagt t 21

<210> 1361

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1361

ggcaaggcug cccaaacagt t 21

<210> 1362

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1362

ucugcucucu ggaggcaagt t

21

<210> 1363

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400>

> 1363

cuggaaucug cucucuggat t

21

<210> 1364

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1364

ggcuuccgaa gcuggaau t

21

<210> 1365

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1365

augggagcac cuuccauuct t

21

<210> 1366

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 1366

uccccuccga ugaggagcact t

21

<210> 1367

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1367

cucugaggggu cccuccgat t 21

<210> 1368

<211> 21

<212

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1368

gucuccaggg cucugagggt t 21

<210> 1369

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1369

aggcccaccu ggcagucuct t 21

<210> 1370

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1370
aguggcagca ggcccacut t 21

<210> 1371
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1371
uuuuggcuua caguggcagt t 21
<210> 1372
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"
<220><221> source
<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"
<400> 1372
cccacuuuu ggcuuacagt t 21
<210> 1373
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400

> 1373

ggagucagga cuucccact t 21

<210> 1374

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1374

caaggacccu ggagucaggt t 21

<210> 1375

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1375

aggggugggg caaggaccct t 21

<210> 1376

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1376

uggcaggcag ggguggggct t 21

<210> 1377

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1377

ugagggccca gguggcaggt t 21

<210> 1378

<211> 21

<212>

> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1378

cugggcugug agggcccagt t 21

<210> 1379

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1379

gugagggucu gggcugugat t 21

<210> 1380

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1380

gagcucaccu cccagugagt t 21

<210> 1381

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1381

aagggcagcu gagcucacct t 21

<210> 1382

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<220><221> source

<223> /note="Description of Combined DNA/RNA Molecule: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 1382

aucaggcagc uuuaauccat t 21