



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2024-0170595
(43) 공개일자 2024년12월03일

- (51) 국제특허분류(Int. Cl.)
C12N 15/113 (2010.01) A61K 31/7088 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
- (52) CPC특허분류
C12N 15/1137 (2013.01)
A61K 31/7088 (2013.01)
- (21) 출원번호 10-2024-7039403(분할)
(22) 출원일자(국제) 2014년12월12일
심사청구일자 없음
- (62) 원출원 특허 10-2021-7042182
원출원일자(국제) 2014년12월12일
심사청구일자 2022년01월20일
- (85) 번역문제출일자 2024년11월26일
(86) 국제출원번호 PCT/US2014/069951
(87) 국제공개번호 WO 2015/089368
국제공개일자 2015년06월18일
- (30) 우선권주장
61/915,210 2013년12월12일 미국(US)
- (71) 출원인
알닐람 파마슈티칼스 인코포레이티드
미국 매사추세츠주 02142 캄브리지 헨리 에이. 테
르미어 스퀘어 웨스트 켄달 스트리트 675
- (72) 발명자
보로도브스키 안나
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
썬드 스트리트 300
베텐코트 브라이언
미국 매사추세츠주 02142 케임브리지 씨드 플로어
썬드 스트리트 300
- (74) 대리인
장훈

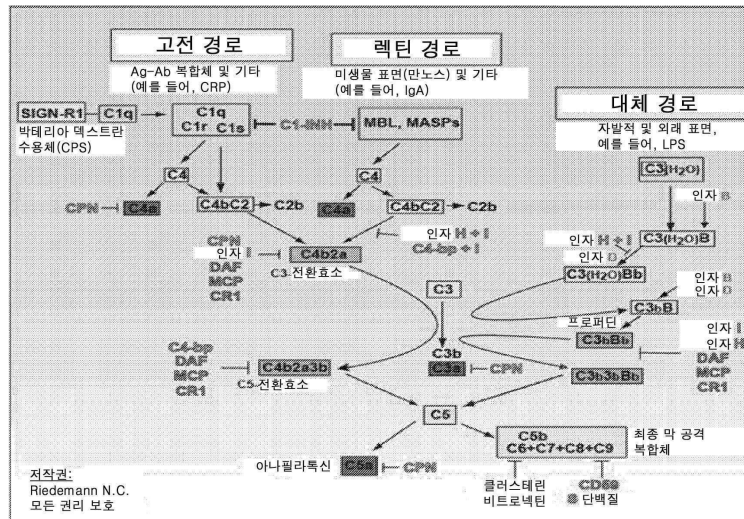
전체 청구항 수 : 총 137 항

(54) 발명의 명칭 보체 성분 i RNA 조성물 및 이의 이용 방법

(57) 요약

본 발명은 보체 인자 B(CFB) 유전자, 보체 성분 C3 유전자 및 보체 성분 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA, 예를 들어, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA), 조성물, 및 CFB, C9 및/또는 C3의 발현을 억제하고, 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, 발작성 야간혈색소뇨증(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(atypical hemolytic uremic syndrome)을 갖는 피검자를 치료하기 위한 이러한 iRNA, 예를 들어, dsRNA, 조성물의 이용 방법에 관한 것이다.

대표도



(52) CPC특허분류

A61P 43/00 (2018.01)

C12N 15/1138 (2013.01)

C12Y 304/21047 (2013.01)

A61K 2300/00 (2023.05)

C12N 2310/14 (2013.01)

C12N 2310/3125 (2013.01)

C12N 2310/315 (2013.01)

C12N 2310/351 (2013.01)

명세서

청구범위

청구항 1

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:1 내지 5, 27 및 30의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:12 내지 16, 33 및 36의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 2

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

안티센스 가닥은 표 3 및 표 4에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 상보성 영역을 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 3

제2항에 있어서,

센스 가닥 및 안티센스 가닥이 AD-60304, AD-60331 및 AD-60344 및 표 3 및 표 4에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, dsRNA.

청구항 4

세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:6 내지 8, 28 및 31의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:17 내지 19, 34 및 37의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 5

세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

안티센스 가닥은 표 5 및 표 6에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 상보성 영역을 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 6

제5항에 있어서,

센스 가닥 및 안티센스 가닥이 AD-60169 및 표 5 및 표 6에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, dsRNA.

청구항 7

세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:9 내지 11, 29 및 32의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:20 내지 22, 35 및 38의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 8

세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)으로서,

상기 dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고,

안티센스 가닥은 표 7 및 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 상보성 영역을 포함하는, 이중-가닥 리보핵산(dsRNA).

청구항 9

제8항에 있어서,

센스 가닥 및 안티센스 가닥이 표 7 및 표 8에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함하는, dsRNA.

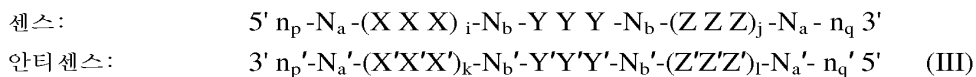
청구항 10

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이며,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

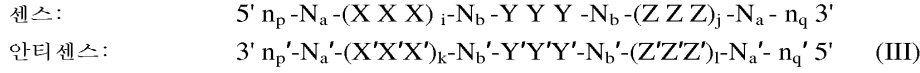
청구항 11

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이며,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

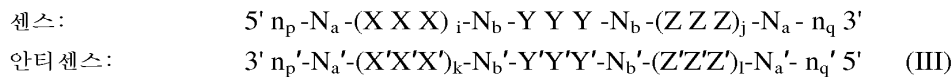
청구항 12

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이며,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

청구항 13

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

i가 0이거나; j가 0이거나; i가 1이거나; j가 1이거나; i 및 j 둘 모두 0이거나; i 및 j 둘 모두 1인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 14

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

k가 0이거나; l이 0이거나; k가 1이거나; l이 1이거나; k 및 l 둘 모두 0이거나; k 및 l 둘 모두 1인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 15

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

XXX가 X'X'X'에 상보적이며, YYY가 Y'Y'Y'에 상보적이고, ZZZ가 Z'Z'Z'에 상보적인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 16

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

YYY 모티프가 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 17

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

Y'Y'Y' 모티프가 5'-말단으로부터 안티센스 가닥의 11, 12 및 13 위치에 존재하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 18

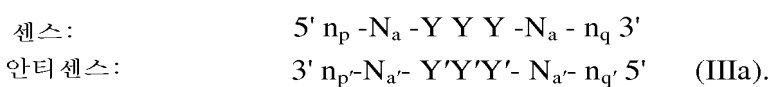
제17항에 있어서,

Y'가 2'-O-메틸인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 19

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

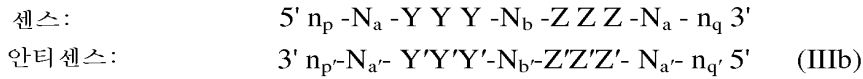
화학식 (III)가 화학식 (IIIa)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



청구항 20

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

화학식 (III)가 화학식 (IIIb)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:

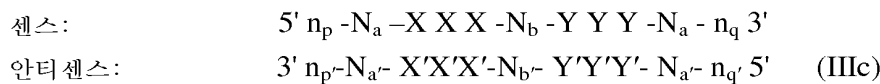


(상기 식에서, N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타냄).

청구항 21

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

화학식 (III)는 화학식 (IIIc)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:

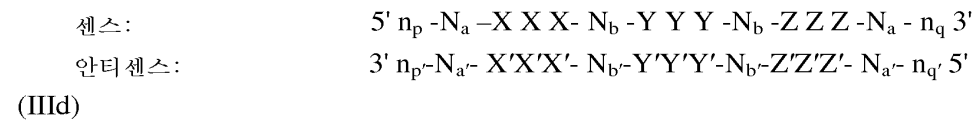


(상기 식에서, N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타냄).

청구항 22

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

화학식 (III)는 화학식 (IIId)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서, N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 2개 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타냄).

청구항 23

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 15개 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 24

제23항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 17개 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 25

제23항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 17개 내지 25개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 26

제23항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 23개 내지 27개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 27

제23항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 19개 내지 21개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 28

제23항에 있어서,

이중-가닥 영역이 길이가 21개 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 29

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

각각의 가닥이 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가지는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 30

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

뉴클레오타이드 상에서의 변형이 LNA, CRN, cET, UNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-메틸, 2'-O-알킬, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-데옥시, 2'-히드록실 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택되는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 31

제30항에 있어서,

뉴클레오타이드 상에서의 변형이 2'-O-메틸 변형 또는 2'-플루오로 변형인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 32

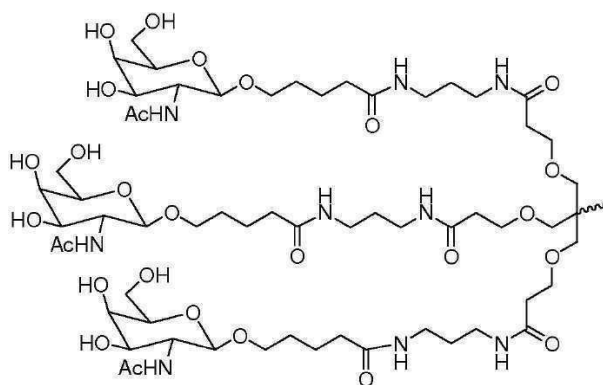
제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

리간드가 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 33

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

리간드가



인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 34

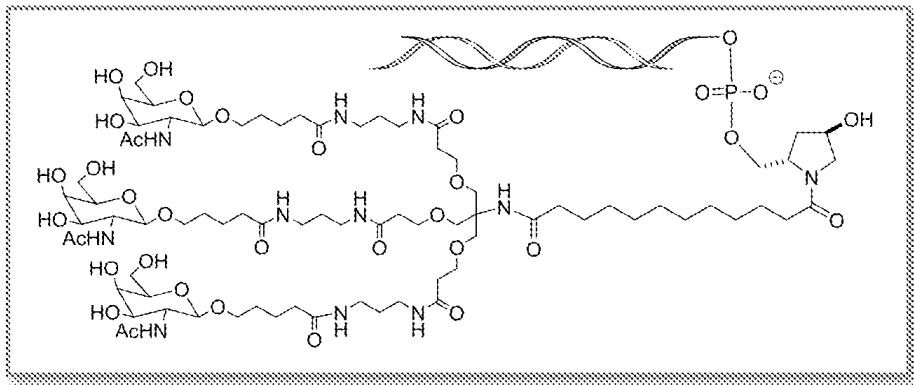
제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

리간드가 센스 가닥의 3' 말단에 부착된, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 35

제34항에 있어서,

RNAi 작용제가 하기 식으로 도시된 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트된, 이중-가닥 RNAi 작용제:



청구항 36

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 작용제가 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 추가로 포함하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 37

제36항에 있어서,

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

청구항 38

제37항에 있어서,

상기 가닥이 안티센스 가닥인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 39

제37항에 있어서,

상기 가닥이 센스 가닥인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 40

제36항에 있어서,

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

청구항 41

제40항에 있어서,

상기 가닥이 안티센스 가닥인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 42

제40항에 있어서,

상기 가닥이 센스 가닥인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 43

제36항에 있어서,

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

청구항 44

제43항에 있어서,

상기 가닥이 안티센스 가닥인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 45

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

듀플렉스의 안티센스 가닥의 5' 말단의 1 위치에 존재하는 염기쌍이 AU 염기쌍인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 46

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

Y 뉴클레오티드가 2'-플루오로 변형을 포함하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 47

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

Y' 뉴클레오티드가 2'-O-메틸 변형을 포함하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 48

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

p'가 0 초과인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 49

제10항 내지 제12항 중 어느 한 항에 있어서,

p'가 2인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 50

제49항에 있어서,

q'가 0이고, p가 0이며, q가 0이고, p'개의 오버행(overhang) 뉴클레오티드가 표적 mRNA에 상보적인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 51

제49항에 있어서,

q'가 0이고, p가 0이며, q가 0이고, p'개의 오버행 뉴클레오티드가 표적 mRNA에 비-상보적인, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 52

제49항에 있어서,

센스 가닥이 총 21개 뉴클레오티드를 가지고, 안티센스 가닥이 총 23개 뉴클레오티드를 가지는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 53

제48항 내지 제52항 중 어느 한 항에 있어서,

적어도 하나의 n_p '가 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합된, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 54

제53항에 있어서,

모든 n_p' 가 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합된, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 55

제10항에 있어서,

상기 RNAi 작용제가 표 3 및 표 4에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택되는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 56

제10항에 있어서,

상기 RNAi 작용제가 AD-60304, AD-60331 및 AD-60344의 군으로부터 선택되는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 57

제11항에 있어서,

상기 RNAi 작용제가 표 5 및 표 6에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택되는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 58

제12항에 있어서,

상기 RNAi 작용제가 표 7 및 표 8에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택되는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 59

표 3, 표 5 및 표 7 중 하나에 열거된 RNAi 작용제를 포함하는 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 60

변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물로서,

상기 작용제는 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 3에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고,

폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 61

변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물로서,

상기 작용제는 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 5에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고,

폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드인, 조성물.

청구항 62

변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물로서,

상기 작용제는 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 7에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고,

폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드인, 조성물.

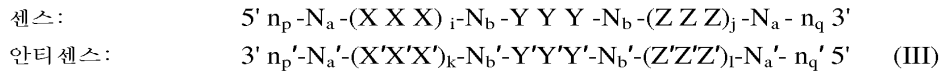
청구항 63

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

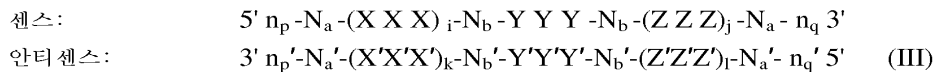
청구항 64

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

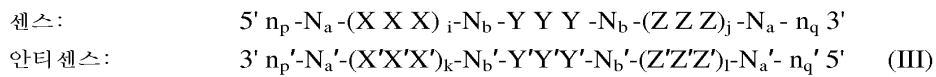
청구항 65

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 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 10개 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되고, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

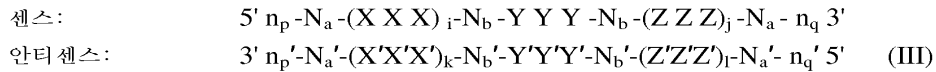
청구항 66

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

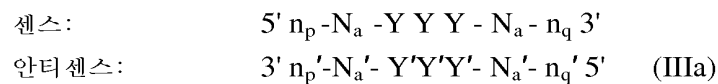
청구항 67

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

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

p, q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

YYY 및 Y'Y'Y'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나

타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

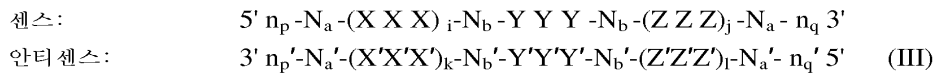
청구항 68

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14 개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

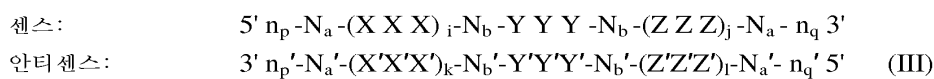
청구항 69

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14 개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를

나타내며;

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 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 10개 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

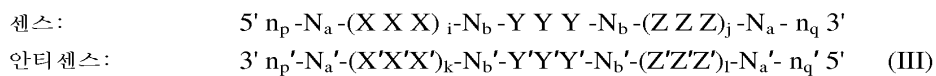
청구항 70

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i , j , k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 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 10개 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

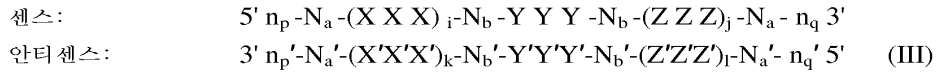
청구항 71

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14 개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i , j , k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

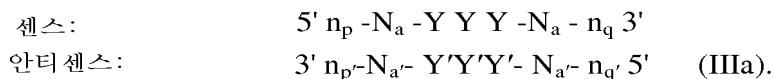
청구항 72

세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14 개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

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

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

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

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;

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

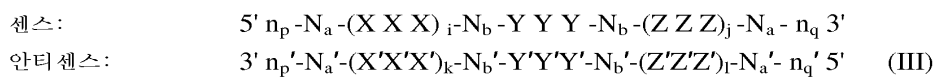
청구항 73

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l 은 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 25개 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 10개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

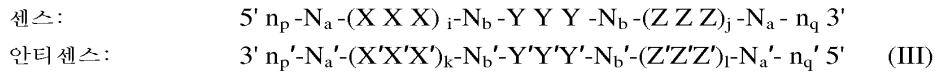
청구항 74

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트됨).

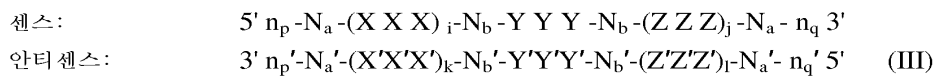
청구항 75

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포

합하는 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

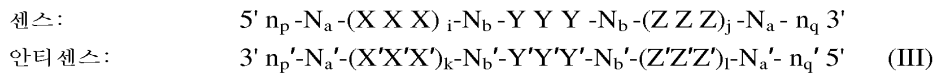
청구항 76

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 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 10개 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

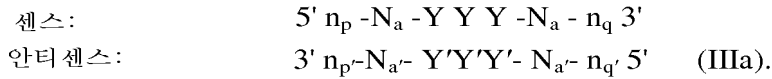
청구항 77

세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며,

상기 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

상기 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시되는, 이중-가닥 RNAi 작용제:



(상기 식에서,

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

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

YYY 및 Y'Y'Y'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체임).

청구항 78

세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

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

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:1 내지 5, 27 및 30 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:12 내지 16, 33 및 36 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고,

상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

상기 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합을 포함하고,

상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

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

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

청구항 79

세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

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

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:6 내지 8, 28 및 31 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:17 내지 19, 34 및 37 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고,

상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

상기 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합을 포함하고,

상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

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

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

청구항 80

세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제로서,

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

상기 센스 가닥은 SEQ ID NO:9 내지 11, 29 및 32 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 상기 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:20 내지 22, 35 및 38 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하고,

상기 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

상기 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오티드간 결합을 포함하고,

상기 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 구성된 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며,

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

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

청구항 81

제78항 내지 제80항 중 어느 한 항에 있어서.

상기 센스 가닥의 모든 뉴클레오티드 및 상기 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오티드가 변형을 포함하는, 이중-가닥 RNAi 작용제.

청구항 82

제1항, 제2항, 제4항, 제5항, 제7항, 제8항, 제10항 내지 제12항 및 제59항 내지 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 포함하는 세포.

청구항 83

제1항, 제2항, 제4항, 제5항, 제7항, 제8항, 제10항 내지 제12항 및 제60항 내지 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제의 적어도 하나의 가닥을 인코딩하는 벡터.

청구항 84

제83항에 따른 벡터를 포함하는 세포.

청구항 85

제1항, 제2항, 제10항, 제59항, 제63항 내지 제67항 및 제78항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 포함하는, 보체

성분 인자 B 유전자의 발현의 억제용 약학적 조성물.

청구항 86

제4항, 제5항, 제11항, 제59항, 제68항 내지 제72항 및 제79항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 포함하는, 보체 성분 C3 유전자의 발현의 억제용 약학적 조성물.

청구항 87

제7항, 제8항, 제12항, 제59항, 제73항 내지 제77항 및 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 포함하는, 보체 성분 C9 유전자의 발현의 억제용 약학적 조성물.

청구항 88

제60항 내지 제62항 및 제85항 내지 제87항 중 어느 한 항에 있어서,
작용제가 비완충 용액 중에 투입되는, 약학적 조성물.

청구항 89

제88항에 있어서,
상기 비완충 용액이 염수 또는 물인, 약학적 조성물.

청구항 90

제89항에 있어서,
상기 작용제가 완충 용액과 함께 투입되는, 약학적 조성물.

청구항 91

제90항에 있어서,
상기 완충 용액이 아세트산염, 시트르산염, 프롤라민, 탄산염, 인산염 또는 이들의 조합을 포함하는, 약학적 조성물.

청구항 92

제90항에 있어서,
상기 완충 용액이 인산염 완충 염수(PBS)인, 약학적 조성물.

청구항 93

하기 단계를 포함하는, 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하는 방법:

- (a) 세포를 제1항, 제2항, 제10항, 제59항, 제63항 내지 제67항 및 제78항 중 어느 한 항에 따른 작용제 또는 제60항, 제85항 및 제88항 내지 제92항 중 어느 한 항에 따른 약학적 조성물과 접촉시키는 단계; 및
- (b) 단계 (a)에서 생성된 세포를 CFB 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 CFB 유전자의 발현을 억제시키는 단계.

청구항 94

하기 단계를 포함하는, 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제하는 방법:

- (a) 세포를 제4항, 제5항, 제11항, 제59항, 제68항 내지 제72항 및 제79항 중 어느 한 항에 따른 작용제 또는 제61항, 제86항 및 제88항 내지 제92항 중 어느 한 항에 따른 약학적 조성물과 접촉시키는 단계; 및
- (b) 단계 (a)에서 생성된 세포를 C3 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 C3 유전자의 발현을 억제시키는 단계.

청구항 95

하기 단계를 포함하는, 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제하는 방법:

(a) 세포를 제7항, 제8항, 제12항, 제59항, 제73항 내지 제77항 및 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제 또는 제62항 및 제87항 내지 제92항 중 어느 한 항에 따른 약학적 조성물과 접촉시키는 단계; 및

(b) 단계 (a)에서 생성된 세포를 C9 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 C9 유전자의 발현을 억제시키는 단계.

청구항 96

제93항 내지 제95항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 세포가 피검자 내에 존재하는, 방법.

청구항 97

제96항에 있어서,

피검자가 인간인, 방법.

청구항 98

제97항에 있어서,

인간 피검자가 보체 성분-관련 질병(complement component-associated disease)을 갖는, 방법.

청구항 99

98항에 있어서,

보체 성분-관련 질병이 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 천식, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스(systemic lupus erythmatosis), 사구체신염(glomerulonephritis), 건선, 피부근육염(dermatomyositis), 수포성 유천포창(bullous pemphigoid), 비정형 용혈성 요독 증후군, 시가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군(Shiga toxin *E. coli*-related hemolytic uremic syndrome), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 시속신경수염(neuromyelitis optica), 조밀 침착병(dense deposit disease), C3 신경병증, 연령-관련 황반 변성(age-related macular degeneration), 한랭 응집소병(cold agglutinin disease), 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염(anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis), 체액성 및 혈관성 이식 거부(humoral and vascular transplant rejection), 이식 기능 장애(graft dysfunction), 심근 경색, 이식 수여자의 감각(sensitized recipient of a transplant) 및 패혈증으로 구성된이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 100

제99항에 있어서,

보체 성분-관련 질병이 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS) 또는 류마티스 관절염인, 방법.

청구항 101

제93항 및 제96항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서,

CFB 발현이 적어도 약 30% 억제되는, 방법.

청구항 102

제94항 및 제96항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서,

C3 발현이 적어도 약 30% 억제되는, 방법.

청구항 103

제95항 내지 제100항 중 어느 한 항에 있어서,

C9 발현이 적어도 약 30% 억제되는, 방법.

청구항 104

제100항에 있어서,

작용제가 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 105

제104항에 있어서,

작용제가 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 106

제100항에 있어서,

작용제가 피하 투여되는, 방법.

청구항 107

제100항에 있어서,

작용제가 정맥내 투여되는, 방법.

청구항 108

보체 인자 B(CFB)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법으로서, 제1항, 제2항, 제10항, 제59항, 제63항 내지 제67항 및 제78항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 109

보체 인자 B(CFB)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법으로서, 제1항, 제2항, 제10항, 제59항, 제63항 내지 제67항 및 제78항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 110

보체 성분 C3(C3)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법으로서, 제4항, 제5항, 제11항, 제59항, 제68항 내지 제72항 및 제79항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 111

보체 성분 C3(C3)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법으로서, 제4항, 제5항, 제11항, 제59항, 제68항 내지 제72항 및 제79항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 112

보체 성분 C9(C9)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법으로서, 제7항, 제8항, 제12항, 제59항, 제73항 내지 제78항 및 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자를 치료하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 113

보체 성분 C9(C9)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법으로서, 제7항, 제8항, 제12항, 제59항, 제73항 내지 제78항 및 제80항 중 어느 한 항에 따른 작

용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 114

제108항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

장애가 보체 성분-관련 질병인, 방법.

청구항 115

제114항에 있어서,

보체 성분-관련 질병이 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 천식, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 사구체신염, 건선, 피부근육염 수포성 유천포창, 비정형 용혈성 요독 증후군, 시가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군, 중증 근무력증, 시속신경수염, 조밀 침착병, C3 신경병증, 연령-관련 황반 변성, 한랭 응집소병, 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염, 체액성 및 혈관적 이식 거부, 이식 기능 장애, 심근 경색, 이식 수여자의 감염 및 패혈증으로 이루어진 군으로부터 선택되는, 방법.

청구항 116

제115항에 있어서,

보체 성분-관련 질병이 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 또는 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)인, 방법.

청구항 117

제108항 또는 제109항에 있어서,

피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 CFB 단백질의 축적을 감소시키는, 방법.

청구항 118

제110항 또는 제111항에 있어서,

피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 C3 단백질의 축적을 감소시키는, 방법.

청구항 119

제112항 또는 제113항에 있어서,

피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 C9 단백질의 축적을 감소시키는, 방법.

청구항 120

제108항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서.

에쿨리주마를 상기 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 121

제108항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

콧스타틴을 상기 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 122

제108항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

작용제가 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 123

제122항에 있어서,

작용제가 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 124

제122항에 있어서,

작용제가 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg으로 구성된 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 125

제122항에 있어서,

작용제가 주 1회 피검자에게 투여되는, 방법.

청구항 126

제122항에 있어서,

작용제가 월 2회 피검자에게 투여되는, 방법.

청구항 127

제108항 내지 제113항 중 어느 한 항에 있어서,

상기 피검자에서 LDH 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 128

피검자에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하는 방법으로서,

제1항, 제2항, 제10항, 제59항, 제63항 내지 제67항 및 제78항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 상기 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자에서 CFB의 발현을 억제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 129

피검자에서 보체 성분 C3(C3)의 발현을 억제하는 방법으로서,

제4항, 제5항, 제11항, 제59항, 제68항 내지 제72항 및 제79항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 상기 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자에서 C3의 발현을 억제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 130

피검자에서 보체 성분 C9(C9)의 발현을 억제하는 방법으로서,

제7항, 제8항, 제12항, 제59항, 제73항 내지 제77항 및 제80항 중 어느 한 항에 따른 작용제를 치료적 유효량으로 상기 피검자에게 투여함으로써, 상기 피검자에서 C9의 발현을 억제하는 단계를 포함하는, 방법.

청구항 131

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서,

에쿨리주마를 상기 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 132

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서,

콤스타틴을 상기 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함하는, 방법.

청구항 133

제128항 내지 제130항 중 어느 한 항에 있어서,

작용제가 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 134

제133항에 있어서,

작용제가 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 135

제133항에 있어서,

작용제가 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg으로 구성된 군으로부터 선택되는 용량으로 투여되는, 방법.

청구항 136

제133항에 있어서,

작용제가 주 1회 피검자에게 투여되는, 방법.

청구항 137

제133항에 있어서,

작용제가 월 2회 피검자에게 투여되는, 방법.

발명의 설명

기술 분야

[0001] 서열 목록

[0002] 본 출원은 ASCII 형식으로 전자적으로 제출되고, 그의 전체가 본원에 참조로 포함된 서열 목록을 포함한다. 2014년 12월 11일에 생성된 상기 ASCII 카피는 121301-01120_SL.txt로 명명되며, 266,080 바이트 크기이다.

[0003] 관련 출원

[0004] 본 출원은 2013년 12월 12일에 출원된 미국 가출원 제61/915,210호를 우선권으로서 이익을 주장하며, 이의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

[0005] 보체는 1890년대에 처음 발견되었으며, 그때, 그것은 정상 혈청에 존재하는 열-안정성 항체에 의한 박테리아의 사멸을 보조하거나 "보충"하는 것으로 관찰되었다(문헌[Walport, M.J. (2001) *N Engl J Med.* 344:1058]). 보체 시스템은 혈액 중 가용성 단백질로 존재하거나, 막-회합 단백질로 존재하는 30개 초과 단백질로 구성된다. 보체의 활성화는 보체 활성화 경로로 알려져 있는 순차적인 효소 반응의 캐스케이드를 야기하여, 주화성에서 아포토시스(apoptosis)에 이르는 많은 생리적 반응을 유도하는 강력한 아나필라톡신(anaphylatoxin) C3a 및 C5a의 형성을 초래한다. 처음에, 보체는 침입 병원체에 대하여 강하고 신속한 반응을 시작하는 선천성 면역에서 주요 역할을 수행하는 것으로 여겨졌다. 그러나, 최근에는 보체가 병원체의 제거(문헌[Dunkelberger JR and Song WC. (2010) *Cell Res.* 20:34]; [Molina H, 등 (1996) *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93:3357]), 병원체 재침입을 방지하는 면역 기억의 유지를 돕고, 수많은 인간 병태에 연루되는(문헌[Qu, H, 등 (2009) *Mol Immunol.* 47:185]; [Wagner, E. and Frank MM. (2010) *Nat Rev Drug Discov.* 9:43]) T 세포 및 B 세포를 수반하는 획득 면역에서 중요한 역할을 수행한다는 증거가 증가하고 있다.

[0006] 보체 활성화는 이어서, 순차적으로 절단되고 활성화되는 불활성 자이모겐(zymogen)으로 대부분 존재하는 단백질을 수반하는 3가지 상이한 경로인 대체 경로, 고전 경로 및 렉틴 경로(도 1)를 통해 발생하는 것으로 알려져 있다.

[0007] 고전 경로는 종종 항체-항원 복합체 또는 C-반응성 단백질(C-reactive protein; CRP)에 의해 활성화되며, 이들은 둘 다 보체 성분 C1q와 상호작용한다. 또한, 고전 경로는 면역 복합체의 부재하에, 아포토시스 바디(apoptotic body)에 존재하는 포스파티딜 세린에 의해 활성화될 수 있다.

[0008] 렉틴 경로는 병원체 표면상의 복합체 탄수화물 잔기에 결합하는 만노스-결합 렉틴(MBL)에 의해 개시된다. 고전

경로 또는 렉틴 경로의 활성화는 (C4b2b) C3 전환효소(convertase)를 활성화시킨다.

[0009] 대체 경로는 표적화된 표면상에서 C3의 가수분해에 의해 자발적으로 생성되는 C3b의 결합에 의해 활성화된다. 이어서, 이러한 표면-결합 C3b는 B 인자에 의해 인지되어, C3bB 복합체를 형성한다. C3bB 복합체는 결국, D 인자에 의해 절단되어, AP의 C3 전환효소의 활성화된 형태(C3bBb)가 생성된다. 2가지 유형의 C3 전환효소 모두는 C3를 절단하여, C3b를 형성할 것이다. 이어서, C3b는 보다 많은 B 인자들에 결합하여 AP를 통해 보체 활성화를 향상시키거나(소위 대체 루프 또는 증폭 루프), 활성화 C5 전환효소(C3bBbC3b 또는 C4bC2bC3b)를 형성하며, 이러한 전환효소는 C5를 절단하고, 막 공격 복합체(MAC)(C5b-9)를 형성하는 후기 사건을 초래한다.

[0010] 예를 들어, 발작성 야간혈색소뇨증(paroxysmal nocturnal hemoglobinuria), 비정형 용혈성 요독 증후군(atypical hemolytic uremic syndrome), 류마티스 관절염, 허혈-재관류 손상(ischemia-reperfusion injury) 및 신경변성 질병을 포함하는 상이한 질병에서 병적 이상의 전파 및/또는 개시의 원인은 보체 시스템의 부적절한 활성화이다.

[0011] 현재까지, C5-C5a 축을 표적으로 하는 오로지 하나의 치료제인 항-C5 항체, 에쿨리주맙(eculizumab)(Soliris®)만이 보체 성분-관련 질병의 치료에 이용가능하다. 에쿨리주맙이 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)의 치료에 효과적인 것으로 나타났으며, 현재 추가의 보체 성분-관련 질병용으로 임상 시험에서 평가되고 있지만, 에쿨리주맙 치료법은 고비용으로, 주마다의 고 용량 주입에 이어서, 격주의 유지 주입을 필요로 한다. 또한, 에쿨리주맙으로 치료한 PNH 개체 중 약 50%가 낮은 수준의 용혈을 나타내며, 잔여 수혈(residual transfusion)을 필요로 한다(문헌[Hill A, et al. (2010) Haematologica 95(4):567-73]). 따라서, 당업계에서는 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자를 위한 대체 요법 및 병용 요법이 요망되고 있다.

발명의 내용

[0012] 본 발명은 CFB 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RNA-induced silencing complex; RISC)-매개 절단을 야기하는 iRNA 조성물을 제공한다. CFB 유전자는 세포, 예를 들어 인간과 같은 피검자의 세포 내에 존재할 수 있다.

[0013] 본 발명은 또한, C3 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 야기하는 iRNA 조성물을 제공한다. C3 유전자는 세포, 예를 들어 인간과 같은 피검자의 세포 내에 존재할 수 있다.

[0014] 또한, 본 발명은 C9 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 야기하는 iRNA 조성물을 제공한다. C9 유전자는 세포, 예를 들어 인간과 같은 피검자의 세포 내에 존재할 수 있다.

[0015] 본 발명은 또한, CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 발현을 억제하거나 감소시키는 것으로 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예컨대 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)을 갖는 피검자를, CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 야기하여 CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 발현을 억제하는 iRNA 조성물을 이용하여 치료하는 방법 및 병용 요법을 제공한다.

[0016] 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:1 내지 5, 27 및 30의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드(contiguous nucleotide)를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:12 내지 16, 33 및 36의 뉴클레오타이드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함한다.

[0017] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 안티센스 가닥은 표 3 및 표 4에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하는 상보성 영역을 포함한다.

[0018] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 AD-60304, AD-60331 및 AD-60344 및 표 3 및 표 4에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다.

[0019] 일 실시형태에서, 상보성 영역은 표 3 및 표 4 중 어느 하나의 안티센스 서열 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열로 구성된다.

- [0020] 일 실시형태에서, dsRNA는 표 3 및 표 4 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 센스 가닥, 및 표 3 및 표 4 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 안티센스 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0021] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:6 내지 8, 28 및 31의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:17 내지 19, 34 및 37의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다.
- [0022] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 안티센스 가닥은 표 5 및 표 6에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 상보성 영역을 포함한다.
- [0023] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 AD-60169 및 표 5 및 표 6에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다.
- [0024] 일 실시형태에서, 상보성 영역은 표 5 및 표 6 중 어느 하나의 안티센스 서열 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열로 구성된다.
- [0025] 일 실시형태에서, dsRNA는 표 5 및 표 6 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 센스 가닥, 및 표 5 및 표 6 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 안티센스 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0026] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:9 내지 11, 29 및 32의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:20 내지 22, 35 및 38의 뉴클레오티드 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함한다.
- [0027] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 리보핵산(dsRNA)을 제공하며, 여기서, dsRNA는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 안티센스 가닥은 표 7 및 표 8에 열거된 안티센스 서열 중 어느 하나의 서열과 3개 이하의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오티드를 포함하는 상보성 영역을 포함한다.
- [0028] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 표 7 및 표 8에 열거된 작용제들 중 어느 하나의 작용제로 구성된 군으로부터 선택되는 서열을 포함한다.
- [0029] 일 실시형태에서, 상보성 영역은 표 7 및 표 8 중 어느 하나의 안티센스 서열 중 어느 하나의 뉴클레오티드 서열로 구성된다.
- [0030] 일 실시형태에서, dsRNA는 표 7 및 표 8 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 센스 가닥, 및 표 7 및 표 8 중 어느 하나의 서열로부터 선택되는 안티센스 서열의 뉴클레오티드 서열로 구성된 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0031] dsRNA는 적어도 하나의 변형된 뉴클레오티드, 예를 들어, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 5'-포스포로티오에이트 기를 포함하는 뉴클레오티드, 데옥시-뉴클레오티드, 3'-말단 데옥시-티민(dT) 뉴클레오티드, 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 2'-데옥시-변형된 뉴클레오티드, 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스테실아미드 기에 결합된 말단 뉴클레오티드, 2'-데옥시-2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드, 잠금 뉴클레오티드(locked nucleotide), 비잠금 뉴클레오티드(unlocked nucleotide), 구조 제약형 뉴클레오티드(conformationally restricted nucleotide), 구속형(constrained) 에틸 뉴클레오티드, 무염기 뉴클레오티드(abasic nucleotide), 2'-아미노-변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알릴-변형된 뉴클레오티드, 2'-C-알킬-변형된 뉴클레오티드, 2'-히드록실-변형된 뉴클레오티드, 2'-메톡시에틸 변형된 뉴클레오티드, 2'-O-알킬-변형된 뉴클레오티드, 모르폴리노 뉴클레오티드, 포스포로아미데이트, 비천연 염기를 포함하는 뉴클레오티드, 테트라히드로피란 변형된 뉴클레오티드, 1,5-안히드로핵시톨 변형된 뉴클레오티드, 사이클로헥세닐 변형된 뉴클레오티드, 포스포로티오에이트 기를 포함하는 뉴클레오티드, 메틸포스포네이트 기를 포함하는 뉴클레오티드, 5'-포스포에이트를 포

합하는 뉴클레오타이드 및 5'-포스페이트 모방체(mimic)를 포함하는 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

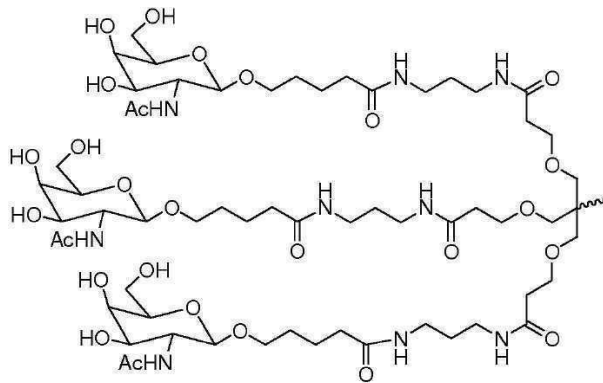
[0032] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 변형 뉴클레오타이드이다. 다른 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 변형 뉴클레오타이드이다.

[0033] 상보성 영역은 길이가 적어도 17개 뉴클레오타이드, 예컨대 길이가 적어도 19개 뉴클레오타이드 또는 길이가 30개 이하의 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0034] 상보성 영역은 길이가 19개 내지 21개 뉴클레오타이드일 수 있다.

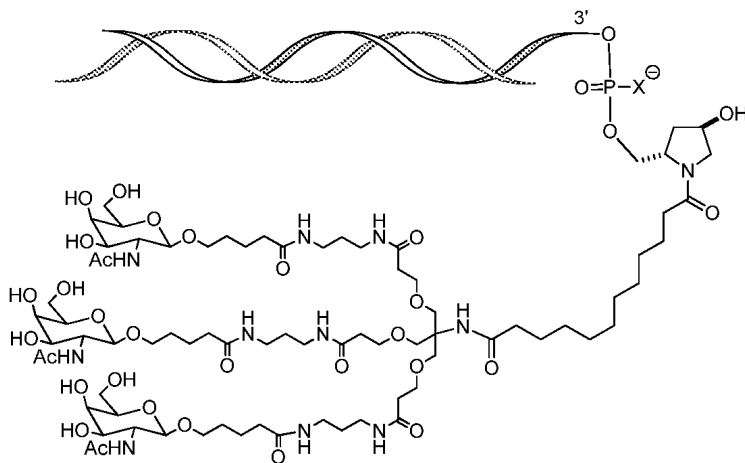
[0035] dsRNA 중 적어도 하나의 가닥은 적어도 1개의 뉴클레오타이드로 된 3' 오버행(overhang) 또는 적어도 2개의 뉴클레오타이드로 된 3' 오버행을 포함할 수 있다.

[0036] dsRNA는 리간드를 추가로 포함할 수 있다. 일 실시형태에서, 리간드는 dsRNA의 센스 가닥의 3' 말단에 컨쥬게이트된다. 일 실시형태에서, 리간드는 N-아세틸갈락토사민(GaINAc) 유도체이다. 일 실시형태에서, 리간드는



[0037] 이다.

[0038] 일 실시형태에서, dsRNA는 하기 식에 나타난 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트된다:



[0039]

상기 식에서, X는 O 또는 S이다.

[0040]

일 실시형태에서, X는 O이다.

[0041]

[0042] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이며, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:

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)

[0043]

상기 식에서:

[0044]

- [0045] i, j, k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0046] p, p', q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0047] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;
- [0048] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내며;
- [0049] n_p, n_p', n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0050] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며;
- [0051] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0052] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.
- [0053] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이며, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- $$\begin{array}{ll} \text{센스:} & 5' n_p\text{-}N_a\text{-(X X X)}_i\text{-}N_b\text{-Y Y Y}\text{-}N_b\text{-(Z Z Z)}_j\text{-}N_a\text{-}n_q\text{' 3'} \\ \text{안티센스:} & 3' n_p'\text{-}N_a'\text{-(X'X'X')}_{i'}\text{-}N_b'\text{-Y'Y'Y'}\text{-}N_b'\text{-(Z'Z'Z')}_{j'}\text{-}N_a'\text{-}n_q'\text{' 5'} \quad \text{(III)} \end{array}$$
- [0054]
- [0055] 상기 식에서:
- [0056] i, j, k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0057] p, p', q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0058] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;
- [0059] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내며;
- [0060] n_p, n_p', n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0061] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내며;
- [0062] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0063] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.
- [0064] 추가적인 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하며, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이며, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:

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)

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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.

일 실시형태에서, i는 0이거나; j는 0이거나; i는 1이거나; j는 1이거나; i 및 j 둘 모두는 0이거나; i 및 j 둘 모두는 1이다.

일 실시형태에서, k는 0이거나; l은 0이거나; k는 1이거나; l은 1이거나; k 및 l 둘 모두는 0이거나; k 및 l 둘 모두는 1이다.

일 실시형태에서, XXX는 X'X'X'에 상보적이며, YYY는 Y'Y'Y'에 상보적이고, ZZZ는 Z'Z'Z'에 상보적이다.

일 실시형태에서, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다.

일 실시형태에서, Y'Y'Y' 모티프는 5'-말단으로부터 안티센스 가닥의 11, 12 및 13 위치에 존재한다.

일 실시형태에서, Y'는 2'-O-메틸이다.

일 실시형태에서, 화학식 (III)는 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).

일 실시형태에서, 화학식 (III)는 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 변형 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타낸다.

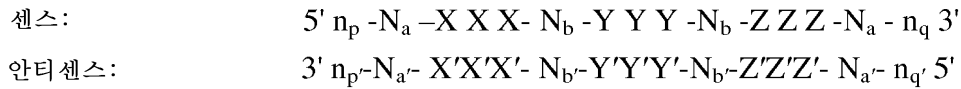
일 실시형태에서, 화학식 (III)는 화학식 (IIIc)로 표시된다:

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 변형 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드

서열을 나타낸다.

일 실시형태에서, 화학식 (III)는 화학식 (IIIId)로 표시된다:



(IIIId)

상기 식에서, N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 1개 내지 5개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

이중-가닥 영역은 길이가 15개 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17개 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍, 17개 내지 25개 뉴클레오타이드 쌍, 23개 내지 27개 뉴클레오타이드 쌍, 19개 내지 21개 뉴클레오타이드 쌍 또는 21개 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍일 수 있다.

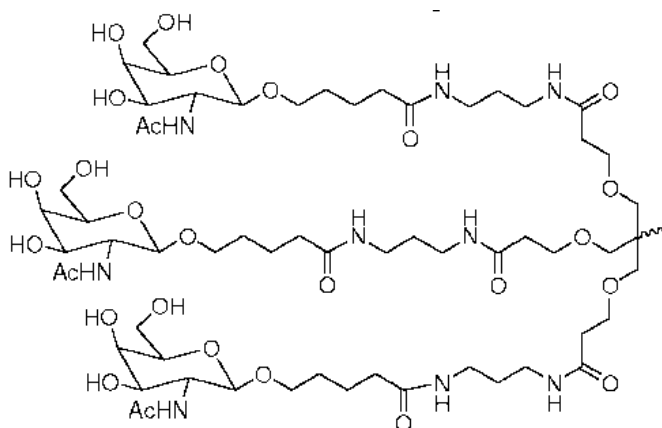
일 실시형태에서, 각각의 가닥은 15개 내지 30개의 뉴클레오타이드를 가진다.

일 실시형태에서, 뉴클레오타이드 상에서의 변형은 LNA, HNA, CeNA, 2'-메톡시에틸, 2'-O-알킬, 2'-O-알릴, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-테옥시, 2'-히드록실 및 이들의 조합으로 구성된 군으로부터 선택된다.

일 실시형태에서, 뉴클레오타이드 상에서의 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이다.

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

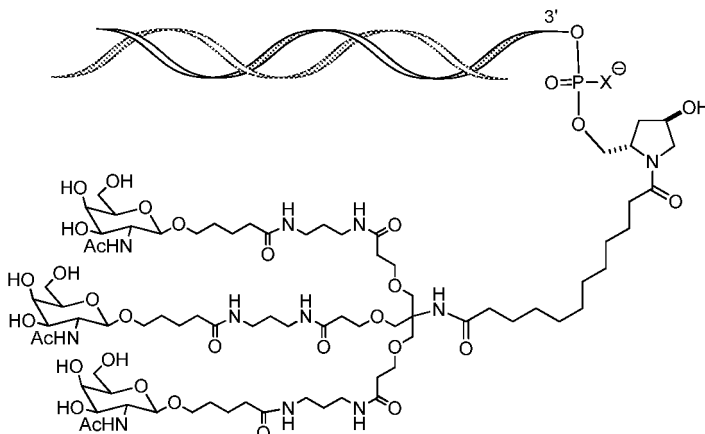
일 실시형태에서, 리간드는



이다.

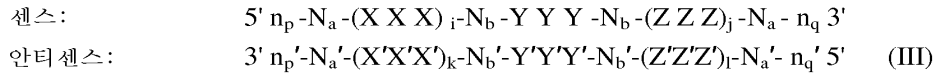
일 실시형태에서, 리간드는 센스 가닥의 3' 말단에 부착된다.

일 실시형태에서, RNAi 작용제는 하기 식에 나타낸 바와 같이 리간드에 컨쥬게이트된다:



- [0102] 상기 식에서, X 는 0 또는 S이다.
- [0103] 일 실시형태에서, X 는 0이다.
- [0104] 일 실시형태에서, 본 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오티드간 결합을 추가로 포함한다.
- [0105] 일 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오티드간 결합은 하나의 가닥의 3'-말단에 존재한다. 일 실시형태에서, 이러한 가닥은 안티센스 가닥이다. 다른 실시형태에서, 이러한 가닥은 센스 가닥이다.
- [0106] 다른 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오티드간 결합은 하나의 가닥의 5'-말단에 존재한다. 일 실시형태에서, 이러한 가닥은 안티센스 가닥이다. 다른 실시형태에서, 이러한 가닥은 센스 가닥이다.
- [0107] 일 실시형태에서, 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오티드간 결합은 하나의 가닥의 5'-말단 및 3'-말단 둘 다에 존재한다. 일 실시형태에서, 이러한 가닥은 안티센스 가닥이다.
- [0108] 일 실시형태에서, 듀플렉스의 안티센스 가닥의 5'-말단의 1 위치에 존재하는 염기쌍은 AU 염기쌍이다.
- [0109] 일 실시형태에서, Y 뉴클레오티드는 2'-플루오로 변형을 포함한다.
- [0110] 일 실시형태에서, Y' 뉴클레오티드는 2'-O-메틸 변형을 포함한다.
- [0111] 일 실시형태에서, p'는 0 초과이다. 다른 실시형태에서, p'는 2이다.
- [0112] 일 실시형태에서, q'는 0이고, p는 0이며, q는 0이고, p'개의 오버행 뉴클레오티드는 표적 mRNA에 상보적이다.
- [0113] 다른 실시형태에서, q'는 0이고, p는 0이며, q는 0이고, p'개의 오버행 뉴클레오티드는 표적 mRNA에 비-상보적이다.
- [0114] 일 실시형태에서, 센스 가닥은 총 21개 뉴클레오티드를 가지며, 안티센스 가닥은 총 23개 뉴클레오티드를 가진다.
- [0115] 일 실시형태에서, 적어도 하나의 n_p '가 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합된다. 다른 실시형태에서, 모든 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합된다.
- [0116] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 표 3 및 표 4에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택된다. 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 AD-60304, AD-60331 및 AD-60344의 군으로부터 선택된다.
- [0117] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 표 5 및 표 6에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택된다.
- [0118] 또 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 표 7 및 표 8에 열거된 RNAi 작용제의 군으로부터 선택된다.
- [0119] 일 양태에서, 본 발명은 표 3, 표 5 및 표 7 중 어느 하나에 열거된 RNAi 작용제를 포함하는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다.
- [0120] 일 양태에서, 본 발명은 변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 작용제는 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 3에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고, 여기서, 폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이다.
- [0121] 다른 양태에서, 본 발명은 변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 작용제는 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 5에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고, 여기서, 폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이다.
- [0122] 또 다른 양태에서, 본 발명은 변형된 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제를 포함하는 조성물을 제공한다. 본 작용제는 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있으며, 표 7에 열거된 서열의 군으로부터 선택되는 센스 서열에 상보적인 서열을 포함하고, 여기서, 폴리뉴클레오티드는 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이다.
- [0123] 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는

mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

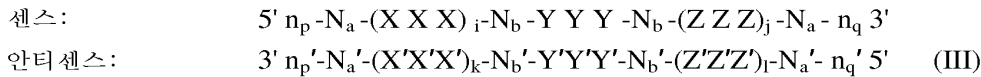
n_p , n_p' , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;

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

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.

다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



상기 식에서,

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

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

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

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

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

- [0145] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.
- [0146] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- 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)
- [0147]
- [0148] 상기 식에서,
- [0149] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0150] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0151] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0152] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;
- [0153] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;
- [0154] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고;
- [0155] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;
- [0156] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0157] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되고, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0158] 다른 추가적인 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- 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)
- [0159]
- [0160] 상기 식에서,
- [0161] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0162] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0163] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0164] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;
- [0165] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

[0166] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오타드를 포함하는 올리고뉴클레오타드 서열을 나타내고;

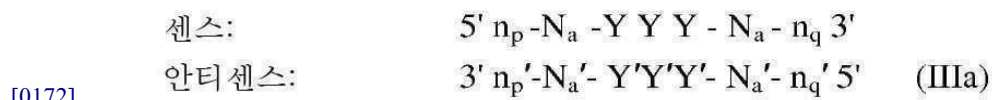
[0167] XXX, YYY, ZZZ, $X'X'X'$, $Y'Y'Y'$ 및 $Z'Z'Z'$ 는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

[0168] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하며;

[0169] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

[0170] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

[0171] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 CFB를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (IIIa)로 표시된다:



[0173] 상기 식에서,

[0174] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타드를 나타내며;

[0175] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0176] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타드에 결합되며;

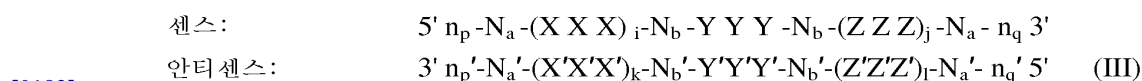
[0177] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오타드를 포함하는 올리고뉴클레오타드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타드를 포함하며;

[0178] YYY 및 $Y'Y'Y'$ 는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

[0179] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

[0180] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

[0181] 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



[0183] 상기 식에서,

[0184] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

[0185] p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0186] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오타드를 포함하는 올리고뉴클레오타드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타드를 포함하며;

- [0187] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0188] n_p , n_p' , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;
- [0189] 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;
- [0190] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0191] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.
- [0192] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- 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)
- [0193]
- [0194] 상기 식에서,
- [0195] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0196] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;
- [0197] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0198] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;
- [0199] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0200] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0201] 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;
- [0202] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0203] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.
- [0204] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- 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)
- [0205]
- [0206] 상기 식에서,
- [0207] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0208] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를

나타내며;

[0209] p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0210] n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

[0211] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0212] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

[0213] 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

[0214] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;

[0215] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

[0216] 또 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:

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)

[0217] 상기 식에서,

[0218] i , j , k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

[0220] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;

[0221] p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0222] n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오타이드에 결합되며;

[0223] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;

[0224] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;

[0225] 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 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

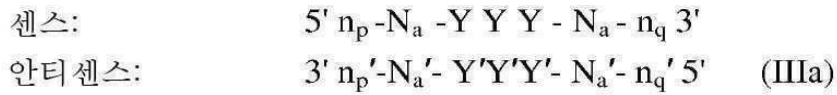
[0226] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;

[0227] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

[0228] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

[0229] 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C3를 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오타이드이고,

이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (IIIa)로 표시된다:



상기 식에서,

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

p , q 및 q' 는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

n_p '는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

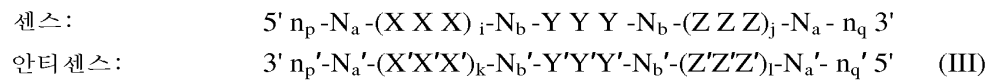
N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

YYY 및 Y'Y'Y'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



상기 식에서,

i , j , k 및 l 은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

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 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

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

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

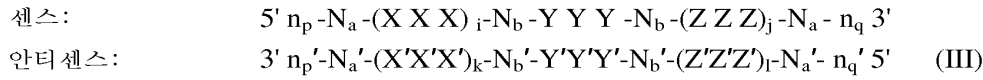
XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;

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

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.

다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는

mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



[0251]

상기 식에서,

[0252]

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

[0253]

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

[0254]

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0255]

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

[0256]

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

[0257]

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

[0258]

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

[0259]

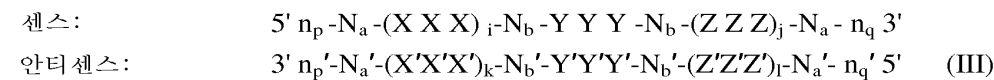
N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;

[0260]

센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트된다.

[0261]

다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:



[0263]

상기 식에서,

[0264]

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;

[0265]

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

[0266]

p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0267]

n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;

[0268]

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

[0269]

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

[0270]

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

[0271]

- [0272] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0273] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0274] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 화학식 (III)로 표시된다:
- 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)
- [0275]
- [0276] 상기 식에서,
- [0277] i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이며;
- [0278] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0279] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0280] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;
- [0281] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;
- [0282] N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 10개 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고;
- [0283] XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타내고, 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이며;
- [0284] N_b 상의 변형은 Y 상의 변형과 상이하고, N_b' 상의 변형은 Y' 상의 변형과 상이하고;
- [0285] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;
- [0286] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.
- [0287] 추가적인 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 본 작용제는 안티센스 가닥에 상보적인 센스 가닥을 포함하며, 여기서, 안티센스 가닥은 C9을 인코딩하는 mRNA의 부분에 상보적인 영역을 포함하고, 각각의 가닥은 길이가 약 14개 내지 약 30개 뉴클레오티드이고, 이중-가닥 RNAi 작용제는 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)
- [0288]
- [0289] 상기 식에서,
- [0290] n_p , n_q 및 n_q' 는 각각이 존재하거나 존재하지 않을 수 있으며, 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;
- [0291] p, q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0292] n_p' 는 0 초과이고, 적어도 하나의 n_p' 는 포스포로티오에이트 결합을 통해 인접 뉴클레오티드에 결합되며;
- [0293] N_a 및 N_a' 는 각각 독립적으로 변형되거나, 비변형되거나, 또는 이들의 조합인 0개 내지 25개 뉴클레오티드를 포

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

[0294] 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;

[0295] 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고;

[0296] 센스 가닥은 적어도 하나의 리간드에 컨쥬게이트되며, 리간드는 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체이다.

[0297] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 여기서, 이중-가닥 RNAi 작용제는 이중-가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:1 내지 5, 27 및 30 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:12 내지 16, 33 및 36 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 센스 가닥은 3'-말단에서 분지형 2가 또는 3가 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.

[0298] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C3의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 여기서, 이중-가닥 RNAi 작용제는 이중-가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:6 내지 8, 28 및 31 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:17 내지 19, 34 및 37 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 센스 가닥은 3'-말단에서 분지형 2가 또는 3가 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.

[0299] 또 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 C9의 발현을 억제하기 위한 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공하며, 여기서, 이중-가닥 RNAi 작용제는 이중-가닥 영역을 형성하는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하고, 센스 가닥은 SEQ ID NO:9 내지 11, 29 및 32 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하며, 안티센스 가닥은 SEQ ID NO:20 내지 22, 35 및 38 중 어느 하나의 뉴클레오타이드 서열과 3개 이하의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하고, 센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 안티센스 가닥의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드는 2'-O-메틸 변형 및 2'-플루오로 변형으로 이루어진 군으로부터 선택되는 변형을 포함하며, 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합 및 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하고, 센스 가닥은 3'-말단에서 분지형 2가 또는 3가 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.

[0300] 일 실시형태에서, 센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드 및 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오타이드는 변형을 포함한다.

[0301] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 작용제를 포함하는 세포를 제공한다.

[0302] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 작용제의 적어도 하나의 가닥을 인코딩하는 벡터를 제공한다.

[0303] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 벡터를 포함하는 세포를 제공한다.

[0304] 일 양태에서, 본 발명은 본 발명의 작용제를 포함하는, 보체 성분 인자 B의 발현을 억제하기 위한 약학적 조성물을 제공한다.

- [0305] 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 작용제를 포함하는, 보체 성분 C3 유전자의 발현을 억제하기 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [0306] 또 다른 양태에서, 본 발명은 본 발명의 작용제를 포함하는, 보체 성분 C9 유전자의 발현을 억제하기 위한 약학적 조성물을 제공한다.
- [0307] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 비완충 용액 중에 투여된다.
- [0308] 일 실시형태에서, 비완충 용액은 염수 또는 물이다.
- [0309] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 완충 용액과 함께 투여된다.
- [0310] 일 실시형태에서, 완충 용액은 아세트산염, 시트르산염, 프롤라민, 탄산염, 인산염 또는 이들의 임의의 조합을 포함한다.
- [0311] 일 실시형태에서, 완충 용액은 인산염 완충 염수(PBS)이다.
- [0312] 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은, 세포를 본 발명의 작용제 또는 본 발명의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계, 및 생성된 세포를 CFB 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 CFB 유전자의 발현을 억제시키는 단계를 포함한다.
- [0313] 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 3(C3)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은, 세포를 본 발명의 작용제 또는 본 발명의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계, 및 생성된 세포를 C3 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 C3 유전자의 발현을 억제시키는 단계를 포함한다.
- [0314] 또 다른 양태에서, 본 발명은 세포에서 보체 성분 9(C9)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은, 세포를 본 발명의 작용제 또는 본 발명의 약학적 조성물과 접촉시키는 단계, 및 생성된 세포를 C9 유전자의 mRNA 전사물을 분해시키기에 충분한 시간 동안 유지시킴으로써, 세포에서 C9 유전자의 발현을 억제시키는 단계를 포함한다.
- [0315] 일 실시형태에서, 세포는 피검자 내에 존재한다.
- [0316] 일 실시형태에서, 피검자는 인간이다.
- [0317] 일 실시형태에서, 인간 피검자는 보체 성분-관련 질병을 앓고 있다.
- [0318] 일 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 천식, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스(systemic lupus erythmatosis), 사구체신염(glomerulonephritis), 건선, 피부근육염(dermatomyositis), 수포성 유천포창(bullous pemphigoid), 비정형 용혈성 요독 증후군, 시가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군(Shiga toxin *E. coli*-related hemolytic uremic syndrome), 중증 근무력증(myasthenia gravis), 시속신경수염(neuromyelitis optica), 조밀 침착병(dense deposit disease), C3 신경병증, 연령-관련 황반 변성(age-related macular degeneration), 한랭 응집소병(cold agglutinin disease), 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염(anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis), 체액성 및 혈관성 이식 거부(humoral and vascular transplant rejection), 이식 기능 장애(graft dysfunction), 심근 경색, 이식 수여자의 감각(sensitized recipient of a transplant) 및 패혈증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0319] 일 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 발작성 야간혈색소뇨증(PNH)이다.
- [0320] 다른 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)이다.
- [0321] 일 실시형태에서, CFB 발현은 적어도 약 30% 억제된다.
- [0322] 일 실시형태에서, C3 발현은 적어도 약 30% 억제된다.
- [0323] 일 실시형태에서, C9 발현은 적어도 약 30% 억제된다.
- [0324] 일 실시형태에서, 본 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0325] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다.

- [0326] 일 실시형태에서, 본 작용제는 피하 투여된다.
- [0327] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 정맥내 투여된다.
- [0328] 일 양태에서, 본 발명은 보체 인자 B(CFB)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0329] 다른 양태에서, 본 발명은 보체 인자 B(CFB)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.
- [0330] 또 다른 양태에서, 본 발명은 보체 성분 C3(C3)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0331] 일 양태에서, 본 발명은 보체 성분 C3(C3)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.
- [0332] 다른 양태에서, 본 발명은 보체 성분 C9(C9)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0333] 일 양태에서, 본 발명은 보체 성분 C9(C9)의 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.
- [0334] 일 실시형태에서, 이러한 장애는 보체 성분-관련 질병이다.
- [0335] 일 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 천식, 류마티스 관절염, 전신 홍반성 루푸스, 사구체신염, 건선, 피부근육염 수포성 유천포창, 비정형 용혈성 요독 증후군, 시가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군, 중증 근무력증, 시속신경수염, 조밀 침착병, C3 신경병증, 연령-관련 황반 변성, 한랭 응집소병, 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염, 체액성 및 혈관적 이식 거부, 이식 기능 장애, 심근 경색, 이식 수여자의 감각 및 패혈증으로 이루어진 군으로부터 선택된다.
- [0336] 일 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 발작성 야간혈색소뇨증(PNH)이다.
- [0337] 다른 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)이다.
- [0338] 일 실시형태에서, 피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 CFB 단백질의 축적을 감소시킨다.
- [0339] 일 실시형태에서, 피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 C3 단백질의 축적을 감소시킨다.
- [0340] 일 실시형태에서, 피검자에게 본 작용제를 투여하면, 용혈을 감소시키고/거나 C9 단백질의 축적을 감소시킨다.
- [0341] 일 실시형태에서, 본 방법은 피검자에게 에쿨리주마를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0342] 다른 실시형태에서, 본 방법은 피검자에게 콤프스타틴(compstatin)을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0343] 일 실시형태에서, 본 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0344] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0345] 또 다른 실시형태에서, 본 작용제는 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다.
- [0346] 일 실시형태에서, 본 작용제는 주 1회 피검자에게 투여된다.

- [0347] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 월 2회 피검자에게 투여된다.
- [0348] 일 실시형태에서, 본 방법은 피검자에서 LDH 수준을 측정하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0349] 일 양태에서, 본 발명은 피검자에서 보체 인자 B(CFB)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자에서 CFB의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.
- [0350] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자에서 보체 성분 C3(C3)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자에서 C3의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.
- [0351] 또 다른 양태에서, 본 발명은 피검자에서 보체 성분 C9(C9)의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 작용제를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, 피검자에서 C9의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.
- [0352] 일 실시형태에서, 본 방법은 피검자에게 에컬리주맙을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0353] 다른 실시형태에서, 본 방법은 피검자에게 콤스타틴을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0354] 일 실시형태에서, 본 작용제는 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 50 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0355] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다.
- [0356] 또 다른 실시형태에서, 본 작용제는 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg 및 30 mg/kg으로 이루어진 군으로부터 선택되는 용량으로 투여된다.
- [0357] 일 실시형태에서, 본 작용제는 주 1회 피검자에게 투여된다.
- [0358] 다른 실시형태에서, 본 작용제는 월 2회 피검자에게 투여된다.

도면의 간단한 설명

- [0359] 도 1은 3가지 보체 경로인 대체 경로, 고전 경로 및 렉틴 경로의 도식도이다.
- 도 2는 지시된 iRNA를 단일 1 mg/kg 또는 10 mg/kg 용량으로 투여한 후 96시간에, C57BL/6 마우스에 잔류하는 보체 인자 B(CFB) mRNA의 백분율을 보여주는 그래프이다.
- 도 3은 AD-60331을 단일 1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg 또는 10 mg/kg 용량으로 투여한 후 72시간에, C57BL/6 마우스에 잔류하는 보체 인자 B(CFB) mRNA의 백분율을 보여주는 그래프이다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

- [0360] 본 발명은 보체 성분 유전자, 즉 CFB 유전자, C3 유전자 또는 C9 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 유발하는 iRNA 조성물을 제공한다. 이러한 유전자는 세포, 예를 들어 인간과 같은 피검자의 세포 내에 존재할 수 있다.
- [0361] 본 발명은 또한, CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 발현을 억제하거나 감소시킴으로써 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예컨대 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)을 갖는 피검자를, CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 RNA 전사물에 대해 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC)-매개 절단을 야기하는 iRNA 조성물을 이용하여 치료하는 방법 및 병용 요법을 제공한다.
- [0362] 본 발명은 또한, CFB 유전자, C3 유전자 및/또는 C9 유전자의 발현을 억제하거나 감소시킴으로써 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예컨대 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)을 갖는 피검자에서, 적어도 하나의 증상, 예를 들어 용혈을 예방하는 방법을 제공한다.
- [0363] 본 발명의 iRNA는 길이가 약 30개 이하의 뉴클레오티드, 예를 들어, 길이가 15 내지 30개, 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24

개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개 또는 21 내지 22개의 뉴클레오티드인 영역을 가진 RNA 가닥(안티센스 가닥)을 포함하며, 이 영역은 CFB, C3 또는 C9 유전자의 mRNA 전사물의 적어도 일부에 실질적으로 상보적이다. 이들 iRNA의 이용은 포유류에서 상응하는 유전자(CFB, C3 또는 C9 유전자)의 mRNA의 표적화된 분해를 가능하게 한다. 특히, 매우 적은 용량의 iRNA는 RNA 간섭(RNAi)을 특이적이며 효율적으로 매개하여, 상응하는 유전자(CFB, C3 또는 C9 유전자)의 발현을 상당히 억제할 수 있다. 세포-기반 분석법을 이용하여, 본 발명자들은 이들 보체 성분 유전자를 표적으로 하는 iRNA가 RNAi를 매개하여, 보체 유전자(CFB, C3 또는 C9 유전자)의 발현을 상당히 억제할 수 있음을 입증하였다. 따라서, 이들 iRNA를 포함하는 방법 및 조성물은 보체 성분-관련 질병, 예컨대 발작성 야간혈색소뇨증(PNH) 및 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)을 갖는 피검자를 치료하는데 유용하다.

[0364] 하기의 상세한 설명은 보체 유전자(즉, CFB, C3 또는 C9 유전자)의 발현을 억제하는 iRNA를 함유하는 조성물의 제조 방법 및 이용 방법, 뿐만 아니라 이들 유전자의 발현의 억제 및/또는 감소로부터 이득을 보게 되는 질병 또는 장애를 갖는 피검자를 치료하기 위한 조성물, 용도 및 방법을 개시한다.

[0365] I. 정의

[0366] 본 발명이 더 용이하게 이해될 수 있도록, 특정 용어들을 우선 정의한다. 또한, 매개변수의 값 또는 값의 범위가 인용될 때마다, 인용된 값들의 중간에 존재하는 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다는 것에 유의하여야 한다.

[0367] 관사 "a" 및 "an"은 관사의 문법적 대상의 하나 또는 하나를 초과하는 것(즉, 적어도 하나)을 지칭하는 것으로 본원에서 사용된다. 예를 들자면, "하나의 구성요소"는 하나의 구성요소 또는 하나를 초과하는 구성요소, 예컨대, 복수 개의 구성요소들을 의미한다.

[0368] "포함하는"이라는 용어는 "포함하지만 여기에 한정되지 않는"이라는 어구를 의미하는 것으로 본원에서 사용되고, 상기 어구와 교환가능하게 사용된다.

[0369] "또는"이라는 용어는 문맥이 명백히 달리 표시하지 않으면, "및/또는"이라는 용어를 의미하는 것으로 본원에서 사용되고, 상기 용어와 교환가능하게 사용된다.

[0370] 본원에 사용된 바와 같이, "보체 인자 B"라는 용어는 "CFB"라는 용어와 교환가능하게 이용되며, AHUS, BF, CFAB, BFD, FB, GBG, FBI12, B-인자, 프로퍼딘(Properdin), H2-Bf, 글리신-풍부 베타 당단백질, C3 프로악셀레이터(Proaccelerator), 프로퍼딘 인자 2B, C3 프로액티베이터(Proactivator), PBF2, 글리신-풍부 베타-당단백질, C3/C5 전환효소, EC 3.4.21 및 EC 3.4.21.473로서 당업계에 알려져 있기도 한 널리 알려져 있는 유전자 및 폴리펩티드를 지칭한다. "CFB"라는 용어는, 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:189181756에서 찾을 수 있는 인간 CFB; 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:218156288 및 GI:218156290에서 찾을 수 있는 마우스 CFB; 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:218156284에서 찾을 수 있는 랫(rat) CFB; 및 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:57114201에서 찾을 수 있는 침팬지 CFB를 포함한다. "CFB"라는 용어는 또한, *마카카 파시쿨라리스*(*Macaca fascicularis*) CFB를 포함하며, 이의 아미노산 및 뉴클레오티드 서열은 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:544428919 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트 (<http://macaque.genomics.org.cn/page/species/index.jsp>)의 유전자 도입부 ENSMUP00000000985(유전자 좌=스캐폴드3881:47830:53620)에서 찾을 수 있다. CFB mRNA 서열의 추가의 예는 예를 들어, GenBank, UniProt, OMIM 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트를 이용하여 용이하게 입수가능하다.

[0371] 예시적인 CFB 뉴클레오티드 서열은 또한, SEQ ID NO:1 내지 5, 27 및 30에서 찾을 수 있다. SEQ ID NO:12 내지 16, 33 및 36은 각각 SEQ ID NO: 1 내지 5, 27 및 30의 안티센스 서열이다.

[0372] 본원에 사용된 바와 같이, "CFB"라는 용어는 또한, CFB 유전자의 천연 발생 DNA 서열 변이를 지칭한다. CFB 유전자 내에서의 서열 변이의 비제한적인 예는, 엑손 12에서 1598A>G를 포함하며, 이는 아미노산 잔기 533에서 라이신을 아르기닌으로 변화시키며; 엑손 6에서 858C>G를 포함하며, 이는 아미노산 잔기 286에서 페닐알라닌을 루신으로 변화시키고; 엑손 7에서 967A>G를 포함하며, 이는 아미노산 잔기 323에서 라이신을 알라닌으로 변화시킨다(문헌[Tawadrous H. *et al.* (2010) *Pediatr Nephrol.* 25:947]; [Goicoechea de Jorge E *et al.* (2007) *Proc Natl Acad Sci. USA* 104:240]). 본원에 사용된 바와 같이, "CFB"라는 용어는 또한, CFB 유전자에서 단일 뉴클

레오티드 다형성을 지칭한다. CFB 유전자 내에서의 많은 서열 변이들이 확인되었으며, 예를 들어 NCBI dbSNP 및 UniProt(예를 들어, ncbi.nlm.nih.gov/snp 참조)에서 찾을 수 있다.

[0373] 본원에 사용된 바와 같이, "보체 성분 3"라는 용어는 "C3"와 교환가능하게 이용되며, ARMD9, C3a 아나필라톡신, ASP, 보체 성분 C3a, C3a, 보체 성분 C3b, C3b, 프리프로-C3(prepro-C3), 아실화-자극 단백질 절단 생성물, CPAMD1, 보체 C3, C3 및 PZP-유사 알파-2-마크로글로불린 도메인-함유 단백질 1, 보체 성분 C3 및 AHUS5로서 당 업계에 알려져 있기도 한 널리 알려져 있는 유전자 및 폴리펩티드를 지칭한다. "C3"라는 용어는, 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:115298677에서 찾을 수 있는 인간 C3; 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:126518316에서 찾을 수 있는 마우스 C3; 및 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:158138560에서 찾을 수 있는 랫 C3를 포함한다. "C3"라는 용어는 또한, *마카카 파시쿨라리스* CFB를 포함하며, 이의 아미노산 및 뉴클레오티드 서열은 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:544508182 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트(<http://macaque.genomics.org.cn/page/species/index.jsp>)의 유전자 도입부 ENSP00000245907(유전자 좌 =chr19:6921416:6963034)에서 찾을 수 있다. C3 mRNA 서열의 추가의 예는 예를 들어, GenBank, UniProt, OMIM 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트를 이용하여 용이하게 입수가능하다.

[0374] 예시적인 C3 뉴클레오티드 서열은 또한, SEQ ID NO:6 내지 8, 28 및 31에서 찾을 수 있다. SEQ ID NO:17 내지 19, 34 및 37은 각각 SEQ ID NO: 6 내지 8, 28 및 31의 안티센스 서열이다.

[0375] 본원에 사용된 바와 같이, "C3"라는 용어는 또한, C3 유전자의 천연 발생 DNA 서열 변이를 지칭한다. C3 유전자 내에서의 많은 서열 변이들이 확인되었으며, 예를 들어, NCBI dbSNP 및 UniProt(예를 들어, ncbi.nlm.nih.gov/snp 참조)에서 찾을 수 있다.

[0376] 본원에 사용된 바와 같이, "보체 성분 9"이라는 용어는 C9"과 교환가능하게 이용되며, 널리 알려져 있는 유전자 및 폴리펩티드를 지칭한다. "C9"이라는 용어는, 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:187608340에서 찾을 수 있는 인간 C9; 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:15375311에서 찾을 수 있는 마우스 C9; 및 아미노산 및 뉴클레오티드 서열을 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:1692400에서 찾을 수 있는 랫 C9을 포함한다. "C9"이라는 용어는 또한, *마카카 파시쿨라리스* CFB를 포함하며, 이의 아미노산 및 뉴클레오티드 서열은 예를 들어, GenBank 승인 번호 GI:544436867 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트(<http://macaque.genomics.org.cn/page/species/index.jsp>)의 유전자 도입부 isotig05361(isogroup03350 길이=2955 numContigs=1)에서 찾을 수 있다. C3 mRNA 서열의 추가의 예는 예를 들어, GenBank, UniProt, OMIM 및 *마카카* 게놈 프로젝트 웹사이트를 이용하여 용이하게 입수가능하다.

[0377] 예시적인 C9 뉴클레오티드 서열은 또한, SEQ ID NO:9 내지 11, 29 및 32에서 찾을 수 있다. SEQ ID NO:20 내지 22, 35 및 38은 각각 SEQ ID NO: 9 내지 11, 29 및 32의 안티센스 서열이다.

[0378] 본원에 사용된 바와 같이, "C9"이라는 용어는 또한, C9 유전자의 천연 발생 DNA 서열 변이를 지칭한다. C9 유전자 내에서의 많은 서열 변이들이 확인되었으며, 예를 들어, NCBI dbSNP 및 UniProt(예를 들어, ncbi.nlm.nih.gov/snp 참조)에서 찾을 수 있다.

[0379] 본원에 이용된 "표적 서열"은 일차 전사 산물의 RNA 가공의 산물인 mRNA를 포함하여, CFB, C3 및/또는 C9 유전자의 전사 동안에 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오티드 서열의 연속 부분을 지칭한다. 일 실시형태에서, 서열의 표적 부분은 적어도 CFB, C3 및/또는 C9 유전자의 전사 동안에 형성되는 mRNA 분자의 뉴클레오티드 서열의 부분에서 의 또는 그 근처에서의 iRNA-유발성 절단을 위한 기질로서 작용하기에 충분히 길 것이다.

[0380] 표적 서열은 길이가 약 9 내지 36개 뉴클레오티드, 예를 들어, 길이가 약 15 내지 30개 뉴클레오티드일 수 있다. 예를 들어, 표적 서열은 길이가 약 15 내지 30개 뉴클레오티드, 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개 또는 21 내지 22개 뉴클레오티드일 수 있다. 상기 인용 범위 및 길이의 중간에 존재하는 범위 및 길이 또한, 본 발명의 일부인

것으로 사료된다.

- [0381] 본원에 사용된 바와 같이, "서열을 포함하는 가닥"이라는 용어는 표준 뉴클레오타이드 명명법을 이용하여 지칭되는 서열에 의해 기술되는 뉴클레오타이드의 사슬을 포함하는 올리고뉴클레오타이드를 지칭한다.
- [0382] "G", "C", "A", "T" 및 "U" 각각은 염기로서 구아닌, 시토신, 아데닌, 티미딘 및 우라실 각각을 포함하는 뉴클레오타이드를 일반적으로 나타낸다. 그러나, "리보뉴클레오타이드" 또는 "뉴클레오타이드"라는 용어는 하기에 더욱 상세된 바와 같이 변형 뉴클레오타이드, 또는 대리 대체 모이어티(surrogate replacement moiety)를 지칭할 수도 있다는 것을 알 것이다(예를 들어, 표 2 참조). 당업자는 구아닌, 시토신, 아데닌 및 우라실이 이러한 대체 모이어티를 보유하는 뉴클레오타이드를 포함하여, 올리고뉴클레오타이드의 염기 짝지움 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 발명에서 특성화된 dsRNA의 뉴클레오타이드 서열 내에서, 예를 들어, 이노신을 포함하는 뉴클레오타이드에 의해 대체될 수 있다. 다른 예에서, 올리고뉴클레오타이드의 어디에서든 아데닌 및 시토신이 각각 구아닌 및 우라실로 대체되어, 표적 mRNA와 G-U 위블(Wobble) 염기 짝지움을 형성할 수 있다. 이러한 대체 모이어티를 포함하는 서열은 본 발명에서 특성화된 조성물 및 방법에 적합하다.
- [0383] 본원에 교환가능하게 이용된 "iRNA", "RNAi 작용제", "iRNA 작용제", "RNA 간섭제"라는 용어는 상기 용어가 본원에 정의된 바와 같은 RNA를 포함하고, RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC) 경로를 통하여 RNA 전사물의 표적화된 절단을 매개하는 작용제를 지칭한다. iRNA는 RNA 간섭(RNAi)으로 알려진 공정을 통해 mRNA의 서열-특이적 분해를 지시한다. iRNA는 세포, 예컨대, 포유류 피검자와 같은 피검자 내의 세포 내에서 표적 유전자의 발현을 조절, 예컨대, 억제한다.
- [0384] 일 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA 서열, 예컨대, CFB, C3 및/또는 C9 표적 mRNA 서열과 상호작용하여, 표적 RNA의 절단을 지시하는 단일 가닥 RNA를 포함한다. 이론에 구속되지 않으면서, 세포로 도입된 긴 이중-가닥 RNA는 다이서(Dicer)(문헌[Sharp 등, (2001) Genes Dev. 15:485])로 알려진 III형 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해되는 것으로 여겨진다. 리보뉴클레아제-III-유사 효소인 다이서는 dsRNA를 특징적인 두 개 염기 3' 오버행들을 갖는 19개 내지 23개 염기쌍 단 간섭 RNA(short interfering RNA)로 가공한다(문헌[Bernstein 등, (2001) Nature 409:363]). 이후, siRNA는 RNA-유발성 침묵화 복합체(RISC) 내로 혼입되어, 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 결합 시, RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제는 표적을 절단시켜 침묵화를 유도한다(문헌[Elbashir 등, (2001) Genes Dev.15:188]). 따라서, 일 양태에서, 본 발명은 세포 내에 발생되고, 표적 유전자, 즉, CFB, C3 및/또는 C9 유전자의 침묵화를 유발하는 RISC 복합체의 형성을 촉진하는 단일 가닥 RNA(siRNA)에 관한 것이다. 따라서, "siRNA"라는 용어는 상술한 RNAi를 지칭하는 것으로 본원에서 이용되기도 한다.
- [0385] 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 표적 mRNA를 억제하기 위해 세포 또는 유기체로 도입되는 단일 가닥 siRNA일 수 있다. 단일 가닥 RNAi 작용제는 RISC 엔도뉴클레아제 아르곤오트(Argonaute) 2에 결합하며, 이는 이어서 표적 mRNA를 절단한다. 단일 가닥 siRNA는 일반적으로 15개 내지 30개 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 이용될 수 있다.
- [0386] 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, CFB, C3 및/또는 C9 유전자에 대하여 "센스" 및 "안티센스" 배향성을 갖는 것으로 지칭된, 2개의 역평행(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. 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, 데옥시리보뉴클레오타이드 및/또는 변형 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 게다가, 본 명세서에 이용된 바와 같이, "RNAi 작용제"는 화

학적 변형을 갖는 리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있으며; RNAi 작용제는 다수의 뉴클레오타이드에서 실질적인 변형을 포함할 수 있다.

[0387] 본원에 사용된 바와 같이, "변형된 뉴클레오타이드"라는 용어는 독립적으로, 변형된 당 모이어티, 변형된 뉴클레오타이드간 결합 및/또는 변형된 핵염기(nucleobase)를 가진 뉴클레오타이드를 지칭한다. 따라서, 변형된 뉴클레오타이드라는 용어는 뉴클레오타이드간 결합, 당 모이어티 또는 핵염기에 예를 들어 관능기 또는 원자를 치환, 첨가 또는 제거하는 것을 포함한다. 본 발명의 작용제에 이용하기에 적합한 변형은 본원에 개시되거나 당업계에 알려진 모든 유형의 변형들을 포함한다. siRNA 유형 분자에 이용되는 바와 같은 이러한 임의의 변형은 본 명세서 및 청구항의 목적을 위해 "RNAi 작용제"에 포함된다.

[0388] 듀플렉스 영역은 RISC 경로를 통한 요망되는 표적 RNA의 특이적인 분해를 가능하게 하는 임의의 길이의 것일 수 있으며, 길이가 약 9 내지 36개 염기쌍, 예를 들어, 길이가 약 15 내지 30개 염기쌍, 예를 들어, 길이가 약 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 또는 36개 염기쌍, 예를 들어, 길이가 약 15 내지 30개, 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개 또는 21 내지 22개 염기쌍의 범위일 수 있다. 상기 인용된 범위 및 길이의 중간에 존재하는 범위 및 길이도 본 발명의 일부인 것으로 사료된다.

[0389] 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 뉴클레오타이드의 비-단속(non-interrupted) 사슬에 의해 결합되는 경우에, 결합 RNA 사슬은 "헤어핀 루프"로 지칭된다. 헤어핀 루프는 적어도 하나의 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 일부 실시형태에서, 헤어핀 루프는 적어도 2개, 적어도 3개, 적어도 4개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 20개, 적어도 23개 또는 그 이상의 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0390] dsRNA의 2개의 실질적으로 상보적인 가닥이 개별 RNA 분자로 포함되는 경우, 그들 분자는 공유적으로 결합될 필요는 없지만, 공유적으로 결합될 수 있다. 두 개 가닥들이 듀플렉스 구조를 형성하는 하나의 가닥의 3'-말단 및 각각의 나머지 가닥의 5'-말단 사이의 뉴클레오타이드의 비-단속 사슬이 아닌 수단에 의해 공유적으로 결합되는 경우에, 결합 구조는 "링커"로 지칭된다. RNA 가닥들은 동일하거나 상이한 수의 뉴클레오타이드를 가질 수 있다. 염기 쌍의 최대수는 dsRNA의 최단 가닥에 존재하는 뉴클레오타이드의 수에서 듀플렉스에 존재하는 임의의 오버행들을 차감한 숫자이다. 듀플렉스 구조에 더하여, RNAi는 하나 이상의 뉴클레오타이드 오버행들을 포함할 수 있다.

[0391] 본원에 사용된 "뉴클레오타이드 오버행"은 iRNA, 예를 들어, dsRNA의 듀플렉스 구조로부터 돌출하는 적어도 하나의 쌍을 이루지 않은 뉴클레오타이드를 지칭한다. 예를 들어, dsRNA의 하나의 가닥의 3'-말단이 다른 가닥의 5'-말단을 넘어서 연장되거나, 그 반대인 경우, 뉴클레오타이드 오버행이 존재한다. dsRNA는 적어도 하나의 뉴클레오타이드로 된 오버행을 포함할 수 있으며; 대안적으로, 오버행은 적어도 2개의 뉴클레오타이드, 적어도 3개의 뉴클레오타이드, 적어도 4개의 뉴클레오타이드, 적어도 5개의 뉴클레오타이드 또는 그 이상을 포함할 수 있다. 뉴클레오타이드 오버행은 데옥시뉴클레오타이드/뉴클레오시드를 포함하는 뉴클레오타이드/뉴클레오시드 유사체를 포함하거나, 이로 이루어질 수 있다. 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들의 임의의 조합에 존재할 수 있다. 또한, 오버행의 뉴클레오타이드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥 중 어느 하나의 5'-말단, 3'-말단 또는 둘 모두의 말단에 존재할 수 있다.

[0392] 일 실시형태에서, dsRNA의 안티센스 가닥은 3'-말단 및/또는 5'-말단에서, 1 내지 10개의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오타이드 오버행을 가진다. 일 실시형태에서, dsRNA의 센스 가닥은 3'-말단 및/또는 5'-말단에서, 1 내지 10개의 뉴클레오타이드, 예를 들어, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오타이드 오버행을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 오버행 내의 뉴클레오타이드 중 하나 이상은 뉴클레오시드 티오포스페이트로 대체된다.

- [0393] "평활성" 또는 "평활성 말단인"은 이중-가닥 RNAi 작용제의 말단에서 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드가 없다. 즉, 뉴클레오티드 오버행이 없다는 것을 의미한다. "평활성 말단인" RNAi 작용제는 그의 전체 길이에 걸쳐 이중-가닥인, 즉, 분자의 어느 하나의 말단에 뉴클레오티드 오버행이 없는 dsRNA이다. 본 발명의 RNAi 작용제는 하나의 말단에 뉴클레오티드 오버행이 있거나(즉, 하나의 오버행 및 하나의 평활성 말단이 있는 작용제) 둘 모두의 말단에 뉴클레오티드 오버행이 있는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0394] "안티센스 가닥" 또는 "안내(guide) 가닥"이라는 용어는 표적 서열, 예를 들어, CFB, C3 및/또는 C9 mRNA에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA의 가닥, 예를 들어, dsRNA를 지칭한다. 본원에 사용된 "상보성 영역"이라는 용어는 서열, 예를 들어, 표적 서열, 예를 들어, 본원에 정의된 CFB, C3 및/또는 C9 뉴클레오티드 서열에 대하여 실질적으로 상보적인 안티센스 가닥 상의 영역을 지칭한다. 상보성 영역이 표적 서열에 대하여 완전히 상보적이지 않은 경우에, 미스매치들이 분자의 내부 또는 말단 영역에 존재할 수 있다. 일반적으로, 미스매치들은 말단 영역, 예를 들어, iRNA의 5'-말단 및/또는 3'-말단의 5, 4, 3 또는 2개 뉴클레오티드에서 대개 허용된다.
- [0395] 본원에 사용된, "센스 가닥" 또는 "승객(passenger) 가닥"이라는 용어는 용어가 본원에 정의된 바와 같은 안티센스 가닥의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 iRNA의 가닥을 지칭한다.
- [0396] 본원에 사용된 "절단 영역"이라는 용어는 절단 부위에 바로 인접하여 위치한 영역을 지칭한다. 절단 부위는 절단이 발생하는 표적상의 부위이다. 일부 실시형태들에 있어서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 하나의 말단에, 그리고 그에 바로 인접한 3개의 염기를 포함한다. 일부 실시형태에 있어서, 절단 영역은 절단 부위의 어느 하나의 말단에, 그리고 그에 바로 인접한 2개의 염기를 포함한다. 일부 실시형태들에 있어서, 절단 부위는 구체적으로 안티센스 가닥의 뉴클레오티드 10 및 11에 의해 결합된 부위에 존재하며, 절단 영역은 뉴클레오티드 11, 12 및 13을 포함한다.
- [0397] 본원에 사용되고 달리 지시되지 않으면, 제2 뉴클레오티드 서열과 관련하여 제1 뉴클레오티드 서열을 기술하는데 이용될 때 "상보적"이라는 용어는 당업자가 이해하는 바와 같이, 특정 조건 하에서 혼성화하여 상기 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드와 듀플렉스 구조를 형성하는 상기 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 능력을 지칭한다. 그러한 조건은 예를 들면, 가혹한 조건일 수 있는데, 가혹한 조건은 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 50 또는 70에서 12 내지 16시간 이후에 세척을 포함할 수 있다(예를 들어, 문헌["Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press] 참조). 유기체 내에서 직면할 수 있는 생리학적으로 적절한 조건과 같은 기타 조건이 적용될 수 있다. 당업자는 혼성화된 뉴클레오티드의 최종적인 적용에 따른 2개 서열들의 상보성의 시험에 대해 가장 적절한 조건들의 세트를 결정할 수 있을 것이다.
- [0398] iRNA, 예컨대, 본원에 기술된 바와 같이 dsRNA 내의 상보적 서열은 하나 또는 양쪽의 뉴클레오티드 서열들의 전체 길이에 걸쳐서 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드에 대한, 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 염기-짝지음을 포함한다. 그러한 서열은 본원에서 서로에 대하여 "완전 상보적(fully complementary)"이라고 지칭될 수 있다. 그러나, 제1 서열이 본원에서 제2 서열에 대하여 "실질적으로 상보적"으로 지칭되는 경우, 상기 두 서열들은 완전 상보적일 수 있거나, 이들의 최종적인 적용, 예컨대, RISC 경로를 통한 유전자 발현의 억제에 대하여 가장 적절한 조건하에서 혼성화할 수 있는 능력을 유지하면서, 혼성화 시 최대 30개 염기쌍의 듀플렉스에 대하여 그들은 하나 이상이나, 일반적으로 5, 4, 3 또는 2개 이하의 미스매치된 염기쌍을 형성할 수 있다. 그러나, 2개의 올리고뉴클레오티드가 혼성화 시에 하나 이상의 단일 가닥 오버행들을 형성하도록 설계되는 경우, 그러한 오버행들은 상보성의 결정에 대하여 미스매치로 간주되지 않는다. 예를 들면, 길이가 21개 뉴클레오티드인 하나의 올리고뉴클레오티드 및 길이가 23개 뉴클레오티드인 다른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 dsRNA는 길이가 더 긴 올리고뉴클레오티드가 길이가 더 짧은 올리고뉴클레오티드에 대하여 완전 상보적인 21개 뉴클레오티드로 된 서열을 포함하는 경우, 본원에 기술된 목적을 위해 "완전 상보적"으로도 지칭될 수 있다.
- [0399] 또한, 본원에 사용된 "상보적" 서열은 혼성화할 수 있는 능력에 대하여 상기 요구사항이 충족되는 한, 비-왓슨-크릭 염기쌍 및/또는 비-천연 및 변형 뉴클레오티드로부터 형성된 염기쌍을 포함하거나 전적으로 이들로부터 형성될 수도 있다. 그러한 비-왓슨-크릭 염기쌍은 G:U 위블 또는 후그스타인 염기 짝지음을 포함하지만, 이들에 한정되지 않는다.
- [0400] 본원에서 "상보적", "완전 상보적" 및 "실질적으로 상보적"이라는 용어들은 이들의 이용의 맥락에서 이해될 수 있는 바와 같이, dsRNA의 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이, 또는 iRNA 작용제의 안티센스 가닥과 표적 서열 사

이의 염기 매칭에 대하여 이용될 수 있다.

- [0401] 본원에 사용된 전령 RNA(mRNA)의 "적어도 일부에 실질적으로 상보적"인 폴리뉴클레오티드는 관심 대상의 mRNA (예컨대, CFB, C3 및/또는 C9를 인코딩하는 mRNA)의 연속 부분에 실질적으로 상보적인 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 예를 들면, 서열이 CFB를 인코딩하는 mRNA의 비-단속 부분에 실질적으로 상보적이라면, 폴리뉴클레오티드는 CFB mRNA의 적어도 일부분에 상보적이다.
- [0402] 일반적으로, 각각의 가닥의 뉴클레오티드의 대부분은 리보뉴클레오티드이지만, 본원에서 상세히 기술된 바와 같이, 각각의 가닥 또는 양 가닥들은 하나 이상의 비-리보뉴클레오티드, 예컨대, 테옥시리보뉴클레오티드 및/또는 변형 뉴클레오티드를 포함할 수도 있다. 또한, "iRNA"는 화학적 변형을 갖는 리보뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 그러한 변형은 본원에 개시되거나 당업계에 알려진 모든 유형의 변형을 포함할 수 있다. iRNA 분자에서 이용되는 바와 같이, 그러한 임의의 변형은 본 명세서 및 청구범위의 목적을 위한 "iRNA"에 포함된다.
- [0403] 본 발명의 일 양태에 있어서, 본 발명의 방법 및 조성물에 사용하기 위한 작용제는 안티센스 억제 메커니즘을 통해 표적 mRNA를 억제하는 단일-가닥 안티센스 RNA 분자이다. 단일-가닥 안티센스 RNA 분자는 표적 mRNA 내의 서열에 상보적이다. 단일-가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드는 mRNA로의 염기 짝지음 및 번역 기구의 물리적인 폐쇄에 의해, 화학양론 방식으로 번역을 억제할 수 있다. 문헌[Dias, N. 등, (2002) Mol. Cancer Ther. 1:347-355]를 참조한다. 단일-가닥 안티센스 RNA 분자는 길이가 약 15개 내지 약 30개 뉴클레오티드일 수 있으며, 표적 서열에 상보적인 서열을 가질 수 있다. 예를 들어, 단일-가닥 안티센스 RNA 분자는 본원에 기술된 안티센스 서열들 중 어느 하나로부터의 적어도 약 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 연속 뉴클레오티드인 서열을 포함할 수 있다.
- [0404] 본원에 사용된 바와 같이, dsRNA와 같은 "RNAi 작용제와 세포를 접촉시키는"이라는 어구는 임의의 가능한 수단에 의해 세포를 접촉시키는 것을 포함한다. 세포와 RNAi 작용제와의 접촉은, 세포를 시험관 내에서 iRNA와 접촉시키거나 세포를 생체 내에서 iRNA와 접촉시키는 것을 포함한다. 접촉은 직접 또는 간접적으로 수행될 수 있다. 따라서, 예를 들어, RNAi 작용제는 본 방법의 개별 수행에 의해 세포와 물리적으로 접촉될 수 있거나, 다른 예로, RNAi 작용제는 후속적으로 세포와 접촉하게 될 수 있거나 접촉하게 되는 상황에 놓일 수 있다.
- [0405] 시험관 내에서의 세포와의 접촉은 예를 들어, 세포를 RNAi 작용제와 함께 인큐베이션함으로써 수행될 수 있다. 생체 내에서의 세포와의 접촉은 예를 들어, RNAi 작용제를 세포가 위치하는 조직 내에 주입 또는 조직 부근에 주입함으로써 수행되거나, RNAi 작용제를 다른 영역, 예를 들어 혈류 또는 피하 공간에 주입하고, 후속해서 접촉되어야 하는 세포가 위치하는 조직에 이러한 작용제가 도달하게 함으로써 수행될 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는, RNAi 작용제를 관심 부위, 예를 들어 간으로 향하게 하는 리간드, 예컨대 GalNAc3를 포함하고/포함하거나 이에 커플링될 수 있다. 시험관 내 접촉 방법과 생체 내 접촉 방법의 조합 또한 가능하다. 예를 들어, 세포는 또한, 시험관 내에서 RNAi 작용제와 접촉된 다음, 피검자에게 이식될 수도 있다.
- [0406] 본원에 사용된 "피검자"는 영장류(예컨대, 인간 및 원숭이 및 침팬지와 같은 비-인간 영장류), 비-영장류(예컨대, 소, 돼지, 낙타, 라마, 말, 염소, 토끼, 양, 햄스터, 기니 피그, 고양이, 개, 생쥐, 마우스, 말 및 고래)를 포함하는 포유류 또는 조류(예컨대, 오리 또는 거위)와 같은 동물이다. 일 실시형태에 있어서, 피검자는 인간, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같이, C5 발현의 감소로 이득을 보게 되는, 질병, 장애 또는 질환(condition)에 대해 치료되거나 평가되는 인간; CFB, C3, 및/또는 C9 발현의 감소로 이득을 보게 되는, 질병, 장애 또는 질환에 대한 위험이 있는 인간; CFB, C3, 및/또는 C9 발현의 감소로 이득을 보게 되는, 질병, 장애 또는 질환을 갖는 인간; 및/또는 CFB, C3, 및/또는 C9 발현의 감소로 이득을 보게 되는, 질병, 장애 또는 질환에 대해 치료 중인 인간이다.
- [0407] 본원에 사용된 바와 같이, 용어 "보체 성분-관련 질병"은 보체 활성화에 의해 야기되거나 이와 관련된 질병 또는 장애이다. "보체 성분-관련 질병"이라는 용어는 CFB(즉, "CFB-관련 질병"), C3("C3-관련 질병") 및/또는 C9(즉, "C9-관련 질병")의 발현 감소로부터 이득을 보게 되는 질병, 장애 또는 질환을 포함한다. 이러한 질병은 전형적으로, 막 공격 복합체-매개 용해, 아나필락시스 및/또는 용혈과 같이 염증 및/또는 면역계 활성화와 관련 있다. 보체 성분-관련 질병의 비제한적인 예로는 발작성 야간혈색소뇨증(PNH), 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS), 천식, 류마티스 관절염(RA); 항인지질 항체 증후군; 루푸스 신장염; 허혈-재관류 손상; 전형적 또는 감염성 용혈성 요독 증후군(tHUS); 조밀 침착병(DDD); 시신경척수염(neuromyelitis optica; NMO); 다초점 운동 신경병증(MMN); 다발성 경화증(MS); 황반 변성(예를 들어, 연령-관련 황반 변성(AMD)); 용혈, 간 효소 상승 및 혈소판 감소(HELLP) 증후군; 혈전성 혈소판 감소 자반증(thrombotic thrombocytopenic purpura; TTP); 자연 유산; 파우시-면역 혈관염; 수포성 표피박리증(epidermolysis bullosa); 재발성 유산; 전자간증, 외상성 뇌 손상,

중증 근무력증, 한랭 응집소병, 피부근육염 수포성 유전포창, 시가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군, C3 신경병증, 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염(예를 들어, 다발혈관염을 동반한 육아종증(이전에 베게너육아종증으로 알려져 있음), 처르그 스트라우스 증후군 및 현미경적 다발성혈관염), 체액성 및 혈관적 이식 거부, 이식 기능 장애, 심근 경색(예를 들어, 심근 경색에서의 조직 손상 및 허혈증), 동종이계 이식, 패혈증(예를 들어, 패혈증에서의 불량한 결과), 관상동맥질환, 피부근육염, 그레이브스병, 죽상동맥경화증, 알츠하이머병, 전신 염증 반응 패혈증, 패혈쇼크, 척수 손상, 사구체신염, 하시모토 갑상선염, I형 당뇨병, 건선, 천포창, 자가면역 용혈성 빈혈(AIHA), ITP, 굿파스처 증후군, 데고스병, 항인지질 증후군(APS), 파국적 APS(CAPS), 심혈관 장애, 심근염, 뇌혈관 장애, 말초(예를 들어, 근골격) 혈관 장애, 신장혈관 장애, 장간막/장 혈관 장애, 혈관염, 헤노흐-헨라인 자반병성 신장염, 전신 홍반성 루푸스-관련 혈관염, 류마티스 관절염과 관련된 혈관염, 면역 복합체 혈관염, 다카야스병, 확장성 심근병증, 당뇨병성 혈관병증, 카와사키 병(동맥염), 정맥 기체 색전(VGE) 및 스텐트 삽입 후의 재협착증, 회전죽상반제술 및 경혈관 관상동맥 확장술(PTCA)을 포함한다(예를 들어, 문헌[Holers (2008) Immunological Reviews 223:300-316]; [Holers and Thurman (2004) Molecular Immunology 41:147-152]; 미국 특허 공개 제20070172483호 참조).

[0408] 일 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 발작성 야간혈색소뇨증(PNH)이다. PNH는 통상의 PNH, 또는 다른 골수부전 증후군 및/또는 골수형성이상 증후군(MDS), 예를 들어, 혈구감소증의 환경에서의 PNH일 수 있다. 다른 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)이다. 또 다른 실시형태에서, 보체 성분-관련 질병은 류마티스 관절염이다.

[0409] 본원에 사용된 바와 같이, "치료적 유효량"은 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자에게 투여되는 경우, (예를 들어, 기존 질병 또는 질병의 하나 이상의 증상을 감소시키거나, 개선하거나, 유지시킴으로써) 질병을 치료하는데 충분한, RNAi 작용제의 양을 포함하는 것이다. "치료적 유효량"은 RNAi 작용제 또는 항체 또는 그의 항원-결합 단편, 작용제의 투여 방법, 질병 및 이의 중증도, 및 치료받을 피검자의 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전적 구성, 선행 또는 동반 치료의 유형, 및 있다고 하면 기타 개인적 특성에 따라 달라질 수 있다.

[0410] 본원에 사용된 바와 같이, "예방적 유효량"은 보체 성분-관련 질병을 앓고 있으나, 질병의 증상을 아직(또는 현재) 경험하지 않거나 나타내지 않은 피검자 및/또는 보체 성분-관련 질병이 발병할 위험이 있는 피검자, 예를 들어, 이식편 및/또는 이식을 받은 피검자, 예를 들어, 감작된 수여자 또는 동종이계 수여자, 패혈증을 갖는 피검자 및/또는 심근 경색증을 갖는 피검자에게 투여되는 경우, 질병, 또는 질병의 하나 이상의 증상을 예방하거나 개선하는 데 충분한, iRNA 작용제의 양을 포함하는 것이다. 질병의 개선은 질병의 진행을 늦추거나 이후 발병하는 질병의 중증도를 감소시키는 것을 포함한다. "예방적 유효량"은 iRNA 작용제, 작용제의 투여 방법, 질병의 위험 정도, 및 치료받을 환자의 병력, 연령, 체중, 가족력, 유전적 구성, 선행 또는 동반 치료의 유형, 및 있다고 하면 기타 개인적 특성에 따라 달라질 수 있다.

[0411] "치료적 유효량" 또는 "예방적 유효량"은 또한, 임의의 치료에 적용될 수 있는 합당한 이득/위험율에서 일부 원하는 국소 또는 전신 효과를 발휘하는, RNAi 작용제의 양도 포함한다. 본 발명의 방법에 이용되는 iRNA 작용제는 이러한 치료에 적용될 수 있는 합당한 이득/위험율을 생성하는 데 충분한 양으로 투여될 수 있다.

[0412] 본원에 사용된 바와 같이, "시료"라는 용어는 피검자 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직뿐만 아니라 피검자로부터 분리된 유사한 유체, 세포 또는 조직의 집합을 포함한다. 생물학적 유체의 예로는 혈액, 혈청 및 장막 유체, 혈장, 소변, 림프, 뇌척수액, 안 유체, 타액 등을 포함한다. 조직 시료는 조직, 기관 또는 국소화된 영역으로부터의 시료를 포함할 수 있다. 예를 들어, 시료는 특정 기관, 기관의 부분 또는 이러한 기관 내의 유체 또는 세포로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태에서, 시료는 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, "피검자로부터 유래된 시료"는 피검자로부터 채혈한 혈액 또는 혈장을 지칭한다. 추가적인 실시형태에서, "피검자로부터 유래된 시료"는 피검자로부터 유래된 간 조직(또는 그의 하위성분)을 지칭한다.

[0413] II. 본 발명의 iRNA

[0414] 본 발명은 보체 성분 유전자의 발현을 억제하는 iRNA를 제공한다. 일 실시형태에서, iRNA 작용제는 세포, 예를 들어, 피검자, 예컨대, 포유류, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, PNH를 갖는 인간의 세포 내에서의 CFB 유전자 발현 억제용 이중-가닥 리보핵산(dsRNA) 분자를 포함한다. 다른 실시형태에서, iRNA 작용제는 세포, 예를 들어, 피검자, 예컨대, 포유류, 예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, PNH를 갖는 인간의 세포 내에서의 C3 유전자 발현 억제용 이중-가닥 리보핵산(dsRNA) 분자를 포함한다. 추가적인 실시형태에서, iRNA 작용제는 세포, 예를 들어, 피검자, 예컨대, 포유류,

예를 들어, 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, PNH를 갖는 인간의 세포 내에서의 C9 유전자 발현 억제용 이중-가닥 리보핵산(dsRNA) 분자를 포함한다. dsRNA는 표적 유전자, 즉 CFB 유전자, C3 유전자 또는 C9 유전자의 발현에서 형성되는 mRNA의 적어도 일부에 상보적인 상보성 영역을 가진 안티센스 가닥을 포함한다. 상보성 영역은 길이가 약 30개 이하의 뉴클레오티드(예컨대, 길이가 약 30개, 29개, 28개, 27개, 26개, 25개, 24개, 23개, 22개, 21개, 20개, 19개 또는 18개 이하의 뉴클레오티드)이다. 표적 유전자를 발현하는 세포와 접촉 시, iRNA는 예를 들어, PCR 또는 분지형 DNA(bDNA) 기반의 방법 또는 단백질 기반의 방법, 예컨대 웨스턴 블롯팅 또는 유세포측정 기법을 이용한 면역형광 분석에 의해 분석 시, 표적 유전자(예컨대, 인간, 영장류, 비-영장류 또는 조류 CFB, C3 또는 C9 유전자)의 발현을 적어도 약 10% 억제한다.

[0415] dsRNA는 상보적이며 dsRNA가 이용될 조건하에서 혼성화하여 듀플렉스 구조를 형성하는 2개의 RNA 가닥들을 포함한다. dsRNA의 한 가닥(안티센스 가닥)은 표적 서열에 대하여 실질적으로 상보적이고, 일반적으로 완전히 상보적인 상보성 영역을 포함한다. 표적 서열은 CFB, C3 또는 C9 유전자가 발현하는 동안에 형성된 mRNA의 서열로부터 유래될 수 있다. 다른 가닥(센스 가닥)은 안티센스 가닥에 상보적인 영역을 포함하여, 두 가닥들이 적절한 조건하에서 결합되는 경우 혼성화하고 듀플렉스 구조를 형성하도록 한다. 본원 어딘가에서 기술되고 당업계에 알려진 바와 같이, dsRNA의 상보성 서열은 개별 올리고뉴클레오티드 상에 있는 것과 대조적으로, 단일 핵산 분자의 자가-상보적 영역으로 포함될 수도 있다.

[0416] 일반적으로, 듀플렉스 구조는 길이가 15 내지 30개 염기쌍, 예컨대, 길이가 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개, 또는 21 내지 22개 염기쌍이다. 또한, 상기 인용된 범위 및 길이의 중간에 존재하는 범위 및 길이도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0417] 유사하게, 표적 서열에 대한 상보성 영역은 길이가 15 내지 30개 뉴클레오티드, 예를 들어, 길이가 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개 또는 21 내지 22개 뉴클레오티드이다. 또한, 상기 인용된 범위 및 길이의 중간에 존재하는 범위 및 길이도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0418] 일부 실시형태에서, dsRNA는 길이가 약 15 내지 약 20개 뉴클레오티드 또는 길이가 약 25 내지 약 30개 뉴클레오티드이다. 일 실시형태에서, 본 발명의 RNAi 작용제는 표적 RNA의 절단을 유발하기 위해 표적 RNA 서열, 즉 CFB, C3 또는 C9 표적 mRNA 서열과 상호작용하는 24 내지 30개 뉴클레오티드로 된 dsRNA이다. 일반적으로, dsRNA는 다이스(Dicer) 효소에 대한 기질로서 작용하기에 충분히 길다. 예를 들어, 길이가 약 21 내지 23개 초과 뉴클레오티드인 dsRNA가 다이스에 대한 기질로서 작용할 수 있다는 것은 당업계에 널리 알려져 있다. 당업자도 인식하는 바와 같이, 절단을 위해 표적화된 RNA의 영역은 가장 흔하게는 더 큰 RNA 분자, 흔하게는 mRNA 분자의 일부일 것이다. 적절한 경우에 있어서, mRNA 표적의 "일부"는 RNAi-유발성 절단(즉, RISC 경로를 통한 절단)에 대한 기질이 되도록 하는 충분한 길이의 mRNA 표적의 연속 서열이다.

[0419] 또한, 당업자는 듀플렉스 영역, 예를 들어, 약 9 내지 36개 염기쌍, 예를 들어, 약 10 내지 36개, 11 내지 36개, 12 내지 36개, 13 내지 36개, 14 내지 36개, 15 내지 36개, 9 내지 35개, 10 내지 35개, 11 내지 35개, 12 내지 35개, 13 내지 35개, 14 내지 35개, 15 내지 35개, 9 내지 34개, 10 내지 34개, 11 내지 34개, 12 내지 34개, 13 내지 34개, 14 내지 34개, 15 내지 34개, 9 내지 33개, 10 내지 33개, 11 내지 33개, 12 내지 33개, 13 내지 33개, 14 내지 33개, 15 내지 33개, 9 내지 32개, 10 내지 32개, 11 내지 32개, 12 내지 32개, 13 내지 32개, 14 내지 32개, 15 내지 32개, 9 내지 31개, 10 내지 31개, 11 내지 31개, 12 내지 31개, 13 내지

32개, 14 내지 31개, 15 내지 31개, 15 내지 30개, 15 내지 29개, 15 내지 28개, 15 내지 27개, 15 내지 26개, 15 내지 25개, 15 내지 24개, 15 내지 23개, 15 내지 22개, 15 내지 21개, 15 내지 20개, 15 내지 19개, 15 내지 18개, 15 내지 17개, 18 내지 30개, 18 내지 29개, 18 내지 28개, 18 내지 27개, 18 내지 26개, 18 내지 25개, 18 내지 24개, 18 내지 23개, 18 내지 22개, 18 내지 21개, 18 내지 20개, 19 내지 30개, 19 내지 29개, 19 내지 28개, 19 내지 27개, 19 내지 26개, 19 내지 25개, 19 내지 24개, 19 내지 23개, 19 내지 22개, 19 내지 21개, 19 내지 20개, 20 내지 30개, 20 내지 29개, 20 내지 28개, 20 내지 27개, 20 내지 26개, 20 내지 25개, 20 내지 24개, 20 내지 23개, 20 내지 22개, 20 내지 21개, 21 내지 30개, 21 내지 29개, 21 내지 28개, 21 내지 27개, 21 내지 26개, 21 내지 25개, 21 내지 24개, 21 내지 23개 또는 21 내지 22개 염기쌍의 듀플렉스 영역이 dsRNA의 주요 기능 부분임을 인식할 것이다. 따라서, 일 실시형태에서, 절단에 대해 요망되는 RNA를 표적으로 하는 예컨대, 15 내지 30개 염기쌍의 기능적 듀플렉스로 처리되는 한, 30개 초과 염기쌍의 듀플렉스 영역을 갖는 RNA 분자 또는 RNA 분자들의 복합체는 dsRNA이다. 따라서, 당업자는 일 실시형태에 있어서, miRNA가 dsRNA이라는 것을 인식할 것이다. 다른 실시형태에 있어서, dsRNA는 천연 발생 miRNA가 아니다. 다른 실시형태에 있어서, CFB, C3 및/또는 C9 발현을 표적으로 하는 데 유용한 iRNA 작용제는 더 큰 dsRNA의 절단에 의해 표적 세포 내에서 생성되지 않는다.

[0420] 본원에 기술된 dsRNA는 하나 이상의 단일-가닥 뉴클레오타이드 오버행들, 예컨대, 1, 2, 3 또는 4개 뉴클레오타이드를 추가로 포함할 수 있다. 적어도 하나의 뉴클레오타이드 오버행을 갖는 dsRNA는 그들의 평활성 말단인 대응부에 대하여 예상치 못하게 뛰어난 억제 특성을 가질 수 있다. 뉴클레오타이드 오버행은 데옥시뉴클레오타이드/뉴클레오타이드를 포함하는 뉴클레오타이드/뉴클레오타이드 유사체를 포함하거나 이로 이루어질 수 있다. 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들의 임의의 조합에 있을 수 있다. 또한, 오버행의 뉴클레오타이드(들)는 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥의 5'-말단, 3'-말단 또는 두 말단 모두에 존재할 수 있다.

[0421] dsRNA는 하기에 더 서술된 바와 같이, 예를 들어, Biosearch, Applied Biosystems, Inc.로부터 상업적으로 이용가능한 바와 같이, 예컨대, 자동화된 DNA 합성기를 이용함으로써 당업계에 알려진 표준 방법에 의하여 합성될 수 있다.

[0422] 본 발명의 iRNA 화합물은 2-단계 과정을 이용하여 제조될 수 있다. 우선, 이중-가닥 RNA 분자의 개별 가닥들은 별개로 제조된다. 이후, 성분 가닥들은 어닐링된다. siRNA 화합물의 개별 가닥들은 용액상 또는 고체상 유기 합성 또는 양쪽 모두를 이용하여 제조될 수 있다. 유기 합성은 비천연 뉴클레오타이드 또는 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 가닥들이 용이하게 제조될 수 있다는 장점을 제공한다. 본 발명의 단일-가닥 올리고뉴클레오타이드는 용액상 또는 고체상 유기 합성 또는 양쪽 모두를 이용하여 제조될 수 있다.

[0423] 일 양태에서, 본 발명의 dsRNA는 적어도 2개의 뉴클레오타이드 서열들, 센스 서열 및 안티-센스 서열을 포함한다.

[0424] 일 실시형태에서, CFB를 표적으로 하는 본 발명의 dsRNA는 표 3 및 표 4 중 임의의 하나에 제공된 서열들의 군으로부터 선택되는 센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥은 표 3 및 표 4 중 임의의 하나의 서열들의 군으로부터 선택된다. 이러한 양태에 있어서, 2개 서열들 중 하나는 2개 서열들 중 다른 하나에 상보적이며, 서열들 중 하나는 CFB 유전자의 발현에서 생성된 mRNA의 서열에 실질적으로 상보적이다. 이와 같이, 이러한 양태에서, dsRNA는 2개 올리고뉴클레오타이드를 포함할 것이며, 여기서 하나의 올리고뉴클레오타이드는 표 3 및 표 4 중 어느 하나에서의 센스 가닥으로 기술되고, 제2 올리고뉴클레오타이드는 표 3 및 표 4 중 어느 하나에서의 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥으로 기술된다. 일 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 개별 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다. 다른 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 단일 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다.

[0425] 일 실시형태에서, C3를 표적으로 하는 본 발명의 dsRNA는 표 5 및 표 6 중 어느 하나에 제공된 서열들의 군으로부터 선택되는 센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥은 표 5 및 표 6 중 어느 하나의 서열들의 군으로부터 선택된다. 이러한 양태에서, 2개 서열들 중 하나는 2개 서열들 중 다른 하나에 상보적이며, 서열들 중 하나는 C3 유전자의 발현에서 생성된 mRNA의 서열에 실질적으로 상보적이다. 이와 같이, 이러한 양태에서, dsRNA는 2개 올리고뉴클레오타이드를 포함할 것이며, 여기서 하나의 올리고뉴클레오타이드는 표 5 및 표 6 중 어느 하나에서의 센스 가닥으로 기술되고, 제2 올리고뉴클레오타이드는 표 5 및 표 6 중 어느 하나에서의 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥으로 기술된다. 일 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 개별 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다. 다른 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 단일 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다.

[0426] 일 실시형태에서, C9를 표적으로 하는 본 발명의 dsRNA는 표 7 및 표 8 중 어느 하나에 제공된 서열들의 군으로

부터 선택되는 센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥은 표 7 및 표 8 중 어느 하나의 서열들의 군으로부터 선택된다. 이러한 양태에서, 2개 서열들 중 하나는 2개 서열들 중 다른 하나에 상보적이며, 서열들 중 하나는 C9 유전자의 발현에서 생성된 mRNA의 서열에 실질적으로 상보적이다. 이와 같이, 이러한 양태에서, dsRNA는 2개 올리고뉴클레오타이드를 포함할 것이며, 여기서 하나의 올리고뉴클레오타이드는 표 7 및 표 8 중 어느 하나에서의 센스 가닥으로 기술되고, 제2 올리고뉴클레오타이드는 표 7 및 표 8 중 어느 하나에서의 센스 가닥의 상응하는 안티센스 가닥으로 기술된다. 일 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 개별 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다. 다른 실시형태에서, dsRNA의 실질적으로 상보적인 서열들은 단일 올리고뉴클레오타이드 상에 포함된다.

[0427] 표 3 내지 표 8에서 서열의 일부가 변형된 서열 및/또는 컨주게이트된 서열로 기술되어 있지만, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예를 들어, 본 발명의 dsRNA가 비변형된, 비-컨주게이트된 및/또는 거기에 기술된 것과 상이하게 변형된 및/또는 컨주게이트된 표 3 내지 표 8에 기재된 서열 중 어느 하나를 포함할 수 있음이 이해될 것이다.

[0428] 당업자는 약 20 내지 23개 염기쌍, 예컨대, 21개 염기쌍의 듀플렉스 구조를 갖는 dsRNA는 RNA 간섭을 유도하는데 특히 효과적인 것으로 인정되는 것을 충분히 알고 있다(Elbashir 등, EMBO 2001, 20:6877-6888). 그러나, 다른 이들은 더 짧거나 더 긴 RNA 듀플렉스 구조도 효과적일 수 있다는 것을 알아냈다(Chu and Rana (2007) RNA 14:1714-1719; Kim 등 (2005) Nat Biotech 23:222-226). 상술된 실시형태들에 있어서, 표 3 내지 표 8 중 어느 하나에 제공된 올리고뉴클레오타이드 서열들의 성질을 이용하여, 본원에 기술된 dsRNA는 최소 21개 뉴클레오타이드의 길이인 적어도 하나의 가닥을 포함할 수 있다. 표 3 내지 표 8 중 어느 하나의 서열들 중 하나에서 하나 또는 양 말단에서 소수의 뉴클레오타이드만을 제한 서열을 갖는 더 짧은 듀플렉스들은 상술한 dsRNA와 비교하여 유사하게 효과적일 수 있다고 합리적으로 예상할 수 있다. 따라서, 표 3 내지 표 8 중 어느 하나의 서열 중 어느 하나로부터 유래된 적어도 15, 16, 17, 18, 19, 20개 이상의 연속 뉴클레오타이드의 서열을 가지며, 표적 유전자의 발현을 억제하는 능력에 있어서 전체 서열을 포함하는 dsRNA와는 억제가 약 5, 10, 15, 20, 25 또는 30% 이하만큼 상이한 dsRNA가 본 발명의 범위 내인 것으로 고려된다.

[0429] 또한, 표 3 및 표 4 중 어느 하나에 제공된 RNA는 RISC-매개 절단에 취약한 CFB 전사물 내의 부위(들)를 동정한다. 유사하게는, 표 5 및 표 6 중 어느 하나에 제공된 RNA는 RISC-매개 절단에 취약한 C3 전사물 내의 부위(들)를 동정하고, 표 7 및 표 8 중 어느 하나에 제공된 RNA는 RISC-매개 절단에 취약한 C9 전사물 내의 부위(들)를 동정한다. 이와 같이, 본 발명은 이들 부위 중 하나의 부위 내를 표적으로 하는 iRNA를 추가로 특징짓는다. 본원에 사용된 바와 같이, iRNA는, iRNA가 해당 특정 부위 내의 임의의 장소에서 전사물의 절단을 촉진한다면, RNA 전사물의 특정 부위 내를 표적으로 한다고 한다. 이러한 iRNA는 일반적으로, 표적 유전자에서 선택된 서열에 연속적인 영역으로부터 취한 추가의 뉴클레오타이드 서열에 커플링된, 표 3 내지 표 8 중 어느 하나에 제공된 서열 중 어느 하나로부터 적어도 약 15개의 연속 뉴클레오타이드를 포함할 것이다.

[0430] 표적 서열이 일반적으로 길이가 약 15 내지 30개 뉴클레오타이드인 반면에, 임의의 주어진 표적 RNA의 절단을 유도하기 위하여, 이러한 범위에 있는 특정 서열들의 적합성에 있어서는 광범위한 변이가 있다. 본원에 제시된 다양한 소프트웨어 패키지 및 지침은 임의의 주어진 유전자 표적에 대한 최적의 표적 서열들의 동정에 대한 지침을 제공하지만, 주어진 크기(비한정 예로서, 21개 뉴클레오타이드)의 "윈도우" 또는 "마스크"가 표적 서열들로 작용할 수 있는 크기 범위에서 서열들을 동정하기 위한 표적 RNA 서열상에 문자 그대로 또는 비유적으로(예컨대, 컴퓨터 내(in silico) 포함) 놓이게 되는 실험적인 접근법도 취할 수 있다. "윈도우" 서열을 최초 표적 서열 위치의 하나의 뉴클레오타이드 상류 또는 하류로 점진적으로 이동시킴으로써, 다음의 잠재적인 표적 서열은 가능한 서열들의 완전한 세트가 선택된 임의의 주어진 표적 크기에 대하여 동정될 때까지 동정될 수 있다. (본원에 기술되거나 당업계에 알려진 분석법을 이용하여) 동정된 서열들의 체계적인 합성 및 시험과 결합되어 최적으로 수행하는 이러한 서열들을 동정하는 이러한 공정은 iRNA 작용제를 이용하여 표적화되는 경우, 표적 유전자 발현의 최적의 억제를 매개하는 이러한 RNA 서열들을 동정할 수 있다. 따라서, 예를 들어, 표 3 내지 표 8 중 어느 하나에서 동정된 서열들이 효과적인 표적 서열들을 나타내는 반면에, 억제 효율의 추가의 최적화는 주어진 서열들의 하나의 뉴클레오타이드 상류 또는 하류로 점진적으로 "윈도우를 보행"하여 동일하거나 더 나은 억제 특징들을 갖는 서열들을 동정함으로써 달성될 수 있다는 것이 고려된다.

[0431] 또한, 예컨대, 표 3 내지 표 8 중 어느 하나에서 동정된 임의의 서열에 대하여, 추가의 최적화가 뉴클레오타이드를 체계적으로 더하거나 제거하여 더 길거나 더 짧은 서열들을 발생시키고 그 지점으로부터 표적 RNA의 상향 또는 하향으로 크기가 더 길거나 더 짧은 윈도우를 보행함으로써 생성된 이러한 서열들을 시험함으로써 달성될 수 있다는 것이 고려된다. 또한, 신규한 후보 표적을 생성하기 위한 이러한 접근법을 당업계에 알려지고/지거나 본원에 기술된 바와 같은 억제 분석법에서의 이러한 표적 서열들에 기초한 iRNA의 유효성에 대한 시험과

결합하면, 억제제의 효율에 있어서 추가의 개선으로 이어질 수 있다. 또한, 그러한 최적화된 서열들은 예컨대, 본원에 기술되거나 당업계에 알려진 바와 같이 변형 뉴클레오타이드의 도입, 오버행에 있어서 추가 또는 변경, 또는 당업계에 알려지고/지거나 본원에 기술된 바와 같은 다른 변형에 의해, 발현 억제제로서 분자를 추가로 최적화 시킴으로써(예컨대, 혈청 안정성 또는 순환 반감기의 증가, 열 안정성의 증가, 막횡단 전달의 향상, 특정 위치 또는 세포 유형으로의 표적화, 침묵화 경로 효소와의 상호작용의 증가, 엔도솜으로부터의 방출의 증가에 의해) 조정될 수 있다.

[0432] 본원에 기술된 iRNA는 표적 서열에 대한 하나 이상의 미스매치들을 포함할 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 본원에 기술된 iRNA는 3개 이하의 미스매치들을 포함한다. iRNA의 안티센스 가닥이 표적 서열에 대한 미스매치들을 포함한다면, 미스매치의 영역은 상보성 영역의 중심에 위치되지 않는 것이 바람직하다. iRNA의 안티센스 가닥이 표적 서열에 대한 미스매치들을 포함한다면, 미스매치는 상보성 영역의 5'- 또는 3'-말단으로부터 마지막 5개의 뉴클레오타이드 이내로 한정되는 것이 바람직하다. 예를 들어, 23개 뉴클레오타이드 iRNA 작용제에 대하여, 예를 들어 CFB 유전자의 영역에 대하여 상보적인 가닥은 일반적으로 중심 13개 뉴클레오타이드 내에 임의의 미스매치를 포함하지 않는다. 본원에 기술된 방법 또는 당업계에 알려진 방법은, 표적 서열에 대한 미스매치를 포함하는 iRNA가 표적 유전자, 예를 들어 CFB, C3 또는 C9 유전자의 발현을 억제하는데 효과적인지의 여부를 결정하는데 이용될 수 있다. 표적 유전자의 발현을 억제하는데 있어서 미스매치들을 갖는 iRNA의 효능을 고려하는 것은 특히, 표적 유전자에서 상보성의 특정 영역이 개체군 내에서 다형성 서열 변이를 갖는 것으로 알려져 있으면, 중요하다.

[0433] III. 본 발명의 변형된 iRNA

[0434] 일 실시형태에서, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예컨대, dsRNA는 변형되지 않으며, 예를 들어, 당업계에 알려져 있고 본원에 기술된 화학적 변형 및/또는 컨쥬게이션을 포함하지 않는다. 다른 실시형태에서, 본 발명의 iRNA의 RNA, 예를 들어, dsRNA는 화학적으로 변형되어 안정성 또는 기타 유익한 특징들을 향상시킨다. 본 발명의 특정 실시형태에서, 본 발명의 iRNA의 실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형된다. 본 발명의 다른 실시형태에서, 본 발명의 iRNA의 모든 뉴클레오타이드가 변형된다. "실질적으로 모든 뉴클레오타이드가 변형되는" 본 발명의 iRNA는 대부분 변형되지만, 완전히 변형되지 않으며, 5, 4, 3, 2 또는 1개 이하의 비변형 뉴클레오타이드를 포함할 수 있다.

[0435] 본 발명에서 특성화된 핵산들은 본원에 참조로서 포함되어 있는 문헌["Current protocols in nucleic acid chemistry," Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA]에 기술된 방법들과 같이 당업계에 널리 확립된 방법에 의해 합성되고/되거나 변형될 수 있다. 변형은 예를 들면, 말단 변형, 예컨대, 5'-말단 변형(인산화, 컨쥬게이션, 역위 결합) 또는 3'-말단 변형(컨쥬게이션, DNA 뉴클레오타이드, 역위 결합 등); 염기 변형, 예컨대, 안정화 염기, 불안정화 염기 또는 파트너들의 연장된 레퍼토리와 염기 쌍을 이루는 염기로의 대체, 염기의 제거(무염기 뉴클레오타이드), 또는 컨쥬게이트된 염기; 당 변형(예를 들어, 2'-위치 또는 4'-위치에서) 또는 당의 대체; 및/또는 포스포디에스테르 결합의 변형 또는 대체를 포함하는 골격 변형을 포함한다. 본원에 기술된 실시형태들에서 유용한 iRNA 화합물들의 구체적인 예는 변형된 골격들 또는 비천연 뉴클레오시드간 결합들을 포함하는 RNA를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 변형된 골격을 갖는 RNA는 다른 RNA들 중에서, 골격 내에 인 원자를 갖지 않는 것들을 포함한다. 이 명세서의 목적을 위하여, 그리고 때때로 당업계에서 참고되는 바와 같이, 그들 뉴클레오시드간 골격 내에 인 원자를 갖지 않는 변형된 RNA도 올리고뉴클레오시드인 것으로 고려될 수 있다. 일부 실시형태들에 있어서, 변형된 iRNA는 그의 뉴클레오시드간 골격 내에 인 원자를 가질 것이다.

[0436] 변형 RNA 골격은 예를 들면, 포스포로티오에이트, 카이랄 포스포로티오에이트, 포스포로디티오에이트, 포스포트리에스테르, 아미노알킬포스포트리에스테르, 3'-알킬렌 포스포네이트 및 카이랄 포스포네이트를 포함하는 메틸 및 기타 알킬 포스포네이트, 포스포네이트, 3'-아미노 포스포르아미데이트 및 아미노알킬포스포아미데이트를 포함하는 포스포르아미데이트, 티오노포스포르아미데이트, 티오노알킬포스포네이트, 티오노알킬포스포트리에스테르 및 보통의 3'-5' 결합, 이들의 2'-5' 결합된 유사체 및 반전된 극성을 갖는 것들을 갖는 보라노포스페이트를 포함하며, 뉴클레오시드 단위의 인접 쌍은 3'-5' 내지 5'-3' 또는 2'-5' 내지 5'-2' 결합된다. 다양한 염, 혼합된 염 및 유리 산 형태들도 포함된다.

[0437] 상기 인-함유 결합의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 각각 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 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; 미국 특허 제RE39464호를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0438] 그 안에 인 원자를 포함하지 않는 변형 RNA 골격은 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오시드간 결합, 혼합된 헤테로원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 뉴클레오시드간 결합 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로원자 또는 헤테로사이클릭 뉴클레오시드간 결합에 의해 형성된 골격을 가진다. 이들은 (부분적으로는 뉴클레오시드의 당 부분으로부터 형성된) 모르폴리노 결합; 실록산 골격; 설파이드, 설파사이드 및 설펜 골격; 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격; 알켄 함유 골격; 설파메이트 골격; 메틸렌아미노 및 메틸렌하이드라지노 골격; 설포네이트 및 설펜아미드 골격; 아미드 골격; 및 혼합된 N, O, S 및 CH₂ 구성 부분을 갖는 다른 것들을 갖는 것들을 포함한다.

[0439] 상기 올리고뉴클레오시드의 제조를 교시하는 대표적인 미국 특허는 각각의 전체 내용이 본 명세서에 참조로 포함되는 미국 특허 제5,034,506호; 5,166,315호; 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; 제5,677,439호를 포함하나 이들에 한정되지 않는다.

[0440] 다른 실시형태들에 있어서, 적당한 RNA 모방체는 뉴클레오타이드 단위의 당 및 뉴클레오시드간 결합, 즉, 골격이 신규한 기로 대체되는 iRNA에서 사용되는 것이 고려된다. 염기 단위는 적절한 핵산 표적 화합물과의 혼성화를 위해 유지된다. 하나의 그러한 올리고머 화합물, 우수한 혼성화 특성을 갖는 것으로 밝혀진 RNA 모방체는 펩티드 핵산(PNA)이라고 한다. PNA 화합물에 있어서, RNA의 당 골격은 아미드 포함 골격, 특히 아미노에틸글리신 골격으로 대체된다. 뉴클레오타이드는 유지되며 골격의 아미드 부분의 아자 질소 원자에 직접 또는 간접적으로 결합된다. PNA 화합물의 작용제를 교시하는 대표적인 미국 특허들은 그 각각의 전체 내용이 본원에 참조로 포함된 미국 특허 제5,539,082호; 제5,714,331호; 및 제5,719,262호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 본 발명의 iRNA에 사용하기에 적당한 추가적인 PNA 화합물은 예를 들면, 문헌[Nielsen 등, Science, 1991, 254, 1497-1500]에 기술되어 있다.

[0441] 본 발명에서 특성화된 일부 실시형태들은 포스포로티오에이트 골격을 갖는 RNA들 및 헤테로원자 골격, 특히, 상기 참조된 미국 특허 제5,489,677호의 --CH₂--NH--CH₂--, [메틸렌 (메틸아미노) 또는 MMI 골격으로 알려진] --CH₂--N(CH₃)--O--CH₂--, --CH₂--O--N(CH₃)--CH₂--, --CH₂--N(CH₃)--N(CH₃)--CH₂-- 및 --N(CH₃)--CH₂--CH₂-- [여기서, 고유 포스포디에스테르 골격은 --O--P--O--CH₂--로 표시됨] 및 상기 참조된 미국 특허 제5,602,240호의 아미드 골격을 갖는 올리고뉴클레오시드를 포함한다. 일부 실시형태들에 있어서, 본원에서 특성화된 RNA는 상기 참조된 미국 특허 제5,034,506호의 모르폴리노 골격 구조를 가진다.

[0442] 변형 RNA는 하나 이상의 치환된 당 모이어티들을 포함할 수도 있다. 본원에서 특성화된 iRNA, 예컨대, dsRNA는 2'-위치에서 OH; F; O-, S-, 또는 N-알킬; O-, S-, 또는 N-알케닐; O-, S- 또는 N-알킬닐; 또는 O-알킬-O-알킬 중 하나를 포함할 수 있으며, 여기서, 알킬, 알케닐 및 알킬닐은 치환 또는 비치환 C₁ 내지 C₁₀ 알킬 또는 C₂ 내지 C₁₀ 알케닐 및 알킬닐일 수 있다. 예시적인 적당한 변형은 O[(CH₂)_nO]_mCH₃, O(CH₂)_nOCH₃, O(CH₂)_nNH₂, O(CH₂)_nCH₃, O(CH₂)_nONH₂, 및 O(CH₂)_nON[(CH₂)_nCH₃]₂을 포함하고, 여기서, n 및 m은 1 내지 약 10이다. 다른 실시형태들에 있어서, dsRNA는 2' 위치에서 다음 중 하나를 포함한다: 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 절단기 (cleaving group), 리포터 기, 인터칼레이터, iRNA의 약동학적 특성을 개선하기 위한 기 또는 iRNA의 약력학적 특성을 개선하기 위한 기 및 유사한 특성을 갖는 기타 치환기. 일부 실시형태에서, 변형은 2'-메톡시에톡시 (2'-O-(2-메톡시에틸) 또는 2'-MOE로도 알려진 2'-O--CH₂CH₂OCH₃) (Martin 등, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504) 즉, 알콕시-알콕시기를 포함한다. 다른 예시적인 변형은 본원에서 하기 실시예에 기술된 바와 같이,

2'-디메틸아미노옥시에톡시, 즉, 2'-DMAOE로도 알려진 $O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 기, 및 2'-디메틸아미노에톡시에톡시(당 업계에서 2'-O-디메틸아미노에톡시에틸 또는 2'-DMAEOE로도 알려짐), 즉, 2'-O--CH₂--O--CH₂--N(CH₂)₂이다.

[0443] 기타 변형은 2'-메톡시(2'-OCH₃), 2'-아미노프로폭시(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂) 및 2'-플루오로(2'-F)를 포함한다. iRNA의 RNA상의 기타 위치들, 특히, 3' 말단 뉴클레오타이드 상 또는 2'-5' 결합된 dsRNA에서 당의 3' 위치 및 5' 말단 뉴클레오타이드의 5' 위치에서도 유사한 변형이 이루어질 수 있다. iRNA는 펜토피라노실 당을 대신하여 사이클로부틸 모이어티들과 같은 당 모방체를 가질 수도 있다. 그러한 변형 당 구조의 작용제를 교시하는 대표적인 미국 특허들은 그중 일부가 당해 출원과 공유되어 있는 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 5,700,920호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 상기 특허들의 각각의 전체 내용은 본원에 참조로 포함된다.

[0444] iRNA는 (당업계에서 단순히 "염기"로 자주 지칭되는) 뉴클레오염기 변형 또는 치환을 포함할 수도 있다. 본원에 사용된 "비변형" 또는 "천연" 뉴클레오염기는 퓨린 염기 아데닌(A) 및 구아닌(G) 및 피리미딘 염기 티민(T), 시토신(C) 및 우라실(U)을 포함한다. 변형 뉴클레오염기는 테옥시-티민(dT), 5-메틸시토신(5-me-C), 5-히드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-메틸 및 기타 알킬 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-프로필 및 기타 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오티민 및 2-티오시토신, 5-할로우라실 및 시토신, 5-프로필우라실 및 시토신, 6-아조 우라실, 시토신 및 티민, 5-우라실(슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-티올, 8-티오알킬, 8-히드록실 및 기타 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로, 특히, 5-브로모, 5-트리플루오로메틸 및 기타 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-테아자구아닌 및 7-테아자아데닌, 및 3-테아자구아닌 및 3-테아자아데닌과 같은 기타 합성 및 천연 뉴클레오염기를 포함한다. 다른 뉴클레오염기는 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. 및 Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993]에 개시된 것들을 포함한다. 이들 뉴클레오염기들 중 특정한 것들은 본 발명에서 특성화된 올리고머 화합물의 결합 친화성을 증가시키는 데 특히 유용하다. 이들은 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로필우라실 및 5-프로필시토신을 포함하는 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린을 포함한다. 5-메틸시토신 치환으로 인해 핵산 듀플렉스 안정성이 0.6 내지 1.2 정도 증가하는 것으로 밝혀져 있으며([Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. 및 Lebleu, B., Eds., DsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278), 더욱 특히, 2'-O-메톡시에틸 당 변형과 조합되는 경우의 예시적인 염기 치환이다.

[0445] 상기 언급된 특정 변형 뉴클레오염기 및 기타 변형 뉴클레오염기의 작용제를 교시하는 대표적인 미국 특허는 각각의 전체 내용이 본원에 참조로 포함된 상기 표시된 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; 제5,594,121호; 제5,596,091호; 제5,614,617호; 제5,681,941호; 제5,750,692호; 제6,015,886호; 제6,147,200호; 제6,166,197호; 제6,222,025호; 제6,235,887호; 제6,380,368호; 제6,528,640호; 제6,639,062호; 제6,617,438호; 제7,045,610호; 제7,427,672호; 및 제7,495,088호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0446] iRNA의 RNA는 또한, 하나 이상의 이환식 당 모이어티를 포함하도록 변형될 수 있다. "이환식 당(bicyclic sugar)"은 2개의 원자들의 가교에 의해 변형된 푸라노실 고리이다. "이환식 뉴클레오시드"("BNA")는 당 고리의 2개의 탄소 원자들을 결합하는 가교를 포함함으로써 이환식 고리 시스템을 형성하는 당 모이어티를 가진 뉴클레오시드이다. 특정 실시형태에서, 가교는 당 고리의 4'-탄소와 2'-고리를 결합한다. 따라서, 일부 실시형태에서, 본 발명의 작용제는 하나 이상의 잠금 핵산(LNA)을 포함할 수 있다. 잠금 핵산은, 리보스 모이어티가 2' 탄소와 4' 탄소를 결합하는 엑스트라 가교(extra bridge)를 포함하는, 변형된 리보스 모이어티를 가진 뉴클레오타이드이다. 즉, LNA는 4'-CH₂-O-2' 가교를 포함하는 이환식 당 모이어티를 포함하는 뉴클레오타이드이다. 이러한 구조는 리보스를 3'-엔도 구조 배열에 효과적으로 "잠근다". 잠금 핵산을 siRNA에 첨가하면, 혈청에서 siRNA의 안정성을 증가시키고, 오프-표적(off-target) 효과를 감소시키는 것으로 나타났다(Elmen, J. et al., (2005) *Nucleic*

Acids Research 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193). 본 발명의 폴리뉴클레오티드에 이용하기 위한 이환식 뉴클레오시드의 예로는 비제한적으로, 4' 리보실 고리 원자와 2' 리보실 고리 원자 사이에 가교를 포함하는 뉴클레오시드를 포함한다. 특정 실시형태에서, 본 발명의 안티센스 폴리뉴클레오티드 작용제는 4'에서 2'로의 가교를 포함하는 하나 이상의 이환식 뉴클레오시드를 포함한다. 이러한 4'에서 2'로 가교된 이환식 뉴클레오시드의 예로는, 4'-(CH₂)-O-2' (LNA); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ENA); 4'-CH(CH₃)-O-2' ("구속 에틸" 또는 "cEt"로도 지칭됨) 및 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 제7,399,845호 참조); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 제8,278,283호 참조); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 제8,278,425호 참조); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (예를 들어, 미국 특허 공개 제 2004/0171570호 참조); 4'-CH₂-N(R)-O-2', 여기서, R은 H, C1-C12 알킬 또는 보호기임(예를 들어, 미국 특허 제7,427,672호 참조); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (예를 들어, 문헌[Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134]); 및 4'-CH₂-C(-CH₂)-2' (및 이의 유사체; 예를 들어, 미국 특허 제8,278,426호 참조)를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.

[0447] 잠금 핵산 뉴클레오티드의 제조에 관해 교시하고 있는 추가의 대표적인 미국 특허 및 미국 특허 공개로는, 미국 특허 제6,268,490호; 제6,525,191호; 제6,670,461호; 제6,770,748호; 제6,794,499호; 제6,998,484호; 제7,053,207호; 제7,034,133호; 제7,084,125호; 제7,399,845호; 제7,427,672호; 제7,569,686호; 제7,741,457호; 제8,022,193호; 제8,030,467호; 제8,278,425호; 제8,278,426호; 제8,278,283호; 제US 2008/0039618호; 및 제US 2009/0012281호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않으며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.

[0448] 상기 이환식 뉴클레오시드 중 임의의 이환식 뉴클레오시드는 예를 들어, α-L-리보푸라노스 및 β-D-리보푸라노스를 포함하는 하나 이상의 입체화학적 당 배열을 가지도록 제조될 수 있다(WO 99/14226 참조).

[0449] iRNA의 RNA는 또한, 하나 이상의 구속 에틸 뉴클레오티드를 포함하도록 변형될 수 있다. 본원에 사용된 바와 같이, "구속 에틸 뉴클레오티드" 또는 "cEt"는 4'-CH(CH₃)-O-2' 가교를 포함하는 이환식 당 모이어티를 포함하는 잠금 핵산이다. 일 실시형태에서, 구속 에틸 뉴클레오티드는 본원에서 "S-cEt"로 지칭되는 S 배열로 존재한다.

[0450] 본 발명의 iRNA는 또한, 하나 이상의 "구조 제약형 뉴클레오티드"("CRN")를 포함할 수 있다. CRN은 리보스의 C2' 탄소와 C4' 탄소, 또는 리보스의 C3 탄소와 -C5' 탄소를 결합하는 링커를 가진 뉴클레오티드 유사체이다. CRN은 리보스 고리를 안정한 배치로 잠그고, mRNA에의 혼성화 친화성을 증가시킨다. 링커는 산소를 안정성 및 친화성에 최적인 위치에 두기에 충분한 길이를 가지며, 따라서, 리보스 고리 주름잡힘(puckering)이 적어진다.

[0451] 상기 주지한 CRN 중 특정한 CRN의 제조에 관해 교시하고 있는 대표적인 공개로는, 미국 특허 공개 제 2013/0190383호; 및 PCT 공개 WO 2013/036868을 포함하지만, 여기에 한정되지 않으며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.

[0452] 본 발명의 iRNA의 하나 이상의 뉴클레오티드는 또한, 히드록시메틸 치환된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. "히드록시메틸 치환된 뉴클레오티드"는 비환식(acyclic) 2'-3'-seco-뉴클레오티드이며, "비잠금 핵산"("UNA") 변형으로도 지칭된다.

[0453] UNA의 제조에 관해 교시하고 있는 대표적인 미국 공개로는, 미국 특허 제8,314,227호; 및 미국 특허 공개 제 2013/0096289호; 제2013/0011922호; 및 제2011/0313020호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않으며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다. RNA 분자의 말단에 대한 잠재적인 안정화 변형으로는, N-(아세틸아미노 카프로일)-4-히드록시프롤리놀 (Hyp-C6-NHAc), N-(카프로일-4-히드록시프롤리놀 (Hyp-C6), N-(아세틸-4-히드록시프롤리놀 (Hyp-NHAc), 티미딘-2'-O-데옥시티미딘 (에테르), N-(아미노카프로일)-4-히드록시프롤리놀 (Hyp-C6-아미노), 2-도코사노일-우리딘-3"-포스페이트, 역염기 dT(idT) 및 다른 것들을 포함하지만, 이들로 한정되는 것은 아니다. 이러한 변형의 개시내용은 PCT 공개 제WO 2011/005861호에서 찾을 수 있다.

[0454] A. 본 발명의 모티프를 포함하는 변형 iRNA

[0455] 본 발명의 특정 양태에 있어서, 본 발명의 이중-가닥 RNAi 작용제는 각각 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는, 예를 들어, 2011년 11월 18일에 출원된 미국 가출원 제61/561,710호 또는 PCT/US2012/065691호에 개시된 바와 같은 화학적 변형을 갖는 작용제를 포함한다.

[0456] 본원 및 가출원 제61/561,710호 또는 PCT/US2012/065691호에 나타난 바와 같이, 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나 이상의 모티프를 RNAi 작용제의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥에, 특히 절단 부위에 또는 그 근처에 도입함으로써 우수한 결과가 수득될 수 있다. 일부 실시형태들에 있어서, RNAi 작용제의

센스 가닥 및 안티센스 가닥은 다르게는 완전히 변형될 수 있다. 이들 모티프의 도입은 존재하는 경우, 센스 및/또는 안티센스 가닥의 변형 패턴을 방해한다. RNAi 작용제는 선택적으로, 예를 들어 센스 가닥 상에서, GalNAc 유도체 리간드와 컨쥬게이트될 수 있다. 생성되는 RNAi 작용제는 우수한 유전자 침묵화 활성을 제시한다.

[0457] 더욱 구체적으로, 놀랍게도, 이중-가닥 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 RNAi 작용제의 적어도 하나의 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에서, 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 하나 이상 갖도록 완전히 변형되는 경우, RNAi 작용제의 유전자 침묵화 활성을 상당히 증대시킴을 발견하였다.

[0458] 따라서, 본 발명은 생체 내에서 표적 유전자(즉, CFB, C3 또는 C9 유전자)의 발현을 억제할 수 있는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함한다. RNAi 작용제의 각각의 가닥은 길이가 12 내지 30개 뉴클레오타이드 범위일 수 있다. 예를 들어, 각각의 가닥은 길이가 14 내지 30개 뉴클레오타이드, 길이가 17 내지 30개 뉴클레오타이드, 길이가 25 내지 30개 뉴클레오타이드, 길이가 27 내지 30개 뉴클레오타이드, 길이가 17 내지 23개 뉴클레오타이드, 길이가 17 내지 21개 뉴클레오타이드, 길이가 17 내지 19개 뉴클레오타이드, 길이가 19 내지 25개 뉴클레오타이드, 길이가 19 내지 23개 뉴클레오타이드, 길이가 19 내지 21개 뉴클레오타이드, 길이가 21 내지 25개 뉴클레오타이드, 또는 길이가 21 내지 23개 뉴클레오타이드일 수 있다.

[0459] 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 전형적으로 본원에서 "RNAi 작용제"로도 지칭되는 듀플렉스 이중-가닥 RNA("dsRNA")를 형성한다. RNAi 작용제의 듀플렉스 영역은 길이가 12 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍일 수 있다. 예를 들어, 듀플렉스 영역은 길이가 14 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 27 내지 30개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17 내지 21개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 17 내지 19개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19 내지 25개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 19 내지 21개 뉴클레오타이드 쌍, 길이가 21 내지 25개 뉴클레오타이드 쌍, 또는 길이가 21 내지 23개 뉴클레오타이드 쌍일 수 있다. 다른 예에서, 듀플렉스 영역은 길이가 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 및 27개 뉴클레오타이드로부터 선택된다.

[0460] 일 실시형태에 있어서, 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 1 내지 6개 뉴클레오타이드, 예를 들어 길이가 2 내지 6개 뉴클레오타이드, 길이가 1 내지 5개 뉴클레오타이드, 길이가 2 내지 5개 뉴클레오타이드, 길이가 1 내지 4개 뉴클레오타이드, 길이가 2 내지 4개 뉴클레오타이드, 길이가 1 내지 3개 뉴클레오타이드, 길이가 2 내지 3개 뉴클레오타이드, 또는 길이가 1 내지 2개 뉴클레오타이드일 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 표적화된 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.

[0461] 일 실시형태에서, RNAi 작용제의 오버행 영역 내의 뉴클레오타이드는 각각 독립적으로, 2'-당 변형, 예를 들어, 2'-F, 2'-O메틸, 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 비변형 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 표적화된 유전자 서열과 상보적일 수 있거나 또는 다른 서열일 수 있다.

[0462] RNAi 작용제의 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 양 가닥 모두에 있는 5' 또는 3' 오버행은 인산화될 수 있다. 일부 실시형태에서, 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.

[0463] 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'-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.

- [0464] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 길이가 19개 뉴클레오타이드인 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.
- [0465] 다른 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 길이가 20개 뉴클레오타이드인 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.
- [0466] 또 다른 실시형태에서, RNAi 작용제는 길이가 21개 뉴클레오타이드인 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.
- [0467] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 21개 뉴클레오타이드 센스 가닥 및 23개 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 2개 뉴클레오타이드 오버행을 포함한다. 바람직하게는, 2개 뉴클레오타이드 오버행은 안티센스 가닥의 3'-말단에 존재한다. 2개 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 뉴클레오타이드 사이에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형 뉴클레오타이드이다. 일 실시형태에 있어서, 각각의 잔기는 예를 들어, 교대 모티프에서, 독립적으로 2'-O-메틸 또는 3'-플루오로로 변형된다. 선택적으로, RNAi 작용제는 리간드(바람직하게는 GaINAC₃)를 추가로 포함한다.
- [0468] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 센스 및 안티센스 가닥을 포함하며, 센스 가닥은 길이가 25 내지 30개 뉴클레오타이드 잔기들이며, 5' 말단 뉴클레오타이드(위치 1)에서 시작하여, 제1 가닥의 위치 1 내지 23은 적어도 8개의 리보뉴클레오타이드를 포함하고; 안티센스 가닥은 길이가 36 내지 66개 뉴클레오타이드 잔기들이며, 3' 말단 뉴클레오타이드에서 시작하여, 센스 가닥의 위치 1 내지 23과 쌍을 이루는 위치에서 적어도 8개의 리보뉴클레오타이드를 포함하여, 듀플렉스를 형성하며; 안티센스 가닥의 적어도 3' 말단 뉴클레오타이드는 센스 가닥과 쌍을 이루지 않으며, 최대 6개의 연속 3' 말단 뉴클레오타이드는 센스 가닥과 쌍을 이루지 않고, 이에 의해, 1 내지 6개 뉴클레오타이드로 된 3' 단일 가닥 오버행을 형성하고; 안티센스 가닥의 5' 말단은 센스 가닥과 쌍을 이루지 않는 10 내지 30개의 연속 뉴클레오타이드를 포함하여, 이에 의해, 10 내지 30개 뉴클레오타이드 단일 가닥 5' 오버행을 형성하고; 센스 및 안티센스 가닥이 최대 상보성을 위해 정렬되는 경우, 적어도 센스 가닥 5' 말단 및 3' 말단 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥의 뉴클레오타이드와 염기쌍을 이루어, 이에 의해, 센스 및 안티센스 가닥 간에 실질적으로 듀플렉스 영역을 형성하며; 안티센스 가닥은 이중-가닥 핵산이 포유류 세포로 도입되는 경우, 표적 유전자 발현을 감소시키도록, 적어도 19개 리보뉴클레오타이드의 안티센스 가닥 길이를 따라 표적 RNA에 충분히 상보적이고; 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드에 3개의 2'-F 변형으로 된 적어도 하나의 모티프를 함유하며, 모티프 중 적어도 하나는 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 안티센스 가닥은 절단 부위에 또는 그 근처에서 3개의 연속 뉴클레오타이드 상의 3개의 2'-O-메틸 변형들로 된 적어도 하나의 모티프를 포함한다.
- [0469] 일 실시형태에서, RNAi 작용제는 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하며, RNAi 작용제는 적어도 25개, 최대 29개 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 30개 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 4개 뉴클레오타이드가 더 길고, 듀플렉스 영역은 길이가 적어도 25개 뉴클레오타이드인 영역이며, 제2 가닥은 제2 가닥 길이의 적어도 19개 뉴클레오타이드를 따라, RNAi 작용제가 포유류 세포 내로 도입되는 경우 표적 유전자 발현을 감소시키기 위해 충분히 표적 mRNA에 상보적이고, RNAi 작용제의 다이버절

단은 제2 가닥의 3' 말단을 포함하는 siRNA를 야기하여, 포유류에서 표적 유전자의 발현을 감소시킨다. 선택적으로, RNAi 작용제는 리간드를 추가로 포함한다.

- [0470] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥은 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 모티프를 적어도 하나 포함하며, 모티프 중 하나는 센스 가닥의 절단 부위에 존재한다.
- [0471] 일 실시형태에 있어서, 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.
- [0472] 길이가 17 내지 23개 뉴클레오타이드인 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.
- [0473] 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.
- [0474] 일 실시형태에 있어서, 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 인접해 있거나, 또는 적어도 하나 이상의 뉴클레오타이드에 의해 분리된다. 모티프가 서로 바로 인접해 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.
- [0475] 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.
- [0476] 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.
- [0477] 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.
- [0478] RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 적어도 하나의 윙 변형을 포함하는 경우, 윙 변형은 듀플렉스 영역의 동일한 말단에 존재할 수 있으며, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드의 중첩을 가진다.
- [0479] 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, 1, 2 또는 3개 뉴클레오타이드의 중첩을 갖거나; 하나의 가닥의 2개의 변형이 각각 듀플렉스 영역의 다른 말단에 존재하고, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드 중첩을 갖거나; 하나의 가닥의 2개의 변형이 선도 모티프의 각각의 측에 존재하고, 듀플렉스 영역에서 1, 2 또는 3개 뉴클레오타이드의 중첩을 갖도록 정렬될 수도 있다.

- [0480] 일 실시형태에서, 모티프의 일부인 뉴클레오타이드를 포함하는 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 내의 모든 뉴클레오타이드는 변형될 수 있다. 각각의 뉴클레오타이드는, 비-결합 포스페이트 산소 중 하나 또는 둘다 및/또는 결합 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.
- [0481] 핵산이 하위단위의 중합체이기 때문에, 다수의 변형들은 핵산에서 반복되는 위치에서 발생하며, 이는 예를 들어, 염기, 또는 포스페이트 모이어티, 또는 포스페이트 모이어티의 비-결합 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 2, 3, 4, 5, 또는 10개 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-결합 O 위치에서의 포스포로티오에이트 변형은 한쪽 말단 또는 양 말단 모두에서만 발생할 수 있거나, 가닥의 말단 영역, 예를 들어, 말단 뉴클레오타이드 상의 위치 또는 마지막 2, 3, 4, 5, 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.
- [0482] 예를 들어, 안정성을 증대시키거나, 오버행에 특정 염기들을 포함하거나, 또는 단일 가닥 오버행, 예를 들어 5' 또는 3' 오버행 또는 둘 다에 변형 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 대리물을 포함할 수 있다. 예를 들어, 오버행에 퓨린 뉴클레오타이드를 포함하는 것이 바람직할 수 있다. 일부 실시형태에 있어서, 3' 또는 5' 오버행 내의 염기들 중 모두 또는 일부는 변형되는데, 예를 들어, 본원에서 기술된 변형으로 변형될 수 있다. 변형으로는, 예를 들어, 당염기에 공지된 변형을 가지는 리보스 당의 2' 위치에서의 변형의 사용, 예를 들어, 핵염기의 리보스 당 대신에 변형된 데옥시리보뉴클레오타이드, 2'-데옥시-2'-플루오로(2'-F) 또는 2'-O-메틸의 이용, 및 포스페이트 기에서의 변형, 예를 들어, 포스포로티오에이트 변형이 포함될 수 있다. 오버행은 표적 서열과 상동성일 필요가 없다.
- [0483] 일 실시형태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 각각의 잔기는 독립적으로 LNA, CRN, cET, UNA, 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 실시형태에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 잔기는 각각 독립적으로 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로로 변형된다.
- [0484] 적어도 2개의 상이한 변형은 전형적으로, 센스 가닥 및 안티센스 가닥에 존재한다. 그들 2개의 변형들은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형, 또는 그외의 변형일 수 있다.
- [0485] 일 실시형태에 있어서, 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...", "ABBAABBAAB...", "AABAABAABAAB...", "AAABAAABAAAB...", "AAABBBAAABBB..." 또는 "ABCBCABCBC..." 등일 수 있다.
- [0486] 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 2개 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.
- [0487] 일 실시형태에 있어서, 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. 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 이

동이 존재하도록 할 수 있다.

- [0488] 일 실시형태에 있어서, 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 변형 뉴클레오타이드는 안티센스 가닥 상의 2'-F 변형 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.
- [0489] 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.
- [0490] 일 실시형태에 있어서, 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 쌍 변형이 존재하는 경우 존재하거나 또는 부재할 수 있다.
- [0491] RNAi 작용제는 적어도 하나의 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 추가로 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. 일 실시형태에서, 이중-가닥 RNAi 작용제는 6 내지 8개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 안티센스 가닥은 5'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합과 3'-말단에 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함하며, 센스 가닥은 5'-말단 또는 3'-말단 중 어느 하나에서 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오타이드간 결합을 포함한다.
- [0492] 일 실시형태에 있어서, 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 결합하도록 만들어질 수 있다. 예를 들어, 적어도 2, 3, 4개 또는 모든 오버행 뉴클레오타이드는 포스포로티오에이트 또는 메틸포스포네이트 뉴클레오타이드간 결합을 통해 결합될 수 있으며, 선택적으로, 오버행 뉴클레오타이드의 옆에 존재하는 쌍을 이루는 뉴클레오타이드와 오버행 뉴클레오타이드를 결합하는 추가의 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.
- [0493] 일 실시형태에 있어서, 2개 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.
- [0494] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 듀플렉스 내에서 표적과의 미스매치(들), 또는 이들의 조합을 포함한다. 미스매치는 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 인접한 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.

[0495] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 듀플렉스의 5' 말단에서 안티센스 가닥의 해리를 촉진하기 위해, 독립적으로 A:U, G:U, I:C, 및 미스매칭된 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.

[0496] 일 실시형태에 있어서, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 위치 1의 뉴클레오티드는 A, dA, dU, U, 및 dT로 구성된 군으로부터 선택된다. 다르게는, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 처음 1, 2 또는 3개의 염기쌍 중 적어도 하나는 AU 염기쌍이다. 예를 들어, 안티센스 가닥의 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 처음의 염기쌍은 AU 염기쌍이다.

[0497] 다른 실시형태에 있어서, 센스 가닥의 3'-말단에서 뉴클레오티드는 데옥시-티민(dT)이다. 다른 실시형태에 있어서, 안티센스 가닥의 3'-말단에서 뉴클레오티드는 데옥시-티민(dT)이다. 일 실시형태에 있어서, 센스 및/또는 안티센스 가닥의 3'-말단에 데옥시-티민 뉴클레오티드, 예를 들어, 2개의 dT 뉴클레오티드로 된 짧은 서열이 존재한다.

[0498] 일 실시형태에 있어서, 센스 가닥 서열은 화학식 (I)로 표시될 수 있다:



[0499]

상기 식에서,

[0500]

i 및 j는 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0501]

p 및 q는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0502]

N_a 는 각각 독립적으로 0개 내지 25개의 변형 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오티드를 포함하며;

[0503]

N_b 는 각각 독립적으로 0개 내지 10개의 변형 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드 서열을 나타내고;

[0504]

n_p 및 n_q 는 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오티드를 나타내며;

[0505]

N_b 및 Y는 동일한 변형을 갖지 않고;

[0506]

XXX, YYY 및 ZZZ는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오티드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타낸다. 바람직하게는, YYY는 모든 2'-F 변형 뉴클레오티드이다.

[0507]

일 실시형태에 있어서, N_a 및/또는 N_b 는 교대 패턴의 변형을 포함한다.

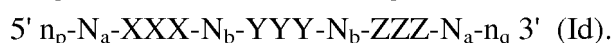
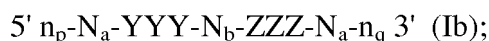
[0508]

일 실시형태에 있어서, YYY 모티프는 센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 예를 들어, RNAi 작용제가 17 내지 23개 뉴클레오티드 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 뉴클레오티드에서 시작하거나; 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오티드에서 시작한다.

[0509]

일 실시형태에 있어서, i는 1이고 j는 0이거나, 또는 i는 0이고 j는 1이거나, 또는 i 및 j는 둘다 1이다. 따라서, 센스 가닥은 하기 화학식으로 표시될 수 있다:

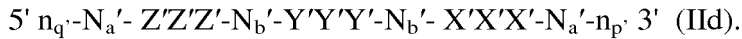
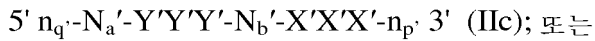
[0510]



[0511]

- [0512] 센스 가닥이 식 (Ib)로 표시되는 경우, N_b 는 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개, 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0513] 센스 가닥이 식 (Ic)로 표시되는 경우, N_b 는 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개, 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0514] 센스 가닥이 식 (Id)로 표시되는 경우, N_b 는 각각 독립적으로 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. 바람직하게는, N_b 는 0, 1, 2, 3, 4, 5 또는 6이다. N_a 는 각각 독립적으로, 2 내지 20개, 2 내지 15개, 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0515] X, Y 및 Z는 각각 서로 동일하거나 또는 상이할 수 있다.
- [0516] 다른 실시형태에서, i는 0이고, j는 0이며, 센스 가닥은 하기 화학식으로 표시될 수 있다:
- $$5' n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 3' \text{ (Ia)}.$$
- [0517]
- [0518] 센스 가닥이 식 (Ia)로 표시되는 경우, N_a 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낼 수 있다.
- [0519] 일 실시형태에 있어서, RNAi의 안티센스 가닥 서열은 화학식 (II)로 표시될 수 있다:
- $$5' n_q'-N_a'-(Z'Z'Z')_k-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-(X'X'X')_l-N_a'-n_p' 3' \text{ (II)}$$
- [0520]
- [0521] 상기 식에서,
- [0522] k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;
- [0523] p' 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;
- [0524] N_a' 는 각각 독립적으로 0개 내지 25개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고, 각각의 서열은 적어도 2개의 상이하게 변형된 뉴클레오타이드를 포함하며;
- [0525] N_b' 는 각각 독립적으로 0개 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타내고;
- [0526] n_p' 및 n_q' 는 각각 독립적으로 오버행 뉴클레오타이드를 나타내며;
- [0527] N_b' 및 Y'는 동일한 변형을 갖지 않고;
- [0528] X'X'X', Y'Y'Y' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 3개의 연속 뉴클레오타이드 상에 3개의 동일한 변형이 있는 하나의 모티프를 나타낸다.
- [0529] 일 실시형태에서, N_a' 및/또는 N_b' 는 교대 패턴의 변형을 포함한다.
- [0530] Y'Y'Y' 모티프는 안티센스 가닥의 절단 부위에 또는 그 근처에 존재한다. 예를 들어, RNAi 작용제가 17 내지 23개 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.
- [0531] 일 실시형태에서, Y'Y'Y' 모티프는 모두 2'-OMe 변형 뉴클레오타이드이다.
- [0532] 일 실시형태에서, k는 1이고 l은 0이거나, 또는 k는 0이고 l은 1이거나, 또는 k 및 l은 둘 모두 1이다.

[0533] 따라서, 안티센스 가닥은 하기 식으로 표시될 수 있다:



[0534]

[0535] 안티센스 가닥이 식 (IIb)로 표시되는 경우, N_b' 는 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a' 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개, 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0536]

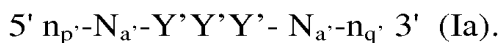
안티센스 가닥이 식 (IIc)로 표시되는 경우, N_b' 는 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a' 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개, 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0537]

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

[0538]

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



[0539]

[0540] 안티센스 가닥이 식 (IIa)로 표시되는 경우, N_a' 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

[0541]

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

[0542]

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.

[0543]

일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥은 듀플렉스 영역이 21개 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.

[0544]

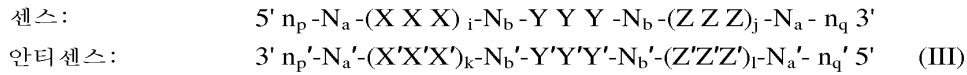
일 실시형태에 있어서, 안티센스 가닥은 가닥의 위치 11, 12 및 13에 존재하는 Y'Y'Y' 모티프를 포함할 수 있으며, 계수는 5'-말단으로부터 제1 뉴클레오타이드에서 시작하거나, 또는 선택적으로, 계수는 5'-말단으로부터 듀플렉스 영역 내의 쌍을 이루는 제1 뉴클레오타이드에서 시작하며; Y' 는 2'-O-메틸 변형을 나타낸다. 안티센스 가닥은 부가적으로, 듀플렉스 영역의 반대쪽 말단에 X'X'X' 모티프 또는 Z'Z'Z' 모티프를 쌍 변형으로서 포함하며; X'X'X' 및 Z'Z'Z'는 각각 독립적으로 2'-OMe 변형 또는 2'-F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

[0545]

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

[0546]

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)로 표시된다:



[0547]

상기 식에서,

[0548]

i, j, k 및 l은 각각 독립적으로 0 또는 1이고;

[0549]

p, p', q 및 q'는 각각 독립적으로 0 내지 6이며;

[0550]

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

[0551]

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

[0552]

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

[0553]

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.

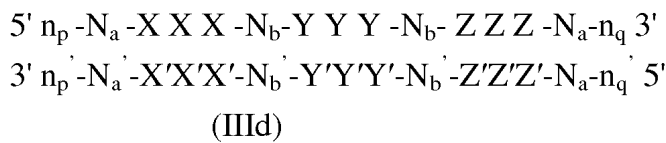
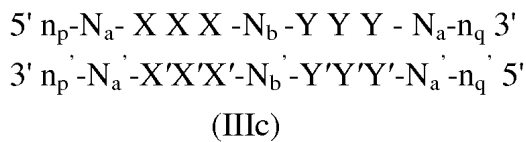
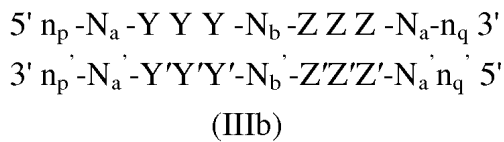
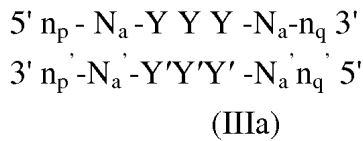
[0554]

일 실시형태에 있어서, 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 실시형태에 있어서, k는 0이고, l은 0이거나; k는 1이고, l은 0이거나; k는 0이고, l은 1이거나; k 및 l 둘 모두는 0이거나; k 및 l 둘 모두는 1이다.

[0555]

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

[0556]



[0557]

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

[0558]

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

[0559]

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

[0560]

티드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다.

- [0561] RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_b , N_b' 는 각각 독립적으로 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 10개, 0 내지 7개, 0 내지 5개, 0 내지 4개, 0 내지 2개 또는 0개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a , N_a' 는 각각 독립적으로 2 내지 20개, 2 내지 15개 또는 2 내지 10개의 변형 뉴클레오타이드를 포함하는 올리고뉴클레오타이드 서열을 나타낸다. N_a , N_a' , N_b 및 N_b' 는 각각 독립적으로 교대 패턴의 변형을 포함한다.
- [0562] 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)에서 X, Y 및 Z의 각각은 서로 동일하거나 상이할 수 있다.
- [0563] 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.
- [0564] 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.
- [0565] 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.
- [0566] 일 실시형태에 있어서, 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.
- [0567] 일 실시형태에 있어서, 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_p '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 결합된다. 다른 실시형태에서, RNAi 작용제가 식 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_p '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 결합되고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다 (하기 기술). 다른 실시형태에 있어서, RNAi 작용제가 화학식 (IIId)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_p '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 결합되고, 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.
- [0568] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제가 화학식 (IIIa)로 표시되는 경우, N_a 변형은 2'-O-메틸 또는 2'-플루오로 변형이고, n_p '는 0 초과이며, 적어도 하나의 n_p '는 포스포로티오에이트 결합을 통해 연속 뉴클레오타이드에 결합되고, 센스 가닥은 적어도 하나의 포스포로티오에이트 결합을 포함하고, 센스 가닥은 2가 또는 3가 분지형 링커를 통해 부착된 하나 이상의 GalNAc 유도체에 컨쥬게이트된다.
- [0569] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 적어도 2개의 듀플렉스를 함유하는 다머이며, 상기 듀플렉스들은 링커에 의해 결합된다. 링커는 절단가능하거나 비-절단가능할 수 있다. 선택적으로, 상기 다머는 리간드를 추가로 포함한다. 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적할 수 있다.
- [0570] 일 실시형태에 있어서, RNAi 작용제는 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 3, 4, 5, 6개 이상의 듀플렉스를 함유하는 다머이며, 상기 듀플렉스들은 링커에 의해 결합된다. 링커는 절단가능하거나 비-절단가능할 수 있다. 선택적으로, 상기 다머는 리간드를 추가로 포함한다. 듀플렉스 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 듀플렉스 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전

자를 표적할 수 있다.

- [0571] 일 실시형태에 있어서, 화학식 (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) 및 (IIId)로 표시되는 2개의 RNAi 작용제들은 5' 말단에서 서로 결합되며, 3' 말단 중 하나 또는 둘 모두는 리간드에 선택적으로 컨쥬게이트된다. 작용제 각각은 동일한 유전자 또는 2개의 상이한 유전자를 표적할 수 있거나; 또는 작용제 각각은 2개의 상이한 표적 부위에서 동일한 유전자를 표적할 수 있다.
- [0572] 다양한 공개문헌은 본 발명의 방법에 이용될 수 있는 다mer RNAi 작용제를 기술한다. 그러한 공개문헌은 제 W02007/091269호, 미국 특허 제7858769호, 제W02010/141511호, 제W02007/117686호, 제W02009/014887호 및 제W02011/031520호를 포함하며, 이들 각각의 전체 내용은 본 명세서에 참조로 포함된다.
- [0573] 하기에 더욱 상세히 기술된 바와 같이, RNAi 작용제로의 하나 이상의 탄수화물 모이어티의 컨쥬게이션을 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 사이클릭) 캐리어로 대체될 수 있다. 서브유닛의 리보스 당이 대체된 리보뉴클레오타이드 서브유닛은 본원에서, 리보스 대체 변형 서브유닛(RRMS)으로 지칭된다. 사이클릭 캐리어는 카르보사이클릭 고리계일 수 있으며, 즉 모든 고리 원자들이 탄소 원자 또는 헤테로사이클릭 고리계일 수 있으며, 즉, 하나 이상의 고리 원자는 예를 들어, 질소, 산소, 황과 같은 헤테로원자일 수 있다. 사이클릭 캐리어는 모노사이클릭 고리계일 수 있거나, 또는 2개 이상의 고리, 예를 들어, 융합 고리를 포함할 수 있다. 사이클릭 캐리어는 완전히 포화된 고리계일 수 있거나, 또는 하나 이상의 이중 결합을 포함할 수 있다.
- [0574] 리간드는 캐리어를 통해 폴리뉴클레오타이드에 부착될 수 있다. 캐리어로는, (i) 적어도 하나의 "골격 부착점", 바람직하게는 2개의 "골격 부착점", 및 (ii) 적어도 하나의 "테터링(tethering) 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 실시형태들에 있어서, "테터링 부착점"(TAP)은 선택된 모이어티를 결합하는 (골격 부착점을 제공하는 원자와 구별되는) 탄소 원자 또는 헤테로원자와 같은 사이클릭 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 사이클릭 캐리어로 결합된다. 따라서, 사이클릭 캐리어는 종종 아미노기와 같은 기능기를 포함하거나, 또는 일반적으로 구성원 고리로의 리간드와 같은 다른 화학적 엔터티(entity)의 혼입 또는 테터링에 적절한 결합을 제공한다.
- [0575] RNAi 작용제는 캐리어를 통해 리간드에 컨쥬게이트될 수 있으며, 캐리어는 사이클릭기 또는 비-사이클릭기일 수 있으며; 바람직하게는, 사이클릭기는 피롤리딘, 피라졸리딘, 피라졸리디닐, 이미다졸리딘, 이미다졸리디닐, 피페리딘, 피페라지닐, [1,3]디옥솔란, 옥사졸리딘, 이속사졸리딘, 모르폴리딘, 티아졸리딘, 이소티아졸리딘, 퀴놀살리딘, 피리다지노닐, 테트라히드로푸릴 및 데칼린으로부터 선택되며; 바람직하게는, 비-사이클릭기는 세리놀 골격 또는 디에탄올아민 골격으로부터 선택된다.
- [0576] 구체적인 특정 실시형태들에 있어서, 본 발명의 방법에 사용하기 위한 RNAi 작용제는 표 3 내지 표 8 중 어느 하나에 열거된 작용제의 군으로부터 선택되는 작용제이다. 이들 작용제는 리간드를 추가로 포함할 수 있다.
- [0577] **IV. 리간드에 컨쥬게이트된 iRNA**
- [0578] 본 발명의 iRNA의 RNA의 다른 변형은 iRNA의 활성, 세포 분포 또는 세포 섭취를 향상시키는 하나 이상의 리간드들, 모이어티들 또는 컨쥬게이트들을 RNA에 화학적으로 결합하는 것을 포함한다. 그러한 모이어티는 콜레스테롤 모이어티(Letsinger 등, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1989, 86: 6553-6556), 콜산(Manoharan 등, Biorg. Med. Chem. Lett., 1994, 4:1053-1060), 티오에테르, 예컨대, 베틸-S-트리틸티올(Manoharan 등, Ann. N.Y. Acad. Sci., 1992, 660:306-309; Manoharan 등, Biorg. Med. Chem. Lett., 1993, 3:2765-2770), 티오콜레스테롤(Oberhauser 등, Nucl. Acids Res., 1992, 20:533-538), 지방족 사슬, 예컨대, 도데칸디올 또는 운테실 잔기(Saison-Behmoaras 등, EMBO J, 1991, 10:1111-1118; Kabanov 등, FEBS Lett., 1990, 259:327-330; Svinarchuk 등, Biochimie, 1993, 75:49-54), 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸-암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세로-3-포스포네이트(Manoharan 등, Tetrahedron Lett., 1995, 36:3651-3654; Shea 등, Nucl. Acids Res., 1990, 18:3777-3783), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(Manoharan 등, Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14:969-973), 또는 아다만탄 아세트산(Manoharan 등, Tetrahedron Lett.,

1995, 36:3651-3654), 팔미틸 모이어티(Mishra 등, Biochim. Biophys. Acta, 1995, 1264:229-237), 또는 옥타데실아민 또는 헥실아미노-카르보닐옥시콜레스테롤 모이어티(Crooke 등, J. Pharmacol. Exp. Ther., 1996, 277:923-937)와 같은 지질 모이어티들을 포함하지만 여기에 한정되지 않는다.

[0579] 일 실시형태에 있어서, 리간드는, 그것이 혼입되는 iRNA 작용제의 분포, 표적화 또는 수명을 변경한다. 바람직한 실시형태들에 있어서, 리간드는 선택된 표적, 예를 들어, 분자, 세포 또는 세포 유형, 신체의 구획, 예를 들어, 세포 또는 기관 구획, 조직, 기관 또는 영역에 대해, 그러한 리간드가 존재하지 않는 화학종과 비교하여, 향상된 친화성을 제공한다. 바람직한 리간드는 듀플렉스 핵산에서 듀플렉스 짝지움에 참여하지 않을 것이다.

[0580] 리간드는 단백질(예컨대, 인간 혈청 알부민(HSA), 저밀도 리포단백질(LDL), 또는 글로불린); 탄수화물(예컨대, 텍스트란, 폴루란, 키틴, 키토산, 이눌린, 사이클로덱스트린, N-아세틸갈락토사민 또는 히알루론산); 또는 지질과 같은 자연 발생 물질을 포함할 수 있다. 리간드는 재조합 또는 합성 분자, 예를 들어, 합성 중합체, 예컨대, 합성 폴리아미노산일 수도 있다. 폴리아미노산의 예는 폴리로신(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: 폴리에틸렌아민, 폴리로신(PLL), 스페르민, 스페르미딘, 폴리아민, 슈도펩티드-폴리아민, 펩티도미메틱 폴리아민(peptidomimetic polyamine), 덴드리머 폴리아민, 아르기닌, 아미딘, 프로타민, 양이온성 지질, 양이온성 포르피린, 폴리아민의 4차 염, 또는 알파 헬릭스 펩티드를 포함한다.

[0581] 리간드는 표적화기, 예컨대, 세포 또는 조직 표적 작용제, 예컨대, 렉틴, 글리코단백질, 지질 또는 단백질, 예컨대, 신장 세포와 같은 특정된 세포 유형과 결합하는 항체를 포함할 수도 있다. 표적화기는 갑상선 자극 호르몬, 멜라노트로핀, 렉틴, 글리코단백질, 계면활성제 단백질 A, 뮤신 탄수화물, 다갈락토오스, 다갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다갈락토오스, 다갈락토오스, 다갈락토오스, 트랜스페린, 비스포스포네이트, 폴리글루타메이트, 폴리아스파르테이트, 지질, 콜레스테롤, 스테로이드, 담즙산, 폴레이트, 비타민 B12, 비타민 A, 비오틴 또는 RGD 펩티드 또는 RGD 펩티드 모방체일 수 있다.

[0582] 리간드의 다른 예는 염료, 삼입성 작용제(예컨대, 아크리딘), 가교제(예컨대, 소달렌, 미토마이신 C), 포르피린(TPPC4, 텍사피린, 사피린), 다환 방향족 탄화수소(예컨대, 페나진, 디히드로페나진), 인공 엔도뉴클레아제(예컨대, EDTA), 친지방성 분자, 예컨대, 콜레스테롤, 콜산, 아다만탄 아세트산, 1-피렌 부티르산, 디히드로테스토스테론, 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 컨쥬게이트(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, 염산), 합성 리보뉴클레아제(예컨대, 이미다졸, 비스이미다졸, 히스타민, 이미다졸 클러스터, 아크리딘-이미다졸 컨쥬게이트, 테트라아자마크로사이클의 Eu3+ 복합체), 디니트로페닐, HRP, 또는 AP를 포함한다.

[0583] 리간드는 단백질, 예컨대, 글리코단백질, 또는 펩티드, 예컨대, 공-리간드에 대한 특정 친화도를 갖는 분자, 또는 항체, 예컨대, 간세포와 같은 특정 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, 다갈락토오스, 다갈락토오스, N-아세틸-갈락토사민, N-아세틸-글루코사민 다갈락토오스 또는 다갈락토오스를 포함할 수도 있다. 리간드는 예를 들면, 리포다당류, p38 MAP 키나아제의 활성화제 또는 NF-κB의 활성화제일 수 있다.

[0584] 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, 자플라키놀리드(japlakinolide), 라트룬쿨린 A, 팔로이딘, 스윈홀리드(swinholide) A, 인다노신 또는 미오세르빈일 수 있다.

[0585] 일부 실시형태들에 있어서, 본원에 기술된 iRNA에 부착된 리간드는 약동학적 조절제(PK 조절제)로 작용한다. PK 조절제는 친지체, 담즙산, 스테로이드, 인지질 유사체, 펩티드, 단백질 결합제, PEG, 비타민 등을 포함한다. 예시적인 PK 조절제는 콜레스테롤, 지방산, 콜산, 리토콜산, 디알킬글리세리드, 디아실글리세리드, 인지질, 스펅고지질, 나프록센, 이부프로펜, 비타민 E, 비오틴 등을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 수많은 포스포로

티오에이트 결합을 포함하는 올리고뉴클레오타이드는 혈청 단백질과 결합하는 것으로 알려져 있어서, 짧은 올리고뉴클레오타이드, 예컨대, 골격 내에서 복수의 포스포로티오에이트 결합을 포함하는, 약 5개 염기들, 10개 염기들, 15개 염기들 또는 20개 염기들의 올리고뉴클레오타이드는 리간드로서(예컨대, PK 조절 리간드로서) 본 발명에 따른다. 또한, 혈청 성분(예컨대, 혈청 단백질)에 결합하는 압타머도 본원에 기술된 실시형태들에 있어서 PK 조절 리간드로서의 용도에 적합하다.

[0586] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오타이드는 (아래에 기술된) 결합 분자를 올리고뉴클레오타이드로 부착하여 유래된 것과 같이 펜던트 반응 작용기를 지니는 올리고뉴클레오타이드를 사용함으로써 합성될 수 있다. 이 반응성 올리고뉴클레오타이드는 상업적으로 이용가능한 리간드, 다양한 보호기 중 어느 하나를 지니는 합성된 리간드 또는 이에 부착된 결합 모이어티를 갖는 리간드와 직접적으로 반응될 수 있다.

[0587] 본 발명의 컨쥬게이트에 이용되는 올리고뉴클레오타이드는 고체상 합성의 주지의 기술을 통해 용이하게 통상적으로 제조될 수 있다. 그러한 합성을 위한 장비는 예를 들어, Applied Biosystems(Foster City, Calif.)를 포함하는 몇몇 판매 회사에 의해 판매된다. 당업계에 알려진 그러한 합성을 위한 임의의 다른 수단은 추가적으로 또는 대안적으로 채용될 수 있다. 포스포로티오에이트 및 알킬화된 유도체와 같은 기타 올리고뉴클레오타이드를 제조하는 유사한 기술을 이용하는 것도 알려져 있다.

[0588] 본 발명의 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오타이드 및 리간드-분자 보유 서열-특이적 결합된 뉴클레오타이드에 있어서, 상기 올리고뉴클레오타이드 및 올리고뉴클레오타이드는 표준 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 전구체 또는 결합 모이어티를 이미 보유하는 뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드 컨쥬게이트 전구체, 리간드 분자를 이미 보유하는 리간드-뉴클레오타이드 또는 뉴클레오타이드-컨쥬게이트 전구체 또는 비-뉴클레오타이드 리간드-보유 빌딩 블록을 활용하는 적당한 DNA 합성기 상에 조립될 수 있다.

[0589] 결합 모이어티를 이미 보유한 뉴클레오타이드-컨쥬게이트 전구체를 이용하는 경우, 서열-특이적 결합된 뉴클레오타이드의 합성이 통상적으로 완료된 후, 리간드 분자는 결합 모이어티와 반응하여 리간드-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오타이드를 형성한다. 일부 실시형태에 있어서, 본 발명의 올리고뉴클레오타이드 또는 결합된 뉴클레오타이드는 올리고뉴클레오타이드 합성에 상업적으로 이용가능하며 통상적으로 이용되는 표준 포스포르아미디트 및 비-표준 포스포르아미디트에 더하여 리간드-뉴클레오타이드 컨쥬게이트로부터 유래된 포스포르아미디트를 이용하는 자동화된 합성기에 의해 합성된다.

[0590] A. 리간드 컨쥬게이트

[0591] 일 실시형태에 있어서, 리간드 또는 컨쥬게이트는 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 컨쥬게이트의 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) 컨쥬게이트의 분해에 대한 내성을 증가시키고/거나, (b) 표적 세포 또는 세포막으로 표적 또는 수송을 증가시키고/거나 (c) 혈청 단백질, 예컨대, HSA로의 결합을 조정하는데 이용될 수 있다.

[0592] 지질계 리간드는 컨쥬게이트의 표적 조직으로의 결합을 억제, 예컨대, 제어하는데 이용될 수 있다. 예를 들면, 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 컨쥬게이트를 표적으로 하는 데 이용될 수 있다.

[0593] 바람직한 실시형태에서, 지질계 리간드는 HSA와 결합한다. 바람직하게는, 컨쥬게이트가 바람직하게는 비-신장 조직으로 분포되도록 충분한 친화도로 HSA와 결합한다. 그러나, 친화도는 HSA-리간드 결합이 반전될 수 없도록 강하지 않은 것이 바람직하다.

[0594] 다른 바람직한 실시형태에서, 지질계 리간드는 컨쥬게이트가 바람직하게는 신장으로 분포되도록 HSA와 약하게 결합하거나 전혀 결합하지 않는다. 신장 세포에 표적으로 하는 기타 모이어티들은 지질계 리간드 대신에 또는 이에 더하여 이용될 수도 있다.

[0595] 다른 양태에서, 리간드는 모이어티, 예컨대, 표적 세포, 예컨대, 증식하는 세포에 의해 흡수되는 비타민이다. 이들은 예컨대, 악성 또는 비-악성 형태, 예컨대, 암 세포의 원하지 않는 세포 증식을 특징으로 하는 장애를 치료하는데 특히 유용하다. 예시적인 비타민은 비타민 A, E 및 K를 포함한다. 기타 예시적인 비타민은 비타민 B, 예컨대, 엽산, B12, 리보플라빈, 비오틴, 피리독살 또는 표적 세포, 예를 들어, 간 세포에 의해 취해지는 비타

민 또는 영양분을 포함한다. HSA 및 저밀도 리포단백질(LDL)도 포함된다.

[0596] B. 세포 침투제

[0597] 다른 양태에 있어서, 리간드는 세포-침투제, 바람직하게는 헬리칼 세포-침투제이다. 바람직하게는, 작용제는 양친매성이다. 예시적인 작용제는 태트(tat) 또는 안테노페디아와 같은 펩티드이다. 작용제가 펩티드이면, 펩티딜 미메틱(peptidylmimetic), 인베르토머(invertomer), 비-펩티드 또는 슈도-펩티드 결합 및 D-아미노산의 이용을 포함하여 변형될 수 있다. 헬리칼 작용제는 바람직하게는 친유상 및 소유상을 갖는, 바람직하게는 알파-헬릭칼 작용제이다.

[0598] 리간드는 펩티드 또는 펩티도미메틱(peptidomimetic)일 수 있다. 펩티도미메틱(본원에서 올리고펩티도미메틱이라고도 함)은 천연 펩티드와 유사한 정의된 3-차원 구조로 접힐 수 있는 분자이다. iRNA 작용제로의 펩티드 및 펩티도미메틱의 부착은 예를 들어, 세포 인식 및 흡수를 증진시킴으로써 iRNA의 약동학적 분포에 영향을 미칠 수 있다. 펩티드 또는 펩티도미메틱 모이어티는 길이가 약 5 내지 50개 아미노산들, 예컨대, 길이가 약 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 또는 50개 아미노산들일 수 있다.

[0599] 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 텐드리머 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: 23)를 갖는 RFGF이다. 소수성 MTS를 포함하는 RFGF 유사체(예컨대, 아미노산 서열 AALLPVLLAAP (SEQ ID NO: 24))는 표적 모이어티일 수도 있다. 펩티드 모이어티는 세포막을 가로지르는 펩티드, 올리고뉴클레오티드 및 단백질을 포함하는 더 큰 극성 분자들을 운반할 수 있는 "전달" 펩티드일 수 있다. 예를 들어, HIV Tat 단백질(GRKKRRQRRPPQ (SEQ ID NO: 25)) 및 드로소필라 안테나페디아 단백질(RQIKIWFAQNRMRMKWK (SEQ ID NO: 26)) 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 의해 인코딩될 수 있다(Lam 등., Nature, 354:82-84, 1991). 세포 표적화 목적을 위해 혼입된 단mer 단위를 통해 dsRNA 작용제에 테터링된 펩티드 또는 펩티도미메틱의 예는 아르기닌-글리신-아스파르트산(RGD)-펩티드 또는 RGD 모방체이다. 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 임의의 것이 활용될 수 있다.

[0600] 본 발명의 조성물 및 방법에 이용되는 RGD 펩티드는 선형 또는 환형일 수 있으며, 변형되어, 예컨대, 글리코실화 또는 메틸화되어 특정 조직(들)으로 표적화되는 것을 용이하게 할 수 있다. RGD-함유 펩티드 및 펩티도미메틱은 D-아미노산 및 합성 RGD 모방체를 포함할 수 있다. RGD에 더하여, 인테그린 리간드를 표적으로 하는 기타 모이어티들을 이용할 수 있다. 이 리간드의 바람직한 컨쥬게이트는 PECAM-1 또는 VEGF를 표적으로 한다.

[0601] "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), 디펩타이드 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(Simeoni 등, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003).

[0602] C. 탄수화물 컨쥬게이트

[0603] 본 발명의 조성물 및 방법의 일부 실시형태들에 있어서, iRNA 올리고뉴클레오티드는 탄수화물을 추가로 포함한다. 탄수화물 컨쥬게이트된 iRNA는 본원에 기술된 바와 같이 생체내 치료용에 적합한 조성물뿐만 아니라 핵산의 생체 내 전달에 유리하다. 본원에 이용된 "탄수화물"은 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 (선형, 분지형 또는 환형일 수 있는) 적어도 6개의 탄소 원자들을 갖는 하나 이상의 단당류 단위들로 구성된 탄수화물 그 자체인 화합물; 또는 각각의 탄소 원자에 결합된 산소, 질소 또는 황 원자와 함께 (선형, 분지형 또는 환형일 수 있는) 적어도 6개의 탄소 원자들을 각각 갖는 하나 이상의 단당류 단위들로 구성된 탄수화물 모이어티를 그 일부로서 갖는 화합물을 지칭한다. 대표적인 탄수화물로는 당(약 4, 5, 6, 7, 8 또는 9개의 단당류 단위를 포함하는 단당류, 이당류, 삼당류 및 올리고당류) 및, 전분, 글리코젠, 셀룰로오스 및 다당류 검과

같은 다당류가 포함된다. 구체적인 다당류로는 C5 및 그 이상(예컨대, C5, C6, C7 또는 C8) 당이 포함되며; 이 당류 및 삼당류로는 2 또는 3개의 단당류 단위들을 갖는 당(예컨대, C5, C6, C7 또는 C8)이 포함된다.

[0604] 일 실시형태에서, 본 발명의 조성물 및 방법에 이용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 단당류이다. 일 실시형태에 있어서, 단당류는 하기와 같은 N-아세틸갈락토사민이다:

[0605] [화학식 II]

[0606]

[0607] 다른 실시형태에 있어서, 본 발명의 조성물 및 방법에 이용하기 위한 탄수화물 컨쥬게이트는 하기로 이루어진 군으로부터 선택된다:

[0608] [화학식 II]

[0609]

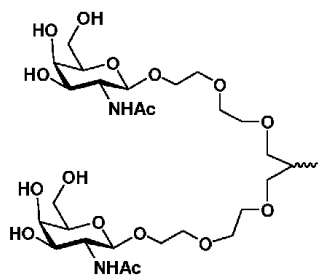
[0610] [화학식 III]

[0611]

[0612] [화학식 IV]

[0613]

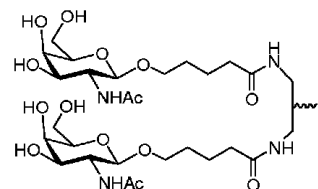
[0614] [화학식 V]



[0615]

[0616]

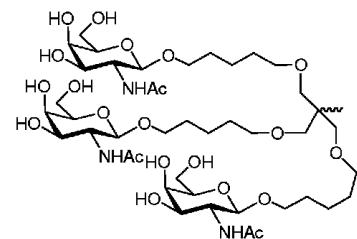
[화학식 VI]



[0617]

[0618]

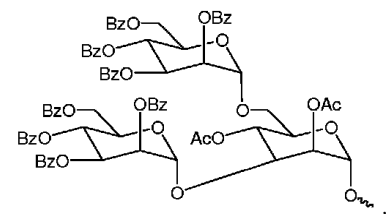
[화학식 VII]



[0619]

[0620]

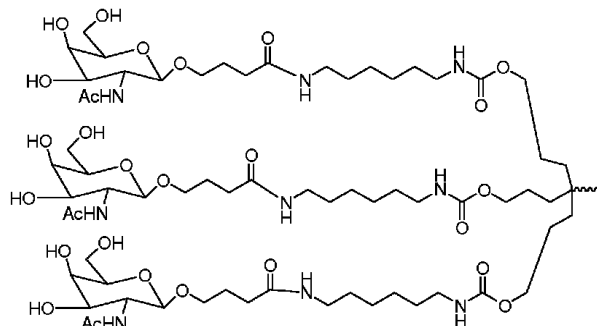
[화학식 VIII]



[0621]

[0622]

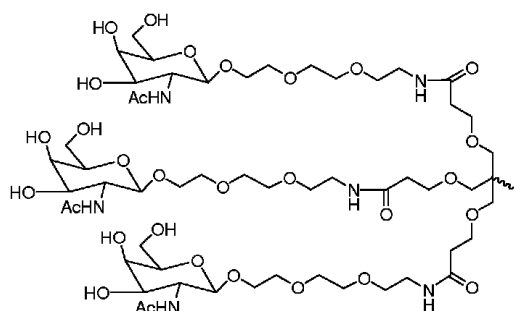
[화학식 IX]



[0623]

[0624]

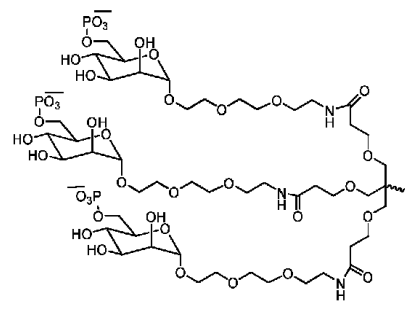
[화학식 X]



[0625]

[0626]

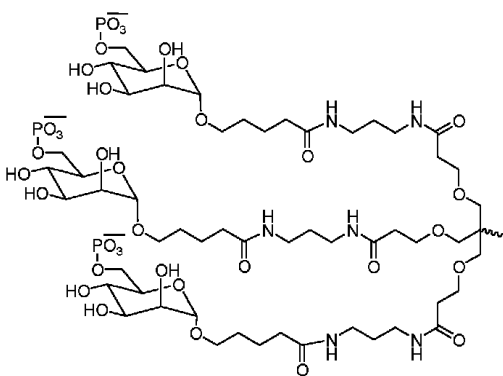
[화학식 XI]



[0627]

[0628]

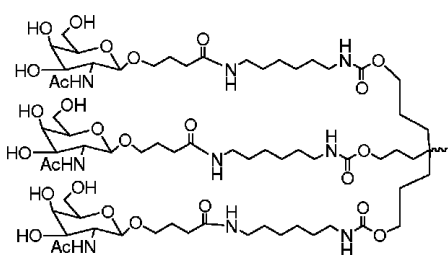
[화학식 XII]



[0629]

[0630]

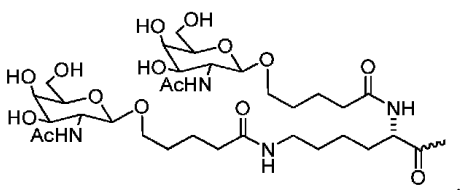
[화학식 XIII]



[0631]

[0632]

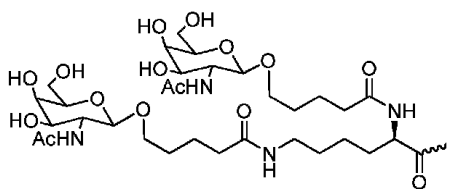
[화학식 XIV]



[0633]

[0634]

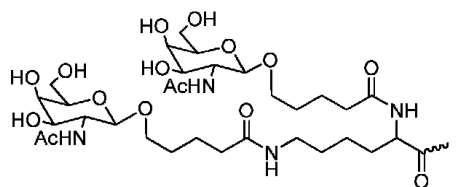
[화학식 XV]



[0635]

[0636]

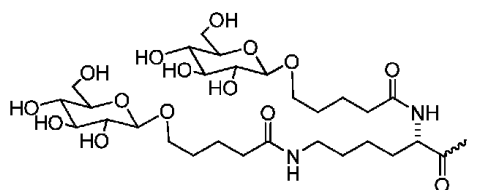
[화학식 XVI]



[0637]

[0638]

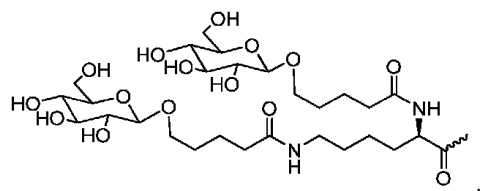
[화학식 XVII]



[0639]

[0640]

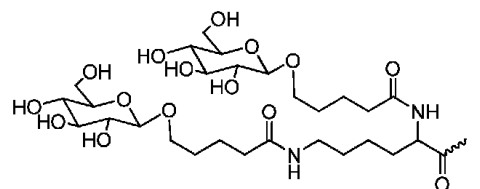
[화학식 XVIII]



[0641]

[0642]

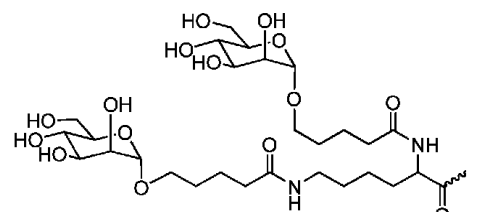
[화학식 XIX]



[0643]

[0644]

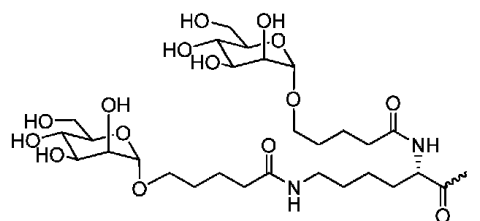
[화학식 XX]



[0645]

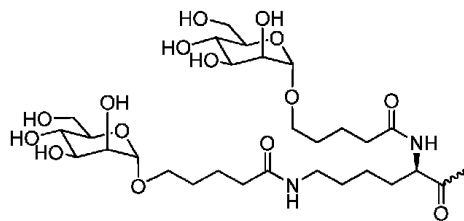
[0646]

[화학식 XXI]



[0647]

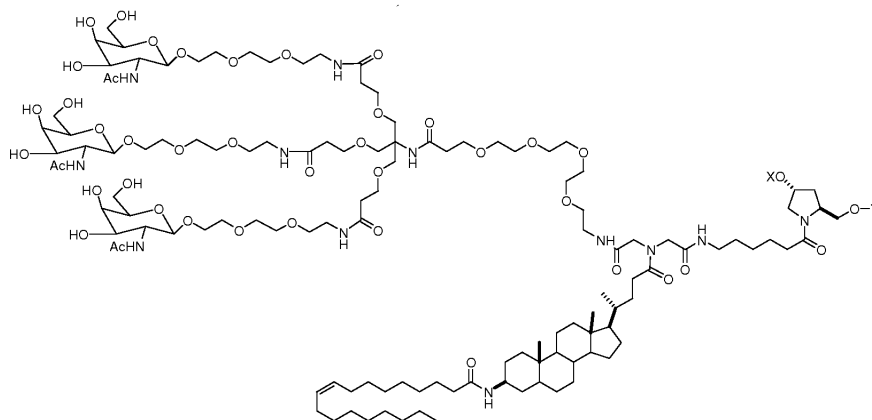
[0648] [화학식 XXII]



[0649]

[0650] 본원에 기술된 실시형태들에 이용하기 위한 다른 대표적인 탄수화물 컨쥬게이트는 다음을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다:

[0651] [화학식 XXIII]



[0652]

[0653] X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오타이드인 경우, 나머지 하나는 수소이다.

[0654] 일부 실시형태들에 있어서, 탄수화물 컨쥬게이트는 PK 조절제 및/또는 세포 침투 펩티드와 같지만, 이들에 한정되는 것은, 상술한 바와 같은 하나 이상의 추가적인 리간드들을 추가로 포함한다.

[0655] D. 링커

[0656] 일부 실시형태들에 있어서, 본원에 기술된 컨쥬게이트 또는 리간드는 절단될 수 있거나 절단될 수 없는 다양한 링커로 iRNA 올리고뉴클레오타이드에 부착될 수 있다.

[0657] "링커" 또는 "결합기"라는 용어는 화합물의 두 부분들을 결합하는, 예컨대, 화합물의 두 부분들을 공유적으로 부착하는 유기 모이어티를 의미한다. 링커는 통상적으로 직접 결합, 또는 원자, 예를 들어, 산소 또는 황, 단위, 예를 들어, NR8, C(O), C(O)NH, SO, SO₂, SO₂NH, 또는 원자의 사슬, 예컨대 비제한적으로 치환되거나 비치환된 알킬, 치환되거나 비치환된 알케닐, 치환되거나 비치환된 알키닐, 아릴알킬, 아릴알케닐, 아릴알키닐, 헤테로아릴알킬, 헤테로아릴알케닐, 헤테로아릴알키닐, 헤테로사이클릴알킬, 헤테로사이클릴알케닐, 헤테로사이클릴알키닐, 아릴, 헤테로아릴, 헤테로사이클릴, 사이클로알킬, 사이클로알케닐, 알킬아릴알킬, 알킬아릴알케닐, 알킬아릴알키닐, 알케닐아릴알킬, 알케닐아릴알케닐, 알케닐아릴알키닐, 알키닐아릴알킬, 알키닐아릴알케닐, 알키닐아릴알키닐, 알킬헤테로아릴알킬, 알킬헤테로아릴알케닐, 알킬헤테로아릴알키닐, 알케닐헤테로아릴알킬, 알케닐헤테로아릴알케닐, 알케닐헤테로아릴알키닐, 알키닐헤테로아릴알킬, 알키닐헤테로아릴알케닐, 알킬헤테로사이클릴알킬, 알킬헤테로사이클릴알케닐, 알킬헤테로사이클릴알키닐, 알케닐헤테로사이클릴알킬, 알케닐헤테로사이클릴알케닐, 알케닐헤테로사이클릴알키닐, 알키닐헤테로사이클릴알킬, 알키닐헤테로사이클릴알케닐, 알키닐헤테로사이클릴알키닐, 알킬아릴, 알케닐아릴, 알키닐아릴, 알킬헤테로아릴, 알케닐헤테로아릴, 알키닐헤테로아릴을 포함하며, 하나 이상의 메틸렌들은 O, S, S(O), SO₂, N(R8), C(O), 치환되거나 비치환된 아릴, 치환되거나 비치환된 헤테로아릴, 치환되거나 비치환된 헤테로사이클릭에 의해 중단되거나 종결될 수 있으며; R8은 수소, 아실, 지방족 또는 치환된 지방족이다. 일 실시형태에 있어서, 링커는 약 1 내지 24개 원자들, 2 내지 24개, 3 내지 24개, 4 내지 24개, 5 내지 24개, 6 내지 24개, 6 내지 18개, 7 내지 18개, 8 내지 18개 원자들, 7 내지 17개, 8 내지 17개, 6 내지 16개, 7 내지 16개 또는 8 내지 16개 원자들이다.

- [0658] 절단가능한 결합기는 세포 밖에서는 충분히 안정한 것이지만, 표적 세포로 들어오면 절단되어 링커가 결합시키는 2개 부분들을 방출하는 것이다. 바람직한 실시형태에 있어서, 절단가능한 결합기는 피검자의 혈액 내 또는 (예컨대, 혈액 또는 혈청 내에서 발견되는 조건을 모방하거나 나타내도록 선택될 수 있는) 제2 기준 조건 하에서보다 표적 세포 내 또는 (예컨대, 세포내 조건을 모방하거나 나타내도록 선택될 수 있는) 제1 기준 조건 하에서 적어도 약 10배, 20배, 30배, 40배, 50배, 60배, 70배, 80배, 90배 이상 또는 적어도 약 100배 더 빠르게 절단된다.
- [0659] 절단가능한 결합기는 절단 작용제, 예컨대, pH, 산화환원 전위 또는 분해 분자의 존재에 민감하다. 일반적으로, 절단 작용제는 혈청 또는 혈액 내에서 보다 세포 내에서 더 우세하거나 더 높은 수준 또는 활성으로 발견된다. 그러한 분해 작용제의 예로는: 예컨대, 환원에 의해 산화환원 절단가능한 결합기를 분해시킬 수 있는, 세포내에 존재하는 메르캡탄과 같은 산화 또는 환원 효소 또는 환원제를 비롯하여, 특정 기질에 대하여 선택되거나 기질 특이성이 없는 산화환원 작용제; 에스테라아제; 산성 환경을 발생시킬 수 있는 엔도솜 또는 작용제, 예컨대, 5 이하의 pH를 일으키는 엔도솜 또는 작용제; 일반적인 산으로 작용함으로써 산 절단가능한 결합기를 혼성화하거나 분해시킬 수 있는 효소, (기질 특이적일 수 있는) 펩티다아제 및 포스포타아제를 포함한다.
- [0660] 디설파이드 결합과 같은 절단가능한 결합기는 pH에 민감할 수 있다. 인간 혈청의 pH는 7.4인 반면에, 평균 세포 내 pH는 이보다 약간 더 낮은 약 7.1 내지 7.3에 이른다. 엔도솜은 5.5 내지 6.0의 범위에 이르는 더 산성인 pH를 가지며, 리소솜은 5.0 근처의 좀 더 산성인 pH를 가진다. 일부 링커는 바람직한 pH에서 절단되는 절단가능한 결합기를 가짐으로써, 세포 내부의 리간드로부터 또는 세포의 원하는 구획으로 양이온성 지질을 방출하게 된다.
- [0661] 링커는 특정 효소에 의해 절단될 수 있는 절단가능한 결합기를 포함할 수 있다. 링커내로 포함되는 절단가능한 결합기의 유형은 표적화되는 세포에 따라 달라질 수 있다. 예를 들어, 간-표적화 리간드는 에스테르기를 포함하는 링커를 통해 양이온성 지질에 결합될 수 있다. 간 세포는 에스테라아제가 풍부하며, 따라서, 링커는 에스테라아제가 풍부하지 않은 세포 유형 내에서보다 간 세포 내에서 더 효율적으로 절단될 것이다. 에스테라아제가 풍부한 기타 세포-유형은 폐, 신장 피질 및 고환의 세포를 포함한다.
- [0662] 펩티드 결합을 포함하는 링커는 간 세포 및 운할막세포와 같이, 펩티다아제가 풍부한 세포 유형을 표적으로 하는 경우에 이용될 수 있다.
- [0663] 일반적으로, 절단가능한 결합기 후보의 적합성은 후보 결합기를 절단하는 분해 작용제(또는 조건)의 능력을 시험함으로써 평가될 수 있다. 또한, 절단가능한 결합기 후보에 대하여 혈액 내에서 또는 기타 비표적 조직과 접촉하는 경우에 절단에 저항하는 능력을 시험하는 것도 바람직할 것이다. 따라서, 표적 세포 내에서 절단을 나타내도록 선택되는 제1 조건과 기타 조직 또는 생물학적 유체, 예컨대, 혈액 또는 혈청 내에서 절단을 나타내도록 선택되는 제2 기준 사이의 절단에 대한 상대적 민감도를 결정할 수 있다. 평가는 무세포 시스템, 세포 내, 세포 배양 내, 기관 또는 조직 배양 내, 또는 전체 동물 내에서 수행될 수 있다. 무세포 또는 배양 조건에서 초기 평가를 실시하고 전체 동물에서 추가의 평가에 의해 확인하는 것이 유용할 수 있다. 바람직한 실시형태들에 있어서, 유용한 후보 화합물은 세포(또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건)에서 혈액 또는 혈청(또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건)과 비교하여 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 약 100배 더 빨리 절단된다.
- [0664] *i. 산화환원 절단가능한 결합기*
- [0665] 일 실시형태에 있어서, 절단가능한 결합기는 산화 또는 환원시에 절단되는 산화환원 절단가능한 결합기이다. 환원적으로 절단가능한 결합기의 일 예는 디설파이드 결합기(-S-S-)이다. 절단가능한 결합기 후보가 적당한 "환원적으로 절단가능한 결합기"인지 여부 또는 예를 들어, 특정 iRNA 모이어티 및 특정 표적화 작용제와 함께 이용하기 위해 적당한지 여부를 결정하기 위하여, 본원에 기술된 방법을 살펴볼 수 있다. 예를 들어, 후보는 세포, 예컨대, 표적 세포 내에서 관찰될 수 있는 절단 속도를 모방하는, 당업계에서 알려진 시약을 이용한 기타 환원제, 또는 디티오프레이톨(DTT)과의 인큐베이션에 의해 평가될 수 있다. 후보는 혈액 또는 혈청 조건을 모방하도록 선택된 조건 하에서 평가될 수도 있다. 하나의 실시형태에서, 후보 화합물은 혈액 내에서 최대 약 10% 절단된다. 다른 실시형태들에 있어서, 유용한 후보 화합물은 혈액 (또는 세포외 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건 하)에서와 비교하여 세포 내 (또는 세포내 조건을 모방하도록 선택된 시험관내 조건 하)에서 적어도 약 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 약 100배 더 빨리 분해된다. 후보 화합물의 절단 속도는 세포내 매질을 모방하도록 선택된 조건 하에서 그리고 세포외 매질을 모방하도록 선택된 조건과 비교하여 표준 효소 역동학 분석법을 이용하여 결정될 수 있다.

[0666] ii. 포스페이트계 절단가능한 결합기

[0667] 다른 실시형태에서, 절단가능한 링커는 포스페이트계 절단가능한 결합기를 포함한다. 포스페이트계 절단가능한 결합기는 포스페이트기를 분해시키거나 혼성화하는 작용제에 의해 절단된다. 세포 내에서 포스페이트기를 절단하는 작용제의 일 예는 세포 내에서 포스포타아제와 같은 효소이다. 포스페이트계 결합기의 예는 $-O-P(O)(OR_k)-O-$, $-O-P(S)(OR_k)-O-$, $-O-P(S)(SR_k)-O-$, $-S-P(O)(OR_k)-O-$, $-O-P(O)(OR_k)-S-$, $-S-P(O)(OR_k)-S-$, $-O-P(S)(OR_k)-S-$, $-S-P(S)(OR_k)-O-$, $-O-P(O)(R_k)-O-$, $-O-P(S)(R_k)-O-$, $-S-P(O)(R_k)-O-$, $-S-P(S)(R_k)-O-$, $-S-P(O)(R_k)-S-$, 및 $-O-P(S)(R_k)-S$ 이다. 바람직한 실시형태들은 $-OP(O)(OH)-O-$, $-O-P(S)(OH)-O-$, $-O-P(S)(SH)-O-$, $-S-P(O)(OH)-O-$, $-O-P(O)(OH)-S-$, $-S-P(O)(OH)-S-$, $-OP(S)(OH)-S-$, $-S-P(S)(OH)-O-$, $-O-P(O)(H)-O-$, $-O-P(S)(H)-O-$, $-S-P(O)(H)-O-$, $-S-P(S)(H)-O-$, $-S-P(O)(H)-S-$, $-O-P(S)(H)-S$ 이다. 바람직한 일 실시형태는 $-O-P(O)(OH)-O$ 이다. 이들 후보들은 상술한 방법과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0668] iii. 산 절단가능한 결합기

[0669] 다른 실시형태에서, 절단가능한 링커는 산 절단가능한 결합기를 포함한다. 산 절단가능한 결합기는 산 조건 하에서 절단되는 결합기이다. 바람직한 실시형태에서, 산 절단가능한 결합기는 약 6.5 이하(예컨대, 약 6.0, 5.75, 5.5, 5.25, 5.0 이하)의 pH를 갖는 산성 환경에서나 또는 일반적인 산으로 작용할 수 있는 효소와 같은 작용제에 의해 절단된다. 세포 내에서, 엔도솜 및 리소솜과 같은 특이적인 낮은 pH 세포 기관은 산 절단가능한 결합기에 대하여 절단 환경을 제공할 수 있다. 산 절단가능한 결합기의 예로는 히드라존, 에스테르 및 아미노산의 에스테르를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 산 절단가능한 기는 일반식 $-C=NN-$, $C(O)O$, 또는 $-OC(O)-$ 을 가질 수 있다. 바람직한 일 실시형태는 에스테르(알콕시)의 산소에 부착된 탄소가 아릴기, 치환된 알킬기 또는 디메틸 펜틸 또는 t-부틸과 같은 삼차 알킬기인 경우이다. 이들 후보들은 상술한 방법과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0670] iv. 에스테르계 결합기

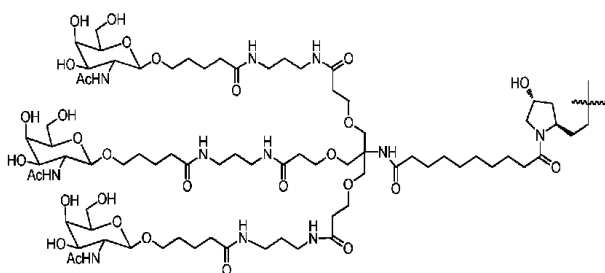
[0671] 다른 실시형태에서, 절단가능한 링커는 에스테르계 절단가능한 결합기를 포함한다. 에스테르계 절단가능한 결합기는 세포 내에서 에스테라아제 및 아미다아제와 같은 효소에 의해 절단된다. 에스테르계 절단가능한 결합기의 예로는 알킬렌, 알케닐렌 및 알킬닐렌기의 에스테르를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 에스테르 절단가능한 기는 일반식 $-C(O)O-$, 또는 $-OC(O)-$ 을 가진다. 이들 후보들은 상술한 방법과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

[0672] v. 펩티드계 절단기

[0673] 다른 실시형태에 있어서, 절단가능한 링커는 펩티드계 절단가능한 결합기를 포함한다. 펩티드계 절단가능한 결합기는 세포 내에서 펩티다아제 및 프로테아제와 같은 효소에 의해 절단된다. 펩티드계 절단가능한 결합기는 아미노산들 사이에서 형성되어 올리고펩티드(예를 들어, 디펩티드, 트리펩티드 등) 및 폴리펩티드를 생성하는 펩티드 결합이다. 펩티드계 절단가능한 기는 아미드기($-C(O)NH-$)를 포함하지 않는다. 아미드기는 임의의 알킬렌, 알케닐렌 또는 알킬닐렌 사이에서 형성될 수 있다. 펩티드 결합은 아미노산 사이에서 형성되어 펩티드 및 단백질을 생성하는 아미드 결합의 특별한 유형이다. 펩티드계 절단기는 일반적으로 아미노산들 사이에서 형성되어 펩티드 및 단백질을 생성하는 펩티드 결합(즉, 아미드 결합)에 한정되고 전체 아미드 작용기를 포함하지 않는다. 펩티드계 절단가능한 결합기는 일반식 $-NHCH(RA)C(O)NHCH(RB)C(O)-$ 를 가지며, 여기서 RA 및 RB는 2개의 인접한 아미노산들의 R 기체이다. 이들 후보들은 상술한 방법과 유사한 방법을 이용하여 평가될 수 있다.

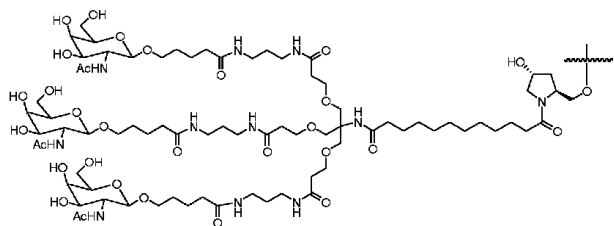
[0674] 일 실시형태에 있어서, 본 발명의 iRNA는 링커를 통해 탄수화물에 컨쥬게이트된다. 본 발명의 조성물 및 방법의 링커와의 iRNA 탄수화물 컨쥬게이트의 비한정 예로는 다음이 포함되지만, 여기에 한정되지 않는다:

[0675] [화학식 XXIV]



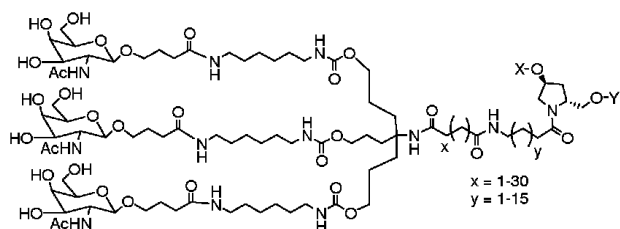
[0676]

[0677] [화학식 XXV]



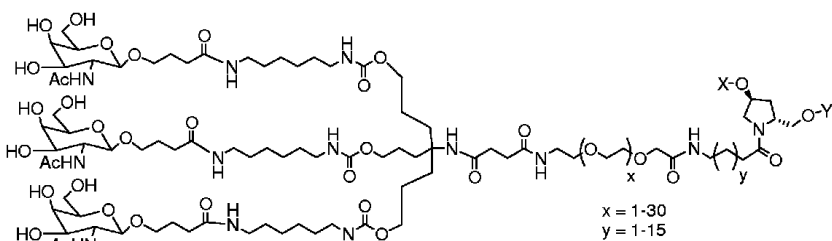
[0678]

[0679] [화학식 XXVI]



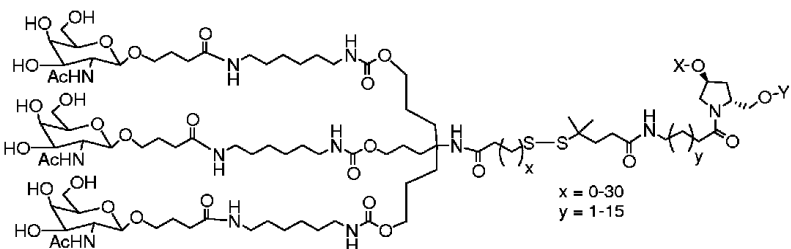
[0680]

[0681] [화학식 XXVII]



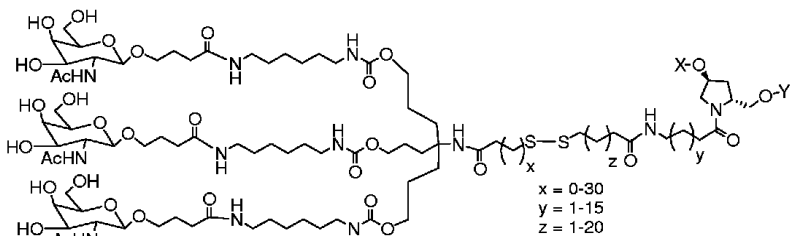
[0682]

[0683] [화학식 XXVIII]



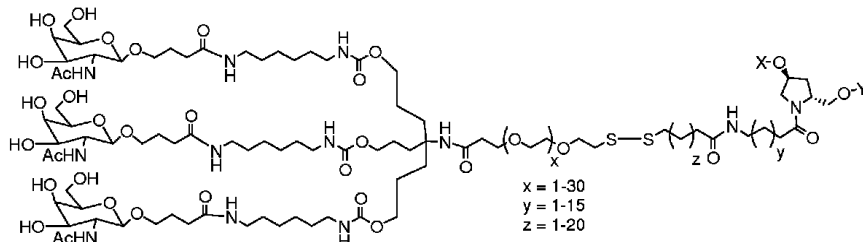
[0684]

[0685] [화학식 XXIX]

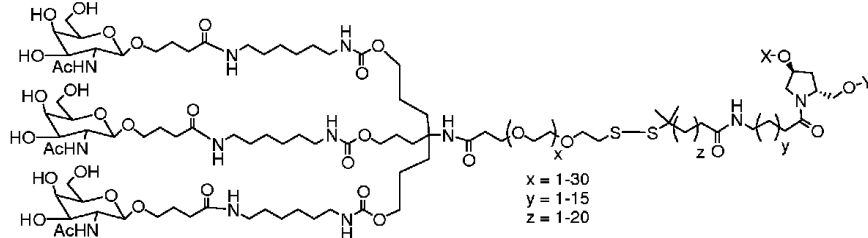


[0686]

[0687] [화학식 XXX]



[화학식 XXXI]

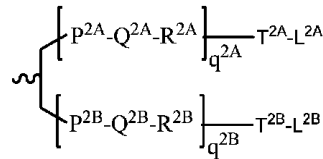


X 또는 Y 중 하나가 올리고뉴클레오타이드인 경우, 나머지 하나는 수소이다.

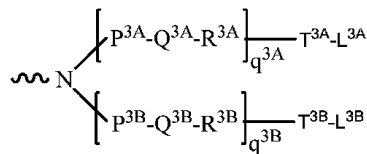
본 발명의 조성물 및 방법의 특정 실시형태들에 있어서, 리간드는 2가 또는 3가 분자 링커를 통해 부착된 하나 이상의 "GalNAc"(N-아세틸갈락토사민) 유도체이다.

일 실시형태에 있어서, 본 발명의 dsRNA는 화학식 (XXXII) 내지 (XXXV) 중 어느 하나에 나타난 구조의 군으로부터 선택된 2가 또는 3가 분자형 링커에 컨쥬게이트된다:

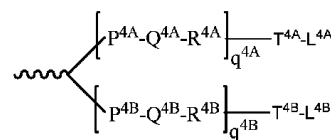
[화학식 XXXII]



[화학식 XXXIII]

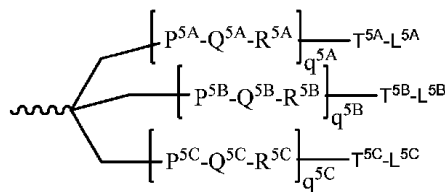


[화학식 XXXIV]



, 또는

[화학식 XXXV]



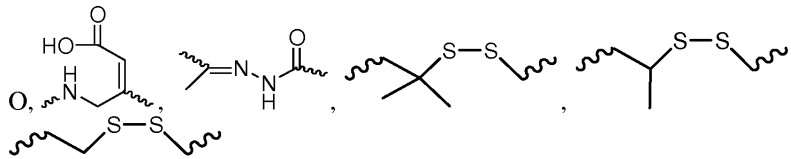
상기 식에서,

[0703] 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;

[0704] P^{2A} , P^{2B} , P^{3A} , P^{3B} , P^{4A} , P^{4B} , P^{5A} , P^{5B} , P^{5C} , T^{2A} , T^{2B} , T^{3A} , T^{3B} , T^{4A} , T^{4B} , T^{4A} , T^{5B} , T^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 부재이거나, CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH₂, CH₂NH 또는 CH₂O이고;

[0705] 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;

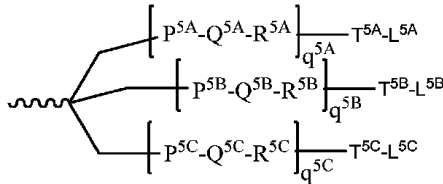
[0706] R^{2A} , R^{2B} , R^{3A} , R^{3B} , R^{4A} , R^{4B} , R^{5A} , R^{5B} , R^{5C} 는 각각 독립적으로 각각의 경우 부재이거나, NH, O, S, CH₂, C(O)O, C(O)NH, NHCH(R^a)C(O), -C(O)-CH(R^a)-NH-, CO, CH=N-O,



또는 헤테로사이클릴이며;

[0707] 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 컨쥬게이팅 GalNAc 유도체, 예를 들어, 화학식 (XXXV)의 것은 특히, 표적 유전자의 발현을 억제하기 위한 RNAi 작용제와 함께 이용하기에 특히 유용하다:

[0708] [화학식 XXXV]



(VII)

[0709]

[0710] 상기 식에서,

[0711] L^{5A} , L^{5B} 및 L^{5C} 는 단당류, 예를 들어, GalNAc 유도체를 나타낸다.

[0712] GalNAc 유도체를 컨쥬게이트시키는 적절한 2가 및 3가 분지형 링커 기의 예에는 상기에서 식 II, VII, XI, X 및 XIII으로 인용된 구조들이 포함되지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0713] RNA 컨쥬게이트의 제제를 교시하는 대표적인 미국 특허는 그 각각의 전체 내용이 본원에 참조로 포함되어 있는 미국 특허 번호 4,828,979; 4,948,882; 5,218,105; 5,525,465; 5,541,313; 5,545,730; 5,552,538; 5,578,717; 5,580,731; 5,591,584; 5,109,124; 5,118,802; 5,138,045; 5,414,077; 5,486,603; 5,512,439; 5,578,718; 5,608,046; 4,587,044; 4,605,735; 4,667,025; 4,762,779; 4,789,737; 4,824,941; 4,835,263; 4,876,335; 4,904,582; 4,958,013; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,082,830; 5,112,963; 5,214,136; 5,245,022; 5,254,469; 5,258,506; 5,262,536; 5,272,250; 5,292,873; 5,317,098; 5,371,241, 5,391,723; 5,416,203, 5,451,463; 5,510,475; 5,512,667; 5,514,785; 5,565,552; 5,567,810; 5,574,142; 5,585,481; 5,587,371; 5,595,726; 5,597,696; 5,599,923; 5,599,928 및 5,688,941; 6,294,664; 6,320,017; 6,576,752; 6,783,931; 6,900,297; 7,037,646; 8,106,022호를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다.

[0714] 주어진 화합물 내의 모든 위치들이 균일하게 변형되는 것은 필요하지 않으며, 사실상 상기 언급된 변형들 중 하나를 초과하는 것이 단일 화합물 내 또는 심지어 iRNA 내의 단일 뉴클레오타이드에 포함될 수 있다. 본 발명은 키 메릭 화합물인 iRNA 화합물도 포함한다.

[0715] 본 발명의 맥락에 있어서, "키메릭" iRNA 화합물 또는 "키메라"는 각각이 적어도 하나의 단mer 단위, 즉, dsRNA 화합물의 경우 뉴클레오티드로 구성된 둘 이상의 화학적으로 별개인 영역들을 포함하는 iRNA 화합물, 바람직하게는, dsRNA이다. 이들 iRNA는 통상적으로 적어도 하나의 영역을 포함하며, 여기서, RNA는 변형되어 iRNA 상에 뉴클레아제 분해에 대한 증가된 내성, 증가된 세포 섭취 및/또는 표적 핵산에 대해 증가된 결합 친화성을 부여한다. iRNA의 추가적인 영역은 RNA:DNA 또는 RNA:RNA 혼성물을 절단할 수 있는 효소에 대한 기질로 작용할 수 있다. 예를 들면, RNase H는 RNA:DNA 듀플렉스의 RNA 가닥을 절단하는 세포 엔도뉴클레아제이다. 그러므로, RNase H의 활성화로 인해 RNA 표적의 절단이 일어나서, 유전자 발현의 iRNA 억제의 효율을 현저히 향상시킨다. 결과적으로, 동일한 표적 영역에 혼성화하는 포스포로티오에이트 대역시 dsRNA와 비교하여, 키메릭 dsRNA가 이용되는 경우 더 짧은 iRNA로 유사한 결과를 종종 얻을 수 있다. RNA 표적의 절단은 겔 전기영동 및 필요하면, 당업계에 알려진 연관된 핵산 혼성화 기법에 의해 통상적으로 검출될 수 있다.

[0716] 특정한 경우에 있어서, iRNA의 RNA는 비-리간드 기에 의해 변형될 수 있다. iRNA의 활성화, 세포 분포 또는 세포 흡수를 향상시키기 위해 수많은 비-리간드 분자들이 iRNA에 컨쥬게이트되었으며, 그러한 컨쥬게이션을 수행하기 위한 절차는 과학 문헌에서 이용가능하다. 그러한 비-리간드 모이어티들은 콜레스테롤(문헌[Kubo, T. 등, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1): 54-61]; [Letsinger 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553]), 콜산(문헌[Manoharan 등, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053]), 티오에테르, 예컨대, 핵실-S-트리틸티올(문헌[Manoharan 등, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306]; [Manoharan 등, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765]), 티오콜레스테롤(문헌[Oberhauser 등, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533]), 지방족 사슬, 예컨대, 도데칸디올 또는 운데실 잔기(문헌[Saison-Behmoaras 등, *EMBO J.*, 1991, 10:111]; [Kabanov 등, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327]; [Svinarchuk 등, *Biochimie*, 1993, 75:49]), 인지질, 예컨대, 디-헥사데실-rac-글리세롤 또는 트리에틸암모늄 1,2-디-O-헥사데실-rac-글리세롤-3-H-포스포네이트(문헌[Manoharan 등, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651]; [Shea 등, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777]), 폴리아민 또는 폴리에틸렌 글리콜 사슬(문헌[Manoharan 등, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969]), 또는 아다만탄 아세트산(문헌[Manoharan 등, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651]), 팔미틸 모이어티(문헌[Mishra 등, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229]), 또는 옥타데실아민 또는 핵실아미노-카르보닐-옥시콜레스테롤 모이어티(문헌[Crooke 등, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923])와 같은 지질 모이어티들을 포함한다. 그러한 RNA 컨쥬게이트의 제제를 교시하는 대표적인 미국 특허는 상기에 열거되어 있다. 통상적인 컨쥬게이션 프로토콜은 서열의 하나 이상의 위치들에서 아미노링크를 보유하는 RNA의 합성을 포함한다. 이후 아미노기는 적절한 커플링 시약 또는 활성화 시약을 이용하여 컨쥬게이트되는 분자와 반응된다. 컨쥬게이션 반응은 고체 지지체에 여전히 결합된 RNA 또는 RNA의 절단 후에 용액 상(phase)에서 수행될 수 있다. HPLC에 의한 RNA 컨쥬게이트의 정제는 통상적으로 순수한 컨쥬게이트를 제공한다.

[0717] V. 본 발명의 iRNA의 전달

[0718] 본 발명의 iRNA의 세포, 예컨대, 인간 피검자와 같은 피검자(예컨대, 본원에 기술된 바와 같이 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자와 같이 이를 필요로 하는 피검자) 내의 세포로의 전달은 수많은 상이한 방법으로 달성될 수 있다. 예를 들면, 전달은 세포를 본 발명의 iRNA와 시험관 내 또는 생체 내에서 접촉시킴으로써 수행될 수 있다. 생체 내 전달은 iRNA, 예컨대, dsRNA를 포함하는 조성물을 피검자에게 투여함으로써 직접적으로 수행될 수도 있다. 대안적으로, 생체 내 전달은 iRNA를 인코딩하고 그의 발현을 지시하는 하나 이상의 벡터를 투여함으로써 간접적으로 수행될 수 있다. 그러한 대안은 하기에서 더 토의된다.

[0719] 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, 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 들면, 전달된 분자의 생물학적 안정성, 비-특이적 효과의 방지 및 표적 조직 내에서 전달된 분자의 축적을 포함한다. iRNA의 비-특이적인 효과는 예를 들면, 조직으로의 직접 주사 또는 이식에 의해 또는 제제를 국소적으로 투여함으로써 국소 투여에 의하여 최소화될 수 있다. 치료 부위의 국소 투여는 작용제의 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 들면, 시노물구스 원숭이 내에 유리체내 주사(Tolentino, MJ. 등, (2004) *Retina* 24:132-138) 및 마우스 내의 망막하 주사(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(Pille, J. 등(2005) *Mol. Ther.*11:267-274), 종양 보유 마우스들의 생존을 연장시킬 수 있다(Kim, WJ. 등, (2006) *Mol. Ther.*14:343-350; Li, S. 등, (2007) *Mol. Ther.*15:515-523). RNA 간섭은 직접 주사에 의하여 CNS에(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(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 친지방성기로의 화학적 컨쥬게이션에 의하여 변형되어 세포 흡수를 향상시키고 분해를 방지할 수 있다. 예를 들면, 친지방성 콜레스테롤 모이어티에 컨쥬게이트된 ApoB에 대하여 지시된 iRNA는 마우스들에게 전신으로 주사되어 간 및 공장 내에서 apoB mRNA의 녹다운을 일어나게 하였다(Soutschek, J. 등, (2004) *Nature* 432:173-178). iRNA의 압타머로의 컨쥬게이션은 전립선암의 마우스 모델 내에서 종양 성장을 억제하고 종양 퇴화를 조정하는 것이 밝혀졌다(McNamara, JO. 등, (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015). 대안적인 일 실시형태에 있어서, 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, 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 본원에 참조로 포함되어 있는 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"(Zimmermann, TS. 등, (2006) *Nature* 441:111-114), 카르디올리핀(Chien, PY. 등, (2005) *Cancer Gene Ther.*12:321-328; Pal, A. 등, (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091), 폴리에틸렌이민(Bonnet ME. 등, (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 71659), Arg-Gly-Asp (RGD) 펩티드(Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487), 및 폴리아미도아민(Tomalia, DA. 등, (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H. 등, (1999) *Pharm. Res.*16:1799-1804)을 포함한다. 일부 실시형태들에 있어서, iRNA는 전신 투여를 위해 사이클로덱스트린과 복합체를 형성한다. iRNA 및 사이클로덱스트린의 투여 방법 및 약학적 조성물은 그 전체가 본원에 참조로 포함되어 있는, 미국 특허 번호 7,427,605호에서 찾을 수 있다.

[0720] A. 본 발명의 벡터 인코딩된 iRNA

[0721] CFB, C3 또는 C9 유전자를 표적으로 하는 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 00/22113, Conrad, 국제 특허 출원 공개 번호 WO 00/22114, 및 Conrad, 미국 특허 6,054,299 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. 그러한 이식 유전자는 통합 또는 비-통합 벡터일 수 있는 선형 컨스트럭트, 원형 플라스미드, 또는 바이러스성 벡터로 도입될 수 있다. 이식 유전자는 염색체의 플라스미드로서 유전될 수 있도록 구성될 수도 있다(Gassmann 등, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

[0722] iRNA의 개별 가닥 또는 가닥들은 발현 벡터 상의 프로모터로부터 전사될 수 있다. 2개의 개별 가닥들이 발현되어 예를 들어, dsRNA를 발생시킬 경우, 2개의 개별 발현 벡터는 표적 세포로 (예컨대, 전달감염(transfection) 또는 감염에 의해) 공-도입(co-introduced)될 수 있다. 대안적으로, dsRNA의 각각의 개별 가닥은 둘 모두가 동일한 발현 플라스미드 상에 위치되어 있는 프로모터들에 의해 전사될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, dsRNA는 링커 폴리뉴클레오타이드 서열에 의해 합쳐진 역반복(inverted repeat) 폴리뉴클레오타이드로 발현되어 dsRNA는 줄기 및 루프 구조를 가진다.

[0723] iRNA 발현 벡터는 일반적으로 DNA 플라스미드 또는 바이러스성 벡터이다. 진핵 세포와 양립하는 발현 벡터, 바

람직하게는 척추동물 세포와 양립하는 발현 벡터는 본원에 기술된 바와 같이 iRNA의 발현을 위한 재조합 컨스트럭트를 생성하는데 이용될 수 있다. 진핵 세포 발현 벡터는 당업계에 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.

[0724] iRNA 발현 플라스미드는 양이온성 지질 담체(예컨대, 올리고펙타민) 또는 비-양이온성 지질계 담체(예컨대, Transit-TKOTM)와의 복합체로서 표적 세포에 트랜스펙션될 수 있다. 일 주일 이상의 기간에 걸쳐 표적 RNA의 상이한 영역을 표적으로 하는 iRNA-매개 녹다운에 대한 복수의 지질 트랜스펙션도 본 발명에 의해 고려된다. 숙주 세포로 벡터를 성공적으로 도입하는 것은 다양한 알려진 방법을 이용하여 모니터링될 수 있다. 예를 들면, 일시 트랜스펙션은 녹색 형광 단백질(GFP)과 같은 형광 마커와 같은 리포터로 표시될 수 있다. 생체 외에서 세포의 안정된 트랜스펙션은 하이그로마이신 B 내성과 같이, 특정 환경 요인(예컨대, 항생제 및 약물)에 내성을 갖는 트랜스펙션된 세포를 제공하는 마커를 이용하여 확보할 수 있다.

[0725] 본원에 기술된 방법 및 조성물을 이용하여 활용될 수 있는 바이러스성 벡터 시스템은 (a) 아데노바이러스 벡터; (b) 렌티바이러스 벡터, 몰로니 뮤린 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-결함 바이러스도 유리할 수 있다. 상이한 벡터가 세포 계층으로 혼입되거나 혼입되지 않을 수 있다. 컨스트럭트는 원한다면, 트랜스펙션용 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.

[0726] 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.

[0727] 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 들면, 엑디손, 에스트로젠, 프로그스테론, 테트라사이클린, 이합체화의 화학적 유도체 및 이소프로필-베타-D1-티오갈락토피라노시드(IPTG)에 의한 조절을 포함한다. 당업자는 iRNA 이식 유전자의 의도된 이용을 기초로 하여 적절한 조절/프로모터 서열을 선택할 수 있게 된다.

[0728] iRNA를 인코딩하는 핵산 서열들을 포함하는 바이러스성 벡터를 이용할 수 있다. 예를 들면, 레트로바이러스성 벡터를 이용할 수 있다(문헌[Miller 등, *Meth. Enzymol.* 217:581-599 (1993)] 참조). 그러한 레트로바이러스성 벡터는 바이러스성 계층의 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 들면, 줄기 세포를 화학요법에 더 내성이 있게 하기 위하여 조절 줄기 세포로 mdrl 유전자를 전달하는 레트로바이러스성 벡터의 이용을 기술하는 Boesen 등, *Biotherapy* 6:291-302 (1994)에서 찾을 수 있다. 유전자 요법에서 레트로바이러스성 벡터의 이용을 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 들면, 본원에 참조로 포함된 미국 특허제6,143,520호; 5,665,557호; 및 5,981,276호에 기술된 HIV계 벡터를 포함한다.

[0729] 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. Kozarsky and Wilson, *Current Opinion in Genetics and Development* 3:499-503 (1993)은 아

테노바이러스계 유전자 요법의 리뷰를 제시한다. 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 [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.

[0730] 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 5,252,479호; 미국 특허 5,139,941호; 국제 특허 출원 번호 WO 94/13788호; 및 국제 특허 출원 번호 WO 93/24641호에 기술되어 있다.

[0731] 본 발명의 iRNA 전달에 적당한 다른 바이러스성 벡터는 우두 바이러스와 같은 수두 바이러스, 예를 들면, 변형된 바이러스 앙카라(MVA) 또는 NYVAC와 같은 약독화된 우두, 계두 또는 카나리아 수두와 같은 조류두이다.

[0732] 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 들면, 렌티바이러스성 벡터는 수포성 구내염 바이러스(VSV), 광견병, 에볼라, 모콜라 등으로부터 유래한 표면 단백질로 슈도타이프될 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.

[0733] 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.

[0734] VI. 본 발명의 약학적 조성물

[0735] 본 발명은 본 발명의 iRNA를 포함하는 약학적 조성물 및 제형도 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 본원에 기술된 바와 같은 iRNA 및 약학적으로 허용 가능한 담체를 포함하는 약학적 조성물이 본원에 제공된다. iRNA를 포함하는 약학적 조성물은 CFB, C3 및/또는 C9 유전자의 발현 또는 활성과 연관된 질병 또는 장애, 예컨대, 본원에 기술된 바와 같이 보체 성분-관련 질병을 치료하는데 유용하다. 그러한 약학적 조성물은 전달의 방식에 기초하여 제형화된다. 일례는 비경구 전달을 통한, 예컨대, 피하(SC) 또는 정맥 내(IV) 전달에 의한 전신 투여용으로 제형화되는 조성물이다. 다른 예는 예컨대, 연속 펌프 주입에 의한 것과 같이, 뇌의 주입에 의한 뇌실질로의 직접 전달을 위해 제형화되는 조성물이다. 본 발명의 약학적 조성물은 표적 유전자의 발현을 억제하는데 충분한 투여량으로 투여될 수 있다. 일반적으로, 본 발명의 iRNA의 적당한 용량은 일당 수여자의 체중 kg당 약 0.001 내지 약 200.0 밀리그램의 범위에 있으며, 일반적으로 일당 체중 kg당 약 1 내지 50 mg의 범위에 있을 것이다. 예를 들면, 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 10 mg/kg, 약 20 mg/kg, 약 30 mg/kg, 약 40 mg/kg, 또는 약 50 mg/kg으로 투여될 수 있다.

[0736] 예를 들어, RNAi 작용제, 예를 들어, dsRNA는 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0737] 다른 실시형태에 있어서, 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, 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.

[0738] 예를 들면, dsRNA는 약 0.01, 0.02, 0.03, 0.04, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0739] 다른 실시형태에 있어서, 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 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 실시형태에 있어서, dsRNA는 약 10 mg/kg 내지 약 30 mg/kg의 용량으로 투여된다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0740] 예를 들면, 피검자에는 iRNA의 단일의 치료량, 예컨대 약 0.1, 0.125, 0.15, 0.175, 0.2, 0.225, 0.25, 0.275, 0.3, 0.325, 0.35, 0.375, 0.4, 0.425, 0.45, 0.475, 0.5, 0.525, 0.55, 0.575, 0.6, 0.625, 0.65, 0.675, 0.7, 0.725, 0.75, 0.775, 0.8, 0.825, 0.85, 0.875, 0.9, 0.925, 0.95, 0.975, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5, 14, 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5, 17, 17.5, 18, 18.5, 19, 19.5, 20, 20.5, 21, 21.5, 22, 22.5, 23, 23.5, 24, 24.5, 25, 25.5, 26, 26.5, 27, 27.5, 28, 28.5, 29, 29.5, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 또는 약 50 mg/kg이 피하 또는 정맥내 투여될 수 있다. 인용된 값에 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0741] 일부 실시형태들에 있어서, 피검자에는 예를 들어, 다중 용량의 iRNA의 치료량, 예를 들어, 용량 약 0.1, 0.125, 0.15, 0.175, 0.2, 0.225, 0.25, 0.275, 0.3, 0.325, 0.35, 0.375, 0.4, 0.425, 0.45, 0.475, 0.5, 0.525, 0.55, 0.575, 0.6, 0.625, 0.65, 0.675, 0.7, 0.725, 0.75, 0.775, 0.8, 0.825, 0.85, 0.875, 0.9, 0.925, 0.95, 0.975, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5, 14, 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5, 17, 17.5, 18, 18.5, 19, 19.5, 20, 20.5, 21, 21.5, 22, 22.5, 23, 23.5, 24, 24.5, 25, 25.5, 26, 26.5, 27, 27.5, 28, 28.5, 29, 29.5, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 약 50 mg/kg이 예를 들어, 피하 또는 정맥내로 투여된다. 다중-용량 양생법은 예를 들어, 2일, 3일, 4일, 5일, 6일, 7일 또는 그 이상에 있어서, 치료량의 iRNA의 매일의 투여를 포함할 수 있다.

[0742] 다른 실시형태들에 있어서, 피검자에는 예를 들어, 반복 용량의 iRNA의 치료량, 예를 들어, 용량 약 0.1, 0.125, 0.15, 0.175, 0.2, 0.225, 0.25, 0.275, 0.3, 0.325, 0.35, 0.375, 0.4, 0.425, 0.45, 0.475, 0.5, 0.525, 0.55, 0.575, 0.6, 0.625, 0.65, 0.675, 0.7, 0.725, 0.75, 0.775, 0.8, 0.825, 0.85, 0.875, 0.9, 0.925, 0.95, 0.975, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5, 14, 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5, 17, 17.5, 18, 18.5, 19, 19.5, 20, 20.5, 21, 21.5, 22, 22.5, 23, 23.5, 24, 24.5, 25, 25.5, 26, 26.5, 27, 27.5, 28, 28.5, 29, 29.5, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 약 50 mg/kg이 예를 들어, 피하 또는 정맥내로 투여된다. 반복-용량 양생법은 정기적으로, 예를 들어, 격일로, 3일마다, 4일마다, 주 2회, 주 1회, 격주로 또는 월 1회로의, 치료량의 iRNA의 투여를 포함할 수 있다.

[0743] 약학적 조성물은 소정의 기간 예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 및 21, 22, 23, 24 또는 약 25분 기간에 걸쳐, 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 투여는 예를 들어, 정기적으로, 예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월 또는 그 이상 동안 주마다, 2주마다(즉, 격주로) 반복될 수 있다. 초기 치료 양생법 후에, 치료는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 예를 들어, 3개월 동안 주마다 또는 격주의 투여 후에,

투여는 6개월 또는 1년 또는 그 이상 동안 월 1회 반복될 수 있다.

- [0744] 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 당업계에 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.
- [0745] 다른 실시형태들에 있어서, 단일 용량의 약학적 조성물은 장기적으로 지속하여, 이후 용량은 3, 4 또는 5일 간격 이하, 또는 1, 2, 3 또는 4주 간격 이하로 투여된다. 본 발명의 일부 실시형태들에 있어서, 단일 용량의 본 발명의 약학적 조성물은 주 1회 투여된다. 본 발명의 다른 실시형태들에 있어서, 단일 용량의 본 발명의 약학적 조성물은 2개월마다 투여된다.
- [0746] 당업자는 질병 또는 장애의 중증도, 이전 치료, 피검자의 일반 건강 및/또는 연령 및 기타 현재 질병을 포함하지만, 여기에 한정되지 않는 특정 인자는 피검자를 효과적으로 치료하는데 필요한 투여량 및 타이밍(timing)에 영향을 줄 수 있다는 것을 알 것이다. 또한, 피검자를 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.
- [0747] 마우스 유전학의 진보로 인하여 CFB, C3 또는 C9의 발현 감소로부터 이득을 보게 되는 장애와 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 당업계에 알려져 있으며 예를 들어, 콜라겐-유도 관절염 마우스 모델(Courtenay, J.S., 등 (1980) *Nature* 283, 666-668), 심근 허혈(Homeister JW and Lucchesi BR (1994) *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 34:17-40), 오브알부민 유도 천식 마우스 모델(예를 들어, 문헌[Tomkinson A., 등 (2001). *J. Immunol.* 166, 5792-5800]), (NZBxNZW)F1, MRL/Fas^{lpr}(MRL/lpr) 및 BXSB 마우스 모델(Theofilopoulos, A. N. and Kono, D. H. 1999. *Murine lupus models: gene-specific and genome-wide studies*. In Lahita R. G., ed., *Systemic Lupus Erythematosus*, 3rd edn, p. 145. Academic Press, San Diego, CA), 마우스 aHUS 모델(Goicoechea de Jorge 등 (2011) *The development of atypical hemolytic uremic syndrome depends on complement C5*, *J Am Soc Nephrol* 22:137-145)을 포함한다.
- [0748] 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.
- [0749] iRNA는 간(예컨대, 간의 간세포)과 같은 특정 조직을 표적으로 하는 방식으로 전달될 수 있다.
- [0750] 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 bases), 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(예를컨대, 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-도데실아자사이클로헥탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 C₁₋₂₀ 알킬 에스테르(예를 들어, 이소프로필미리스테이트 IPM), 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염을

포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 국소 제형은 본원에 참조로 포함된 미국 특허 6,747,014호에 상세히 기술되어 있다.

[0751] A. 막 분자 어셈블리를 포함하는 iRNA 제형

[0752] 본 발명의 조성물 및 방법에 이용되는 iRNA는 막 분자 어셈블리, 예컨대, 리포솜 또는 미셀 내에서 전달을 위해 제형화될 수 있다. 본원에서 이용된 "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 부위로의 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.

[0753] RNAi 작용제를 포함하는 리포솜은 다양한 방법에 의해 제조될 수 있다. 일례에서, 리포솜의 지질 구성성분은 미셀이 지질 구성성분으로 형성되도록 세제에 용해된다. 예를 들면, 지질 구성성분은 양친매성 양이온성 지질 또는 지질 컨쥬게이트일 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 의해 제거되어 RNAi 작용제의 리포솜 제제를 산출한다.

[0754] 필요하면, 응축을 보조하는 담체 화합물은 응축 반응 동안에 예컨대, 조절된 첨가에 의해 첨가될 수 있다. 예를 들면, 담체 화합물은 핵산 이외의 중합체(예컨대, 스페르민 또는 스페르미딘)일 수 있다. 또한, pH는 조절되어 응축을 유리하게도 할 수 있다.

[0755] 전달 운반체의 구조적 구성성분으로서 폴리뉴클레오티드/양이온 지질 복합체를 포함하는 안정한 폴리뉴클레오티드 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 nm 내지 200 nm) 및 상대적으로 균일한 응집체를 원하는 경우 미세유동화를 이용할 수 있다(Mayhew 등, *Biochim. Biophys. Acta* 775:169, 1984). 그러한 방법은 RNAi 작용제 제제를 리포솜으로 패키징하도록 용이하게 개조된다.

[0756] 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(Wang 등, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1987, 147, 980-985).

[0757] 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(Zhou 등, *Journal of Controlled Release*, 1992, 19, 269-274).

[0758] 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, 음이

온성 융합성 리포솜은 주로 디올레오일 포스파티딜에탄올아민(DOPE)으로부터 형성된다. 다른 유형의 리포솜 조성물은 예를 들면, 대두 PC 및 계란 PC와 같이 포스파티딜콜린(PC)으로부터 형성된다. 다른 유형은 인지질 및/또는 포스파티딜콜린 및/또는 콜레스테롤의 혼합물로부터 형성된다.

- [0759] 시험관 내 및 생체 내에서 세포로 리포솜을 도입하는 다른 방법의 예는 미국 특허 5,283,185호; 미국 특허 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.
- [0760] 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 사이클로스포린-A를 전달하였다. 결과에 따르면 그러한 비이온성 리포솜 시스템은 사이클로스포린-A의 피부의 상이한 층들의 침착을 촉진시키는데 효과적이었다(Hu 등, *S.T.P. Pharma. Sci.*, 1994, 4(6) 466).
- [0761] 리포솜은 "입체적으로 안정화된" 리포솜도 포함하는데, 본원에 이용된 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, 그러한 입체적으로 안정화된 리포솜의 향상된 순환 반감기는 세망내피계통(RES)의 세포로의 감소된 흡수로부터 유래한다고 당업계에서 간주된다(Allen 등, *FEBS Letters*, 1987, 223, 42); [Wu 등, *Cancer Research*, 1993, 53, 3765].
- [0762] 하나 이상의 글리코지질을 포함하는 다양한 리포솜이 당업계에 알려져 있다. Papahadjopoulos 등(*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(*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 1988, 85, 6949)에 의해 상세히 설명되었다. 양쪽 모두가 Allen 등에 속하는 미국 특허 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 제5,543,152 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.
- [0763] 일 실시형태에 있어서, 양이온성 리포솜이 이용된다. 양이온성 리포솜은 세포막으로 융합할 수 있는 이점을 가진다. 비-양이온성 리포솜은 비록 원형질막과 효율적으로 융합할 수 없다고 하더라도 생체 내에서 대식세포들에 의해 취해지고, RNAi 작용제를 대식세포들로 전달하기 위해 이용될 수 있다.
- [0764] 리포솜의 다른 이점은 하기를 포함한다; 천연 인지질로부터 얻은 리포솜은 생물학적 적합성 및 생물분해성이 있고; 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(Rosoff, in "Pharmaceutical Dosage Forms," Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p. 245). 리포솜 제형의 제제에 있어서 중요한 고려사항은 리포솜의 지질 표면 전하, 소낭 크기 및 수성 부피이다.
- [0765] 양으로 대전된 합성 양이온성 지질인 N-[1-(2,3-디올레일옥시)프로필]-N,N,N-트리메틸암모늄 클로라이드(DOTMA)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 4,897,355호 참조).
- [0766] DOTMA 유사체인 1,2-비스(올레오일옥시)-3-(트리메틸암모니아)프로판(DOTAP)을 인지질과 병용하여 DNA-복합 소낭을 형성할 수 있다. Lipofectin™ (Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg, Md.)은 고도의 음이온성 핵산을 음으로 대전된 폴리뉴클레오티드와 자발적으로 상호작용하는 양으로 대전된 DOTMA 리포솜을 포함하는 살

아있는 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, Indianapolis, Indiana)은 올레오일 모이어티들이 에테르 결합보다는 에스테르에 의해 결합된다는 점에서 DOTMA와 상이하다.

[0767] 다른 보고된 양이온성 지질 화합물은 예를 들어, 두가지 유형의 지질 중 하나에 컨쥬게이트되고 5-카르복시스페르밀글리신 디옥타올레오일아미드("DOGS")(Transfectam™, Promega, Madison, Wisconsin) 및 디팔미토일포스와 티딜에탄올아민 5-카르복시스페르밀-아미드("DPPE")와 같은 화합물을 포함하는 카르복시스페르민을 포함하는 다양한 모이어티들에 컨쥬게이션된 것들을 포함한다(예컨대, 미국 특허 5,171,678호 참조).

[0768] 다른 양이온성 지질 컨쥬게이트는 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 컨쥬게이트하여 제조되는 지질폴리리신(lipopolylysine)은 혈청의 존재하에 트랜스펙션에 대하여 유효한 것으로 보고되었다(Zhou, X. 등, *Biochim. Biophys. Acta* 1065:8, 1991). 특정 세포주에 대하여, 컨쥬게이트된 양이온성 지질을 포함하는 그러한 리포솜은 DOTMA-함유 조성물보다 더 낮은 독성을 보이며 더 효율적인 트랜스펙션을 제공하는 것으로 전해진다. 기타 상업적으로 이용 가능한 양이온성 지질 생성물은 DMRIE 및 DMRIE-HP(Vical, La Jolla, California) 및 리포펙타민(DOSPA)(Life Technology, Inc., Gaithersburg, Maryland)을 포함한다. 올리고뉴클레오타이드의 전달에 적합한 기타 양이온성 지질은 WO 98/39359호 및 WO 96/37194호에 기술되어 있다.

[0769] 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 들면, 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 [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).

[0770] 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 이러한 제형은 피부 장애를 치료하는데 유용하다.

[0771] iRNA를 포함하는 리포솜은 고도로 변형가능하게 할 수 있다. 이러한 변형가능함은 리포솜이 리포솜의 평균 반경보다 더 작은 기공을 통과하도록 할 수 있다. 예를 들면, 트랜스퍼솜은 변형가능한 리포솜의 일 유형이다. 트랜스퍼솜은 표면단 활성화제, 통상적으로 계면활성제를 표준 리포솜 조성물에 첨가함으로써 제조될 수 있다. RNAi 작용제를 포함하는 트랜스퍼솜은 예를 들면, RNAi 작용제를 피부 내에서 케라틴 생성 세포로 전달하기 위하여 감염에 의해 피하적으로 전달될 수 있다. 무손상 포유류의 피부를 가로지르기 위하여, 지질 소낭은 적당한 경피구배의 영향 하에서 각각의 직경이 50 nm 미만인 일련의 미세 기공들을 통과하여야 한다. 또한, 지질 특성으로 인하여, 그러한 트랜스퍼솜은 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.

[0772] 본 발명에 부합하는 기타 제형은 2008년 1월 2일에 출원된 미국 가출원 계열 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.

[0773] 트랜스퍼솜은 다른 유형의 리포솜이며, 약물 전달 운반체에 대한 매력적인 후보인 고도로 변형가능한 지질 응집체이다. 트랜스퍼솜은 고도로 변형가능하여 소적보다 더 작은 기공을 용이하게 침투할 수 있는 지질 소적으로

기술될 수 있다. 트랜스퍼솜은 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. 트랜스퍼솜을 제작하기 위하여, 표면단-활성화제, 통상적으로 계면활성제를 표준 리포솜 조성물에 첨가하는 것이 가능하다. 트랜스퍼솜은 피부에 혈청 알부민을 전달하는데 이용되어 왔다. 혈청 알부민의 트랜스퍼솜-매개 전달은 혈청 알부민을 포함하는 용액의 피하 주사만큼 유효하다고 밝혀져 있다.

[0774] 계면활성제는 (마이크로에멀전을 포함하는) 에멀전 및 리포솜과 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).

[0775] 계면활성제 분자가 이온화되지 않으면, 이는 비이온성 계면활성제로 분류된다. 비이온성 계면활성제는 약학적 및 화장품 제품에서 광범위한 응용이 있으며 넓은 범위의 pH 값에 걸쳐 이용할 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.

[0776] 만약 계면활성제 분자가 물에 용해되거나 분산되는 경우 음전하를 보유한다면, 계면활성제는 비이온성으로 분류된다. 음이온성 계면활성제는 비누와 같은 카복실레이트, 아실 락타이트, 아미노산의 아실 아미드, 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.

[0777] 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.

[0778] 만약 계면활성제 분자가 양전하 또는 음전하를 보유하는 능력을 가진다면, 계면활성제는 양쪽성으로 분류된다. 양쪽성 계면활성제는 아크릴산 유도체, 치환된 알킬아미드, N-알킬베타인 및 포스파티드를 포함한다.

[0779] 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).

[0780] 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.

[0781] 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, 트리히트록시옥소 콜라닐 글리신 및 그 약학적으로 허용 가능한 염, 글리세린, 폴리글리세린, 리신, 폴리리신, 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.

[0782] 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.

[0783] 페놀 및/또는 m-크레솔은 혼합된 미셀 조성물에 첨가되어 제형을 안정화시키고 세균 성장에 대하여 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.

[0784] 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.

[0785] 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.

[0786] 필수 성분들의 특정 농도는 상대적으로 간단한 실험에 의해 측정될 수 있다. 구강을 통한 흡수를 위해, 주사를 통한 투약량 또는 위장관을 통한 투여를 예컨대, 적어도 2배 또는 3배 증가시키는 것이 종종 바람직하다.

[0787] B. 지질 입자

[0788] iRNA, 예컨대, 본 발명의 dsRNA는 지질 제형, 예컨대, LNP 또는 기타 핵산-지질 입자 내에 완전히 캡슐화된다.

[0789] 본원에 이용된 "LNP"라는 용어는 안정한 핵산-지질 입자를 지칭한다. LNP는 전형적으로 양이온성 지질, 비양이온성 지질 및 입자의 응집을 방지하는 지질(예컨대, PEG-지질 컨쥬게이트)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 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 5,976,567호; 5,981,501호; 6,534,484호; 6,586,410호; 6,815,432호; 미국 특허 출원 공개 2010/032412호 및 국제 특허 출원 공개 WO 96/40964호에 개시되어 있다.

[0790] 일 실시형태에 있어서, 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.

[0791] 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-DMAP), 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-메틸피페라지노)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)테트라히드로-3aH-사이클로펜타[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.

[0792] 다른 실시형태에 있어서, 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.

[0793] 일 실시형태에 있어서, 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.

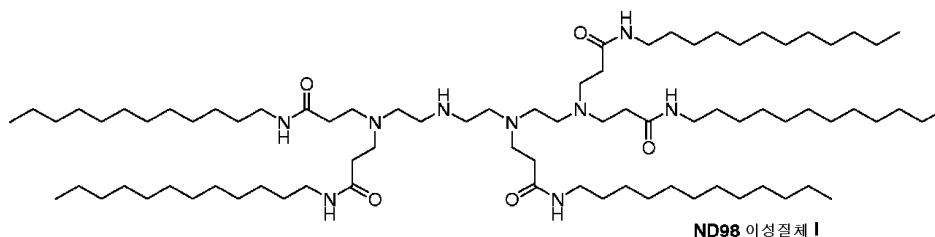
[0794] 이온화가능/비-양이온성 지질은 디스테아로일포스파티딜콜린(DSPC), 디올레오일포스파티딜콜린(DOPC), 디팔미토일포스파티딜콜린(DPPC), 디올레오일포스파티딜글리세롤(DOPG), 디팔미토일포스파티딜글리세롤(DPPG), 디올레오일-포스파티딜에탄올아민(DOPE), 팔미토일올레오일포스파티딜콜린(POPC), 팔미토일올레오일포스파티딜에탄올아민(POPE), 디올레오일-포스파티딜에탄올아민 4-(N-말레이미도메틸)-사이클로헥산-1-카르복실레이트(DOPE-말), 디팔미토일 포스파티딜 에탄올아민(DPPE), 디미리스토일포스포에탄올아민(DMPE), 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.

[0795] 입자의 응집을 억제하는 컨쥬게이트된 지질은 예를 들어, PEG-디아실글리세롤(DAG), PEG-디알킬옥시프로필(DAA), PEG-인지질, PEG-세라미드(Cer) 또는 이들의 혼합물을 포함하지만 여기에 한정되지 않는 폴리에틸렌글리콜(PEG)-지질일 수 있다. PEG-DAA 컨쥬게이트는 예를 들어, PEG-디라우릴옥시프로필(Ci₂), PEG-디미리스틸옥시프로필(Ci₄), PEG-디팔미틸옥시프로필(Ci₆), 또는 PEG-디스테아릴옥시프로필(Ci₁₈)일 수 있다. 입자의 응집을 방지하는 컨쥬게이트 지질은 입자 내에 존재하는 총 지질의 0 몰% 내지 약 20 몰% 또는 약 2 몰%일 수 있다.

[0796] 일부 실시형태들에 있어서, 핵산-지질 입자는 콜레스테롤을 입자 내에 존재하는 총 지질의 예컨대, 약 10 몰% 내지 약 60 몰% 또는 약 48 몰%로 추가로 포함한다.

[0797] 일 실시형태에 있어서, 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 스톡 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 스톡 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 들면, 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 완충액 교환은 예를 들면, 투석 또는 접선 유동 여과에 의해 달성될 수 있다. 완충액은 예를 들면, 인산염 완충 염수(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.

[0798] [화학식 1]



[0799]

[0800] LNP01 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된 국제 출원 공개 제WO 2008/042973호에 기술되어 있다.

[0801] 추가의 예시적인 지질-dsRNA 제형은 하기 표 1에 기술되어 있다.

[0802] [표 1]

	이온화가능/양이온성 지질	양이온성 지질/비-양이온성 지질/콜레스테롤/PEG-지질 컨쥬게이트 지질:siRNA 비율
SNALP-1	1,2-디리놀레일옥시-N,N-디메틸아미노프로판 (DLinDMA)	DLinDMA/DFPC/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/DFPC/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)테트라히드로-3aH-사이클로펜타[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)-헵타트리아곤타-6,9,28,31-테트라엔-19-일 4-(디메틸아미노)부타노에이트 (MC3)	MC-3/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)에틸아잔디일)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

[0803]

LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 지질:siRNA: 11:1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-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-DFG 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

[0804]

[0805]

DSPC: 디스테아로일포스파티딜콜린

- [0806] DPPC: 디팔미토일포스파티딜콜린
- [0807] PEG-DMG: PEG-디디미리스토일 글리세롤(C14-PEG, 또는 PEG-C14) (평균 2000의 몰 wt의 PEG)
- [0808] PEG-DSG: PEG-디스티릴 글리세롤(C18-PEG, 또는 PEG-C18) (평균 2000의 몰 wt의 PEG)
- [0809] PEG-cDMA: PEG-카르바모일-1,2-디미리스틸옥시프로필아민(평균 2000의 몰 wt의 PEG)
- [0810] SNALP(1,2-디리놀레닐옥시-N,N-디메틸아미노프로판(DLinDMA))를 포함하는 제형은 본원에 참조로 포함된 2009년 4월 15일에 출원된 국제 공개 WO2009/127060 호에 기술되어 있다.
- [0811] XTC를 포함하는 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된, 2009년 1월 29일에 출원된 미국 가출원 계열 61/148,366 호; 2009년 3월 2일에 출원된 미국 가출원 계열 61/156,851호; 2009년 6월 10일에 출원된 미국 가출원 계열 번호; 2009년 7월 24일에 출원된 미국 가출원 계열 61/228,373호; 2009년 9월 3일에 출원된 미국 가출원 계열 61/239,686호 및 2010년 1월 29일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US2010/022614호에 기술되어 있다.
- [0812] MC3을 포함하는 제형은 예컨대, 그 전체 내용이 본원에 참조로 포함된, 2010년 6월 10일에 출원된 미국 특허 공개 2010/0324120 호에 기술되어 있다.
- [0813] ALNY-100을 포함하는 제형은 예컨대, 본원에 참조로 포함된, 2009년 11월 10일에 출원된 국제 특허 출원 번호 PCT/US09/63933호에 기술되어 있다.
- [0814] C12-200을 포함하는 제형은 본원에 참조로 포함된, 2009년 5월 5일에 출원된 미국 가출원 계열 61/175,770 호 및 2010년 5월 5일에 출원된 국제 출원 PCT/US10/33777 호에 기술되어 있다.
- [0815] *이온화가능/양이온성 지질의 합성*
- [0816] 본 발명의 핵산-지질 입자에 이용된 화합물들 중 어느 하나는, 예컨대, 양이온성 지질 등은 실시예에 더 상세히 기술된 방법을 포함하는 알려진 유기 합성 기법에 의해 제조될 수 있다. 모든 치환기는 달리 지시되지 않으면 하기에 정의된 바와 같다.
- [0817] "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 사이클로프로필, 사이클로부틸, 사이클로펜틸, 사이클로헥실 등을 포함하는 반면에, 불포화된 고리형 알킬은 사이클로펜테닐 및 사이클로헥세닐 등을 포함한다.
- [0818] "알케닐"은 상기에 정의된 바와 같이, 인접 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-부테닐, 2,3-디메틸-2-부테닐 등을 포함한다.
- [0819] "알키닐"은 상기에 정의된 바와 같이, 인접 탄소들 사이의 적어도 하나의 3중 결합을 추가로 포함하는 임의의 알킬 또는 알케닐을 의미한다. 대표적인 직쇄 및 분지쇄 알키닐은 아세틸레닐, 프로피닐, 1-부티닐, 2-부티닐, 1-펜티닐, 2-펜티닐, 3-메틸-1 부티닐 등을 포함한다.
- [0820] "아실"은 임의의 알킬, 알케닐 또는 알키닐을 의미하며, 부착 지점에서의 탄소가 하기에 정의된 바와 같이 옥소기로 치환된다. 예를 들면, -C(=O)알킬, -C(=O)알케닐, 및 -C(=O)알키닐은 아실기이다.
- [0821] "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 헤테로아릴을 포함한다. 헤테로사이클은 모르폴리닐, 피롤리디노닐, 피롤리디닐, 피페리디닐, 피페리지닐, 히단토이닐, 발레로락타미, 옥시라닐, 옥세타닐, 테트라히드로푸라닐, 테트라히드로피라닐, 테트라히드로피리디닐, 테트라히드로피리미디닐, 테트라히드로티오펜, 테트라히드로티오피라닐, 테트라히드로티오피리미디닐, 테트라히드로티오펜, 테트라히드로티오피라닐 등을 포함한다.
- [0822] "선택적으로 치환된 알킬", "선택적으로 치환된 알케닐", "선택적으로 치환된 알키닐", "선택적으로 치환된 아

실" 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, -ORx, -NRxRy, -NRxC(=O)Ry, -NRxSO2Ry, -C(=O)Rx, -C(=O)ORx, -C(=O)NRxRy, -SO_nRx 및 -SO_nNRxRy를 포함하며, n은 0, 1 또는 2이고, Rx 및 Ry은 동일하거나 상이하고 독립적으로 수소, 알킬 또는 헤테로사이클이며, 상기 알킬 및 헤테로사이클 치환기들의 각각은 옥소, 할로젠, -OH, -CN, 알킬, -ORx, 헤테로사이클, -NRxRy, -NRxC(=O)Ry, -NRxSO2Ry, -C(=O)Rx, -C(=O)ORx, -C(=O)NRxRy, -SO_nRx 및 -SO_nNRxRy 중 하나 이상으로 더 치환될 수 있다.

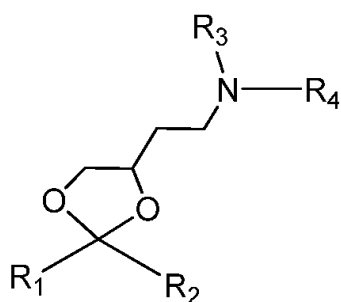
[0823] "할로젠"은 플루오로, 클로로, 브로모 및 요오도를 의미한다.

[0824] 일부 실시형태들에 있어서, 본 발명의 방법은 보호기의 이용을 필요로 할 수 있다. 보호기 방법론은 당업자에게 주지되어 있다(예를 들면, 문헌[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 실시형태들에 있어서, "알코올 보호기"가 사용된다. "알코올 보호기"는 알코올 기능기의 원하지 않는 반응성을 감소시키거나 제거하는 임의의 기이다. 보호기는 당업계에 주지된 기법을 이용하여 첨가되고 제거될 수 있다.

[0825] 화학식 A의 합성

[0826] 일부 실시형태들에 있어서, 본 발명의 핵산-지질 입자는 화학식 A의 양이온성 지질을 이용하여 공식화된다:

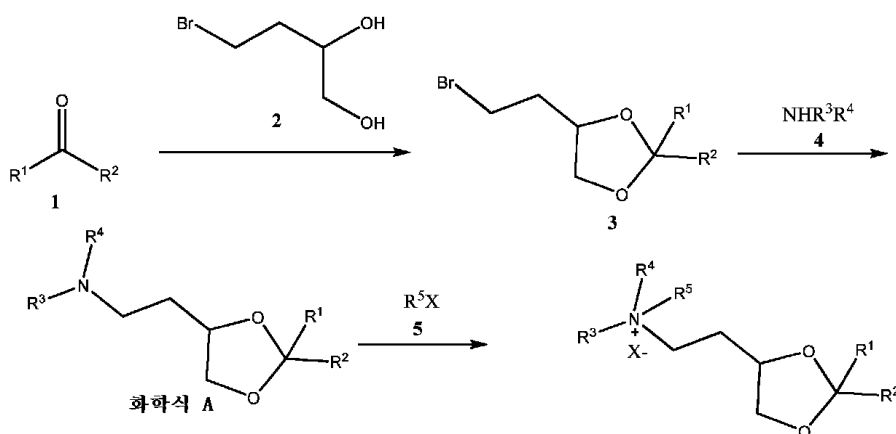
[0827] [화학식 A]



[0828]

[0829] 여기서, R1 및 R2는 독립적으로 알킬, 알케닐 또는 알키닐이고, 각각은 선택적으로 치환될 수 있으며, R3 및 R4는 독립적으로 저급 알킬이거나 R3 및 R4는 함께 취하여 선택적으로 치환된 헤테로사이클릭 고리를 형성할 수 있다. 일부 실시형태들에 있어서, 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 의해 제조될 수 있다.

[0830] [반응식 1]

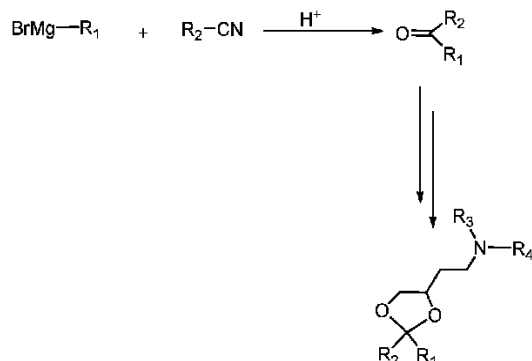


[0831]

[0832] 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 지

질 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.

[반응식 2]



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 화학식 A의 해당 지질로의 변환은 반응식 1에 기술된 바와 같다.

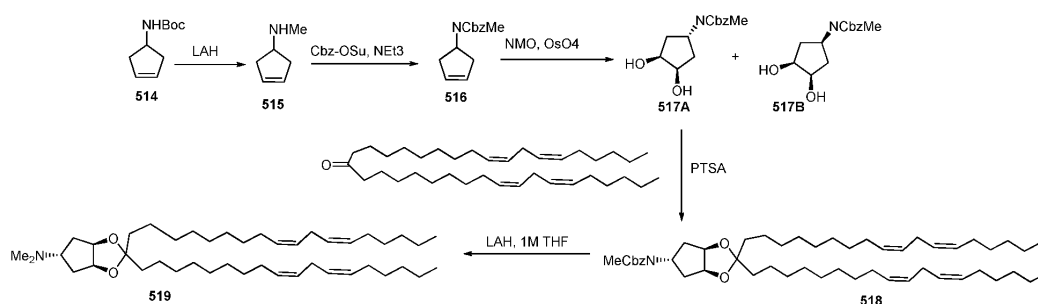
MC3의 합성

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 용리구배를 이용하여 실리카 겔 칼럼(20 g)으로 통과시켰다. 정제된 생성물을 포함하는 분획을 조합하고 용매를 제거하여 무색의 오일(0.54 g)을 산출하였다.

ALNY-100의 합성

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

[반응식 3]



515의 합성

2 구 RBF(1 L) 내의 200 ml 무수 THF에 LiAlH_4 (3.74 g, 0.09852 mol)의 교반된 현탁액에 THF 70 mL에 514(10 g, 0.04926 mol)을 용해시킨 용액을 0의 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°C 로 냉각하였으며, 포화 Na_2SO_4 용액을 조심스럽게 첨가하여 ©청하였다. 반응 혼합물을 실온에서 4시간 동안 교반하고 여별하였다. 잔사를 THF로 충분히 세척하였다. 여과액 및 세척액

을 혼합하고, 400 mL 디옥산 및 26 mL의 진한 HCl로 희석하고, 실온에서 20분 동안 교반하였다. 휘발 성분들을 진공 하에서 제거하여 백색 고체로서 515의 염산염을 생성하였다. 수율: 7.12 g $^1\text{H-NMR}$ (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).

[0844] 516의 합성

[0845] 250 mL 2 구 RBF 내의 100 mL 무수 DCM에 화합물 515를 용해시킨 교반된 용액에 NEt_3 (37.2 mL, 0.2669 mol)을 첨가하고 질소 분위기 하에서 0°C로 냉각하였다. N-(벤질옥시-카르보닐옥시)-숙신이미드 (20 g, 0.08007 mol)를 50 mL 무수 DCM에 천천히 첨가한 이후에, 반응 혼합물을 실온으로 가온하였다. (TLC에 의해 2 내지 3 시간) 반응을 완료한 이후에, 혼합물을 1 N HCl 용액 (1 x 100 mL) 및 포화 NaHCO_3 용액 (1 x 50 mL)으로 연속적으로 세척하였다. 이후, 유기층을 무수 Na_2SO_4 상에서 건조시키고 용매를 증발시켜 미정제 물질을 생성하고, 이를 실리카 겔 칼럼 크로마토그래피에 의해 정제하여 끈적한 덩어리로서 516을 얻었다. 수율: 11g (89%). $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 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%).

[0846] 517A 및 517B의 합성

[0847] 사이클로헥텐 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 OsO_4 (0.275 g, 0.00108 mol)의 7.6% 용액 4.2 mL를 첨가하였다. 반응 (~ 3 시간)을 완료한 이후에, 혼합물을 고체 Na_2SO_3 를 첨가하여 ©청하고, 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 NaHCO_3 (1 x 50 mL) 용액, 물 (1 x 30 mL)로 세척하고, 마지막으로 염수 (1 x 50 mL)로 세척하였다. 유기상을 Na_2SO_4 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

[0848] 517A - 피크-1 (백색 고체), 5.13 g (96%). $^1\text{H-NMR}$ (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.

[0849] 518의 합성

[0850] 화합물 505의 합성에 대해 기술된 절차와 유사한 절차를 이용하여, 무색 오일로서 화합물 518 (1.2 g, 41%)을 얻었다. $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , 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%.

[0851] 화합물 519의 합성을 위한 일반 절차

[0852] 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°C에서 0.5 시간에 걸쳐서 가열하고, 이후 얼음조상에서 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.

[0853] 표준 또는 무압출(extrusion-free) 방법에 의해 제조된 제형은 유사한 방식으로 특징될 수 있다. 예를 들면, 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 들면, 맵번 제타사이저 나노 ZS (맵번, 미국)을 이용하여 광산란에 의해 측정될 수 있다. 입자는 크기가 40 내지 100 nm인 것과 같이 약 20 내지 300 nm이어야 한다. 입자 크기 분포는 단봉형이어야 한다. 트랩된 분울뿐만 아니라 제형 내의 총 dsRNA 농도는 염색 배제 분석법을 이용하여 추정한다. 제형화된 dsRNA의 시료는 예컨대, 0.5% 트리톤-X100과 같은 계면활성제를 과열시키

는 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 시료로부터 나온 신호에 의해 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. SNALP 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.

[0854] 경구 투여용 조성물 및 제형은 분말 또는 과립, 마이크로립자, 나노립자, 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 실시형태들에 있어서, 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, 데히드로콜산, 데옥시콜산, 글루콜산, 글리콜산, 글리코데옥시콜산, 타우로콜산, 타우로데옥시콜산, 나트륨 타우로-24,25-디히드로-푸시데이트 및 나트륨 글리코디히드로 푸시데이트를 포함한다. 적당한 지방산은 아라키돈산, 운데칸산, 올레산, 라우르산, 카프릴산, 카프르산, 미리스트산, 팔미트산, 스테아르산, 리놀레산, 리놀렌산, 디카프레이트, 트리카프레이트, 모노올레인, 디라우린, 글리세릴 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헥탄-2-온, 아실카르니틴, 아실콜린, 또는 모노글리세리드, 디글리세리드 또는 그 약학적으로 허용 가능한 염(예컨대, 나트륨)을 포함한다. 일부 실시형태들에 있어서, 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; 폴리아릴아크릴레이트, 폴리옥세탄, 폴리아릴시아노아크릴레이트; 양이온화 젤라틴, 알부민, 전분, 아크릴레이트, 폴리에틸렌글리콜(PEG) 및 전분; 폴리아릴시아노아크릴레이트; 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-텍스트란, 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 6,887,906 호, 미국 특허 공개 20030027780 호 및 미국 특허 6,747,014 호에 상세히 기술되어 있다.

[0855] 비경구, (너로의) 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.

[0856] 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 장애를 치료하는 경우 간을 표적으로 하는 제형이 특히 바람직하다.

[0857] 단위 제형으로 간편하게 제시될 수 있는, 본 발명의 약학적 제제는 제약 당업계에 주지된 종래 기법에 따라 제조될 수 있다. 이러한 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.

[0858] 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 추가로 포함할 수 있다. 현탁액은 안정화제를

포함할 수도 있다.

[0859] C. 추가 제형

[0860] i. 에멀전

[0861] 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 (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.199에서; 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 2, p. 335에서; Higuchi 등, 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 향산화제와 같은 약학적 부형제는 필요하다면 에멀전에 존재할 수도 있다. 약학적 에멀전은 예를 들면, 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.

[0862] 에멀전은 열역학적 안정성이 거의 없거나 열역학적 안정성이 전혀 없는 것에 의해 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 (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).

[0863] 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 (8 판), New York, NY; Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285에서; Idson, 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 (8 판), New York, NY; Rieger, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285]에서 참조).

[0864] 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 계

면활성제와의 조합에서, 그리고 점성 제제에 있어서 양호한 유화제로서 이용되기도 한다. 이것은 중금속 수산화물과 같은 극성 무기 고체, 벤토나이트, 아타풀자이트, 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.

[0865] 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 항산화제를 포함한다(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).

[0866] 친수성 콜로이드 또는 수성콜로이드는 다당류(예를 들면, 아카시아, 아가, 알긴산, 카라기난, 구아검, 카라야검 및 트라가칸트), 셀룰로오스 유도체(예를 들면, 카르복시메틸셀룰로오스 및 카르복시프로필셀룰로오스) 및 합성 중합체(예를 들면, 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.

[0867] 에멀전은 종종 미생물의 성장을 용이하게 지지할 수 있는 탄수화물, 단백질, 스테롤 및 인지질과 같은 많은 성분을 포함하기 때문에, 그러한 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. 항산화제도 에멀전 제형에 흔히 추가되어 제형의 열화를 방지한다. 이용된 항산화제는 토코페롤과 같은 유리 라디칼 스캐빈저, 알킬 갈레이트, 부틸화 히드록시아니솔, 부틸화 히드록시톨루엔, 또는 아스코르브산 및 메타중아황산 나트륨과 같은 환원제, 및 시트르산, 주석산 및 레시틴과 같은 항산화 상승제일 수 있다.

[0868] 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.

[0869] *ii. 마이크로에멀전*

[0870] 본 발명의 일 실시형태에 있어서, 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 의해 안정화된 2 개의 비혼화성 액체의 열역학적으로 안정하고 등방성으로 맑은 분산액으로 기술되었다(Leung 및 Shah, *Controlled Release of Drugs*에서: *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(Schott, *Remington's Pharmaceutical Sciences*에서, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271).

[0871] 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.

[0872] 마이크로에멀전의 제조에 이용되는 계면활성제는 이온성 계면활성제, 비이온성 계면활성제, Brij 96, 폴리옥시 에틸렌 올레일 에테르, 폴리글리세롤 지방산 에스테르, 테트라글리세롤 모노라우레이트(ML310), 테트라글리세롤 모노올리에이트(MO310), 헥사글리세롤 모노올리에이트(PO310), 헥사글리세롤 펜타올리에이트(PO500), 데카글리세롤 모노카프레이트(MCA750), 데카글리세롤 모노올리에이트(MO750), 데카글리세롤 세퀴올리에이트(SO750), 데카글리세롤 데카올리에이트(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 담입계에 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.

[0873] 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; 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.

[0874] 본 발명의 마이크로에멀전은 소르비탄 모노스테아레이트(Grill 3), 라브라솔(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, 담즙산염, 킬레이트제 및 비킬레이트 비계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p. 92). 이들 클래스의 각각은 상기에서 토의되었다.

[0875] *iii. 미세입자*

[0876] 본 발명의 RNAi 작용제는 입자, 예컨대, 미세입자로 포함될 수 있다. 미세입자는 스프레이-건조에 의해 생성될 수 있지만, 동결 건조, 증발, 유동층 건조, 진공 건조 또는 이 기법들의 조합을 포함하는 기타 방법에 의해 생성될 수도 있다.

[0877] *iv. 침투 향상제*

[0878] 일 실시형태에 있어서, 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.

- [0879] 침투 향상제는 다섯 개의 광범위한 범주, 즉, 계면활성제, 지방산, 담즙산염, 킬레이트제 및 비킬레이트 비계면활성제 중 하나에 속하는 것으로 분류될 수 있다(예컨대, 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.
- [0880] 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, 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(Takahashi 등, J. Pharm. Pharmacol., 1988, 40, 252).
- [0881] 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, 카프릴산, 아라키돈산, 글리세롤 1-모노카프레이트, 1-도데실아자사이클로헥탄-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, 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).
- [0882] 담즙의 생리학적 역할은 지질 및 지용성 비타민의 분산 및 흡수의 촉진을 포함한다(예컨대, 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 들면, 콜산(또는 그 약학적으로 허용 가능한 나트륨염, 나트륨 콜레이트), 디히드로콜린산(나트륨 디히드로콜레이트), 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-디히드로-푸시데이트(STDHF), 나트륨 글리코디히드로푸시데이트 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.
- [0883] 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 의해 억제되므로 DNase 억제제로서도 작용하는 추가 장점을 가진다(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 약학적, 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).

[0884] 본원에 사용된 바와 같이, 비킬레이트 비계면활성제 침투 향상 화합물은 킬레이트제로서 또는 계면활성제로서 현저하지 않은 활성을 보이지만, 그림에도 불구하고 영양 점막(alimentary mucosa)를 통해 iRNA의 흡수를 향상시키는 화합물로 정의될 수 있다(예컨대, 문헌[Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33] 참조). 그러한 클래스의 침투 향상제는 예를 들어, 불포화 사이클릭 요소, 1-알킬- 및 1-알케닐아자사이클로-알칸온 유도체(Lee 등, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92); 및 디클로페낙 나트륨, 인도메타신 및 페닐부타존과 같은 비스테로이드성 소염제(Yamashita 등, J. Pharm. Pharmacol., 1987, 39, 621-626)를 포함한다.

[0885] 세포 수준에서 iRNA의 흡수를 향상시키는 작용제는 본 발명의 약학적 조성물 및 기타 조성물에 첨가될 수도 있다. 예를 들면, 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 전달감염 시약의 예는 예를 들면, 다른 것들 중에서, Lipofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine 2000™(Invitrogen; Carlsbad, CA), 293fectin™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Cellfectin™(Invitrogen; Carlsbad, CA), DMRIE-C™(Invitrogen; Carlsbad, CA), FreeStyle™ MAX(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™ 2000 CD(Invitrogen; Carlsbad, CA), Lipofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), RNAiMAX(Invitrogen; Carlsbad, CA), Oligofectamine™(Invitrogen; Carlsbad, CA), Optifect™(Invitrogen; Carlsbad, CA), X-tremeGENE Q2 트랜스펙션 시약(Roche; Grenzacherstrasse, Switzerland), DOTAP 리포솜 트랜스펙션 시약(Grenzacherstrasse, Switzerland), DOSPER 리포솜 트랜스펙션 시약(Grenzacherstrasse, Switzerland), 또는 Fugene(Grenzacherstrasse, Switzerland), Transfectam® 시약(Promega; Madison, WI), TransFast™ 트랜스펙션 시약(Promega; Madison, WI), Tfx™-20 시약(Promega; Madison, WI), Tfx™-50 시약(Promega; Madison, WI), DreamFect™(OZ Biosciences; Marseille, France), EcoTransfect(OZ Biosciences; Marseille, France), TransPass® D1 트랜스펙션 시약(New England Biolabs; Ipswich, MA, USA), LyoVec™/LipoGen™(Invitrogen; San Diego, CA, USA), PerFectin 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), NeuroPORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), GenePORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), GenePORTER 2 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), Cytofectin 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), BaculoPORTER 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), TroganPORTER™ 트랜스펙션 시약(Genlantis; San Diego, CA, USA), RiboFect (Bioline; Taunton, MA, USA), PlasFect (Bioline; Taunton, MA, USA), UniFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, USA), SureFECTOR (B-Bridge International; Mountain View, CA, USA), 또는 HiFect™ (B-Bridge International, Mountain View, CA, USA)을 포함한다.

[0886] 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.

[0887] v. 담체

[0888] 본 발명의 특정 조성물은 제형에 담체 화합물도 포함한다. 본원에 이용된 "담체 화합물" 또는 "담체"는 비활성(즉, 그 자체로 생물학적 활성을 가지지 않음)이지만, 예를 들면, 생물학적으로 활성인 핵산을 분해하거나 순환으로부터 이의 제거를 촉진함으로써 생물학적 활성을 갖는 핵산의 생물이용도를 감소시키는 생체 내 공정에 의해 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 들면, 간 조직 내에서 부분적으로 포스포로티오에이트 dsRNA의 회수는 폴리이노신산, 텍스트란 셀페이트, 폴리시티딘산 또는 4-아세트아미도-4'이소티오시아노-스틸벤-2,2'-디설폰산과 함께 공투여되는 경우, 감소될 수 있다(Miyao 등, DsRNA Res. Dev., 1995, 5, 115-121; Takakura 등, DsRNA & Nucl. Acid Drug Dev., 1996, 6, 177-183).

[0889] vi. 부형제

[0890] 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 크로결정성 셀룰로오스, 펙틴, 젤라틴, 칼슘 셀페이트, 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); 봉해제(예컨대, 전분, 전분 글리콜산 나트륨 등); 및 습윤제(예컨대, 황산 나트륨 라우릴 등)를 포함하지만, 여 기에 한정되지 않는다.

[0891] 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.

[0892] 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.

[0893] 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.

[0894] *vii. 기타 구성요소*

[0895] 본 발명의 조성물은 약학적 조성물에서 종래 발견되는 기타 부가 구성요소를 당업계에 확립된 이용 수준에서 추 가적으로 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들면, 조성물은 예를 들면, 항소양제, 수렴제, 국소 마취제 또는 소염 제와 같은 추가의 융합성인 약학적으로 활성인 물질을 포함할 수 있거나, 염료, 풍미제, 보존제, 향산화제, 불 투명화제, 증점제 및 안정화제와 같이, 본 발명의 조성물의 다양한 제형을 물리적으로 제형화하는데 유용한 추 가적인 물질을 포함할 수 있다. 그러나, 그러한 물질은 첨가되는 경우, 본 발명의 조성물의 구성성분의 생물학 적 활성을 과도하게 방해해서는 안 된다. 제형은 살균될 수 있으며, 원한다면, 제형의 핵산(들)과 유해하게 반 응하지 않는, 예컨대, 윤활제, 보존제, 안정화제, 습윤제, 유화제, 삼투압에 영향을 주기 위한 염, 완충제, 착 색제, 풍미 및/또는 방향 물질 등과 같은 보조제와 혼합될 수 있다.

[0896] 수성 현탁액은 예를 들면, 나트륨 카르복시메틸셀룰로오스, 소르비톨 및/또는 텍스트란을 포함하는 현탁액의 점 도를 증가시키는 물질을 포함할 수 있다. 현탁액은 안정화제를 포함할 수도 있다.

[0897] 일부 실시형태들에 있어서, 본 발명에서 특징된 약학적 조성물은 (a) 하나 이상의 iRNA 화합물 및 (b) 비-RNAi 메커니즘에 의해 기능하고 용혈 장애를 치료하는데 유용한 하나 이상의 작용제를 포함한다. 그러한 작용제의 예 는 소염제, 항-지방증제, 항-바이러스제 및/또는 항-섬유증제를 포함하지만, 여기에 한정되지 않는다. 또한, 실 리마린과 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.

[0898] 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 의해 결정될 수 있다. 독성 및 치료적 효과 사이의 용량 비율은 치료 지수이며, 이는 LD₅₀/ED₅₀의 비율로 표현 될 수 있다. 높은 치료 지수를 보이는 화합물이 바람직하다.

[0899] 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 최초 로 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 생성

물의 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 의해 측정될 수 있다.

[0900] 상기에서 토의된 바와 같이, 이의 투여뿐만 아니라, 본 발명에서 특징된 iRNA는 CFB, C3 및/또는 C9 발현에 의해 매개된 병적 과정의 치료에 효과적인 기타 알려진 작용제와 조합되어 투여될 수 있다. 좌우간, 투여하는 의사는 당업계에 알려지거나 본원에 기술된 효능의 표준 척도를 이용하여 관찰된 결과에 기초하여 iRNA 투여의 양 및 타이밍을 조정할 수 있다.

[0901] VII. 보체 성분 발현을 억제하는 방법

[0902] 본 발명은 본원에 기술된 바와 같이 보체 성분의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 일 양태에서, 본 발명은 세포에서 CFB의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 세포를, 세포에서 CFB의 발현을 억제하기에 효과적인 양의 RNAi 작용제, 예를 들어 이중-가닥 RNAi 작용제와 접촉시킴으로써, 세포에서 CFB의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0903] 본 발명은 또한, 세포에서 C3의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 세포를, 세포에서 C3의 발현을 억제하기에 효과적인 양의 RNAi 작용제, 예를 들어 이중-가닥 RNAi 작용제와 접촉시킴으로써, 세포에서 C3의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0904] 본 발명은 또한, 세포에서 C9의 발현을 억제하는 방법을 제공한다. 본 방법은 세포를, 세포에서 C9의 발현을 억제하기에 효과적인 양의 RNAi 작용제, 예를 들어 이중-가닥 RNAi 작용제와 접촉시킴으로써, 세포에서 C9의 발현을 억제하는 단계를 포함한다.

[0905] 세포를 이중-가닥 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계는 시험관 내 또는 생체 내에서 행해질 수 있다. 세포를 생체 내에서 RNAi 작용제와 접촉시키는 단계는 피검자, 예를 들어, 인간 피검자 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 당업계에 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, 피검자의 간으로 유도하는 임의의 다른 리간드이다.

[0906] 본원에 이용되는, "억제하는"이라는 용어는 "감소시키는", "침묵화하는", "하향조절하는" 및 기타 유사 용어와 교환가능하게 이용되며, 임의의 수준의 억제를 포함한다.

[0907] "CFB의 발현을 억제하는"이라는 어구는, 임의의 CFB 유전자(예컨대, 마우스 CFB 유전자, 랫 CFB 유전자, 원숭이 CFB 유전자 또는 인간 CFB 유전자)뿐만 아니라 CFB 유전자의 변이체 또는 돌연변이체의 발현을 억제하는 것을 지칭하고자 한다. 따라서, CFB 유전자는 유전자 조작된 세포, 세포군 또는 유기체의 맥락에서 야생형 CFB 유전자, 돌연변이체 CFB 유전자 또는 유전자도입(transgenic) CFB 유전자일 수 있다.

[0908] "CFB의 발현을 억제하는" 것은 CFB 유전자의 임의의 수준의 억제, 예를 들어, CFB 유전자의 발현의 적어도 부분적인 저해를 포함한다. CFB 유전자의 발현은 CFB 유전자 발현과 연관된 임의의 변수의 수준, 예컨대, CFB mRNA 수준, CFB 단백질 수준, 또는 예를 들어, 총 용혈 보체의 척도로서의 CH₅₀ 활성, 보체의 대체 경로의 용혈 활성을 측정하기 위한 AH₅₀ 및/또는 혈관내 용혈 및/또는 헤모글로빈 수준의 척도로서 락테이트 탈수소효소(LDH) 수준에 기초하여, 또는 그의 변화에 기초하여 평가할 수 있다. C3, C9, C5, C5a, C5b 및 가용성 C5b-9 복합체의 수준을 측정하여, CFB 발현을 평가할 수 있다. 억제는 대조군 수준과 비교하여 이들 변수 중 하나 이상의 절대 수준 또는 상대 수준의 감소에 의해 평가될 수 있다. 대조군 수준은 당업계에서 활용되는 임의의 유형의 대조군 수준, 예컨대, 투여된 기저 수준, 또는 (예컨대, 완충제 유일 대조군 또는 비활성 작용제 대조군과 같은) 대조군으로 처리 또는 미처리된 유사한 피검자, 세포 또는 시료로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0909] "C3의 발현을 억제하는"이라는 어구는, 임의의 C3 유전자(예컨대, 마우스 C3 유전자, 랫 C3 유전자, 원숭이 C3 유전자 또는 인간 C3 유전자)뿐만 아니라 C3 유전자의 변이체 또는 돌연변이체의 발현을 억제하는 것을 지칭하고자 한다. 따라서, C3 유전자는 유전자 조작된 세포, 세포군 또는 유기체의 맥락에서 야생형 C3 유전자, 돌연변이체 C3 유전자 또는 유전자도입 C3 유전자일 수 있다.

[0910] "C3의 발현을 억제하는" 것은 C3 유전자의 임의의 수준의 억제, 예를 들어, C3 유전자의 발현의 적어도 부분적

인 저해를 포함한다. C3 유전자의 발현은 C3 유전자 발현과 연관된 임의의 변수의 수준, 예컨대, C3 mRNA 수준, C3 단백질 수준, 또는 예를 들어, 총 용혈 보체의 척도로서의 CH₅₀ 활성, 보체의 대체 경로의 용혈 활성을 측정하기 위한 AH₅₀ 및/또는 혈관내 용혈 및/또는 헤모글로빈 수준의 척도로서 락테이트 탈수소효소(LDH) 수준에 기초하여, 또는 그의 변화에 기초하여 평가할 수 있다. CFB, C9, C5, C5a, C5b 및 가용성 C5b-9 복합체의 수준을 측정하여, C3 발현을 평가할 수 있다. 억제제는 대조군 수준과 비교하여 이들 변수 중 하나 이상의 절대 수준 또는 상대 수준의 감소에 의해 평가될 수 있다. 대조군 수준은 당업계에서 활용되는 임의의 유형의 대조군 수준, 예컨대, 투여된 기저 수준, 또는 (예컨대, 완충제 유일 대조군 또는 비활성 작용제 대조군과 같은) 대조군으로 처리 또는 미처리된 유사한 피검자, 세포 또는 시료로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0911] "C9의 발현을 억제하는"이라는 어구는, 임의의 C9 유전자(예컨대, 마우스 C9 유전자, 랫 C9 유전자, 원숭이 C9 유전자 또는 인간 C9 유전자)뿐만 아니라 C9 유전자의 변이체 또는 돌연변이체의 발현을 억제하는 것을 지칭하고자 한다. 따라서, C9 유전자는 유전자 조작된 세포, 세포군 또는 유기체의 맥락에서 야생형 C9 유전자, 돌연변이체 C9 유전자 또는 유전자도입 C9 유전자일 수 있다.

[0912] "C9의 발현을 억제하는" 것은 C9 유전자의 임의의 수준의 억제, 예를 들어, C9 유전자의 발현의 적어도 부분적인 저해를 포함한다. C9 유전자의 발현은 C9 유전자 발현과 연관된 임의의 변수의 수준, 예컨대, C9 mRNA 수준, C9 단백질 수준, 또는 예를 들어, 총 용혈 보체의 척도로서의 CH₅₀ 활성, 보체의 대체 경로의 용혈 활성을 측정하기 위한 AH₅₀ 및/또는 혈관내 용혈 및/또는 헤모글로빈 수준의 척도로서 락테이트 탈수소효소(LDH) 수준에 기초하여, 또는 그의 변화에 기초하여 평가할 수 있다. CFB, C3, C5, C5a, C5b 및 가용성 C5b-9 복합체의 수준을 측정하여, C9 발현을 평가할 수 있다. 억제제는 대조군 수준과 비교하여 이들 변수 중 하나 이상의 절대 수준 또는 상대 수준의 감소에 의해 평가될 수 있다. 대조군 수준은 당업계에서 활용되는 임의의 유형의 대조군 수준, 예컨대, 투여된 기저 수준, 또는 (예컨대, 완충제 유일 대조군 또는 비활성 작용제 대조군과 같은) 대조군으로 처리 또는 미처리된 유사한 피검자, 세포 또는 시료로부터 결정된 수준일 수 있다.

[0913] 본 발명의 방법의 일부 실시형태들에서, 표적 유전자, 예를 들어 CFB, C3 또는 C9 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.

[0914] 표적 유전자, 예를 들어 CFB, C3 또는 C9 유전자의 발현의 억제는 제1 세포 또는 세포의 군(그러한 세포는 예를 들어, 피검자로부터 유래된 시료에 존재할 수 있음)에 의해 발현되는 mRNA의 양의 감소에 의해 나타날 수 있으며, 여기서, 표적 유전자가 전사되고, (예를 들어, 세포 또는 세포들을 본 발명의 RNAi 작용제와 접촉시키거나, 본 발명의 RNAi 작용제를 상기 세포가 존재하거나 존재하였던 피검자에게 투여함으로써) 제1 세포 또는 세포들의 군과 실질적으로 동일하지만, 그렇게 처리되지 않은 제2 세포 또는 세포들의 군(대조군 세포들)과 비교하여, 표적 유전자의 발현이 억제되도록 처리된다. 바람직한 실시형태들에 있어서, 억제는 처리된 세포에서 mRNA의 수준을 하기의 식을 사용하여 대조군 세포에서의 mRNA의 수준의 백분율로서 표현함으로써 측정된다:

$$\frac{(\text{대조군 세포내 mRNA}) - (\text{처리된 세포내 mRNA})}{(\text{대조군 세포내 mRNA})} \cdot 100\%$$

[0915]

[0916] 보체 성분 단백질의 발현의 억제는 세포 또는 세포의 군에 의해 발현되는 단백질의 수준(예를 들어, 피검자로부터 유래된 시료에서 발현되는 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 유사하게 표현될 수 있다.

[0917] 표적 유전자의 발현의 억제를 측정하기 위해 이용될 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 피검자를 RNAi 작용제로 처리하기 전에 개별 피검자(예를 들어, 인간 또는 동물 피검자)로부터 유래될 수 있다.

[0918] 세포 또는 세포의 군에 의해 발현되는 CFB, C3 또는 C9 mRNA의 수준은 mRNA 발현을 측정하기 위한 당업계에 공지되어 있는 임의의 방법을 이용하여 결정될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 시료에서의 CFB, C3 및/또는 C9의 발현 수준은 전사된 폴리뉴클레오타이드 또는 그의 부분, 예를 들어, CFB, C3 및/또는 C9 유전자의 mRNA를 검출함으로써 결정된다. RNA는 예를 들어, 산 페놀/구아니딘 이소티오시아네이트 추출(RNAzol B; Biogenesis), RNeasy

RNA 제조 키트(Qiagen) 또는 PAXgene(PreAnalytix, Switzerland)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(Melton 등, Nuc. Acids Res. 12:7035), 노던 블롯팅(Northern blotting), 동소 혼성화(in situ hybridization) 및 마이크로어레이 분석을 포함한다.

[0919] 일 실시형태에 있어서, CFB, C3 및/또는 C9의 발현 수준은 핵산 탐침을 이용하여 결정된다. 본원에 사용된, "탐침"이라는 용어는 특정 CFB, C3 또는 C9에 선택적으로 결합할 수 있는 임의의 분자를 지칭한다. 탐침은 당업자에 의해 합성되거나, 적절한 생물학적 체계로부터 유래될 수 있다. 탐침은 특이적으로 표지되도록 설계될 수 있다. 탐침으로 이용될 수 있는 분자의 예는 RNA, DNA, 단백질, 항체 및 유기 분자가 포함되나, 여기에 한정되지 않는다.

[0920] 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 CFB, C3 또는 C9 mRNA에 혼성화, 예를 들어 특이적으로 혼성화할 수 있는 핵산 분자(탐침)와 접촉시키는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, mRNA는 예를 들어, 아가로스 겔 위에 분리된 mRNA를 전개시키고, mRNA를 겔로부터 막, 예를 들면 니트로셀룰로오스로 옮김으로써, 고체 표면에 고정되고, 탐침과 접촉한다. 대안적 실시형태에 있어서, 탐침(들)은 고체 표면에 고정되고, 예를 들어, 아피메트릭스(Affymetrix) 유전자 칩 어레이에서 mRNA가 탐침(들)과 접촉된다. 당업자는 CFB, C3 및/또는 C9 mRNA의 수준을 측정하는데 사용하기 위한 공지된 mRNA 검출방법들을 쉽게 적응시킬 수 있다.

[0921] 시료 내의 CFB, C3 및/또는 C9의 발현 수준을 측정하기 위한 대안적 방법은 예를 들면, RT-PCR(Mullis의 미국 특허 제4,683,202호 (1987)에 개시된 실험예), 리가아제 연쇄반응(Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:189-193), 자립 서열복제(Guatelli 등 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1874-1878), 전사 증폭 시스템(Kwoh 등 (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86:1173-1177), Q-베타 복제효소(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 이용한 증폭된 분자의 검출에 의해, 시료 내 mRNA의 핵산 증폭 과정 및/또는 (cDNA를 제조하기 위한) 역전사효소를 포함한다. 그러한 분자들이 매우 적은 수로 존재한다면, 상기 검출 계획들이 핵산 분자들을 검출하는데 특히 유용하다. 본 발명의 특정 양태에서, CFB, C3 및/또는 C9의 발현수준은 정량적 형광원 RT-PCR(즉, TaqMan™ 시스템)에 의해 측정된다.

[0922] CFB, C3 및/또는 C9 mRNA의 발현 수준은 막 블롯(예를 들어, 노던, 서던, 도트 등과 같은 혼성화 분석법에 이용됨) 또는 마이크로웰, 시료 튜브, 젤, 비드 또는 섬유(또는 결합 핵산을 포함하는 임의의 고체 지지체)를 사용하여 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. PCSK9 발현 수준의 측정은 용액내 핵산 탐침을 사용하는 것을 포함할 수 있다.

[0923] 바람직한 실시형태에 있어서, mRNA 발현 수준은 분지형 DNA(bDNA) 분석법 또는 실시간 PCR(qPCR)을 사용하여 측정된다. 상기 방법들의 용도는 본원에 설명되고, 실시예에 예시되어 있다.

[0924] CFB, C3 및/또는 C9 단백질 발현 수준은 단백질 수준의 측정 분야에 공지된 임의의 방법을 사용하여 측정될 수 있다. 상기 방법들은 예를 들면, 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.

[0925] 본원에 사용된 "시료"라는 용어는 피검자 내에 존재하는 유체, 세포 또는 조직뿐만 아니라 피검자로부터 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 시료는 조직, 기관 또는 국소화된 영역으로부터 나온 시료를 포함할 수 있다. 예를 들면, 시료는 특정 기관, 기관의 부분 또는 이러한 기관 내의 유체 또는 세포로부터 유래될 수 있다. 특정 실시형태들에 있어서, 시료는 간(예컨대, 전 간(whole liver) 또는 간의 특정 분절 또는 예컨대, 간세포와 같이 간 내의 특정 유형의 세포)으로부터 유래될 수 있다. 바람직한 실시형태들에 있어서, "피검자로부터 유래된 시료"는 피검자로부터 뽑은 혈액 또는 혈장을 지칭한다. 추가적인 실시형태들에 있어서, "피검자로부터 유래된 시료"는 피검자로부터 유래된 간 조직을 지칭한다.

[0926] 본 발명의 방법의 일부 실시형태들에 있어서, RNAi 작용제는 RNAi 작용제가 피검자 내의 특정 부위에 전달되도

록 피검자에게 투여된다. CFB, C3 및/또는 C9의 발현의 억제는 피검자 내의 특정 부위로부터의 유체 또는 조직 으로부터 유래된 시료에서 CFB, C3 및/또는 C9 mRNA 및/또는 CFB, C3 및/또는 C9 단백질의 수준 또는 그의 수준의 변화의 측정을 이용하여 측정될 수 있다. 바람직한 실시형태들에 있어서, 상기 부위는 간이다. 상기 부위는 또한 전술된 부위 중 임의의 것으로부터의 세포의 세부항목 또는 하위그룹일 수도 있다. 또한, 상기 부위는 특정 수용체 유형을 발현하는 세포를 포함할 수 있다.

[0927] **VIII. 보체 성분-관련 질병의 치료 또는 예방 방법**

[0928] 본 발명은 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, PNH 또는 aHUS를 갖는 피검자에게 iRNA 작용제, iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물 또는 본 발명의 iRNA를 포함하는 벡터를 투여하는 단계를 포함하는 치료 또는 예방 방법을 제공한다.

[0929] 본 발명의 방법은 본 발명의 단일 iRNA 작용제 또는 본 발명의 iRNA 작용제들의 조합을 이용하여 수행될 수 있음을 이해해야 한다. 예를 들어, 일부 양태에서, 본 발명의 방법(및 용도)은 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 이용하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명의 방법(및 용도)은 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 이용하는 단계를 포함한다. 일부 양태에서, 본 발명의 방법(및 용도)은 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 이용하는 단계를 포함한다. 다른 양태에서, 본 발명의 방법(및 용도)은 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제, C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 이용하는 단계를 포함한다. 본 발명의 일부 양태에서, 본 발명의 단일 iRNA 작용제 또는 iRNA 작용제들의 조합을 포함하는 본 방법은 예를 들어, Soliris®(추가로 후술되는 바와 같음)와 같은 하나 이상의 추가의 치료제를 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

[0930] 일 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 "보체 성분-관련 질병," 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 치료 방법(및 용도)은 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물을 치료적 유효량으로 인간과 같은 피검자에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.

[0931] 다른 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 "보체 성분-관련 질병," 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 치료 방법(및 용도)은 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물을 치료적 유효량으로 인간과 같은 피검자에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.

[0932] 추가적인 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 "보체 성분-관련 질병," 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공한다. 본 발명의 치료 방법(및 용도)은 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물을 치료적 유효량으로 인간과 같은 피검자에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.

[0933] 일 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 용혈의 예방 방법을 제공한다.

[0934] 일 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 용혈의 예방 방법을 제공한다.

[0935] 일 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를

들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터를 치료적 유효량으로 피검자에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다. 예를 들어, 본 발명은 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 용혈의 예방 방법을 제공한다.

- [0936] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료를 위한, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0937] 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료를 위한, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0938] 또 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료에 있어서의, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0939] 또 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료용 약제의 제조에 있어서의, CFB 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0940] 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료용 약제의 제조에 있어서의, C3 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0941] 다른 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료용 약제의 제조에 있어서의, C9 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.
- [0942] 다른 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA의 용도를 제공한다.
- [0943] 다른 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA의 용도를 제공한다.
- [0944] 다른 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA의 용도를 제공한다.
- [0945] 추가적인 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0946] 추가적인 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0947] 추가적인 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.
- [0948] 본 발명의 일부 양태에서, 본 방법은 본 발명의 단일 iRNA 작용제 또는 iRNA 작용제들의 조합을 포함하며, 하나

이상의 추가의 치료제를 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함한다.

- [0949] 일부 양태에서, 추가의 치료제는 2013년 3월 14일에 출원된 미국 가특허 출원 제61/782,531호, 2013년 6월 20일에 출원된 미국 가특허 출원 제61/837,399호 및 2013년 11월 15일에 출원된 미국 가특허 출원 제61/904,579호에 기술된 바와 같이, C5 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제이며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.
- [0950] 다른 양태에서, 추가의 치료제는 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵)이다. 에쿨리주맵은 높은 친화성으로 보체 성분 C5에 특이적으로 결합하고, C5가 C5a 및 C5b로 절단되는 것을 억제함으로써, 최종 보체 복합체 C5b-9의 생성을 억제하는, 인간화된 모노클로날 IgG2/4, 카파 경쇄 항체이다. 에쿨리주맵은 미국 특허 제6,355,245호에 기술되어 있으며, 그의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.
- [0951] 또 다른 양태에서, 추가의 치료제는 C3 펩티드 억제제 또는 이의 유사체이다. 일 실시형태에서, C3 펩티드 억제제는 콤스타틴이다. 콤스타틴은 강력하며 선택적인 C3 억제 활성을 가진 환형 트리데카펩티드(cyclic tridecapeptide)이다. 콤스타틴 및 이의 유사체는 미국 특허 제7,888,323호, 제7,989,589호 및 제8,442,776호, 미국 특허 공개 제2012/0178694호 및 제2013/0053302호, 및 PCT 공개 제WO 2012/174055호, 제WO 2012/2178083호, 제WO 2013/036778호에 기술되어 있으며, 그 각각의 전체 내용은 본원에 참조로서 포함된다.
- [0952] 이에, 일 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공하며, 본 방법은, 치료적 유효량의 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자, 예를 들어 인간에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0953] 다른 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공하며, 본 방법은, 치료적 유효량의 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자, 예를 들어 인간에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0954] 다른 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자의 치료 방법을 제공하며, 본 방법은, 치료적 유효량의 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제 또는 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자, 예를 들어 인간에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자를 치료하는 단계를 포함한다.
- [0955] 다른 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자에게 투여함으로써, CFB 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.
- [0956] 다른 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법은, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자에게 투여함으로써, C3 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.
- [0957] 다른 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방 방법을 제공한다. 본 방법

은, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 벡터, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)를 피검자에게 투여함으로써, C9 발현의 감소로부터 이득을 보게 되는 장애를 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상을 예방하는 단계를 포함한다.

[0958] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료에 있어서의, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0959] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료에 있어서의, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0960] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자의 치료에 있어서의, 치료적 유효량의 본 발명의 iRNA 작용제 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0961] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염의 치료용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, CFB 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 CFB 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0962] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염의 치료용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C3 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, C3 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 C3 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0963] 다른 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염의 치료용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C9 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, C9 유전자를 표적으로 하는 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA 또는 C9 유전자를 표적으로 하는 iRNA 작용제를 포함하는 약학적 조성물의 용도를 제공한다.

[0964] 또 다른 양태에서, 본 발명은 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0965] 또 다른 양태에서, 본 발명은 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0966] 또 다른 양태에서, 본 발명은 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방에 있어서의, 본 발명의 iRNA 작용제, 예를 들어 dsRNA, 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의

항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)의 용도를 제공한다.

[0967] 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 CFB 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.

[0968] 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C3 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.

[0969] 추가적인 양태에서, 본 발명은 피검자, 예를 들어 C9 발현의 감소 및/또는 억제로부터 이득을 보게 되는 장애, 예를 들어 보체 성분-관련 질병, 예를 들어 PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 갖는 피검자에서 적어도 하나의 증상의 예방용 약제의 제조에 있어서의, 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 이의 항원-결합 단편(예컨대, 에쿨리주맵), 보체 성분 C5를 표적으로 하는 iRNA 작용제 및/또는 C3 펩티드 억제제(예컨대, 콤스타틴)와 병용되기 위한, 본 발명의 iRNA 작용제의 용도를 제공한다.

[0970] 일 실시형태에 있어서, CFB, C3 및/또는 C9을 표적으로 하는 iRNA 작용제는 예를 들어, 피검자의 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 다른 조직 또는 체액 중 CFB, C3 및/또는 C9 수준이 적어도 약 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 62%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상 감소되도록 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자에게 투여된 후에, 추가의 치료제가 피검자에게 투여된다.

[0971] 추가의 치료제는 항-보체 성분 C5 항체 또는 그의 항원-결합 단편 또는 유도체일 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 항-보체 성분 C5 항체는 에쿨리주맵(SOLIRIS®) 또는 그의 항원-결합 단편 또는 유도체이다.

[0972] 본 발명의 iRNA 작용제 및 에쿨리주맵을 피검자에게 투여하는 단계를 포함하는 본 발명의 방법은 수막구균 백신을 피검자에게 투여하는 단계를 추가로 포함할 수 있다.

[0973] 추가의 치료제, 예를 들어, 에쿨리주맵 및/또는 수막구균 백신은 CFB, C3 및/또는 C9(및/또는 C5)를 표적으로 하는 iRNA 작용제와 동시에 또는 상이한 시간에 피검자에게 투여될 수 있다.

[0974] 더욱이, 추가의 치료제, 예를 들어, 에쿨리주맵은 CFB, C3 및/또는 C9(및/또는 C5)를 표적으로 하는 iRNA 작용제와 동일한 제형에서, 또는 CFB, C3 및/또는 C9(및/또는 C5)를 표적으로 하는 iRNA 작용제와 상이한 제형에서 피검자에게 투여될 수 있다.

[0975] 에쿨리주맵 투여 양생법은 예를 들어, 에쿨리주맵(SOLIRIS®)에 대한 제품 삽입물(insert) 및 각각의 전체 내용이 본원에 참조로 포함되는 미국 특허 출원 번호 2012/0225056호에 기술되어 있다. 보체 성분-관련 질병, 예를 들어, PNH, aHUS 또는 류마티스 관절염을 치료하기 위한 본 발명의 예시적인 방법에서, CFB, C3 또는 C9을 표적으로 하는 iRNA 작용제가 먼저, 피검자에서 C5 수준이 감소하도록(예를 들어, 적어도 약 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 62%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상) 피검자에게 투여된 후(예를 들어, 피하), 에쿨리주맵은 SOLIRIS®에 대한 제품 삽입물에 기재된 것보다 더 낮은 용량으로 투여된다. 예를 들어, 에쿨리주맵은 4주 동안 주마다 약 600 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 900 mg 미만의 제5 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 900 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다. 또한, 에쿨리주맵은 4주 동안 주마다 약 900 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 1200 mg 미만의 제5 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 1200 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다. 피검자가 18

세 미만이면, 에쿨리주맙은 4주 동안 주마다 약 900 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 1200 mg 미만의 제5 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 1200 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여되거나; 피검자가 18세 미만이면, 에쿨리주맙은 2주 동안 주마다 약 600 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 900 mg 미만의 제3 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 900 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여되거나; 피검자가 18세 미만이면, 에쿨리주맙은 2주 동안 주마다 약 600 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 600 mg 미만의 제3 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 600 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여되거나; 피검자가 18세 미만이면, 에쿨리주맙은 1주 동안 주마다 약 600 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 300 mg 미만의 제2 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 300 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여되거나; 피검자가 18세 미만이면, 에쿨리주맙은 1주 동안 주마다 약 300 mg 미만의 용량에 이어서, 약 1주 후에 약 300 mg 미만의 제2 용량에 이어서, 그 후 약 2주마다 약 300 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다. 피검자가 혈장분리교환술 또는 혈장 교환을 받고 있다면, 에쿨리주맙은 (에쿨리주맙의 가장 최근의 용량이 약 300 mg이었다면) 약 300 mg 미만의 용량으로 또는 (에쿨리주맙의 가장 최근의 용량이 약 600 mg 이상이었다면) 약 600 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다. 피검자가 혈장 주입을 받고 있다면, 에쿨리주맙은 (에쿨리주맙의 가장 최근의 용량이 약 300 mg 이상이었다면) 약 300 mg 미만의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다. 보다 낮은 용량의 에쿨리주맙은 에쿨리주맙의 피하 또는 정맥내 투여를 가능하게 한다.

[0976] 에쿨리주맙을 포함하는 본 발명의 병용 요법에서, 에쿨리주맙은 약 0.01 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 또는 약 5 mg/kg 내지 약 10 mg/kg, 또는 약 0.5 mg/kg 내지 약 15 mg/kg의 용량으로 피검자에게 예를 들어, 피하로 투여될 수 있다. 예를 들어, 에쿨리주맙은 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 1.5 mg/kg, 2 mg/kg, 2.5 mg/kg, 3 mg/kg, 3.5 mg/kg, 4 mg/kg, 4.5 mg/kg, 5 mg/kg, 5.5 mg/kg, 6 mg/kg, 6.5 mg/kg, 7 mg/kg, 7.5 mg/kg, 8 mg/kg, 8.5 mg/kg, 9 mg/kg, 9.5 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 또는 15 mg/kg의 용량으로 피검자에게 예를 들어 피하 투여될 수 있다.

[0977] 본 발명의 방법 및 용도는 표적 CFB, C3 및/또는 C9(및/또는 C5) 유전자의 발현이 예를 들어, 약 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12, 16, 18, 24, 28, 32, 36, 40, 44, 48, 52, 56, 60, 64, 68, 72, 76 또는 약 80시간 동안 감소되도록, 본원에 기술된 조성물을 투여하는 단계를 포함한다. 일 실시형태에 있어서, 표적 유전자의 발현은 연장된 기간, 예를 들어, 적어도 약 2, 3, 4, 5, 6, 7일 또는 그 이상, 예를 들어, 약 1주, 2주, 3주 또는 약 4주 또는 그 이상 동안 감소된다.

[0978] 본 발명의 방법 및 용도에 따른 dsRNA의 투여는 보체 성분-관련 질병이 있는 환자에서 이러한 질병 또는 장애의 중증도, 증후, 증상 및/또는 마커의 감소를 초래할 수 있다. 이러한 맥락에서 "감소"는 이러한 수준의 통계적으로 유의미한 감소를 의미한다. 감소는 예를 들어, 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% 또는 약 100%일 수 있다.

[0979] 질병의 치료 또는 예방의 효능은 예를 들어, 질병 진행, 질병 회복, 증상 중증도, 통증 감소, 삶의 질, 치료 효과 지속에 필요한 약제의 용량, 질병 마커의 수준 또는 치료중이거나 예방을 위해 표적화된 주어진 질병에 적절한 임의의 다른 측정가능한 매개변수를 측정함으로써 평가될 수 있다. 그러한 매개변수들 중 어느 하나 또는 매개변수들의 임의의 조합을 측정함으로써 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것은 충분히 당업자의 능력 내에 있다. 예를 들면, 용혈 장애의 치료의 효능은 예를 들면, LDH 및 CH₅₀ 수준의 주기적 모니터링에 의해 평가될 수 있다. 최초 값 판독과 나중 값 판독을 비교하여 의사에게 치료가 효과적인지의 여부에 대한 지시를 제공한다. 그러한 매개변수들 중 어느 하나 또는 매개변수들의 임의의 조합을 측정함으로써 치료 또는 예방의 효능을 모니터링하는 것은 충분히 당업자의 능력 내에 있다. CFB, C3 및/또는 C9을 표적으로 하는 iRNA 또는 그의 약학적 조성물의 투여와 관련하여, 보체 성분-관련 질병에 "대하여 효과적인"은 임상적으로 적절한 방식으로 투여하게 되면 증상의 개선, 치유, 질병의 감소, 생명의 연장, 삶의 질의 개선 또는 보체 성분-관련 질병 및 이와 관련된 원인 치료에 익숙한 의사에 의해 일반적으로 긍정적이라고 인정되는 다른 효과와 같은, 환자의 적어도 통계적으로 유의한 분율에 대하여 유의한 효과가 생긴다는 것을 나타낸다.

[0980] 치료 또는 예방 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% 또는 그 이상은 효과적인 치료를 나타낼 수 있다. 주어진 iRNA 약물 또는 그러한 약물의 제형에 대한 효능은 당업계에 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 유의미한 감소가 관찰되는 경우 입증된다.

- [0981] 대안적으로, 효능은 임상적으로 받아들여지는 질병 중증도 등급 스케일, 일례로 류마티스 관절염 중증도 스케일 (RASS)에 기초하여 진단의 당업자에 의해 결정된 바와 같은 질병의 중증도의 감소에 의해 측정될 수 있다. 예컨대, 적절한 스케일을 이용하여 측정된 질병의 중증도의 경감을 일어나게 하는 임의의 긍정적인 변화는 본원에 기술된 바와 같이 iRNA 또는 iRNA 제형을 이용하는 적절한 치료를 나타낸다.
- [0982] 피검자에는 치료적 유효량의 iRNA, 예를 들어, 약 0.01 mg/kg, 0.02 mg/kg, 0.03 mg/kg, 0.04 mg/kg, 0.05 mg/kg, 0.1 mg/kg, 0.15 mg/kg, 0.2 mg/kg, 0.25 mg/kg, 0.3 mg/kg, 0.35 mg/kg, 0.4 mg/kg, 0.45 mg/kg, 0.5 mg/kg, 0.55 mg/kg, 0.6 mg/kg, 0.65 mg/kg, 0.7 mg/kg, 0.75 mg/kg, 0.8 mg/kg, 0.85 mg/kg, 0.9 mg/kg, 0.95 mg/kg, 1.0 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, 2.0 mg/kg, 2.1 mg/kg, 2.2 mg/kg, 2.3 mg/kg, 2.4 mg/kg, 2.5 mg/kg dsRNA, 2.6 mg/kg dsRNA, 2.7 mg/kg dsRNA, 2.8 mg/kg dsRNA, 2.9 mg/kg dsRNA, 3.0 mg/kg dsRNA, 3.1 mg/kg dsRNA, 3.2 mg/kg dsRNA, 3.3 mg/kg dsRNA, 3.4 mg/kg dsRNA, 3.5 mg/kg dsRNA, 3.6 mg/kg dsRNA, 3.7 mg/kg dsRNA, 3.8 mg/kg dsRNA, 3.9 mg/kg dsRNA, 4.0 mg/kg dsRNA, 4.1 mg/kg dsRNA, 4.2 mg/kg dsRNA, 4.3 mg/kg dsRNA, 4.4 mg/kg dsRNA, 4.5 mg/kg dsRNA, 4.6 mg/kg dsRNA, 4.7 mg/kg dsRNA, 4.8 mg/kg dsRNA, 4.9 mg/kg dsRNA, 5.0 mg/kg dsRNA, 5.1 mg/kg dsRNA, 5.2 mg/kg dsRNA, 5.3 mg/kg dsRNA, 5.4 mg/kg dsRNA, 5.5 mg/kg dsRNA, 5.6 mg/kg dsRNA, 5.7 mg/kg dsRNA, 5.8 mg/kg dsRNA, 5.9 mg/kg dsRNA, 6.0 mg/kg dsRNA, 6.1 mg/kg dsRNA, 6.2 mg/kg dsRNA, 6.3 mg/kg dsRNA, 6.4 mg/kg dsRNA, 6.5 mg/kg dsRNA, 6.6 mg/kg dsRNA, 6.7 mg/kg dsRNA, 6.8 mg/kg dsRNA, 6.9 mg/kg dsRNA, 7.0 mg/kg dsRNA, 7.1 mg/kg dsRNA, 7.2 mg/kg dsRNA, 7.3 mg/kg dsRNA, 7.4 mg/kg dsRNA, 7.5 mg/kg dsRNA, 7.6 mg/kg dsRNA, 7.7 mg/kg dsRNA, 7.8 mg/kg dsRNA, 7.9 mg/kg dsRNA, 8.0 mg/kg dsRNA, 8.1 mg/kg dsRNA, 8.2 mg/kg dsRNA, 8.3 mg/kg dsRNA, 8.4 mg/kg dsRNA, 8.5 mg/kg dsRNA, 8.6 mg/kg dsRNA, 8.7 mg/kg dsRNA, 8.8 mg/kg dsRNA, 8.9 mg/kg dsRNA, 9.0 mg/kg dsRNA, 9.1 mg/kg dsRNA, 9.2 mg/kg dsRNA, 9.3 mg/kg dsRNA, 9.4 mg/kg dsRNA, 9.5 mg/kg dsRNA, 9.6 mg/kg dsRNA, 9.7 mg/kg dsRNA, 9.8 mg/kg dsRNA, 9.9 mg/kg dsRNA, 9.0 mg/kg dsRNA, 10 mg/kg dsRNA, 15 mg/kg dsRNA, 20 mg/kg dsRNA, 25 mg/kg dsRNA, 30 mg/kg dsRNA, 35 mg/kg dsRNA, 40 mg/kg dsRNA, 45 mg/kg dsRNA 또는 약 50 mg/kg dsRNA가 투여될 수 있다. 인용된 값의 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.
- [0983] 특정 실시형태들에서, 예를 들어, 본 발명의 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 dsRNA 및 지질을 포함하는 경우에, 피검자에는 치료량의 iRNA, 예를 들어, 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 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/kg이 투여될 수 있다. 인용된 값의 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.
- [0984] 예를 들어, dsRNA는 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9 또는 약 10 mg/kg의 용량으로 투여될 수 있다. 인용된 값의 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.
- [0985] 다른 실시형태에 있어서, 예를 들어, 본 발명의 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 dsRNA 및 N-아세틸갈락토사민을 포함하는 경우, 피검자에는 치료량의 iRNA, 예를 들어, 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, 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 용량이 투여될 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 본 발명의 조성물이 본원에 기술된 바와 같은 dsRNA 및 N-아세틸갈락토사민을 포함하는 경우, 피검자에는 치료량의 약 10 내지 약 30 mg/kg의 dsRNA가 투여될 수 있다. 인용된 값의 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0986] 예를 들어, 피검자는 치료량의 iRNA, 예를 들어, 약 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, 1.9, 2, 2.1, 2.2, 2.3, 2.4, 2.5, 2.6, 2.7, 2.8, 2.9, 3, 3.1, 3.2, 3.3, 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 4, 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5, 4.6, 4.7, 4.8, 4.9, 5, 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7, 5.8, 5.9, 6, 6.1, 6.2, 6.3, 6.4, 6.5, 6.6, 6.7, 6.8, 6.9, 7, 7.1, 7.2, 7.3, 7.4, 7.5, 7.6, 7.7, 7.8, 7.9, 8, 8.1, 8.2, 8.3, 8.4, 8.5, 8.6, 8.7, 8.8, 8.9, 9, 9.1, 9.2, 9.3, 9.4, 9.5, 9.6, 9.7, 9.8, 9.9, 10, 10.5, 11, 11.5, 12, 12.5, 13, 13.5, 14, 14.5, 15, 15.5, 16, 16.5, 17, 17.5, 18, 18.5, 19, 19.5, 20, 20.5, 21, 21.5, 22, 22.5, 23, 23.5, 24, 24.5, 25, 25.5, 26, 26.5, 27, 27.5, 28, 28.5, 29, 29.5, 30, 31, 32, 33, 34, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 또는 약 50 mg/kg이 투여될 수 있다. 인용된 값의 중간인 값 및 범위도 본 발명의 부분으로 의도된다.

[0987] 본 발명의 특정 실시형태에 있어서, 예를 들어, 이중-가닥 RNAi 작용제가 이러한 작용제의 절단 부위 또는 그 부근에 변형(예컨대, 3개의 연속 뉴클레오티드 상의 3개의 동일한 변형의 하나 이상의 모티프), 예컨대 이러한 하나의 변형, 6개의 포스포로티오에이트 결합 및 리간드를 포함하는 경우, 이러한 작용제는 약 0.01 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.01 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.01 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.01 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.01 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 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.02 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.02 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.02 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.02 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 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.03 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.03 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.03 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.03 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 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.04 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.04 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.04 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.04 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 내지 약 0.5 mg/kg, 약 0.05 내지 약 0.4 mg/kg, 약 0.05 내지 약 0.3 mg/kg, 약 0.05 내지 약 0.2 mg/kg, 약 0.05 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.

전술한 값들의 중간에 존재하는 값 및 범위 또한, 본 발명의 일부인 것으로 의도되며, 예를 들어, RNAi 작용제는 약 0.015 mg/kg 내지 약 0.45 mg/kg의 용량으로 피검자에게 투여될 수 있다.

[0988] 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. 전술한 값들의 중간에 존재하는 값 및 범위 또한, 본 발명의 일부인 것으로 의도된다.

[0989] iRNA는 소정의 기간, 예를 들어, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 및 21, 22, 23, 24 또는 약 25분 기간에 걸쳐, 정맥내 주입에 의해 투여될 수 있다. 투여는 예를 들어, 정기적으로, 예를 들어, 1개월, 2개월, 3개월, 4개월 또는 그 이상 동안 주마다, 격주로(즉, 2주마다) 반복될 수 있다. 초기 치료 양생법 후에, 치료는 덜 빈번하게 투여될 수 있다. 예를 들어, 3개월 동안 주마다 또는 격주로의 투여 후에, 투여는 6개월 또는 1년 또는 그 이상 동안 월 1회 반복될 수 있다.

[0990] iRNA의 투여는 예를 들어, 환자의 세포, 조직, 혈액, 소변 또는 다른 구획에서 CFB, C3 및/또는 C9(및/또는 C5) 수준을 적어도 약 5%, 6%, 7%, 8%, 9%, 10%, 11%, 12%, 13%, 14%, 15%, 16%, 17%, 18%, 19%, 20%, 21%, 22%, 23%, 24%, 25%, 26%, 27%, 28%, 29%, 30%, 31%, 32%, 33%, 34%, 35%, 36%, 37%, 38%, 39%, 40%, 41%, 42%, 43%, 44%, 45%, 46%, 47%, 48%, 49%, 50%, 51%, 52%, 53%, 54%, 55%, 56%, 57%, 58%, 59%, 60%, 61%, 62%, 63%, 64%, 65%, 66%, 67%, 68%, 69%, 70%, 71%, 72%, 73%, 74%, 75%, 76%, 77%, 78%, 79%, 80%, 81%, 82%, 83%, 84%, 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98% 또는 적어도 약 99% 또는 그 이상 감소시킬 수 있다.

[0991] iRNA의 전체 용량을 투여하기 이전에, 환자는 5% 주입과 같이 더 적은 용량을 투여받을 수 있으며, 알리지 반응과 같은 불리한 효과에 대하여 모니터링될 수 있다. 다른 예에 있어서, 환자는 증가된 사이토카인(예컨대, TNF-알파 또는 INF-알파) 수준과 같이 원하지 않는 면역자극 효과에 대하여 모니터링될 수 있다.

[0992] 본 발명에 따른 조성물 또는 그로부터 제조된 약학적 조성물은 CFB, C3 및/또는 C9 발현에 대한 억제 효과 때문에, 삶의 질을 향상시킬 수 있다.

[0993] 본 발명의 iRNA는 "네이키드(naked)" 형태 또는 "유리 iRNA"로서 투여될 수 있다. 네이키드 iRNA는 약학적 조성물의 부재 하에서 투여된다. 네이키드 iRNA는 적당한 완충 용액 내에 있을 수 있다. 완충 용액은 아세트산염, 시트르산염, 포름라민, 탄산염 또는 인산염, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 일 실시형태에 있어서, 완충 용액은 인산염 완충 염수(PBS)이다. iRNA를 포함하는 완충 용액의 pH 및 오스몰농도는 피검자에게 투여하기에 것이 적합하도록 조정될 수 있다.

[0994] 대안적으로, 본 발명의 iRNA는 약학적 조성물, 예를 들어, dsRNA 리포좀 제형으로서 투여될 수 있다.

[0995] CFB, C3 및/또는 C9 유전자 발현의 감소 및/또는 억제로 이득을 보게 되는 피검자는 본원에 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병 또는 장애를 갖는 것들이다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 발작성 야간혈색소뇨증(PNH)을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 천식을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 류마티스 관절염을 가진다. 또 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 전신 홍반성 루푸스를 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 사구체신염을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 건선을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 피부근염 수포성 유천포창을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 비정형 용혈성 요독 증후군(aHUS)을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 쉬가 독소 이. 콜라이-관련 용혈성 요독 증후군을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 중증근무력증을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 시신경척수염을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 고밀도침착병을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 C3 신장병증을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검

자는 연령-관련 황반 변성을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 저온응집 병을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 항-호중구 세포질 항체-관련 혈관염을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 체액 및 혈관 이식 거부를 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 이식편 기능이상을 가진다. 일 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 심근 경색증을 가진다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 이식 수여자의 감각이다. 다른 실시형태에 있어서, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자는 패혈증을 가진다.

[0996] CFB, C3 및/또는 C9 유전자 발현의 감소 및/또는 억제로 이득을 얻을 피검자의 치료는 치료적 및 예방적(예를 들어, 피검자는 감각된(또는 동종이계) 이식 수술을 겪을 것임) 처치를 포함한다.

[0997] 본 발명은 추가로 다른 약제 및/또는 다른 치료 방법, 예를 들어, 알려져 있는 약제 및/또는 알려져 있는 치료 방법, 예를 들어, 이들 장애를 치료하기 위해 현재 채용되는 것들과 병용하여, 본 발명의 표적 유전자, 예를 들어 CFB, C3 및/또는 C9 발현의 감소 및/또는 억제로 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자를 치료하기 위한, iRNA 작용제 또는 그의 약학적 조성물의 방법 및 용도(iRNA 작용제 또는 iRNA 작용제 및 추가의 치료제, 예를 들어 항-보체 성분 C5 항체 또는 그의 항원-결합 단편을 포함하는 약학적 조성물의 방법 및 용도 포함)를 제공한다. 예를 들어, 특정 실시형태들에 있어서, CFB를 표적으로 하는 iRNA는 본원의 다른 곳에서 기술된 바와 같은 보체 성분-관련 질병을 치료하는데 유용한 작용제와 병용 투여된다.

[0998] 예를 들어, CFB, C3 및/또는 C9 발현의 감소를 이득을 보게 되는 피검자, 예를 들어, 보체 성분-관련 질병을 갖는 피검자의 치료에 적당한 추가의 치료제 및 치료 방법은 혈장교환술, 혈전용해 요법(예컨대, 스트렙토키나아제), 항혈소판제, 엽산, 코르티코스테로이드; 면역억제제; 에스트로겐, 메토크렉세이트, 6-MP, 아자티오프린 설파살라진, 메살라진, 올살라진, 클로로퀸/하이드록시클로퀸, 펜실라민, 아우로티오말레이트(근육내 및 경구), 아자티오프린, 콜히친, 코르티코스테로이드(경구, 흡입 및 국소 주사), 베타-2 아드레날린성 수용체 효능제(살부타몰, 터부탈린, 살메테랄), 잔틴(테오필린, 아미노필린), 크로모글리케이트, 네도크로밀, 케토티펜, 이프라트로프 및 옥시트로프, 사이클로스포린, FK506, 라파마이신, 미코페놀레이트 모페틸, 레플루노마이드, NSAID, 예를 들면, 이부프로펜, 코르티코스테로이드, 예를 들면, 프레드니솔론, 포스포디에스테라제 억제제, 아데노신 효능제, 항혈전제, 보체 억제제, 아드레날린성 작용제, 전염증성 사이토카인, 예를 들면, TNF- α 또는 IL-1(예컨대, IRAK, NIK, IKK, p38 또는 MAP 키나제 억제제)에 의해 신호전달을 간섭하는 작용제, IL-1 β 전환 효소 억제제, TNF α 전환 효소(TACE) 억제제, T-세포 신호전달 억제제, 예를 들면, 키나제 억제제, 메탈로프로테이나제 억제제, 설파살라진, 아자티오프린, 6-머캅토프린, 안지오텐신 전환 효소 억제제, 용해성 사이토카인 수용체 및 그의 유도체(예를 들어, 용해성 p55 또는 p75 TNF 수용체 및 유도체 p75TNFRIgG(Enbrel™ 및 p55TNFRIgG(레네르셉트)), sIL-1RI, sIL-1RII 및 sIL-6R), 항염증성 사이토카인(예를 들어, IL-4, IL-10, IL-11, IL-13 및 TGF β), 셀레콕시브, 엽산, 하이드록시클로퀸 설페이트, 로페콕시브, 에타너셉트, 인플릭시모노클로날 항체, 나프록센, 발데콕시브, 설파살라진, 메틸프레드니솔론, 멜록시캄, 메틸프레드니솔론 아세테이트, 금 나트륨 티오말레이트, 아스피린, 트리암시놀론 아세토나이드, 프로폭시펜 나프실레이트/apap, 폴레이트, 나부메톤, 디클로페낙, 피록시캄, 에토돌락, 디클로페낙 나트륨, 옥사프로진, 옥시코돈 히드로클로라이드, 히드로코돈 비타르테이트/apap, 디클로페낙 나트륨/미소프로스톨, 펜타닐, 아나킨라, 인간 재조합체, 트라마돌 히드로클로라이드, 살살레이트, 술린다, 시아노코발라민/엽산/피리독신, 아세트아미노펜, 알렌드로네이트 나트륨, 프레드니솔론, 모르핀 설페이트, 리도카인 히드로클로라이드, 인도메타신, 글루코사민 설프/콘드로이친, 아미트립틸린 히드로클로라이드, 설파디아진, 옥시코돈 히드로클로라이드/아세트아미노펜, 울로파타딘 히드로클로라이드, 미소프로스톨, 나프록센 나트륨, 오메프라졸, 사이클로포스파미드, 리툽시모노클로날 항체, IL-1 TRAP, MRA, CTLA4-IG, IL-18 BP, 항-IL-18, 항-IL15, BIRB-796, SCIO-469, VX-702, AMG-548, VX-740, 로플루밀라스트, IC-485, CDC-801, 메소프람, 사이클로스포린, 사이토카인 억제 항-염증 약물(들)(CSAID); CDP-571/BAY-10-3356(인간화 항-TNF α 항체; 셀테크(Celltech)/Bayer); ca2/인플릭시모노클로날 항체(키메라 항-TNF α 항체; Centocor); 75 kdTNFR-IgG/에타너셉트(75 kd TNF 수용체-IgG 융합 단백질; 이뮤넥스(Immunex); 예를 들어, (1994) Arthr. Rheum. 37: S295; (1996) J. Invest. Med. 44: 235A 참조); 55 kdTNF-IgG(55 kd TNF 수용체-IgG 융합 단백질; Hoffmann-LaRoche); IDEC-CE9.1/SB 210396(비-고갈 영양류화된 항-CD4 항체; IDEC/SmithKline; 예를 들어, (1995) Arthr. Rheum. 38: S185 참조); DAB 486-IL-2 및/또는 DAB 389-IL-2(IL-2 융합 단백질; Seragen; 예를 들어, (1993) Arthrit. Rheum. 36: 1223 참조); 항-Tac(인간화된 항-IL-2R α ; 단백질 Design Labs/Roche); IL-4(항염증 사이토카인; DNAX/Schering); IL-10(SCH 52000; 재조합 IL-10, 항-염증 사이토카인; DNAX/Schering); IL-4; IL-10 및/또는 IL-4 효능제(예를 들어, 효능제 항체); IL-1RA(IL-1 수용체 길항제; Synergen/Amgen); 아

나킨라(Kineret[®]/Amgen); TNF-bp/s-TNF(가용성 TNF 결합 단백질; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S284; (1995) Amer. J. Physiol. - Heart and Circ. Physiol. 268: 37-42 참조); R973401(포스포디에스테라아제 IV형 억제제; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S282 참조); MK-966(COX-2 억제제; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S81 참조); 일로프로스트(Iloprost)(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S82 참조); 메토틱세이트; 탈리도미드(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S282 참조) 및 탈리도미드-관련 약물(예를 들어, Celgen); 레플루노미드(항-염증 및 사이토카인 억제제; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S131; (1996) Inflamm. Res. 45: 103-107 참조); 트라넥삼산(플라스미노겐 활성화의 억제제; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S284 참조); T-614(사이토카인 억제제; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S282 참조); 프로스타글란딘 E1(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S282 참조); 테니답(Tenidap)(비-스테로이드성 항-염증 약물; 예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S280 참조); 나프록센(Naproxen)(비-스테로이드성 항-염증 약물; 예를 들어, (1996) Neuro. Report 7: 1209-1213 참조); 멜록시캄(Meloxicam)(비스테로이드성 항-염증 약물); 이부프로펜(Ibuprofen)(비스테로이드성 항-염증 약물); 피록시캄(Piroxicam)(비-스테로이드성 항-염증 약물); 디클로페낙(비스테로이드성 항-염증 약물); 인도메타신(Indomethacin)(비스테로이드성 항-염증 약물); 설파살라진(Sulfasalazine)(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S281 참조); 아자티오프린(Azathioprine)(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S281 참조); ICE 억제제(효소 인터류킨-1 β 전환 효소의 억제제); zap-70 및/또는 lck 억제제(티로신 키나제 zap-70 또는 lck의 억제제); VEGF 억제제 및/또는 VEGF-R 억제제(혈관 내피 세포 성장 인자 또는 혈관 내피 세포 성장 인자 수용체의 억제제; 혈관신생의 억제제); 코르티코스테로이드 항-염증 약물(예를 들어, SB203580); TNF-컨버타아제 억제제; 항-IL-12 항체; 항-IL-18 항체; 인터류킨-11(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S296 참조); 인터류킨-13(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S308 참조); 인터류킨-17 억제제(예를 들어, (1996) Arthr. Rheum. 39(9 (supplement)): S120 참조); 금; 페니실라민; 클로로퀸; 클로람부실; 하이드록시클로로퀸; 사이클로스포린; 사이클로포스파미드; 전체 림프구 자극; 항-흉선세포 글로불린; 항-CD4 항체; CD5-독소; 경구 투여된 펩티드 및 콜라겐; 로벤자리트 이나트륨; 사이토카인 조절제(CRA) HP228 및 HP466(Houghten Pharmaceuticals, Inc.); ICAM-1 안티센스 포스포로티오에이트 올리고-데옥시뉴클레오타이드(ISIS 2302; Isis Pharmaceuticals, Inc.); 가용성 보체 수용체 1(TP10; T Cell Sciences, Inc.); 프레드니손; 오르코테인(orgotein); 글리코사미노글리칸 폴리설페이트; 미노사이클린(minocycline); 항-IL2R 항체; 해양 및 식물 지질(어류 및 식물 종자 지방산; 예를 들어, DeLuca et al. (1995) Rheum. Dis. Clin. North Am. 21:759-777 참조); 아우라노핀; 페닐부타존; 메클로페남산; 플루페남산; 정맥내 면역 글로불린; 질레우톤; 아자리빈; 미코페놀산(RS-61443); 타크롤리무스(FK-506); 시롤리무스(라파마이신); 아미프릴로즈(테라펙틴); 클라드리빈(2-클로로데옥시아데노신); 메토틱세이트; bcl-2 억제제(Bruncko, M. et al. (2007) J. Med. Chem. 50(4): 641-662 참조); 항바이러스 및 면역-조절제, KDR의 소분자 억제제, Tie-2의 소분자 억제제; 메토틱세이트; 프레드니손; 셀레코시브; 엽산; 히드록시클로로퀸 설페이트; 로페콕시브; 에타너셉트; 인플릭시모노클로날 항체; 레플루노미드; 나프록센; 발데콕시브; 설파살라진; 메틸프레드니솔론; 이부프로펜; 멜록시캄; 메틸프레드니솔론 아세테이트; 금 나트륨 티오말레이트; 아스피린; 아자티오프린; 트리암시놀론 아세토나이드; 프로폭시펜 나프실레이트/apap; 폴레이트; 나부메톤; 디클로페낙; 피록시캄; 에토돌락; 디클로페낙 나트륨; 옥사프로진; 옥시코돈 hcl; 히드로코돈 비타르트레이트/apap, 디클로페낙 나트륨/미소프로스톨; 펜타닐; 아나킨라; 인간 재조합체; 트라마돌 히드로클로라이드; 살살레이트; 솔린다; 시아노코발라민/엽산/피리독신; 아세트아미노펜; 알렌드로네이트 나트륨; 프레드니솔론; 모르핀 설페이트; 리도카인 히드로클로라이드; 인도메타신; 글루코사민 설페이트/콘드로이틴; 사이클로스포린; 아미트립틸린 hcl; 설파디아진; 옥시코돈 히드로클로라이드/아세트아미노펜; 울로파타딘 hcl; 미소프로스톨; 나프록센 나트륨; 오메프라졸; 마이코페놀레이트 모페틸; 사이클로포스파미드; 리톡시모노클로날 항체; IL-1 TRAP; MRA; CTLA4-IG; IL-18 BP; IL-12/23; 항-IL 18; 항-IL 15; BIRB-796; SCIO-469; VX-702; AMG-548; VX-740; 로플루밀라스트(Roflumilast); IC-485; CDC-801; 메소프람, 알부테롤, 살메테롤/플루티카손, 몬테루카스트 나트륨, 플루티카손 프로피오네이트, 부데소니드, 프레드니손, 살메테롤 크시나포에이트, 레발부테롤 히드로클로라이드, 알부테롤 설페이트/이프라트로피움, 프레드니솔론 나트륨 포스페이트, 트리암시놀론 아세토나이드, 베클로메타손 디프로피오네이트, 이프라트로피움 브로마이드, 아지트로마이신, 피르부테롤 아세테이트, 프레드니솔론, 무수 테오필린, 메틸프레드니솔론 나트륨 석시네이트, 클라리트로마이신, 자피클루카스트, 포르모테롤 푸마레이트, 인플루엔자 바이러스 백신, 메틸프레드니솔론, 아목시실린 트리하이드레이트, 플루니솔리드, 알러지 주입, 크로몰린 나트륨, 펙소페나딘 히드로클로라이드, 플루니솔리드/멘톨, 아목시실린/클라불라네이트, 레보플록사신, 흡입 보

조 장치, 구아니페네신, 텍사메타손 나트륨 포스페이트, 목시플록사신 히드로클로라이드, 독시사이클린 하이클레이트, 구아니페네신/d-메토르판, p-에페드린/cod/클로르페니르, 가티플록사신, 세티리진 히드로클로라이드, 모메타손 푸로에이트, 살메테롤 크시나포에이트, 벤조나테이트, 세팔렉신, pe/히드로코돈/클로르페니르, 세티리진 히드로클로라이드/슈도에페드, 페닐에프린/cod/프로메타진, 코데인/프로메타진, 세프프로질, 텍사메타손, 구아니페네신/슈도에페드린, 클로르페니라민/히드로코돈, 네도크로밀 나트륨, 테르부탈린 설페이트, 에피네프린, 메틸프레드니솔론, 메타프로테레놀 설페이트, 아스피린, 니트로글리세린, 메토프롤롤 타르트레이트, 에녹사파린 나트륨, 헤파린 나트륨, 클로피도그렐 비설페이트, 카르베딜롤, 아테놀롤, 모르핀 설페이트, 메토프롤롤 석시네이트, 와파린 나트륨, 리시노프릴, 이소소르비드 모노니트레이트, 디곡신, 푸로세미드, 심바스타틴, 라미프릴, 테넥테플라제, 에날라프릴 말레이트, 토르세미드, 레타바세, 로사르탄 칼륨, 퀴나프릴 히드로클로라이드/mag carb, 부메타니드, 알테플라제, 에날라프릴라트, 아마오다론 히드로클로라이드, 티로피판 hcl m-하이드레이트, 딜티아젠펜 히드로클로라이드, 캅토프릴, 이르베사르탄, 발사르탄, 프로프라놀롤 히드로클로라이드, 포시노프릴 나트륨, 리도카인 히드로클로라이드, 에프티피바티드, 세파졸린 나트륨, 아트로핀 설페이트, 아미노카프로산, 스피로놀락톤, 인터페론, 소탈롤 히드로클로라이드, 염화칼륨, 도쿠세이트 나트륨, 도부타민 히드로클로라이드, 알프라졸람, 프라바스타틴 나트륨, 아토르바스타틴 칼슘, 미다졸람 히드로클로라이드, 메페리딘 히드로클로라이드, 이소소르비드 디니트레이트, 에피네프린, 도파민 히드로클로라이드, 비발리루딘, 로수바스타틴, 에제티미베/심바스타틴, 아바시미베 및 카리포리드를 포함한다.

[0999] iRNA 작용제(및/또는 항-보체 성분 C5 항체) 및 추가의 치료제 및/또는 치료는 동시에 및/또는 동일한 조합물에서 예를 들어, 비경구적으로 투여되거나, 추가의 치료제가 개별 조성물의 부분으로서 또는 개별 시간에 및/또는 당업계에 알려져 있거나 본원에 기술된 다른 방법에 의해, 투여될 수 있다.

[1000] 달리 정의되지 않으면, 본원에 이용된 모든 기술 및 과학 용어는 본 발명이 속하는 기술 분야에서 통상의 지식을 가진 자에 의해 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.

[1001] 실시예

[1002] 실시예 1. iRNA 합성

[1003] 시약의 공급처

[1004] 시약의 공급처가 본원에 명시적으로 주어지지 않는 경우, 그러한 시약은 분자 생물학에서의 응용을 위한 품질/순도 표준으로 분자 생물학을 위한 시약의 임의의 공급처로부터 취득될 수 있다.

[1005] 전사물

[1006] siRNA 설계를 수행하여, 인간(호모 사피엔스), 시노물구스 원숭이(마카카 파시쿨라리스; 이하 "시노"), 마우스(무스 무스쿨루스(*Mus musculus*)) 및 랫(라투스 노르베기쿠스(*Rattus norvegicus*)) 전사물을 표적으로 하는 siRNA를 동정하였다. 일반적으로, 듀플렉스 설계는 NCBI 유전자 데이터베이스(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)에 주석을 단 NCBI RefSeq 집합으로부터의 인간, 마우스 및 랫 전사물을 이용하였다. 시노의 경우, 설계는 *M. 파스쿨라리스*(*M. fascicularis*) 게놈 프로젝트(<http://macaque.genomics.org.cn/page/species/download.jsp>)로부터 다운로드한 전사물 및/또는 간-유래 cDNA 라이브러리로부터 취득한 전사물을 이용하였다.

[1007] CFB siRNA의 설계는 NCBI RefSeq 집합으로부터 하기 전사물들을 이용하였다: 인간 - NM_001710; 시노(*M. 파스쿨라리스* 게놈 프로젝트로부터) - ENSMUP00000000985 (유전자 좌=스캐폴드3881:47830:53620); 마우스 - NM_001142706 및 NM_008198; 및 랫 - NM_212466.3.

[1008] C3 siRNA의 설계는 NCBI RefSeq 집합으로부터 하기 전사물들을 이용하였다: 인간 - NM_000064; 시노(*M. 파스쿨라리스* 게놈 프로젝트로부터) - ENSP00000245907 (유전자 좌=chr19:6921416:6963034); 마우스 - NM_009778; 및 랫 - NM_016994.

[1009] C9 siRNA의 설계는 NCBI RefSeq 집합으로부터 하기 전사물들을 이용하였다: 인간 - NM_001737; 시노(간 cDNA 라이브러리로부터) - isotig05361; 마우스 - NM_013485; 및 랫 - NM_057146.

- [1010] siRNA 듀플렉스는, 인간 전사물 단독; 인간 및 시노 전사물; 인간, 시노 및 마우스 전사물; 및 인간, 시노, 마우스 및 랫 전사물에 일치되는 듀플렉스를 함유하는 बै치(batch)를 포함하나 이들로 한정되지 않는 몇몇 개별 बै치에서 설계하였다. 대부분의 siRNA 듀플렉스는 열거된 인간 전사물 및 각각의 बै치 설계에서 고려된 다른 중 전사물(상기)과 100% 동일성을 공유하도록 설계하였다. 그러나, 일부 경우, 안티센스 가닥:표적 mRNA 상보성 염기쌍이 GC 또는 CG 쌍일 때, siRNA 듀플렉스는 제1 안티센스(마지막 센스) 위치에서 듀플렉스와 mRNA 표적 사이에 미스매치가 존재하도록 설계하였다(예를 들어, 표 5 참조, 올리고는 G21U, G21A, C21A, G21A로 표지됨). 이들 경우, 듀플렉스는 제1 안티센스: 마지막 센스 쌍에서 UA 또는 AU 염기쌍이 존재하도록 설계하였다. 따라서, 듀플렉스는 상보성을 유지하였지만, 표적과 일치하지는 않았다(U:C, U:G, A:C 또는 A:G).
- [1011] *siRNA 설계, 특이성 및 효능 예측*
- [1012] 모든 가능한 19mer의 예측되는 특이성을 각각의 서열로부터 예측하였다. 이어서, 7개 초과 뉴클레오타이드 반복체가 결여된 후보 19mer를 선택하였다.
- [1013] 하기 후보 siRNA 세트를 파이썬 스크립트(python script) 'BruteForce.py'에서 구현되는 포괄적인 "무작위 대입(brute-force)" 알고리즘을 이용한 적절한 전사체(transcriptome)(인간, 마우스 또는 랫 NCBI Refseq 세트 내의 NM_ 및 XM_ 기록의 세트로 정의되고, NCBI 뉴클레오타이드에서 시노 전사체 세트로서 정의됨)에 대한 광범위한 검색에 이용하였다.
- [1014] C3: 46 인간/시노/마우스/랫, 80 인간/시노/마우스, 2384 인간/시노.
- [1015] C9: 7 인간/시노/마우스/랫, 12 인간/시노/마우스, 816 인간/시노.
- [1016] CFB: 23 인간/시노/마우스, 1232 인간/시노.
- [1017] 다음으로, 스크립트는 전사물-올리고 정렬을 분석하여 siRNA와 임의의 잠재적인 '오프-표적' 전사물 간의 미스매치들의 위치 및 수에 기반한 점수를 발생시켰다. 오프-표적 점수는 가중되어 분자의 5' 말단으로부터 2-9 위치인 siRNA의 '시드(seed)' 영역에서 차이를 강조한다.
- [1018] 무작위-대입 검색으로부터 각각의 올리고-전사물 쌍은 개별 미스매치 점수들을 합함으로써 미스매치 점수가 주어지고; 위치 2-9 내의 미스매치들은 2.8로 계산되었고, 절단 부위 위치 10-11 내의 미스매치는 1.2로 계산되었으며, 영역 12-19 내의 미스매치들은 1.0으로 계산되었다. 추가적인 오프-표적 예측은 각각의 올리고의 3개의 상이한 시드-유래된 6mer로부터 유래된 7mer 및 8mer의 빈도를 비교함으로써 수행되었다. 5' 시작에 대한 2-7 위치로부터의 6mer를 이용하여 2개의 7mer 및 1개의 8mer를 생성하였다. '7mer 1'은 6mer에 3'-A를 첨가하여 생성하였고; 7mer 2는 6mer에 5'-A를 첨가하여 생성하였으며, 8mer는 6mer의 5'- 및 3'- 양 말단들에 A를 첨가함으로써 생성하였다. (코딩 영역 'CDS'의 말단이 분명히 정의되어 있는 NCBI의 Refseq 데이터베이스로부터 전사물의 하위서열로 정의된) 인간, 레서스, 마우스 또는 랫 3'-UTRome에서의 8mer 및 7mer의 빈도는 미리 산출하였다. 8mer 빈도는 8mer 빈도들의 범위로부터 중간 값을 이용하여 7mer 빈도로 정규화되었다. 이후, 'mirSeedScore'는 ((3 X 정규화된 8mer 계수) + (2 X 7mer 2 계수) + (1 X 7mer 1 계수))의 합을 계산함으로써 계산되었다.
- [1019] siRNA 양 가닥을 계산된 점수에 따라 특이성의 범주에 할당하였다: 3을 초과하는 점수는 고도로 특이적인 것으로, 3과 동일한 점수는 특이적인 것 및 2.2에서 2.8 사이의 점수는 적당히 특이적인 것으로 한다. 듀플렉스는 안티센스 가닥의 특이성에 의해 분류하고, 안티센스 올리고가 제1 위치에서 GC가 결여되어 있고, 위치 13 및 14 둘 모두에서 G가 결여되어 있으며, 시드 영역 내에 3개 이상의 U 또는 A를 갖는 듀플렉스를 선택하였다.
- [1020] GalNAc-컨쥬게이트된 듀플렉스에 있어서, 안티센스 19mer(상기 기술)를 표적-상보성 서열의 23개 뉴클레오타이드로 연장시킴으로써 센스 21mer 및 안티센스 23mer 올리고를 설계하였다. 설계 बै치에 포함된 모든 중 전사물을 상보성에 대하여 점검하였다. 적어도 2개의 종에서 100% 서열 상보성을 유지하는 23mer만을 이용하였다. 각각의 듀플렉스에 있어서, 센스 21mer를 안티센스 가닥의 처음 21개 뉴클레오타이드의 역 상보물로 특정하였다.
- [1021] *siRNA 서열 선택*
- [1022] GalNac 컨쥬게이트 설계에 대한 하기 21/23mer 듀플렉스 세트를 합성하고, 듀플렉스로 형성하였다.
- [1023] C3: 인간/시노/마우스/랫 올리고 쌍 유래의 20개의 센스, 및 제1 안티센스 위치가 UA로 스왑(swap)(상기)된 6개를 비롯하여 20개의 안티센스; 인간/시노/마우스 올리고 쌍 유래의 10개의 센스, 및 제1 안티센스 위치가 UA로 스왑(상기)된 3개를 비롯하여 10개의 안티센스; 인간/시노 올리고 쌍 유래의 12개의 센스 및 12개의 안티센스.

- [1024] C9: 인간/시노/마우스/랫 올리고 쌍 유래의 1개의 센스 및 1개의 안티센스; 인간/시노/마우스 올리고 쌍 유래의 2개의 센스 및 2개의 안티센스; 인간/시노/랫 올리고 쌍 유래의 1개의 센스 및 1개의 안티센스; 인간/시노 올리고 쌍 유래의 19개의 센스 및 19개의 안티센스.
- [1025] CFB: 인간/시노/마우스 올리고 쌍 유래의 9개의 센스, 및 제1 안티센스 위치가 UA로 스왑(상기)된 4개를 비롯하여 9개의 안티센스; 인간/시노 올리고 쌍 유래의 23개의 센스 및 23개의 안티센스.
- [1026] CFB 센스 가닥 서열 및 안티센스 가닥 서열의 상세한 목록은 표 3 및 표 4에 나타나 있다.
- [1027] C3 센스 가닥 서열 및 안티센스 가닥 서열의 상세한 목록은 표 5 및 표 6에 나타나 있다.
- [1028] C9 센스 가닥 서열 및 안티센스 가닥 서열의 상세한 목록은 표 7 및 표 8에 나타나 있다.
- [1029] *siRNA* 합성
- [1030] 일반적인 소규모 및 중간 규모의 RNA 합성 절차
- [1031] RNA 올리고뉴클레오타이드를 표준 고체상 올리고뉴클레오타이드 합성 프로토콜에 따라 상업적으로 입수가능한 루티딘의 5'-O-(4,4'-디메톡시트리틸)-2'-O-t-부틸디메틸실릴-3'-O-(2-시아노에틸-N,N-디이소프로필)포스포르아미디트 단mer, 4-N-아세틸시티딘, 6-N-벤조일아데노신 및 2-N-이소부틸릴구아노신 및 상응하는 2'-O-메틸 및 2'-플루오로 포스포르아미디트를 사용하여 0.2 μmol 내지 500 μmol 의 규모로 합성하였다. 아미디트 용액을 0.1 M 내지 0.15 M 농도로 제조하고, 5-에틸티오-1H-테트라졸(아세트오니트릴 중 0.25 M 내지 0.6 M)을 활성화제로서 사용하였다. 포스포리티오에이트 골격 변형을 산화 단계 동안 루티딘:아세트오니트릴(1:1)(v:v) 중 0.2 M 페닐아세틸 디설피드(PADS) 또는 피리딘 중 0.1 M 3-(디메틸아미노메틸렌) 아미노-3H-1,2,4-디티아졸-5-티온(DDTT)을 이용하여 합성 동안 도입하였다. 합성의 완료 후에, 서열을 고체 지지체로부터 절단하고, 메틸아민에 이어서 트리에틸아민.3HF를 이용하여 탈보호시켜, 존재하는 임의의 2'-O-t-부틸디메틸실릴 보호기를 제거하였다.
- [1032] 5 μmol 내지 500 μmol 범위의 합성 규모 및 완전 2'-변형 서열(2'-플루오로 및/또는 2'-O-메틸 또는 이들의 조합)을 위하여, 올리고뉴클레오타이드를 35°C에서 16시간 동안 또는 55°C에서 5.5시간 동안 3:1(v/v) 에탄올 및 진한(28-32%) 암모니아 수용액을 이용하여 탈보호시켰다. 암모니아 탈보호 전에, 올리고뉴클레오타이드를 고체 지지체 상에서 20분 동안 아세트오니트릴 중 0.5 M 피페리딘으로 처리하였다. 미정제 올리고뉴클레오타이드를 LC-MS 및 음이온-교환 HPLC(IEX-HPLC)에 의해 분석하였다. 올리고뉴클레오타이드의 정제를 20 mM 인산염, 10% 내지 15% ACN, pH = 8.5(완충제 A) 및 20 mM 인산염, 10% 내지 15% ACN, 1 M NaBr, pH = 8.5(완충제 B)를 이용하여 IEX HPLC에 의해 수행하였다. 분석 HPLC에 의해 순도에 대하여 분획을 분석하였다. 적절한 순도를 갖는 생성물-함유 분획을 풀링하고, 회전식 증발기에서 농축시킨 후 탈염시켰다. 시료를 크기 배제 크로마토그래피에 의해 탈염시키고, 건조시까지 동결건조시켰다. 등물량의 센스 및 안티센스 가닥을 1x PBS 완충제에서 어닐링시켜, 상응하는 siRNA 듀플렉스를 제조하였다.
- [1033] 소규모(0.2 μmol 내지 1 μmol)를 위하여, 합성을 96 웰 형식으로 MerMade 192 합성기에서 수행하였다. 완전 2'-변형 서열(2'-플루오로 및/또는 2'-O-메틸 또는 이들의 조합)의 경우에, 올리고뉴클레오타이드를 실온에서 30분 내지 60분 동안 메틸아민을 이용하여 탈보호시킨 다음, 60°C에서 30분 동안 인큐베이션시키거나, 또는 실온에서 30분 내지 60분 동안 3:1(v/v) 에탄올 및 진한(28-32%) 암모니아 수용액을 이용하여 탈보호시킨 다음, 40°C에서 1.5시간 동안 인큐베이션시켰다. 그 다음, 미정제 올리고뉴클레오타이드를 아세트오니트릴:아세톤 용액(9:1) 중에 침전시키고, 원심분리 및 상청액의 경사분리에 의해 분리하였다. 미정제 올리고뉴클레오타이드 펠렛을 20 mM NaOAc 완충제 중에 재현탁화시키고, LC-MS 및 음이온 교환 HPLC에 의해 분석하였다. 미정제 올리고뉴클레오타이드 서열을 5 ml HiTrap Sephadex G25 컬럼(GE Healthcare) 상의 96 딥 웰 플레이트(deep well plate)에서 탈염시켰다. 각각의 웰에서, 개별 서열에 상응하는 약 1.5 ml 시료를 수집하였다. 이들 정제된 탈염 올리고뉴클레오타이드를 LC-MS 및 음이온-교환 크로마토그래피에 의해 분석하였다. 듀플렉스를 Tecan 로봇 상에서 등물량의 센스 및 안티센스 서열을 어닐링시킴으로써 제조하였다. 듀플렉스의 농도를 1x PBS 완충제 중에 10 μM 로 조정하였다.
- [1034] I. 생체내 분석을 위한 GalNAc-컨쥬게이트된 올리고뉴클레오타이드의 합성
- [1035] 그들의 3' 말단에서 GalNA 리간드와 컨쥬게이트된 올리고뉴클레오타이드를, 테터(tether)를 통해 부착된 GalNAc 리간드 및 올리고뉴클레오타이드 합성을 위한 4,4'-디메톡시트리틸(DMT)-보호 일차 하이드록시기를 갖는 Y-형상의 링커가 사전-로딩된 고체 지지체를 이용하여 0.2 μmol 내지 500 μmol 의 규모로 합성하였다.
- [1036] 5 μmol 내지 500 μmol 의 규모의 GalNAc 컨쥬게이트의 합성을 위하여, RNA에 대한 상기 합성 프로토콜을 다음

과 같이 조정하여 따랐다: 폴리스티렌-기반의 합성 지지체를 위하여, 톨루엔 중 5% 디클로로아세트산을 합성 동안 DMT-절단을 위해 이용하였다. 지지체로부터의 절단 및 탈보호를 상기 기재된 바와 같이 수행하였다. 포스포로티오에이트-풍부 서열(통상 5개 초과 포스포로티오에이트)을 최종 5'-DMT 기를 제거하지 않고 합성하고 ("DMT-on"), 상기 기재된 바와 같은 절단 및 탈보호 후에, 수 중 50 mM 암모늄 아세테이트(완충제 A) 및 80% 아세토니트릴 중 50 mM 암모늄 아세테이트(완충제 B)를 이용하여 역상 HPLC에 의해 정제하였다. 분획을 분석적 HPLC 및/또는 LC-MS에 의해 순도에 대해 분석하였다. 적절한 순도를 갖는 생성물-함유 분획을 폴링하고, 회전식 증발기에서 농축시켰다. 완료될 때까지, 수 중 20% 내지 25% 아세트산을 이용하여 DMT-기를 제거하였다. 시료를 크기 배제 크로마토그래피에 의해 탈염시키고, 건조시키기 동결건조시켰다. 등물량의 센스 및 안티센스 가닥을 1x PBS 완충제에서 어닐링시켜, 상응하는 siRNA 듀플렉스를 제조하였다.

[1037] 다중 포스포로티오에이트 결합을 갖는 서열을 포함하는 GalNAc 컨주게이트의 소규모 합성(0.2 μmol 내지 1 μmol)을 위하여, MerMade 플랫폼 상의 RNA 또는 완전 2'-F/2'-OME-함유 서열의 합성을 위해 상기 기재된 프로토콜을 적용하였다. 합성을 GalNAc-작용화 제어형 다공 글래스(pore glass) 지지체를 포함하는 사전-팩킹된 컬럼에서 수행하였다.

[1038] 실시예 2. 시험관내 스크리닝

[1039] 세포 배양 및 트랜스펙션(transfection)

[1040] Hep3B 세포(ATCC, Manassas, VA)를 10% FBS, 스트렙토마이신, 및 글루타민(ATCC)이 보충된 Eagle's 최소 필수 배지(ATCC)에서 5% CO₂의 분위기하에 37°C에서 거의 컨플루언스(near confluence)까지 성장시킨 후, 트립신처리 의해 플레이트로부터 방출시켰다. 세포를 세척하고, 0.25x10⁶개 세포/ml로 재현탁화시켰다. 트랜스펙션 동안 세포를 웰당 약 20,000개 세포로 96-웰 플레이트에 플레이팅하였다.

[1041] 일차 마우스 간세포(PMH)를 트랜스펙션 전 1시간보다 짧은 시간에, C57BL/6 암컷 마우스(Charles River Laboratories International, Inc. Willmington, MA)로부터 신선하게 분리하고, 일차 간세포 배지에서 성장시켰다. 세포를 InVitroGRO CP 랫(플레이팅) 배지(Celsis In Vitro Technologies, 카탈로그 번호 S01494) 중에 0.11x10⁶개 세포/ml로 재현탁화시켰다. 트랜스펙션 동안, 세포를 웰마다 10,000개 세포로 BD BioCoat 96 웰 콜라겐 플레이트(BD, 356407)에 플레이팅하고, 5% CO₂의 분위기에서 37°C에서 인큐베이션시켰다.

[1042] Hep3B 및 PMH를 위하여, 96 웰 플레이트에서 개별 웰에, 웰당 14.8 μl 의 Opti-MEM + 0.2 μl 의 Lipofectamine RNAiMax(Invitrogen, Carlsbad CA. 카탈로그 번호 13778-150)를 5 μl 의 각각의 siRNA 듀플렉스에 첨가함으로써 트랜스펙션을 수행하였다. 이후, 혼합물을 실온에서 20분 동안 인큐베이션시켰다. 적절한 세포 개수를 함유하는 80 μl 의 완전 성장 배지(항생제 비함유)를 siRNA 혼합물에 첨가하였다. RNA 정제 전에 세포를 24시간 동안 인큐베이션시켰다.

[1043] 단일 용량 실험은 GalNAc 변형 서열에 대하여 1 nM 및 0.01 nM 최종 듀플렉스 농도에서 수행하였다. 용량 반응 실험은 일차 마우스 간세포에 대하여 3 nM, 1 nM, 0.3 nM, 0.1 nM, 0.037 nM, 0.0123 nM, 0.00412 nM 및 0.00137 nM 최종 듀플렉스 농도에서 행하고, Hep3B 세포에 대하여 3 nM, 1 nM, 0.3 nM, 0.1 nM, 0.037 nM, 0.0123 nM, 0.00412 nM, 0.00137 nM, 0.00046 nM, 0.00015 nM, 0.00005 nM 및 0.000017 nM 최종 듀플렉스 농도에서 행하였다.

[1044] DYNABEADS mRNA 단리 키트(Invitrogen, part #: 610-12)를 이용한 전체 RNA 단리

[1045] 세포를 수집하고, 용해/결합 완충제 150 μl 에서 용해시킨 다음, Eppendorf Thermomixer를 이용하여 850 rpm에서 5분 동안 혼합하였다(혼합 속도는 과정 내내 동일하였다). 10 μl 의 자성 비드 및 80 μl 의 용해/결합 완충제 혼합물을 둥근 바닥 플레이트에 첨가하고, 1분 동안 혼합하였다. 자성 비드를 자성 스탠드(magnetic stand)를 이용하여 포획하고, 비드를 건드리지 않고 상청액을 제거하였다. 상청액을 제거한 후에, 용해된 세포를 남아있는 비드에 첨가하고 5분 동안 혼합하였다. 상청액을 제거한 후에, 자성 비드를 150 μl 세척 완충제 A로 2회 세척하고, 1분 동안 혼합하였다. 비드를 다시 포획하고, 상청액을 제거하였다. 그 다음, 비드를 150 μl 세척 완충제 B로 세척하고, 포획하고, 상청액을 제거하였다. 다음으로, 비드를 150 μl 용리 완충제로 세척하고, 포획하고, 상청액을 제거하였다. 마지막으로, 비드가 2분 동안 건조되게 하였다. 건조 후에, 50 μl 의 용리 완충제를 첨가하고, 70에서 5분 동안 혼합하였다. 비드를 5분 동안 자석 위에서 포획하였다. 45 μl 의 상청액을 제거하고, 다른 96 웰 플레이트에 첨가하였다.

[1046] ABI High capacity cDNA 역전사 키트(Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)를 이용한 cDNA 합

성

- [1047] 반응마다 2 μ l 10x 완충제, 0.8 μ l 25x dNTP, 2 μ l 랜덤(Random) 프라이머, 1 μ l 역전사효소, 1 μ l RNase 억제제 및 3.2 μ l의 H₂O의 마스터 믹스를 제조하였다. 동일 부피의 마스터 믹스 및 RNA를 시험관내 스크린을 위해 12 μ l 또는 생체내 스크린 시료를 위해 20 μ l의 최종 부피를 위해 혼합하였다. cDNA를 하기의 단계를 통하여 Bio-Rad C-1000 또는 S-1000 썬열 사이클러(thermal cycler)(Hercules, CA)를 이용하여 생성하였다: 25°C에서 10분, 37°C에서 120분, 85°C에서 5초 및 4°C에서 유지.
- [1048] 리얼 타임(Real time) PCR
- [1049] 2 μ l의 cDNA를, 384 웰 플레이트(Roche 카탈로그 번호 04887301001)에 웰 당, 2 μ l의 H₂O, 0.5 μ l GAPDH TaqMan 탐침(Hep3B 세포에 대해서는 Life Technologies 카탈로그 번호 4326317E, 일차 마우스 간세포에 대해서는 카탈로그 번호 352339E 또는 시노몰구스 일차 간세포에 대해서는 맞춤 탐침), 0.5 μ l 적절한 TaqMan 탐침(Hep3B 세포에 대해서는 Life Technologies 카탈로그 번호 Hs00156197_m1 또는 일차 마우스 간세포에 대해서는 mm00439275_m1 또는 시노몰구스 일차 간세포에 대해서는 맞춤 탐침) 및 5 μ l Lightcycler 480 탐침 마스터 믹스(Roche 카탈로그 번호 04887301001)를 함유하는 마스터 믹스에 첨가하였다. $\Delta\Delta$ Ct(RQ) 분석법을 이용하여 리얼 타임 PCR을 Roche LC480 리얼 타임 PCR 시스템(Roche)에서 수행하였다. 시험관내 스크리닝을 위하여, 달리 기재하지 않는 한 각각의 듀플렉스를 2개의 생물학적 반복검증으로 시험하였고, 각각의 리얼 타임 PCR을 이별의 기술적 반복검증으로 수행하였다. 생체내 스크리닝을 위하여, 각각의 듀플렉스를 1개 이상의 실험(그룹당 3마리 마우스)에서 시험하고, 각각의 리얼 타임 PCR을 이별의 기술적 반복검증으로 행하였다.
- [1050] mRNA 수준의 상대적인 배수 변화를 계산하기 위해, $\Delta\Delta$ Ct 방법을 이용하여 실시간 데이터를 분석하였고, 10 nM AD-1955를 이용하여 트랜스펙션된 세포, 또는 모의 트랜스펙션된 세포를 이용하여 수행된 분석법으로 정규화시켰다. XLFit를 이용하는 4 파라미터 적합 모델을 이용하여 IC₅₀을 계산하였고, 동일한 용량 범위에 걸쳐 AD-1955를 이용하여 트랜스펙션된 세포, 또는 그 자체의 가장 낮은 용량으로 정규화시켰다.
- [1051] AD-1955의 센스 및 안티센스 서열은 다음과 같다:
- [1052] 센스: cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT (SEQ ID NO: 39);
- [1053] 안티센스: UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO: 40).
- [1054] 표 9는 표기된 CFB GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 Hep3B 세포에서의 단일 용량 스크린의 결과를 보여준다. 데이터는 미처리 세포에 비한 잔류 mRNA의 백분율로 표현되어 있다.
- [1055] 표 10은 표기된 CFB GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 일차 마우스 간세포에서의 단일 용량 스크린 결과를 보여준다. 데이터는 미처리 세포에 비한 잔류 mRNA의 백분율로 표현되어 있다.
- [1056] 표 11은 표기된 CFB GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 Hep3B 세포에서의 용량 반응을 보여준다. 표기된 IC₅₀ 값은 미처리 세포에 비한 IC₅₀ 값을 나타낸다.
- [1057] 표 12는 표기된 CFB GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 일차 마우스 간 세포에서의 용량 반응을 보여준다. 표기된 IC₅₀ 값은 미처리 세포에 비한 IC₅₀ 값을 나타낸다.
- [1058] 표 13은 표기된 C9 GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 일차 마우스 간 세포에서의 단일 용량 스크린 결과를 보여준다. 데이터는 미처리 세포에 비한 잔류 mRNA의 백분율로 표현되어 있다.
- [1059] 표 14는 표기된 C3 GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 일차 마우스 간 세포에서의 단일 용량 스크린 결과를 보여준다. 데이터는 미처리 세포에 비한 잔류 mRNA의 백분율로 표현되어 있다.
- [1060] 표 15는 표기된 C3 GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 Hep3B 세포에서의 단일 용량 스크린 결과를 보여준다. 데이터는 미처리 세포에 비한 잔류 mRNA의 백분율로 표현되어 있다.
- [1061] 표 16은 표기된 C3 GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 일차 마우스 간 세포에서의 용량 반응을 보여준다. 표기된 IC₅₀ 값은 미처리 세포에 비한 IC₅₀ 값을 나타낸다.
- [1062] 표 17은 표기된 C3 GalNAc 컨쥬게이트된 iRNA로 트랜스펙션된 Hep3B 세포에서의 용량 반응을 보여준다. 표기된 IC₅₀ 값은 미처리 세포에 비한 IC₅₀ 값을 나타낸다.

[표 2] 핵산 서열 표현에 사용되는 뉴클레오타이드 단량체의 약어. 이들 단량체가 올리고뉴클레오타이드에 존재하는 경우, 5' -3' -포스포디에스테르 결합에 의해 서로 결합되는 것으로 이해될 것이다.

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

[1063]

약어	뉴클레오타이드(들)
us	2'-O-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
s	포스포로티오에이트 연결
L96	N-[트리스(GalNAc-alkyl)-아미도테카노일]-4-히드록시프로릴놀 Hyp-(GalNAc-alkyl)3

[1064]

[표 3] 보체 인자 B(CFB)의 비변형된 서열

인간 CFB 서열					
뉴클레오타이드 서열번호	서열 식별번호	서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 41 내지 71)	NL_001710.5에서의 위치	인티그레이션 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 72 내지 102)	NL_001710.5에서의 위치
AD-60315.1	A-122021.1	AUUCUGAAUUUUUAUGACAUU	1987-2007	A-122022.1	1985-2007
AD-60326.1	A-122009.1	CCUGAUCAGCUCACGAUAUA	2016-2036	A-122010.1	2014-2036
AD-60303.1	A-122017.1	GAAGCAGGAUUCUGAAUUU	1978-1998	A-122018.1	1976-1998
AD-60331.1	A-121995.1	AGCAACAUUGUGUCAAGUCA	1628-1648	A-121996.1	1626-1648
AD-60344.1	A-122015.1	GCUGUGUGUCUGAGUACUUU	1822-1842	A-122016.1	1820-1842
AD-60345.1	A-122031.1	AAGUGUCUAGCAACUUAAUU	1153-1173	A-122032.1	1151-1173
AD-60319.1	A-121991.1	AGCUGAGAGAGUAGCUCAA	2245-2265	A-121992.1	2243-2265
AD-60308.1	A-122003.1	AGCCAAAAGUGUCUAGUCA	1146-1166	A-122004.1	1144-1166
AD-60332.1	A-122011.1	UGUGAGUGAGUAGUUCUUU	648-668	A-122012.1	646-668
AD-60313.1	A-121989.1	AUUGAGAAAGUGGCAAGUUA	1170-1190	A-121990.1	1168-1190
AD-60321.1	A-122023.1	CAACAUUGUUCAAGUCAAG	1630-1650	A-122024.1	1628-1650
AD-60327.1	A-122025.1	UGUGAGAGAGUAGUCUAUUA	2248-2268	A-122026.1	2246-2268
AD-60302.1	A-122001.1	GUCUAGUCAACUUAUUGAGA	1157-1177	A-122002.1	1155-1177
AD-60325.1	A-121993.1	UCCAAGAAAGACAAUGAGCAA	1612-1632	A-121994.1	1610-1632
AD-60337.1	A-121997.1	UGUUUCAAAGUCAAGGAUUA	1635-1655	A-121998.1	1633-1655
AD-60333.1	A-122027.1	AUUGAGAGAUCCGGGACUUG	1486-1506	A-122028.1	1484-1506
AD-60314.1	A-122005.1	CUGUGAGAGAUUCUCAAUA	2247-2267	A-122006.1	2245-2267
AD-60320.1	A-122007.1	GAGCCAAAAGUGUCUAGUCA	1145-1165	A-122008.1	1143-1165
AD-60339.1	A-122029.1	UCCAAGAUAGGAUUUGGUU	2549-2569	A-122030.1	2547-2569
AD-60338.1	A-122013.1	CCUUGAUUUUACAAGAGA	2386-2406	A-122014.1	2384-2406
AD-60307.1	A-121987.1	CAAAAGUCAAGGAUUGGAAA	1641-1661	A-121988.1	1639-1661
AD-60309.1	A-122019.1	UAGUUCACAGAGAGUUCUU	2393-2413	A-122020.1	2391-2413
AD-60343.1	A-121999.1	GGCCCCUUUGAUUUCACAAG	2383-2403	A-122001.1	2381-2403
AD-60324.1	A-121977.1	UGGUGCUAGAUUGAUACAGA	1100-1120	A-121978.1	1098-1120
AD-60318.1	A-121975.1	GCUAGAUAGAUACAGACGAU	1104-1124	A-121976.1	1102-1124

[1066]

AD-60300.1	A-121969.1	UACCGUGGUGCUAGAUCCA	1096-1116	A-121970.1	UGAUCCAUCUAGCACCGGUAG	1094-1116
AD-60330.1	A-121979.1	GGUGCUAGAUGGACACAAA	1101-1121 (G19A)	A-121980.1	UUGUCUGAUCCAUCUAGCACCCAG	1099-1121 (G19A)
AD-60306.1	A-121971.1	UCUGAGUCUCUGGCGCAUGGU	1704-1724	A-121972.1	ACCAUCCACAGAGACUCACAGAGA	1702-1724
AD-60336.1	A-121981.1	GUGCUAGAUGGACAGACAGA	1102-1122 (C19A)	A-121982.1	UCUGUCUGAUCCAUCUAGCACCA	1100-1122 (C19A)
AD-60301.1	A-121985.1	CUACCUUGGUGCUAGAUGGAUA	1095-1115 (C19A)	A-121986.1	UAUCCAUCUAGCACCGGUAGAU	1093-1115 (C19A)
AD-60342.1	A-121983.1	ACCUUGGUGCUAGAUGGAUCA	1097-1117 (G19A)	A-121984.1	UUGAUCCAUCUAGCACCGGUAG	1095-1117 (G19A)
헛과 CFB 서열						
듀플렉스 식별번호	센스 식별번호	센스 서열 (각각 돌린 순서대로 SEQ ID NO: 103 내지 117)	NM_001142706.1에서의 위치	안티센스 식별번호	안티센스 서열 (각각 돌린 순서대로 SEQ ID NO: 118 내지 132)	NM_001142706.1 에서의 위치
AD-60334.1	A-122043.1	GCAAGCCAAGAUUCAGUCAC	1888-1908	A-122044.1	GUGACUGAGAUUUUGGCUUGCCA	1886-1908
AD-60304.1	A-122033.1	GAUUGAGAAGGUGGCGAUUA	1291-1311	A-122034.1	UAACUCGCCACCUUCUCAACAA	1289-1311
AD-60310.1	A-122035.1	CACAAGAGAGCGGUUAU	2515-2535	A-122036.1	AAUGAAGCGGUUCUUCUUGAGAA	2513-2535
AD-60328.1	A-122041.1	UUGUGAGAGAGAUUCUACAAA	2364-2384	A-122042.1	UUUGUAGCAUCUCUCACAAACU	2362-2384
AD-60322.1	A-122039.1	UCCUUAUGAAUUCGCGGA	193-213	A-122040.1	UCCCGGAAAUUCAUGAAGAGG	191-213
AD-60316.1	A-122037.1	UCACAGAGAAGCUCACCAAA	1407-1427	A-122038.1	UUUGGUAGAGCUUCUCUGUGACC	1405-1427
AD-60346.1	A-122047.1	CUCAACCAAUCAGUUAUGAA	1418-1438	A-122048.1	UUCAUAACUGAUUUUGUUGAGCU	1416-1438
AD-60335.1	A-122059.1	CCUAGACAGAGACCAUCGAAG	1113-1133	A-122060.1	CUUCGAUGGUCUCUGUCAGGGAG	1111-1133
AD-60323.1	A-122055.1	GAGCAGAUUGCAUAAAAGGUU	261-281	A-122056.1	AACCUUUUAUGCAUCUCUCUG	259-281
AD-60340.1	A-122045.1	CUUCAUGAUUUCGCGGAAG	195-215	A-122046.1	CUUCCCGGAACAUUCAUGAAGGA	193-215
AD-60305.1	A-122049.1	CUUCAUUAAGUUGGUGUGAU	2529-2549	A-122050.1	AUCACACCAAUUGAAUAGAAGCG	2527-2549
AD-60317.1	A-122053.1	GAUUGAAGGUCUUGUCCA	2050-2070	A-122054.1	UGGAACAGGACCUUCAUUCUC	2048-2070
AD-60329.1	A-122057.1	AUUUUAUUAUGCUAUGAU	782-802	A-122058.1	AUCAUAGCAUUGAAAAAGAAUCU	780-802
AD-60341.1	A-122061.1	CCAGAGCAUUAUGCAUAAAAG	258-278	A-122062.1	CUUUUAUGCAUUCUGCUCUGGCA	256-278
AD-60311.1	A-122051.1	CACAGAGAAGCUCAACCAAU	1408-1428	A-122052.1	AUUUGGUUGAGGUUCUCUGUGAC	1406-1428

[1067]

[표 4] 보체 인자 B(CFB)의 변형된 서열

인간 CFB 서열				
뷰클렉스 식별번호	센스 식별번호	(각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 133 내지 163)	센스 서열	안티센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 164 내지 194)
AD-60315.1	A-122021.1	AfsusUfcGfuaFafuUfufuFafgAfcUfaUfL96	AfsusUfcGfuaFafuUfufuFafgAfcUfaUfL96	asUfsaGfucFafuAfaAfaUfCfaGfGfAfaususc
AD-60326.1	A-122009.1	CfsusUfgAfcUfaGfCfcUfaAfaAfaAfaL96	CfsusUfgAfcUfaGfCfcUfaAfaAfaAfaL96	usUfsaUfcUfUfgAfcUfUfgAfcUfCfaGfGfGsc
AD-60303.1	A-122017.1	GfsasAfgCfaGfAfaUfufuUfcUfAfaUfL96	GfsasAfgCfaGfAfaUfufuUfcUfAfaUfL96	asAfsaUfcUfaGfGfAfaUfUfcUfGfUfUfcsusu
AD-60331.1	A-121995.1	AfsgsCfaAfaCfaUfUfUfUfcAfaAfaGfAfaL96	AfsgsCfaAfaCfaUfUfUfUfcAfaAfaGfAfaL96	usGfsaCfuUfuUfaAfaCfaAfaUfUfUfGfUfGfscsa
AD-60344.1	A-122015.1	GfscsUfgUfgGfufUfUfGfUfgAfcUfUfL96	GfscsUfgUfgGfufUfUfGfUfgAfcUfUfL96	asAfsaGfuAfcUfCfaGfAfcAfaCfaGfGfscsc
AD-60345.1	A-122031.1	AfscsCfuGfufUfUfAfcUfAfaCfaCfuUfaUfL96	AfscsCfuGfufUfUfAfcUfAfaCfaCfuUfaUfL96	asAfsuUfaAfgUfUfGfAfcUfAfaCfaCfuUfUfUfsc
AD-60319.1	A-121991.1	AfsgsCfuGfufUfUfAfcUfAfaGfAfcUfCfaAfaL96	AfsgsCfuGfufUfUfAfcUfAfaGfAfcUfCfaAfaL96	usUfsgAfcUfUfCfaGfAfcUfUfUfUfCfaGfGfGsc
AD-60308.1	A-122003.1	AfsgsCfcAfaAfaAfcUfUfUfUfCfaGfUfCfaAfaL96	AfsgsCfcAfaAfaAfcUfUfUfUfCfaGfUfCfaAfaL96	usUfsgAfcUfUfAfaGfAfcUfUfUfUfUfGfGfUfscsc
AD-60332.1	A-122011.1	UfsgsUfgAfcUfUfUfGfAfcUfUfUfUfL96	UfsgsUfgAfcUfUfUfGfAfcUfUfUfUfL96	asAfsaGfAfaUfCfUfUfUfUfUfUfCfaGfUfUfUfscsu
AD-60313.1	A-121989.1	AfsasUfUfGfAfcAfaGfGfUfGfCfaGfUfUfL96	AfsasUfUfGfAfcAfaGfGfUfGfCfaGfUfUfL96	usAfsaCfuUfGfCfaCfcUfUfCfaAfaUfUfUfscsa
AD-60321.1	A-122023.1	CfsasAfcUfUfUfUfUfUfUfAfaAfaGfUfaGfL96	CfsasAfcUfUfUfUfUfUfUfAfaAfaGfUfaGfL96	csUfsuGfAfcUfUfGfAfaCfaCfuGfUfUfGfscsu
AD-60327.1	A-122025.1	UfsgsUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaUfL96	UfsgsUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaUfL96	asUfsaUfUfGfAfcAfcUfUfUfUfUfUfCfaGfAfaGsc
AD-60302.1	A-122001.1	GfsusCfuAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaUfL96	GfsusCfuAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaUfL96	usCfsuCfaUfUfUfAfaUfUfUfUfUfUfUfAfaGfAfaGsc
AD-60325.1	A-121993.1	UfscsCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	UfscsCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usUfsgCfuUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfGfAfaGag
AD-60337.1	A-121997.1	UfsgsUfgUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	UfsgsUfgUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	asUfsaUfCfuUfUfAfcUfUfUfUfUfUfUfAfaGfAfaGsc
AD-60333.1	A-122027.1	AfsusUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	AfsusUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	csAfsaGfUfcCfcGfGfAfaCfuUfUfUfUfUfUfUfGfAfaGsa
AD-60314.1	A-122005.1	CfsusGfuGfAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	CfsusGfuGfAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usAfsuUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaGfGscsu
AD-60320.1	A-122007.1	GfscsGfcCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfL96	GfscsGfcCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usGfsaCfuAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfGfUfUfUfscsu
AD-60339.1	A-122029.1	UfscsCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	UfscsCfaAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	asAfsaCfcAfaAfaAfcUfUfUfUfUfUfUfUfGfGfGscsu
AD-60338.1	A-122013.1	CfscsCfuUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	CfscsCfuUfgAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usCfsuCfuUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfGfGfGsc
AD-60307.1	A-121987.1	CfsasAfaGfuCfaAfaGfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	CfsasAfaGfuCfaAfaGfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usUfsuUfCfaUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfGfAfaGsa
AD-60309.1	A-122019.1	UfsasGfuUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	UfsasGfuUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	asAfsaGfAfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaCfuUfUfUfsc
AD-60343.1	A-121999.1	GfsgsCfcCfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	GfsgsCfcCfcUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	csUfsuGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfGfGfGfGfGsc
AD-60324.1	A-121977.1	UfsgsGfuGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	UfsgsGfuGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	usGfsuCfuGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfCfaGfAfaGscg
AD-60318.1	A-121975.1	GfscsUfAfaGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	GfscsUfAfaGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfL96	asUfsgCfuGfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfUfAfaGfAfaGsc

[1068]

AD-60300.1	A-121969.1	UfsasCfcUfgGfuGfcUfaGfaUfgGfaUfcAfl96	A-121970.1	usGfsaUfcCfaUfcUfagCfcaAfcCfaGfgUfagsa
AD-60330.1	A-121979.1	GfsgsUfgCfuAfgAfuUfgGfaUfcAfaCfaAfl96	A-121980.1	usUfsgUfcUfgAfuCfcauCfuUfgCfaCfcsasg
AD-60306.1	A-121971.1	UfscsUfgAfgUfcUfcUfgUfgGfaUfcGfgUfl96	A-121972.1	asCfscAfuGfcCfaCfagGfaCfuCfaGfagsa
AD-60336.1	A-121981.1	GfsusGfcUfaGfaUfgGfaUfcAfgAfcAfl96	A-121982.1	usCfsuGfuCfuGfaUfcAfuCfaUfcUfaGfaCfcsa
AD-60301.1	A-121985.1	CfsusAfcCfuGfgUfgCfuAfgAfuGfgAfuAfl96	A-121986.1	usAfsuCfcAfuCfuAfgAfcAfcgaCfcAfgGfuUfagsu
AD-60342.1	A-121983.1	AfscsCfuGfgUfgCfuUfaAfgAfuGfaUfcAfl96	A-121984.1	usUfsgAfuCfcAfuCfuagCfaCfaCfaGfgGfusasg
췁과 CFB 서열				
뮬렉스 식별번호	셴스 식별번호	셴스 서열 (각각 출현 순서대로 SEQ ID NO: 195 내지 209)	안티셴스 식별번호	안티셴스 서열 (각각 출현 순서대로 SEQ ID NO: 210 내지 224)
AD-60334.1	A-122043.1	GfscsAfaGfcCfaAfgAfuCfuCfaGfuCfaCfl96	A-122044.1	gsUfsgAfcUfgAfgAfuCfuUfgGfcUfuGfcsa
AD-60304.1	A-122033.1	GfscsUfuGfaGfaAfgGfuGfgCfgAfgUfuAfl96	A-122034.1	usAfsaCfuCfgCfcAfcCfcuUfcUfcAfaUfcsasa
AD-60310.1	A-122035.1	CfscsCfaAfgAfgAfcGfcCfgCfuUfcAfuUfl96	A-122036.1	asAfsuGfaAfgCfgCfcuUfcUfcUfgUfcsasa
AD-60328.1	A-122041.1	UfsusGfuGfaGfaGfaUfgCfuAfcAfaAfl96	A-122042.1	usUfsuGfuAfgCfaUfcUfcUfcUfcAfaAfcscu
AD-60322.1	A-122039.1	UfscsCfuUfcAfuGfaAfuUfcCfgGfgAfl96	A-122040.1	usCfscCfgGfaAfaAfuAfuGfaAfgGfagsg
AD-60316.1	A-122037.1	UfscsAfcAfgAfgAfcGfcUfcAfaCfaAfaAfl96	A-122038.1	usUfsuGfgUfuGfaGfcuUfcUfcUfgGfascsc
AD-60346.1	A-122047.1	CfscsCfaAfcCfaAfaUfcAfgUfuAfuGfaAfl96	A-122048.1	usUfscAfuAfaCfuGfaUfuUfgGfuUfgAfgscsu
AD-60335.1	A-122059.1	CfscsCfuGfaGfaGfaAfcAfuCfgAfaGfl96	A-122060.1	csUfsuCfgaUfgGfgUfcUfcUfgAfgGfagsag
AD-60323.1	A-122055.1	GfscsGfcAfgAfuUfgCfaUfaAfaAfgGfuUfl96	A-122056.1	asAfcCfuUfuUfaUfgcaAfuCfuGfcUfcsusg
AD-60340.1	A-122045.1	CfscsUfcAfuGfaAfuUfgGfuUfcCfgGfgAfaCfl96	A-122046.1	csUfsuCfcCfgGfaAfaCfuUfcAfuGfaAfgsgsa
AD-60305.1	A-122049.1	CfscsUfcAfuUfcAfaGfuUfgGfuGfaUfl96	A-122050.1	asUfscAfcAfcCfaAfaCfuUfaAfuGfaAfgscsg
AD-60317.1	A-122053.1	GfscsUfuGfaAfgAfgGfcUfcUfgCfaAfl96	A-122054.1	usGfsgAfaCfaGfaGfaCfuUfcAfaUfcsusc
AD-60329.1	A-122057.1	AfsusUfuCfuUfuUfcAfaUfgCfuAfuGfaUfl96	A-122058.1	asUfscAfuAfgCfaUfugaAfaAfaAfuAfcscu
AD-60341.1	A-122061.1	CfscsAfgAfgCfaGfaUfuGfaAfaAfaAfaAfl96	A-122062.1	csUfsuUfuAfuGfaAfaucUfgCfuCfuGfgscsa
AD-60311.1	A-122051.1	CfscsCfaGfaGfaAfgCfuCfaAfaAfaUfl96	A-122052.1	asUfsuUfgGfuUfgAfgcuUfcUfcUfgUfgscsc

[표 5] C3의 비변형된 서열

두플렉스 식별번호	센스 식별번호	센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 225 내지 265)	NM_000064.2에 서의 위치	안티센스 식별번호	안티센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 266 내지 306)	NM_000064.2에서의 위치
AD-60149.1	A-121853.1	CGUGGUAAGGUCUUCUCUCU	3309-3329	A-121854.1	AGAGAAGACCUUGACCACGUAG	3307-3329
AD-60151.1	A-121885.1	ACGUGGUAAGGUCUUCUCUA	3308-3324_C21A	A-121886.1	UAGAGAAGACCUUGACCACGUAG	3306-3324_C21A
AD-60152.1	A-121901.1	UUUGACCUCAUGGUGUUCGUG	1174-1194	A-121902.1	CACGAACCAUGAGGUCAAAGG	1172-1194
AD-60153.1	A-121917.1	GGAGAAUUGCUUCAUACAAA	4611-4631	A-121918.1	UUUUGUAUGAAGCAAUUUCUCUC	4609-4631
AD-60154.1	A-121933.1	UGUUAAAUGGUGAUCCUGGA	3375-3395	A-121934.1	UCCAGGACUACCCAUUUACAGC	3373-3395
AD-60155.1	A-121855.1	GACAGACAAGACCAUCUACAC	465-485	A-121856.1	GUGUAGAUUGGUCUUGUCUGUCUG	463-485
AD-60156.1	A-121871.1	CCAGACAGACAAGACCAUCUA	462-482	A-121872.1	UAGAUGGUCUUGUCUGUCUGGAU	460-482
AD-60157.1	A-121887.1	CCAGAUCCACUUCACCAAGAA	1125-1141_C21A	A-121888.1	UUCUUGGUGAAGUGGUAUCUGGUA	1123-1141_C21A
AD-60158.1	A-121903.1	UUGACCUCAUGGUGUUCGUGA	1175-1195	A-121904.1	UCACGAACACCAUGAGGUCAAAG	1173-1195
AD-60159.1	A-121919.1	CCCCUUCGAGGUCACAGUAAU	2523-2543	A-121920.1	AUUACUGUGACCUUGAAGGGGUC	2521-2543
AD-60160.1	A-121935.1	AUGAACAAAACUGUGGUGUU	2878-2898	A-121936.1	AACAGCCACAGUUUUGUUCAUUC	2876-2898
AD-60161.1	A-121857.1	AGACAGACAAGACCAUCUACA	464-484	A-121858.1	UGUAGAUGGUCUUGUCUGUCUGG	462-484
AD-60162.1	A-121873.1	CCAGAUCCACUUCACCAAGAC	1125-1145	A-121874.1	GUCUUGGUGAAGUGGUAUCUGGUA	1123-1145
AD-60163.1	A-121889.1	AGGGAUCUGUGUGGCAGACCA	2505-2521_C21A	A-121890.1	UGGUCUGCCACACAGAUCCUUU	2503-2521_C21A
AD-60164.1	A-121905.1	GACAAGACCAUCUACACCCU	469-489	A-121906.1	AGGGGUGUAGAUGGUCUUGUCUG	467-489
AD-60165.1	A-121921.1	GCUGAGGAGAAUUGCUUCAUA	4606-4626	A-121922.1	UAUGAAGCAAUUCUCCUCAGCAC	4604-4626
AD-60166.1	A-121859.1	ACGUGGUAAGGUCUUCUCUC	3308-3328	A-121860.1	GAGAGAAGACCUUGACCACGUAG	3306-3328
AD-60167.1	A-121875.1	GGAUCUGUGUGGCAGACCCU	2507-2527	A-121876.1	AGGGGUCUGCCACACAGAUCCU	2505-2527
AD-60168.1	A-121891.1	ACAGACAAGACCAUCUACACA	466-482_C21A	A-121892.1	UGUGUAGAUGGUCUUGUCUGUCU	464-482_C21A

[1070]

AD-60169.1	A-121907.1	AUCCAGACAGACAAGACCAUU	460-476_C21U	A-121908.1	AUUGUCUUGUCUGUCUGGAUGA	458-476_C21U
AD-60170.1	A-121923.1	CUCCGUGUGGGUGGAGGUCUCAA	1713-1733	A-121924.1	UUGACGUCCACCCACACGAGGAGUC	1711-1733
AD-60171.1	A-121861.1	UCCAGACAGACAAGACCAUCU	461-481	A-121862.1	AGAUGGUCUUGUCUGUCUGGAUG	459-481
AD-60172.1	A-121877.1	AGGGAUCUGUGUGGCAGACCC	2505-2525	A-121878.1	GGGUCUGCCACACAGAUCCCUUU	2503-2525
AD-60173.1	A-121893.1	CAAGAAAGGGAUCUGUGUGGA	2499-2515_C21A	A-121894.1	UCCACACAGAUCCCUUUUCUGUC	2497-2515_C21A
AD-60174.1	A-121909.1	UGACCUCAUGGUGUUUGUGAU	1176-1192_C21U	A-121910.1	AUCACGAACCAUGAGAGGUCAAA	1174-1192_C21U
AD-60175.1	A-121925.1	GCAGCUAAAGACUUGACUU	3789-3809	A-121926.1	AAGUCAAAAGUCUUUUAAGCUGCAG	3787-3809
AD-60176.1	A-121863.1	CAUCCAGACAGACAAGACCAU	459-479	A-121864.1	AUGGUCUUGUCUGUCUGGGAUGAA	457-479
AD-60177.1	A-121879.1	ACAGACAGACCAUCUACACC	466-486	A-121880.1	GGUGUAGAUGGUCUUGUCUGUCU	464-486
AD-60178.1	A-121895.1	AUCCAGACAGACAAGACCAUC	460-480	A-121896.1	GAUGGUCUUGUCUGUCUGGAUGA	458-480
AD-60179.1	A-121911.1	UUUGACCUCAUGGUGUUCGUU	1174-1190_G21U	A-121912.1	AACGAACACCAUGAGGUCAAAAGG	1172-1190_G21U
AD-60180.1	A-121927.1	GGAUGCCAAGAACACUAUGAU	4200-4220	A-121928.1	AUCAUAGUUCUUGGCAUCCUG	4198-4220
AD-60181.1	A-121865.1	AAGAAAGGAUCUGUGUGGCA	2500-2520	A-121866.1	UGCCACACAGAUCCCUUUUCUUGU	2498-2520
AD-60182.1	A-121881.1	CAAGAAAGGAUCUGUGUGGC	2499-2519	A-121882.1	GCCACACAGAUCCCUUUCUUGUC	2497-2519
AD-60183.1	A-121897.1	UACGUGGUCAAAGGUCUUCUCU	3307-3327	A-121898.1	AGAGAAGACCUUGACCACGUAGG	3305-3327
AD-60184.1	A-121913.1	CAGUUCGAGGUCUAUGUGGA	756-776	A-121914.1	UCCACUAGACCUCGAAACUGGG	754-776
AD-60185.1	A-121929.1	CGUGCCGGAAGGAUACAGAAU	2859-2879	A-121930.1	AUUCUGAUUCCUCCGGCAGCAG	2857-2879
AD-60186.1	A-121867.1	GAAAGGGAUCUGUGUGGCAGA	2502-2522	A-121868.1	UCUGCCACACAGAUCCCUUUUCU	2500-2522
AD-60187.1	A-121883.1	GACAGACAAGACCAUCUACAA	465-481_C21A	A-121884.1	UUGUAGAGGUCUUGUCUGUCUG	463-481_C21A
AD-60188.1	A-121899.1	UGACCUCAUGGUGUUUGUGAC	1176-1196	A-121900.1	GUCACGAACCAUGAGAGGUCAAA	1174-1196
AD-60189.1	A-121915.1	UGUAAUAAAUUCGACCUCAAG	4138-4158	A-121916.1	CUUGAGGUGAAUUUUUUAUACAGG	4136-4158
AD-60190.1	A-121931.1	AACUACAUGAACCUACAGAGA	3601-3621	A-121932.1	UCUCUGUAGGUUCAUGUAGUUGG	3599-3621

AD-60169.1	A-121907.1	AfsusCfcAfgAfCfAfGfAfCfAfGfAfCfAfUfL96	A-121908.1	asAfsuGfgUfcUfuGfucUfCfuGfgAfusgsa
AD-60170.1	A-121923.1	CfsusCfcGfuGfuGfGfGfuGfGfAfCfAfUfL96	A-121924.1	usUfsgAtcGfuCfcAfCccAfCfGfAfGfAfgsusc
AD-60171.1	A-121861.1	UfscsCfaGfCfaGfAfCfaAfGfAfCfAfUfL96	A-121862.1	asGfsaUfgGfcUfuUfugUfCfuUfgUfCfGfAfgsug
AD-60172.1	A-121877.1	AfsgsGfAfUfCfuGfUfGfuGfGfCfaCfCfL96	A-121878.1	gsGfsgUfcUfgCfCfAfCfAcAfGfAfUfcCfcUfsusu
AD-60173.1	A-121893.1	CfsasAfGfAfAfAfGfGfAfUfcUfGfuGfGfAfL96	A-121894.1	uscfcscAfCfAfGfAfUfuccCfuUfCfuUfGfsgusc
AD-60174.1	A-121909.1	UfsgsAfCfcUfcUfGfGfGfuUfCfGfAfUfL96	A-121910.1	asUfscAfCfGfAfAfCfAfCfcaUfGfAfGfGfuCfAsasa
AD-60175.1	A-121925.1	GfscsAfGfCfuAfAfAfGfAfCfuUfUfGfAfUfL96	A-121926.1	asAfsgUfcAfAfAfUfGfuUfUfAfGfCfuGfCfsasg
AD-60176.1	A-121863.1	CfsasUfcAfGfAfCfAfGfAfCfaAfGfAfCfAfUfL96	A-121864.1	asUfsgGfuCfuUfUfGfuUfcUfGfGfAfUfGfAsasa
AD-60177.1	A-121879.1	AfscsAfGfAfCfaGfAfCfCfAfUfCfAfCfCfL96	A-121880.1	gsGfsuGfAfAfGfAfUfGfugUfUfCfuGfGfuscusu
AD-60178.1	A-121895.1	AfsusCfCfaAfGfAfCfAfGfAfCfAfCfAfCfL96	A-121896.1	gsAfsuGfgUfcUfuGfucUfCfuGfGfAfusgsa
AD-60179.1	A-121911.1	UfsusUfgAfCfcUfcAfUfGfGfGfuUfcGfuUfL96	A-121912.1	asAfscGfAfAfCfCfAfGfAfGfGfCfAfAfAfgsg
AD-60180.1	A-121927.1	GfsgsAfUfGfcCfAfGfAfCfAfCfAfUfGfAfUfL96	A-121928.1	asUfscAfUfAfUfgUfUfucUfGfGfCfAfUfCfcsusg
AD-60181.1	A-121865.1	AfsasGfAfAfGfGfAfUfcUfGfUfgUfGfCfAfL96	A-121866.1	usGfscCfAfCfAfGfAfGfAucCfcUfUfUfUfsgsu
AD-60182.1	A-121881.1	CfsasAfGfAfAfGfGfAfUfcUfGfUfgUfGfCfL96	A-121882.1	gsCfscAfCfAfGfAfUfuccCfuUfUfUfUfsgusc
AD-60183.1	A-121897.1	UfsasCfGfUfgGfUfCfAfAfGfUfcUfUfcUfL96	A-121898.1	asGfsaGfAfAfGfAfCfUfGfAfCfCfGfUfAfgsg
AD-60184.1	A-121913.1	CfsasGfuUfuCfGfAfGfGfUfcUfAfGfUfGfAfL96	A-121914.1	uscfcscAfUfAfUfAfGfAfCfUfGfAfAfCfUfGfsgsg
AD-60185.1	A-121929.1	CfsgsUfgCfcGfGfAfAfGfAfUfcAfGfAfUfL96	A-121930.1	asUfsuCfuGfAfUfCfUfUfCfGfGfCfGfCfGfCsasc
AD-60186.1	A-121867.1	GfsasAfGfGfAfUfcUfGfUfgUfGfCfAfGfAfL96	A-121868.1	usCfsuGfCfCfAfCfAfGfAfGfCfCfUfCfUfcsusu
AD-60187.1	A-121883.1	GfsasCfAfGfAfAfGfAfCfAfUfcAfCfAfL96	A-121884.1	usUfsgUfAfGfAfUfgGfUfUfGfUfcUfGfUfcsusg
AD-60188.1	A-121899.1	UfsgsAfCfcUfcUfGfGfGfuUfCfGfUfGfCfL96	A-121900.1	gsUfscAfCfGfAfAfCfAfCfcaUfGfAfGfUfCfAsasa
AD-60189.1	A-121915.1	UfsgsUfAfAfUfAfUfUfcGfAfCfUfcAfGfL96	A-121916.1	csUfsuGfAfCfGfUfGfGfAfUfAfUfAfCfAfgsgsg
AD-60190.1	A-121931.1	AfsasCfUfAfCfUfGfAfAfCfUfCfUfAfGfAfL96	A-121932.1	uscfsuCfuGfUfGfGfUfCfUfGfAfUfGfUfsgsg

듀플렉스 식별번호	센스 식별번호	(각각 출원 순서대로 SEQ ID NO.: 389 내지 411)	센스 서열	NM_001737.3 에서의 위치	안티센스 식별번호	(각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 412 내지 434)	안티센스 서열	NM_001737.3 에서의 위치
AD-59663.1	A-121046.1	UUUUGACAAUGAGUUCUACAA	606-626	A-121047.1	UUUGAAGACUACUUGUCCAAAGG	604-626		
AD-59664.1	A-121062.1	AUCAAUGAAUUUAGUGUAAGA	1597-1617	A-121063.1	UCUUCACACUAAAUAUGUAUAU	1595-1617		
AD-59665.1	A-121078.1	AGACAAAUGUUUGUUCAAGA	268-288	A-121079.1	UCUUGAACGAAACAUUUGUCUGA	266-288		
AD-59668.1	A-121048.1	CUUUUGACAAUGAGUUCUACA	605-625	A-121049.1	UGUAGAACUCAUUGUCCAAAAGGU	603-625		
AD-59669.1	A-121064.1	AACUUGGAAAGAGCAUUGAAX	1570-1590	A-121065.1	UUCAAUGGCGCUUUCCAAAGUUUU	1568-1590		
AD-59670.1	A-121080.1	UACCGAGAGCGUGAUUAAACAX	2589-2609	A-121081.1	UGUUAUCAGCUUCUCAGGUGAG	2587-2609		
AD-59673.1	A-121050.1	ACCUUUUGACAAUGAGUUCUA	603-623	A-121051.1	UAGAACUCAUUGUCCAAAAGGUGU	601-623		
AD-59674.1	A-121066.1	GACUGCGAAUUGAGUUCUCAA	391-411	A-121067.1	UUGAAAGUCAUUUUCCGCAGUCAU	389-411		
AD-59675.1	A-121082.1	GCCCAUUCAAAUUUGAGGGAA	1682-1702	A-121083.1	UUCGCCUCAAUUUGAAUGGGCAG	1680-1702		
AD-59678.1	A-121052.1	UUUUUGGAUAAAGCUUCCAUGA	1175-1195	A-121053.1	UCAUGGAAGCUUUUAUCCAAAACA	1173-1195		
AD-59679.1	A-121058.1	AACCAAAAGCGAGAAAUAUUU	708-728	A-121059.1	AAAUUUUUCUCGCCUUUGGUUUC	706-728		
AD-59680.1	A-121084.1	CUUUGCCAAACUACCUUAGAAA	1057-1087	A-121085.1	UUUCAUAGGUAUUGGCCAAAGCU	1055-1087		
AD-59683.1	A-121054.1	CACCUUUUGACAAUGAGUUCU	602-622	A-121055.1	AGAACUCAUUUGUCCAAAAGGUGUG	600-622		
AD-59684.1	A-121070.1	GAGAAGACAUCAAAUUUUAAU	781-801	A-121071.1	AUUAAAAUUUGAUGUCUUCUCUU	779-801		
AD-59685.1	A-121086.1	GACAUGAGUUCUACAAUGGA	610-630	A-121087.1	UCCAUGUGAAGCAUCAUUGUCA	608-630		
AD-59688.1	A-121056.1	UUUGUAUAAAGCUUCCAUGAA	1176-1196	A-121057.1	UUCAUGGAAGCUUUUAUCCAAAAC	1174-1196		
AD-59689.1	A-121072.1	AUCUAGAAACCAAGGCGAG	700-720	A-121073.1	CUCGCCUUUGGUUUCAUAGAUCA	698-720		
AD-59690.1	A-121088.1	AUAUCAUGAAUUUAGUGUAA	1595-1615	A-121089.1	UUACACUAAAUAUUAUAGUAUAG	1593-1615		
AD-59692.1	A-121058.1	CACACCUUUUGACAAUGAGUU	600-620	A-121059.1	AACUCAUUGUCCAAAAGGUGUCU	598-620		
AD-59693.1	A-121074.1	UAGGGUCUGAGACCUUUUUGAA	2648-2668	A-121075.1	UUCAAAAAGGUCUCAGACCCUAG	2646-2668		

AD-59694.1	A-121090.1	CAAAACUUUGAAAGAGCCAUU	1567-1587	A-121091.1	AAUGGCUCUUUCCAAAGUUUUUGUU	1565-1587
AD-59696.1	A-121060.1	GCACACCUUUUGACAAUUGAGUX	599-619	A-121061.1	ACUCAUUGUCAAAAAGGUGUCUU	597-619
AD-59697.1	A-121076.1	UGAAACCAAGGCGAGAAAAA	705-725	A-121077.1	UUUUUCUCGCCCUUUGGUUUUCAUA	703-725

[1074]

[표 8] C9 변형된 서열

듀플렉스 식별번호	센스 식별번호	센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 435 내지 457)	안티센스 식별번호	안티센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 458 내지 480)
AD-59663.1	A-121046.1	UfsusUfuGfaCfaAfUfGfaGfuUfcUfaCfaAfl96	A-121047.1	usUfsgUfaGfaAfcUfcauUfgUfcAfaAfasgsg
AD-59664.1	A-121062.1	AfsusCfaAfUGfaAfUfuUfaGfUfgUfaAfAfl96	A-121063.1	usCfsuUfaCfaCfuAfaaUfcAfuUfgAfusasu
AD-59665.1	A-121078.1	AfsgsAfcAfaAfUGfuUfuUfcUfuCfaAfAfl96	A-121079.1	usCfsuUfgAfaCfGfaaacAfuUfuGfuCfusgsa
AD-59668.1	A-121048.1	CfsusUfuUfgAfaAfUfgAfgUfuCfuAfcAfl96	A-121049.1	usGfsuAfgAfaCfuCfaUuGfuCfaAfaAfsgsu
AD-59669.1	A-121064.1	AfsasCfuUfgGfaAfAfgaGfcCfaUfuGfaAfl96	A-121065.1	usUfscAfaUfgGfcUfcuUfcCfaAfgUfususu
AD-59670.1	A-121080.1	UfsasCfcUfgAfgAfaGfcUfgAfuUfaAfcAfl96	A-121081.1	usGfsuUfaAfuCfaGfcuUfcUfaGfgUfasgsg
AD-59673.1	A-121050.1	AfscsCfuUfuUfgAfaCfaUfgAfgUfuCfuAfl96	A-121051.1	usAfgsAfaCfuCfaUfuguCfaAfaAfgGfusgsu
AD-59674.1	A-121066.1	GfsasCfuGfcGfaAfAfuGfaCfuUfuCfaAfl96	A-121067.1	usUfsgAfaAfgUfcAfuuuCfcGfcAfgUfcsasu
AD-59675.1	A-121082.1	GfscsCfcAfuUfcAfaAfuUfuGfaGfgGfaAfl96	A-121083.1	usUfscCfcUfcAfaAfuuuGfaAfuGfgGfcsaag
AD-59678.1	A-121052.1	UfsusUfuGfgAfuAfaAfgCfuUfcCfaUfgAfl96	A-121053.1	usCfsaUfgGfaAfgCfuuuAfuCfcAfaAfascsa
AD-59679.1	A-121068.1	AfsasCfcAfaAfgGfcGfaGfaAfaUfuUfl96	A-121069.1	asAfsaUfuUfuUfcUfcgcCfuUfuGfgUfususc
AD-59680.1	A-121084.1	CfsusUfuGfcCfaAfCfuAfaCfuUfgAfaAfl96	A-121085.1	usUfsuCfaUfaGfgUfaguUfgGfcAfaAfgscsu
AD-59683.1	A-121054.1	CfsasCfcUfuUfuGfaCfaAfuGfaGfuUfcUfl96	A-121055.1	asGfsaAfcUfcAfuUfgucAfaAfaGfgUfgsug
AD-59684.1	A-121070.1	GfsasGfaAfgAfcAfuUfcAfaUfuUfuAfaUfl96	A-121071.1	asUfsuAfaAfaUfuUfgauGfuCfuUfcUfcsusu
AD-59685.1	A-121086.1	GfsasCfaAfuGfaGfuUfcUfaCfaAfuGfaAfl96	A-121087.1	usCfscAfuUfgUfaGfaacUfcAfuUfgUfcsaaa

AD-59688.1	A-121056.1	UfsusUfgGfaUfaAfaGfcUfuCfaAfuGfaAfl96	A-121057.1	usUfscAfuGfgAfaGfcuuUfaUfcCfaAfasasc
AD-59689.1	A-121072.1	AfsusCfuAfuGfaAfaCfaAfaGfcGfaGfl96	A-121073.1	csUfscGfcCfuUfuGfguuUfcAfuAfgAfuscsa
AD-59690.1	A-121088.1	AfsusAfuCfaAfuGfaAfuUfuUfgUfgUfaAfl96	A-121089.1	usUfscCfaCfuAfaAfuAfuAfuUfgAfuAfusasg
AD-59692.1	A-121058.1	CfsasCfaCfcUfuUfuGfaCfaAfuGfaGfuUfl96	A-121059.1	asAfsuCfcAfuUfgUfcaaAfaGfgUfgUfgscsu
AD-59693.1	A-121074.1	UfsasGfgGfuCfuGfaGfaCfcUfuUfuGfaAfl96	A-121075.1	usUfscAfaAfaGfaGfgUfcuucAfgAfcCfcUfasasg
AD-59694.1	A-121090.1	CfsasAfaAfcUfuGfgAfaAfaGfcCfaAfuUfl96	A-121091.1	asAfsuGfgCfuCfuUfuccAfaGfuUfuUfgsusu
AD-59696.1	A-121060.1	GfscsAfcAfcCfuUfuUfgAfaAfuUfgAfgUfl96	A-121061.1	asCfsuCfaUfuGfuCfaaaAfgGfuGfuGfcsusu
AD-59697.1	A-121076.1	UfsgsAfaAfcCfaAfaGfgCfaAfaAfaAfl96	A-121077.1	usUfsuUfuCfuCfcCfcuuUfgGfuUfuCfasusa

[1076]

[표 9] Hep3B 세포에서의 CFB 단일 용량 스크린

	10nM	0.1nM	10nM SD	0.1nM SD
AD-60315.1	22.82	17.15	20.03	9.73
AD-60326.1	9.33	17.49	0.29	4.75
AD-60303.1	8.45	28.08	4.67	10.75
AD-60331.1	14.47	29.99	4.36	4.99
AD-60344.1	17.61	30.59	6.96	1.70
AD-60345.1	8.98	33.88	0.65	7.11
AD-60319.1	14.36	33.98	1.17	12.16
AD-60308.1	12.64	34.07	0.19	11.41
AD-60332.1	20.19	35.92	3.53	3.23
AD-60313.1	23.94	38.26	19.92	13.16
AD-60321.1	13.32	46.50	4.83	1.00
AD-60327.1	18.44	50.40	6.45	5.21
AD-60302.1	13.82	53.31	4.21	12.46
AD-60325.1	11.73	54.59	0.27	15.34
AD-60337.1	16.17	56.04	3.64	33.50
AD-60333.1	17.72	65.14	2.22	8.79
AD-60314.1	27.79	67.44	2.02	9.10
AD-60320.1	18.12	85.78	5.39	33.24
AD-60339.1	20.86	88.73	9.59	10.47
AD-60338.1	18.14	91.03	4.11	10.07
AD-60307.1	21.76	91.13	3.49	43.21
AD-60309.1	20.64	95.13	0.34	53.77
AD-60343.1	61.82	112.57	5.56	17.11
AD-60324.1	24.20	81.08	3.41	18.95
AD-60318.1	43.11	99.07	13.83	17.69
AD-60300.1	35.21	111.33	5.35	12.86
AD-60330.1	58.80	111.85	8.86	32.76
AD-60306.1	85.87	113.97	12.01	33.11
AD-60336.1	35.90	119.80	3.75	4.92
AD-60301.1	28.95	121.90	7.73	23.23
AD-60342.1	49.16	123.56	17.53	14.88
AD-60334.1	26.12	55.28	22.52	7.86
AD-60304.1	20.62	74.38	4.43	16.50
AD-60310.1	18.93	77.08	0.87	35.20
AD-60328.1	63.55	86.20	1.91	4.07
AD-60322.1	81.67	86.30	21.22	25.58

[1077]

AD-60316.1	105.01	93.22	8.55	14.39
AD-60346.1	109.11	99.09	2.07	25.51
AD-60335.1	42.63	101.00	5.91	54.15
AD-60323.1	81.31	103.20	4.03	3.86
AD-60340.1	50.41	109.25	20.73	1.67
AD-60305.1	30.06	114.59	5.00	17.97
AD-60317.1	102.87	126.87	1.95	30.25
AD-60329.1	106.30	131.90	0.20	53.49
AD-60341.1	112.98	137.99	3.94	31.92
AD-60311.1	162.39	140.07	10.04	63.65

[1078]

[표 10] 일차 마우스 간세포에서의 CFB 단일 용량 스크린

	Avg 10nM	Avg 0.1nM	10nM SD	0.1nM SD
AD-60302.1	112.73	109.72	15.29	1.75
AD-60303.1	119.44	102.70	0.15	23.82
AD-60307.1	67.92	99.67	2.91	6.47
AD-60308.1	116.89	111.68	12.15	4.51
AD-60309.1	100.72	112.85	10.72	4.84
AD-60313.1	50.21	102.05	10.08	4.13
AD-60314.1	74.12	113.15	4.99	12.59
AD-60315.1	101.22	104.79	6.07	29.27
AD-60319.1	18.56	81.28	4.22	6.27
AD-60320.1	103.08	123.28	8.71	18.51
AD-60321.1	45.03	104.98	3.91	25.35
AD-60325.1	121.99	127.67	4.63	24.72
AD-60326.1	55.24	102.10	4.66	13.35
AD-60327.1	79.42	108.21	4.77	21.99
AD-60331.1	4.51	52.03	0.35	8.06
AD-60332.1	115.05	120.93	6.06	4.00
AD-60333.1	102.19	113.88	0.38	31.81
AD-60337.1	3.93	31.08	1.12	0.49
AD-60338.1	120.85	115.74	9.02	8.93
AD-60339.1	16.97	75.02	0.27	10.17
AD-60343.1	126.10	131.79	24.11	14.66
AD-60344.1	8.06	35.14	0.31	11.86
AD-60345.1	132.64	133.75	7.96	27.82
AD-60300.1	27.05	81.40	8.63	8.86
AD-60301.1	10.24	72.49	0.46	5.41
AD-60306.1	97.07	114.32	4.87	18.27

[1079]

AD-60318.1	37.73	98.00	3.09	7.56
AD-60324.1	42.83	99.93	1.21	12.09
AD-60330.1	70.05	116.47	1.46	15.23
AD-60336.1	31.97	95.19	13.63	1.75
AD-60342.1	38.22	108.31	4.90	6.76
AD-60304.1	7.88	18.03	3.57	18.03
AD-60305.1	13.09	64.61	2.19	11.26
AD-60310.1	1.36	21.17	0.24	1.27
AD-60311.1	2.11	28.70	0.22	4.79
AD-60316.1	2.23	28.29	1.11	4.66
AD-60317.1	60.25	84.11	5.23	5.66
AD-60322.1	70.53	115.47	1.47	11.72
AD-60323.1	108.71	117.31	17.38	7.90
AD-60328.1	4.04	38.52	0.21	10.03
AD-60329.1	6.73	36.47	0.21	8.72
AD-60334.1	49.74	99.41	2.74	8.64
AD-60335.1	34.99	99.57	3.64	1.59
AD-60340.1	99.13	106.94	5.71	9.81
AD-60341.1	92.74	112.17	0.34	8.10
AD-60346.1	5.65	53.30	0.52	5.28

[1080]

[표 11] Hep 3B 세포에서의 CFB 용량 반응 스크린

듀플렉스 식별번호	Hep3B IC50(nM)
AD-60303.1	0.119
AD-60326.1	0.062
AD-60319.1	0.351
AD-60331.1	0.225
AD-60337.1	0.418
AD-60344.1	0.347
AD-60304.1	>10
AD-60324.1	7.039

[1081]

[표 12] 일차 마우스 간세포 세포에서의 CFB 용량 반응 스크린

듀플렉스 식별번호	일차 마우스 IC50(nM)
AD-60303.1	달성되지 않음
AD-60326.1	4.063
AD-60319.1	0.162
AD-60331.1	0.031
AD-60337.1	0.014
AD-60344.1	0.003
AD-60304.1	0.028
AD-60324.1	0.854

[1082]

[표 13] 일차 마우스 간세포에서의 C9 단일 용량 스크린

듀플렉스 식별번호	Avg 10nM	Avg 0.1nM	SD 10nM	SD 0.1nM
AD-59663.1	5.92	27.33	2.13	16.40
AD-59664.1	83.71	76.56	42.80	21.75
AD-59665.1	91.76	85.56	20.62	26.31
AD-59668.1	30.66	49.06	4.23	13.47
AD-59669.1	95.36	64.74	18.69	19.30
AD-59670.1	96.91	103.65	26.38	7.23
AD-59673.1	22.34	31.20	7.34	20.44
AD-59674.1	12.16	45.36	5.13	14.79
AD-59675.1	93.18	109.59	3.77	8.45
AD-59678.1	47.33	47.23	14.22	6.86
AD-59679.1	98.53	30.06	12.88	32.30
AD-59680.1	33.75	86.68	1.20	28.07
AD-59683.1	25.81	44.31	9.78	23.12
AD-59684.1	58.89	96.75	16.45	21.05
AD-59685.1	68.90	115.36	8.17	6.36
AD-59688.1	32.69	41.63	6.49	21.72
AD-59689.1	86.86	102.46	24.47	0.38
AD-59690.1	101.98	131.95	4.87	0.16
AD-59692.1	33.98	36.81	9.73	3.38
AD-59693.1	84.70	75.60	35.91	16.09
AD-59694.1	108.88	132.73	2.53	45.43
AD-59696.1	32.87	45.82	9.72	15.79
AD-59697.1	110.00	120.20	1.21	3.98
AD-1955	109.44	92.04	24.08	32.14
AD-1955	105.93	104.33	4.54	6.01
AD-1955	87.62	93.01	6.11	3.30
AD-1955	90.95	117.91	3.90	29.31
AD-1955	91.04	93.49	6.80	8.35
AD-1955	106.63	107.78	1.44	9.89
AD-1955	95.33	82.10	9.45	2.92
AD-1955	123.15	121.27	44.13	11.42

[1083]

[표 14] 일차 마우스 간세포에서의 C3 단일 용량 스크린

듀플렉스 식별번호	Avg 10nM	Avg 0.1nM	10nM SD	0.1nM SD
AD-60149.1	0.08	33.89	0.04	44.73
AD-60151.1	0.11	81.49	0.14	7.88
AD-60152.1	1.72	92.02	0.89	9.34
AD-60153.1	93.57	97.06	17.16	4.16
AD-60154.1	97.73	122.73	0.66	28.17
AD-60155.1	12.94	91.38	17.39	9.28
AD-60156.1	8.02	41.58	9.16	56.27
AD-60157.1	23.61	98.22	33.22	8.77
AD-60158.1	0.75	77.42	0.76	8.61
AD-60159.1	100.47	93.53	11.61	7.44
AD-60160.1	89.34	92.97	18.42	9.21
AD-60161.1	2.33	82.37	0.32	21.06
AD-60162.1	60.59	46.83	1.37	65.96
AD-60163.1	104.09	53.32	5.42	75.38
AD-60164.1	61.13	40.41	5.57	57.13
AD-60165.1	61.93	86.61	4.44	11.53
AD-60166.1	2.27	96.48	0.70	17.52
AD-60167.1	87.51	84.41	3.70	9.19
AD-60168.1	35.16	98.47	0.28	20.95
AD-60169.1	0.42	51.78	0.13	18.79
AD-60170.1	125.00	99.12	1.46	12.72
AD-60171.1	0.44	59.53	0.01	1.82
AD-60172.1	89.05	102.11	4.20	10.62
AD-60173.1	81.29	95.39	16.08	3.86
AD-60174.1	0.06	25.26	0.02	31.64
AD-60175.1	0.89	80.59	0.23	6.61
AD-60176.1	0.88	52.71	0.02	6.12
AD-60177.1	63.14	85.00	16.41	9.25
AD-60178.1	42.97	64.33	4.75	14.00
AD-60179.1	0.12	54.36	0.01	6.05
AD-60180.1	94.57	98.11	13.68	5.65
AD-60181.1	69.28	85.66	6.99	31.48
AD-60182.1	84.22	79.05	2.63	8.99
AD-60183.1	0.08	44.17	0.05	7.27
AD-60184.1	80.50	81.13	9.59	14.73
AD-60185.1	92.21	99.75	12.00	2.32

[1084]

AD-60186.1	60.60	93.85	18.81	29.73
AD-60187.1	2.33	71.77	0.20	1.49
AD-60188.1	0.33	78.13	0.37	14.56
AD-60189.1	57.75	91.38	43.16	14.16
AD-60190.1	29.40	94.84	41.57	7.55
AD-1955	103.85	90.86	8.96	3.45
AD-1955	71.27	115.36	36.17	13.40
AD-1955	99.16	95.85	5.16	8.09
AD-1955	112.29	104.37	3.65	12.88
AD-1955	108.44	97.01	1.40	0.36
AD-1955	118.26	109.90	2.10	12.76
AD-1955	98.09	98.72	11.81	1.81

[1085]

[표 15] Hep 3B 세포에서의 C3 단일 용량 스크린

듀플렉스 식별번호	Avg 10nM	Avg 0.1nM	10nM SD	0.1nM SD
AD-60149.1	7.49	55.90	7.75	4.41
AD-60151.1	24.05	101.65	14.22	8.27
AD-60152.1	16.58	112.51	10.66	19.82
AD-60153.1	20.13	22.40	22.87	3.76
AD-60154.1	24.21	112.90	8.93	25.58
AD-60155.1	20.48	68.97	2.10	1.73
AD-60156.1	18.22	66.39	0.80	1.67
AD-60157.1	29.07	125.72	5.80	8.08
AD-60158.1	81.03	105.18	14.03	14.20
AD-60159.1	27.58	92.91	4.77	2.22
AD-60160.1	11.49	60.48	4.68	11.60
AD-60161.1	27.49	80.57	10.88	16.13
AD-60162.1	49.58	89.22	3.76	6.06
AD-60163.1	91.18	99.19	5.14	21.40
AD-60164.1	33.93	85.93	4.07	1.00
AD-60165.1	5.54	13.05	0.43	2.69
AD-60166.1	35.21	81.66	21.31	14.48
AD-60167.1	106.64	115.02	8.09	39.17
AD-60168.1	26.91	92.99	2.50	5.86
AD-60169.1	10.66	49.63	6.66	17.36
AD-60170.1	52.73	104.43	2.71	22.03

[1086]

AD-60171.1	23.77	60.35	7.94	7.27
AD-60172.1	143.57	99.22	8.09	11.58
AD-60173.1	100.25	108.80	12.25	44.49
AD-60174.1	16.68	92.68	0.45	45.25
AD-60175.1	24.94	42.14	4.74	7.68
AD-60176.1	17.30	66.19	8.83	13.81
AD-60177.1	50.71	116.18	20.19	1.49
AD-60178.1	22.65	90.84	5.82	15.23
AD-60179.1	15.21	85.30	3.55	23.07
AD-60180.1	45.91	93.35	16.19	28.54
AD-60181.1	63.50	109.82	10.07	14.56
AD-60182.1	110.82	121.62	1.09	6.78
AD-60183.1	13.82	69.24	8.64	3.35
AD-60184.1	26.47	97.94	9.64	9.88
AD-60185.1	41.42	103.45	7.77	2.47
AD-60186.1	72.24	88.39	6.37	51.31
AD-60187.1	9.49	51.15	3.28	11.65
AD-60188.1	55.44	95.66	7.05	30.36
AD-60189.1	52.59	89.41	4.25	20.79
AD-60190.1	16.67	95.38	1.22	11.83

[1087]

[표 16] 일차 마우스 간세포에서의 C3 용량 반응 스크린

듀플렉스 식별번호	PMH IC50(nM)
AD-60149.1	0.03
AD-60152.1	1.03
AD-60156.1	0.19
AD-60165.1	1.96
AD-60169.1	0.04
AD-60171.1	0.04
AD-60174.1	0.01
AD-60175.1	0.54
AD-60176.1	0.05
AD-60179.1	0.03
AD-60183.1	0.03
AD-60187.1	0.24

[1088]

[표 17] Hep3B 세포에서의 C3 용량 반응 스크린

듀플렉스 식별번호	Hep3B IC50(nM)
AD-60149.1	0.88
AD-60152.1	2.87
AD-60156.1	2.06
AD-60165.1	0.08
AD-60169.1	0.41
AD-60171.1	5.51
AD-60174.1	2.60
AD-60175.1	0.48
AD-60176.1	2.29
AD-60179.1	1.70
AD-60183.1	0.94
AD-60187.1	1.65

[1089]

[1090]

실시예 3. 생체 내 스크리닝

[1091]

3개의 CFB GalNAc 컨주게이트된 iRNA인 AD-60304, AD-60331 및 AD-60344의 서브셋을 추가의 생체 내 평가를 위해 선택하였다. 이들 iRNA 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 뉴클레오티드 서열은 표 18에 제공되어 있다. 표 19에 표기된 바와 같이, AD-60304의 뉴클레오티드 서열은 마우스 뉴클레오티드 서열 및 랫 뉴클레오티드 서열과 완벽하게 일치한다. AD-60331의 뉴클레오티드 서열 및 AD-60344의 뉴클레오티드 서열은 마우스 유전자에 대해 뉴클레오티드 미스매치("MM"; 굵은 글씨의 밑줄이 그어진 뉴클레오티드 참조)를 가지지만, 마우스 간 세포에서 활성을 가진다.

[1092]

C57BL/6 마우스(그룹마다 N=3)에 1 mg/kg 또는 10 mg/kg의 GalNAc 컨주게이트된 듀플렉스 또는 동부피의 1x Dulbecco's 인산염-완충 염수(DPBS)(Life Technologies, Cat# 14040133)를 피하 주사하였다. 96시간 후, 마우스를 안락사시키고, 간을 절개하고, 액체 질소에서 급속 동결시켰다. 간을 2000 Geno/Grinder(SPEX SamplePrep, Metuchen, NJ)에서 분쇄하였다. RNA 단리를 위해 시료 당 대략 10 mg의 간 분말을 이용하였다. 시료를 먼저 TissueLyserII(Qiagen Inc, Valencia, CA)에서 균질화시킨 다음, RNA를 진공/회전 기술을 이용하여, 제조사의 프로토콜에 따라 RNeasy 96 Universal Tissue Kit(Qiagen Inc, Cat#74881)를 이용하여 추출하였다. NanoDrop 8000(Thermo Scientific, Wilmington, DE)에 의해 RNA 농도를 측정하고, 100 ng/ μ l로 조정하였다. cDNA를 제조하고, RT-PCR을 상기 기술된 바와 같이 수행하였다.

[1093]

도 2는 CFB iRNA가 1 mg/kg 또는 10 mg/kg의 용량에서 CFB mRNA를 억제하는 효능을 나타낸 것이다. 10 mg/kg 용량에서, 평균 약 80%의 침묵화가 시험된 모든 3개의 iRNA에서 관찰되었다. 1 mg/kg 용량에서는, 평균 약 30%의 침묵화가 AD-60331 및 AD-60344에서 관찰되었다.

[1094]

생체 내에서 CFB mRNA의 발현을 저해하는 AD-60331의 능력 또한, 1.25 mg/kg, 2.5 mg/kg 및 10 mg/kg의 단일 용량을 이용하여 평가하였다. C57BL/6 마우스에 상기 용량으로 피하 주사하고, 70시간 후, 마우스를 안락사시켰다. 동물의 간으로부터의 RNA의 단리, cDNA 제조 및 RT-PCR을 상기 기술된 바와 같이 수행하였다. 도 3은 AD-60331이 CFB mRNA를 용량 반응적인 방식으로 감소시키며, 이때의 ED₅₀은 약 2.5 mg/kg임을 나타낸 것이다. 인간 서브셋에 도입되는 경우, 이들 iRNA는 서열 설계가 주어지면 훨씬 더 효과적일 것으로 예상된다.

[1095]

[표 18]

듀플렉스	센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 481 내지 483)	안티센스 서열 (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 484 내지 486)	종
AD-60304.1	GfsasUfuGfaGfaAfGfGfuGfgCfgAfgUfuAfL96	usAfsaCfuCfcCfcAfcuUfcUfcAfaUfcsasa	MR
AD-60331.1	AfsgsCfaAfcAfuGfUfGfuUfcAfaAfgUfcAfL96	usGfsaCfuUfuGfaAfcacAfuGfuUfgCfucsasa	HC
AD-60344.1	GfscsUfgUfgGfuGfuCfuGfaGfuAfcUfuUfL96	asAfsaGfuAfcUfcAfgacAfcCfaCfaGfscsc	HC

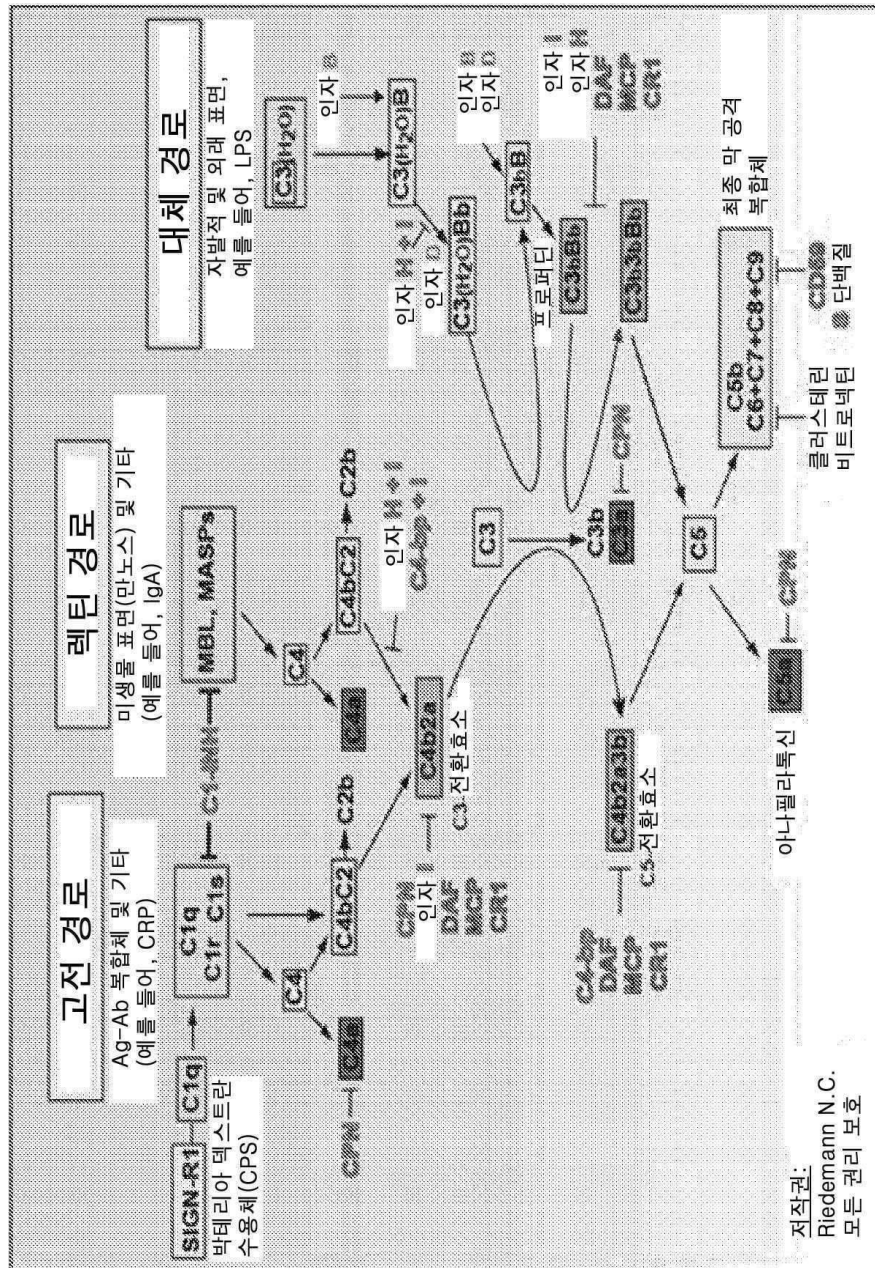
[1096]

[표 19]

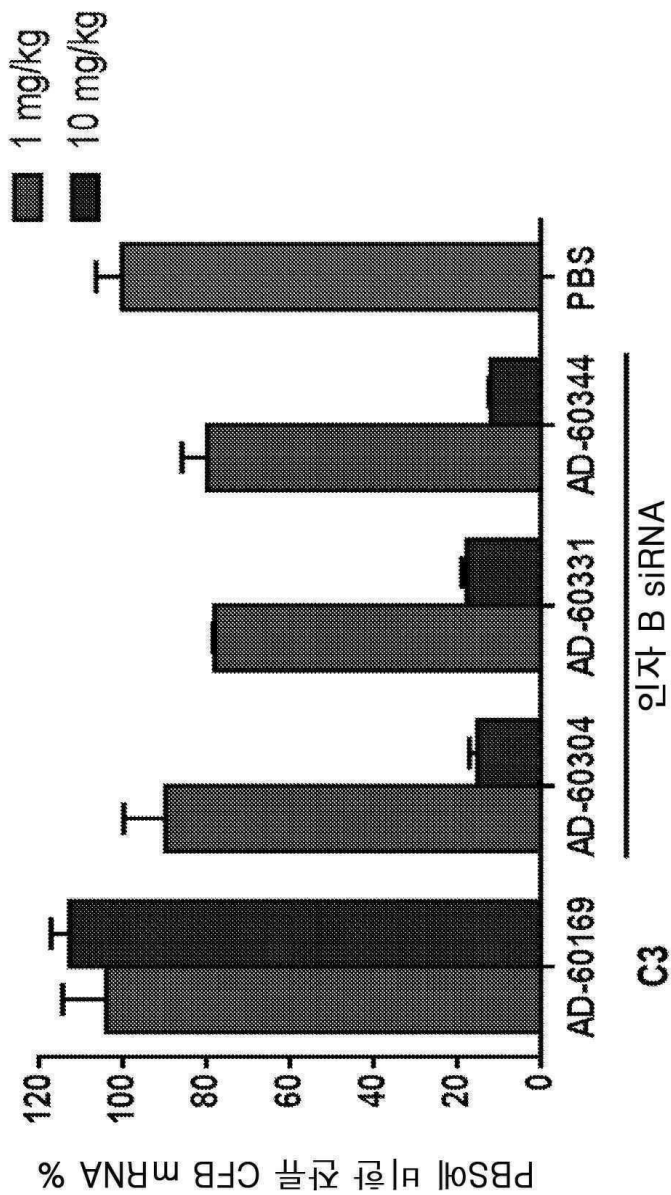
	마우스에 대한 안티센스 MM (짧은 글씨로 밑줄이 그어져 있음) (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 487 내지 489)	랫에 대한 안티센스 MM (짧은 글씨로 밑줄이 그어져 있음) (각각 출원 순서대로 SEQ ID NO: 490 내지 492)	일차 마우스 IC50(nM)	Hep3b IC50(nM)
듀플렉스 AD-60304.1	UAAUCUGCCACCUUCUCAAUCAA	UAAUCUGCCACCUUCUCAAUCAA	0.028	2.876
AD-60331.1	UGACUUUUGAACACACAUGUUGCUCA	UGACUUUUGAACACACAUGUUGCUCA	0.031	0.225
AD-60344.1	AAAGUACUCAGACACCCACAGCCC	AAAGUACUCAGACACCCACAGCCC	0.017	0.347

도면

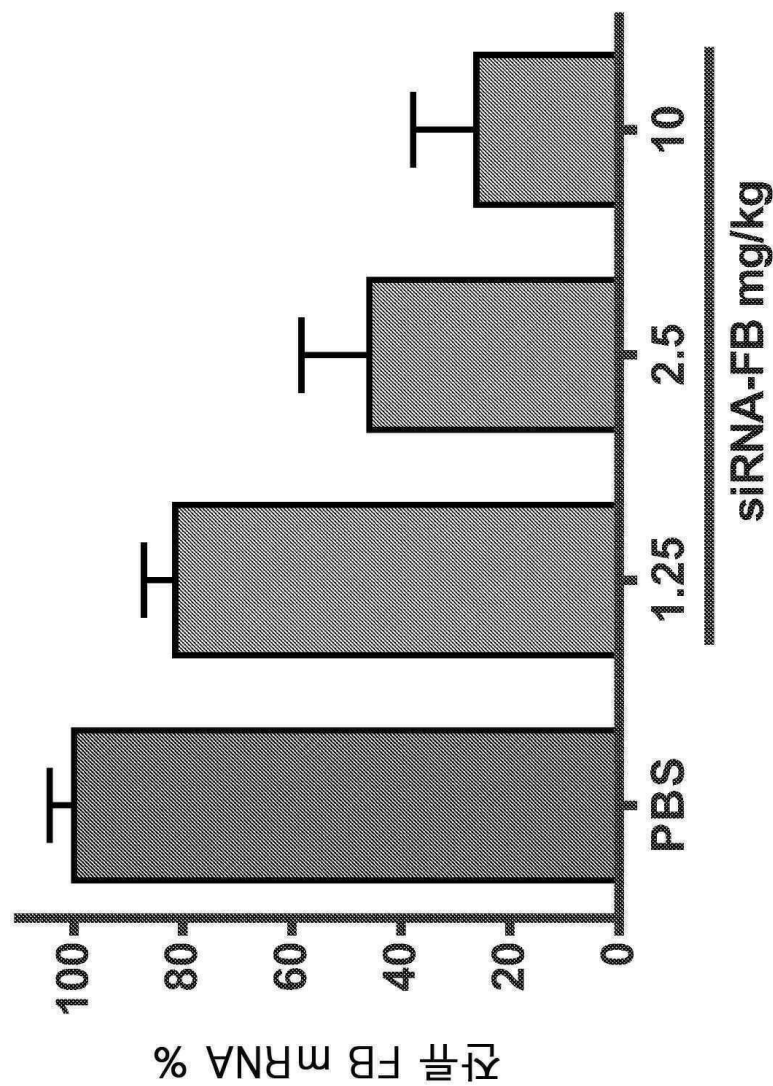
도면1



도면2



도면3



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.
- <120> COMPLEMENT COMPONENT IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF
- <130> 121301-01120
- <150> US 61/915,210
- <151> 2013-12-12
- <160> 492
- <170> KopatentIn 3.0
- <210> 1
- <211> 2646
- <212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 1

gacttctgca gtttctgttt ccttgactgg cagctcagcg gggccctccc gcttggatgt	60
tccgggaaag tgatgtgggt aggacaggcg gggcgagccg caggtgccag aacacagatt	120
gtataaaagg ctgggggctg gtggggagca ggggaaggga atgtgaccag gtctaggtct	180
ggagtttcag ctiggacact gagccaagca gacaagcaaa gcaagccagg acacaccatc	240
ctgccccagg cccagcttct ctctgcctt ccaacccat ggggagcaat ctgagcccc	300
aactctgcct gatgcccttt atcttgggcc tcttgtctgg aggtgtgacc accactccat	360
ggtcttttggc ccggccccag ggatcctgct ctctggaggg ggtagagatc aaaggcggct	420
ccttcgact tctccaagag gccaggcac tggagtacgt gtgtccttct ggcttctacc	480
cgtaccctgt gcagacacgt acctgcagat ctacggggtc ctggagcacc ctgaagactc	540
aagacaaaa gactgtcagg aaggcagagt gcagagcaat ccactgtcca agaccacacg	600
acttcgagaa cggggaatac tggccccggt ctccctacta caatgtgagt gatgagatct	660
ctttccactg ctatgacggt tacactctcc ggggctctgc caatcgacc tgccaagtga	720
atggccgatg gagtgggcag acagcgatct gtgacaacgg agcggggtag tgctccaacc	780
cgggcatccc cattggcaca aggaaggtgg gcagccagta ccgccttgaa gacagcgta	840
cctaccactg cagccggggg cttaccctgc gtggctccca gcggcgaacg tgtcaggaag	900
gtggctcttg gagcgggacg gagccttctt gccaaagactc cttcatgtac gacaccctc	960
aagaggtggc cgaagcttct ctgtcttccc tgacagagac catagaagga gtcgatgctg	1020
aggatgggca cggcccaggg gaacaacaga agcgggaagat cgtcctggac ccttcaggct	1080
ccatgaacat ctacctggtg ctagatggat cagacagcat tggggccagc aacttcacag	1140
gagcaaaaa gtgtctagtc aacttaattg agaaggtggc aagttatggt gtgaagccaa	1200
gatatggtct agtgacatat gccacatacc ccaaaatttg ggtcaaagtg tctgaagcag	1260
acagcagtaa tgcagactgg gtcacgaagc agctcaatga aatcaattat gaagaccaca	1320
agttgaagtc agggactaac accaagaagg cctccaggc agtgtacagc atgatgagct	1380
ggccagatga cgtccctcct gaaggttgga accgcaccg ccatgtcatc atcctcatga	1440
ctgatggatt gcacaacatg ggcggggacc caattactgt cattgatgag atccgggact	1500
tgctatacat tggcaaggat cgcaaaaacc caagggagga ttatctggat gtctatgtgt	1560
ttggggtcgg gcctttggtg aaccaagtga acatcaatgc tttggcttcc aagaaagaca	1620
atgagcaaca tgtgttcaaa gtcaaggata tggaaaacct ggaagatgtt ttctacaaa	1680
tgatcgatga aagccagtct ctgagtctct gtggcatggt ttgggaacac aggaagggtg	1740

ccgattacca caagcaacca tggcaggcca agatctcagt cattcgccct tcaaaggac 1800
acgagagctg tatgggggct gtggtgtctg agtactttgt gctgacagca gcacattgtt 1860

tcactgtgga tgacaaggaa cactcaatca aggtcagcgt aggaggggag aagcgggacc 1920
tggagataga agtagtccta ttccaccca actacaacat taatgggaaa aaagaagcag 1980
gaattcctga attttatgac tatgacgttg ccttgatcaa gctcaagaat aagctgaaat 2040
atggccagac tatcaggccc atttgtctcc cctgcaccga gggaacaact cgagctttga 2100
ggcttctctc aactaccact tgccagcaac aaaaggaaga gctgctccct gcacaggata 2160
tcaaagctct gtttgtgtct gaggaggaga aaaagctgac tcggaaggag gtctacatca 2220
agaatgggga taagaaaggc agctgtgaga gagatgctca atatgcccc ggctatgaca 2280

aagtcaagga catctcagag gtggtcaccc ctcggttctt ttgtactgga ggagtgagtc 2340
cctatgctga cccaatact tgcagagggtg attctggcgg cccttgata gttcacaaga 2400
gaagtcgttt cattcaagtt ggtgtaatca gctggggagt agtggatgtc tgcaaaaacc 2460
agaagcggca aaagcaggta cctgtctacg cccgagactt tcacatcaac ctctttcaag 2520
tgctgccctg gctgaaggag aaactccaag atgaggatit gggttttcta taaggggttt 2580
cctgtcggac aggggcgtgg gattgaatta aaacagctgc gacaacaaaa aaaaaaaaaa 2640
aaaaaa 2646

<210> 2

<211> 2767

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 2

gtcccatcac acagtcacatg gaaagactga tcttttaaat tgggggtagt ggaggtggtg 60
gtctgtgctt gttaggagggt gtctgggggc taagaggag ctttgaaagg gaagtcttg 120
cccttggtca gtcaagggtg gggctcacat agtttctgtt tctcagttg gcagttcagc 180
tggggccctc ctcatgaat gttccgggaa gcagtggtg cgtgcgcagg gtaggtggc 240
caggctgcag atgccagagc agattgcata aaaggttagg ggacagtggg aaaggggtgt 300
agccagatcc agcatttggg ttctagtttg gacaggaggt caaataggca cccagagtga 360

cctggagagg gctttgggcc actggactct ctggtgcttt ccatgacaat ggagagcccc 420
cagctctgcc tcgtctctt ggtcttaggc ttctctctg gaggtgtgag cgcaactcca 480
gtgcttgagg cccggcccca agtctcctgc tctctggagg gagtagagat caaaggcggc 540
tcctttcaac ttctccaagg cggtcaggcc ctggagtacc tatgtccctc tggtttctac 600

ccataccccc tgcagactcg aacctgcaga tccacaggct cctggagcga cctgcagacc	660
cgagacccaa agattgtcca gaaggcggaa tgcagagcaa tacgtgccc acgaccgcag	720
gactttgaaa atggggaatt ctggccccgg tcccccttct acaacctgag tgaccagatt	780
tcttttcaat gctatgatgg ttacgttctc cggggctctg ctaatcgac ctgccaagag	840
aatggccggt gggatgggca aacagcaatt tgtgatgatg gagctggata ctgtcccaat	900
cccggttatc ctattgggac aaggaagggt ggtagccaat accgccttga agacattgtt	960
acttaccact gcagccgggg acttgtcctg cgtggctccc agaagcgaaa gtgtcaagaa	1020
ggtggctcat ggagtgggac agagccttcc tgccaagatt ccttcattga tgacagccct	1080
caagaagtgg ccgaagcatt cctatcctcc ctgacagaga ccatcgaagg agccgatgct	1140
gaggatgggc acagcccagg agaacagcag aagaggaaga ttgtcctaga cccctcgggc	1200
tccatgaata tctacctggt gctagatgga tcagacagca tcggaagcag caacttcaca	1260
ggggctaagc ggtgcctcac caacttgatt gagaagggtg cgagttacgg ggtgaggcca	1320
cgatatggtc tctgacata tgctacagtc cccaaagtgt tggtcagagt gtctgatgag	1380
aggagtagcg atgccactg ggtcacagag aagctcaacc aaatcagtta tgaagaccac	1440
aagctgaagt cagggaccaa caccaagagg gctctccagg ctgtgtatag catgatgagc	1500
tgggcagggg atccccgcc tgaaggctgg aatagaacct gccatgtcat catcattatg	1560
actgatggct tgcacaacat ggggtggaaac cctgtcactg tcattcagga catccgagcc	1620
ttgctggaca tcggcaggga tcccaaaaat ccagggaggg attacctgga tgtgtatgtg	1680
tttggggtcg ggcctctggt ggactccgtg aacatcaatg ccttagcttc caaaaaggac	1740
aatgagcatc atgtgtttaa agtcaaggat atggaagacc tggagaatgt tttctaccaa	1800
atgattgatg aaaccaaacc tctgagtctc tgtggcatgg tgtgggagca taaaaaaggc	1860
aacgattatc ataagcaacc atggcaagcc aagatctcag tcaactgccc tctgaaagga	1920
catgagacct gtatgggggc cgtgggtgtc gagtacttcg tgctgacagc agcgactgc	1980
ttcatggtgg atgatcagaa acattccatc aaggtcagcg tggggggtca gaggcgggac	2040
ctggagattg aagaggctct gttccacccc aaatacaata ttaatgggaa aaaggcagaa	2100
gggatccctg agttctatga ttatgatgtg gccctagtca agctcaagaa caagctcaag	2160
tatggccaga ctctcaggcc catctgtctc cctgcacgg aggggaaccac acgagccttg	2220
aggcttcctc agacagccac ctgcaagcag cacaaggaac agttgctccc tgtgaaggat	2280
gtcaaagctc tgtttgtatc tgagcaaggg aagagcctga ctcggaagga ggtgtacatc	2340
aagaatgggg acaagaaagc cagttgtgag agagatgcta caaaggccca aggctatgag	2400

aaggtcaaag atgcctctga ggtggtcact ccacggttcc tctgcacagg aggggtggat 2460

ccctatgctg accccaacac atgcaaagga gattccgggg gccctctcat tgttcacaag 2520

agaagccgct tcattcaagt tgggtgtgatt agctggggag tagtagatgt ctgcagagac 2580

cagaggcggc aacagctggt accctcttat gcccgggact tccacatcaa cctcttcag 2640

gtgctgccct ggctaaagga caagctcaaa gatgaggatt tgggttttct ataaagagct 2700

tcctgcaggg agagtgtgag gacagattaa agcagttaca ataacaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaa 2767

<210> 3

<211> 2763

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 3

gtcccatcac acagtccatg gaaagactga tcttttaaat tgggggtagt ggaggtggtg 60

gtctgtgctt gttaggaggg gtctgggggc taagaggag ctttgaaagg gaagtctctg 120

cccttggcca gtcaagggtg gggctcacat agtttctgtt tcctcagttg gcagttcagc 180

tggggccctc cttcatgaat gttccgggaa gcagtggctg cgtgcgcagg gtaggtggc 240

caggtctgcag atgccagagc agattgcata aaaggttagg ggacagtggg aaaggggtgt 300

agccagatcc agcatttggg ttctagtttg gacaggaggt caaataggca cccagagtga 360

cctggagagg gctttgggcc actggactct ctggtgcttt ccatgacaat ggagagcccc 420

cagctctgcc tcgtcctctt ggtcttaggc ttctcctctg gaggtgtgag cgcaactcca 480

gtgcttgagg cccggcccca agtctcctgc tctctggagg gagtagagat caaaggcggc 540

tcctttcaac ttctccaagg cggtcaggcc ctggagtacc tatgtccctc tggcttctac 600

ccataccccg tgcagactcg aacctgcaga tccacaggct cctggagcga cctgcagacc 660

cgagacaaaa agattgtcca gaagcgggaa tgcagagcaa tacgtgccc acgaccgcag 720

gactttgaaa atggggaatt ctggccccgg tccccctct acaacctgag tgaccagatt 780

tcttttcaat gctatgatgg ttacgttctc cggggctctg ctaatcgac ctgccaagag 840

aatggccggt gggatgggca aacagcaatt tgtatgatg gagctggata ctgtcccaat 900

cccggttatc ctattgggac aaggaagggt ggtagccaat accgccttga agacattgtt 960

acttaccact gcagccgggg acttgtcctg cgtggctccc agaagcgaaa gtgtcaagaa 1020

ggtggctcat ggagtgggac agagccttcc tgccaagatt ccttcagtga tgacagccct 1080

caagaagtgg ccgaagcatt cctatcctcc ctgacagaga ccatcgaagg agccgatgct 1140

gaggatgggc acagcccagg agaacagcag aagaggaaga ttgtcctaga cccctcgggc 1200
tccatgaata tctacctggt gctagatgga tcagacagca tcggaagcag caacttcaca 1260

ggggctaagc ggtgcctcac caacttgatt gagaaggtgg cgagttacgg ggtgaggcca 1320
cgatatggtc tcttgacata tgctacagtc cccaaagtgt tggtcagagt gtctgatgag 1380
aggagtagcg atgccgactg ggtcacagag aagctcaacc aatcagtta tgaagaccac 1440
aagctgaagt cagggaccaa caccaagagg gctctccagg ctgtgtatag catgatgagc 1500
tgggcagggg atgccccgcc tgaaggctgg aatagaacc gccatgtcat catcattatg 1560
actgatggct tgcacaacat ggggtggaaac cctgtcactg tcattcagga catccgagcc 1620
ttgtctggaca tcggcaggga tcccaaaaat cccaggaggg attacctgga tgtgtatgtg 1680

tttggggtcg ggcctctggt ggactccgtg aacatcaatg ccttagcttc caaaaaggac 1740
aatgagcatc atgtgtttaa agtcaaggat atggaagacc tggagaatgt tttctaccaa 1800
atgattgatg aaaccaaacc tctgagtctc tgtggcatgg tgtgggagca taaaaaggc 1860
aacgattatc ataagcaacc atggcaagcc aagatctcag tcactcgccc tctgaaagga 1920
catgagacct gtatgggggc cgtggtgtct gactacttcg tctgacagc agcgactgc 1980
ttcatggtgg atgatcagaa acattccatc aaggtcagcg tggggggtca gaggcgggac 2040
ctggagattg aagaggtcct gttccacccc aaatacaata ttaatgggaa aaaggcagaa 2100

gggatccctg agttctatga ttatgatgtg gcctagtca agctcaagaa caagctcaag 2160
tatggccaga ctctcaggcc catctgtctc cctgcacgg agggaaccac acgagccttg 2220
aggcttcctc agacagccac ctgcaagcag cacaaggaac agttgctccc tgtgaaggat 2280
gtcaaagctc tgtttgtatc tgagcaaggg aagagcctga ctcggaagga ggtgtacatc 2340
aagaatgggg acaagccagt tgtgagagag atgctacaaa ggcccaaggc tatgagaagg 2400
tcaaagatgc ctctgagggtg gtcactccac ggttcctctg cacaggaggg gtggatccct 2460
atgtgaccc caacacatgc aaaggagatt ccgggggccc tctcattgtt cacaagagaa 2520

gccgcttcat tcaagttggt gtgattagct ggggagtagt agatgtctgc agagaccaga 2580
ggcggcaaca gctggtagcc tcttatgccc gggacttcca catcaacctc ttccaggtgc 2640
tgccctggct aaaggacaag ctcaaagatg aggatttggg ttttctataa agagcttcct 2700
gcagggagag tgtgaggaca gattaaagca gttacaataa caaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2760
aaa 2763

<210> 4
<211> 2573
<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 4

cagcaggggc ctccttcat gaatgttccg ggaagcagcg tctgtgcagg gtaggttggc	60
caggctgcag gtgccagagc agattgcata aaaggttagg ggccggtggg aaaggggtgt	120
agccagatcc agcactggag tttcagtctg gacagcaagt caagtagcca cccagagtga	180
actggaaagg gcttttggcc acgggctttc catgacaatg gagggcccc agctctgctt	240
agtcctcttg gtcttaggcc tctcctccgg aggtgtgagc gcaactccag tgcttgaggc	300
ccggccccag gtctcttgct ctctggaggg agtagagatc aaaggcggct ccttccaact	360
tctccaagac ggicaggccc tggagtacct gtgtccctct ggcttctacc cataacctgt	420
gcagactcga acctgcaaat ccacaggctc ctggagtgtc ctccagacct gggacaaaa	480
gattgtcaag aaggcagaat gcagagcaat acgtgccca cgaccacagg actttgaaaa	540
tggggagttc tggccccgt cccctactia caacctgagt gatcagattt cttttcaatg	600
ctatgatggc tacactctcc ggggctctgc taatcgacc tgccaagaga atggccggtg	660
ggatgggcaa acagcaatct gtgatgatgg agcgggatac tgtcccaacc cgggtattcc	720
tattgggaca aggaaggtag gaagccagta ccgtcttgaa gacactgtca cttaccactg	780
tagtcgggga cttgtcttac gtggctccca gcagcgaagg tgccaggaag gtggctcgtg	840
gagtgggaca gacccctct gccaaagatt cttcatgtac gacagccctc aagaggtggc	900
cgaagcattt ctatctccc tgacagagac catcgaagga gcagatgcgg aggatgggca	960
cagcccaggg gaacagcaga agaggaagat tatcctggac ccctcgggct ccatgaatat	1020
ctacatgggt ctggatggat ccgacagcat cggggccagc aacttcacag gggccaagcg	1080
gtgtctgcc aacttgattg agaaggtggc gatttatggg gtgaagcaa gatacgtct	1140
agtgacatat gccacagtcc ccaaagtctt ggtcagagtg tctgaggaga ggagtagtga	1200
tgccgactgg gtcacagaga agctcaacca aatcagttat gaagaccaca agctgaagtc	1260
agggaccaac accaagaagg ctctccaggc tgtatacagc atgatgagct ggccagggga	1320
tgctccgct gaaggctgga atcgaaccg ccacgtcatc atcatcatga ctgatggctt	1380
gcacaacatg ggtggagacc ctgtcactgt cattgaggac atccgagact tgctggatat	1440
tggcagggat cgaaaaatc cccgggagga ttatttggat gtgtatgtgt ttggggtcgg	1500
gcctctgggt gaccctgtga acatcaatgc cttggcttcc aaaaagaaca atgagcagca	1560
tgtgttcaag gtcaaggaca tggaggatct ggagaacgtc ttctacaaaa tgatcgatga	1620
aacaaaatct ctgggtctct gtggcatggt gtgggagcat cagaaaggcg gtgattatta	1680

caagcaacca tggcaagcca agatctcagt cactcgtcct ctgaaaggac atgagaactg	1740
tatgggggcc gtggtgtccg agtacttcgt gctgacagca gcgcattgct tcacagtgga	1800
agatcagaaa cactccatca aggtcaacgt ggaggggaaa aggcgggacc tggagattga	1860
agaggtcctg ttccacccta attacgacat caatgggaaa aaggcagaag gaatctctga	1920
gttctatgac tatgatgttg cctcatcaaa gctcaagacc aagctgaagt acagccagac	1980
tctcaggccc atctgtctcc cctgcacaga gggaaccacc cgagccttgc ggcttcctca	2040
gacagccacc tgcaaacagc acaaggaaga gttgctccct atgaaggacg tcaaagctct	2100
gtttgtatcc gaggaaggga agaagctgac ccggaaggag gtgtacatca agaatgggga	2160
aaagaaagcc agttgtgaga gagatgctac aaaggcccaa ggctatgaga aggtcaaagt	2220
tgctctgag gtggtcacc cccagttcct gtgcaccgga ggggtagatc cctatgctga	2280
ccccaacaca tgcaaaggag actccggggg cctctcatt gttcacaaga gaagccgctt	2340
cattcaagtt ggtgtgatca gctggggagt agtggatgtc tgcaaagacc cgaggcggca	2400
acagttggtg cctcctatg cccgggactt ccacatcaat ctcttcagg tgctgccctg	2460
gctaaaggag aagctcaaag acgaggactt gggtttctta taaggagctt cctgctggga	2520
gggtgagggc agattaaagc agctacaata caaatacaaa aaaaaaaaaa aaa	2573
<210> 5	
<211> 2334	
<212> DNA	
<213> Pan troglodytes	
<400> 5	
cccagccca gcttctctcc tgccttccaa cgccatgggg agcaatctca gcccccaact	60
ctgcctgatg ccttcatct tgggcctctt gtctggaggt gtgaccacca ctccatggcc	120
tttgcccgag cccaggaat cctgctctct ggagggggta gagatcaaag gcggctcctt	180
ccgacttctc caagagggcc aggcactgga gtacgtgtgt ccttctggct tctaccgta	240
ccctgtgcag acacgtacct gcagatctac ggggtcctgg agcacctga agactcaagt	300
ccaaaagact gtcaggaagg cagagtgcag agcaatccac tgtccaagac cacacgactt	360
cgagaacggg gaatactggc cccggtctcc ctactacaat gtgagtgatg agatctcttt	420
ccactgctat gacggttaca ctctccgggg ctctgccaat cgcacctgcc aagtgaatgg	480
ccggtggagt gggcagacag cgatctgtga caacggagcg gggtactgct ccaaccggg	540
catccccatt ggcacaagga aggtgggcag ccagtaccgc cttgaagaca gcgtcaccta	600
ccactgcagc cgggggctta ccctgcgtgg ctcccagcgg cgaacgtgtc aggaaggtgg	660

ctcttggagc gggacggagc cttcttgcca agactccttc atgtacgaca cccctcaaga 720
 ggtggccgaa gctttcctgt cttccctgac agagaccata gaaggagtcg atgctgagga 780

tgggcacggc ccaggggaac aacagaagcg gaagatcgtc ctggaccctt caggctccat 840
 gaacatctac ctggtgctag atggatcaga cagcattggg gccagcaact tcacaggagc 900
 caaaaagtgt ctagtcaact taattgagaa ggtggcaagt tatggtgtga agccaagata 960
 tgggtctagt acatatgcca cacaccccaa aatttgggtc aaagtgtctg atccagacag 1020
 cagtaatgca gactgggtca cgaagcagct caatgaaatc aattatgaag accacaagtt 1080
 gaagtcaggg actaacacca agaaggccct ccaggcagtg tacagcatga tgagctggcc 1140
 agatgacatc cctcctgaag gctggaaccg caccgccat gtcacatcc tcatgactga 1200

tggattgcac aacatgggcg gggacccaat tactgtcatt gatgagatcc gggacttgct 1260
 atacattggc aaggatcgca aaaacccaag ggaggattat ctggatgtct atgtgtttgg 1320
 ggtcgggcct ttggtgaacc aagtgaacat caatgctttg gcttccaaga aagacaatga 1380
 gcaacatgtg ttcaaagtcaggatattgga aaacctggaa gatgttttct accaaatgat 1440
 tgatgaaagc cagtctctga gtctctgtgg catggttttg gaacacagga aggttaccga 1500
 ttaccacaag caacatggc aagccaagat ctgagtcatt cgcccttcaa agggacacga 1560
 gagctgtatg ggggctgtgg tgtctgagta ctttgtctg acagcagcac actgtttcac 1620

tgtggatgac aaggaacact caatcaaggt cagcgtagga ggggagaagc gggacctgga 1680
 gatagaagta gtctatttc accccaacta caacattaat gggaaaaaag cagcaggaat 1740
 tcctgaattt tatgactatg acgttgccct gatcaagctc aagaataagc tgaaatatgg 1800
 ccagactatc aggcccatct gtctccctg caccgaggga acaactcgag ctttgaggct 1860
 tcctccaact accacttgcc agcaacaaaa ggaagagctg ctccctgcac aggatatcaa 1920
 agctctgttt gtgtctgagg aggagaaaaa gctgactcgg aaggaggtct acatcaagaa 1980
 tggggataag aaaggcagct gtgagagaga tgctcaatat gcccaggct atgacaaagt 2040

caaggacatc tcagaggtagg tcacccctcg gtctcttctg actggaggag tgagtccta 2100
 tgctgacccc aatacttgca gaggtagctt tggcgcccc ttgatagttc acaaaagaag 2160
 tcgtttcatt caagttggtg taatcagctg gggagtagtg gatgtctgca aaaaccagaa 2220
 gcggcaaaag caggtagctg ctcacgccc agactttcac atcaacctct ttcaagtgt 2280
 gccctggctg aaggagaaac tccaagatga ggatttgggt tttctataag ggg 2334

<210> 6

<211> 5101

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 6

cactcctccc catcctctcc ctctgtccct ctgtccctct gaccctgcac tgtcccagca	60
ccatgggacc cacctcaggt cccagcctgc tgctcctgct actaaccac ctccccctgg	120
ctctggggag tcccatgtac tctatcatca cccccaacat cttgcggctg gagagcgagg	180
agaccatggt gctggaggcc cagcagcgc aaggggatgt tccagtcact gttactgtcc	240
acgacttccc aggcaaaaaa ctagtgtgtg ccagtgagaa gactgtgtg acccctgcc	300
ccaaccacat gggcaacgtc accttcacga tcccagccaa cagggagtgc aagtcagaaa	360
aggggcgcaa caagtctgt accgtgcagg ccaccttcgg gaccaagtg gtggagaagg	420
tgggtgtgtg cagcctgcag agcgggtacc tcttcatcca gacagacaag accatctaca	480
ccccctggctc cacagttctc tatcggatct tcaccgtcaa ccacaagctg ctaccctgg	540
gccggacggt catggtcaac attgagaacc cggaaggcat cccggtcaag caggactcct	600
tgtcttctca gaaccagctt ggcgtcttgc ccttgtcttg ggacattccg gaactcgtca	660
acatgggcca gtggaagatc cgagcctact atgaaaactc accacagcag gtcttctcca	720
ctgagtttga ggtgaaggag tacgtgtgtc ccagtttcga ggtcatagt gagcctacag	780
agaaattcta ctacatctat aacgagaagg gcctggaggt caccatcacc gccaggttcc	840
tctacgggaa gaaagtggag ggaactgcct ttgtcatctt cgggatccag gatggcgaac	900
agaggatttc cctgcctgaa tccctcaagc gcattccgat tgaggatggc tcgggggagg	960
ttgtgtctgag ccggaaggta ctgtcggacg ggggtgcagaa cccccgagca gaagacctgg	1020
tggggaagtc ttgtacgtg tctgccaccg tcatcttgca ctcaggcagt gacatggtgc	1080
aggcagagcg cagcgggatc cccatcgtga cctctcccta ccagatccac ttcaccaaga	1140
caccaagta cttcaaacca ggaatgcct ttgacctcat ggtgttcgt acgaacctg	1200
atggctctcc agcctaccga gtccccgtgg cagtccaggc cgaggacact gtgcagtctc	1260
taaccagggg agatggcgtg gccaaactca gcatcaacac acaccacagc cagaagccct	1320
tgagcatcac ggtgcgcacg aagaagcagg agctctcgga ggcagagcag gctaccagga	1380
ccatgcagge tctgccctac agcacctgg gcaactccaa caattacctg catctctcag	1440
tgctactgac agagctcaga cccggggaga cctcaacgt caacttctc ctgcgaatgg	1500
accgcgcccc cgaggccaag atccgctact acacctacct gatcatgaac aagggcaggc	1560
tgttgaaggc gggacgccag gtgcgagagc ccggccagga cctggtggtg ctgccctgt	1620
ccatcaccac cgacttcac ctttcttcc gcttggtggc gtaactacag ctgatcggtg	1680

ccagcgccca gagggaggtg gtggccgact ccgtgtgggt ggacgtcaag gactcctgcg 1740

tgggctcgct ggttgtaaaa agcgccagc cagaagaccg gcagcctgta cctgggcagc 1800

agatgaccct gaagatagag ggtgaccacg gggcccgggt ggtactggtg gccgtggaca 1860

agggcgtgtt cgtgctgaat aagaagaaca aactgacgca gagtaagatc tgggacgtgg 1920

tggagaaggc agacatcgcc tgcaccccg gcagtgggaa ggattacgcc ggtgtcttct 1980

ccgacgcagg gctgacctc acgagcagca gtggccagca gaccgccagc agggcagaac 2040

ttcagtgcc gcagccagcc gcccgcgac gccgttccgt gcagctcacg gagaagcgaa 2100

tggacaaagt cggcaagtac cccaaggagc tgcgcaagtg ctgcgaggac ggcatgcggg 2160

agaaccccat gaggttctcg tgccagcgcc ggacccgttt catctccctg ggcgaggcgt 2220

gcaagaaggt cttcctggac tgctgcaact acatcacaga gctgcggcgg cagcacgcgc 2280

gggccagcca cctgggcctg gccaggagta acctggatga ggacatcatt gcagaagaga 2340

acatcgtttc ccgaagttag tcccagaga gctggctgtg gaacgttag gacttgaaag 2400

agccaccgaa aaatggaatc tctacgaagc tcatgaatat attttgaaa gactccatca 2460

ccacgtggga gattctggct gtgagcatgt cggacaagaa agggatctgt gtggcagacc 2520

ccttcgaggt cacagtaatg caggacttct tcatcgacct gcggctacct tactctgttg 2580

ttcgaaacga gcaggtggaa atccgagccg ttctctacaa ttaccggcag aaccaagagc 2640

tcaaggttag ggtggaacta ctccacaatc cagccttctg cagcctggcc accaccaaga 2700

ggcgtcacca gcagaccgta accatcccc ccaagtctc gttgtccgtt ccatatgtca 2760

tcgtgccgt aaagaccggc ctgcaggaag tggaagtcaa ggctgctgtc taccatcatt 2820

tcatcagtga cgggtgcagg aagtcctga aggtcgtgcc ggaaggaatc agaatgaaca 2880

aaactgtggc tgttcgacc ctggatccag aacgcctggg ccgtgaagga gtgcagaaag 2940

aggacatccc acctgcagac ctgagtacc aagtcccga caccgagtct gagaccagaa 3000

ttctcctgca agggacccca gtggcccaga tgacagagga tgccgtcgac gcggaacggc 3060

tgaagacct cattgtgacc ccctcgggct gcggggaaca gaacatgatc ggcatgacgc 3120

ccacggtcat cgctgtgcat tacciggtatg aaacggagca gtgggagaag ttcggcctag 3180

agaagcggca gggggccttg gagctcatca agaaggggta caccagcag ctggccttca 3240

gacaaccag ctctgccttt cgggccttcg tgaaacgggc acccagcacc tggctgaccg 3300

cctacgtggt caaggtcttc tctctggctg tcaacctcat cgccatcgac tcccaagtcc 3360

tctgcggggc tgtaaatgg ctgatcctgg agaagcagaa gcccgcggg gtcttccagg 3420

aggatgcgcc cgtgatacac caagaaatga ttggtggatt acggaacaac aacgagaaag 3480
 acatggccct cagggccttt gttctcatct cgctgcagga ggctaaagat atttgcgagg 3540
 agcaggtcaa cagcctgccca ggcagcatca ctaaagcagg agacttcctt gaagccaact 3600
 acatgaacct acagagatcc tacactgttg ccattgctgg ctatgctctg gcccagatgg 3660
 gcaggtgaa ggggcctctt cttacaaat ttctgaccac agccaaagat aagaaccgct 3720
 gggaggaccc tggtaagcag ctctacaacg tggaggccac atcctatgcc ctcttgcccc 3780
 tactgcagct aaaagacttt gactttgtgc ctcccgtcgt gcgttggctc aatgaacaga 3840

gatactacgg tggtagctat ggctctaccc aggccacctt catggtgttc caagccttgg 3900
 ctcaatacca aaaggacgcc cctgaccacc aggaactgaa ccttgatgtg tccctccaac 3960
 tgcccagccg cagctccaag atcaccacc gtatccactg ggaatctgcc agcctcctgc 4020
 gatcagaaga gaccaaggaa aatgaggggt tcacagtcac agctgaagga aaaggccaag 4080
 gcacctgtgc ggtggtgaca atgtaccatg ctaaggccaa agatcaactc acctgtaata 4140
 aattcgacct caaggtcacc ataaaaccag caccggaac agaaaagagg cctcaggatg 4200
 ccaagaacac tatgatcctt gagatctgta ccaggtaccg gggagaccag gatgccacta 4260

tgtctatatt ggacatatcc atgatgactg gctttgctcc agacacagat gacctgaagc 4320
 agctggccaa tgggtgtgac agatacatct ccaagtatga gctggacaaa gccttctccg 4380
 ataggaacac cctcatcacc tacctggaca aggtctcaca ctctgaggat gactgtctag 4440
 ctttcaaagt tcaccaatac tttaatgtag agcttatcca gcctggagca gtcaaggtct 4500
 acgcctatta caacctggag gaaagctgta cccggttcta ccatccgaa aaggaggatg 4560
 gaaagctgaa caagctctgc cgtgatgaac tgtgccgtg tgctgaggag aattgcttca 4620
 tacaaaagtc ggatgacaag gtcaccctgg aagaacggct ggacaaggcc tgtgagccag 4680

gagtggacta tgtgtacaag acccgactgg tcaaggttca gctgtccaat gactttgacg 4740
 agtacatcat ggccattgag cagaccatca agtcaggctc ggatgagtg caggttggac 4800
 agcagcgcac gttcatcagc cccatcaagt gcagagaagc cctgaagctg gaggagaaga 4860
 aacactacct catgtggggt ctctctctcg atttctgggg agagaagccc aacctcagct 4920
 acatcatcgg gaaggacact tgggtggagc actggcccga ggaggacgaa tgccaagacg 4980
 aagagaacca gaaacaatgc caggacctcg gcgccttcac cgagagcatg gttgtctttg 5040
 ggtgccccaa ctgaccacac ccccatcccc cactccaga taaagcttca gttatatctc 5100

a 5101

<210> 7

<211> 5147

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 7

agagaggaga gccatataaa gagccagcgg ctacagcccc agctcgccctc tgcccacccc	60
tgccccttac ccttcattc cttccacctt ttcccttcac tatgggacca gcttcagggt	120
cccagctact agtgctactg ctgctgttgg ccagctcccc attagctctg gggatcccca	180
tgtattccat cattactccc aatgtcctac ggctggagag cgaagagacc atcgtactgg	240
aggcccacga tgctcagggt gacatcccag tcacagtcac tgtgcaagac ttcctaaaga	300
ggcaagtgct gaccagttag aagacagtgt tgacaggagc cagtggacat ctgagaagcg	360
tctccatcaa gattccagcc agtaaggaat tcaactcaga taaggagggg cacaagtacg	420
tgacagtggg ggcaaaactc ggggaaacgg tggtaggagaa agcagtgatg gtaagcttcc	480
agagtgggta cctcttcac cagacagaca agaccatcta caccctggc tccactgtct	540
tatatcggat cttcactgtg gacaacaacc tactgcccggt gggcaagaca gtcgtcatcc	600
tcattgagac ccccgatggc attcctgtca agagagacat tctgtcttcc aacaaccaac	660
acggcatctt gcctttgtct tggaacattc ctgaactgggt caacatgggg cagtgaaga	720
tccgagcctt ttacgaacat gcgccgaagc agatcttctc cgcagagttt gaggtgaagg	780
aatactgctt gccagtttt gaggtccggg tggagccac agagacattt tattacatcg	840
atgacccaaa tggcctggaa gtttccatca tagccaagtt cctgtacggg aaaaacgtgg	900
acgggacagc cttcgtgatt tttgggttcc aggatggcga taagaagatt tctctggccc	960
actccctcac gcgcgtagt attgaggatg gtgtggggga tgcagtgtg acccggaagg	1020
tgctgatgga gggggtacgg ccttccaacg ccgacgcctt ggtggggaag tcctgtatg	1080
tctccgtcac tgtcatcctg cactcaggta gtgacatgg agaggcagag cgcagtggga	1140
tcccattgtt cacttccccg taccagatcc acttcacaa gacacccaaa ttcttcaagc	1200
cagccatgcc ctttgacctc atgggtgtcg tgaccaaccc cgtatgctct ccggccagca	1260
aagtgtggtt ggtcactcag ggatctaatg caaaggtctt cacccaagat gatggcgtgg	1320
ccaagctaag catcaacaca cccaacagcc gccaacccct gaccatcaca gtccgcacca	1380
agaaggacac tctcccagaa tcacggcagg ccaccaagac aatggaggcc catccctaca	1440
gcactatgca caactccaac aactacctac acttgtcagt gtcacgaatg gagctcaagc	1500
cgggggacaa cctcaatgtc aacttcacc tgcgcacaga cccaggccat gaggccaaga	1560
tccgatacta cacctacctg gttatgaaca aggggaagct cctgaaggca ggccgccagg	1620
ttcgggagcc tggccaggac ctgggtgtct tgtccctgcc catcactcca gagttttattc	1680

cttcatttcg cctgggtggct tactacaccc tgattggagc tagtggccag agggaggtgg	1740
tggctgactc tgtgtgggtg gatgtgaagg attcctgtat tggcacgctg gtggtgaagg	1800
gtgacccaag agataacat ctcgcacctg ggcaacaaac gacactcagg attgaaggaa	1860
accagggggc ccgagtgggg ctagtggctg tggacaaggg agtgtttgtg ctgaacaaga	1920
agaacaaact cacacagagc aagatctggg atgtggtaga gaaggcagac attggctgca	1980
ccccaggcag tgggaagaac tatgctgggtg tcttcatgga tgcaggcctg gccttcaaga	2040
caagccaagg actgcagact gaacagagag cagatcttga gtgcaccaag ccagcagccc	2100
gccgccgtcg ctgagtacag ttgatggaaa gaaggatgga caaagctggt cagtacactg	2160
acaagggtct tcggaagtgt tgtgaggatg gtatgcggga tatccctatg agatacagct	2220
gccagcgccg ggcacgcctc atcaccaggg gcgagaactg cataaaggcc ttcatagact	2280
gtgcaacca catcaccaag ctgcgtgaac aacacagaag agaccacgtg ctgggcctgg	2340
ccaggagtga attggaggaa gacataattc cagaagaaga tattatctct agaagccact	2400
tcccacagag ctggttgtgg accatagaag agttgaaaga accagagaaa aatggaatct	2460
ctacgaaggt catgaacatc tttctcaaag attccatcac cacctgggag attctggcag	2520
tgagcttgtc agacaagaaa gggatctgtg tggcagaccc ctatgagatc agagtgatgc	2580
aggacttctt cattgacctg cggtgcctt actctgtagt gcgcaacgaa caggtggaga	2640
tcagagctgt gctcttcaac taccgtgaac aggaggaact taagtgagg gtggaactgt	2700
tgcataatcc agccttctcg agcatggcca ccgccaagaa tcgctacttc cagaccatca	2760
aaatccctcc caagtctcg gtggctgtac cgtatgtcat tgtccccttg aagatcggcc	2820
aacaagaggt ggaggtcaag gctgctgtct tcaatcactt catcagtgat ggtgtcaaga	2880
agacactgaa ggtcgtgcc aaggaatga gaatcaacaa aactgtggcc atccatacac	2940
tggaccaga gaagctcgt caagggggag tgcagaaggt ggatgtgcct gccgcagacc	3000
ttagcgacca agtgccagac acagactctg agaccagaat tatcctgcaa gggagcccgg	3060
tggttcagat ggctgaagat gctgtggacg gggagcggct gaaacacctg atcgtgaccc	3120
ccgcaggctg tggggaacag aacatgattg gcatgacacc aacagtcatt gcggtacact	3180
acctggacca gaccgaacag tgggagaagi tcggcataga gaagaggcaa gaggccctgg	3240
agctcatcaa gaaagggtag acccagcagc tggccttcaa acagcccagc tctgcctatg	3300
ctgccttcaa caaccggccc ccagcacct ggctgacagc ctacgtggtc aaggtcttct	3360
ctctagctgc caacctcacc gccatcgact ctacgtcct gtgtggggct gttaaatggt	3420
tgattctgga gaaacagaag cgggatgggtg tctttcagga ggatgggccc gtgattcacc	3480
aagaaatgat tgggtggctc cggaacgcca aggaggcaga tgtgtcactc acagccttcg	3540

tctctatcgc actgcaggaa gccagggaca tctgtgaggg gcaggtcaat agccttcctg 3600
 ggagcatcaa caaggcaggg gagtatatg aagccagtta catgaacctg cagagacat 3660

 acacagtggc cattgctggg tatgccctgg cctgatgaa caaactggag gaaccttacc 3720
 tcggcaagtt tctgaacaca gccaaagatc ggaaccgctg ggaggagcct gaccagcagc 3780
 tctacaacgt agaggccaca tctacgccc tcttgccct gctgctgctg aaagactttg 3840
 actctgtgcc cctgtagtg cgctggctca atgagcaaag atactacgga ggcggctatg 3900
 gctccacca ggctacctc atggtattcc aagccttggc ccaatatcaa acagatgtcc 3960
 ctgaccataa ggacttgaac atggatgtgt ccttcacct cccagccgt agctctgcaa 4020
 ccacgtttcg cctgctctgg gaaaatggca acctcctgcg atcggaagag accaagcaaa 4080

 atgaggcctt ctctctaaca gccaaaggaa aaggccgagg cacattgtcg gtggtggcag 4140
 tgtatcatgc caaactcaaa agcaaagtca cctgcaagaa gtttgacctc agggtcagca 4200
 taagaccagc cctgagaca gccaaagac cagaggaagc caagaatacc atgttccttg 4260
 aaatctgcac caagtacttg ggagatgtgg acgccactat gtccatcctg gacatctcca 4320
 tgatgactgg ctttctcca gacacaaagg acctggaact gctggcctct ggagtagata 4380
 gatacatctc caagtacgag atgaacaaag ctttctcca caagaacacc ctcatcatct 4440
 acctagaaaa gatttcacac accgaagaag actgcctgac cttcaaagtt caccagtact 4500

 ttaatgtggg acttatccag cccgggtcgg tcaaggctca ctctattac aacctcgagg 4560
 aatcatgcac cgggttctat catccagaga aggacgatgg gatgctcagc aagctgtgcc 4620
 acagtgaat gtcccggtgt gctgaagaga actgcttcat gcaacagtca caggagaaga 4680
 tcaacctgaa tgcgggcta gacaaggctt gtgagcccg agtcgactat gtgtacaaga 4740
 ccgagctaac caacatagag ctgttgatg attttgatga gtacacatg accatccagc 4800
 aggtcatcaa gtcaggetca gatgaggtgc aggcagggca gcaacgcaag ttcacagcc 4860
 acatcaagtg cagaaacgcc ctgaagctgc agaaaggga gaaglacctc atgtggggcc 4920

 tctcctctga cctctgggga gaaaagccca acaccagcta catcattggg aaggacagt 4980
 ggggtggagca ctggcctgag gcagaagaat gccaggatca gaagtagcag aaacagtgcg 5040
 aagaacttgg ggcattcaca gaatctatgg tggtttatgg ttgtcccaac tgactacagc 5100
 ccagcctct aataaagctt cagttgtatt tcaaaaaaaaa aaaaaaa 5147

<210> 8

<211> 5091

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 8

ctaccctta cccctcactc cttccacctt tgccttttac catgggaccc acgtcagggt	60
cccagctact agtgctactg ctgctgttgg ccagctccct gctagctctg gggagcccca	120
tgtaactccat cattactccc aatgtcctgc ggctggagag tgaagagact ttcatactag	180
aggcccatga tgctcagggt gatgtcccag tcaactgtcac tgtgcaagac ttcctaaaga	240
agcaagtgtc gaccagttag aagacagtgt tgacaggagc cactggacat ctgaacaggg	300
tctccatcaa gattccagcc agtaaggaat tcaatgcaga taaggggcac aagtacgtga	360
cagtgtgtgc aaacttcggg gcaacagtgg tggagaaagc ggtgctagta agctttcaga	420
gtggttacct cttcatccag acagacaaga ccacttacac cccaggtcc actgttttct	480
atcggatctt cactgtggac aacaacctat tgcctgtggg caagacagtc gtcacgtca	540
ttgagacccc ggacggcgtt cccatcaaga gagacattct atcttccac aaccaatatg	600
gcatcttgcc ttgtcttgg aacattccag aactggtaaa catggggcag tggaagatcc	660
gagccttcta tgaacatgca ccaaagcaga ctttctctgc agagtttgag gtgaaggaat	720
acgtgtgtcc cagtttcgaa gtcctgggtgg agcctacaga gaaatttat tacatcgatg	780
acccaaaggg cctggaagtt tccatcacag ccagattcct gtatgggaag aacgtggacg	840
ggacagcttt cgtgatcttt ggggtccagg atgaggataa gaagatttct ctggcccagt	900
ccctcacccg cgtgctgac gaggatggtt caggggaggc agtgctcagc cgaaaagtgc	960
tgatggacgg ggtacggccc tccagcccag aagccctagt ggggaagtcc ctgtacgtct	1020
ctgtcactgt tatcctgcac tcaggtagcg acatggtaga ggacagagcg agtgggatcc	1080
caattgtcac ttccccgtac cagatccact tcaccaagac acccaaattc ttcaagccag	1140
ccatgccttt cgacctcatg gtgtttgtga ccaacctga tggctctcca gcccgcagag	1200
tgccagtagt cactcaggga tccgacgagc aggcctctac ccaggatgat ggtgtggcca	1260
agctgagcgt caacacaccc aacaaccgcc aaccctgac tatcacggtc cgcaccaaga	1320
aggagggtat cccggacgag cggcaggcca ccaggacgat gcaggcccag ccctacagca	1380
ctatgcacaa ttccaacaac taccigcact tgcagtgtc tcgggtggag ctcaagcctg	1440
gggacaacct caatgtcaac ttccacctgc gcacggacgc tggccaagag gccaagatcc	1500
gatactacac ctatctggtt atgaacaagg ggaagtact gaaggcaggc cgtcaggttc	1560
gggagcctgg ccaggacctg gtggtcttgt cactgcccac cactccagaa ttatacctt	1620
ccttccgctt ggtggcttac tacaccctga ttggagctaa tggccaaagg gaggtggtgg	1680
ccgactcagt gtgggtggat gtgaaggact cctgtgtagg cacgtggtg gtgaaaggtg	1740

acccaagaga taaccgacag cccgcgcctg ggcatcaaac gacactaagg atcgagggga	1800
accagggggc ccgagtgggg ctagtggctg tggacaaggg ggtgtttgtg ctgaacaaga	1860
agaacaaact cacacagagc aagatctggg atgtagtaga gaaggcagac attggctgca	1920
ccccaggcag tgggaagaac tatgcgggtg tcttcatgga tgctggcctg accttcaaga	1980
caaaccaagg cctgcagact gatcagagag aagatcctga gtgcgccaag ccagctgccc	2040
gccgccgtcg ctcagtgcag ttgatggaaa ggaggatgga caaagctggt cagtacaccg	2100
acaaggtctt gcggaagltg tgtgaggatg gcatgcgtga tatccctatg aagtacagct	2160
gccagcgccg ggctcgctc atcaccagg gcgagagctg cctgaaggcc ttcattggact	2220
gctgcaacta tatcaccaag ctctgtgagc agcacagaag agacatgtg ctgggcctgg	2280
ccaggagtga tgtggatgaa gacataatcc cagaagaaga tattatctct agaagccact	2340
tcccagagag ctggtttgtg accatagaag agttgaaaga accagagaaa aatggaatct	2400
ctacgaaggt catgaacatc tttctcaaag attccatcac cacctgggag attctggcag	2460
tgagcttgtc cgacaagaaa gggatctgtg tggcagacct ctatgagatc acagtgatgc	2520
aggacttctt cattgacctg cgactgcctt actctgtggt gcgcaatgaa caggtggaga	2580
tcagagctgt gctcttcaat taccgtgaac aggagaaact taaggtaagg gtggaactgt	2640
tgcataaacc agccttctgc agcatggcca ctgccaagaa gcggtactac cagaccatcg	2700
aatccctcc caagtctctt gtggctgtgc cttatgtcat tgtccccttg aagatcggcc	2760
tccaggaggt ggaggtcaag gccgccgtct tcaaccactt catcagtgat ggtgtcaaga	2820
agatactgaa ggtcgtgcca gaaggaatga gagtcaacaa aactgtggct gtccgtacac	2880
tggatccaga acacctcgtt caagggggag tgcagaggga ggatgtacct gcagcagacc	2940
tcagtgacca agtgccagac acagattctg agaccagaat tctcctgcaa gggaccccg	3000
tggtcagat ggccgaggac gctgtggacg gggagcggct gaaacacctg atcgtgacct	3060
cctctggctg tggggagcag aacatgattg gcatgacacc cacggtcatt gcagtacact	3120
atctggatca gaccgaacag tgggagaaat tcggcctaga gaagaggcaa gaagctctgg	3180
agctcatcaa gaaagggtac acccagcagc tggctttcaa acagcccagc tctgcctatg	3240
ctgccttcaa caaccggcct cccagcacct ggctgacagc ctatgtggtc aaggtcttct	3300
ctctggctgc caacctcatc gccatcgact ctcaggtcct gtgtggggct gtcaaatggc	3360
tgattctgga gaaacagaag ccagatgggt tctttcagga ggacggacca gtgattcacc	3420
aagaaatgat tgggtggctt cggaacacca aggaggcaga tgtgtcgctt acagcctttg	3480

tctcatcgc actgcaggaa gccagagata tctgtgaggg gcaggtcaac agccttcccg	3540
ggagcatcaa caaggcaggg gagtatcttg aagccagtta cctgaacctg cagagacat	3600
acacagtagc cattgctggg tatgccctgg cctgatgaa caaactggag gaaccttacc	3660
tcaccaagtt tcigaacaca gccaaagatc ggaaccgctg ggaggagcct ggccagcagc	3720
tctacaatgt ggaggccacc tctacgccc tctggccct gctgctgctg aaagactttg	3780
actctgtgcc tctgtggtg cgctggctca acgagcaaag ataactacga ggtggctatg	3840
gctccacgca ggctaccttc atggtattcc aagccttggc tcaataccaa acagatgtcc	3900
ctgaccacaa ggacttgaac atggatgtgt cctccacct cccagccgc agctcccaa	3960
ctgtgtttcg cctgctatgg gaaagtggca gtctcctgag atcagaagag accaagcaga	4020
atgagggttt ttctctgaca gccaaaggaa aaggccaagg cacactgtcg gtggtgacag	4080
tgtatcacgc caaagtcaaa ggcaaagcca cctgcaagaa gtttgacctc agggtcacca	4140
taaaaccagc cctgagaca gccaaagac cccaggatgc caagagttct atgatccttg	4200
acatctgcac caggtacttg ggagacgtgg atgctactat gtccatcctg gacatctcca	4260
tgatgactgg ctttattcca gacacaaacg acctggaact gctgagctct ggagtagaca	4320
gatacatttc caagtatgag atggacaaag ctttctccaa caagaacacc ctcacatct	4380
acctagaaaa gatctcacac tccgaagaag actgcctgtc cttcaaagtc caccagttct	4440
ttacgtggg acttatccag ccggggtcgg tcaaggctta ctctactac aatctagagg	4500
agtcatgcac ccggttctat catccggaga aggacgatgg aatgctgagc aagctgtgcc	4560
acaatgaaat gtgccgtgt gcagaggaga actgcttcat gcatcagtca caggatcagg	4620
tcagcctgaa tgaacgacta gacaaggcct gtgagcctgg agtggactac gtgtacaaga	4680
ccaagtaac gacgatagag ctgtcggatg attttgatga gtacatcatg accatcgagc	4740
aggtcatcaa gtcaggetca gatgaggtgc aggcaggtca ggaacgaagg ttcacagcc	4800
acgtcaagtg cagaaacgcc ctaaagctgc agaaaggga gcaglacctc atgtggggcc	4860
tctcctcga cctctgggga gaaaagccca ataccagcta catcattggg aaggacacgt	4920
gggtggagca ctggcccag gcagaggaat gtcaggatca gaagaaccag aaacagtgcg	4980
aagacctcgg ggcatcaca gaaacaatgg tggttttcgg ctgcccacac tgaccacaac	5040
ctccaataaa gcttcagttg tattttaccc atcaaaaaaa aaaaaaaaaa a	5091
<210> 9	
<211> 2693	
<212> DNA	
<213> Homo sapiens	

<400> 9

gcttggtccc tgcctctgg ccctttgcaa ataatgcct taccagacct gccctgccac	60
cccactcgca gccaccagc aagagcagca tgcagcctg ccggagcttt gcagttgcaa	120
tctgcatTTT agaaataagc atcctcacag cacagtacac gaccagttat gaccagagc	180
taacagaaag cagtggctct gcatcacaca tagactgcag aatgagcccc tggagtgaat	240
ggtcacaatg cgaTccttgt ctCagacaaa tgtttcgttc aagaagcatt gaggtctttg	300
gacaatttaa tgggaaaaga tgcaccgacg ctgtgggaga cagacgacag tgtgtgcca	360
cagagccctg ttaggatgct gaggatgact gcggaaatga ctttcaatgc agtacaggca	420
gatgcataaa gatgcgactt cgggtgaatg gtgacaatga ctgcggagac ttttcagatg	480
aggatgattg tgaagtgag ccccgTcccc cctgcagaga cagagtggta gaagagtctg	540
agctggcacg aacagcagcg tatgggatca acattttagg gatggatccc ctaagcacac	600
cttttgacaa tgagtTctac aatggactct gtaaccggga tcgggatgga aacactctga	660
catactaccg aagaccttgg aacgtggctt ctttgatcta tgaacacaaa ggcgagaaaa	720
atttcagaac cgaacattac gaagaacaaa ttgaagcatt taaaagtatc atccaagaga	780
agacatcaaa ttttaatgca gctatatctc taaaatttac acccactgaa acaaataaag	840
ctgaacaatg ttgtgaggaa acagcctcct caatttcttt acatggcaag gtagtTttc	900
ggttttcata ttccaaaaat gaaacttacc aactattttt gtcatattct tcaaagaagg	960
aaaaaatgtt tctgcatgtg aaaggagaaa ttcactctggg aagatttgta atgagaaatc	1020
gcgatgttgt gctcacaaca acttttgtgg atgatataaa agctttgcca actacctatg	1080
aaaagggaga atattttgcc tttttgaaa cctatggaac tctactacgt agctctgggt	1140
ctctaggagg actctatgaa ctaatatatg ttttgataa agcttccatg aagcggaag	1200
gtgttgaact aaaagacata aagagatgcc ttgggtatca tctggatgta tctctggctt	1260
tctctgaaat ctctgttga gctgaattta ataaagatga ttgtgtaaag aggggagagg	1320
gtagagctgt aaacatcacc agtgaaaacc tcatagatga tgtgttttca ctcataagag	1380
gtggaaccag aaaatatgca ttTgaactga aagaaaagct tctccgagga accgtgattg	1440
atgtgactga ctttgtcaac tgggcctctt ccataaatga tgctcctgtt ctcatTagtc	1500
aaaaactgtc tcctatatat aatctggTtc cagtgaaaat gaaaaatgca cacctaaaga	1560
aacaaaactt ggaaagagcc attgaagact atatcaatga atttagtgta agaaaatgcc	1620
acacatgcca aaatggaggt acagtgattc taatggatgg aaagtgtttg tgtgcctgcc	1680
cattcaaatt tgagggaatt gcctgtgaaa tcagtaaaca aaaaatttct gaaggattgc	1740
cagccctaga gtTccccaat gaaaaataga gctgttggct tctctgagct ccagtggaag	1800

aagaaaaacac tagtaccttc agatcctacc cctgaagata atcttagctg ccaagtaa	1860
agcaaatgc ttcatgaaaa tctaccaac ctctgaagtc tcttctctct taggtctata	1920
atTTTTTTTT aaTTTTTct tcttaaact cctgtgatgt ttccatTTTT tgttcctaa	1980
tgagaagtca acagtgaat acgccagaac tgcTTtatcc cacggaaaat gccaatctct	2040
tctaaaaaaa aacaaaatta aattaaaaac agaatgttgg tttaaaaaac ttcaaagtaa	2100
ttttcaaacg gctttgtatg gttaacatat tctgccaggt ccatgaccac acgtctgtac	2160
catgcaattt aactcttatt tacattgtta tgtttagttt ggTTatttgc ttaggtgtgc	2220
atacatcatt tcagcaaatg ctgagcacca gccacgtgca cagcagttgc ttttactagt	2280
cttagctcta cgatttaaat ccatgtgtcc aagggggaaa acatattata tttgtaacca	2340
aaaactacta gtttaccaga ggactgaagg gagataaaga ggagttggtt aatgggtaca	2400
aaaatccagt tagatgaag gaataatata gatagtgttc agtagcagaa tagaatgaac	2460
ataaactatt agtttaaat atgtgaaatt ccttctattt gatcatattt tacaagaaaa	2520
aacatcaatt ttatatagtc caacttaata cctagcctta tgagttgtat aaggtaaggt	2580
tacctacctg agaagctgat taacattggt tgtacaatct tattcattag agaacatggt	2640
gcttagggtc tgagaccttt tgaaaggtct gagaactctt taaaaaaagg aaa	2693
<210> 10	
<211> 1767	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 10	
actgccctt gtctccgc tgcaaaggaa tgctttgcaa gcctccagg ctccccagga	60
ggagcagcat ggcctcaggc atggccatca ccttagccct tgccatctt gccttgggtg	120
tcaatgcaca gatgccaata cccgtttcca gagaagaaca agaacaacac tatccatac	180
cgatagactg cagaatgagc ccatggagca attggtcaga gtgtgacct tgcctcaa	240
aaaggtttcg ctcaagaagc attttagcct tcggacagtt taatgggaaa agctgtgtt	300
atgttttggg agacagacaa ggctgtgaac ccaccagga gtgtgaagag atacaggaaa	360
actgtggaaa tgactttcag tgtgagacag gcaggtgcat aaagaggaga cttctgtgta	420
atggtgacaa cgactgtgga gattattctg atgagaatga ctgtgacgat gaccacgca	480
ccccatgccg tgaccgagta gcggaagaat cagagctggg actaacagca ggctatggga	540
tcaacatctt agggatggag cccctgagaa caccttttga caatgagttc tacaacggac	600
tctgtgaccg ggtacgagac gaaaagacat actatcgcaa accttgaat gtagtttctc	660

tgatctatga aaccaaggct gataaaagt tcaagaactga gaactatgac gaacacttgg 720
aagtattcaa agccatcaac cgagagaaga cctcgaat ttaatgcagat tttgccctaa 780
aat tttcagc caccgaagta cctgaaaagg gagctgggga agtctcccca gcagaacact 840
cttcaaaacc tacaacatt tcagctaaat ttaaat tttc atatttcatt ggaaaaaatt 900
ttcgaagact atcatcttat ttttcgcagt cgaaaaagat gtttgtgcac ttgagaggag 960
tggtccaact ggggagattt gtaatgagga atcgggatgt tgtgctgagg tcaactttcc 1020

tggatgatgt aaaagctcta ccaacttctt atgaaaaggg agaata tttt ggatttttgg 1080
aaacctatgg gactcactac agtacctctg ggtccctggg aggacaatat gaaattgtct 1140
atgtcttggg taaagcttcc atgaaagaga aagggtgtga cctgaatgat gtaaaacatt 1200
gtcttggatt taatatggat ttacgtattc ctctacaaga cgacttaag gatgcatcag 1260
tcacagcaag tgtaaatgcg gatggttgca taaagacaga taatgggaaa actgtaacaa 1320
tcacccgcga taacatcata gatgatgtca tttcattcat aagaggaggg actagggagc 1380
aagcaattct cctgaaagag aagattctca gaggagacaa gacatttgat aagactgact 1440

tcgccaactg ggctctgtcc ctggcaaacg ctccagctct catcagtcaa agaattgtccc 1500
ctatatataa tctcatttct ttgaaaataa aagatgcata cataaagaag caaaatttgg 1560
aaaaggctgt tgaagactat atagatgaat tcagtactaa aagggtgtac ccatgtctaa 1620
atggagggtac tataattctt ctggatgggc agtgcctgtg ctctgcccga atgatgttta 1680
ggggaatggc ctgcgaaatc catcaaaaaa tatagccttc aggaacacaa gcaaaccttg 1740
gttcacatgg aaggggggaaa aaaaaag 1767

<210> 11

<211> 2083

<212> DNA

<213> Rattus norvegicus

<400> 11

ggttgcaaag aaatgcttct caggactcca gggctgccta ggaggagcgg catggcctca 60
ggcgtgacca tcacctagc cattgcaatc tttgccttgg agatcaatgc acaggcccca 120
gagcccactc cccgggaaga gccatcagca gacgcctcc taccaataga ctgcagaatg 180
agcacatgga gtcagtggtc acagtgtgat ccttgcctca aacaaagggt tcgctcaaga 240
agcatggaag tctttggaca gtttcaggga aaaagctgtg ctgatgcttt gggagacaga 300
caacattgtg aaccctca gtagtgtgaa gaggtacagg aaaactgtgg gaatgacttt 360
cagtgtgaaa caggcaggtg cataaagagg aaacttctgt gtaatggtga caacgactgt 420

ggagattttt ctgatgagag tgactgtgaa agtgacccgc gcctcccggtg ccgtgaccgg 480
 gtggtagaag aatcggaact gggacgaaca gcaggatatg ggatcaacat cttagggatg 540
 gatcccttgg gcacgccttt tgacaatgag ttctacaatg gactctgtga ccgggtacgg 600
 gacggaaaca ctttgacata ctatcgcaaa ccttggaacg tagcatttct ggccatatgaa 660
 accaaggctg acaaaaattt cagaactgag aattatgaag aacagtttga aatgttcaaa 720
 accatcgtec gagacaggac cacgagtttt aatgctaatt tagctctaaa attcacaatc 780
 actgaagcac ctataaaaa agttggagtt gatgaagtca gcccgaaaa aaactcttca 840

 aagcctaaag actcttctgt tgattttcaa ttttcatatt tcaagaaaga aaattttcaa 900
 cgattgtcat cctacttgtc acagacgaaa aagatgtttc tgcacgtgag aggaatgatt 960
 caactgggga gatttgtcat gaggaatcgg ggcgttatgc tgacgacaac tttcctggat 1020
 gatgtaaagg ctttaccagt ttccatgaa aagggcgaat attttgggtt tttggagact 1080
 tatgggactc actacagtag ctctgggtcc ctgggagggc tctacgaact gatctatgtc 1140
 ttggataaag cttccatgaa agagaaaggt gttgaactca gcgacgtaaa gcggtgtctt 1200
 gggtttaacc tggatgtttc tctatatacg cctctacaaa ctgccttaga aggaccatca 1260

 ttgacagcca atgttaatca cagtgattgc ttaaagacag gggatggtaa agtagtaaac 1320
 atcagccgcg atcacatcat agatgatgtt atttcattca taagaggagg gaccaggaag 1380
 caagcagttc tctgaaaga gaagcttctc agaggagcca agacgattga tgtgaacgac 1440
 ttcataact gggcctcatc cttggatgac gctccagctc tcattagtca aaaactgtcc 1500
 cctatctata atctcattcc tttgacaatg aaagatgcat acgcaaagaa acagaatatg 1560
 gaaaaggcta ttgaagacta tgtaaatgaa ttcagtgtca gaaagtgtca cccatgtcaa 1620
 aacggaggca cagcaattct tctggatgga cagtgcattg gctcctgcac aatcaagttt 1680

 aaggggattg cctgcgaaat cagtaacaa agatagcctt caggaaacaa agcaaacct 1740
 ggttcacatg gaaggtggaa aaaaggacaa aaaaagaaga agagagagga gagagaagag 1800
 agagagaaaa gaaaaaaccc caggactttc caacttagca tctacccta gagcgaatcc 1860
 tcactgcaa gtagaaagca gcttgcttca tggaaatcct accaacctct gatgtcgtct 1920
 ctgtttcagg tctacagtgc ctttctcccc tctttaatgc ctataatgct tccatttttt 1980
 tttttatccc taatgaagaa tcggcagtga gatatgccag gactgccttt tcccacaggc 2040
 aatgccaatc tctcgctaatt aaaacagagt taaattaaaa aca 2083

<210> 12

<211> 2646

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 12

tttttttttt tttttttttt gttgtcgcag ctgttttaat tcaatccac gccctgtcc	60
agcaggaaac cccttataga aaacccaaat cctcatcttg gagtttctcc ttcagccagg	120
gcagcacttg aaagaggttg atgtgaaagt ctggggcgtg agcagggtacc tgcttttgcc	180
gcttctggtt tttgcagaca tccactactc cccagctgat tacaccaact tgaatgaaac	240
gacttctctt gtgaaciatc aaggggccgc cagaatcacc tctgcaagta ttggggtcag	300
catagggact cactcctcca gtacaaagga accgaggggt gaccacctct gagatgtcct	360
tgactttgtc atagcctggg gcatattgag catctctctc acagctgcct ttcttatccc	420
cattcttgat gtagacctcc ttccgagtca gctttttctc ctccctcagac acaaacagag	480
ctttgatatc ctgtgcaggg agcagctctt ccttttgttg ctggcaagtg gtagttggag	540
gaagcctcaa agctcgagtt gttccctcgg tgcaggggag acaaatgggc ctgatagtct	600
ggccatattt cagcttatcc ttgagcttga tcagggcaac gtcagtgtca taaaattcag	660
gaattcctgc ttcttttttc ccattaatgt ttagttggg gtgaaatagg actacttcta	720
tctccaggtc ccgtttctcc cctcctacgc tgaccttgat tgagtgttcc ttgtcatcca	780
cagtgaaca atgtgtgtct gtcagcacia agtactcaga caccacagcc cccatacagc	840
tctcgtgtcc ctttgaaggg cgaatgactg agatcttggc ctgccatggt tgcttgtggt	900
aatcgggtacc ctctctgtgt tcccaaacca tgccacagag actcagagac tggctttcat	960
cgatcatttg gtagaaaaca tcttcagggt ttcccatatc cttgactttg aacacatgtt	1020
gtcattgtgc ttctttggaa gccaaagcat tgatgttcac ttggttcacc aaaggcccga	1080
ccccaaacac atagacatcc agataatcct cccttgggtt ttgctgatcc ttgccaatgt	1140
atagcaagtc ccggatctca tcaatgacag taattgggtc cccgcccag ttgtgcaatc	1200
catcagtcac gaggatgatg acatggcggg tgcggttcca gccttcagga gggacgtcat	1260
ctggccagct catcatgtct tacactgcct ggagggcctt cttggtgtta gtcctgact	1320
tcaacttgtg gtcttcataa ttgatttcat tgagctgctt cgtgaccag tetgcattac	1380
tgctgtctgc ttcagacact ttgacccaaa ttttggggta tgtggcatat gtcactagac	1440
catatcttgg cttcacacca taacttgcca cttctcaat taagttagt agacactttt	1500
tggtcctgt gaagtgtctg gcccaatgc tgtctgatcc atctagcacc aggtagatgt	1560
tcatggagcc tgaagggtcc aggacgatct tccgttctg ttgttccct gggccgtgcc	1620
catcctcagc atcgactcct tctatggtct ctgtcaggga agacaggaaa gcttcggcca	1680
cctcttgagg ggtgtcgtac atgaaggagi cttggcagga aggtccgtc ccgtccaag	1740

agccaccttc ctgacacgtt cgccgctggg agccacgcag ggtaagcccc cggctgcagt 1800
 ggtaggtgac gctgtcttca aggcgggtact ggctgcccac cttcctttgtg ccaatgggga 1860
 tgcccgggtt ggagcagtac cccgctccgt tgtcacagat cgctgtctgc ccactccatc 1920
 ggccattcac ttggcagggtg cgattggcag agccccggag agtgtaacg tcatagcagt 1980
 ggaaagagat ctcatcactc acattgtagt agggagaccg gggccagtat tccccgttct 2040

cgaagtcgtg tggctttgga cagtggattg ctctgcactc tgccttcctg acagtctttt 2100
 ggtcttgagt cttcagggtg ctccaggacc ccgtagatct gcaggtacgt gtctgcacag 2160
 ggtacgggta gaagccagaa ggacacacgt actccagtgc ctggccctct tggagaagtc 2220
 ggaaggagcc gcctttgatc tctaccccct ccagagagca ggatccctgg ggccgggcca 2280
 aagaccatgg agtgggtggc acacctccag acaagaggcc caagataaag ggcatcaggc 2340
 agagtgggg gctgagattg ctccccatgg cgttgggaagg caggagagaa gctgggcctg 2400
 gggcaggatg gtgtgtcctg gcttgctttg cttgtctgct tggctcagt tccaagctga 2460

aactccagac ctagacctgg tcacattccc tccccctgct ccccaccage cccagcctt 2520
 ttatacaate tgtgttctgg cacctgcggc tcgccccgcc tgtcctacce acatcacttt 2580
 cccggaacat ccaagcggga gggccccgct gagctgccag tcaaggaaac agaaactgca 2640
 gaagtc 2646

<210> 13
 <211> 2767
 <212> DNA
 <213> Mus musculus
 <400> 13

tttttttttt tttttttttt ttgttattgt aactgcttta atctgtctc acactctccc 60
 tgcaggaagc tcittataga aaacccaaat cctcatcttt gagcttgtcc tttagccagg 120

gcagcacctg gaagagggtg atgtggaagt cccgggcata agagggtacc agctgttgcc 180
 gcctctggte tctgcagaca tctactactc cccagctaata cacaccaact tgaatgaagc 240
 ggcttctctt gtgaacaatg agagggcccc cggaatctcc tttgcatgtg ttggggtcag 300
 catagggatc caccctctt gtgcagagga accgtggagt gaccacctca gaggcattct 360
 tgaccttctc atagccttgg gcctttgtag catctctctc acaactggct ttctttgtccc 420
 cattcttgat gtacacctcc ttccgagtca ggctcttccc ttgctcagat acaaacagag 480
 ctttgacatc cttcacaggg agcaactgtt ccttgtctg cttgcagggtg gctgtctgag 540

gaagcctcaa ggctcgtgtg gttccctccg tgcaggggag acagatgggc ctgagagtct 600

ggccatactt gagcttgttc ttgagcttga ctagggccac atcataatca tagaactcag 660
ggatcccttc tgcctttttc ccattaatat tgtatttggg gtggaacagg acctcttcaa 720
tctccaggtc ccgcctctga cccccacgc tgaccttgat ggaatgtttc tgatcatcca 780
ccatgaagca gtgcgctgct gtcagcacga agtactcaga caccacggcc cccatacagg 840
tctcatgtcc ttccagaggg cgagtgtactg agatcttggc ttgccatggt tgcttatgat 900
aatcgttgcc ttttttatgc tcccacacca tgccacagag actcagagat ttggtttcat 960

caatcatttg gtagaaaaca ttctccaggt cttccatata cttgacttta aacacatgat 1020
gctcattgtc ctttttgtaa gctaaggcat tgatgttcac ggagtcacc agaggcccga 1080
ccccaaacac atacacatcc aggtaatcct ccttgggatt tttgggatcc ctgccgatgt 1140
ccagcaaggc tcggatgtcc tgaatgacag tgacagggtt tccacccatg ttgtgcaagc 1200
catcagtcat aatgatgatg acatggcggg ttctattcca gccttcaggc ggggcatccc 1260
ctgcccagct catcatgcta tacacagcct ggagagccct cttggtgttg gtccctgact 1320
tcagcttgtg gtcttcataa ctgatttggg tgagcttctc tgtgaccag tcggcatcgc 1380

tactctctc atcagacact ctgaccaaca ctttggggac tgtagcatat gtcaggagac 1440
catatcgtgg cctcaccgga taactcgcca cttctcaat caagttggtg aggcaccgct 1500
tagccctgt gaagttgctg cttccgatgc tgtctgatcc atctagcacc aggtagatat 1560
tcatggagcc cgaggggtct aggacaatct tctctcttg ctgttctctt gggctgtgcc 1620
catcctcagc atcggtcct tcgatggctc ctgtcaggga ggataggaat gcttcggcca 1680
cttcttgagg gctgtcatac atgaaggaat cttggcagga aggcctctgc cactccatg 1740
agccaccttc ttgacacttt cgcttctggg agccacgcag gacaagtccc cggctgcagt 1800

ggtaagtaac aatgtcttca aggcgggtatt ggctaccac cttccttgtc ccaataggaa 1860
taccgggatt gggacagtat ccagctccat catcacaat tgcgttttgc ccatccacc 1920
ggccattctc ttggcagggtg cgattagcag agccccggag aacgtaacca tcatagcatt 1980
gaaaagaaat ctggtcactc aggtttaga agggggaccg gggccagaat tccccat 2040
caaagtcctg cggtcgtggg cagcgtattg ctctgcattc cgccttctgg acaatcttt 2100
ggtctcgggt ctgcaggctg ctccaggagc ctgtggatct gcaggttcga gtctgcacgg 2160
ggtatgggta gaagccagag ggacataggt actccagggc ctgaccgcct tggagaagtt 2220

gaaaggagcc gcctttgatc tctactccct ccagagagca ggagacttgg ggccgggcct 2280
caagcactgg agttgcgtc acacctccag aggagaagcc taagaccaag aggacgagc 2340
agagctgggg gctctccatt gtcatggaaa gcaccagaga gtccagtggc ccaaagccct 2400
ctccaggtca ctctgggtgc ctatttgacc tcctgtccaa actgaaaccc aaatgctgga 2460

tctggctaca cccctttccc actgtccct aaccttttat gcaatctgct ctggcatctg	2520
cagcctggcc agcctaccct gcgcacgcag cactgtctc ccggaacatt catgaaggag	2580
ggccccagct gaactgcca ctgaggaaac agaaactatg tgagccccac ccttgactga	2640
ccaagggccga gaacttcctt ttcaaagctc cctcttagcc ccagacccc tctaacaag	2700
cacagaccac cacctccact accccaatt taaaagatca gtctttccat ggactgtgtg	2760
atggagc	2767
<210> 14	
<211> 2763	
<212> DNA	
<213> Mus musculus	
<400> 14	
ttttttttt ttttttttt ttgttattgt aactgcttta atctgtctc acactctccc	60
tgcaggaagc tctttataga aaacccaaat cctcatcttt gagcttgtcc tttagccagg	120
gcagcacctg gaagaggttg atgtggaagt cccgggcata agagggtacc agctgttgcc	180
gcctctggtc tctgcagaca tctactactc ccagctaata cacaccaact tgaatgaagc	240
ggcttctctt gtgaacaatg agagggtccc cggaatctcc tttgcatgtg ttgggtcag	300
catagggate caccctctt gtgcagagga accgtggagt gaccacctca gaggcattt	360
tgacctctc atagccttgg gcctttgtag catctctctc acaactggct tgtccccatt	420
cttgatgtac acctcttcc gactcaggct ctcccttgc tcagatacaa acagagcttt	480
gacatcttc acaggagca actgttctt gtgctgctg caggtggctg tctgaggaag	540
cctcaaggct cgtgtggtc cctccgtgca ggggagacag atgggcctga gactctggcc	600
atacttgagc ttgttcttga gcttgactag ggccacatca taatcataga actcagggat	660
cccttctgcc tttttccat taatatgtt tttgggtgg aacaggacct cttcaatctc	720
caggtcccgc ctctgacccc ccacgtgac ctgatggaa tgtttctgat catccaccat	780
gaagcagtgc gctgctgtca gcacgaagta ctgagacac acggccccca tacaggtctc	840
atgtcctttc agagggcgag tgactgagat ctggcttgc catggttgct tatgataatc	900
gttgcctttt ttatgtccc acaccatgcc acagagactc agagatttgg tttcatcaat	960
catttggtag aaaacattct ccaggtcttc catatccttg actttaaaca catgatgctc	1020
attgtccttt ttggaagcta aggcattgat gttcacggag tccaccagag gcccgacccc	1080
aaacacatac acatccaggt aatcttccct gggatttttg ggatccctgc cgatgtccag	1140
caaggctcgg atgtcctgaa tgacagtgc agggtttcca cccatgttgt gcaagccatc	1200

agtcataatg atgatgacat ggccgggttct attccagcct tcaggcgggg catccctgc 1260
 ccagctcatc atgctataca cagcctggag agccctcttg gtgttggtcc ctgacttcag 1320
 cttgtggtct tcataactga ttgtgttgag cttctctgtg acccagtcgg catcgctact 1380
 cctctcatca gacactctga ccaacacttt ggggactgta gcatatgtca ggagaccata 1440

 tcgtggcctc accccgtaac tcgccacctt ctcaatcaag ttgttgaggc accgcttagc 1500
 ccctgtgaag ttgctgcttc cgatgctgtc tgatecatct agcaccaggt agatattcat 1560
 ggagcccag gggtctagga caatcttctt cttctgctgt tctcctgggc tgtgcccatc 1620
 ctgagcatcg gtcctctga tggctctgt cagggaggat aggaatgctt cggccacttc 1680
 ttgagggtg tcatacatga aggaatcttg gcaggaaggc tctgtccac tccatgagcc 1740
 accttcttga cactttcgt tctgggagcc acgcaggaca agtccccggc tgcagtggta 1800
 agtaacaatg tcttcaaggc ggtattggct acccaccttc cttgtccaa taggaatacc 1860

 gggattggga caglatccag ctccatcatc acaaatgtct gtttgccat cccaccggcc 1920
 attctcttgg caggtgcgat tagcagagcc ccggagaacg taaccatcat agcattgaaa 1980
 agaaatctgg tcactcaggt tgtagaaggg ggaccggggc cagaattccc cattttcaaa 2040
 gtcctgcggt cgtgggcagc gtattgctct gcattccgcc tcttgacaa tcttttggtc 2100
 tcgggtctgc aggtcgtcc aggagcctgt ggatctgcag gttcgagtct gcacggggta 2160
 tgggtagaag ccagagggac ataggtactc cagggcctga ccgccttgga gaagttgaaa 2220
 ggagccgct ttgatctcta ctccctccag agagcaggag acttggggcc gggcctcaag 2280

 cactggagtt gcctcacac ctccagagga gaagcctaag accaagagga cgaggcagag 2340
 ctgggggctc tccattgtca tggaaagcac cagagagtcc agtggcccaa agccctctcc 2400
 aggtcactct ggggtcctat ttgacctct gtccaaactg aaacccaaat gctggatctg 2460
 gctacacccc ttcccactg tcccctaacc ttttatgcaa tctgctctgg catctgcagc 2520
 ctggccagcc tacctgcgc acgcagccac tgcttccgg aacattcatg aaggagggcc 2580
 ccagctgaac tgccaactga ggaaacagaa actatgtgag cccaccctt gactgaccaa 2640
 gggccagaac ttccctttca aagtccttc ttagcccca gaccctctt aacaagcaca 2700

 gaccaccacc tccactacc ccaatttaaa agatcagtct ttccatggac tgtgtgatgg 2760
 agc 2763

 <210> 15
 <211> 2573
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus

<400> 15

tttttttttt ttttttgiat ttgtattgta gctgctttaa tctgccctca ccttcccagc	60
aggaagctcc ttataagaaa cccaagtcct cgtctttgag cttctccttt agccagggca	120
gcacctggaa gagattgatg tggaagtccc gggcatagga gggcaccaac tgttgccgcc	180
tcgggtcttt gcagacatcc actactcccc agctgatcac accaacttga atgaagcggc	240
ttctcttggtg aacaatgaga gggcccccgg agtctccttt gcatgtgttg gggtcagcat	300
agggatctac ccttccggtg cacaggaacc tgggggtgac cacctcagag gcaactttga	360
ccttctcata gccttgggcc tttgtagcat ctctctcaca actggctttc ttttcccat	420
tcttgatgta cacttcttc cgggtcagct tcttcccttc ctcgataca aacagagctt	480
tgacgtcctt catagggagc aactcttctt tgtgctgttt gcaggtggct gtctgaggaa	540
gccgcaaggc tcgggtggtt cctctgtgac aggggagaca gatgggcctg agagtctggc	600
tgtacttcag cttaggtctg agcttgatga gggcaacatc atagtcatag aactcagaga	660
ttccttctgc ctttttccca ttgatgtcgt aattagggtg gaacaggacc tcttcaatct	720
ccagggtccc ctttttcccc tccacgttga ctttgatgga gtgtttctga tcttccactg	780
tgaagcaatg cgctgctgac agcacgaagt actcggacac cacggccccc atacagttct	840
catgtccttt cagaggacga gtgactgaga tcttggttg ccatggttgc ttgtaataat	900
caccgctttt ctgatgtccc cacaccatgc cacagagacc cagagatttg gtttcatcga	960
tcattttgta gaagacgttc tccagatcct ccatgtcctt gacctgaac acatgtctgt	1020
cattgttctt tttggaagcc aaggcattga tgttcacagg gtccaccaga ggccccgacc	1080
caaacacata cacatccaaa taatctctcc ggggattttt gcgatccctg ccaatatcca	1140
gcaagtctcg gatgtctca atgacagtga cagggtctcc acccatgttg tgcaagccat	1200
cagtcatgat gatgatgacg tggcgggttc gattccagcc ttcaggcgga gcateccctg	1260
gccagctcat catgctglat acagcctgga gagccttctt ggtgttggtc cctgacttca	1320
gcttggtggtc ttcataactg atttggttga gcttctctgt gaccagtcg gcatactac	1380
tcctctcttc agacactctg accaagactt tggggactgt ggcatatgtc actagaccgt	1440
atcttggtt caccataaa ctgccacct tctcaatcaa gttggcgaga caccgttgg	1500
ccctgtgaa gttgctggcc ccatgctgtt cggatccatc cagcaccatg tagatatcca	1560
tggagcccga ggggtccagg ataactctcc tcttctgctg tttccctggg ctgtgcccat	1620
cctccgcatc tgctccttcg atggtctctg tcagggagga tagaaatgct tcggccacct	1680
cttgagggtc gtcgtacatg aaggaaactt ggcaggaagg ctctgtccca ctccacgagc	1740
caccttctg gcaccttcgc tgctgggagc cacgtaggac aagtccccga ctacagtgg	1800

aagtgcacagt gtcttcaaga cggtactggc ttcccacctt ccttgtecca ataggaatac	1860
ccgggttggg acagtatccc gctccatcat cacagattgc tgtttgcca tcccaccggc	1920
cattctcttg gcaggtgcga ttagcagagc cccggagagt gtagccatca tagcattgaa	1980
aagaaatctg atcactcagg ttgtagtagg gggaccgggg ccagaactcc ccattttcaa	2040
agtctgttg tctgtggcag cgtattgtc tgcattctgc cttcttgaca atcttttgg	2100
cccgggtctg gaggacactc caggagcctg tggatttgca ggctcgagtc tgcacagggt	2160
atgggtagaa gccagaggga cacaggtact ccagggcctg accgtcttgg agaagttgga	2220
aggagccgc tttgatctct actccctcca gagagcaaga gacctggggc cgggcctcaa	2280
gcactggagt tgcgctcaca cctccggagg agaggcctaa gaccaagagg actaagcaga	2340
gctggggacc ctccattgtc atggaaagcc cgtggccaaa agccctttcc agttcactct	2400
gggtggctac ttgacttgct gtccagactg aaactccagt gctggatctg gctacacccc	2460
tttcccaccg gccctaacc ttttatgcaa tctgctctgg cactgcagc ctggccaacc	2520
tacctgcac agacgtgct tcccgaaca ttcataagg agggcccctg ctg	2573
<210> 16	
<211> 2334	
<212> DNA	
<213> Pan troglodytes	
<400> 16	
accccttata gaaaacccaa atcctcatct tggagtttct ccttcagcca gggcagcact	60
tgaaagaggt tgatgtgaaa gtctcgggcg tgagcaggta cctgcttttg ccgcttctgg	120
tttttcaga catccactac tcccagctg attacaccaa cttgaatgaa acgacttctt	180
ttgtgaacta tcaaggggcc gccagaatca cctctgcaag tattggggtc agcataggga	240
ctcactctc caglacaaag gaaccgaggg gtgaccacct ctgagatgct cttgactttg	300
tcatagcctg gggcatattg agcatctctc tcacagctgc ctttcttate cccattcttg	360
atgtagacct cttccgagt cagctttttc tcctctcag acacaaacag agctttgata	420
tcctgtgcag ggagcagctc ttccitttgi tgctggcaag tggtagtgg aggaagcctc	480
aaagctcgag ttgttcctc ggtgcagggg agacaaatgg gcctgatagt ctggccatat	540
ttcagcttat tcttgagctt gatcagggca acgtcatagt cataaaattc aggaattcct	600
gctgcttttt tccattaat gttgtagtgg gggtgaaata ggactacttc tatctccagg	660
tcccgttct cccctctac gctgaccttg attgagtgtt ccttgtcctc cacagtgaaa	720
cagtgtgctg ctgtcagcac aaagtactca gacaccacag ccccataca gctctcgtgt	780

ccctttgaag ggcgaatgac tgagatcttg gcttgccatg gttgcttggt gtaatcggta 840
cccttcctgt gtccccaaac catgccacag agactcagag actggctttc atcaatcatt 900
tggtagaaaa catcttcag gttttccata tccttgactt tgaacacatg ttgctcattg 960

tctttcttgg aagccaaagc attgatgttc acttggttca ccaaaggccc gaccccaaac 1020
acatagacat ccagataatc ctcccttggg tttttcgat ccttgccaat gtatagcaag 1080
tcccggatct catcaatgac agtaattggg tccccgcca tgttgtgcaa tccatcagtc 1140
atgaggatga tgacatggcg ggtgcgggtc cagccttcag gagggatgtc atctggccag 1200
ctcatcatgc tgtacatgc ctggagggcc ttcttggtgt tagtcctga cttcaacttg 1260
tggtcttcat aattgatttc attgagctgc ttcgtgacct agtctgcatt actgctgtct 1320
ggatcagaca ctttgaccca aattttgggg tgtgtggcat atgtcactag accatatctt 1380

ggcttcacac cataacttgc caccttctca attaagtga ctagacactt tttggtcct 1440
gtgaagtgtc tggcccaat gctgtctgat ccatctagca ccaggtagat gttcatggag 1500
cctgaagggt ccaggacgat ctccgcttc tgttgttccc ctgggccgtg cccatcctca 1560
gcatcgactc ctctatggt ctctgtcagg gaagacagga aagcttcggc cacctcttga 1620
ggggtgtcgt acatgaagga gtcttggcaa gaaggctccg tcccgtcca agagccacct 1680
tcctgacacg ttccgctg ggagccacgc agggtaagcc cccggtgca gtggtaggtg 1740
acgtgtctt caaggcggtc ctggtgccc accttcttg tgccaatggg gatgccggg 1800

ttggagcagt acccgcctc gttgtcacag atcgtgtct gccactcca ccggccattc 1860
acttggcagg tgcgattggc agagccccgg agagtgtaac cgtcatagca gtggaaagag 1920
atctcatcac tcacattgta gtagggagac cggggccagt attccccgtt ctgaagtcg 1980
tgtggtcttg gacagtggat tgctctgcac tctgccttc tgacagtctt ttggacttga 2040
gtcttcaggg tgctccagga ccccgtagat ctgcaggtac gtgtctgcac agggtaggg 2100
tagaagccag aaggacacac gtactccagt gcctggccct cttggagaag tcggaaggag 2160
ccgcctttga tctctacccc ctccagagag caggattcct ggggctgggc caaaggccat 2220

ggagtgggtg tcacacctcc agacaagagg cccaagatga agggcatcag gcagagtgg 2280
gggctgagat tgctcccat ggcgttggaa ggcaggagag aagctgggcc tggg 2334

<210> 17

<211> 5101

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 17

tgagatataa ctgaagcttt atctggagtg ggggaatggg ggtgtggtca gttggggcac	60
ccaaagacaa ccatgctctc ggtgaaggcg ccgaggtcct ggcatgttt ctggttctct	120
tcgtcttggc attcgtcctc ctggggccag tgcctcaccc aagtgtcctt cccgatgatg	180
tagctgaggt tgggcttctc tccccagaaa tcggaggaga gacccacat gaggtagtgt	240
ttcttctctt ccagcttcag ggcttctctg cacttgatgg ggctgatgaa cgtgcgctgc	300
tgtccaacct gcacctcacc cgagcctgac ttgatggtct gctcaatggc catgatgtac	360
tcgtcaaagt catggacag ctgaaccttg accagtcggg tcttgtacac atagtccact	420
cctggctcac aggccttgct cagccgttct tccaggtga ccttgctacc cgacttttgt	480
atgaagcaat tctcctcagc acagcggcac agttcatcac ggcagagctt gttcagcttt	540
ccatcctctt ttcccgatg gtagaacgg gtacagcttt cctccaggtt gtaataggcg	600
tagacctga ctgctccagg ctggataagc tctacattaa agtatgtgtg aactttgaaa	660
gctagacagt catcctcaga gtgtgagacc ttgtccaggt agatgatgag ggtgttccta	720
tcggagaagg ctttgtccag ctcatcttg gagatgtatc tgtcaacacc attggccagc	780
tgtttcaggt catctgtgtc tggagcaaag ccagtcacca tggatatgtc caatatagac	840
atagtggcat cctggctctc ccggtacctg gtacagatct caaggatcat agtgttcttg	900
gcatcctgag gcctcttttc tgtttccggt gctggtttta tggtagacct gaggtcgaat	960
ttattacagg tgagttgac tttggcctta gcatggtaca ttgtcaccac cgacaagggtg	1020
ccttggcctt ttcttccagc tgtgactgtg aaacctcat tttccttggt ctcttctgat	1080
cgcaggaggc tggcagattc ccagtggata cgttgggtga tcttggagct gcggctgggc	1140
agttggaggg acacatcaag gttcagttcc tgggtgtcag gggcgtcctt ttggtattga	1200
gccaaggctt ggaacaccat gaagtggtcc tgggtagagc catagccacc accgtagtat	1260
ctctgttcat tgagccaacg cagcagggga ggcacaaagt caaagtcttt tagctgcagt	1320
aggccaaga gggcatagga tgtggcctcc acgttgtaga gctgcttacc aggtcctcc	1380
cagcggttct tatctttggc tgtgttcaga aatttgttaa gaagagccc cttcagcctg	1440
cccatctggg ccagagcata gccagcaatg gccacagtgt aggatctctg taggttcagt	1500
tagttggctt caaggaagtc tcttcttta gtgatgctgc ctggcaggct gttgacctgc	1560
tcctcgaaa tatcttttag cctctgcagc gagatgagaa caaaggccgt gagggccatg	1620
tctttctctg tgtgttccg taatccacca atcatttctt ggtgtatcac gggcgcatcc	1680
tcctggaaga ccccgctggg cttctgcttc tccaggatca gccatttaac agccccgcag	1740
aggacttggg agtcgatggc gatgaggttg acagccagag agaagacctt gaccacgtag	1800
gcggtcagcc aggtgctggg tgcccgtttc acgaaggccg caaaggcaga gctgggttgt	1860

ctgaaggcca gctgctgggt gtaccccttc ttgatgagct ccaaggcccc ctgccgttc	1920
tctagccga acttctccca ctgctccgtt tcatccaggt aatgcacagc gatgaccgtg	1980
ggcgtcatgc cgatcatgtt ctgttccccg cagcccagg gggtcacaat gaggtgcttc	2040
agccgttccg cgtcgacggc atcctctgtc atctgggcca ctgggggtccc ttgcaggaga	2100
attctgtgtc cagactcgtt gtccgggact tggctactga ggtctgcagg tgggatgtcc	2160
tctttctgca ctctttcacg gcccaggcgt tctggatcca gggtgcgaac agccacagtt	2220
ttgttcattc tgattccttc cggcacgacc ttcagggact tcctgacacc gtcactgatg	2280
aaatgatggt agacagcagc cttgacttcc acttctgca ggccgggtctt tagcggcacg	2340
atgacatatg gaacggacaa cgaggacttg ggggggatgg ttacggctctg ctggtgacgc	2400
ctcttggttg tggccaggct gcagaaggct ggattgtgga gtagttccac cctcaccttg	2460
agctcttggt tctgccggtt attgtagaga acggctcgga tttccacctg ctcgtttca	2520
acaacagagt agggtagccg caggctgatg aagaagtcct gcattactgt gacctcgaag	2580
gggtctgcca cacagatccc tttcttgtcc gacatgtca cagccagaat ctcccacgtg	2640
gtgatggagt ctttcaaaa tatattcatg agcttcgtag agattccatt tttcggtggc	2700
tctttcaagt cctcaacgtt ccacagccag ctctctggga actcacttcg ggaaacgatg	2760
ttctcttctg caatgatgtc ctcattcagg ttactcctgg ccaggcccag gtggctggcc	2820
cgcgctgtct gccgccgag ctctgtgatg tagttgcagc agtccaggaa gaccttcttg	2880
cacgcctcgc ccaggagat gaaacgggtc cggcgtggc acgagaacct catggggttc	2940
tcccgcagtc cgtcctcgca gcacttgcgc agctccttgg ggtacttgcc gactttgtcc	3000
attcgcttct ccgtgagctg cacggaacgg cgtcggcggg cggctggctg cgggcactga	3060
agttctgccc tctgggcgtt ctgctggcca ctgctgtcg tgaaggtcag ccctgcgtcg	3120
gagaagacac cggcgtaatc ctcccaactg cccgggggtgc agccgatgtc tgccttctcc	3180
accacgtccc agatcttact ctgcgtcagt ttgttcttct tattcagcac gaacacgccc	3240
ttgtccacgg ccaccagtac caccggggcc ccgtgggtcac cctctatctt cagggtcatc	3300
tgctgcccag gtacaggctg ccggtcttct gactggccgc tttttaccac cagcgagccc	3360
acgcaggagt ccttgacgtc caccacacg gagtcggcca ccacctcct ctggccgctg	3420
gcaccgatca gcgtgtagta gccaccagg cggaaggaag ggatgaagtc ggtgggtgatg	3480
gacaggggca gcaccaccag gtcctggccg ggctctcgca cctggcgctc cgccttcaac	3540
agcctgccct tgttcatgat caggtagggt tagtagcgga tcttggcctc gtgggcgcgg	3600

tccattcgca ggaggaagtt gacgttagag gtctccccgg gtctgagctc tgtacgtagc 3660
 actgagagat gcaggaattt gttggagtgg ccacagggtgc tgtagggcag agcctgcatg 3720
 gtcttggttag cctgctctgc ctccgagagc tctgtcttct tcgtgcgcac cgtgatgctc 3780
 aagggcttct ggctgggggtg tgtgttgatg ctgagtttgg ccacgccatc tccctggggtt 3840
 agagactgca cagtgtcctc gccctggact gccacgggga ctcggtaggc tggagagcca 3900
 tcagggttcg tcacgaacac catgaggtca aagggcattc ctggtttgaa gtacttgggt 3960
 gtcttggtga agtggatctg gtagggagag gtcacgatgg ggatcccgt gcgctctgcc 4020

tgcacatgt cactgcctga gtgcaagatg acggtggcag acacgtacaa agacttcccc 4080
 accaggtctt ctgctcgggg gttctgcacc ccgtccagca gtacttccg gctcagcaca 4140
 acctccccg agccatcctc aatcggaatg cgcttgaggg attcaggcag ggaaatcctc 4200
 tgttcgcat cctggatccc gaagatgaca aaggcagttc cctccacttt ctcccgtag 4260
 aggaacctgg cggatgatgt gacctccagg ccttctctgt tatagatgta gtagaatttc 4320
 tctgtaggct ccactatgac ctgaaactg ggcagcacgt actccttcac ctcaaactca 4380
 gtggagaaga cctgctgtgg tgagtittca tagtaggctc ggatcttcca ctggcccatg 4440

ttgacgagtt ccggaatgtc ccaagacaag ggcaagacgc caagctggtt ctgagaagac 4500
 aaggagtctt gcttgaccgg gatgccttcc gggtttctca tgttgaccat gaccgtccgg 4560
 ccacagggtg gcagcttggt gttgacgggt aagatccgat agagaactgt ggagccaggg 4620
 gtgtagatgg tctgtctgt ctggatgaag aggtaccgc tctgcaggct gaccagcacc 4680
 accttctcca ccacttgggt ccgaagggtg gcctgcacgg tcacgaactt gttgcgcccc 4740
 ttttctgact tgaactccct gttggctggg atcgtgaagg tgacgttgcc catgtggttg 4800
 gtggcagggg tcagcacagt cttctcactg gacagcacta gttttttgcc tgggaagtcg 4860

tggacagtaa cagtgaactg aacatccct tgcgcgtcgt gggcctccag caccatggtc 4920
 tcctcgctct ccagccgcaa gatgttgggg gtgatgatag agtacatggg actccccaga 4980
 gccaggggga ggtgggttag tagcaggagc agcaggctgg gacctgaggt ggggtccatg 5040
 gtgctgggac agtgcagggt cagagggaca gagggacaga gggagaggat ggggaggagt 5100
 g 5101

<210> 18

<211> 5147

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 18

tttttttttt tttttgaaat acaactgaag ctttattaga gggctgggct gtagtcagtt	60
gggacaacca taaaccacca tagattctgt gaatgcccc agttcttcgc actgtttctg	120
gtacttctga tectggcatt cttctgcctc aggccagtgc tccaccacg tgccttccc	180
aatgatgtag ctgggtgttg gcttttctcc ccagaggtca gaggagaggc cccacatgag	240
gtacttcttc cttttctgca gcttcagggc gtttctgcac ttgatgtggc tgatgaactt	300
gcgttgctgc cctgcctgca cctcatctga gcctgacttg atgacctgct ggatggcat	360
ggtgtactca tcaaatcat ccaacagctc tatgttggtt agctcggctc tgtacacata	420
gtcgactccg ggctcacaag ccttgtctag ccggacattc aggttgatct tctcctgtga	480
ctgttgcatt aagcagttct cttcagcaca ccggcacatt tcaactgtggc acagcttgct	540
gagcatccca tcgtccttct ctggatgata gaaccgggtg catgattcct cgaggttgta	600
ataggagtag accttgaccg acccgggctg gataagtcac acattaaagt actggtgaac	660
tttgaaggtc aggcagttct cttcgggtgt tgaaatcttt tctaggtaga tgatgagggt	720
gttcttgttg gagaaggctt tgttcattct gtacttggag atgtatctat ctactccaga	780
ggccagcagt tccaggtcct ttgtgtctgg agcaaagcca gtcacatgg agatgtccag	840
gatggacata gtggcgtcca catctcccaa gtacttgggt cagatttcaa ggaacatggt	900
attcttggct tctcgggct tcttggctgt ctccagggtt ggtcttatgc tgacctgag	960
gtcaaaactt ttgcagggtga ctttgccttt gagtttggca tgataactg ccaccaccga	1020
caatgtcct cggccttttc ctttggctgt tagagagaag gcctcatttt gcttggcttc	1080
ttccgatgc aggaggttgc cattttccca gacagggcga aacgtggtt cagagctacg	1140
gctggggagg tggaaggaca catccatgtt caagtcctta tggtcaggga catctgtttg	1200
atattgggcc aaggcttga ataccatgaa ggtagcctgg gtggagccat agccgcctcc	1260
gtagtatctt tgcctattga gccagcgac tacagggggc acagagtcaa agtctttcag	1320
cagcagcagg gccaggagg cgtaggatgt ggctctacg ttgtagagct gctggtcagg	1380
ctctcccag cggttccgat ctttggctgt gttcagaaac ttgccgaggt aaggttctc	1440
cagtttgtt atcagggccca gggcataccc agcaatggcc actgtgtatg gtctctgcag	1500
gttcatgtaa ctggcttcaa tatactccc tgcttgttg atgtccag gaaggtatt	1560
gacctcccc tcacagatgt ccttggcttc ctgcagtgc atgaggacga aggtgtgag	1620
tgacacatct gcctccttg ggttccgga gccaccaatc atttcttggt gaatcacggg	1680
cccacctcc tgaagacac catccggtt ctgtttctcc agaataacc atttaacagc	1740

cccacacagg acgtgagagt cgatggcgat gaggttggca gctagagaga agaccttgac 1800
 cacgtaggct gtcagccagg tgctgggggg ccggttgttg aaggcagcat aggcagagct 1860
 gggctgtttg aaggccagct gctgggtgta ccttttcttg atgagctcca gggcctcttg 1920
 cctcttctct atgccgaact tctccactg ttcggtctgg tccaggtagt gtaccgcaat 1980
 gactgttggt gtcatgcca tcatgttctg ttccccacag cctgcggggg tcacgatcag 2040
 gtgtttcagc cgctccccgt ccacagcatc ttcagccatc tgaaccacg ggctcccttg 2100
 caggataatt ctggtctcag agtctgtgtc tggcacttgg tcgctaaggt ctgcggcagg 2160

 cacatccacc ttctgcactc ccccttgacc gagcttctct ggggtccagtg tatggatggc 2220
 cacagttttg ttgattctca ttcttcttg cagcaccttc agtgttctct tgacaccatc 2280
 actgatgaag tgattgaaga cagcagcctt gacctccacc tcttgttggc cgatcttcaa 2340
 ggggacaatg acatacggtg cagccaccga ggacttggga gggattttga tggcttggaa 2400
 gtagcgattc ttggcggtag ccatgctgca gaaggctgga ttatgcaaca gtccaccct 2460
 caccttaagt tctctctgtt caggttagtt gaagagcaca gctctgatct ccacctgttc 2520
 gtgcgcaact acagagtagg gcagccgcag gtcaatgaag aagtctgca tcaactctgat 2580

 ctcatagggg tctgccacac agatcccttt ctgtctgac aagctcactg ccagaatctc 2640
 ccagggtggtg atggaatctt tgagaaagat gttcatgacc ttcgtagaga ttccattttt 2700
 ctctggttct ttcaactctt ctatgggtcca caaccagctc tgtgggaagt ggcttctaga 2760
 gataatatct tcttctggaa ttatgtcttc ctccaattca ctctggcca ggcccagcac 2820
 gtggtctctt ctgtgttgtt cagcagctt ggtgatgtgg ttgcagcagt ctatgaaggc 2880
 ctttatgcag ttctgcctt gggtagtag gcgtgcccg cgctggcagc tgtatctcat 2940
 agggatatcc cgcataccat cctcacaaca ctccgaaga ccttgtcag tgtactgacc 3000

 agctttgtcc atccttcttt ccatcaactg tactgagcga cggcggcggg ctgctggctt 3060
 ggtgcactca agatctgctc tctgttcagt ctgcagtcct tggcttgtct tgaaggccag 3120
 gcctgcatcc atgaagacac cagcatagtt ctccactg cctgggtgac agccaatgtc 3180
 tgccttctct accacatccc agatcttct ctgtgtgagt ttgttcttct tgttcagcac 3240
 aaacactccc ttgtccacag ccactagccc cactcgggcc ccttggttct ctcaatcct 3300
 gagtgtcgtt tgttggccag gtgcgagatg gttatctctt gggtcaccct tcaccaccag 3360
 cgtgccaata caggaatcct tcacatccac ccacacagag tcagccacca cctccctctg 3420

 gccactagct ccaatcaggg tgtagtaagc caccaggcga aatgaaggaa taaactctgg 3480
 agttagggg agggacaaga ccaccagtc ctggccaggc tcccgaacct ggccgctgc 3540
 cttcaggagc ttccccctgt tcataaccag gtaggtgtag tatcgatct tggcctcatg 3600

gcctgggtct gtgcgcaggt ggaagttgac attgaggttg tccccggct tgagctccat 3660
 tcgtgacact gacaagtga ggtagttgtt ggagttgtgc atagtctgt agggatgggc 3720
 ctccattgtc ttggtggcct gccgtgattc tgggagagtg tccttcttgg tgcggactgt 3780
 gatggtcagg ggttggcggc tgttgggtgt gttgatgctt agcttggcca cgccatcatc 3840

ttgggtgaga gcctttgcat tagatccctg agtgaccacc agcactttgc tggccggaga 3900
 gccatcgggg ttggtcacga acaccatgag gtcaaagggc atggctggct tgaagaattt 3960
 ggggtgtctt gtgaagtga tctgttacgg ggaagtgaca atcgggatcc cactgcgtc 4020
 tgctctacc atgtcactac ctgagtgcag gatgacagtg acggagacat acagggactt 4080
 cccaccagg gcgtcggcgt tggaaaggccg taccctcc atcagcacct tccgggtcag 4140
 cactgcatcc ccacaccat cctcaatcac tacgcgctg agggagtggg ccagagaaat 4200
 ctcttatcg ccactctgga ccccaaaaat cacgaaggct gtcccgcca cgttttccc 4260

glacaggaac ttggctatga tggaaacttc caggccattt gggtcacga tgtaataaaa 4320
 tgtctctgtg ggctccacc ggacctcaa actgggcagc acgtattcct tcacctcaa 4380
 ctctcggag aagatctgt tggcgcatg ttcgtaaaag gctcggatct tccactgcc 4440
 catgttgacc agttcaggaa tgttccaaga caaaggcaag atgccgtgtt ggttgttga 4500
 agacagaatg tctctctga caggaatgcc atcgggggtc tcaatgagga tgacgactgt 4560
 ctgcccacg ggcagtaggt tgttctccac agtgaagatc cgatataaga cagtggagcc 4620
 aggggtgtag atggtcttgt ctgtctggat gaagaggtac ccactctgga agcttaccat 4680

cactgtttc tcaccaccg ttccccgaa gtttgccacc actgtcacgt acttgtccc 4740
 ctcttatct gagtgaatt cttactggc tggaaatctg atggagacgc ttctcagatg 4800
 tccactggct cctgtcaaca ctgtcttctc actgtcagc acttgctct ttaggaagtc 4860
 ttgcacagtg actgtactg ggatgtcacc ctgagcatcg tgggcctcca gtacgatgt 4920
 ctcttcgtc tcagccgta ggacattggg agtaatgatg gaatacatgg ggatccccag 4980
 agctaaggg gagctggcca acagcagcag tagcactagt agctgggacc ctgaagctgg 5040
 tcccatagt aaggaaaaag gtggaaggaa tgaaggggta aggggcaggg gtgggcagag 5100

gcgagctggg gctgtagccg ctggctcttt atatggctct cctctct 5147

<210> 19
 <211> 5091
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 19

tttttttttt ttttttttga tgggtaaaaat acaactgaag ctttattgga ggttgtggtc	60
agttggggca gccgaaaacc accattgttt ctgtgaatgc cccgaggtct tcgcactgtt	120
tctggttctt ctgactctga cattcctctg cctcgggcca gtgctccacc cacgtgtcct	180
tcccaatgat gtagctggta ttgggctttt ctccccagag gtcggaggag aggccccaca	240
tgaggactg cttccctttc tgcagcttta gggcgtttct gcacttgacg tggctgatga	300
accttcgttc ctgacctgcc tgcacctcat ctgagcctga cttgatgacc tgctcgatgg	360
tcatgatgta ctcatcaaaa tcatccgaca gctctatcgt cgttagcttg gtcttgtaca	420
cgtagtcac tccaggctca caagccttgt ctagtcttgc attcaggctg acctgactct	480
gtgactgatg catgaagcag ttctcctctg cacagcggca catttcattg tggcacagct	540
tgctcagcat tccatcgtcc ttctccggat gatagaaccg ggtgcatgac tcctctagat	600
tgtagtagga gtagacctg accgaccccg gctggataag tcccacgtta aagaactggt	660
ggactttgaa ggacaggcag tcttcttcgg agtgtgagat cttttctagg tagatgatga	720
gggtgttctt gttggagaag gctttgtcca tctcactt ggaaatgtat ctgtctactc	780
cagagctcag cagttccagg tcgtttgtgt ctggaataaa gccagtcac atggagatgt	840
ccaggatgga catagtagca tccacgtctc ccaagtacct ggtgcagatg tcaaggatca	900
tagaactctt ggcatcctgg ggcttcttgg ctgtctcagg ggctggtttt atggtgaccc	960
tgaggtaaaa cttcttgtag gtggctttgc ctttgacttt ggctgatac actgtcacca	1020
ccgacagtgt gccttggcct ttctcttgg ctgtcagaga aaagccctca ttctgcttgg	1080
tctctctga tctcaggaga ctgccacttt cccatagcag gcgaaacaca gttggggagc	1140
tgcggctggg gaggtggagg gacacatcca tgttcaagtc ctttgtgtca gggacatctg	1200
tttggtattg agccaaggt tggaaatcca tgaaggtagc ctgcgtggag ccatagccac	1260
ctccgtagta tctttgctcg ttgagccagc gcaccacagg aggcacagag tcaaagtctt	1320
tcagcagcag cagggccagg agggcgtagg aggtggcctc cacattgtag agctgctggc	1380
caggctctct ccagcggttc cgatctttgg ctgtgttcag aaacttggtg aggtgaaggtt	1440
cctccagttt gttcatcagg gccagggcac acccagcaat ggctactgtg tatggtctct	1500
gcaggttcag gtaactggct tcaagatact ccctgcctt gttgatgctc ccgggaaggc	1560
tgttgacctg cccctcacag atatctctgg ctctctgcag tgcgatgagg acaaaggctg	1620
taagcgacac atctgcctcc ttggtgttcc ggaagccacc aatcatttct tggatgaatca	1680
ctggtccgtc ctctgaaag acaccatctg gcttctgttt ctccagaatc agccatttga	1740
cagccccaca caggacctga gagtcatgag cgatgagggt ggccagccaga gagaagacct	1800
tgaccacata ggctgtcagc cagggtgctgg gaggccggtt gttgaaggca gcataggcag	1860

agctgggctg ttigaaagcc agctgctggg tgiaccttt cttgatgagc tccagagctt	1920
cttgctcttt ctctaggccg aatttctccc actgttcggg ctgatccaga tagtgtactg	1980
caatgaccgt ggggtgtcatg ccaatcatgt tctgctcccc acagccagag ggggtcacga	2040
tcagggtgtt cagccgctcc ccgtccacag cgtcctcggc catctgagcc accggggctc	2100
cttgaggag aattctggtc tcagaatctg tgtctggcac ttgttactg aggtctgctg	2160
caggtacatc ctccctctgc actccccctt gaccgagggtg ttctggatcc agtgtacgga	2220
cagccacagt ttgtttgact ctcatctctt ctggcacgac cttcagtatc ttcttgacac	2280
catcactgat gaagtgggtg aagacggcgg ccttgacctc cacctcctgg aggccgatct	2340
tcaaggggac aatgacataa ggcacagcca cagaggactt gggagggatt tcgatggtct	2400
ggtagtaccg cttcttgcca gtggccatgc tgcagaaggc tgggttatgc aacagttcca	2460
cccttacctt aagtttctcc tgttcacggt aattgaagag cacagctctg atctccacct	2520
gttcattgcg caccacagag tagggcagtc gcagggtcaat gaagaagtcc tgcactactg	2580
tgatctcata ggggtctgcc acacagatcc ctttcttgtc ggacaagctc actgccagaa	2640
tctcccaggt ggtgatgaa tctttgagaa agatgttcat gaccttcgta gagattccat	2700
ttttctctgg ttctttcaac tcttctatgg tccacaacca gctctctggg aagtggcttc	2760
tagagataat atcttctctt gggattatgt cttcatccac atcactctg gccaggccca	2820
gcacatggtc tcttctgtgc tgctcacgaa gcttgggtgat atagttgcag cagtccatga	2880
aggccttcag gcagctctcg ccctgggtga tgaggcgagc ccggcgctgg cagctgtact	2940
tcatagggat atcacgcatg ccattctcac aacacttccg cagacccttg tcggtgtact	3000
gaccagcttt gtccatctc ctttccatca actgcactga gcgacggcgg cgggcagctg	3060
gcttgccga ctcaggatct tctctctgat cagtctgcag gccttgggtt gtcttgaagg	3120
tcaggccagc atccatgaag acaccgcat agttcttccc actgcctggg gtgcagccaa	3180
tgtctgcctt ctctactaca tcccagatct tgctctgtgt gagtttggtc ttcttgttca	3240
gcacaaacac ccccttgctc acagccacta gcccactcg ggcccctgg tccccctga	3300
tccttagtgt cgtttgatgc ccaggcgagg gctgtcgggt atctcttggg tcacctttca	3360
ccaccagcgt gcctacacag gagtcttca catccacca cactgagtcg gccaccacct	3420
ccctttggcc attagctcca atcagggtgt agtaagccac caggcggaag gaaggtataa	3480
attctggagt gatgggcagt gacaagacca ccaggctctg gccaggctcc cgaacctgac	3540
ggcctgcctt cagttaactc cccctgttca taaccagata ggtgtagtat cggatcttgg	3600

cctcttggcc agcgtccgtg cgcaggtagga agttgacatt gaggttgtcc ccaggcttga 3660

gctccacccg agacactgac aagtgcaggt agttgttggga attgtgcata gtgctgtagg 3720

gctgggcctg catcgtcctg gtggcctgcc gcgcgtccgg gataccctcc ttcttgggtgc 3780

ggaccgtgat agtcaggggt tggcggttgt tgggtgtgtt gacgctcagc ttggccacac 3840

catcatcctg ggtgagagcc tgcgcgtcgg atccctgagt gactactggc actctgcggg 3900

ctggagagcc atcagggttg gtcacaaaca ccatgaggtc gaaaggcatg gctggcttga 3960

agaatttggg tgtcttgggt aagtggatct ggtacgggga agtgacaatt gggatccac 4020

tgcgctctgc ctctaccatg tcgctacctg agtgcaggat aacagtgaca gagacgtaca 4080

gggacttccc cactagggtt tctgggctgg agggccgtac cccgtccatc agcacitttc 4140

ggctgagcac tgcctcccct gaaccatcct cgatcagcac gcgggtgagg gactgggcca 4200

gagaaatctt cttatctca tcttggaacc caaagatcac gaaagctgtc ccgtccacgt 4260

tcttcccata caggaatctg gctgtgatgg aaacttcag gccctttggg tcatcgatgt 4320

aataaaattt ctctgtaggc tccaccagga ctctgaaact gggcagcacg tattccttca 4380

cctcaaaact tgcagagaag gtctgctttg gtgcatgttc atagaaggct cggatcttcc 4440

actgccccat gttgaccagt tctggaatgt tccaagacaa aggcaagatg ccatattggt 4500

tgtgggaaga tagaatgtct ctcttgatgg gaacgccgtc cggggtctca atgacgatga 4560

cgactgtctt gccacacaggc aataggttgt tgtccacagt gaagatccga tagaaaacag 4620

tggagcctgg ggtgtagatg gtcttgtctg tctggatgaa gaggtaacca ctctgaaagc 4680

ttactagcac cgttttctcc accactgttg ccccgaaagt tgcaccact gtcacgtact 4740

tgtgccccct atctgcattg aattccttac tggctggaat cttagatggag accctgttca 4800

gatgtccagt ggctcctgtc aacactgtct tctcactggt cagcacttgc ttcttttagga 4860

agtcttgcac agtgacagtg actgggacat caccctgagc atcatgggcc tctagtatga 4920

aagtctcttc actctccagc cgcaggacat tgggagtaat gatggagtac atggggctcc 4980

ccagagctag caggagctg gccaacagca gcagtagcac tagtagctgg gaccctgacg 5040

tgggtcccat ggtaaaggac aaaggtggaa ggagtgaggg gtaaggggta g 5091

<210> 20

<211> 2693

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<400> 20

tttccttttt ttaaagagtt ctacagacct tcaaaaggtc tcagacccta agcaccatgt 60

tctctaata ga ataagattgt acaaccaatg ttaatcagct tctcaggtag gtaaccttac	120
cttatacaac tcataaggct aggtattaag ttggactata taaaattgat gttttttctt	180
gtaaaatatg atcaaataga aggaatttca cataatttaa actaatagtt tatgttcatt	240
ctattctgct acigaacact atctatatta ttcttttcat ctaactggat tttgttacct	300
attaaccaac tctcttttat ctcccttcag tctcttggtg aactagtagt ttttggttac	360
aaatataata tgttttcccc ctggacaca tggattttaa tcgtagagct aagactagta	420
aaagcaactg ctgtgcacgt ggctgggtgct cagcatttgc tgaatgaatg tatgcacacc	480
taagcaaata accaaactaa acataacaat gtaaataaga gttaaattgc atggtacaga	540
cgtgtgggtca tggacctggc agaatatgtt aaccatacaa agccgtttga aaattacttt	600
gaagtttttt aaaccaacat tctgttttta atttaatttt gttttttttt agaagagatt	660
ggcatttttc gtgggataaa gcagttctgg cgtatttcac tgttgacttc tcattaggga	720
acaaaaaatg gaacatcac aggagttaa ggaagaaaaa tttaaaaaaa aattatagac	780
ctaagagaga agagacttca gaggttggtg ggattttcat gaagcatgtt gctatttact	840
tggcagctaa gattatcttc aggggttagga tctgaaggta ctagtgtttt cttcttccac	900
tggagctcag agaagccaac agctctattt ttcatggggg aactctaggg ctggcaatcc	960
ttcagaaatt tttgttttac tgatttcaca ggcaattccc tcaaatttga atgggcaggc	1020
acacaaacac tticcatcca ttagaatcac tgtacctcca ttttggcatg tgtggcattt	1080
tcttacacta aattcattga tatagtcttc aatggctctt tccaagtttt gtttcttttag	1140
gtgtgcattt ttcattttca ctggaaccag attatatata ggagacagtt ttgactaat	1200
gagaacagga gcatcattta tgggaagggc ccagttgaca aagtcagtca catcaatcac	1260
ggttcctcgg agaagctttt ctttcagttc aaatgcatat tttctggttc cacctcttat	1320
gagtgaacaa acatcatcta tgaggttttc actggtgatg tttacagctc taccctctec	1380
cctctttaca caatcatctt tattaaattc agctccaaca gagatttcag agaaagccag	1440
agatacatcc agatgatacc caaggcatct ctttatgtct tttagttaa cacctttccg	1500
cttcatggaa gctttatcca aaacatatat tagttcatag agtcctccta gagaccaga	1560
gctactgtag tgagttccat aggtttccaa aaaggcaaaa tattctccct tttcataggt	1620
agttggcaaa gcttttatat catccacaaa agttgtgtg agcacaacat cgcgatttct	1680
cattacaaat cticccagat gaatttctcc tttcacatgc agaaacattt tttccttctt	1740
tgaagaatat gacaaaaata gttggtaagt ttcatttttg gaatatgaaa accgaaaact	1800

acccttgcca tgtaaagaaa ttgaggaggc tgtttcctca caacattgtt cagctttatt 1860

tgtttcagtg ggtgtaaatt ttagagatat agctgcatta aaatttgatg tcttctcttg 1920

gatgatactt ttaaagtctt caatttggtc ttctgtaagt tcggttctga aatttttctc 1980

gcctttgggt tcatagatca aagaagccac gttccaaggt cttcggtagt atgtcagagt 2040

gtttccatcc cgatcccggt tacagagtcc attgtagaac tcattgtcaa aagggtgtgct 2100

taggggatcc atccctaaaa tgttgatccc atagcctgct gttcgtgcca gctcagactc 2160

ttctaccact ctgtctctgc aggggggacg gggctcactt tcacaatcat cctcatctga 2220

aaagtctccg cagtcattgt caccattaca ccgaagtgcg atctttatgc atctgcctgt 2280

actgcattga aagtcatttc cgcagtcac ctcagcatcc tcacagggtc ctgtgggcac 2340

acactgtcgt ctgtctccca cagcgtcggg gcatcttttc ccattaaatt gtccaaagac 2400

ctcaatgctt ctgaacgaa acatttgtct gagacaagga tcgcattgtg accattcact 2460

ccaggggctc attctgcagt ctatgtgtga tgcagagcca ctgctttctg ttagctctgg 2520

gtcataactg gtcgtgtact gtgctgtgag gatgcttatt tctaaaatgc agattgcaac 2580

tgcaaagctc cggcaggctg acatctgctt ctgctgggt ggctgcgagt ggggtggcag 2640

ggcaggtctg gtaaggcatt tatttgcaa gggccagagg acagggaaca agc 2693

<210> 21

<211> 1767

<212> DNA

<213> Mus musculus

<400> 21

ctttttttt ccccttcca tgtgaaccag ggtttgcttt gtttctgaa ggctatat 60

tttgatggat ttgcaggcc attcccctaa acatcattgg gcaggagcac aggcaactgcc 120

catccagaag aattatagta cctccattta gacatgggta gcaccttta gtactgaatt 180

catctatata gtcttcaaca gccctttcca aattttgctt ctttatgtat gcactttta 240

ttttcaaagg aatgagatta tatatagggg acattctttg actgatgaga gctggagcgt 300

ttgccaggga cgaggccag ttggcgaagi cagtcctatc aaatgtcttg tctcctctga 360

gaatcttctc tttcaggaga attgcttgct ccctagtcct tctcttatg aatgaaatga 420

catcatctat gatgttatcg cgggtgatgt ttacagtttt ccattatct gtctttatgc 480

aaccatccgc attaacactt gctgtgactg atgcacctt taagtcgtct ttagaggaa 540

tacgtaaatc catattaaat ccaagacaat gttttacatc attcaggtca acactttct 600

ctttcatgga agctttatcc aagacataga caatttcata ttgtcctccc agggaccag 660

aggtactgta gtgagtccca taggtttcca aaaatccaaa atattctccc ttttcatagg 720
 aagttggtag agcttttaca tcatccagga aagttgacct cagcacaaca tcccgattcc 780

 tcattacaaa tctccccagt tggaccactc ctctcaagtg cacaacatc tttttcgact 840
 gcgaaaaata agatgatagt ctctgaaaat tttttcccat gaaatatgaa aatttaaatt 900
 tagctgaaat gttttaggtt tttgaagagt gttctgctgg ggagacttcc ccagctccct 960
 tttcaggtag ttcggtggct gaaaatttta gggcaaaatc tgcattaaaa ttcgaggctc 1020
 tctctcgggt gatggctttg aatacttcca agtgttcgtc atagtctca gttctgaaac 1080
 ttttatcagc cttggtttca tagatcagag aaactacatt ccaaggtttg cgatagtatg 1140
 tcttttcgtc tcttaccggg tcacagagtc cgtttagtaa ctcatgtca aaagggttc 1200

 tcaggggctc catccctaag atgttgatcc catagcctgc tgttagtccc agctctgatt 1260
 ctctcgctac tccgtcacgg catggggtgc gtgggtcacc gtcacagtca ttctcatcag 1320
 aataatctcc acagtcgttg tcaccattac acagaagtct cctctttatg cacctgcctg 1380
 tctcacactg aaagtcattt ccacagtttt cctgtatctc ttcacactcc tgggtgggtt 1440
 cacagccttg tctgtctccc aaaacatcaa cacagctttt cccattaaac tgtccgaagg 1500
 ctaaaatgct tcttgagcga aacctttgtt tgaggcaagg atcacactct gaccaattgc 1560
 tccatgggct cattctgcag tctatcggtg tgggatagtg ttgttcttgt tcttctctgg 1620

 aaacgggtat tggcatctgt gcattgacac ccaaggcaaa gatggcaagg gctaaggatga 1680
 tggccatgcc tgaggccatg ctgctcctcc tggggagccc tggaggcttg caaagcattc 1740
 ctttgcagcc ggaggacaag gggcagt 1767

 <210> 22
 <211> 2083
 <212> DNA
 <213> Rattus norvegicus
 <400> 22

 tgtttttaat ttaactctgt tttattagcg agagattggc attgcctgtg ggaaaaggca 60
 gtcctggcat atctcactgc cgattcttca ttagggataa aaaaaaaaaat ggaagcatta 120
 taggcattaa agaggggaga aaggcactgt agacctgaaa cagagacgac atcagaggtt 180

 ggtaggattt ccatgaagca agctgctttc tacttggcag tgaggattcg ctctagggtg 240
 ggatgctaag ttggaaagtc ctggggtttt ttcttttctc tctctcttct ctctcctctc 300
 tcttcttctt tttttgtcct tttttccacc ttccatgtga accaggtttt gctttgtttc 360
 ctgaaggcta tctttgttta ctgatttcgc aggcaatccc cttaaacttg attgtgcagg 420

agcacatgca ctgtccatcc agaagaattg ctgtgcctcc gttttgacat gggtagcact 480
 ttctagcact gaattcatta acatagtctt caatagcctt ttccatattc tgtttctttg 540
 cgtatgcac tttcattgtc aaaggaatga gattatagat aggggacagt ttttgactaa 600

 tgagagctgg agcgtcatcc aaggatgagg cccagttgat gaagtcgttc acatcaatcg 660
 tcttggtctc tctgagaagc ttctctttca ggagaactgc ttgcttctcg gtccctctc 720
 ttatgaatga aataacatca tctatgatgt gatcgcggt gatgtttact actttacat 780
 cccctgtctt taagcaatca ctgtgattaa cattggctgt caatgatggt ccttctaagg 840
 cagttttag aggcgtatat agagaaacat ccagggttaa cccaagacac cgctttacgt 900
 cgctgagttc aacaccttc tctttcatgg aagctttatc caagacatag atcagttcgt 960
 agagccctcc cagggaccca gagctactgt agtgagtccc ataagtctcc aaaaacccaa 1020

 aatattcgcc cttttcatag gaaactggta aagcctttac atcatccagg aaagttgtcg 1080
 tcagcataac gccccgattc ctcatgacaa atctcccag ttgaatcatt cctctcacgt 1140
 gcagaaacat ctttttcgtc tgtgacaagt aggatgacaa tcgttgaaaa ttttctttct 1200
 tgaaatatga aaattgaaaa tcaacagaag agtctttagg ctttgaagag tttttttctg 1260
 ggctgacttc atcaactcca acttttttta taggtgcttc agtgattgtg aattttagag 1320
 ctaaattagc attaaaactc gtggctctgt ctcggacgat ggttttgaac atttcaaact 1380
 gtcttcata attctcagtt ctgaaatttt tgcagcctt ggtttcatag gccagaaatg 1440

 ctacgttcca aggtttgcga tagtatgtca aagtgtttcc gtcccgtacc cggtcacaga 1500
 gtccattgta gaactcatg tcaaaaggcg tgcccagggg atccatccct aagatgttga 1560
 tcccatatcc tgctgttctg cccagttccg attctttac cacccggtca cggcacggga 1620
 ggcgcgggtc actttcacag tcacttcat cagaaaaatc tccacagtcg ttgtcaccat 1680
 tacacagaag tttctcttt atgcacctgc ctgtttcaca ctgaaagtca ttcccacagt 1740
 tttctgtac ctcttcacac tctgagtgg gttcacaatg ttgtctgtct cccaagcat 1800
 cagcacagct ttttccctga aactgtccaa agacttccat gtttcttag cgaaaccttt 1860

 gtttgaggca aggatcacac tgtgaccact gactccatgt gtcattctg cagtctattg 1920
 gtaggagggc gtctgtgat ggctcttccc ggggagtggg ctctggggcc tgtgcattga 1980
 tctccaaggc aaagattgca atggctaggg tgatggtcac gcctgaggcc atgccgtcc 2040
 tcctaggcag ccctggagtc ctgagaagca tttctttgca acc 2083

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

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

hydrophobic membrane translocation peptide"

<400> 23

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

1 5 10 15

<210> 24

<211> 11

<212> PRT

<213> Unknown

<220><221> source

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

analogue peptide"

<400> 24

Ala Ala Leu Leu Pro Val Leu Leu Ala Ala Pro

1 5 10

<210> 25

<211> 13

<212> PRT

<213> Human immunodeficiency virus

<400> 25

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

1 5 10

<210> 26

<211> 16

<212> PRT

<213> Drosophila sp.

<400> 26

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

1 5 10 15

<210> 27

<211> 2289

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 27

atggggagca gtctcagccc ccagctctac ctgatgccct tcatcttggg cctcttatct	60
gcagggtgtga ccaccactcc attgtcttcg gcccagcctc aaggatcctg ctctctggag	120
ggggtagaga tcaaaggtgg ctctctccga cttctccaag agggccaggc actggaatac	180
gtgtgtcctt ctggcttcta cccgtaccct gtgcagacac gtacctgcag atccacgggg	240
tcctggagca ccttcagac tcaagatcga aaaactgtca agaaggcaga gtgcagagca	300
atccgctgtc cagcaccaca ggacttcgag aacggggaat accggcccg gtctccctac	360
tacaatgtga gtgatgagat ctctttccac tgctatgacg gttacactct ccggggctct	420
gccaatcgca cctgccaaat gaatggccgg tggagtgggc agacagcgat ctgtgacaac	480
ggagcggggt actgctcaa cccaggcatc cccattggca caaggaaggt gggcagccgg	540
taccgccttg aagacagcgt cacctaccac tgcagccggg ggcttacct gcgtggctcc	600
cagcggcgaa catgtcagga aggtggctct tggagcggga cggagccttc ctgccaagac	660
tccttcatgt acgacacccc tcaagagggt gccgaagctt tcctgtcttc cctgacggag	720
accatagaag gattcgatgc cgaggatggg cacagcccag gggaacaaca gaagcggagg	780
atcatcctag acccttcagg ctccatgaac atctacctgg tgctagatgg atcagacagc	840
attggggccg gcaacttcac aggagccaaa aagtgtctag tcaacttaat tgagaagggtg	900
gcaagttatg gtgtgaagcc aagatatgct ctagtacat atgccacata cccagaatt	960
tgggtcaaag tgctgacca agagagcagc aatgcagact gggtcacgaa gaagctcagt	1020
gaaatcaatt atgaagacca caagttgaag tcagggacta acaccaagag ggccctccag	1080
gcagtgata gcatgatgag ttggccagag gacatccctc ctgaaggctg gaaccgcacc	1140
cgccatgtca tcatcctcat gaccgatgga ttgcacaaca tgggcgggga cccaattact	1200
gtcattgatg agatccggga cttgttatac atcggaagg atcgtaaaaa cccgagggag	1260
gattatctgg atgtctatgt gtttggggtt ggacctttgg tggaccaagt gaacatcaat	1320
gctttggctt ccaagaaaga caatgagcaa catgtgttca aagtcaagga tatggaaaac	1380
ctggaagacg ttttcttcca aatgattgat gaaagccagt ctctgagtct ctgtggcatg	1440
gtttgggaac acacgacggg taccgattac cacaagcaac catggcaggc caagatctca	1500
gtcactcgcc cttcgaaggg acatgagagc tgtatggggg ctgtggtgtc tgagtacttt	1560
gtgtgacag cagcacattg ttttactgtg gacgacaagg aacctcgat caaggtcagc	1620
gtggggaaga agcgggacct ggagatagaa aaagtcctat ttcaccccga ctacaacatt	1680

agcgggaaaa aagaagcagg aattcctgaa ttttatgact atgacgttgc cctgatcaag 1740
ctcaagaata agttgaatta tgacccgact atcaggccca tttgtctccc ctgcaccgag 1800
ggaacaactc gagctttgag gcttcctcca actaccactt gccagcaaca gaaggaagag 1860
ctgctccctg cacaggatat caaagctctg tttgtgtctg aggaggagaa gaagctgact 1920

cggaaggagg tctacatcaa gaatggggat aagaaaggca gctgtgagag agatgctcaa 1980
tatgccccag gctatgacaa agtcaaggac atctccgagg tggtcacccc tcggttcctt 2040
tgtactggag gagttagtcc ctatgctgac cccaatactt gcagaggatga ttctggcggc 2100
cccttgatag ttcacaagag aagtcgtttt attcaagttg gtgtcatcag ctggggagta 2160
gtggatgtct gcaaaaacca gaagcggcaa aagcaggtag ctgctcacgc ccgagacttt 2220
cacgtcaacc tctccaagt gctgcctgg ctgaaggaga aactccaaga tgaggatttg 2280
ggttttctc 2289

<210> 28
<211> 4989
<212> DNA
<213> *Macaca fascicularis*
<400> 28

atgggactca cctcaggctc cagcctgctg ctctgtctac taatccacct ccccttggt 60
ctggggactc ccatgtactc tatgatcacc cccaacgtct tgcggctgga gagtgaggag 120
accgtggtgc tggaggccca cgacgcgaat ggggatgttc cggctactgt cactgtccac 180
gacttcccag gcaaaaaact ggtgctgtcc agtgagaaga ccgtactgac ccctgccacc 240
agccacatgg gcagcgtcac catcaggatc ccagccaaca aggagttaa gtcagaaaag 300
gggcacaaca agttcgtgac tgtgcaggcc accttcgggg cccaagtgtt ggagaagggtg 360

glactggtca gccttcagag cgggtacctc ttcattcaga cagacaagac catctacacc 420
cctgggtcca cagttctctg tcggatcttc accgtcaacc acaagctgct acccgtgggc 480
cggacggctg tggtaacat tgagaaccgc gacggcatcc cggtaagca ggactccttg 540
tcttctcaga accaatttgg catcttgccc ttgtcttggg acattccgga actcgtcaac 600
atgggccagt ggaagatccg agcctactat gaaaattcgc cgcaacaggt cttctccact 660
gagtttgagg tgaaggagta cgtgctgccc agtttcgagg tcatagtga gcctacagag 720
aaattctact acatctataa ccagaagggc ctggaggtca ccatcaccgc caggttcctc 780

tatggaaaga aagtggaggg aactgccttt gtcatcttcg ggatccagga tggcgagcag 840
aggatttccc tgctgaatc cctcaagcgc atccagattg aggatggctc aggagacgcc 900

gtgctgagcc ggaaggtact gctggacggg gtgcagaatc cccgaccgga agacctggtg	960
gggaagtctt tgtacgtgtc tgtcaccgtt atcctgcact caggcagtga catggtgcag	1020
gcggagcgca gcgggatccc catcgtgacc tctccctacc agatccactt caccaagacg	1080
cccaagtact tcaaaccagg aatgcccttt gacctcatgg tgttcgtgac gaaccccgat	1140
ggctctccag cctaccgagt ccccgtaggca gtccagggcg aggacgctgt gcagtctcta	1200
acccaggag acggcgtggc caaactcagc atcaacacac accccagcca gaagcccttg	1260
agcatcacgg tgcgcacgaa gaagcgggag ctctcggagg cggagcaggc taccaggacc	1320
atggaggctc agccctacag caccgtgggc aactccaaca attacctgca tctctcagt	1380
ccacgtgcag agctcagacc tggggagacc ctcaacgtca acttcctcct gcgaatggac	1440
cgcaccagg aggccaagat ccgctactac acctacctga ttatgaaca aggcaagctg	1500
ttgaaggtgg gacgccaggt gcgagagcct ggccaggacc tggtaggtgt gcccctgtcc	1560
atcaccaccg acttcatccc ttcttccgc ctggtagcct actacacgt gatcggcgcc	1620
aacggccaga gggaagtgtt ggccgactcc gtgtgggtgg acgtcaagga ctcttgctg	1680
ggctcgctgg tggtaaaaag cggccagtca gaagacaggc agcctttacc cgggcagcag	1740
atgacctga agatagagg tgaccacggg gcccggtgg gactggtggc tgtggacaag	1800
ggcgtgtttg tgcigaataa gaagaacaag ctgacgcaga gtaagatctg ggacgtggtg	1860
gagaaggcag acatcggtg caccacaggc agtgggaagg attacgtgg tgtcttctcg	1920
gatgcaggcc tgacctttgc gagcagcagt ggccagcaga cggcccagag ggcagaactt	1980
cagtgccac agccagccgc ccgccgacgc cgttccgtgc agctcgcgga gaagagaatg	2040
gacaaagtgt gtcagtacc caaggagctg cgcaagtgt gcgagcacgg tatgcgggag	2100
aacccatga ggttctcatg ccagcgccgg acccgttaca tcacctgga cgaggcgtgc	2160
aagaaggcct tcttgactg ctgcaactac atcactgagc tgcggcgga gcacgcggg	2220
gccatgcacc tgggcctggc caggagtaac ctggatgagg acatcatgc agaagagaac	2280
atcgtttccc gaagtgagtt ccagagagt tggctgtgga agattgaaga gttgaaagag	2340
gcaccgaaaa acggaatctc cacgaagctc atgaatatat tttgaaaga ctccatcacc	2400
acgtgggaga ttctggccgt gagcttgtca gacaagaaag ggatctgtgt ggcagacccc	2460
ttcgaggtea cagtaatgca ggacttcttc atcgacctgc ggctacccta ctctgttgtt	2520
cgaaacgagc aggtggaaat ccgagctgtt ctctacaatt accggcagaa ccaagagctc	2580
aaggtgaggg tggaactact ccacaatcca gccttctgca gcctggccac cgccaagagg	2640
cgtcaccagc agaccgtaac catccccccc aagtctctgc tgtccgttcc ttatgtcatc	2700
gtgcccctaa agaccggcca gcaggaagtg gaagtcaagg ctgccgtcta ccattttttc	2760

atcagtgcag gtgtcaggaa gtccctgaag gtcgtgccgg aaggaatcag aatgaacaaa	2820
actgtggctg ttcgcacgct ggatccagaa cgcctgggcc aggaaggagt gcagagagag	2880
gacgtccac ctgcagacct cagtgaccaa gtcccgaca ccgagtctga gaccagaatt	2940
ctcctgcaag ggaccccggt ggcccagatg acagaggatg ccatcgatgc ggaacggctg	3000
aagcacctca tcgtgacccc ctccggctgc ggagaacaga acatgatcac catgacgccc	3060
acagtcatcg ctgtgcatta cctggatgaa acggaacagt gggagaagtt cggcccggag	3120
aagcggcagg gggccttggg gctcatcaag aaggggtaca cccagcagct ggccttcaga	3180
caaccagct ctgcctttgc ggccttctg aaccgggcac ccagcacctg gctgaccgcc	3240
tacgtggtca aggtcttctc tctggctgtc aacctcattg ccatcgactc ccaggctctc	3300
tgcggggctg ttaaattggt gatcctggag aagcagaagc ccgacgggt cttccaggag	3360
gatgcgccc tgatacatca agaatgact ggtggattcc ggaacaccaa cgagaaagac	3420
atggccctca cggcctttgt tctcatctcg ctgcaaggagg ctaaagagat ttgcgaggag	3480
caggtcaaca gcctgccagg cagcatcact aaagcaggag acttccttga agccaactac	3540
atgaacctac agagatccta cactgtggcc atcgctgcct atgcctggc ccagatgggc	3600
aggctgaagg gacctcttct caacaaattt ctgaccacag ccaaagataa gaaccgtgg	3660
gaggagcctg gtcagcagct ctacaatgtg gaggccacat cctatgcct cttggcccta	3720
ctgcagctaa aagactttga ctttgtgcct cccgtcgtgc gttggctcaa tgaacagaga	3780
tactacgggt gtggctatgg ctctaccag gccaccttca tgggtttcca agccttggct	3840
caatacaaaa aggatgtccc tgatcacaag gaactgaacc tggatgtgtc cctccaactg	3900
cccagtcga gctccaagat catccaccgt atccactggg aatctgccag cctcctgcga	3960
tcagaagaga ccaaggaaaa tgagggtttc acagtcacag ctgaaggaaa aggccaaggc	4020
accttgtcgg tagtgacaat gtacatgct aaggccaaag gtcaactcac ctgtaataaa	4080
ttcgacctca aggtcacat aaaaccagca ccggaacag aaaagaggcc tcaggatgcc	4140
aagaacacta tgatccttga gatctgtacc aggtaccggg gagaccagga tgccactatg	4200
tctatactgg acatatccat gatgactggc ttcgttccag acacagatga cctcaagcag	4260
ctggcaaacg gcgttgacag atacatctcc aagtatgagc tggacaaagc cttctccgat	4320
aggaacacc tcacatcta cctggacaag gtctcacact ctgaggatga ctgtatagct	4380
ttcaaagttc accaatattt taatgtagag cttatccagc ctggtgcagt caaggcttac	4440
gcctattaca acctggcgga aagctgtacc cggttctacc acccgaaaa ggaggatgga	4500

aagctgaaca agctctgtcg tgatgagctg tgccgctgtg ctgaggagaa ttgcttcata	4560
caaaagttag atgacaaagt caccctggaa gaacggctgg acaaggcctg tgagccagga	4620
gtggactatg tgtacaagac ccgactggc aaggcccagc tgtccaatga ctttgacgag	4680
tacatcatgg ccattgagca gatcatcaag tcaggctcgg atgagggtgca ggttggacaa	4740
cagcgcacgt tcatcagccc catcaagtgc agggaaagccc tgaagctgga ggagaggaaa	4800
cactacctca tgtgggtct ctctccgat ttctggggag agaaacccaa tctcagctac	4860
atcatcgga aggacacctg ggtggagcac tggcccagg aggacgaatg ccaagatgaa	4920
gagaaccaga aacaatgcca ggacctcggc accttctactg agaacatggt tgtctttggg	4980
tgccccaac	4989
<210> 29	
<211> 2955	
<212> DNA	
<213> <i>Macaca fascicularis</i>	
<400> 29	
cccaaattga caaaaccct gaatgcagac aaacaatact tgttcctgt cctctggccc	60
tttgcaaata aatgccttac ccgacctgct ctgccacccc actcgcagcc acccagcaag	120
agcagcatgt cagcctgctg gagctttgca gctgcaatct gcattttaga aataagcgtc	180
ctcacagcag agtacacgcc cagttatgac ccacagccaa cagaaagccg tggttccgca	240
tcgcacatag actgcagaat gagcccctgg agtgaatggt cacaatgcga tccttgccctc	300
agacaaatgt ttcgttcaag aagcattgag gtcttcggac aatttaatgg gaaaagttgc	360
accgatgctg tgggagacag acgacagtgt gtgccacag agccctgtga ggatgctgag	420
gatgactcgc gaaatgactt tcaatgcggt acaggcagat gcataaagag gcgactcctg	480
tgtaatgggt acaatgactg tggagacttt tcagatgagg atgattgtga aagtgatccc	540
cgtccccct gcagagacag agtggttagaa gactctgagc tggcacgaac agcaggtac	600
gggatcaaca ttttagggat ggatccccta agcacacctt ttgacaatga gttctacaat	660
ggactctgta accgggatcg ggatggaaac actttgacat actaccgaag accctggaac	720
gtggcttctt tgatctatga aaccaaggc gagaaaaatt taagaaccga acattatgaa	780
gaacaaattg aagcatttaa aagtatcgtc caagagaaga catcaaattt taatgcagat	840
atatctctaa aatttacacc cactgaagca aataaagtta aaactgaaaa gtcttctgag	900
aaacaagcct cctcaaattc tttaactggc cagggtagtt ttcggttttc atattccaaa	960
aatgaaactt accaactatt ttgtcatat tcttcaaaga aggaaaaat gttcctgcat	1020

gtgaaaggag aaattcatct gggaagattt atgatgagaa atcgtgatgt tgtgtcaca	1080
acaacttttg tggatgatat aaaagctttg ccaactacct atgaaaaggg agaataat	1140
gccttttttg aaacctatgg aaccactac agtagctctg ggtctctggg aggactctat	1200
gaactaata atgttttga taaagcttcc atgaaccgga aagggttga actaaaagat	1260
gtaaagagat gcctcgggta tcatctggat gtatctctgg atttctctaa aatctctgct	1320
ggagctaaag ctgataaaga tgatttgtta aagaggggag agggtagagc tgtaaacatc	1380
accagtgatc acctcataga tgatgttatt tcaactataa gaggtggaac cagacaatat	1440
gcatttgaac tgaagaaaa gcttctccga ggaacatga ttgatgtgac tgattttgtc	1500
aactgggcct ctccataaa tgatgtcctt gttctcatta gtcaaaaact gtctcctata	1560
tataatctgg ttccagtga aatgaaaaat gcacaccta agaaacaaaa ctggaaaga	1620
gccattgaag actatatcaa tgaatttagt gtaagaaaa gccactcatg ccaaatgga	1680
ggtacagcaa ttctaattga tggaaagtgt ttgtgtacct gccattcaa atttgaggga	1740
attgcctgtg aaatcagtaa acaaaaagtt tctgaaggat tgccagccct agacttcccc	1800
cgtgaaaaat agaactgttg gcttctctga gctccagtgg aagaaaagaa cactaggacc	1860
ttcagatcct atccctgaag ataatcttag ctgcaaaga aatagcaaca tgcttcatga	1920
aaatcctacc aacttctgaa gtctcctctc ttaggtctat aattatttt taattttct	1980
ttcttaaaact cciatgatgt ttccattttt tattccctaa tgaggagtca agagtgaaat	2040
atgccagaac tgctttctcc cacagacaat gccaatctct tcttaaaaa acaaaattaa	2100
attaaaacag aatgttggtt taaaaacttc aaagtaattg tcaaactgct ttgtacggtt	2160
aacatattct gccaaagtcta tgaccacacg tctgtacat gcaatttaac tcttatttac	2220
attgttatgt ttggtttgg ttttgccta ggtgtgcata cattattca gcaaatactg	2280
aacaccagcc acctgcacag cagttgcttt tattagtctt aactctacca tttaaatcta	2340
tgtgtccaag ggggaaaatg tgttatattt gtaacaaaa actactagtt taccaaagc	2400
tggaagggtg gtggggaagg gagataaaga ggagatgatt aatacaaac tccagttaga	2460
tgaagggaat aatataata gtgttcagca acacaataga gtgactataa actattagct	2520
taaattatgt gaaattgcct ctatttgatc ttattttaca agagaaaaac atcaatttta	2580
tatagtctaa cttaatacct aggttatga gttgtataag gtaacgttac ctacctgaga	2640
agctgattaa cattggctgt acaatcttat ccattagaga acatgatact tagggctga	2700
gaccttttga aaaggtctga aaactcttta aaaaaagga aagaaagaaa gaaatgagga	2760

aaaacatatc aaaataaaaa aatgcaaaaat caaatTTaat aaatgcttag acatcagcat	2820
gigtcatgtt aactttattg ttactattaa tacacatttc acacatttat aaataaatta	2880
tgttactttt tctcacttgg gagaaattct caagaatgca tttgattgct gggagataac	2940
agtaactaaa ttacc	2955
<210> 30	
<211> 2727	
<212> DNA	
<213> Macaca fascicularis	
<400> 30	
atttctggtc cctaagtggg tggctctgggc ttgttgggga ggagctgagg ccagaaggag	60
gtactgaagg ggagagtctt ggaccttggg cagcaaaggg tgggacttct gcagtttctg	120
cttccttgac tggcagctca gcggggccct cccgcttga tgttccggga aagtgatgag	180
ggtaggacag gcggggcaag ctgcaggtgc cagaacacag attgcataaa aggccgggag	240
ctggtggggg gcaggggaag ggaatgtgac caggtctagg tctggagttt cagcttggac	300
actgagctaa gtagacaagc aaaacaagcc aggacacgcc atcctgcccc aggccagct	360
tctctcctgc cttctaagc catggggagc agtctcagcc cccagctcta cctgatgccc	420
ttcatcttgg gectcttate tgcaggtgtg accaccactc cattgtcttc ggcccagcct	480
caaggatcct gctctctgga gggggtagag atcaaaggtg gctccttccg acttctcaa	540
gagggccagg cactggaata cgtgtgtcct tctggcttct acccgtaacc tgtgcagaca	600
cgtacctgca gatccacggg gtcctggagc accctgcaga ctcaagatcg aaaaactgtc	660
aagaaggcag agtgcagagc aatccgctgt ccacgaccac aggacttcga gaacggggaa	720
taccggcccc ggtctcccta ctacaatgtg agtgatgaga tctctttcca ctgctatgac	780
ggttacactc tccggggctc tgccaatcgc acctgccaag tgaatggccg gtggagtggg	840
cagacagcga tctgtgacaa cggagcgggg tactgtctca acccaggcat cccattggc	900
acaaggaagg tgggcagccg gtaccgcctt gaagacagcg tcacctacca ctgcagccgg	960
gggcttacc tgcgtggctc ccagcggcga acgtgtcagg aaggtggctc ttggagcggg	1020
acggagcctt cctgccaaga ctcttctatg tacgacaccc ctcaagaggt ggccgaagct	1080
ttctgtctt cctgacgga gaccatagaa ggagtcgatg ccgaggatgg gcacagccca	1140
ggggaacaac agaagcggag gatcatccta gaccttcag gctccatgaa catctacctg	1200
gtgctagatg gatcagacag cattggggcc ggcaacttca caggagccaa aaagtgtcta	1260
gtcaacttaa ttgagaaggt ggcaagttat ggtgtgaagc caagatatgc tctagtgaca	1320

tatgccacat accccagaat ttgggtcaaa gtgtctgacc aagagagcag caatgcagac	1380
tgggtcacga agaagctcag tgaaatcaat tatgaagacc acaagttgaa gtcagggact	1440
aacaccaaga gggccctcca ggcagtgtac agcatgatga gttggccaga ggacatccct	1500
cctgaaggct ggaaccgcac ccgcatgtc atcatcctca tgaccgatgg attgcacaac	1560
atgggcgggg acccaattac tgtcattgat gagatccggg acttgttata catcggaag	1620
gatcgcaaaa acccgaggga ggattatctg gatgtctatg tgtttggggt tggacctttg	1680
gtggaccaag tgaacatcaa tgctttggct tccaagaaag acaatgagca acatgtgttc	1740
aaagtcaagg atatggaaa cctggaagac gttttcttcc aaatgattga tgaaagccag	1800
tctctgagtc tctgtggcat gggtttgggaa cacacgacgg gtaccgatta ccacaagcaa	1860
ccatggcagg ccaagatctc agtcactcgc ccttcgaagg gacatgagag ctgtatgggg	1920
gctgtggtgt ctgagtactt tgtgttgaca gcagcacatt gttttactgt ggacgacaag	1980
gaacactcga tcaaggctcag cgtggggaag aagcgggacc tggagataga aaaagtccta	2040
tttcccccg actacaacat tagcgggaaa aaagaagcag gaattcctga attttatgac	2100
tatgacgttg cctgatcaa gctcaagaaa aagttgaatt atgacccgac tatcaggccc	2160
atttgtctcc ccgtaccga gggaacaact cgagctttga ggcttcctcc aactaccact	2220
tgccagcaac agaaggaaga gctgtctcct gcacaggata tcaaagctct gtttgtgtct	2280
gaggaggaga agaagctgac tcggaaggag gtctacatca agaatgggga taagaaaggc	2340
agctgtgaga gagatgtca atatgcccc ggctatgaca aagtcaagga catctcggag	2400
gtggtcacc ctcggttctt ttgtactgga ggagtgagtc cctatgctga cccaatact	2460
tgcagagggtg attctggcgg ccccttgata gttcacaaga gaagtcgttt cattcaagtt	2520
ggtgtcatca gctggggagt agtggatgtc tgcaaaaacc agaagcgga aaagcaggtg	2580
cctgtctacg cccgagactt tcacgtcaac ctcttccaag tgctgcctg gctgaaggag	2640
aaactcaag atgaggattt ggggtttctc taagggttt cctgctggac aggggcgcgg	2700
gattgaatta aaacagctgc gacaaca	2727
<210> 31	
<211> 5106	
<212> DNA	
<213> Macaca fascicularis	
<400> 31	
ctgtcactc ctcccatcc tctccctctg tccctctgtc cctctgacct tgcactgtcc	60
cagcaccatg ggactcacct caggccccag cctgtctctc ctgtactaa tccacctccc	120

cctggctctg gggactccca tgtactctat gatcacccca aacgtcttgc ggctggagag	180
tgaggagacc gtggtgctgg aggcccatga cgcgaatggg gatgttccgg tcaactgtcac	240
tgtccacgac ttcccaggca aaaaactggt gctgtccagt gagaagaccg tgctgacccc	300
tgccaccagc cacatgggca gcgtcaccat caggatccca gccaacaagg agttcaagtc	360
agaaaagggg cacaacaagt tcgtgactgt gcaggccacc ttcggggccc aagtgttgga	420
gaaggtggta ctggtcagcc ttcagagcgg gtacctcttc atccagacag acaagaccat	480
ctacacccct ggctccacag ttctctgtcg gatcttcacc gtcaaccaca agctgctacc	540
cgtgggccgg acggtcgtgg tcaacattga gaaccggac ggcatcccgg tcaagcagga	600
ctccttgtct ttcagaacc aatttggcat cttgcccttg tcttgggaca ttccggaact	660
cgtcaacatg ggccagtggga agatccgagc ctactatgaa aattcgccgc aacaggtctt	720
ctccactgag tttgaggatga aggagtacgt gctgcccagt ttcgaggatca tagtgagacc	780
tacagagaaa ttctactaca tctataacca gaaggcctg gaggtcacca tcaccgccag	840
gttcctctat ggaagaaaag tggagggaac tgcctttgtc atcttcggga tccaggatgg	900
cgagcagagg atttccctgc ctgaatccct caagcgcac cagattgagg atggctcagg	960
agacgccgtg ctgagccgga aggtactgct ggacggggtg cagaatcccc gaccggaaga	1020
cctagtgggg aagtccttgt atgtgtctgt caccgttacc ctgcactcag gcagtacat	1080
ggtgcaggcg gagcgcagcg ggatcccat cgtgacctct ccctaccaga tccacttcac	1140
caagacgccc aagtacttca aaccaggaat gccctttgac ctcatggtgt tcgtgacgaa	1200
ccccgatggc tctccagcct accgagtccc cgtggcagtc caggcgagg acgtgtgca	1260
gtctctaacc caggagacg gcgtggccaa actcagcatc aacacacacc ccagccagaa	1320
gcccttgagc atcacggtgc gcacgaagaa gcgggagctc tcggaggcgg agcaggtac	1380
caggaccatg gaggtcagc cctacagcac cgtgggcaac tccaacaatt acctgcatct	1440
ctcagtgcc cgtgcagagc tcagacctgg ggagaccctc aacgtcaact tctcctgcg	1500
aatggaccgc acccaggagg ccaagatccg ctactacacc tacctgatta tgaacaaagg	1560
caagctgttg aaggtgggac gccaggtgcg agagcctggc caggacctgg tgggtgtgcc	1620
cctgtccatc accaccgact tcatcccttc cttccgctg gtggcctact acacgtgat	1680
cggcgccaac ggccagagg aagtgtggc cgaactcgtg tgggtggacg tcaaggactc	1740
ttgcgtgggc tcgtgtgtgg taaaaagcgg ccagtcagaa gacaggcagc ctttaccgg	1800
gcagcagatg accctgaaga tagagggtga ccacggggcc cgggtgggac tgggtgctgt	1860
ggacaagggc gtgtttgtgc tgaataagaa gaacaagctg acgcagagta agatctggga	1920

cggtgtggag aaggcagaca tcggctgcac cccaggcagt gggaaggatt acgctggtgt	1980
cttctcggat gcaggcctga cttttgcgag cagcagtggc cagcagacgg cccagagggc	2040
agaacttcag tgcccacagc cagccgcccg ccgacgccgt tccgtgcagc tcgctggagaa	2100
gagaatggac aaagtgtgtc agtaccccaa ggagctgcgc aagtgtgcg agcacggtat	2160
gcgggagaa cccatgaggt tctcatgcca gcgccggacc cgttatcatca ccctggacga	2220
ggcgtgcaag aaggccttcc tggactgctg caactacatc accgagctgc ggcggcagca	2280
cgcgcgggcc agtcacctgg gcctggccag gagtaacctg gatgaggaca tcatcgcaga	2340
agagaacatc gtttcccga gtgagttccc agagagtgg ctgtggaaga ttgaagagtt	2400
gaaagaggca ccgaaaaacg gaatctccac gaagctcatg aatatatatt tgaaagactc	2460
catcaccacg tgggagattc tggccgtgag cttgtcagac aagaaaggga tctgtgtggc	2520
agaccccttc gaggtcacag taatgcagga cttcttcacg gacctgcggc taccctactc	2580
tgttgttcga aacgagcagg tggaaatccg agctgttctc tacaattacc ggcagaacca	2640
agagctcaag gtgagggtgg aactactcca caatccagcc ttctgcagcc tggccaccgc	2700
caagaggcgt caccagcaga ccgtaacat ccccccaag tctctgctgt ccgttcttta	2760
tgtcatcgtg cccctaaga ccggccagca ggaagtggaa gtcaaggctg ccgtctacca	2820
tttttctac agtgacggtg tcaggaagtc cctgaaggtc gtgccggaag gaatcagaat	2880
gaacaaaact gtggctgttc gcacgtgga tcagaaacgc ctgggccagg aaggagtga	2940
gagagaggac gtccacctg cagacctcag tgaccaagtc ccggacaccg agtctgagac	3000
cagaattctc ctgcaaggga ccccggtggc ccagatgaca gaggatgcca tcgatgccga	3060
acggctgaag cactcatcg tgaccccttc gggtgcgga gaacagaaca tgatcaccat	3120
gacgcccaca gtcatcgctg tgcatctacc ggatgaaacg gaacagtggg agaagttcgg	3180
cccggaag cggcaggggg ccttggagct catcaagaag gggtacacc agcagctggc	3240
cttcagaaa cccagctctg cttttgcggc cttctgaac cgggcacca gcacctggct	3300
gaccgctac gtgtcaagg tcttctctct ggtgtcaac ctcatgcca tcgactccca	3360
ggtcctctgc ggggtgtta aatggctgat cctggagaag cagaagcccg acgggtctt	3420
ccaggaggat gcgccctga tacatcaaga aatgactggt ggattccgga acaccaacga	3480
gaaagacatg gccctcacgg cttttgttct catctcgctg caagaggcta aagagatttg	3540
cgaggagcag gtcaacagcc tgcccggcag catcactaaa gcaggagact tccttgaagc	3600
caactacatg aacctacaga gatcctacac tgtggccatc gctgcctatg ccctggccca	3660

gatgggcagg ctgaaggac ctctttctca caaatttctg accacagcca aagataagaa	3720
ccgctgggag gaggctggc agcagctcta caatgtggag gccacatcct atgccctctt	3780
ggccctactg cagctaaaag actttgactt tgtgcctccc gtcgtgcgtt ggctcaatga	3840
acagagatac tacgggtggc gctatggctc taccaggcc accttcacatg tgttccaagc	3900
cttggctcaa taccaaaagg atgtccctga tcacaaggaa ctgaacctgg atgtgtccct	3960
ccaactgccc agtcgcagct ccaagatcat ccaccgtatc cactgggaat ctgccagcct	4020
cctgcgatca gaagagacca aggaaaatga gggtttcaca gtcacagctg aaggaaaagg	4080
ccaaggcacc ttgtcggtag tgacaatgta ccatgctaag gccaaaggtc aactcacctg	4140
taataaatc gacctcaagg tcaccataaa accagcaccg gaaacagaaa agaggcctca	4200
ggatgccaa aacactatga tccttgagat ctgtaccagg taccggggag accaggatgc	4260
cactatgtct atactggaca tatccatgat gactggcttc gttccagaca cagatgacct	4320
caagcagctg gcaaacggcg ttgacagata catctccaag tatgagctgg acaaagcctt	4380
ctccgatagg aacacctca tcactacct ggacaaggtc tcacactctg aggatgactg	4440
tatagctttc aaagttcacc aatatittaa ttagagctt atccagcctg gtgcagtcaa	4500
ggtctacgcc tattacaacc tggcggaaag ctgtaccggg ttctaccacc cagaaaagga	4560
ggatggaaa ctgaacaagc tctgtcgtga tgagctgtgc cgctgtctg aggagaattg	4620
cttcatacaa aagtggatg acaaagtcac cctggaagaa cggttggaag aggcctgtga	4680
gccaggagtg gactatgtgt acaagaccgc actggtcaag gccagctgt ccaatgactt	4740
tgacgagtac atcatggcca ttgagcagat catcaagtca ggctcggatg aggtgcaggt	4800
tggacaacag cgcacgttca tcagcccat caagtgcagg gaagccctga agctggagga	4860
gaggaacac tacctcatgt ggggtctctc ctccgatttc tggggagaga aaccaatct	4920
cagctacatc atcggaagg acacctgggt ggagcactgg cccgaggagg acgaatgcca	4980
agatgaagag aaccagaaac aatgccagga cctcggcacc ttactgaga acatggttgt	5040
ctttgggtgc cccaactgac cacacccca ttccccact cccaataaag cttcagttat	5100
atttca	5106
<210> 32	
<211> 2091	
<212> DNA	
<213> Macaca fascicularis	
<400> 32	
ttccctgtcc tctggccctt tgcaataaaa tgccttacc gacctgtct gccacccac	60

tcgcagccac ccagcaagag cagcatgtca gcctgctgga gctttgcagc tgcaatctgc	120
attttagaaa taagcatcct cacagcagag tacacgcca gttatgaccc acagccaaca	180
gaaagccgtg gttccgcac gcacatagac tgcagaatga gccctggag tgaatggtea	240
caatgcgac cttgcctcag acaaatgttt cgttcaagaa gcattgaggt cttcgacaa	300
tttaatggga aaagttgcac cgatgctgtg ggagacagac gacagtgtgt gccacagag	360
ccctgtgagg atgctgagga tgactgcgga aatgactttc aatgcggtac aggcagatgc	420
ataaagaggc gactcctgtg taatggtagc aatgactgtg gagacttttc agataggat	480
gattgtgaag gtgatcccg tccccctgc agagacagag tggtagaaga gtctgagctg	540
gcacgaacag caggctacgg gatcaacatt ttagggatgg atcccctaag cacacctttt	600
gacaatgagt tctacaatgg actctgtaac cgggatcggg atggaaacac tttagacatac	660
taccgaagac cctggaacgt ggcttctttg atctatgaaa ccaaaggcga gaaaaattta	720
agaaccgaac attatgaaga acaaatgaa gcatttaaaa gtatcgtcca agagaagaca	780
tcaaatttta atgcagatat atctctaaaa ttacaccca ctgaagcaaa taaagttaaa	840
actgaaaagt cttctgagaa acaagcctct tcaaatctt tacgtggcca gggtagtttt	900
cggttttcat attccaaaa tgaaacttac caactatttt tgtcatattc ttcaaagaag	960
gaaaaaatgt tctgcatgt gaaaggagaa attcatctgg gaagatttat gatgagaaat	1020
cgtgatgttg tgctcacaac aacttttgtg gatgatataa aagctttgcc aactacatat	1080
gaaaaggag aatattttgc ctttttgaa acctatggaa cccactacag tagctctggg	1140
tctctgggag gactctatga actaatatat gttttggata aagcttccat gaaccgaaa	1200
ggtgttgaac taaaagatgt aaagagatgc ctgggtatc atctggatgt atctctggat	1260
ttctctaaaa tctctgctgg agctaaagct gataaagatg atttgtataa gaggggagag	1320
ggtagagctg taaacatcac cagtgatcac ctcatagatg atgttatttc actcataaga	1380
ggtggaacca gacaatatgc atttgaactg aaagaaaagc ttctccgagg aacctgatt	1440
gatgtgactg attttgtcaa ctgggcctct tccataaatg atgctcctgt tctcattagt	1500
caaaaactgt ctctatata taatctggtt ccagtgaata tgaaaaatgc acacctaaag	1560
aaacaaaact tggaagagc cattgaagac tatatcaatg aatttagtgt aagaaaatgc	1620
cactcatgcc aaaaaggagg tacagcaatt ctaatggatg gaaagtgttt gtgtacctgc	1680
ccattcaaat ttgagggaat tgccttgtaa atcagtaaac aaaaagtttc tgaaggattg	1740
ccagccctag acttcccccg tgaaaaatag aactgttggc ttctctgagc tccagtggaa	1800

gaaaagaaca ctaggacctt cagatcctat cctgaagat aatcttagct gccaaagaaa 1860
 tagcaacatg cttcatgaaa atcctacca cttctgaagt ctcctctctt aggtctataa 1920
 ttatTTTTTTa atTTTTcttt cttaaactcc tatgatgttt ccattTTTTa ttcctaatag 1980
 aggagtcaag agtgaaatat gccagaactg cttctccca cagacaatgc caatctcttc 2040
 taaaaaaaac aaaattaaat taaaacagaa tgttggttta aaaacttcaa a 2091
 <210> 33
 <211> 2289
 <212> DNA
 <213> *Macaca fascicularis*
 <400> 33
 gagaaaaacc aaatcctcat cttggagttt ctccttcagc cagggcagca cttggaagag 60

 gttagcgtga aagtctcggg cgtgagcagg tacctgcttt tgccgcttct ggtttttgca 120
 gacatccact actccccagc tgatgacacc aacttgaata aaacgacttc tcttgtgaac 180
 tatcaagggg ccgccagaat cacctctgca agtattgggg tcagcatagg gactcactcc 240
 tccagtacaa aggaaccgag gggtgaccac ctcggagatg tccttgactt tgtcatagcc 300
 tggggcatat tgagcatctc tctcacagct gcctttctta tccccattct tgatgtagac 360
 ctccttcga gtcagcttct tctctctc agacacaaac agagctttga tatcctgtgc 420
 agggagcagc tcttcttct gttgtctggc agtggtagtt ggaggaagcc tcaaagctcg 480

 agttgttccc tcggtgcagg ggagacaaat gggcctgata gtcgggtcat aattcaactt 540
 attcttgagc ttgatcaggg caacgtcata gtcataaaat tcaggaattc ctgcttcttt 600
 tttcccgcta atgttgtagt cggggtgaaa taggactttt tctatctcca ggtcccgctt 660
 ctccccacg ctgacctga tcgagtgttc cttgtcgtcc acagtaaaac aatgtgctgc 720
 tgtcagcaca aagtactcag acaccacagc ccccatagag ctctcatgic ccttcgaagg 780
 gcgagtgact gagatcttgg cctgccatgg ttgcttggg taatcggtag ccgtcgtgtg 840
 ttcccaaacc atgccacaga gactcagaga ctggctttca tcaatcattt ggaagaaaac 900

 gtcttcagg ttttccatat ccttgacttt gaacacatgt tgctcattgt ctttcttga 960
 agccaaagca ttgatgttca cttgttccac caaaggcca accccaaaca catagacatc 1020
 cagataatcc tccctcgggt ttttacgac cttgccgatg tataacaagt cccggatctc 1080
 atcaatgaca gtaattgggt ccccgcccat gttgtgcaat ccatcggta tgaggatgat 1140
 gacatggcgg gtgcggttcc agccttcagg agggatgtcc tctggccaac tcatcatgct 1200
 gtacactgcc tggagggcc tcttggtgtt agtccctgac ttcaacttgt ggtcttcata 1260

attgatttca ctgagcttct tcgtgaccca gtctgcattg ctgctctctt ggtcagacac	1320
tttgacccaa attctggggg atgtggcata tgcactaga gcatactttg gcttcacacc	1380
ataacttgcc accttctcaa ttaagttgac tagacacttt ttggctcctg tgaagttgcc	1440
ggccccaatg ctgtctgac catctagcac caggtagatg ttcattggagc ctgaagggtc	1500
taggatgac ctcgccttct gttgttcccc tgggctgtgc ccatcctcgg catcgactcc	1560
ttctatggtc tccgtcaggg aagacaggaa agcttcggcc acctcttgag ggggtgtcgt	1620
catgaaggag tcttggcagg aaggctccgt cccgtccaa gagccacctt cctgacatgt	1680
tcgccgtgg gagccacgca gggtaagccc ccggctgcag tggtaggtga cgtgtcttc	1740
aaggcggtag cggctgcccc ccttccttgt gccaatgggg atgcctgggt tggagcagta	1800
ccccgtccg ttgtcacaga tcgtgtctg cccactccac cgccattca cttggcaggt	1860
gcgattggca gagccccgga gagtgtaac gtcatagcag tggaaagaga tctcatcact	1920
cacattgtag tagggagacc ggggcccgtt tccccgttc tcgaagtcct gtggtcgtgg	1980
acagcggatt gctctgact ctgccttctt gacagttttt cgatcttgag tctgcagggt	2040
gtccaggac cccgtggatc tgcaggtagc tgtctgcaca gggtacgggt agaagccaga	2100
aggacacacg tattccagt cctggccctc ttggagaagt cggaaggagc cacctttgat	2160
ctctacccc tcagagagc aggatccttg aggtggggc gaagacaatg gagtgggtgt	2220
cacacctgca gataagagc ccaagatgaa gggcatcagg tagagctggg ggctgagact	2280
gtccccat	2289
<210> 34	
<211> 4989	
<212> DNA	
<213> Macaca fascicularis	
<400> 34	
gttggggcac ccaaagacaa ccatgttctc agtgaagggt ccgaggtcct ggcattgttt	60
ctggttctct tcatcttggc attcttctc ctggggccag tgtccaccc aggtgtcctt	120
cccgatgatg tagctgagat tgggtttctc tccccagaaa tcggaggaga gacccacat	180
gaggtagtgt ttctctctc ccagcttcag ggttccctg cacttgatgg ggctgatgaa	240
cgtgcgctgt tgtccaacct gcacctcatc cgagcctgac ttgatgatct gctcaatggc	300
catgatgtac tcgtcaaaat cattggacag ctgggccttg accagtcggg tcttgtacac	360
atagtccact cctggctcac aggccttctc cagccgttct tccagggtga ctttgtcatc	420
caacttttgt atgaagcaat tctctcagc acagcggcac agtcatcac gacagagctt	480

gttcagcttt ccacccctct tttccgggtg gtagaaccgg gtacagcttt ccgccaggtt 540
glaataggcg tagacctga ctgcaccagg ctggataagc tctacattaa aatattggtg 600

aactttgaaa gctatacagt catcctcaga gtgtgagacc ttgtccaggt agatgatgag 660
gggtttccta tcggagaagg ctttgtccag ctcatacttg gagatgtatc tgtcaacgcc 720
gtttgccagc tgcttgaggt catctgtgtc tggaacgaag ccagtcacatca tggatatgtc 780
cagtatagac atagtggcat cctggtctcc ccggtacctg gtacagatct caaggatcat 840
agtgttcttg gcatcctgag gcctcttttc tgtttccggt gctggtttta tggtagacctt 900
gaggtcgaat ttattacagg tgagttgacc ttggccctta gcatggtaca ttgtcactac 960
cgacaagggt ccttggcctt ttcccttcagc tgtgactgtg aaaccctcat tttccttgggt 1020

ctcttctgat cgcaggaggg tggcagattc ccagtggata cggtagatga tcttggagct 1080
gcgactgggc agttggaggg acacatccag gttcagttcc ttgtgatcag ggacatcctt 1140
ttggtattga gccaaggctt ggaacacat gaaggtggcc tgggtlagagc catagccacc 1200
accgtagtat ctctgttcat tgagccaacg cagcagggga ggcacaaaagt caaagtcttt 1260
tagctgcagt agggccaaga gggcatagga tgtggcctcc acattgtaga gctgctgacc 1320
aggctcctcc cagcggttct tatctttggc tgtggtcaga aatttgttga gaagaggctc 1380
cttcagcctg cccatctggg ccagggcata ggcagcgatg gccacagtgt aggatctctg 1440

taggttcatg tagttggctt caaggaagtc tcttgcctta gtgatgctgc ctggcaggct 1500
gttgacctgc tcttcgcaa tctctttagc ctcttcgagc gagatgagaa caaaggccgt 1560
gagggccatg tctttctcgt tgggtttccg gaatccacca gtcatttctt gatgtatcac 1620
gggcgcaccc tcttgaaga cccctcggg ctcttgcctt tccaggatca gccatttaac 1680
agccccgcag aggacctggg agtcgatggc aatgaggttg acagccagag agaagacctt 1740
gaccacgtag gcggtcagcc aggtgctggg tgcccggctt aggaaggccg caaaggcaga 1800
gctgggttgt ctgaaggcca gctgctgggt gtacccttc ttgatgagct ccaaggcccc 1860

ctgccgttc tccgggccga acttctccca ctgttccgtt tcatccaggt aatgcacagc 1920
gatgactgtg ggcgtcatgg tgatcatgtt ctgttctccg cagcccagg gggtcacgat 1980
gaggtgcttc agccgttccg catcgatggc atcctctgtc atctgggcca ccggggtccc 2040
ttgcaggaga attctggtct cagactcggg gtccgggact tggtagctga ggtctgcagg 2100
tgggacgtcc tctctctgca ctcttctctg gccaggcgt tctggatcca gcgtgcgaac 2160
agccacagtt ttgttcatc tgattccttc cggcacgacc ttcagggact tctgacacc 2220

gtcactgatg aaaaaatggt agacggcagc cttgacttcc acttcctgct ggccggtctt 2280

taggggcacg atgacataag gaacggacag cgaggacttg ggggggatgg ttacggtctg 2340

ctggtgacgc ctcttgccgg tggccaggct gcagaaggct ggattgtgga gtagttccac 2400

cctcaccttg agctcttggt tctgccggtt attgtagaga acagctcgga tttccacctg 2460

ctcgtttcga acaacagagt agggtagccg caggctcatg aagaagtcct gcattactgt 2520

gacctcgaag gggctctgcca cacagatccc tttcttgtct gacaagctca cggccagaat 2580

ctcccacgtg gtgatggagt ctttcaaaa tatattcatg agcttcgtgg agattccgtt 2640

tttcgggtgcc tctttcaact cttcaatctt ccacagccaa ctctctggga actcacttcg 2700

ggaaacgatg ttctcttctg cgatgatgtc ctcattccagg ttactcctgg ccaggcccag 2760

gtgactggcc cgcgcgtgct gccgccgag ctcatgatg tagttgcagc agtccaggaa 2820

ggccttcttg cagcctctgt ccagggtgat gtaacgggtc cggcgtggcc atgagaacct 2880

catggggttc tcccgcatc cgctgtcgca gcacttgcgc agctccttgg ggtactgacc 2940

aactttgtcc attctcttct ccgcgagctg cacggaacgg cgtcggcggg cggctggctg 3000

tgggcactga agttctgccc tctgggcccgt ctgctggcca ctgctgctcg caaaggtcag 3060

gcctgcatcc gagaagacac cagcgtaatc ctccactg cctggggtgc agccgatgtc 3120

tgccttctcc accacgtccc agatcttact ctgcgtcagc ttgttcttct tattcagcac 3180

aaacacgccc ttgtccacag ccaccagtcc caccggggcc ccgtgggtcac cctctatctt 3240

cagggtcatc tgcctgcccg gtaaggctg cctgtcttct gactggccgc tttttaccac 3300

cagcgagccc acgcaagagt ccttgacgtc caccacacg gactcgcca ccacttccct 3360

ctggccgttg gcgccgatca gcgtgtagta ggccaccagg cggaaggaag ggatgaagtc 3420

ggtggtgatg gacaggggca gcaccaccag gtcttgcca ggctctcgca cctggcgctc 3480

caccttaac agcttgctt ttgtcataat caggtaggtg tagtagcgga tcttgccctc 3540

ctgggtgcgg tccattcgca ggaggaagt gacgttgagg gtctccccag gtctgagctc 3600

tgcacgtggc actgagagat gcagtaatt gttggagtgg ccacggtgc ttagggctg 3660

agcctccatg gtctggttag cctgtccgc ctccgagagc tcccgttct tctgctgcac 3720

cgtgatgtc aagggttct ggctgggggtg tgtgttgatg ctgagtttgg ccacgccgtc 3780

tccctgggtt agagactgca cagctctc gcctggact gccacgggga ctcggtaggc 3840

tggagagcca tcggggttcg tcacgaacac catgaggtca aagggcattc ctggtttgaa 3900

gtacttgggc gtcttggtga agtgatctg gtagggagag gtcacgatgg ggatcccgt 3960

gcgctccgcc tgcacatgt cactgcctga gtgcaggata acggtgacag acacgtacaa 4020
ggacttcccc accaggctctt ccggtcgggg attctgcacc ccgtccagca gtacattccg 4080
gctcagcacg gcgtctcctg agccatctc aatctggatg cgcttgaggg attcaggcag 4140
ggaaatcttc tgctcgccat cctggatccc gaagatgaca aaggcagttc cctccacttt 4200
ctttccatag aggaacctgg cggatgatgt gacctccagg ccttctgtgt tatagatgta 4260
gtagaatttc tctgtaggct ccactatgac ctcgaaactg ggcagcacgt actccttcac 4320
ctcaaactca gtggagaaga cctgttgcgg cgaattttca tagtaggctc ggatcttcca 4380

ctggcccatg ttgacgagtt ccggaatgtc ccaagacaag ggcaagatgc caaattggtt 4440
ctgagaagac aaggagtctt gcttgaccgg gatgccgtcc gggttctcaa tgttgaccac 4500
gaccgtccgg ccacgggta gcagcttggt gttgacggtg aagatccgac agagaactgt 4560
ggagccaggg gtgtagatgg tcttgtctgt ctggatgaag aggtaccgc tctgaaggct 4620
gaccagtacc accttctcca ccacttgggc ccgaagggtg gcctgcacag tcacgaactt 4680
gttgtgcccc tttctgact tgaactcctt gttggctggg atcctgatgg tgacgtgcc 4740
catgtggctg gtggcagggg tcagtacggt cttctcactg gacagcacca gttttttgcc 4800

tgggaagtgc tggacagtga cagtgaccgg aacatcccca ttcgcgtcgt gggcctccag 4860
caccacggtc tctcactct ccagccgcaa gacgttgggg gtgatcatag agtacatggg 4920
agtccccaga gccaggggga ggtggattag tagcaggagc agcaggctgg gacctgaggt 4980
gagtcctat 4989

<210> 35
<211> 2955
<212> DNA
<213> Macaca fascicularis
<400> 35

ggtaatttag ttactgttat ctcccagcaa tcaaatgcat tcttgagaat ttctcccaag 60
tgagaaaaag taacataatt tatttataaa tgtgtgaaat gtgtattaat agtaacaata 120

aagttaacat gacacatgct gatgtctaag catttattaa atttgatttt gcattttttt 180
attttgatat gtttttctc atttcttct ttttttctt ttttttaaag agttttcaga 240
ccttttcaaa aggtctcaga ccctaagtat catgttctct aatggataag attgtacagc 300
caatgttaat cagcttctca ggtaggtaac gttacctat acaactcata agcctaggta 360
ttaagttaga ctatataaaa ttgatgtttt tctcttgtaa aataagatca aatagaggca 420
atttcacata atttaagcta atagtttata gtcactctat tgtgttgctg aacactgtat 480

atattattcc tticattctaa ctggagtttt gtattaatca tctctctttt atctcccttc 540

cccactaccc ttccagcctt tggtaaacta gtagtttttg gttacaaata taacacattt 600

tcccccttgg acacatagat ttaaatggta gagttaagac taataaaagc aactgctgtg 660

caggtggctg gtgttcagta tttgctgaat gaatgtatgc acacctaagc aaataaccaa 720

accaaacata acaatgtaaa taagagttaa attgcatggc acagacgtgt ggtcatagac 780

ttggcagaat atgttaaccg tacaaagcag ttgacaatt actttgaagt ttttaaacca 840

acattctgtt ttaatttaat tttgtttttt taagaagaga ttggcattgt ctgtgggaga 900

aagcagttct ggcatatttc actcttgact cctcattagg gaataaaaaa tggaaacatc 960

ataggagttt aagaaagaaa aattaaaaaa taattataga cctaagagag gagacttcag 1020

aagttggtag gattttcatg aagcatgttg ctatttcttt ggcagctaag attatcttca 1080

gggataggat ctgaaggctc tagtgttctt ttcttccact ggagctcaga gaagccaaca 1140

gttctatttt tcacggggga agtctagggc tggcaatcct tcagaaactt tttgtttact 1200

gatttcacag gcaattccct caaatgtgaa tgggcaggta cacaacact ttccatccat 1260

tagaattgct gtacctcat tttggcatga gtggcatttt cttacactaa attcattgat 1320

atagtcttca atggctcttt ccaagttttg tttctttagg tgtgcatttt tcattttcac 1380

tggaaccaga ttatatatag gagacagttt ttgactaatg agaacaggag catcatttat 1440

ggaagaggcc cagttgacaa aatcagtcac atcaatcatg gttcctcgga gaagcttttc 1500

tttcagttca aatgcatatt gtctgggtcc acctcttatg agtgaaataa catcatctat 1560

gaggtgatca ctggtgatgt ttacagctct acctctccc ctctttacac aatcatcttt 1620

atcagcttta gctccagcag agattttaga gaaatccaga gatacatcca gatgatccc 1680

gaggcatctc ttacatctt ttagttcaac acctttccgg ttcatggaag ctttatccaa 1740

aacatatatt agttcataga gtctctccag agaccagag ctactgtagt gggttccata 1800

ggtttccaaa aaggcaaaat attctccctt ttcataaggta gttggcaaag cttttatctc 1860

atccacaaaa gttgttgtga gcacaacatc acgatttctc atcataaatc ttcccagatg 1920

aatttctcct ttcacatgca ggaacatttt ttcttctttt gaagaatatg acaaaaatag 1980

ttggttaagtt tcatttttgg aatatgaaaa ccgaaaacta ccctggccac gtaaagaatt 2040

tgaggaggct tgtttctcag aagacttttc agttttaact ttatttgctt cagtgggtgt 2100

aaattttaga gatatatctg cattaaaatt tgatgtcttc tcttggacga tacttttaaa 2160

tgcttcaatt tgttcttcat aatgttcggt tcttaaattt ttctcgctt tggtttcata 2220

gatcaaagaa gccacgttcc agggctcttcg gtagtatgtc aaagtgtttc catcccgatc 2280
ccggttacag agtccattgt agaactcatt gtcaaaaggt gtgcttaggg gatccatccc 2340
taaaatgttg atcccgtagc ctgctgttcg tgccagctca gactcttcta ccactctgtc 2400
tctgcagggg ggacggggat cactttcaca atcatcctca tctgaaaagt ctccacagtc 2460
attgtcacca ttacacagga gtgcctctt tatgcatctg cctgtaccgc attgaaagtc 2520
atttcgcag tcactctcag catcctcaca gggtctctgtg ggacacact gtcgtctgtc 2580
tcccacagca tcggtgcaac ttttccatt aaattgtccg aagacctcaa tgcttcttga 2640

acgaaacatt tgtctgaggc aaggatcgca ttgtgacat tcactccagg ggctcattct 2700
gcagtctatg tgcgatgcgg aaccacggct tctgtttggc tgtgggtcat aactgggcgt 2760
gtactctgct gtgaggacgc ttatttctaa aatgcagatt gcagctgcaa agctccagca 2820
ggctgacatg ctgctcttgc tgggtggctg cgagtggggt ggacagcag gtcgggtaag 2880
gcatttattt gcaaaggccc agaggacagg gaacaagtat tgtttgtctg cattcagggt 2940
ttttgtcaat ttggg 2955

<210> 36

<211> 2727

<212> DNA

<213> Macaca fascicularis

<400> 36

tgtttgtcgca gctgttttaa ttcaatcccg cgtccctgtc cagcaggaaa ccccttagag 60
aaaacccaaa tctcatctt ggagtttctc ctccagccag ggacgacctt ggaagagggt 120
gacgtgaaag tctcgggcgt gagcagggtac ctgcttttgc cgcttctggt ttttcagac 180
atccactact cccagctga tgacaccaac ttgaatgaaa cgacttctct tgtgaactat 240
caaggggccg ccagaatcac ctctgcaagt attgggttca gcataggac tcactcctcc 300
agtacaaagg aaccgagggg tgaccacctc cgagatgtcc ttgactttgt catagcctgg 360
ggcatattga gcatctctc cacagctgcc tttcttatcc ccattcttga ttagacctc 420

cttccgagtc agcttcttct cctcctcaga cacaacaga gctttgatat cctgtgcagg 480
gagcagctct tcttctgtt gctggcaagt ggtagtgtga ggaagcctca aagctcgagt 540
tgttccctcg gtacagggga gacaaatggg cctgatagtc gggtcataat tcaactttt 600
cttgagcttg atcagggcaa cgtcatagtc ataaaattca ggaattcctg cttcttttt 660
cccgtaatg ttgtagtccg ggtgaaatag gacttttct atctccaggt cccgttctt 720
ccccagctg acctgatcg agtgttctt gtcgtccaca gtaaaacaat gtgctgctgt 780

cagcaciaag tactcagaca ccacagcccc catacagctc tcatgtccct tcgaagggcg 840

agtgactgag atcttggcct gccatggttg ctgttggtaa tcggtaccg tcgtgtgttc 900

ccaaaccatg ccacagagac tcagagactg gctttcatca atcatttga agaaaacgtc 960

ttccaggttt tccatactct tgactttgaa cacatgttgc tcatgtctt tcttgaagc 1020

caaagcattg atgttcactt ggtccacaa aggtccaacc ccaaacacat agacatccag 1080

ataatcctcc ctccgggtttt tgcgatcctt gccgatgtat aacaagtccc ggatctcatc 1140

aatgacagta attgggtccc cgcccatgtt gtgcaatcca tcggtcatga ggatgatgac 1200

atggcgggtg cggttccagc cttcaggagg gatgtcctct ggccaactca tcatgtctga 1260

cactgcctgg agggccctct tgggtttagt cctgacttc aacttgttgt cttcataatt 1320

gatttactg agcttcttcg tgaccacgtc tgcatgtctg ctctcttggt cagacacttt 1380

gacccaaatt ctggggtatg tggcatatgt cactagagca tatcttggtc tcacaccata 1440

acttgccacc ttctcaatta agttgactag acactttttg gctcctgtga agttgccggc 1500

cccaatgctg tctgatccat ctgacaccag gtatagtttc atggagcctg aagggtctag 1560

gatgatcctc cgttctgtt gtccctctgg gctgtgcca tctcggcat cgactccttc 1620

tatggctctc gtcagggaag acaggaaagc ttcggccacc tcttgagggg tgcgtacat 1680

gaaggagtct tggcaggaag gctccgtccc gctccaagag ccaccttcct gacacgttcg 1740

ccgctgggag ccacgcaggg taagcccccg gctgcagtgg taggtgacgc tgtcttcaag 1800

gcggtaccgg ctgcccactt tcttgtgcc aatggggatg cctgggttgg agcagtaccc 1860

cgctccgttg tcacagatcg ctgtctgccc actccaccgg ccattcactt ggcaggtgcg 1920

attggcagag ccccgagag tgtaaccgtc atagcagtgg aaagagatct catcactcac 1980

attgtagtag ggagaccggg gccgtattc cccgttctcg aagtcctgtg gtcgtggaca 2040

gcggattgct ctgcactctg cttctctgac agtttttcga tcttgagtct gcagggtgct 2100

ccaggacccc gtggatctgc aggtacgtgt ctgcacaggg tacgggtaga agccagaagg 2160

acacacgtat tccagtgcct ggccctcttg gagaagtcgg aaggagccac ctttgatctc 2220

tacccctcc agagagcagg atccttgagg ctgggccgaa gacaatggag tggtggtcac 2280

acctgcagat aagaggccca agatgaaggg catcaggtag agctgggggc tgagactgct 2340

ccccatggcg ttagaaggca ggagagaagc tgggcctggg gcaggatggc gtgtcctggc 2400

ttgttttctg tgctactta gctcagtgtc caagctgaaa ctccagacct agacctggtc 2460

acattccctt cccctgcccc ccaccagctc ccggcctttt atgcaatctg tgttctggca 2520

cctgcagctt gccccgctg tcctaccctc atcactttcc cggaacatcc aagcgggagg	2580
gccccgctga gctgccagtc aaggaagcag aaactgcaga agtcccaccc ttgtgtgccc	2640
aaggtccagg actctccctc tcagtacctc cttctggcct cagctcctcc ccaacaagcc	2700
cagaccaccc acttagggac cagaaat	2727
<210> 37	
<211> 5106	
<212> DNA	
<213> Macaca fascicularis	
<400> 37	
tgaaatataa ctgaagcttt attgggagtg ggggaatggg ggtgtggtca gttggggcac	60
ccaaagacaa ccatgttctc agtgaaggtag ccgaggtcct ggcatgtttt ctggttctct	120
tcactttggc attcgtctc ctcgggccag tgcctccacc aggtgtcctt cccgatgatg	180
tagctgagat tgggtttctc tccccagaaa tcggaggaga gacccacat gaggtagtgt	240
ttctctctcc ccagcttcag ggcttccttg cacttgatgg ggctgatgaa cgtgcgtgt	300
tgtccaacct gcacctcacc cgagcctgac ttgatgatct gctcaatggc catgatgtac	360
tcgtcaaagt cattggacag ctgggccttg accagtcggg tcttgtacac atagtccact	420
cctggctcac aggccttgtc cagccgttct tccagggtga ctttgtcacc caacttttgt	480
atgaagcaat tctcctcagc acagcggcac agctcatcac gacagagctt gttcagcttt	540
ccatcctcct tttctgggtg gtagaacggg gtacagcttt ccgccaggtt gtaataggcg	600
tagaccttga ctgcaccagg ctggataagc tctacattaa aatattgggt aactttgaaa	660
gctatacagt catcctcaga gtgtgagacc ttgtccaggt agatgatgag ggtgttccta	720
tcggagaagg ctttgtccag ctcatacttg gagatgtatc tgtcaacgcc gtttgccagc	780
tgttttaggt catctgtgtc tggaacgaag ccagtcacac tggatatgtc cagtatagac	840
atagtggcat cctggctccc ccggtacctg gtacagatct caaggatcat agtgttcttg	900
gcatcctgag gctcttttcc tgtttccggt gctggtttta tggtagacct gaggtcgaat	960
ttattacagg tgagttgacc tttggcctta gcatggtaca ttgtcactac cgacaagggtg	1020
ccttggcctt ttccttcagc tgtgactgtg aaacctcat tttccttggt ctcttctgat	1080
cgcaggaggc tggcagattc ccagtggata cggtaggatga tcttggagct gcgactgggc	1140
agttggaggg acacatccag gttcagttcc ttgtgatcag ggacatcctt ttggtattga	1200
gccaaggctt ggaacaccat gaaggtggcc tgggtagagc catagccacc accgtagtat	1260
ctctgttcat tgagccaacg cacgacggga ggcacaaaagt caaagtcttt tagctgcagt	1320

aggccaaga gggcatagga tgtggcctcc acattgtaga gctgctgacc aggctcctcc 1380

cagcggttct tatctttggc tgtggtcaga aatttgttga gaagaggtcc cttcagcctg 1440

cccatctggg ccagggcata ggcagcgatg gccacagtgt aggatctctg taggttcatg 1500

tagttggctt caaggaagtc tcttgcctta gtgatgctgc cgggcaggct gttgacctgc 1560

tcctcgaaa tctcttttagc ctcttgcagc gagatgagaa caaaggccgt gagggccatg 1620

tctttctcgt tgggtgtccg gaatccacca gtcatttctt gatgtatcac gggcgcatcc 1680

tcctggaaga ccccgctggg cttctgcttc tccaggatca gccatttaac agccccgcag 1740

aggacctggg agtcgatggc aatgaggttg acagccagag agaagacctt gaccacgtag 1800

gcggtcagcc aggtgctggg tgcccgggtc aggaaggccg caaaggcaga gctgggttgt 1860

ctgaaggcca gctgctgggt gtacccttc ttgatgagct ccaaggcccc ctgccgttc 1920

tccgggccga acttctccca ctgttccgtt tcatccaggt aatgcacagc gatgactgtg 1980

ggcgtcatgg tgatcatgtt ctgttctccg cagcccagg gggtcacgat gaggtgcttc 2040

agccgttccg catcgatggc atcctctgtc atctgggcca ccggggctcc ttgcaggaga 2100

attctggtct cagactcgtt gtccgggact tggctactga ggtctgcagg tgggacgtcc 2160

tctctctgca ctcttctctg gccaggcgt tctggatcca gcgtgcgaac agccacagtt 2220

ttgttcattc tgattcctc cggcacgacc ttcagggact tctgacacc gtcactgatg 2280

aaaaaatggt agacggcagc cttgacttcc acttctgtct ggccgggtctt taggggcacg 2340

atgacataag gaacggacag cgaggacttg ggggggatgg ttacggctctg ctggtgacgc 2400

ctcttggcgg tggccaggct gcagaaggct ggattgtgga gtagttccac cctcaccttg 2460

agctcttggg tcigccggta attgtagaga acagctcgga tttccacctg ctcgtttcga 2520

acaacagagt agggtagccg caggctgatg aagaagtcct gcattactgt gacctcgaag 2580

gggtctgcca cacagatccc tttcttgtct gacaagctca cgcccagaat ctcccacgtg 2640

gtgatggagt cttcaaaaa tatattcatg agcttctgtg agattccgtt tttcggtgcc 2700

tctttcaact cttcaatctt ccacagccaa ctctctggga actcacttcg ggaaacgatg 2760

ttctcttctg cgatgatgtc ctcatccagg ttactcctgg ccaggcccag gtgactggcc 2820

cgcgctgct gccgccgag ctcggtgatg tagttgcagc agtccaggaa ggccttcttg 2880

cagcctcgt ccagggtgat gtaacgggtc cgcgctggc atgagaacct catggggttc 2940

tcccgcatac cgigctcgca gcacttgcgc agctccttgg ggtactgacc aactttgtcc 3000

attctcttct ccgcgagctg cacggaacgg cgtcggcggg cggctggctg tgggactga 3060

agttctgccc tctgggccgt ctgctggcca ctgctgctcg caaaggctcag gcctgcatcc	3120
gagaagacac cagcgtaatc cttccactg cctgggggtgc agccgatgtc tgccttctcc	3180
accacgtccc agatcttact ctgctgcagc ttgttcttct tattcagcac aaacacgccc	3240
ttgtccacag ccaccagtc caccggggcc ccgtgggtcac cctctatctt cagggtcatc	3300
tgctgcccgg gtaaaggctg cctgtcttct gactggccgc tttttaccac cagcgagccc	3360
acgcaagagt ccttgacgtc caccacacg gagtcggcca ccacttcct ctggccgttg	3420
gcgccgatca gcgtgtagta ggccaccagg cggaaggaag ggatgaagtc ggtggtgatg	3480
gacaggggca gcaccaccag gtcttgcca ggctctcgca cctggcgtcc caccttcaac	3540
agcttgccctt tgtcataat caggtagggt tagtagcgga tcttggcctc ctgggtgcgg	3600
tccattcgca ggaggaagtt gacgttagg gtctccccag gtctgagctc tgcacgtggc	3660
actgagagat gcaggaatt gttggagttg cccacgtgc tgtagggtg agcctccatg	3720
gtcttggtag cctgctccgc ctccgagagc tcccgttct tctgcgcac cgtgatgtc	3780
aagggttct ggctggggtg tgtgtgatg ctgagtttg ccacgccgc tccctgggtt	3840
agagactgca cagcgtctc gccctggact gccacgggga ctcggtaggc tggagagcca	3900
tccgggttcg tcacgaacac catgaggtca aagggcattc ctggtttgaa gtacttgggc	3960
gtcttggtga agtggatctg gtagggagag gtcacgatgg ggatcccgt gcgtccgcc	4020
tgcacatgt cactgcctga gtgcaggata acggtgacag acacatacaa ggacttcccc	4080
actaggtctt ccggtcgggg attctgcacc ccgtccagca gtacctccg gtcagcacg	4140
gcgtctctg agccatctc aatctggatg cgttgaggg attcaggcag ggaaatctc	4200
tgctcgccat cctggatccc gaagatgaca aaggcagttc cctccactt cttccatag	4260
aggaacctgg cgtgatggt gacctccagg ccttctggt tatagatgta gtagaattc	4320
tctgtaggct ccactatgac ctcgaaactg ggcagcacgt actccttcac ctcaaactca	4380
gtggagaaga cctgttcgg cgaattttca tagtaggtc ggatcttcca ctggcccatg	4440
ttgacgagtt ccggaatgtc ccaagacaag ggcaagatgc caaattggt ctgagaagac	4500
aaggagtctt gcttgaccgg gatgccgtcc gggttctcaa tgttgaccac gaccgtccgg	4560
cccacgggta gcagcttggt gttgacggtg aagatccgac agagaactgt ggagccaggg	4620
gtgtagatgg tctgtctgt ctggatgaag aggtacccgc tctgaaggct gaccagtacc	4680
accttctcca ccacttgggc cccgaagggt gcctgcacag tcacgaactt gttgtgcccc	4740
ttttctgact tgaactcctt gttggctggg atcctgatgg tgacgtgcc catgtggctg	4800
gtggcagggg tcagcacggt cttctcactg gacagcacca gtttttggc tgggaagtcg	4860
tggacagtga cagtgaccgg aacatcccca ttgcgtcat gggcctccag caccacggtc	4920

tcctcactct ccagccgcaa gacgtttggg gtgatcatag agtacatggg agtccccaga 4980
 gccaggggga ggtggattag tagcaggagc agcaggctgg gacctgaggt gagtcccatg 5040
 gtgctgggac agtgcagggt cagagggaca gagggacaga gggagaggat ggggaggagt 5100
 gagcag 5106

<210> 38

<211> 2091

<212> DNA

<213> *Macaca fascicularis*

<400> 38

tttgaagttt ttaaaccaac attctgtttt aatttaattt tgtttttttt agaagagatt 60
 ggcatgtctt gtgggagaaa gcagttcttg catatttcac tcttgactcc tcattaggga 120
 ataaaaaatg gaaacatcat aggagtttaa gaaagaaaaa ttaaaaaata attatagacc 180
 taagagagga gacttcagaa gttggttaga ttttcatgaa gcatgttgct atttctttgg 240
 cagctaagat tatcttcagg gataggatct gaaggctcta gtgttctttt ctccactgg 300
 agctcagaga agccaacagt tctatttttc acgggggaag tctagggtcg gcaatccttc 360

agaaactttt tgtttactga tttcacaggc aattccctca aatttgaatg ggcaggtaca 420
 caaacacttt ccatccatta gaattgctgt acctccattt tggcatgagt ggcattttct 480
 tacactaaat tcattgatat agtcttcaat ggctctttcc aagttttggt tctttagggtg 540
 tgcatttttc attttactg gaaccagatt atatatagga gacagttttt gactaatgag 600
 aacaggagca tcatttatgg aagaggccca gttgacaaaa tcagtcacat caatcatggt 660
 tcctcgagga agcttttctt tcagttcaaa tgcataatgt ctggttccac ctcttatgag 720
 tgaaataaca tcactatga ggtgatcact ggtgatgttt acagctctac cctctccct 780

ctttacacaa tcacttttat cagctttagc tccagcagag attttagaga aatccagaga 840
 tacatccaga tgataccga ggcactcttt tacatctttt agttcaacac ctttccggtt 900
 catggaagct ttatccaaaa catatattag ttcataagat cctcccagag acccagagct 960
 actgtagtgg gtcccatagg tttccaaaaa ggcaaaatat tctccctttt cataggtagt 1020
 tggcaaagct tttatatcat ccacaaaagt tgttgtgagc acaacatcac gattttctat 1080
 cataaatctt cccagatgaa tttctccttt cacatgcagg aacatttttt ctttctttga 1140
 agaatatgac aaaaatagtt ggtaagtttc atttttggaa tatgaaaacc gaaaactacc 1200

ctggccacgt aaagaatttg aagaggcttg tttctcagaa gacttttcag ttttaacttt 1260
 atttgcttca gtgggtgtaa attttagaga tatatctgca ttaaaatttg atgtcttctc 1320

ttggacgata cttttaaatg cttcaatttg ttcttcataa tgttcggttc ttaaattttt 1380
ctcgcctttg gtttcataga tcaaagaagc cacgttccag ggtcttcggt agtatgtcaa 1440
agtgtttcca tcccgatccc ggttacagag tccattgtag aactcattgt caaaaggtgt 1500
gcttagggga tccatcccta aaatgttgat cccgtagcct gctgttcgtg ccagctcaga 1560
ctcttctacc actctgtctc tgcagggggg acggggatca cttcacaat catctcatc 1620

tgaaaagtct ccacagtcac tgtcaccatt acacaggagt cgctcttta tgcattctgcc 1680
tgtaccgcat tgaaagtcat ttccgcagtc atcctcagca tcctcacagg gctctgtggg 1740
cacacactgt cgtctgtctc ccacagcatc ggtgcaactt ttcccattaa attgtccgaa 1800
gacctcaatg ctcttgaac gaaacatttg tctgaggcaa ggatcgcatc gtgaccattc 1860
actccagggg ctattctgc agtctatgtg cgatgcggaa ccacggcttt ctgttggtg 1920
tgggtcataa ctgggcgtgt actctgctgt gaggatgctt atttctaaaa tgcagattgc 1980
agctgcaaag ctccagcagg ctgacatgct gctcttgctg ggtggctgcg agtgggtgg 2040

cagagcaggt cgggtaaggc atttatttgc aaagggccag aggacaggga a 2091

<210> 39

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<220><221> source

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

<400> 39

cuuacgcuga guacuucgat t 21

<210> 40

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<220><221> source

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

<400> 40

ucgaaguacu cagcguaagt t 21

<210> 41

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 41

auuccugaau uuuaugacua u 21

<210> 42

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 42

ccugaucaag cucaagaaua a 21

<210> 43

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 43

gaagcaggaa uuccugaaau u 21

<

210> 44

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 44

agcaacaugu guucaaaguc a 21

<210> 45

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 45

gcuguggugu cugaguacuu u 21

<210>

> 46

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 46

aagugucuag ucaacuuaau u 21

<210> 47

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 47

agcugugaga gagaugcuca a 21

<210>

48

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 48

agccaaaaag ugucuaguca a 21

<210> 49

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 49

ugugagugau gagaucucu u 21

<210> 50

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 50

aaauugagaag guggcaaguu a 21

<210> 51

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 51

caacaugugu ucaaagucaa g 21

<210> 52

<

211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 52

ugugagagag augcucaaua u 21

<210> 53

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 53

gucuagucaa cuuaauugag a 21

<210> 54

<211

> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 54

uccaagaaag acaaugagca a 21

<210> 55

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 55
 uguguucaaa gucaaggaua u 21
 <210> 56
 <211>
 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 56
 auugaugaga uccgggacuu g 21
 <210> 57
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 57
 cugugagaga gaugcucaau a 21
 <210> 58
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 58

gagccaaaaa gugucuaguc a 21

<210> 59

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 59

uccaagauga ggauuugggu u 21

<210> 60

<211> 21

<

212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 60

cccuugauag uucacaagag a 21

<210> 61

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 61

caaagucaag gauauggaaa a 21

<210> 62

<211> 21

<212

> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 62

uaguucacaa gagaagucgu u 21

<210> 63

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 63

ggcccuuga uaguucacaa g 21

<210> 64

<211> 21

<212>

RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 64

uggugcuaga uggaucagac a 21

<210> 65

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 65

gcuagaugga ucagacagca u 21

<210> 66

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 66

uaccuggugc uagauggauc a

21

<210> 67

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 67

ggugcuagau ggaucagaca a

21

<210> 68

<211> 21

<212> RNA

<

213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 68

ucugagucuc uguggcaugg u

21

<210> 69

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 69

gugcuagaug gaucagacag a 21

<210> 70

<211> 21

<212> RNA

<213>

> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 70

cuaccuggug cuagauggau a 21

<210> 71

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 71

accuggugcu agauggauca a 21

<210> 72

<211> 23

<212> RNA

<213>

Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 72

auagucauaa aaucaggaa uuc 23

<210> 73

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 73

uuauucuuga gcuugaucag ggc

23

<210> 74

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 74

aaaauucagga auuccugcuu cuu

23

<210> 75

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 75

ugacuuugaa cacauguugc uca

23

<210> 76

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<

220><221> source

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

<400> 76

aaaguacuca gacaccacag ccc

23

<210> 77

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 77

aaauaaguug acuagacacu uuu 23

<210> 78

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

><221> source

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

<400> 78

uugagcaucu cucucacagc ugc 23

<210> 79

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 79

uugacuagac acuuuuuggc ucc 23

<210> 80

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<221> source

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

<400> 80

aaagagaucu caucacucac auu 23

<210> 81

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 81

uaacuugcca ccuucucaau uaa 23

<210> 82

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><

221> source

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

<400> 82

cuugacuuug aacacauguu gcu 23

<210> 83

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 83

auauugagca ucucucucac agc 23

<210> 84

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221

> source

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

<400> 84

ucucaauuaa guugacuaga cac 23

<210> 85

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 85

uugcucauug ucuuucuugg aag 23

<210> 86

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221>

source

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

<400> 86

auaauccuuga cuuugaacac aug 23

<210> 87

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 87

caagucccgg aucucauca uga 23

<210> 88

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 88

uauugagcau cucucucaca gcu

23

<210> 89

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 89

ugacuagaca cuuuuuggcu ccu

23

<210> 90

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

<

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

<400> 90

aacccaaauc cucaucuugg agu

23

<210> 91

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 91

ucucuuguga acuaucaagg ggc

23

<210> 92
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223>
 > /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 92
 uuuuccauau ccuugacuuu gaa 23
 <210> 93
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 93
 aacgacuucu cuugugaacu auc 23
 <210> 94
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223>
 /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 94
 cuugugaacu aucaaggggc cgc 23
 <210> 95
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 95

ugucugaucc aucuagcacc agg 23

<210> 96

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 96

augcugucug auccaucuag cac 23

<210> 97

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 97

ugaucacau agcaccaggu aga 23

<210> 98

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 98

uugucugauc caucuagcac cag 23

<210> 99

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 99

accaugccac agagacucag aga 23

<210> 100

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 100

ucugucugau ccaucuagca cca 23

<210> 101

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 101

uauccaucua gcaccaggua gau 23

<210> 102

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 102

uugauccauc uagcaccagg uag 23

<210> 103
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 103
 gcaagccaag aucucaguca c 21
 <210> 104
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 104
 gauugagaag guggcgaguu a 21
 <210> 105
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 105
 cacaagagaa gccgcucau u 21
 <210> 106
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 106
uugugagaga gaugcuacaa a 21

<210> 107
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 107
uccuucauga auguuccggg a 21

<210> 108
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 108
ucacagagaa gcuaaccaa a 21

<210> 109
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 109
cucaacaaaa ucaguuauga a 21

<210> 110
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 110

cccugacaga gaccaucgaa g 21

<210> 111

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 111

gagcagauug cauaaaaggu u 21

<210> 112

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 112

cuucaugaau guuccgggaa g 21

<210> 113

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 113

cuucauucaa guugguguga u 21

<210> 114
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 114
 gauugaagag guccuguucc a 21

<210> 115
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 115
 auuucuuuuc aaugcuuga u 21

<210> 116
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 116
 ccagagcaga uugcauaaaa g 21

<210> 117
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 117

cacagagaag cucaaccaa u 21

<210> 118

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 118

gugacugaga ucuuggcuug cca 23

<210> 119

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 119

uaacucgcca ccuucucaa caa 23

<210> 120

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 120

aaugaagcgg cuucucuugu gaa 23

<210> 121

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 121

uuuguagcau cucucucaca acu 23

<210> 122

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 122

ucccggaaca uucaugaagg agg 23

<210> 123

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 123

uuugguugag cuucucugug acc 23

<210> 124

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 124

uucauaacug auuugguuga gcu 23

<210> 125
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 125
 cuucgauggu cucugucagg gag 23
 <210> 126
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 126
 aaccuuuuau gcaaucugcu cug 23
 <210> 127
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 127
 cuucccgga caucaugaa gga 23
 <210> 128
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 128

aucacaccaa cuugaaugaa gcg

23

<210> 129

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 129

uggaacagga ccucucaau cuc

23

<210> 130

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 130

aucauagcau ugaaaagaaa ucu

23

<210> 131

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 131

cuuuuauagca aucugcucug gca

23

<210> 132

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 132

auuugguuga gcuucucugu gac 23

<210> 133

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 133

auuccugaau uuuaugacua u 21

<210> 134

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 134

ccugaucaag cucaagaaua a 21

<210> 135

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 135

gaagcaggaa uuccugaauu u 21

<210> 136
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 136
 agcaacaugu guucaaaguc a 21

<210> 137
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 137
 gcuguggugu cugaguacuu u 21

<210> 138
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 138
 aagugucuag ucaacuuaau u 21

<210> 139
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 139

agcugugaga gagaugcuca a 21

<210> 140

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 140

agccaaaaag ugucuaguca a 21

<210> 141

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 141

ugugagugau gagaucucu u 21

<210> 142

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 142

aaugagaag guggcaaguu a 21

<210> 143

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 143

caacaugugu ucaaagucac g 21

<210> 144

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 144

ugugagagag augcucaaua u 21

<210> 145

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 145

gucuagucac cuuaauugag a 21

<210> 146

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 146

uccaagaaaag acaaugagca a 21

<210> 147
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 147
 uguguucaaa gucaaggaua u 21
 <210> 148
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 148
 auugaugaga uccgggacuu g 21
 <210> 149
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 149
 cugugagaga gaugcucaau a 21
 <210> 150
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 150

gagccaaaaa gugucuaguc a

21

<210> 151

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 151

uccaagauga ggauuugggu u

21

<210> 152

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 152

cccuugauag uucacaagag a

21

<210> 153

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 153

caaagucaag gauauggaaa a

21

<210> 154

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 154

uaguucacaa gagaagucgu u

21

<210> 155

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 155

ggccccuuga uaguucacaa g

21

<210> 156

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 156

uggugcuaga uggaucagac a

21

<210> 157

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 157

gcuagaugga ucagacagca u

21

<210> 158
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 158
 uaccuggugc uagauggauc a 21
 <210> 159
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 159
 ggugcuagau ggaucagaca a 21
 <210> 160
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 160
 ucugagucuc uguggcaugg u 21
 <210> 161
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 161

gugcuagaug gaucagacag a 21

<210> 162

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 162

cuaccuggug cuagauggau a 21

<210> 163

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 163

accuggugcu agauggauca a 21

<210> 164

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 164

auagucauaa aaucaggaa uuc 23

<210> 165

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 165

uuauucuuga gcuugaucag ggc 23

<210> 166

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 166

aaauucagga auuccugcuu cuu 23

<210> 167

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 167

ugacuuugaa cacauguugc uca 23

<210> 168

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 168

aaaguacuca gacaccacag ccc 23

<210> 169
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 169
 aaauaaguug acuagacacu uuu 23
 <210> 170
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 170
 uugagcaucu cucucacagc ugc 23
 <210> 171
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 171
 uugacuagac acuuuuuggc ucc 23
 <210> 172
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 172
aaagagaucu caucacucac auu 23

<210> 173
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 173
uaacuugcca ccuucucaau uaa 23

<210> 174
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 174
cuugacuuug aacacauguu gcu 23

<210> 175
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 175
auauugagca ucucucucac agc 23

<210> 176
<211> 23
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 176

ucucaauuaa guugacuaga cac

23

<210> 177

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 177

uugcucauug ucuuucuugg aag

23

<210> 178

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 178

auauccuuga cuuugaacac aug

23

<210> 179

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 179

caagucccg aucucauca uga

23

<210> 180
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 180
 uauugagcau cucucucaca gcu 23

<210> 181
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 181
 ugacuagaca cuuuuuggcu ccu 23

<210> 182
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 182
 aacccaaauc cucaucuugg agu 23

<210> 183
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 183

ucucuuguga acuaucaagg ggc 23

<210> 184

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 184

uuuuccauau ccuugacuuu gaa 23

<210> 185

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 185

aacgacuucu cuugugaacu auc 23

<210> 186

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 186

cuugugaacu aucaaggggc cgc 23

<210> 187

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 187

ugucugaucc aucuagcacc agg 23

<210> 188

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 188

augcugucug auccaucuag cac 23

<210> 189

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 189

ugauccaucu agcaccaggu aga 23

<210> 190

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 190

uugucugauc caucuagcac cag 23

<210> 191
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 191
 accaugccac agagacucag aga 23
 <210> 192
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 192
 ucugucugau ccaucuagca cca 23
 <210> 193
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 193
 uauccaucua gcaccaggua gau 23
 <210> 194
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 194
uugauccauc uagcaccagg uag 23

<210> 195
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 195
gcaagccaag aucucaguca c 21

<210> 196
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 196
gauugagaag guggcgaguu a 21

<210> 197
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 197
cacaagagaa gccgcucau u 21

<210> 198
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 198

uugugagaga gaugcuacaa a

21

<210> 199

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 199

uccuucauga auguuccggg a

21

<210> 200

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 200

ucacagagaa gcuaaccaa a

21

<210> 201

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 201

cucaacaaa ucaguuauga a

21

<210> 202
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 202
 cccugacaga gaccaucgaa g 21
 <210> 203
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 203
 gagcagauug cauaaaaggu u 21
 <210> 204
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 204
 cuucaugaau guuccgggaa g 21
 <210> 205
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 205

cuucauucaa guugguguga u 21

<210> 206

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 206

gauugaagag guccuguucc a 21

<210> 207

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 207

auuucuuuuc aaugcuauga u 21

<210> 208

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 208

ccagagcaga uugcauaaaa g 21

<210> 209

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 209

cacagagaag cucaaccaa u 21

<210> 210

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 210

gugacugaga ucuuggcuug cca 23

<210> 211

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 211

uaacucgcca ccuucucaa caa 23

<210> 212

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 212

aaugaagcgg cuucucuugu gaa 23

<210> 213

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 213

uuuguagcau cucucucaca acu 23

<210> 214

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 214

ucccggaaca uucaugaagg agg 23

<210> 215

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 215

uuugguugag cuucucugug acc 23

<210> 216

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 216

uucauaacug auuugguuga gcu

23

<210> 217

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 217

cuucgauggu cucugucagg gag

23

<210> 218

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 218

aaccuuuuau gcaaucugcu cug

23

<210> 219

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 219

cuucccgga cauucagua gga

23

<210> 220

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 220

aucacaccaa cuugaaugaa gcg 23

<210> 221

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 221

uggaacagga ccucucaau cuc 23

<210> 222

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 222

aucauagcau ugaaaagaaa ucu 23

<210> 223

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 223

cuuuuaugca aucugcucug gca 23

<210> 224

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 224

auuugguuga gcuucucugu gac 23

<210> 225

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 225

cguggucaag gucuucuc u 21

<210> 226

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 226

acguggucaa ggucuucucu a 21

<210> 227

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 227

uuugaccuca ugguguucgu g 21

<210> 228

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 228

ggagaaauugc uucauacaaa a 21

<210> 229

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 229

uguuaaaugg cugauccugg a 21

<210> 230

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 230

gacagacaag accaucuaca c 21

<210> 231

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 231

ccagacagac aagaccauc a 21

<210> 232

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 232

ccagauccac uucaccaaga a 21

<210> 233

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 233

uugaccucau gguguucgug a 21

<210> 234

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 234

ccccuucgag gucacaguaa u 21

<210> 235
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 235
 augaacaataa cuguggcugu u 21
 <210> 236
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 236
 agacagacaa gaccauac a 21
 <210> 237
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 237
 ccagauccac uucaccaaga c 21
 <210> 238
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 238

agggaucugu guggcagacc a

21

<210> 239

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 239

gacaagacca ucuacacccc u

21

<210> 240

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 240

gcugaggaga auugcuucau a

21

<210> 241

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 241

acguggucaa ggucuucucu c

21

<210> 242

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 242

ggaucugugu ggcagacccc u 21

<210> 243

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 243

acagacaaga ccaucuacac a 21

<210> 244

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 244

auccagacag acaagaccu u 21

<210> 245

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 245

cuccgugugg guggacguca a 21

<210> 246
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 246
 uccagacaga caagaccauc u 21
 <210> 247
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 247
 agggaucugu guggcagacc c 21
 <210> 248
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 248
 caagaaaggg aucugugugg a 21
 <210> 249
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 249

ugaccucaug guguucguga u 21

<210> 250

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 250

gcagcuaaaa gacuuugacu u 21

<210> 251

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 251

cauccagaca gacaagacca u 21

<210> 252

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 252

acagacaaga ccaucuacac c 21

<210> 253

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 253

auccagacag acaagaccau c 21

<210> 254

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 254

uuugaccuca ugguguucgu u 21

<210> 255

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 255

ggaugccaag aacacuauga u 21

<210> 256

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 256

aagaaaggga ucuguguggc a 21

<210> 257
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 257
 caagaaaggg aucugugugg c 21
 <210> 258
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 258
 uacgugguca aggucuucuc u 21
 <210> 259
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 259
 caguuucgag gucauagugg a 21
 <210> 260
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 260
cgugccggaa ggaaucagaa u 21

<210> 261
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 261
gaaaggggauc uguguggcag a 21

<210> 262
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 262
gacagacaag accaucuaca a 21

<210> 263
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 263
ugaccucaug guguucguga c 21

<210> 264
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 264

uguaauaaau ucgaccucaa g

21

<210> 265

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 265

aacuacauga accuacagag a

21

<210> 266

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 266

agagagaaga ccuugaccac gua

23

<210> 267

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 267

uagagaagac cuugaccacg uag

23

<210> 268
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 268
 cacgaacacc augaggucaa agg 23

<210> 269
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 269
 uuuuguanga agcaauucuc cuc 23

<210> 270
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 270
 uccaggauca gccauuuuac agc 23

<210> 271
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 271

guguagaugg ucuugucugu cug 23

<210> 272

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 272

uagauggucu ugucugucug gau 23

<210> 273

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 273

uucuugguga aguggaucug gua 23

<210> 274

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 274

ucacgaacac caugagguca aag 23

<210> 275

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 275

auuacuguga ccucgaaggg guc 23

<210> 276

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 276

aacagccaca guuuuguuca uuc 23

<210> 277

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 277

uguagauggu cuugucuguc ugg 23

<210> 278

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 278

gucuugguga aguggaucug gua 23

<210>	279	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	279	
	uggucugcca cacagauccc uuu	23
<210>	280	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	280	
	agggguguag auggucuugu cug	23
<210>	281	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic oligonucleotide"	
<400>	281	
	uaugaagcaa uuccuccag cac	23
<210>	282	
<211>	23	
<212>	RNA	
<213>	Artificial Sequence	
<220><221>	source	
<223>	/note="Description of Artificial Sequence: Synthetic	

oligonucleotide"

<400> 282

gagagaagac cuugaccacg uag 23

<210> 283

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 283

aggggucugc cacacagauc ccu 23

<210> 284

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 284

uguguagaug gucuugucug ucu 23

<210> 285

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 285

aauggucuug ucugucugga uga 23

<210> 286

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 286

uugacgucca cccacacgga guc

23

<210> 287

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 287

agauggucuu gucugucugg aug

23

<210> 288

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 288

gggucugcca cacagaucuu uuu

23

<210> 289

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 289

uccacacaga uccuuucuu guc

23

<210> 290
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 290
 aucacgaaca ccaugagguc aaa 23

<210> 291
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 291
 aagucaaagu cuuuuagcug cag 23

<210> 292
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 292
 auggucuugu cugucuggau gaa 23

<210> 293
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 293

gguguagaug gucuugucug ucu 23

<210> 294

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 294

gauggucuug ucugucugga uga 23

<210> 295

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 295

aacgaacacc augaggucaa agg 23

<210> 296

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 296

aucgauagugu ucuuggcauc cug 23

<210> 297

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 297

ugccacacag aucccuuucu ugu 23

<210> 298

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 298

gccacacaga ucccuuucu guc 23

<210> 299

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 299

agagaagacc uugaccacgu agg 23

<210> 300

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 300

uccacuauga ccucgaaacu ggg 23

<210> 301
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 301
 auucugauuc cuuccggcac gac 23
 <210> 302
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 302
 ucugccacac agaucuuu cuu 23
 <210> 303
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 303
 uuguagaugg ucuugucugu cug 23
 <210> 304
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 304

gucacgaaca ccaugagguc aaa

23

<210> 305

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 305

cuugaggucg aauuuauuac agg

23

<210> 306

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 306

ucucuguagg uucauguagu ugg

23

<210> 307

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 307

cguggucaag gucuucucuc u

21

<210> 308

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 308

acguggucaa ggucuucucu a 21

<210> 309

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 309

uuugaccuca ugguguucgu g 21

<210> 310

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 310

ggagaaauugc uucauacaaa a 21

<210> 311

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 311

uguuaaaugg cugauccugg a 21

<210> 312
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 312
 gacagacaag accaucuaca c 21
 <210> 313
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 313
 ccagacagac aagaccauc a 21
 <210> 314
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 314
 ccagauccac uucaccaaga a 21
 <210> 315
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 315

uugaccucau gguguucgug a 21

<210> 316

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 316

ccccuucgag gucacaguaa u 21

<210> 317

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 317

augaacaaaa cuguggcugu u 21

<210> 318

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 318

agacagacaa gaccaucua a 21

<210> 319

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 319

ccagauccac uucaccaaga c 21

<210> 320

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 320

agggaucugu guggcagacc a 21

<210> 321

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 321

gacaagacca ucuacacccc u 21

<210> 322

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 322

gcugaggaga auugcuucau a 21

<210> 323
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 323
 acguggucaa ggucuucucu c 21
 <210> 324
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 324
 ggaucugugu ggcagacccc u 21
 <210> 325
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 325
 acagacaaga ccaucacac a 21
 <210> 326
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 326

auccagacag acaagaccu u

21

<210> 327

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 327

cuccgugugg guggacgu a

21

<210> 328

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 328

uccagacaga caagaccau u

21

<210> 329

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 329

agggaucugu guggcagacc c

21

<210> 330

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 330

caagaaaggg aucugugugg a 21

<210> 331

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 331

ugaccucaug guguucguga u 21

<210> 332

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 332

gcagcuaaaa gacuuugacu u 21

<210> 333

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 333

cauccagaca gacaagacca u 21

<210> 334
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 334
 acagacaaga ccaucuacac c 21

<210> 335
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 335
 auccagacag acaagaccac c 21

<210> 336
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 336
 uuugaccuca ugguguucgu u 21

<210> 337
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 337

ggaugccaag aacacuauga u 21

<210> 338

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 338

aagaaaggga ucuguguggc a 21

<210> 339

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 339

caagaaaggg aucugugugg c 21

<210> 340

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 340

uacgugguca aggucuucuc u 21

<210> 341

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 341

caguuucgag gucauagugg a 21

<210> 342

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 342

cgugccggaa ggaaucaaaa u 21

<210> 343

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 343

gaaagggauc uguguggcag a 21

<210> 344

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 344

gacagacaag accaucuaca a 21

<210> 345
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 345
 ugaccucaug guguucguga c 21
 <210> 346
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 346
 uguaauaaau ucgaccucaa g 21
 <210> 347
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 347
 aacuacauga accuacagag a 21
 <210> 348
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 348

agagagaaga ccuugaccac gua

23

<210> 349

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 349

uagagaagac cuugaccacg uag

23

<210> 350

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 350

cacgaacacc augaggucac agg

23

<210> 351

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 351

uuuuguauca agcaauucuc cuc

23

<210> 352

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 352

uccaggauca gccauuuuac agc

23

<210> 353

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 353

guguagauagg ucuugucugu cug

23

<210> 354

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 354

uagauggucu ugucugucug gau

23

<210> 355

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 355

uucuugguga aguggaucug gua

23

<210> 356
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 356
 ucacgaacac caugagguca aag 23

<210> 357
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 357
 auuacuguga ccucgaaggg guc 23

<210> 358
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 358
 aacagccaca guuuuguuca uuc 23

<210> 359
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 359

uguagauggu cuugucuguc ugg 23

<210> 360

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 360

gucuugguga aguggaucug gua 23

<210> 361

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 361

uggucugcca cacagauccc uuu 23

<210> 362

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 362

agggguguag auggucuugu cug 23

<210> 363

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 363

uaugaagcaa uucuccucag cac 23

<210> 364

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 364

gagagaagac cuugaccacg uag 23

<210> 365

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 365

aggggucugc cacacagauc ccu 23

<210> 366

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 366

uguguagaug gucuugucug ucu 23

<210> 367

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 367

aauggucuug ucugucugga uga 23

<210> 368

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 368

uugacgucca cccacacgga guc 23

<210> 369

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 369

agauggucuu gucugucugg aug 23

<210> 370

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 370

gggucugcca cacagaucce uuu

23

<210> 371

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 371

uccacacaga uccuuucuu guc

23

<210> 372

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 372

aucacgaaca ccaugagguc aaa

23

<210> 373

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 373

aagucaaagu cuuuuagcug cag

23

<210> 374

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 374

auggucuugu cugucuggau gaa

23

<210> 375

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 375

gguguagaug gucuugucug ucu

23

<210> 376

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 376

gauggucuug ucugucugga uga

23

<210> 377

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 377

aacgaacacc augaggucaa agg

23

<210> 378
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 378
 aucauagugu ucuuggcauc cug 23

<210> 379
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 379
 ugccacacag aucccuuucu ugu 23

<210> 380
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 380
 gccacacaga ucccuuucuu guc 23

<210> 381
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 381

agagaagacc uugaccacgu agg 23

<210> 382

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 382

uccacuauga ccucgaaacu ggg 23

<210> 383

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 383

auucugauuc cuuccggcac gac 23

<210> 384

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 384

ucugccacac agaucccuuu cuu 23

<210> 385

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 385

uuguagaugg ucuugucugu cug 23

<210> 386

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 386

gucacgaaca ccaugagguc aaa 23

<210> 387

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 387

cuugaggucg aauuuauuac agg 23

<210> 388

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 388

ucucuguagg uucauguagu ugg 23

<210> 389
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 389
 uuuugacaau gaguucuaca a 21
 <210> 390
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 390
 aucaaugaau uuaguguaag a 21
 <210> 391
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 391
 agacaaaugu uucguucaag a 21
 <210> 392
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 392

cuuuugacaa ugaguucua a

21

<210> 393

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 393

aacuuggaaa gagccauuga a

21

<210> 394

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 394

uaccugagaa gcugauuaac a

21

<210> 395

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 395

accuuuugac aaugaguucu a

21

<210> 396

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 396

gacugcggaa augacuuuca a 21

<210> 397

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 397

gcccauucaaa auuugagga a 21

<210> 398

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 398

uuuuggauaa agcuuccaug a 21

<210> 399

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 399

aaccaaaggc gagaaaaau u 21

<210> 400

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 400

cuuugccaac uaccuaugaa a 21

<210> 401

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 401

cacuuuuuga caaugaguuc u 21

<210> 402

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 402

gagaagacau caaaauuuuaa u 21

<210> 403

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

oligonucleotide"

<400> 403

gacaaugagu ucuacaaugg a 21

<210> 404

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 404

uuuggauaaa gcuuccauga a 21

<210> 405

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 405

aucuaugaaa ccaaaggcga g 21

<210> 406

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 406

auaucaauga auuuagugua a 21

<210> 407

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 407

cacaccuuuu gacaaugagu u 21

<210> 408

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 408

uagggucuga gaccuuuuga a 21

<210> 409

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 409

caaaacuugg aaagagccau u 21

<210> 410

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 410

gcacaccuuu ugacaaugag u 21

<210> 411
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 411
 ugaacacaaa ggcgagaaaa a 21
 <210> 412
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 412
 uuguagaacu cauugucaaa agg 23
 <210> 413
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 413
 ucuuacacua aaucuuuga uau 23
 <210> 414
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 414

ucuugaacga aacauuuguc uga

23

<210> 415

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 415

uguagaacuc auugucaaaa ggu

23

<210> 416

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 416

uucaauggc cuuuccaagu uuu

23

<210> 417

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 417

uguuaaucag cuucucaggu agg

23

<210> 418

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 418

uagaacucau ugucaaaaagg ugu

23

<210> 419

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 419

uugaaaaguca uuuccgcagu cau

23

<210> 420

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 420

uucccucaaa uuugaauagg cag

23

<210> 421

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 421

ucauggaagc uuuaucacaa aca

23

<210> 422
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 422
 aaauuuuucu cgccuuuggu uuc 23

<210> 423
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 423
 uuucauaggu aguuggcaaa gcu 23

<210> 424
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 424
 agaacucauu gucaaaaggu gug 23

<210> 425
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 425

auuaaaaauuu gaugucuucu cuu 23

<210> 426

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 426

uccauuguag aacucauugu caa 23

<210> 427

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 427

uucauggaag cuuuauccaa aac 23

<210> 428

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 428

cucgccuuug guuucauaga uca 23

<210> 429

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 429

uuacacuaaa uucauugaua uag 23

<210> 430

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 430

aacucauugu caaaaggugu gcu 23

<210> 431

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 431

uucaaaaggu cucagaccu aag 23

<210> 432

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 432

aauggcucu uccaaguuuu guu 23

<210> 433
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 433
 acucauuguc aaaaggugug cuu 23
 <210> 434
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 434
 uuuuucucgc cuuugguuuc aua 23
 <210> 435
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 435
 uuuugacaau gaguucuaca a 21
 <210> 436
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 436
aucaaugaau uuaguguaag a 21

<210> 437
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 437
agacaaaugu uucguucaag a 21

<210> 438
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 438
cuuuugacaa ugaguucua a 21

<210> 439
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 439
aacuuggaaa gagccauuga a 21

<210> 440
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 440

uaccugagaa gcugauuaac a 21

<210> 441

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 441

accuuuugac aaugaguucu a 21

<210> 442

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 442

gacugcggaa augacuuuca a 21

<210> 443

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 443

gcccauucaaa auuugaggga a 21

<210> 444
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 444
 uuuuggauaa agcuuccaug a 21

<210> 445
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 445
 aaccaaaggc gagaaaaau u 21

<210> 446
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 446
 cuuugccaac uaccuaugaa a 21

<210> 447
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 447

caccuuuuga caaugaguuc u 21

<210> 448

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 448

gagaagacau caauuuuuaa u 21

<210> 449

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 449

gacaaugagu ucuacaugg a 21

<210> 450

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 450

uuuggauaaa gcuuccauga a 21

<210> 451

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 451

aucuaugaaa ccaaaggcga g 21

<210> 452

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 452

auaucaauga auuuagugua a 21

<210> 453

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 453

cacaccuuuu gacaaugagu u 21

<210> 454

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 454

uagggucuga gaccuuuuga a 21

<210> 455
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 455
 caaaacuugg aaagagccau u 21
 <210> 456
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 456
 gcacaccuuu ugacaaugag u 21
 <210> 457
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 457
 ugaaaccaaa ggcgagaaaa a 21
 <210> 458
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 458

uuguagaacu cauugucaaa agg

23

<210> 459

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 459

ucuuacacua aaaucauuga uau

23

<210> 460

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 460

ucuugaacga aacauuuguc uga

23

<210> 461

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 461

uguagaacuc auugucaaaa ggu

23

<210> 462

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 462

uucaauggcu cuuuccaagu uuu 23

<210> 463

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 463

uguuaaauag cuucucaggu agg 23

<210> 464

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 464

uagaacucau ugucaaaaagg ugu 23

<210> 465

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 465

uugaaaguca uuuccgcagu cau 23

<210> 466
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 466
 uucccucaaa uuugaauaggg cag 23

<210> 467
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 467
 ucauggaagc uuuaucacaa aca 23

<210> 468
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 468
 aaaaauuucu cgccuuuggu uuc 23

<210> 469
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 469

uuucauaggu aguuggcaaa gcu 23

<210> 470

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 470

agaacucauu gucaaaaggu gug 23

<210> 471

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 471

auuaaaauuu gaugucuucu cuu 23

<210> 472

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 472

uccauuguag aacucauugu caa 23

<210> 473

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 473

uucauggaag cuuuauccaa aac 23

<210> 474

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 474

cucgccuuug guuucauaga uca 23

<210> 475

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 475

uuacacuaaa uucaugaua uag 23

<210> 476

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 476

aacucauugu caaaaggugu gcu 23

<210> 477
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 477
 uucaaaaggu cucagaccu aag 23
 <210> 478
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

 <400> 478
 aauggcucu uccaaguuu guu 23
 <210> 479
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"
 <400> 479
 acucauguc aaaaggugug cuu 23
 <210> 480
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 480
uuuuucucgc cuuugguuuc aua 23

<210> 481
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 481
gauugagaag guggcgaguu a 21

<210> 482
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 482
agcaacaugu guucaaaguc a 21

<210> 483
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial Sequence
<220><221> source
<223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
oligonucleotide"

<400> 483
gcuguggugu cugaguacuu u 21

<210> 484
<211> 23
<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 484

uaacucgccca ccuucucaau caa

23

<210> 485

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 485

ugacuuugaa cacauguugc uca

23

<210> 486

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 486

aaaguacuca gacaccacag ccc

23

<210> 487

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 487

uaacucgccca ccuucucaau caa

23

<210> 488
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 488
 ugacuuugaa cacauguugc uca 23

<210> 489
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 489
 aaaguacuca gacaccacag ccc 23

<210> 490
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic
 oligonucleotide"

<400> 490
 uaacucgcca ccuucucaau caa 23

<210> 491
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial Sequence
 <220><221> source
 <223> /note="Description of Artificial Sequence: Synthetic

oligonucleotide"

<400> 491

ugacuuugaa cacauguugc uca 23

<210> 492

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220><221> source

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

<400> 492

aaaguacuca gacaccacag ccc 23