



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **121656** (13) **C2**
(51) МПК (2020.01)**C12N 15/113** (2010.01)
C12N 15/115 (2010.01)
A61K 31/7115 (2006.01)
A61K 31/712 (2006.01)
A61K 31/7125 (2006.01)
A61P 37/00
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 27/02 (2006.01)МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА ВІНАХІД**

(21) Номер заявки:	а 2016 12124	(74) Представник:	Бочаров Максим Анатолійович, реєстр. №367
(22) Дата подання заявки:	01.05.2015	(56) Перелік документів, взятих до уваги експертизою:	US 2010093085 A1, 15.04.2010 US 7696344 B2, 13.04.2010 US 2002082227 A1, 27.06.2002 US 2004249178 A1, 09.12.2004 WO 2012177947 A2, 27.12.2012 WO 2013166121 A1, 07.11.2013 Maier M. A. et al. Synthesis of antisense oligonucleotides conjugated to a multivalent carbohydrate cluster for cellular targeting. Bioconjugate chemistry, 2003, vol. 14, no. 1, p. 18 - 29 WO 2015038939 A2, 19.03.2015 WO 2014205451 A2, 24.12.2014 Prakash T. P. et al. Targeted delivery of antisense oligonucleotides to hepatocytes using triantennary N-acetyl galactosamine improves potency 10-fold in mice, 3 July 2014, Nucleic acids research, vol. 42, no. 13, p. 8796 - 8807 Jayaprakash K. N. et al. Multivalent N - Acetylgalactosamine-Conjugated siRNA Localizes in Hepatocytes and Elicits Robust RNAi-Mediated Gene Silencing, Journal of the american chemical society, 10 December 2014, vol. 136, no. 49, p. 16958 - 16961 Ostergaard Mi. E. et al. Efficient Synthesis and Biological Evaluation of 5'-GalNAc Conjugated Antisense Oligonucleotides. Bioconjugate chemistry, 2015, vol. 26, no. 8, p. 1451 - 1455 Grossman T. R. et al. Inhibition of the alternative complement pathway by antisense oligonucleotides targeting complement factor B improves lupus nephritis in mice. Immunobiology, 2015, vol. 221, no. 6, p. 701 - 708 WO 2015089368 A2, 18.06.2015
(24) Дата, з якої є чинними права на винахід:	10.07.2020		
(31) Номер попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	61/987,471, 62/076,273		
(32) Дата подання попередньої заявки відповідно до Паризької конвенції:	01.05.2014, 06.11.2014		
(33) Код держави-учасниці Паризької конвенції, до якої подано попередню заявку:	US, US		
(41) Публікація відомостей про заявку:	25.01.2017, Бюл.№ 2		
(46) Публікація відомостей про видачу патенту:	10.07.2020, Бюл.№ 13		
(86) Номер та дата подання міжнародної заявки, поданої відповідно до Договору РСТ	PCT/US2015/028916, 01.05.2015		
(72) Винахідник(и):	Пракаш Тхазха П. (US), Сетх Пуніт П. (US), Свайзе Ерік Е. (US), Гроссман Тамар Р. (US), МакКелеб Майкл Л. (US), Уотт Ендрю Т. (US), Фреєр Сьюзан М. (US)		
(73) Власник(и):	АЙОНІС ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ, ІНК., 2855 Gazelle Court, Carlsbad, CA 92010, United States of America (US)		

UA 121656 C2

(54) ОЛІГОМЕРНА СПОЛУКА ТА СПОСІБ ЛІКУВАННЯ ЗАХВОРЮВАННЯ, ПОВ'ЯЗАНОГО З ПОРУШЕННЯМ РЕГУЛЯЦІЇ АЛЬТЕРНАТИВНОГО ШЛЯХУ КОМПЛЕМЕНТУ

(57) Реферат:

Винахід стосується олігомерної сполуки, композиції для інгібування експресії фактора комплементу В (CFB), яка містить дану сполуку або її фармацевтично прийнятну сіль, способу лікування захворювання, пов'язаного з порушенням регуляції альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, та застосування олігомерної сполуки або композиції для виготовлення лікарського засобу для лікування вказаного захворювання.

Перелік послідовностей

Цей винахід зареєстровано разом з переліком послідовностей в електронному форматі. Перелік послідовностей представлений у вигляді файлу під назвою BIOL0251WOSEQ_ST25.txt, створеного 28 квітня 2015 року, розміром 204 Кб. Інформація про перелік послідовностей в електронному форматі в повному обсязі включена в цей документ шляхом посилання.

Галузь техніки

У варіантах реалізації цього винаходу запропоновані способи, сполуки та композиції для лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, за допомогою введення суб'єкту специфічного інгібітору фактора комплементу В (CFB).

Рівень техніки

Система комплементу являє собою частину вродженої імунної системи хазяїна, що бере участь у лізингу чужорідних клітин, посиленні фагоцитозу антигенів, агрегації агентів, що несуть антигени і притягненні макрофагів і нейтрофілів. Систему комплементу підрозділяють на три шляхи ініціації - класичний, лектиновий та альтернативний шляхи - які сходяться у компоненту C3 з утворенням ферментного комплексу, відомого як C3-конвертаза, яка розщеплює C3 на C3a і C3b. C3b через CFB зв'язується з C3-конвертазою і призводить до утворення C5-конвертази, що розщеплює C5 на C5a і C5b, що ініціює мембраноатакуючий каскад, що приводить до формування мембраноатакуючого комплексу (MAC), який містить компоненти C5b, C6, C7, C8 і C9. Мембраноатакуючий комплекс (MAC) утворює трансмембранні канали і руйнує фосфоліпідний подвійний шар клітин-мішеней, що призводить до лізису клітин.

У гомеостатичному стані альтернативний шлях безперервно активується на нижньому "холостому" рівні в результаті альтернативного шляху активації спонтанним гідролізом C3 і виробленням C3b, який утворює C5-конвертазу.

Суть винаходу

Система комплементу опосередковує вроджений імунітет і відіграє важливу роль у нормальній запальній реакції на травму, але її дизрегуляція може викликати важке пошкодження. Активація альтернативного шляху комплементу вище конститутивного "холостого" рівня може призводити до необмеженої гіперактивності і прояву у формі захворювань дизрегуляції комплементу.

Деякі варіанти реалізації винаходу відносяться до способів лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, у суб'єкта шляхом введення специфічного інгібітору фактора комплементу В (CFB). Деякі варіанти реалізації, запропоновані в цьому документі, відносяться до способу інгібування експресії CFB у суб'єкта, який страждає або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, за допомогою введення суб'єкту специфічного інгібітору CFB. У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб зниження або інгібування накопичення відкладень C3 в оці суб'єкта, який страждає або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту специфічного інгібітору CFB. У деяких варіантах реалізації винаходу спосіб зниження або інгібування накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта, страждає або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту специфічного інгібітору CFB.

Детальний опис винаходу

Слід розуміти, що наведений вище загальний опис і наступний докладний опис є лише зразковими і пояснювальними, і не обмежують заявлений винахід. У цьому документі використання однини включає множину, якщо спеціально не зазначено інше. При використанні в цьому документі, термін "або" означає "та/або", якщо не зазначено інше. Крім того, використання терміна "включаючи", а також інших форм, таких як "включає" і "включений", не є обмежуючим. Також, такі терміни як "елемент" або "компонент" охоплюють як елементи і компоненти, що містять одну одиницю, так і елементи і компоненти, які містять більше однієї субоддиниці, якщо спеціально не зазначено інше.

Назви розділів, що використовуються в цьому документі, призначені лише для організаційних цілей, і їх не слід тлумачити як обмеження описаного об'єкта винаходу. Всі документи або частини документів, наведених у цій заявці, включаючи, без обмеження, патенти, патентні заявки, статті, книги і трактати, в явній формі включені в цей документ шляхом посилання у відношенні частин документів, обговорюваних у цьому описі, а також у повному обсязі.

При відсутності конкретних визначень, номенклатура, використовувана у зв'язку з ними, а також у зв'язку з прийомом і методиками аналітичної хімії, синтетичної органічної хімії, а також

медичної та фармацевтичної хімії, описана в цьому документі, є загальновідомою та загальноприйнятою в цій галузі техніки. Для хімічного синтезу та хімічного аналізу можуть бути використані стандартні методики. Деякі такі методики і прийоми представлені, наприклад, у публікаціях "Carbohydrate Modifications in Antisense Research" під редакцією Sangvi і Cook, American Chemical Society, федеральний округ Вашингтон, 1994; "Remington's Pharmaceutical Sciences, » Mack Publishing Co., Істон, штат Пенсільванія, 21^е видання, 2005; "Antisense Drug Technology, Principles, Strategies, and Applications" під редакцією Stanley T. Crooke, CRC Press, Боки-Ратон, штат Флорида; а також у книзі Sambrook et al., "Molecular Cloning, A laboratory Manual, » 2^е видання, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989, які включені в цей документ шляхом посилання для усіх цілей. Якщо це допустимо, всі патенти, заявки, опубліковані заявки та інші публікації, а також інші дані, що згадуються в тексті цього опису, включені в цей документ шляхом посилання в повному обсязі.

Якщо не вказано інше, такі терміни мають такі значення:

"2'-F нуклеозид" відноситься до нуклеозиду, який містить цукор, що містить фтор у 2'-положенні. Якщо не вказано інше, то фтор у 2'-F нуклеозиді знаходиться в рибо-положенні (замінюючи OH природної рибози).

"2'-O-метоксіетил" (також 2'-MOE і 2'-O(CH₂)₂-OCH₃) відноситься до O-метоксіетил модифікації у 2' положенні фуранозного кільця. 2'-O-метоксіетил-модифікований цукор являє собою модифікований цукор.

"2'-MOE нуклеозид" (також 2'-O-метоксіетил-нуклеозид) означає нуклеозид, що містить 2'-MOE модифікований цукровий фрагмент.

"2'-заміщений нуклеозид" означає нуклеозид, що містить замісник у 2'-положенні фуранозного кільця, відмінний від H або OH. У деяких варіантах реалізації 2'-заміщені нуклеозиди включають нуклеозиди з біциклічними цукровими модифікаціями.

"3' Сайт-мішень" позначає нуклеотид нуклеїнової кислоти-мішені, комплементарний 3'-крайньому нуклеотиду конкретної антисмислової сполуки.

"5' Сайт-мішень" позначає нуклеотид нуклеїнової кислоти-мішені, комплементарний 5'-крайньому нуклеотиду конкретної антисмислової сполуки.

"5-метилцитозин" означає цитозин модифікований метильною групою в 5 положенні. 5-метилцитозин являє собою модифіковану азотисту основу.

"Близько" означає в межах $\pm 10\%$ від значення. Наприклад, якщо вказано, що "сполуки викликають щонайменше близько 70 % інгібування CFB", мається на увазі, що рівні CFB інгібуються в межах 60-80 %.

"Вводити" або "введення" відноситься до способів введення суб'єкту антисмислової сполуки, запропонованої в цьому документі, для виконання його призначеної функції. Приклад способу введення, який може бути використаний, включає, без обмеження, парентеральне введення, таке як підшкірна, внутрішньовенна або внутрішньом'язова ін'єкція або інфузія.

"Алкіл" у цьому контексті означає насичений нерозгалужений або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить до двадцяти чотирьох атомів вуглецю. Приклади алкільних груп включають, без обмежень, метил, етил, пропіл, бутіл, ізопропіл, н-гексил, октил, децил, додецил і т. п. Алкільні групи зазвичай містять від 1 до близько 24 атомів вуглецю, більш часто від 1 до близько 12 атомів вуглецю (C1-C12 алкіл), більш переважно від 1 до близько 6 атомів вуглецю.

У цьому контексті "алкеніл" означає нерозгалужений або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить до двадцяти чотирьох атомів вуглецю і має щонайменше один подвійний вуглець-вуглецевий зв'язок. Приклади алкенільних груп включають, без обмеження, етеніл, пропеніл, бутеніл, 1-метил-2-бутен-1-іл, дієни, такі як 1,3-бутадієн і т. п. Алкенільні групи зазвичай містять від 2 до близько 24 атомів вуглецю, більш часто від 2 до близько 12 атомів вуглецю, більш переважно від 2 до 6 атомів вуглецю. Алкенільні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити одну або більше додаткових груп замісників.

У цьому контексті "алкініл" означає нерозгалужений або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить до двадцяти чотирьох атомів вуглецю і має щонайменше один потрійний вуглець-вуглецевий зв'язок. Приклади алкінільних груп включають, без обмеження, етиніл, 1-пропініл, 1-бутиніл і т. п. Алкінільні групи зазвичай містять від 2 до близько 24 атомів вуглецю, більш часто від 2 до близько 12 атомів вуглецю, більш переважно від 2 до 6 атомів вуглецю. Алкінільні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити одну або більше додаткових груп замісників.

У цьому контексті "ацил" означає радикал, утворений за рахунок видалення гідроксильної групи від органічної кислоти, і має загальну формулу -C(O)-X, де X зазвичай є аліфатичним, аліциклічним або ароматичним. Приклади включають аліфатичні карбоніли, ароматичні

карбоніли, аліфатичні сульфоніли, ароматичні сульфініли, аліфатичні сульфініли, ароматичні фосфати, аліфатичні фосфати і т. п. Ацильні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

У цьому контексті "аліциклічна" означає циклічну кільцеву систему, в якій кільце є аліфатичним. Кільцева система може містити одне або більше кілець, при цьому щонайменше одне кільце є аліфатичним. Переважні аліциклічні системи включають кільця, що мають від близько 5 до близько 9 атомів вуглецю в кільці. Аліциклічні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

У цьому контексті "аліфатичний" означає нерозгалужений або розгалужений вуглеводневий радикал, що містить до двадцяти чотирьох атомів вуглецю, в якому насиченість між будь-якими двома атомами вуглецю являє собою одинарний, подвійний або потрійний зв'язок. Аліфатична група переважно містить від 1 до близько 24 атомів вуглецю, більш часто від 1 до близько 12 атомів вуглецю, більш переважно від 1 до близько 6 атомів вуглецю. Нерозгалужений або розгалужений ланцюг аліфатичної групи може бути перерваним одним або більше гетероатомами, що включають азот, кисень, сірку і фосфор. Такі аліфатичні групи, перервані гетероатомами, що включають, без обмежень, поліалкокси, такі як поліалкіленгліколи, поліаміни і полііміни. Аліфатичні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

У цьому контексті "алкокси" означає радикал, утворений між алкільною групою та атомом кисню, при цьому атом кисню використовується для приєднання алкокси-групи до початкової молекули. Приклади алкокси-груп включають, без обмежень, метокси, етокси, пропокси, ізопропокси, н-бутокс, втор-бутокс, трет-бутокс, н-пентокс, неопентокс, н-гексокс і т. п. Алкокси-групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

У цьому контексті "аміноалкіл" означає амінозаміщений C1-C12 алкільний радикал. Алкільна частина зазначеного радикала утворює ковалентний зв'язок із початковою молекулою. Аміногрупа може бути розташована в будь-якому положенні, і аміноалкільна група може бути заміщена додатковою групою замісника алкільної та/або аміно-частини.

У цьому контексті "аралкіл" і "арилалкіл" означає ароматичну групу, яка ковалентно зв'язана з C1-C12 алкільним радикалом. Частина алкільного радикала утвореної аралкільної (або арилалкільної) групи утворює ковалентний зв'язок із початковою молекулою. Приклади включають, без обмежень, бензил, фенетил і т. п. Аралкільні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників, приєднані до алкільної, арильної або до обох груп, які утворюють зазначену радикальну групу.

У цьому контексті "арил" і "ароматичний" означають радикали моно - або поліциклічної карбоциклічної кільцевої системи, які мають одно або більше ароматичних кілець. Приклади арильних груп включають, без обмеження, феніл, нафтіл, тетрагідронафтіл, інданіл, інденіл і т. п. Переважні арильні кільцеві системи мають від близько 5 до близько 20 атомів вуглецю в одному або більше кільцях. Арильні групи, що використовуються в цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

"Послаблення" відноситься до зменшення щонайменше одного показника, ознаки або симптому пов'язаного захворювання, розладу або патологічного стану. У деяких варіантах реалізації ослаблення включає відстрочку або уповільнення розвитку одного або більше показників патологічного стану або захворювання. Ступінь тяжкості показників може бути визначена суб'єктивними або об'єктивними показниками, які відомі фахівцям у цій області техніки.

"Тварина" відноситься до людині або тварині, яка не є людиною, що включає, без обмеження, мишей, пацюків, кроликів, собак, котів, свиней і приматів, включаючи, без обмеження, мавп і шимпанзе.

"Антисмислова активність" означає будь-яку активність, що детектується або піддається вимірюванню, зумовлену гібридизацією антисмислової сполуки з її нуклеїною кислотою-мішенню. У деяких варіантах реалізації антисмислова активність являє собою зменшення кількості або експресії нуклеїнової кислоти-мішені або білка, який кодований такою нуклеїною кислотою-мішенню.

"Антисмислова сполука" означає олігомерну сполуку, яка здатна до гібридизації з нуклеїною кислотою-мішенню за допомогою водневого зв'язку. Приклади антисмислових сполук включають одноланцюгові і дволанцюгові сполуки, такі як антисмислові олігонуклеотиди, міРНК, мшРНК, олРНК і сполуки на їх основі.

"Антисмислове інгібування" означає зниження рівнів нуклеїнової кислоти-мішені в присутності антисмислової сполуки, комплементарної нуклеїновій кислоті-мішені, порівняно з

рівнями нуклеїнової кислоти-мішені у відсутності антисмислової сполуки.

"Антисмислові механізми" являють собою всі механізми, які беруть участь у гібридизації сполуки з нуклеїновою кислотою-мішенню, причому результат або ефект гібридизації являє собою розкладання мішені або окупацію мішені зі супутньою зупинкою клітинного апарату,

включаючи, наприклад, транскрипцію або сплайсинг.

"Антисмисловий олігонуклеотид" означає одноланцюговий олігонуклеотид, який має послідовність азотистих основ, що забезпечує можливість гібридизації з відповідною ділянкою або сегментом нуклеїнової кислоти-мішені.

"Комплементарність основи" відноситься до здатності спарювання конкретної пари азотистих основ антисмислового олігонуклеотида з відповідними азотистими основами у нуклеїновій кислоті-мішені (тобто гібридизації), опосередкованої уотсон-криковським, хугстиновським або зворотним хугстиновським водневим зв'язуванням між відповідними азотистими основами.

"Біциклічний цукровий фрагмент" означає модифікований цукровий фрагмент, що містить 4-

7-членне кільце (включаючи, без обмеження, фуранозил), що містить місток, що зв'язує два

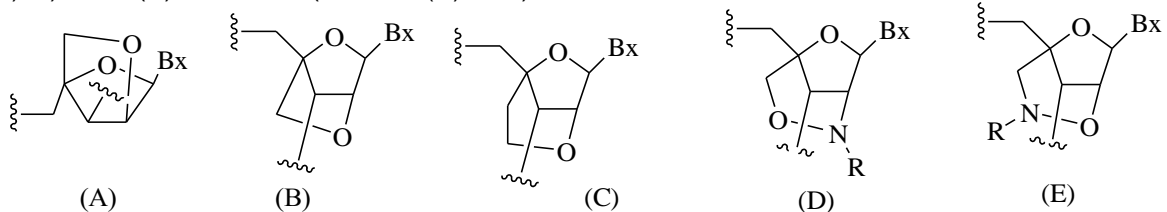
атоми 4-7-членного кільця з утворенням другого кільця, що приводить до отримання біциклічної

структури. У деяких варіантах реалізації 4-7-членне кільце являє собою цукрове кільце. У деяких

варіантах реалізації 4-7-членне кільце являє собою фуранозил. У деяких таких варіантах

реалізації місток з'єднує 2'-вуглець і 4'-вуглець фуранозилу.

"Біциклічна нуклеїнова кислота" або "БНК" або "БНК нуклеозид" означає, що мономери нуклеїнової кислоти мають місток, що з'єднує два атоми вуглецю між 4' і 2' положеннями нуклеозидної цукрової одиниці, тим самим утворюючи біциклічний цукор. Приклади такого біциклічного цукру включають, без обмеження, А) α -L-метиленокси (4'-CH₂-O-2') ЗНК, (В) β -D-метиленокси (4'-CH₂-O-2') ЗНК, (С) етиленокси (4'-(CH₂)₂-O-2') ЗНК, (D) аміноокси (4'-CH₂-O-N(R)-2') ЗНК і (Е) оксиаміно (4'-CH₂-N(R)-O-2') ЗНК, як показано нижче.



У цьому контексті сполуки ЗНК включають, без обмеження, сполуки, які мають щонайменше один місток між 4' і 2' положеннями цукру, причому кожен з містків незалежно містить 1 або від 2 до 4 зв'язаних груп, незалежно вибраних з $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n$ -, $-\text{C}(\text{R}_1)=\text{C}(\text{R}_2)-$, $-\text{C}(\text{R}_1)=\text{N}-$, $-\text{C}(=\text{NR}_1)-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{S})-$, $\text{O}-$, $-\text{Si}(\text{R}_1)_2-$, $-\text{S}(=\text{O})_x-$, $-\text{N}(\text{R}_1)-$; де: x дорівнює 0, 1 або 2; n дорівнює 1, 2, 3 або 4; кожен R_1 R_2 незалежно являє собою H , захисну групу, гідроксил, C_1 - C_{12} алкіл, заміщений C_1 - C_{12} алкіл, C_2 - C_{12} алкеніл, заміщений C_2 - C_{12} алкеніл, C_2 - C_{12} алкініл, заміщений C_2 - C_{12} алкініл, C_5 - C_{20} арил, заміщений C_5 - C_{20} арил, гетероциклічний радикал, заміщений гетероциклічний радикал, гетероарил, заміщений гетероарил, C_5 - C_7 аліциклічний радикал, заміщений C_5 - C_7 аліциклічний радикал, галоген, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , COOJ_1 , ацил ($\text{C}(=\text{O})-\text{H}$), заміщений ацил, CN , сульфоніл ($\text{S}(=\text{O})_2\text{J}_1$) або сульфоксил ($\text{S}(=\text{O})-\text{J}_1$); і кожен J_1 J_2 незалежно являє собою H , C_1 - C_{12} алкіл, заміщений C_1 - C_{12} алкіл, C_2 - C_{12} алкеніл, заміщений C_2 - C_{12} алкеніл, C_2 - C_{12} алкініл, заміщений C_2 - C_{12} алкініл, C_5 - C_{20} арил, заміщений C_5 - C_{20} арил, ацил ($\text{C}(=\text{O})-\text{H}$), заміщений ацил, гетероциклічний радикал, заміщений гетероциклічний радикал, C_1 - C_{12} аміноалкіл, заміщений C_1 - C_{12} аміноалкіл або захисну групу.

Приклади 4'-2' місткових груп, що входять у визначення ЗНК, включають, без обмеження, одну з формул: $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n$ -, $-\text{C}(\text{R}_1)(\text{R}_2)_n\text{-O-}$, $-\text{C}(\text{R}_1\text{R}_2)\text{-N}(\text{R}_1)\text{-O-}$ or $-\text{C}(\text{R}_1\text{R}_2)\text{-O-N}(\text{R}_1)-$. Крім того, інші місткові групи, що входять у визначення ЗНК, являють собою містки 4'-CH₂-2', 4'-(CH₂)₂-2', 4'-(CH₂)₃-2', 4'-CH₂-O-2', 4'-(CH₂)₂-O-2', 4'-CH₂-O-N(R₁)-2' і 4'-CH₂-N(R₁)-O-2'-, де кожен R_1 R_2 незалежно являє собою H , захисну групу або C_1 - C_{12} алкіл.

Також у визначення ЗНК згідно з цим винаходом включені ЗНК, в яких 2'-гідроксильна група рибозильного цукрового кільця з'єднана з 4' атомом вуглецю цукрового кільця, з утворенням таким чином містка метиленокси (4'-CH₂-O-2'), формуючи біциклічний цукровий фрагмент. Місток також може бути метиленовою групою (-CH₂-), що з'єднує атом кисню 2' і атом вуглецю 4', до якої використовується термін метиленокси (4'-CH₂-O-2') ЗНК. Крім того, у разі біциклічного цукрового фрагменту, що містить етиленову місткову групу в цьому положенні, застосовується термін етиленокси (4'-CH₂CH₂-O-2') ЗНК. α -L-метиленокси (4'-CH₂-O-2') ЗНК, ізомер метиленокси (4'-CH₂-O-2') ЗНК, також потрапляє під визначення ЗНК у цьому контексті.

"Кеп-структура" або "кеп-термінальний фрагмент" означає хімічні модифікації, які були

зроблені з будь-якого кінця антисмислової сполуки.

"Вуглевод" означає природний вуглевод, модифікований вуглевод або похідне вуглеводу.

"Вуглеводний кластер" означає сполуку, що має один або більше вуглеводних залишків, приєднаних до скелету або лінкерної групи. (див., наприклад, Maier et al., "Synthesis of Antisense Oligonucleotides Conjugated to a Multivalent Carbohydrate Cluster for Cellular Targeting, » Bioconjugate Chemistry, 2003, (14): 18-29, повний зміст якої включено у цей документ за допомогою посилання, або Rensen et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor, » J. Med. Chem. 2004, (47): 5798-5808, де представлені приклади вуглеводних зв'язаних кластерів).

"Похідне вуглеводу" означає будь-яку сполуку, яка може бути синтезована з використанням вуглеводу в якості вихідного матеріалу або проміжної сполуки.

"сEt" або "стерично утруднений етил" означає біциклічний цукровий фрагмент, який містить місток, що з'єднує 4'-вуглець і 2'-вуглець, причому місток має формулу: 4'-CH(CH₃)-O-2'.

"Хімічна модифікація" означає хімічну відмінність у сполуці, порівняно з природним аналогом. Хімічні модифікації олігонуклеотидів включають нуклеозидні модифікації (включаючи модифікації цукрового фрагмента і модифікації азотистої основи) і модифікації міжнуклеозидних лінкерів. У відношенні олігонуклеотиду хімічна модифікація включає не тільки відмінності в послідовності азотистих основ.

"Зв'язок що розщеплюється" означає будь-який хімічний зв'язок, який може бути розщеплений. У деяких варіантах реалізації зв'язок, що розщеплюється обран з: аміду, поліаміду, естеру, ефіру, одного або обох естерів фосфодіефіру, фосфатного естеру, карбамату, дисульфідну або пептиду.

"Фрагмент що розщеплюється" означає зв'язок або групу, яка може бути розщеплена при фізіологічних умовах. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється, розщеплюється всередині клітини або у внутрішньоклітинних відділах, таких як лізосома. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється, розщеплюється ендogenous ферментами, такими як нуклеази. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється містить групу атомів, яка має один, два, три, чотири або більше чотирьох зв'язків, що розщеплюються.

"Кон'югат" або "група кон'югату" означає атом або групу атомів, зв'язану з олігонуклеотидом або олігомерною сполукою. Як правило, групи кон'югату модифікують одне або більше властивостей сполуки, до якої вони приєднані, включаючи, без обмеження, властивості фармакодинаміки, фармакокінетики, зв'язування, поглинання, клітинного розподілу, клітинного захоплення, заряду та/або виведення.

"Лінкер кон'югату" або "лінкер" у контексті групи кон'югату означає частину групи кон'югату, що містить будь-який атом або групу атомів і яка ковалентно зв'язує (1) олігонуклеотид з іншою частиною групи кон'югату або (2) дві або більше частин групи кон'югату.

Групи кон'югату представлені в цьому документі як радикали, що забезпечують зв'язок для утворення ковалентного приєднання до олігомерної сполуки, такої як антисмисловий олігонуклеотид. У деяких варіантах реалізації точка приєднання в олігомерній сполуці являє собою 3'-атом кисню 3'-гідроксильної групи 3'-кінцевого нуклеозиду олігомерної сполуки. У деяких варіантах реалізації точка приєднання в олігомерній сполуці являє собою 5'-атом кисню 5'-гідроксильної групи 5'-кінцевого нуклеозиду олігомерної сполуки. У деяких варіантах реалізації зв'язок для утворення приєднання до олігомерної сполуки являє собою зв'язок, що розщеплюється. У деяких таких варіантах реалізації такий зв'язок, що розщеплюється, охоплює весь або частину фрагмента, що розщеплюється.

У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять фрагмент, що розщеплюється (наприклад, зв'язок, що розщеплюється або нуклеозид, що розщеплюється) і частину вуглеводного кластеру, таку як частина кластеру GalNAc. Така частина вуглеводного кластеру містить: фрагмент, що націлює і необов'язково лінкер кон'югату. У деяких варіантах реалізації частину вуглеводного кластеру визначають за кількістю і суттю ліганду. Наприклад, у деяких варіантах реалізації частина вуглеводного кластеру містить 3 групи GalNAc і позначена "GalNAc3". У деяких варіантах реалізації частина вуглеводного кластеру містить 4 групи GalNAc і позначена "GalNAc4". Конкретні частини вуглеводних кластерів (мають конкретну зв'язку, групи розгалуження і лінкера кон'югату) описані в цьому документі і позначені римською цифрою з подальшим нижнім індексом "a". Відповідно, "GalNAc3-1a" відноситься до конкретної частини вуглеводного кластеру групи кон'югату, що має 3 групи GalNAc і конкретно визначену зв'язку, групи розгалуження і лінкера. Такий фрагмент вуглеводного кластеру приєднаний до олігомерної сполуки через фрагмент, що розщеплюється, такий як зв'язок, що розщеплюється або нуклеозид, що розщеплюється.

"Сполучена сполука" означає будь-які атоми, групи атомів або групу зв'язаних атомів, що підходить для застосування в якості групи кон'югату. У деяких варіантах реалізації парні сполуки можуть володіти або впливати на одне або більше властивостей, включаючи, без обмеження, властивості фармакодинаміки, фармакокінетики, зв'язування, абсорбції, клітинного розподілу, клітинного захоплення, заряду та/або виведення.

"Нуклеозид зі стерично утрудненим етилом" (також сEt нуклеозид) означає нуклеозид, що містить біциклічний цукровий фрагмент, який містить 4'-CH(CH₃)-O-2' місток.

"Фактор комплементу В (CFB)" означає будь-яку нуклеїнову кислоту або білок CFB. "Нуклеїнова кислота CFB" означає будь-яку нуклеїнову кислоту, що кодує CFB. Наприклад, у деяких варіантах реалізації нуклеїнова кислота CFB включає послідовність ДНК, що кодує CFB, послідовність РНК, транскрибовану з ДНК, що кодує CFB (включаючи геномну ДНК, що містить інтрони та екзони), включаючи некодуючу білок (тобто некодуючу) послідовність РНК, і послідовність мРНК, що кодує CFB. "мРНК CFB" означає мРНК, що кодує білок CFB.

"Специфічний інгібітор CFB" відноситься до будь-якого агента, здатного специфічно інгібувати експресію РНК CFB та/або білка CFB або активність на молекулярному рівні. Наприклад, CFB-специфічні інгібітори включають нуклеїнові кислоти (включаючи антисмислові сполуки), пептиди, антитіла, низькомолекулярні сполуки та інші агенти, здатні пригнічувати експресію РНК CFB та/або білка CFB.

"Хімічно помітна ділянка" відноситься до ділянки антисмислової сполуки, яка в деякому роді хімічно відрізняється від іншої ділянки тієї ж антисмислової сполуки. Наприклад, ділянка, що містить 2'-О-метоксіетиліві нуклеозиди, є хімічно відмінною від ділянки, що містить нуклеозиди без 2'-О-метоксіетилівих модифікацій.

"Химерна антисмислова сполука" означає антисмислову сполуку, яка має щонайменше 2 хімічно різних ділянки, кожна позиція має безліч субодиниць.

"Комплементарність" означає здатність спарювання азотистих основ першої та другої нуклеїнових кислот.

"Включати", "включає" і "той, що включає" слід розуміти як позначення включення зазначеної стадії або елемента або групи елементів або етапів, але не виключення будь-якого іншого елемента або стадії, або групи стадій або елементів.

"Безперервні азотисті основи" означають азотисті основи, які безпосередньо примикають один до одного.

"Дезоксинуклеозид" означає нуклеозид, що містить 2'-Н фуранозильний цукровий фрагмент, що знаходиться в природних дезоксирибонуклеозидах (ДНК). У деяких варіантах реалізації 2'-дезоксинуклеозид може містити модифіковану азотисту основу або може містити азотисту основу РНК (наприклад, урацил).

"Дезоксирибонуклеотид" означає нуклеотид, що має водень у 2' положенні цукрової частини нуклеотиду. Дезоксирибонуклеотиди можуть бути модифіковані за допомогою будь-якого з безлічі замісників.

"Конструювання" або "розробка" відноситься до процесу конструювання олігомерної сполуки, яка специфічно гібридується з обраною молекулою нуклеїнової кислоти.

"По-різному модифіковані" означає хімічні модифікації або хімічні замісники, які відрізняються один від одного, включаючи відсутність модифікацій. Так, наприклад, МОЕ нуклеозид і модифікований нуклеозид ДНК є "по-різному модифікованими", навіть незважаючи на те, що нуклеозид ДНК не є модифікованим. Точно так, ДНК і РНК є "по-різному модифікованими", навіть незважаючи на те, що обидва являють собою природні немодифіковані нуклеозиди. Нуклеозиди, які є однаковими, але містять різні азотисті основи, не є по-різному модифікованими. Наприклад, нуклеозид, що містить 2'-ОМе модифікований цукор і немодифіковану азотисту основу аденін, і нуклеозид, що містить 2'-ОМе модифікований цукор і немодифіковану азотисту основу тимін, не є по-різному модифікованими.

"Дволанцюгові" відноситься до двох окремих олігомерних сполук, які гібридизовані одна з одною. Такі дволанцюгові сполуки можуть мати один або більше негібридизованих нуклеозидів з одного або обох кінців одного або обох ланцюгів (виступи) та/або один або більше внутрішніх негібридизованих нуклеозидів (невідповідностей), за умови, що існує достатня комплементарність для збереження гібридизації при фізіологічно релевантних умовах.

"Ефективна кількість" означає кількість активного фармацевтичного агента, достатню для досягнення бажаного фізіологічного результату у індивідуума, що має потребу в такому агенті. Ефективна кількість може варіювати серед індивідуумів в залежності від здоров'я і фізичного стану індивіда, що підлягає лікуванню, таксономічної групи індивідуумів, що підлягають лікуванню, рецептури композиції, оцінки індивідуального стану здоров'я та інших релевантних факторів.

"Ефективність" означає здатність виробляти бажаний ефект.

"Експресія" включає всі функції, завдяки яким інформація, закована в гені, перетворюється в структури, які присутні і функціонують у клітині. Такі структури включають, без обмеження, продукти транскрипції і трансляції.

5 "Повністю комплементарний" або "100 % комплементарний" означає, що кожна азотиста основа першої нуклеїнової кислоти має комплементарну азотисту основу у другій нуклеїновій кислоті. У деяких варіантах реалізації перша нуклеїнова кислота являє собою антисмислову сполуку, а нуклеїнова кислота-мішень являє собою другу нуклеїнову кислоту.

10 "Фуранозил" означає структуру, що містить 5-членне кільце, що містить чотири атоми вуглецю та один атом кисню.

"Гепмер" означає химерну антисмислову сполуку, в якій внутрішня ділянка, має безліч нуклеозидів, які підтримують розщеплення РНКазою H, який розташовується між зовнішніми ділянками, що мають один або кілька нуклеозидів, причому нуклеозиди, які складають внутрішні ділянки, хімічно відрізняються від нуклеозиду або нуклеозидів, що складають зовнішні ділянки. Внутрішня ділянка може бути описана як "геп", а зовнішні ділянки можуть бути описані як "крила".

"Гало" і "галоген" означають атом, вибраний з фтору, хлору, броду та йоду.

20 "Гетероарил" і "гетероароматичний" означають радикал, що містить моно - або поліциклічне ароматичне кільце, кільцеву систему або конденсовану кільцеву систему, у якій щонайменше одне з кілець є ароматичним і містить один або більше гетероатомів. Гетероарил включає також конденсовані кільцеві системи, включаючи системи, в яких одно або більше з конденсованих кілець не містять гетероатомів. Гетероарильні групи, як правило, містять один кільцевий атом, вибраний з сірки, азоту або кисню. Приклади гетероарильних груп включають, без обмеження, піридиніл, піразиніл, піримідиніл, пірроліл, піразоліл, імідазоліл, тіазоліл, оксазоліл, ізоксазоліл, тіадіазоліл, оксадіазоліл, тіофеніл, фураніл, хінолініл, ізохінолініл, бензимидазоліл, бензоксазоліл, хіноксалініл і т. п. Гетероарильні радикали можуть бути приєднані до початкової молекули безпосередньо або через лінкерний фрагмент, такий як аліфатична група або гетероатом. Гетероарильні групи, що використовуються у цьому документі, можуть додатково містити додаткові групи замісників.

30 "Гібридизація" означає сполучення комплементарних молекул нуклеїнових кислот. У деяких варіантах реалізації комплементарні молекули нуклеїнових кислот включають, без обмеження, антисмислові сполуки і нуклеїнову кислоту-мішень. У деяких варіантах реалізації комплементарні молекули нуклеїнових кислот включають, без обмеження, антисмисловий олігонуклеотид і нуклеїнову кислоту-мішень.

35 "Ідентифікація тварини", що страждає або має ризик виникнення захворювання, розладу та/або патологічного стану" означає ідентифікацію тварини, якій поставлено діагноз захворювання, розладу та/або патологічного стану, або ідентифікацію тварини, схильної до розвитку захворювання, розладу та/або патологічного стану. Така ідентифікація може бути виконана будь-яким способом, включаючи оцінку історії хвороби індивідуума і стандартні клінічні випробування або оцінки.

40 "Безпосередньо примикає" означає, що немає ніяких проміжних елементів між безпосередньо зв'язаними елементами.

"Індивід" означає людину або тварину, що не є людиною, який вибран для лікування або терапії.

45 "Інгібування експресії або активності" означає зниження, блокаду експресії або активності і не обов'язково говорить про повне припинення експресії або активності.

"Міжнуклеозидний зв'язок" відноситься до хімічного зв'язку між нуклеозидами.

"Міжнуклеозидна нейтральна лінкерна група" означає нейтральну лінкерну групу, яка безпосередньо зв'язує два нуклеозиди.

50 "Міжнуклеозидна фосфорна лінкерна група" означає фосфорну лінкерну групу, яка безпосередньо зв'язує два нуклеозиди.

"Подовжені" антисмислові олігонуклеотиди являють собою олігонуклеотиди, які мають один або більше додаткових нуклеозидів, порівняно з антисмисловим олігонуклеотидом, який описан у цьому документі.

55 "Лінкерний мотив" означає характерну ділянку лінкерних модифікацій в олігонуклеотиді або його ділянці. Нуклеозиди такого олігонуклеотида можуть бути модифікованими або немодифікованими. Якщо не вказано інше, мотиви, які описують у цьому документі тільки лінкери, являють собою лінкерні мотиви. Отже, у таких випадках нуклеозиди не обмежені.

60 "Зв'язаний дезоксинуклеозид" означає основу нуклеїнової кислоти (A, G, C, T, U), заміщену дезоксирибозою, зв'язану фосфатним ефіром, з утворенням нуклеотиду.

"Зв'язані нуклеозиди" означають сусідні нуклеозиди, зв'язані між собою міжнуклеозидним зв'язком.

"Нуклеозид закритої нуклеїнової кислоти" або "ЗНК" означає нуклеозид, що містить біциклічний цукровий фрагмент, який містить місток 4'-CH₂-O-2'.

5 "Невідповідність" або "некомплементарна азотиста основа" відноситься до випадку, коли азотиста основа першої нуклеїнової кислоти не здатна зв'язуватися з відповідною азотистою основою другої або нуклеїнової кислоти-мішені.

"Модифікований міжнуклеозидний зв'язок" означає заміну або будь-яку зміну природного міжнуклеозидного зв'язку (тобто фосфодіестерний міжнуклеозидний зв'язок).

10 "Модифікована азотиста основа" означає будь яку азотисту основу, відмінну від аденіну, цитозину, гуаніну, тимідину або урацилу. "Немодифікована азотиста основа" означає пуринові основи: аденін (A) і гуанін (G), та піримідинові основи: тимін (T), цитозин (C) і урацил (U).

"Модифікований нуклеозид" позначає нуклеозид, що містить незалежно модифікований цукровий фрагмент і/або модифіковану азотисту основу.

15 "Модифікований нуклеотид" означає нуклеотид, який містить незалежно модифікований цукровий фрагмент, модифікований міжнуклеозидний зв'язок або модифіковану азотисту основу.

20 "Модифікований олігонуклеотид" позначає олігонуклеотид, що містить щонайменше один модифікований міжнуклеозидний зв'язок, модифікований цукор, та/або модифіковану азотисту основу.

"Модифікований цукор" означає заміщення та/або заміну будь-якого з природних цукрових фрагментів.

25 "Модуляція" відноситься до зміни або регулювання характеристики в клітині, тканині, органі або організмі. Наприклад, модуляція мРНК CFB може означати збільшення або зниження рівня мРНК CFB та/або білка CFB у клітині, тканині, органі або організмі. "Модулятор" викликає зміни в клітині, тканині, органі або організмі. Наприклад, антисмислова сполука CFB може являти собою модулятор, який знижує кількість мРНК CFB та/або білка CFB у клітині, тканині, органі або організмі.

30 "Мономер" означає одну ланку олігомеру. Мономери включають, без обмеження, нуклеозиди та нуклеотиди, природні або модифіковані.

35 "Моно - або поліциклічна кільцева система" включає всі кільцеві системи, вибрані з поодиноких або поліциклічних радикальних кільцевих систем, в яких зазначені кільця конденсовані або зв'язані, і включає поодинокі або змішані кільцеві системи, індивідуально вибрані з аліфатичних, аліциклічних, арильних, гетероарильних, аралкільних, арилалкільних, гетероциклічних, гетероарильних, гетероароматичних і гетероарилалкільних. Такі моно - і поліциклічні структури можуть містити кільця, кожне з яких має однакову ступінь насиченості, або кожне незалежно має змінні ступені насиченості, включаючи повністю насичені, частково насичені або повністю ненасичені. Кожне кільце може містити кільцеві атоми, вибрані з C, N, O і S з утворенням гетероциклічних кілець, а також кільце, що містять тільки кільцеві атоми C, які можуть бути представлені в змішаному мотиві, як, наприклад, у бензімідазолі, в якому одне кільце має тільки кільцеві атоми вуглецю, а конденсоване кільце має два атоми азоту. Моно - або поліциклічна кільцева система може бути додатково заміщена групами замісників, як, наприклад, фталімід, який має дві групи =O, приєднані до одного з кілець. Моно - або поліциклічні кільцеві системи можуть бути приєднані до початкових молекул за допомогою різних способів, таких як безпосередньо через кільцевий атом, шляхом конденсації через кілька кільцевих атомів, через групу замісника або через біфункціональний лінкерний фрагмент.

"Мотив" означає конфігурацію з немодифікованих та модифікованих нуклеозидів у антисмисловій сполуці.

50 "Природний цукровий фрагмент" означає фрагмент цукру, що знаходиться в ДНК (2'-H) або РНК (2'-OH).

"Природний міжнуклеозидний зв'язок" означає 3' 5' фосфодіестерний зв'язок.

55 "Нейтральна лінкерна група" означає лінкерну групу, яка не має заряду. Нейтральні лінкерні групи включають, без обмежень, фосфотриєфіри, метилфосфонати, MMI (-CH₂-N(CH₃)-O-), амід-3 (-CH₂-C(=O)-N(H)-), амід-4 (-CH₂-N(H)-C(=O)-), формацеталь (-O-CH₂-O-) і тіоформацеталь (-S-CH₂-O-). Додаткові нейтральні групи включають неіонні лінкери, які містять силосан (діалкілсилосан), карбоксилатний ефір, карбоксамід, сульфід, сульфонатний ефір і аміді (див., наприклад: Carbohydrate Modifications in Antisense Research; Y. S. Sanghvi and P.D. Cook Eds. ACS Symposium Series 580; глави 3 та 4, (сс. 40-65)). Додаткові нейтральні лінкерні групи включають неіонні лінкери, які містять змішані складові частини N, O, S і CH₂.

60 "Некомплементарна азотиста основа" відноситься до пари азотистих основ нуклеїнових

кислот, які не утворюють водневих зв'язків один з одним, або іншим чином не підтримують гібридизацію.

"Неміжнуклеозидна нейтральна лінкерна група" означає нейтральну лінкерну групу, яка не зв'язує безпосередньо два нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації неміжнуклеозидна нейтральна лінкерна група зв'язує нуклеозид з групою, відмінною від нуклеозиду. У деяких варіантах реалізації неміжнуклеозидна нейтральна лінкерна група зв'язує дві групи, жодна з яких не є нуклеозидом.

"Неміжнуклеозидна фосфорна лінкерна група" означає фосфорну лінкерну групу, яка не зв'язує безпосередньо два нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації неміжнуклеозидна фосфорна лінкерна група зв'язує нуклеозид з групою, відмінною від нуклеозиду. У деяких варіантах реалізації неміжнуклеозидна фосфорна лінкерна група зв'язує дві групи, жодна з яких не є нуклеозидом.

"Нуклеїнова кислота" означає молекули, що складаються з мономерних нуклеотидів. Нуклеїнова кислота включає, без обмеження, рибонуклеїнові кислоти (РНК), дезоксирибонуклеїнові кислоти (ДНК), одноланцюгові нуклеїнові кислоти їх дволанцюгові нуклеїнові кислоти.

"Азотиста основа" означає гетероциклічний фрагмент, здатний паруватися з основою іншої нуклеїнової кислоти.

"Комплементарність азотистої основи" відноситься до азотистої основи, здатної до спаровування з іншою основою. Наприклад, у ДНК аденін (А) є комплементарним тиміну (Т). Наприклад, у ДНК аденін (А) є комплементарним урацилу (У). У деяких варіантах реалізації комплементарна азотиста основа відноситься до азотистої основи антисмислової сполуки, здатної паруватися з азотистою основою своєї нуклеїнової кислоти-мішені. Наприклад, якщо азотиста основа в певному положенні антисмислової сполуки здатна до водневого зв'язування з азотистою основою в певному положенні нуклеїнової кислоти-мішені, то це положення водневого зв'язування між олігонуклеотидом і нуклеїною кислотою-мішенню вважається комплементарним по цій парі азотистих основ.

"Мотив модифікації азотистої основи" означає характерну ділянку модифікації азотистих основ вздовж олігонуклеотида. Якщо не вказано інше, то мотив модифікації азотистої основи не залежить від послідовності азотистої основи.

"Послідовність азотистих основ" означає порядок послідовних азотистих основ, незалежний від будь-якого цукру, зв'язку та/або модифікації азотистої основи.

"Нуклеозид" означає азотисту основу зв'язану з цукром.

"Міметик нуклеозиду" включає структури, що використовуються для заміни цукру або цукру і основи і необов'язково зв'язку в одному або декількох положеннях олігомерної сполуки, наприклад, такі як міметики нуклеозидів, що містять морфоліно, циклогексеніл, циклогексил, тетрагідропіраніл, біцикло або трицикло цукри-міметики, , наприклад, нефуранозні цукрові ланки. Нуклеотид-міметик включає структури, які використовуються для заміни нуклеозиду і зв'язку в одному або більше положеннях олігомерної сполуки, такі як, наприклад, пептидні нуклеїнові кислоти або морфоліно-сполуки (морфоліно-сполуки, зв'язані -N(H)-C(=O)-O - або іншим нефосфодіестерним зв'язком). Замінник цукру перетинається більш широким терміном нуклеозид-міметик, але призначений для позначення заміни тільки цукрових одиниці (фуранозного кільця). Тетрагідропіранілові кільця, представлені у цьому документі, ілюструють приклад заміника цукру, в якому цукрова фуранозна група замінена тетрагідропіранільною кільцевою системою. "Міметик" відноситься до груп, які замінюють цукор, азотисту основу і/або міжнуклеозидний зв'язок. Як правило, міметик використовують замість цукру або комбінації цукру з міжнуклеозидним зв'язком, а азотиста основа зберігається для гібридизації з обраною мішенню.

"Нуклеозидний мотив" означає характерну ділянку нуклеозидних модифікацій в олігонуклеотиді або його області. Зв'язки такого олігонуклеотиду можуть бути модифікованими або немодифікованими. Якщо не вказано інше, мотиви, які описують у цьому документі тільки нуклеозиди, являють собою нуклеозидні мотиви. Отже, в таких випадках не обмежені.

"Нуклеотид" означає нуклеозид, що має фосфатну групу, ковалентно зв'язану з цукровою частиною нуклеозиду.

"Олігомерна сполука" означає полімер із зв'язаних мономерних субодиниць, які здатні до гібридизації зі щонайменше областю молекули нуклеїнової кислоти.

"Олігонуклеозид" означає олігонуклеотид, в якому жоден з міжнуклеозидних зв'язків не містить атома фосфору.

"Олігонуклеотид" означає полімер зв'язаних нуклеозидів, кожен з яких може бути модифікованим або немодифікованим, незалежно один від одного.

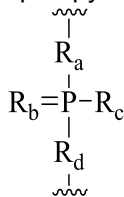
"Парентеральне введення" означає введення шляхом ін'єкцій або інфузій. Парентеральне введення включає підшкірне введення, внутрішньовенне введення, внутрішньом'язове введення, внутрішньоартеріальне введення, внутрішньоочеревинне введення або внутрішньочерепне введення, наприклад, інtrateкальне або інтрацеребровентрикулярне введення.

"Фармацевтична композиція" означає суміш речовин, придатних для введення індивідууму. Наприклад, фармацевтична композиція може містити один або більше активних фармацевтичних агентів і стерильний водний розчин.

"Фармацевтично прийнятні солі" позначає фізіологічно і фармацевтично прийнятні солі антисмислових сполук, тобто солі, які зберігають бажану біологічну активність вихідного олігонуклеотиду і не викликають небажаних токсикологічних ефектів.

"Тіофосфатний зв'язок" означає зв'язок між нуклеозидами, де фосфодіестерні зв'язки модифіковані шляхом заміни одного з немісткових атомів кисню на атом сірки. Тіофосфатний зв'язок являє собою модифікований міжнуклеозидний зв'язок.

"Фосфорна лінкерна група" означає лінкерну групу, що містить атом фосфору. Фосфорні лінкерні групи включають, без обмежень, групи, які мають формулу:



де:

R_a і R_d , кожен незалежно являє собою O, S, CH_2 , NH або NJ_1 , де J_1 являє собою C_1 - C_6 алкіл або заміщений C_1 - C_6 алкіл;

R_b являє собою O або S;

R_c являє собою OH, SH, C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, C_1 - C_6 алкокси, заміщений C_1 - C_6 алкокси, аміно або заміщений аміно;

J_1 являє собою R_b являє собою O або S.

Фосфорні лінкерні групи включають, без обмежень, фосфодіестер, тіофосфат, дитіофосфат, фосфонат, фосфорамідат, фосфортіоамідат, тіоноалкілфосфонат, фосфотриєфіри, тіоноалкілфосфотриєфір і боранофосфат.

"Частина" означає певну кількість суміжних (тобто зв'язаних) азотистих основ нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах реалізації частина являє собою певне число суміжних азотистих основ нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації частина являє собою певне число суміжних азотистих основ антисмислової сполуки.

"Попереджати" відноситься до затримки або запобігання появи, розвитку або прогресування захворювання, розладу або патологічного стану протягом періоду часу від декількох хвилин до невизначеного терміну. Попередження означає також зниження ризику розвитку захворювання, розладу або патологічного стану.

"Проліки" означає неактивну або менш активну форму сполуки, яка при введенні суб'єкту метаболізується з утворенням активної або більш активної сполуки (наприклад, ліки).

"Профілактично ефективна кількість" означає таку кількість фармацевтичного агента, яка забезпечує профілактичний або превентивний ефект для тварини.

"Захисна група" означає будь-яку сполуку або захисну групу, відому фахівцям у цій галузі техніки. Необмежуючі приклади захисних груп представлені у книзі "Protective Groups in Organic Chemistry", T. W. Greene, P. G. M. Wuts, ISBN 0-471-62301-6, John Wiley & Sons, Inc, Нью-Йорк, повний зміст якої включено в цей документ шляхом посилання.

"Ділянка" визначається як фрагмент нуклеїнової кислоти-мішені, який має щонайменше одну ідентифіковану структуру, функцію або характеристику.

"Рибонуклеотид" означає нуклеотид, що має гідрокси-групу у 2' положенні цукрового фрагменту нуклеотиду. Рибонуклеотиди можуть бути модифіковані за допомогою будь-якого з безлічі замісників.

"Антисмислова сполука на основі RISC" означає антисмислову сполуку, в якій щонайменше частина антисмислової активності антисмислової сполуки обумовлена РНК-індукованим комплексом сайленсінгу (RISC).

"Антисмислова сполука на основі РНКаз Н" означає антисмислову сполуку в якій щонайменше частина антисмислової активності антисмислової сполуки обумовлена гібридизацією антисмислової сполуки з нуклеїновою кислотою-мішенню і подальшим розщепленням нуклеїнової кислоти-мішені під дією РНКаз Н.

"Сегменти" визначають як менші або субфрагменти ділянок у складі нуклеїнової кислоти-мішені.

"Окремі ділянки" означають частини олігонуклеотиду, в яких хімічні модифікації або мотив хімічних модифікацій будь-якої із сусідніх частин містить щонайменше одну відмінність для

забезпечення можливості розрізняти ділянки одну від одної.
 "Мотив послідовності" означає характерну ділянку азотистих основ, розташованих уздовж олігонуклеотиду або його частини. Якщо не вказано інше, то мотив послідовності не залежить від хімічних модифікацій і, отже, може мати будь-яку комбінацію хімічних модифікацій, включаючи відсутність хімічних модифікацій.

"Побічні ефекти" означають фізіологічне захворювання і/або стан, зумовлені лікуванням, які відмінні від бажаного ефекту. У деяких варіантах реалізації побічні ефекти включають реакції в місці ін'єкції, аномалії функціональних проб печінки, відхилення у функції нирок, гепатотоксичність, нефротоксичність, аномалії центральної нервової системи, міопатії і нездужання. Наприклад, підвищення рівнів амінотрансфераз у сироватці може вказувати на гепатотоксичність або порушення функції печінки. Наприклад, підвищений білірубін може вказувати на гепатотоксичність або порушення функції печінки.

"Сайти" в цьому контексті визначають як унікальні положення азотистих основ у нуклеїнової кислоти-мішені.

"Уповільнює прогресування" означає ослаблення розвитку зазначеного захворювання.

"Специфічно гібридується" позначає антисмислову сполуку, що має достатню міру комплементарності між антисмисловим олігонуклеотидом і нуклеїнової кислотою-мішенню, щоб викликати бажаний ефект, мінімально або ніяк не впливаючи на нецільові нуклеїнові кислоти в умовах, в яких специфічне зв'язування є бажаним, тобто, у фізіологічних умовах у випадку аналізів in vivo та терапевтичного лікування. "Суворі умови гібридизації" або "жорсткі умови" означають умови, при яких олігомерна сполука гібридується зі своєю цільовою послідовністю, але з мінімальною кількістю інших послідовностей.

"Суб'єкт" означає людину або тварину, що не є людиною, обраного для лікування чи терапії.

"Замісник" та "група замісника" означає атом або групу, яка витісняє атом або групу зазначеної вихідної сполуки. Наприклад, замісник модифікованого нуклеозиду являє собою будь-який атом або групу, яка відмінна від атома або групи, що знаходиться в природному нуклеозиді (наприклад, модифікований 2'-замісник являє собою будь-який атом або групу 2'-положенні нуклеозиду, відмінну від H або OH). Групи замісників можуть бути захищеними або незахищеними. У деяких варіантах реалізації сполуки відповідно до цього опису мають замісники в одному або більш ніж в одному положенні вихідної сполуки. Замісники також можуть бути додатково заміщені іншими групами замісників і можуть бути приєднані безпосередньо або через лінкерну групу, таку як алкільна або вуглеводнева група, до сполуки.

Так само, у цьому контексті "замісник" стосовно хімічної функціональної групи означає атом або групу атомів, яка відмінна від атома або групи атомів, який зазвичай містяться у вказаній функціональній групі. У деяких варіантах реалізації замісник витісняє атом водню функціональної групи (наприклад, у деяких варіантах реалізації замісник замісної метильної групи являє собою атом або групу, відмінну від водню, яка витісняє один або більше атомів водню незаміщеної метильної групи). Якщо не вказано інше, групи, які можуть бути використані в якості замісників, включають, без обмежень, галоген, гідроксил, алкіл, алкеніл, алкініл, ацил (-C(O)Raa), карбоксил (-C(O)O-Raa), аліфатичні групи, аліциклічні групи, алкокси, заміщений окси (-O-Raa), арил, аралкіл, гетероциклічний радикал, гетероарил, гетероарилалкіл, аміно (N(Rbb)(Rcc)), іміно (=NRbb), амідно (C(O)N(Rbb)(Rcc) або N(Rbb)C(O)Raa), азидо (-N3), нітрит (NO2), ціано (-CN), карбамідно (OC(O)N(Rbb)(Rcc) або N(Rbb)C(O)ORaa), уреїдо (N(Rbb)C(O)N(Rbb)(Rcc)), тіуреїдо (N(Rbb)C(S)N(Rbb)(Rcc)), гуанідиніл (N(Rbb)C(=NRbb)N(Rbb)(Rcc)), амідиніл (C(=NRbb)N(Rbb)(Rcc) або N(Rbb)C(=NRbb)(Raa)), тіол (-SRbb), сульфініл (S(O)Rbb), сульфоніл (-S(O)2Rbb) і сульфонаміділ (-S(O)2N(Rbb)(Rcc) або N(Rbb)S(O)2Rbb). Де кожен Raa, Rbb і Rcc незалежно являє собою H, необов'язково зв'язану хімічну функціональну групу або додаткову групу замісника, при цьому переважний перелік включає, без обмеження, алкіл, алкеніл, алкініл, аліфатичні, алкокси, ацил, арил, аралкіл, гетероарил, аліциклічні, гетероциклічні та гетероарилалкіл. Обрані замісники в сполуках, описаних у цьому документі, перебувають у рекурсивному ступені.

"Заміщений вуглеводний фрагмент" означає фуранозил, який не є природним цукровим фрагментом. Заміщені цукрові фрагменти включають, без обмеження, фуранозили, які містять замісники у 2'-положенні, 3'-положенні, 5'-положенні та/або 4'-положенні. Деякі заміщені цукрові фрагменти являють собою біциклічні цукрові фрагменти.

"Цукровий фрагмент" означає природний цукровий фрагмент або модифікований цукровий

фрагмент нуклеозиду.

"Цукровий мотив" означає характерну ділянку цукрових модифікацій в олігонуклеотиді або його області.

"Замінник цукру" означає структуру, яка не містить фуранозилу і здатна замінювати природний цукровий фрагмент нуклеозиду, так що нуклеозидні субодиниці які утворюються можуть зв'язуватися разом і/або зв'язуватися з іншими нуклеозидами з утворенням олігомерної сполуки, яка може гібридизуватися з комплементарною олігомерною сполукою. Такі структури включають кільця, які містять іншу кількість атомів, ніж фуранозил (наприклад, (наприклад, 4, 6 або 7-членні кільця); заміну кисню фуранозилу атомом, який не є киснем (наприклад, вуглецем, сіркою або азотом); або одночасну зміну кількості атомів і заміну кисню. Такі структури також можуть містити заміщення, відповідні заміщення, описаним для заміщених цукрових фрагментів (наприклад, 6-членні карбоциклічні біциклічні замінники цукру, необов'язково містять додаткові замісники). Замінники цукру включають також більш складні цукрові заміни (наприклад, некільцеві системи пептидної нуклеїнової кислоти). Замінники цукру включають, без обмежень, морфоліно, циклогексеніли і циклогексени.

"Мішень" позначає білок, модуляція якого є бажаною.

"Ген-мішень" означає ген, що кодує білок-мішень.

"Таргетінг" означає процес конструювання і вибору антисмислової сполуки, яка буде специфічно гібридизуватися з нуклеїновою кислотою-мішенню і викликати бажаний ефект.

"Нуклеїнова кислота-мішень", "РНК-мішень", транскрипт РНК-мішені і "цільова нуклеїнова кислота" означають нуклеїнову кислоту, здатну піддаватися цільовому впливу антисмислових сполук.

"Цільова ділянка" означає фрагмент цільової нуклеїнової кислоти, на який націлене одна або більше антисмислових сполук.

"Цільовий сегмент" означає послідовність нуклеотидів нуклеїнової кислоти-мішені, на яку націлене антисмислова сполука. "5' цільовий сайт" відноситься до 5'-крайнього нуклеотиду цільового сегмента. "3' цільовий сайт" відноситься до 3'-крайнього нуклеотиду цільового сегмента.

"Кінцева група" означає один або більше атомів, приєднаних до будь-якого чи до обох 3'-або 5'-кінців олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації кінцева група являє собою групу кон'югату. У деяких варіантах реалізації кінцева група містить один або більше нуклеозидів кінцевої групи.

"Кінцевий міжнуклеозидний зв'язок" означає зв'язок між останніми двома нуклеозидами олігонуклеотиду або його певної області.

"Терапевтично ефективна кількість" означає кількість фармацевтичного агента, яка забезпечує терапевтичний ефект для індивідуума.

"Лікування" означає введення композиції тварині для зміни або полегшення захворювання, розладу або патологічного стану тварини. У деяких варіантах реалізації тварині може бути введена одна або більше фармацевтичних композицій.

"Немодифіковані" азотисті основи означають пуринові основи: аденін (A) і гуанін (G), і піримідинові основи: тимін (T), цитозин (C) і урацил (U).

"Немодифікований нуклеотид" означає нуклеотид, який складається з природних азотистих основ, цукрових фрагментів і міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації винаходу модифікований нуклеотид являє собою РНК нуклеотид (тобто β -D-рибонуклеозиди) або ДНК нуклеотид (тобто β -D-дезоксирибонуклеозид).

Деякі варіанти реалізації винаходу

У деяких варіантах реалізації винаходу запропоновані способи, сполуки та композиції для інгібування експресії фактора комплементу В (CFB).

У деяких варіантах реалізації запропоновані антисмислові сполуки, спрямовані на нуклеїнову кислоту CFB. У деяких варіантах реалізації нуклеїнова кислота CFB має послідовність з номером доступу GENBANK NM_001710.5 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 1), з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 по 31861000 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 2), з номером доступу GENBANK NW_001116486.1, усічену з нуклеотиду 536000 по 545000 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 3), з номером доступу GENBANK XM_001113553.2 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 4) або за номером доступу GENBANK NM_008198.2 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 5).

У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить щонайменше 8 суміжних азотистих основ будь-якої з послідовностей азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить щонайменше 9 суміжних азотистих основ будь-якої з послідовностей азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

5 У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить щонайменше 10 суміжних азотистих основ будь-якої з послідовностей азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

10 У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить щонайменше 11 суміжних азотистих основ будь-якої з послідовностей азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

15 У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить щонайменше 12 суміжних азотистих основ будь-якої з послідовностей азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

20 У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808.

У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з послідовності азотистих основ SEQ ID NO: 6-808.

25 У деяких варіантах реалізації запропонована сполука, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, комплементарних азотистим основам 30-49, 48-63, 150-169, 151-170, 152-171, 154-169, 154-173, 156-171, 156-175, 157-176, 158-173, 158-177, 480-499, 600-619, 638-657, 644-663, 738-757, 1089-1108, 1135-1154, 1141-1160, 1147-1166, 1150-1169, 1153-1172, 1159-1178, 1162-1181, 1165-1184, 1171-1186, 1171-1190, 1173-1188, 1173-1192, 1175-1190, 30 1175-1194, 1177-1196, 1183-1202, 1208-1227, 1235-1254, 1298-1317, 1304-1323, 1310-1329, 1316-1335, 1319-1338, 1322-1341, 1328-1347, 1349-1368, 1355-1374, 1393-1412, 1396-1415, 1399-1418, 1405-1424, 1421-1440, 1621-1640, 1646-1665, 1646-1665, 1647-1666, 1689-1708, 1749-1768, 1763-1782, 1912-1931, 2073-2092, 2085-2104, 2166-2185, 2172-2191, 2189-2208, 2191-2210, 2193-2212, 2195-2210, 2195-2214, 2196-2215, 2197-2212, 2197-2216, 2202-2221, 35 2223-2238, 2223-2242, 2225-2240, 2226-2245, 2227-2242, 2227-2246, 2238-2257, 2241-2260, 2267-2286, 2361-2380, 2388-2407, 2397-2416, 2448-2467, 2453-2472, 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2459-2478, 2461-2476, 2461-2480, 2532-2551, 2550-2569, 2551-2566, 2551-2570, 2552-2568, 2552-2570, 2552-2571, 2553-2568, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572, 2554-2573, 2555-2570, 2555-2572, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 40 2556-2575, 2557-2573, 2557-2574, 2557-2575, 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578, 2560-2577, 2560-2578, 2560-2579, 2561-2576, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581, 2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2566-2585, 2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2583, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588, 2570-2585, 2570-2587, 2570-2589, 45 2571-2586, 2571-2588, 2571-2590, 2572-2589, 2572-2590, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2590, 2574-2591, 2574-2593, 2575-2590, 2575-2591, 2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2595, 2577-2596, 2578-2594, 2578-2596, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2597, 2580-2598, 2580-2599, 2581-2597, 2581-2598, 2581-2599, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2599, 2582-2600, 2582-2601, 2583-2599, 2583-2600, 2583-2601, 2583-2602, 50 2584-2600, 2584-2601, 2584-2602, 2584-2603, 2585-2601, 2585-2603, 2585-2604, 2586-2601, 2586-2602, 2586-2604, 2586-2605, 2587-2602, 2587-2603, 2587-2605, 2587-2606, 2588-2603, 2588-2604, 2588-2605, 2588-2606, 2588-2607, 2589-2604, 2589-2605, 2589-2606, 2589-2607, 2589-2608, 2590-2605, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2608, 2590-2609, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2608, 2591-2609, 2591-2610, 2592-2607, 2592-2608, 2592-2609, 2592-2610, 2592-2611, 55 2593-2608, 2593-2609, 2593-2610, 2593-2612, 2594-2609, 2594-2610, 2594-2611, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611, 2595-2612, 2595-2613, 2595-2614, 2596-2611, 2596-2612, 2596-2613, 2596-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2616, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 60 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620, 2602-2617, 2602-2618, 2602-2619,

2602-2620, 2602-2621, 2603-2618, 2603-2619, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 2611-2627, 2611-2628, 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2631 або 2616-2631 SEQ ID NO: 1, і при цьому зазначений модифікований олігонуклеотид щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 % або на 100 % комплементарний SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах реалізації запропоновано сполуку, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містять частину з щонайменше 8 суміжних азотистих основ, комплементарних рівній по довжині частини азотистих основ 30-49, 48-63, 150-169, 151-170, 152-171, 154-169, 154-173, 156-171, 156-175, 157-176, 158-173, 158-177, 480-499, 600-619, 638-657, 644-663, 738-757, 1089-1108, 1135-1154, 1141-1160, 1147-1166, 1150-1169, 1153-1172, 1159-1178, 1162-1181, 1165-1184, 1171-1186, 1171-1190, 1173-1188, 1173-1192, 1175-1190, 1175-1194, 1177-1196, 1183-1202, 1208-1227, 1235-1254, 1298-1317, 1304-1323, 1310-1329, 1316-1335, 1319-1338, 1322-1341, 1328-1347, 1349-1368, 1355-1374, 1393-1412, 1396-1415, 1399-1418, 1405-1424, 1421-1440, 1621-1640, 1646-1665, 1646-1665, 1647-1666, 1689-1708, 1749-1768, 1763-1782, 1912-1931, 2073-2092, 2085-2104, 2166-2185, 2172-2191, 2189-2208, 2191-2210, 2193-2212, 2195-2210, 2195-2214, 2196-2215, 2197-2212, 2197-2216, 2202-2221, 2223-2238, 2223-2242, 2225-2240, 2226-2245, 2227-2242, 2227-2246, 2238-2257, 2241-2260, 2267-2286, 2361-2380, 2388-2407, 2397-2416, 2448-2467, 2453-2472, 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2459-2478, 2461-2476, 2461-2480, 2532-2551, 2550-2569, 2551-2566, 2551-2570, 2552-2568, 2552-2570, 2552-2571, 2553-2568, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572, 2554-2573, 2555-2570, 2555-2572, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2573, 2557-2574, 2557-2575, 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578, 2560-2577, 2560-2578, 2560-2579, 2561-2576, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581, 2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2566-2585, 2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2583, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588, 2570-2585, 2570-2587, 2570-2589, 2571-2586, 2571-2588, 2571-2590, 2572-2589, 2572-2590, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2590, 2574-2591, 2574-2593, 2575-2590, 2575-2591, 2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2595, 2577-2596, 2578-2594, 2578-2596, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2597, 2580-2598, 2580-2599, 2581-2597, 2581-2598, 2581-2599, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2599, 2582-2600, 2582-2601, 2583-2599, 2583-2600, 2583-2601, 2583-2602, 2584-2600, 2584-2601, 2584-2602, 2584-2603, 2585-2601, 2585-2603, 2585-2604, 2586-2601, 2586-2602, 2586-2604, 2586-2605, 2587-2602, 2587-2603, 2587-2605, 2587-2606, 2588-2603, 2588-2604, 2588-2605, 2588-2606, 2588-2607, 2589-2604, 2589-2605, 2589-2606, 2589-2607, 2589-2608, 2590-2605, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2608, 2590-2609, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2608, 2591-2609, 2591-2610, 2592-2607, 2592-2608, 2592-2609, 2592-2610, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2609, 2593-2610, 2593-2612, 2594-2609, 2594-2610, 2594-2611, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611, 2595-2612, 2595-2613, 2595-2614, 2596-2611, 2596-2612, 2596-2613, 2596-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2616, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620, 2602-2617, 2602-2618, 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2603-2618, 2603-2619, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 2611-2627, 2611-2628, 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2631 або 2616-2631 SEQ ID NO:1, і при цьому послідовність азотистих основ модифікованого олігонуклеотиду щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 % або на 100 % є комплементарною SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах реалізації запропоновано сполуку, що містить модифікований

олігонуклеотид і групу кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, комплементарних азотистим основам 1608-1627, 1685-1704, 1686-1705, 1751-1770, 1769-1784, 1871-1890, 1872-1891, 1873-1892, 1875-1890, 1875-1894, 1877-1892, 1877-1896, 1878-1897, 1879-1894, 1879-1898, 2288-2307, 2808-2827, 2846-2865, 2852-2871, 2946-2965, 3773-3792, 3819-3838, 3825-3844, 3831-3850, 3834-3853, 3837-3856, 3843-3862, 4151-4166, 4151-4170, 4153-4172, 4159-4178, 4184-4203, 4211-4230, 4609-4628, 4612-4631, 4615-4634, 4621-4640, 4642-4661, 4648-4667, 4686-4705, 4689-4708, 4692-4711, 4698-4717, 4714-4733, 5270-5289, 5295-5314, 5296-5315, 5830-5849, 5890-5909, 5904-5923, 6406-6425, 6662-6681, 6674-6693, 6954-6973, 6960-6979, 6977-6996, 6979-6998, 6981-7000, 6983-6998, 6983-7002, 6984-7003, 6985-7000, 6985-7004, 6990-7009, 7122-7141, 7125-7144, 7151-7170, 7353-7372, 7362-7381, 7683-7702, 7688-7707, 7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7694-7713, 7696-7711, 7696-7715, 7767-7786, 7785-7804, 7786-7801, 7787-7803, 7787-7805, 7787-7806, 7788-7803, 7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7805, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7808, 7792-7809, 7792-7810, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7811, 7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815, 7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819, 7802-7821, 7803-7818, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7820, 7805-7822, 7805-7824, 7806-7821, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7825, 7807-7826, 7808-7825, 7808-7827, 7809-7825, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7825, 7810-7826, 7810-7827, 7810-7829, 7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7830, 7812-7831, 7813-7829, 7813-7831, 7813-7832, 7814-7833, 7815-7831, 7815-7832, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7833, 7816-7834, 7816-7835, 7817-7833, 7817-7834, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7835, 7818-7836, 7818-7837, 7819-7835, 7819-7836, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839, 7821-7836, 7821-7837, 7821-7839, 7821-7840, 7822-7837, 7822-7838, 7822-7840, 7822-7841, 7823-7838, 7823-7839, 7823-7839, 7823-7840, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7839, 7824-7840, 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843, 7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7843, 7825-7844, 7826-7842, 7826-7843, 7826-7844, 7826-7845, 7827-7842, 7827-7843, 7827-7844, 7827-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7844, 7828-7845, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845, 7829-7846, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849, 7831-7846, 7831-7847, 7831-7848, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849, 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849, 7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853, 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853, 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7853, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857, 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857, 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861, 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862, 7846-7861 або 7846-7862 SEQ ID NO: 2, і, при цьому вказаний модифікований олігонуклеотид щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 % або на 100 % є комплементарним SEQ ID NO: 2.

У деяких варіантах реалізації запропоновано сполуку, що містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містить частину з щонайменше 8 суміжних азотистих основ, комплементарних рівній по довжині частини азотистих основ 1608-1627, 1685-1704, 1686-1705, 1751-1770, 1769-1784, 1871-1890, 1872-1891, 1873-1892, 1875-1890, 1875-1894, 1877-1892, 1877-1896, 1878-1897, 1879-1894, 1879-1898, 2288-2307, 2808-2827, 2846-2865, 2852-2871, 2946-2965, 3773-3792, 3819-3838, 3825-3844, 3831-3850, 3834-3853, 3837-3856, 3843-3862, 4151-4166, 4151-4170, 4153-4172, 4159-4178, 4184-4203, 4211-4230, 4609-4628, 4612-4631, 4615-4634, 4621-4640, 4642-4661, 4648-4667, 4686-4705, 4689-4708, 4692-4711, 4698-4717, 4714-4733, 5270-5289, 5295-5314, 5296-5315, 5830-5849, 5890-5909, 5904-5923, 6406-6425, 6662-6681, 6674-6693, 6954-6973, 6960-6979, 6977-6996, 6979-6998, 6981-7000, 6983-6998, 6983-7002, 6984-7003, 6985-7000, 6985-7004, 6990-7009, 7122-7141, 7125-7144, 7151-7170, 7353-7372, 7362-7381, 7683-7702, 7688-7707, 7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7694-7713, 7696-7711, 7696-7715, 7767-7786, 7785-7804, 7786-7801, 7787-7803, 7787-7805, 7787-7806, 7788-7803, 7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7805, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7808, 7792-7809, 7792-7810, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7811,

7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815,
 7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819,
 7802-7821, 7803-7818, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7820, 7805-7822,
 7805-7824, 7806-7821, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7825, 7807-7826, 7808-7825,
 5 7808-7827, 7809-7825, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7825, 7810-7826, 7810-7827, 7810-7829,
 7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7830, 7812-7831, 7813-7829, 7813-7831, 7813-7832,
 7814-7833, 7815-7831, 7815-7832, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7833, 7816-7834,
 7816-7835, 7817-7833, 7817-7834, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7835, 7818-7836,
 7818-7837, 7819-7835, 7819-7836, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839,
 10 7821-7836, 7821-7837, 7821-7839, 7821-7840, 7822-7837, 7822-7838, 7822-7840, 7822-7841,
 7823-7838, 7823-7839, 7823-7839, 7823-7840, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7839, 7824-7840,
 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843, 7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7843,
 7825-7844, 7826-7842, 7826-7843, 7826-7844, 7826-7845, 7827-7842, 7827-7843, 7827-7844,
 7827-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7844, 7828-7845, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845,
 15 7829-7846, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849,
 7831-7846, 7831-7847, 7831-7848, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849,
 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849,
 7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853,
 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853,
 20 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7853, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857,
 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857,
 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857,
 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861,
 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862,
 25 7846-7861 і 7846-7862 SEQ ID NO: 2, і при цьому послідовність азотистих основ модифікованого
 олігонуклеотиду щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 % або на
 100 % є комплементарною SEQ ID NO: 2.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані до
 області нуклеїнової кислоти CFB. У деяких варіантах реалізації такі сполуки або
 30 олігонуклеотиди, спрямовані до області нуклеїнової кислоти CFB, мають частину суміжних
 азотистих основ, яка комплементарна рівній по довжині частини азотистих основ зазначеної
 області. Наприклад, область може являти собою частину з щонайменше 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14,
 15 або 16 суміжних азотистих основ, комплементарну однаковій за довжиною частині області,
 вказаній в цьому документі. У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з
 35 кон'югату і модифікованого олігонуклеотиду, спрямованого до будь-яких з наступних
 нуклеотидних областей SEQ ID NO: 1: 30-49, 48-63, 150-169, 151-170, 152-171, 154-169, 154-173,
 156-171, 156-175, 157-176, 158-173, 158-177, 480-499, 600-619, 638-657, 644-663, 738-757, 1089-
 1108, 1135-1154, 1141-1160, 1147-1166, 1150-1169, 1153-1172, 1159-1178, 1162-1181, 1165-1184,
 1171-1186, 1171-1190, 1173-1188, 1173-1192, 1175-1190, 1175-1194, 1177-1196, 1183-1202,
 40 1208-1227, 1235-1254, 1298-1317, 1304-1323, 1310-1329, 1316-1335, 1319-1338, 1322-1341,
 1328-1347, 1349-1368, 1355-1374, 1393-1412, 1396-1415, 1399-1418, 1405-1424, 1421-1440,
 1621-1640, 1646-1665, 1646-1665, 1647-1666, 1689-1708, 1749-1768, 1763-1782, 1912-1931,
 2073-2092, 2085-2104, 2166-2185, 2172-2191, 2189-2208, 2191-2210, 2193-2212, 2195-2210,
 2195-2214, 2196-2215, 2197-2212, 2197-2216, 2202-2221, 2223-2238, 2223-2242, 2225-2240,
 45 2226-2245, 2227-2242, 2227-2246, 2238-2257, 2241-2260, 2267-2286, 2361-2380, 2388-2407,
 2397-2416, 2448-2467, 2453-2472, 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2459-2478,
 2461-2476, 2461-2480, 2532-2551, 2550-2569, 2551-2566, 2551-2570, 2552-2568, 2552-2570,
 2552-2571, 2553-2568, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572, 2554-2573,
 2555-2570, 2555-2572, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2573, 2557-2574,
 50 2557-2575, 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578,
 2560-2577, 2560-2578, 2560-2579, 2561-2576, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577,
 2562-2579, 2562-2581, 2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584,
 2566-2583, 2566-2585, 2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2583, 2568-2585, 2568-2587,
 2569-2586, 2569-2588, 2570-2585, 2570-2587, 2570-2589, 2571-2586, 2571-2588, 2571-2590,
 55 2572-2589, 2572-2590, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2590, 2574-2591, 2574-2593,
 2575-2590, 2575-2591, 2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2595,
 2577-2596, 2578-2594, 2578-2596, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2597, 2580-2598,
 2580-2599, 2581-2597, 2581-2598, 2581-2599, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2599, 2582-2600,
 2582-2601, 2583-2599, 2583-2600, 2583-2601, 2583-2602, 2584-2600, 2584-2601, 2584-2602,
 60 2584-2603, 2585-2601, 2585-2603, 2585-2604, 2586-2601, 2586-2602, 2586-2604, 2586-2605,

	2587-2602, 2587-2603, 2587-2605, 2587-2606, 2588-2603, 2588-2604, 2588-2605, 2588-2606,
	2588-2607, 2589-2604, 2589-2605, 2589-2606, 2589-2607, 2589-2608, 2590-2605, 2590-2606,
	2590-2607, 2590-2608, 2590-2609, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2608, 2591-2609, 2591-2610,
	2592-2607, 2592-2608, 2592-2609, 2592-2610, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2609, 2593-2610,
5	2593-2612, 2594-2609, 2594-2610, 2594-2611, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611,
	2595-2612, 2595-2613, 2595-2614, 2596-2611, 2596-2612, 2596-2613, 2596-2614, 2596-2615,
	2597-2612, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614,
	2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618,
	2600-2615, 2600-2616, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618,
10	2601-2619, 2601-2620, 2602-2617, 2602-2618, 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2603-2618,
	2603-2619, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622,
	2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622,
	2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626,
	2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626,
15	2609-2627, 2609-2628, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626,
	2611-2627, 2611-2628, 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630,
	2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631,
	2615-2630, 2615-2631 і 2616-2631.
20	У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані до області нуклеїнової кислоти CFB. У деяких варіантах реалізації такі сполуки або олігонуклеотиди, спрямовані до області нуклеїнової кислоти CFB, мають частину суміжних азотистих основ, яка є комплементарною рівній по довжині частині азотистих основ вказаної області. Наприклад, область може являти собою частину з щонайменше 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 або 16 суміжних азотистих основ, комплементарну рівній по довжині частин області, вказаної в цьому документі. У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з кон'югату і модифікованого олігонуклеотиду, спрямованого до наступних нуклеотидних областей SEQ ID NO: 2: 1608-1627, 1685-1704, 1686-1705, 1751-1770, 1769-1784, 1871-1890, 1872-1891, 1873-1892, 1875-1890, 1875-1894, 1877-1892, 1877-1896, 1878-1897, 1879-1894, 1879-1898, 2288-2307, 2808-2827, 2846-2865, 2852-2871, 2946-2965, 3773-3792, 3819-3838, 3825-3844, 3831-3850, 3834-3853, 3837-3856, 3843-3862, 4151-4166, 4151-4170, 4153-4172, 4159-4178, 4184-4203, 4211-4230, 4609-4628, 4612-4631, 4615-4634, 4621-4640, 4642-4661, 4648-4667, 4686-4705, 4689-4708, 4692-4711, 4698-4717, 4714-4733, 5270-5289, 5295-5314, 5296-5315, 5830-5849, 5890-5909, 5904-5923, 6406-6425, 6662-6681, 6674-6693, 6954-6973, 6960-6979, 6977-6996, 6979-6998, 6981-7000, 6983-6998, 6983-7002, 6984-7003, 6985-7000, 6985-7004, 6990-7009, 7122-7141, 7125-7144, 7151-7170, 7353-7372, 7362-7381, 7683-7702, 7688-7707, 7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7694-7713, 7696-7711, 7696-7715, 7767-7786, 7785-7804, 7786-7801, 7787-7803, 7787-7805, 7787-7806, 7788-7803, 7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7805, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7808, 7792-7809, 7792-7810, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7811, 7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815, 7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819, 7802-7821, 7803-7818, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7820, 7805-7822, 7805-7824, 7806-7821, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7825, 7807-7826, 7808-7825, 7808-7827, 7809-7825, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7825, 7810-7826, 7810-7827, 7810-7829, 7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7830, 7812-7831, 7813-7829, 7813-7831, 7813-7832, 7814-7833, 7815-7831, 7815-7832, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7833, 7816-7834, 7816-7835, 7817-7833, 7817-7834, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7835, 7818-7836, 7818-7837, 7819-7835, 7819-7836, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839, 7821-7836, 7821-7837, 7821-7839, 7821-7840, 7822-7837, 7822-7838, 7822-7840, 7822-7841, 7823-7838, 7823-7839, 7823-7839, 7823-7840, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7839, 7824-7840, 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843, 7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7843, 7825-7844, 7826-7842, 7826-7843, 7826-7844, 7826-7845, 7827-7842, 7827-7843, 7827-7844, 7827-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7844, 7828-7845, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845, 7829-7846, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849, 7831-7846, 7831-7847, 7831-7848, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849, 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849, 7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853, 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853, 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7853, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857, 7839-7854,
60	

7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857, 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861, 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862, 7846-7861 і 7846-7862.

У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з кон'югату і модифікованого олігонуклеотиду, спрямованого на 3' НТО нуклеїнової кислоти CFB, у деяких аспектах модифікований олігонуклеотид спрямован на діапазон нуклеотидів 2574-2626 нуклеїнової кислоти CFB, що має послідовність азотистих основ SEQ ID NO: 1. У деяких аспектах модифікований олігонуклеотид має частину з щонайменше 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 або 16 суміжних азотистих основ, комплементарну рівній по довжині частині у діапазоні нуклеотидів 2576-2626 нуклеїнової кислоти CFB, яка має послідовність азотистих основ SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з кон'югату і модифікованого олігонуклеотиду, спрямованого на область нуклеїнової кислоти CFB, яка має послідовність азотистих основ SEQ ID NO: 1 у діапазоні азотистих основ 2457-2631, 2457-2472, 2457-2474, 2457-2476, 2457-2566, 2457-2570, 2457-2571, 2457-2572, 2457-2573, 2457-2574, 2457-2575, 2457-2576, 2457-2577, 2457-2578, 2457-2579, 2457-2580, 2457-2581, 2457-2582, 2457-2583, 2457-2584, 2457-2585, 2457-2586, 2457-2587, 2457-2588, 2457-2589, 2457-2590, 2457-2591, 2457-2592, 2457-2593, 2457-2594, 2457-2595, 2457-2596, 2457-2597, 2457-2598, 2457-2599, 2457-2600, 2457-2601, 2457-2602, 2457-2603, 2457-2604, 2457-2605, 2457-2606, 2457-2607, 2457-2608, 2457-2609, 2457-2610, 2457-2611, 2457-2612, 2457-2613, 2457-2614, 2457-2615, 2457-2616, 2457-2617, 2457-2618, 2457-2619, 2457-2620, 2457-2621, 2457-2622, 2457-2623, 2457-2624, 2457-2625, 2457-2626, 2457-2627, 2457-2628, 2457-2629, 2457-2630, 2457-2631, 2459-2474, 2459-2476, 2459-2566, 2459-2570, 2459-2571, 2459-2572, 2459-2573, 2459-2574, 2459-2575, 2459-2576, 2459-2577, 2459-2578, 2459-2579, 2459-2580, 2459-2581, 2459-2582, 2459-2583, 2459-2584, 2459-2585, 2459-2586, 2459-2587, 2459-2588, 2459-2589, 2459-2590, 2459-2591, 2459-2592, 2459-2593, 2459-2594, 2459-2595, 2459-2596, 2459-2597, 2459-2598, 2459-2599, 2459-2600, 2459-2601, 2459-2602, 2459-2603, 2459-2604, 2459-2605, 2459-2606, 2459-2607, 2459-2608, 2459-2609, 2459-2610, 2459-2611, 2459-2612, 2459-2613, 2459-2614, 2459-2615, 2459-2616, 2459-2617, 2459-2618, 2459-2619, 2459-2620, 2459-2621, 2459-2622, 2459-2623, 2459-2624, 2459-2625, 2459-2626, 2459-2627, 2459-2628, 2459-2629, 2459-2630, 2459-2631, 2461-2476, 2461-2566, 2461-2570, 2461-2571, 2461-2572, 2461-2573, 2461-2574, 2461-2575, 2461-2576, 2461-2577, 2461-2578, 2461-2579, 2461-2580, 2461-2581, 2461-2582, 2461-2583, 2461-2584, 2461-2585, 2461-2586, 2461-2587, 2461-2588, 2461-2589, 2461-2590, 2461-2591, 2461-2592, 2461-2593, 2461-2594, 2461-2595, 2461-2596, 2461-2597, 2461-2598, 2461-2599, 2461-2600, 2461-2601, 2461-2602, 2461-2603, 2461-2604, 2461-2605, 2461-2606, 2461-2607, 2461-2608, 2461-2609, 2461-2610, 2461-2611, 2461-2612, 2461-2613, 2461-2614, 2461-2615, 2461-2616, 2461-2617, 2461-2618, 2461-2619, 2461-2620, 2461-2621, 2461-2622, 2461-2623, 2461-2624, 2461-2625, 2461-2626, 2461-2627, 2461-2628, 2461-2629, 2461-2630, 2461-2631, 2551-2566, 2551-2570, 2551-2571, 2551-2572, 2551-2573, 2551-2574, 2551-2575, 2551-2576, 2551-2577, 2551-2578, 2551-2579, 2551-2580, 2551-2581, 2551-2582, 2551-2583, 2551-2584, 2551-2585, 2551-2586, 2551-2587, 2551-2588, 2551-2589, 2551-2590, 2551-2591, 2551-2592, 2551-2593, 2551-2594, 2551-2595, 2551-2596, 2551-2597, 2551-2598, 2551-2599, 2551-2600, 2551-2601, 2551-2602, 2551-2603, 2551-2604, 2551-2605, 2551-2606, 2551-2607, 2551-2608, 2551-2609, 2551-2610, 2551-2611, 2551-2612, 2551-2613, 2551-2614, 2551-2615, 2551-2616, 2551-2617, 2551-2618, 2551-2619, 2551-2620, 2551-2621, 2551-2622, 2551-2623, 2551-2624, 2551-2625, 2551-2626, 2551-2627, 2551-2628, 2551-2629, 2551-2630, 2551-2631, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2553-2573, 2553-2574, 2553-2575, 2553-2576, 2553-2577, 2553-2578, 2553-2579, 2553-2580, 2553-2581, 2553-2582, 2553-2583, 2553-2584, 2553-2585, 2553-2586, 2553-2587, 2553-2588, 2553-2589, 2553-2590, 2553-2591, 2553-2592, 2553-2593, 2553-2594, 2553-2595, 2553-2596, 2553-2597, 2553-2598, 2553-2599, 2553-2600, 2553-2601, 2553-2602, 2553-2603, 2553-2604, 2553-2605, 2553-2606, 2553-2607, 2553-2608, 2553-2609, 2553-2610, 2553-2611, 2553-2612, 2553-2613, 2553-2614, 2553-2615, 2553-2616, 2553-2617, 2553-2618, 2553-2619, 2553-2620, 2553-2621, 2553-2622, 2553-2623, 2553-2624, 2553-2625, 2553-2626, 2553-2627, 2553-2628, 2553-2629, 2553-2630, 2553-2631, 2554-2573, 2554-2574, 2554-2575, 2554-2576, 2554-2577, 2554-2578, 2554-2579, 2554-2580, 2554-2581, 2554-2582, 2554-2583, 2554-2584, 2554-2585, 2554-2586, 2554-2587, 2554-2588, 2554-2589, 2554-2590, 2554-2591, 2554-2592, 2554-2593, 2554-2594, 2554-2595, 2554-2596, 2554-2597, 2554-2598, 2554-2599, 2554-2600, 2554-2601, 2554-2602, 2554-2603, 2554-2604, 2554-2605, 2554-2606, 2554-2607, 2554-2608, 2554-2609, 2554-2610, 2554-2611, 2554-2612, 2554-2613, 2554-2614,

UA 121656 C2

5	2554-2615,	2554-2616,	2554-2617,	2554-2618,	2554-2619,	2554-2620,	2554-2621,	2554-2622,
	2554-2623,	2554-2624,	2554-2625,	2554-2626,	2554-2627,	2554-2628,	2554-2629,	2554-2630,
	2554-2631,	2555-2572,	2555-2573,	2555-2574,	2555-2575,	2555-2576,	2555-2577,	2555-2578,
	2555-2579,	2555-2580,	2555-2581,	2555-2582,	2555-2583,	2555-2584,	2555-2585,	2555-2586,
	2555-2587,	2555-2588,	2555-2589,	2555-2590,	2555-2591,	2555-2592,	2555-2593,	2555-2594,
	2555-2595,	2555-2596,	2555-2597,	2555-2598,	2555-2599,	2555-2600,	2555-2601,	2555-2602,
	2555-2603,	2555-2604,	2555-2605,	2555-2606,	2555-2607,	2555-2608,	2555-2609,	2555-2610,
	2555-2611,	2555-2612,	2555-2613,	2555-2614,	2555-2615,	2555-2616,	2555-2617,	2555-2618,
10	2555-2619,	2555-2620,	2555-2621,	2555-2622,	2555-2623,	2555-2624,	2555-2625,	2555-2626,
	2555-2627,	2555-2628,	2555-2629,	2555-2630,	2555-2631,	2556-2573,	2556-2574,	2556-2575,
	2556-2576,	2556-2577,	2556-2578,	2556-2579,	2556-2580,	2556-2581,	2556-2582,	2556-2583,
	2556-2584,	2556-2585,	2556-2586,	2556-2587,	2556-2588,	2556-2589,	2556-2590,	2556-2591,
	2556-2592,	2556-2593,	2556-2594,	2556-2595,	2556-2596,	2556-2597,	2556-2598,	2556-2599,
	2556-2600,	2556-2601,	2556-2602,	2556-2603,	2556-2604,	2556-2605,	2556-2606,	2556-2607,
	2556-2608,	2556-2609,	2556-2610,	2556-2611,	2556-2612,	2556-2613,	2556-2614,	2556-2615,
	2556-2616,	2556-2617,	2556-2618,	2556-2619,	2556-2620,	2556-2621,	2556-2622,	2556-2623,
15	2556-2624,	2556-2625,	2556-2626,	2556-2627,	2556-2628,	2556-2629,	2556-2630,	2556-2631,
	2557-2574,	2557-2575,	2557-2576,	2557-2577,	2557-2578,	2557-2579,	2557-2580,	2557-2581,
	2557-2582,	2557-2583,	2557-2584,	2557-2585,	2557-2586,	2557-2587,	2557-2588,	2557-2589,
	2557-2590,	2557-2591,	2557-2592,	2557-2593,	2557-2594,	2557-2595,	2557-2596,	2557-2597,
	2557-2598,	2557-2599,	2557-2600,	2557-2601,	2557-2602,	2557-2603,	2557-2604,	2557-2605,
	2557-2606,	2557-2607,	2557-2608,	2557-2609,	2557-2610,	2557-2611,	2557-2612,	2557-2613,
	2557-2614,	2557-2615,	2557-2616,	2557-2617,	2557-2618,	2557-2619,	2557-2620,	2557-2621,
	2557-2622,	2557-2623,	2557-2624,	2557-2625,	2557-2626,	2557-2627,	2557-2628,	2557-2629,
20	2557-2630,	2557-2631,	2558-2575,	2558-2576,	2558-2577,	2558-2578,	2558-2579,	2558-2580,
	2558-2581,	2558-2582,	2558-2583,	2558-2584,	2558-2585,	2558-2586,	2558-2587,	2558-2588,
	2558-2589,	2558-2590,	2558-2591,	2558-2592,	2558-2593,	2558-2594,	2558-2595,	2558-2596,
	2558-2597,	2558-2598,	2558-2599,	2558-2600,	2558-2601,	2558-2602,	2558-2603,	2558-2604,
	2558-2605,	2558-2606,	2558-2607,	2558-2608,	2558-2609,	2558-2610,	2558-2611,	2558-2612,
	2558-2613,	2558-2614,	2558-2615,	2558-2616,	2558-2617,	2558-2618,	2558-2619,	2558-2620,
	2558-2621,	2558-2622,	2558-2623,	2558-2624,	2558-2625,	2558-2626,	2558-2627,	2558-2628,
	2558-2629,	2558-2630,	2558-2631,	2559-2576,	2559-2577,	2559-2578,	2559-2579,	2559-2580,
25	2559-2581,	2559-2582,	2559-2583,	2559-2584,	2559-2585,	2559-2586,	2559-2587,	2559-2588,
	2559-2589,	2559-2590,	2559-2591,	2559-2592,	2559-2593,	2559-2594,	2559-2595,	2559-2596,
	2559-2597,	2559-2598,	2559-2599,	2559-2600,	2559-2601,	2559-2602,	2559-2603,	

UA 121656 C2

5	2563-2589,	2563-2590,	2563-2591,	2563-2592,	2563-2593,	2563-2594,	2563-2595,	2563-2596,
	2563-2597,	2563-2598,	2563-2599,	2563-2600,	2563-2601,	2563-2602,	2563-2603,	2563-2604,
	2563-2605,	2563-2606,	2563-2607,	2563-2608,	2563-2609,	2563-2610,	2563-2611,	2563-2612,
	2563-2613,	2563-2614,	2563-2615,	2563-2616,	2563-2617,	2563-2618,	2563-2619,	2563-2620,
	2563-2621,	2563-2622,	2563-2623,	2563-2624,	2563-2625,	2563-2626,	2563-2627,	2563-2628,
	2563-2629,	2563-2630,	2563-2631,	2564-2581,	2564-2582,	2564-2583,	2564-2584,	2564-2585,
	2564-2586,	2564-2587,	2564-2588,	2564-2589,	2564-2590,	2564-2591,	2564-2592,	2564-2593,
	2564-2594,	2564-2595,	2564-2596,	2564-2597,	2564-2598,	2564-2599,	2564-2600,	2564-2601,
10	2564-2602,	2564-2603,	2564-2604,	2564-2605,	2564-2606,	2564-2607,	2564-2608,	2564-2609,
	2564-2610,	2564-2611,	2564-2612,	2564-2613,	2564-2614,	2564-2615,	2564-2616,	2564-2617,
	2564-2618,	2564-2619,	2564-2620,	2564-2621,	2564-2622,	2564-2623,	2564-2624,	2564-2625,
	2564-2626,	2564-2627,	2564-2628,	2564-2629,	2564-2630,	2564-2631,	2565-2584,	2565-2585,
	2565-2586,	2565-2587,	2565-2588,	2565-2589,	2565-2590,	2565-2591,	2565-2592,	2565-2593,
	2565-2594,	2565-2595,	2565-2596,	2565-2597,	2565-2598,	2565-2599,	2565-2600,	2565-2601,
	2565-2602,	2565-2603,	2565-2604,	2565-2605,	2565-2606,	2565-2607,	2565-2608,	2565-2609,
	2565-2610,	2565-2611,	2565-2612,	2565-2613,	2565-2614,	2565-2615,	2565-2616,	2565-2617,
20	2565-2618,	2565-2619,	2565-2620,	2565-2621,	2565-2622,	2565-2623,	2565-2624,	2565-2625,
	2565-2626,	2565-2627,	2565-2628,	2565-2629,	2565-2630,	2565-2631,	2566-2583,	2566-2584,
	2566-2585,	2566-2586,	2566-2587,	2566-2588,	2566-2589,	2566-2590,	2566-2591,	2566-2592,
	2566-2593,	2566-2594,	2566-2595,	2566-2596,	2566-2597,	2566-2598,	2566-2599,	2566-2600,
	2566-2601,	2566-2602,	2566-2603,	2566-2604,	2566-2605,	2566-2606,	2566-2607,	2566-2608,
	2566-2609,	2566-2610,	2566-2611,	2566-2612,	2566-2613,	2566-2614,	2566-2615,	2566-2616,
	2566-2617,	2566-2618,	2566-2619,	2566-2620,	2566-2621,	2566-2622,	2566-2623,	2566-2624,
	2566-2625,	2566-2626,	2566-2627,	2566-2628,	2566-2629,	2566-2630,	2566-2631,	2567-2584,
25	2567-2585,	2567-2586,	2567-2587,	2567-2588,	2567-2589,	2567-2590,	2567-2591,	2567-2592,
	2567-2593,	2567-2594,	2567-2595,	2567-2596,	2567-2597,	2567-2598,	2567-2599,	2567-2600,
	2567-2601,	2567-2602,	2567-2603,	2567-2604,	2567-2605,	2567-2606,	2567-2607,	2567-2608,
	2567-2609,	2567-2610,	2567-2611,	2567-2612,	2567-2613,	2567-2614,	2567-2615,	2567-2616,
	2567-2617,	2567-2618,	2567-2619,	2567-2620,	2567-2621,	2567-2622,	2567-2623,	2567-2624,
	2567-2625,	2567-2626,	2567-2627,	2567-2628,	2567-2629,	2567-2630,	2567-2631,	2568-2585,
	2568-2586,	2568-2587,	2568-2588,	2568-2589,	2568-2590,	2568-2591,	2568-2592,	2568-2593,
	2568-2594,	2568-2595,	2568-2596,	2568-2597,	2568-2598,	2568-2599,	2568-2600,	2568-2601,
35	2568-2602,	2568-2603,	2568-2604,	2568-2605,	2568-2606,	2568-2607,	2568-2608,	2568-2609,
	2568-2610,	2568-2611,	2568-2612,	2568-2613,	2568-2614,	2568-2615,	2568-2616,	2568-2617,
	2568-2618,	2568-2619,	2568-2620,	2568-2621,	2568-2622,	2568-2623,	2568-2624,	2568-2625,
	2568-2626,	2568-2627,	2568-2628,	2568-2629,	2568-2630,	2568-2631,	2569-2586,	2569-2587,
	2569-2588,	2569-2589,	2569-2590,	2569-2591,	2569-2592,	2569-2593,	2569-2594,	2569-2595,
	2569-2596,	2569-2597,	2569-2598,	2569-2599,	2569-2600,	2569-2601,	2569-2602,	2569-2603,
	2569-2604,	2569-2605,	2569-2606,	2569-2607,	2569-2608,	2569-2609,	2569-2610,	2569-2611,
	2569-2612,	2569-2613,	2569-2614,	2569-2615,	2569-2616,	2569-2617,	2569-2618,	2569-2619,
40	2569-2620,	2569-2621,	2569-2622,	2569-2623,	2569-2624,	2569-2625,	2569-2626,	2569-2627,
	2569-2628,	2569-2629,	2569-2630,	2569-2631,	2569-2586,	2569-2587,	2569-2588,	2569-2589,
	2569-2590,	2569-2591,	2569-2592,	2569-2593,	2569-2594,	2569-2595,	2569-2596,	2569-2597,
	2569-2598,	2569-2599,	2569-2600,	2569-2601,	2569-2602,	2569-2603,	2569-2604,	2569-2605,
	2569-2606,	2569-2607,	2569-2608,	2569-2609,	2569-2610,	2569-2611,	2569-2612,	2569-2613,
	2569-2614,	2569-2615,	2569-2616,	2569-2617,	2569-2618,	2569-2619,	2569-2620,	2569-2621,
	2569-2622,	2569-2623,	2569-2624,	2569-2625,	2569-2626,	2569-2627,	2569-2628,	2569-2629,
	2569-2630,	2569-2631,	2571-2588,	2571-2589,	2571-2590,	2571-2591,	2571-2592,	2571-2593,
50	2571-2594,	2571-2595,	2571-2596,	2571-2597,	2571-2598,	2571-2599,	2571-2600,	2571-2601,
	2571-2602,	2571-2603,	2571-2604,	2571-2605,	2571-2606,	2571-2607,	2571-2608,	2571-2609,
	2571-2610,	2571-2611,	2571-2612,	2571-2613,	2571-2614,	2571-2615,	2571-2616,	2571-2617,
	2571-2618,	2571-2619,	2571-2620,	2571-2621,	2571-2622,	2571-2623,	2571-2624,	2571-2625,
	2571-2626,	2571-2627,	2571-2628,	2571-2629,	2571-2630,	2571-2631,	2572-2589,	2572-2590,
	2572-2591,	2572-2592,	2572-2593,	2572-2594,	2572-2595,	2572-2596,	2572-2597,	2572-2598,
	2572-2599,	2572-2600,	2572-2601,	2572-2602,	2572-2603,	2572-2604,	2572-2605,	2572-2606,
	2572-2607,	2572-2608,	2572-2609,	2572-2610,	2572-2611,	2572-2612,	2572-2613,	2572-2614,
55	2572-2615,	2572-2616,	2572-2617,	2572-2618,	2572-2619,	2572-2620,	2572-2621,	2572-2622,
	2572-2623,	2572-2624,	2572-2625,	2572-2626,	2572-2627,	2572-2628,	2572-2629,	2572-2630,
	2572-2631,	2573-2590,	2573-2591,	2573-2592,	2573-2593,	2573-2594,	2573-2595,	2573-2596,
	2573-2597,	2573-2598,	2573-2599,	2573-2600,	2573-2601,	2573-2602,	2573-2603,	2573-2604,
	2573-2597,	2573-2598,	2573-2599,	2573-2600,	2573-2601,	2573-2602,	2573-2603,	2573-2604,
	2573-2597,	2573-2598,	2573-2599,	2573-2600,	2573-2601,	2573-2602,	2573-2603,	2573-2604,
	2573-2597,	2573-2598,	2573-2599,	2573-2600,	2573-2601,	2573-2602,	2573-2603,	2573-2604,
	2573-2597,	2573-2598,	2573-2599,	2573-2600,	2573-2601,	2573-2602,	2573-2603,	2573-2604,

5	2573-2605,	2573-2606,	2573-2607,	2573-2608,	2573-2609,	2573-2610,	2573-2611,	2573-2612,
	2573-2613,	2573-2614,	2573-2615,	2573-2616,	2573-2617,	2573-2618,	2573-2619,	2573-2620,
	2573-2621,	2573-2622,	2573-2623,	2573-2624,	2573-2625,	2573-2626,	2573-2627,	2573-2628,
	2573-2629,	2573-2630,	2573-2631,	2574-2591,	2574-2592,	2574-2593,	2574-2594,	2574-2595,
	2574-2596,	2574-2597,	2574-2598,	2574-2599,	2574-2600,	2574-2601,	2574-2602,	2574-2603,
10	2574-2604,	2574-2605,	2574-2606,	2574-2607,	2574-2608,	2574-2609,	2574-2610,	2574-2611,
	2574-2612,	2574-2613,	2574-2614,	2574-2615,	2574-2616,	2574-2617,	2574-2618,	2574-2619,
	2574-2620,	2574-2621,	2574-2622,	2574-2623,	2574-2624,	2574-2625,	2574-2626,	2574-2627,
	2574-2628,	2574-2629,	2574-2630,	2574-2631,	2575-2592,	2575-2593,	2575-2594,	2575-2595,
	2575-2596,	2575-2597,	2575-2598,	2575-2599,	2575-2600,	2575-2601,	2575-2602,	2575-2603,
15	2575-2604,	2575-2605,	2575-2606,	2575-2607,	2575-2608,	2575-2609,	2575-2610,	2575-2611,
	2575-2612,	2575-2613,	2575-2614,	2575-2615,	2575-2616,	2575-2617,	2575-2618,	2575-2619,
	2575-2620,	2575-2621,	2575-2622,	2575-2623,	2575-2624,	2575-2625,	2575-2626,	2575-2627,
	2575-2628,	2575-2629,	2575-2630,	2575-2631,	2576-2593,	2576-2594,	2576-2595,	2576-2596,
	2576-2597,	2576-2598,	2576-2599,	2576-2600,	2576-2601,	2576-2602,	2576-2603,	2576-2604,
20	2576-2605,	2576-2606,	2576-2607,	2576-2608,	2576-2609,	2576-2610,	2576-2611,	2576-2612,
	2576-2613,	2576-2614,	2576-2615,	2576-2616,	2576-2617,	2576-2618,	2576-2619,	2576-2620,
	2576-2621,	2576-2622,	2576-2623,	2576-2624,	2576-2625,	2576-2626,	2576-2627,	2576-2628,
	2576-2629,	2576-2630,	2576-2631,	2577-2594,	2577-2595,	2577-2596,	2577-2597,	2577-2598,
	2577-2599,	2577-2600,	2577-2601,	2577-2602,	2577-2603,	2577-2604,	2577-2605,	2577-2606,
25	2577-2607,	2577-2608,	2577-2609,	2577-2610,	2577-2611,	2577-2612,	2577-2613,	2577-2614,
	2577-2615,	2577-2616,	2577-2617,	2577-2618,	2577-2619,	2577-2620,	2577-2621,	2577-2622,
	2577-2623,	2577-2624,	2577-2625,	2577-2626,	2577-2627,	2577-2628,	2577-2629,	2577-2630,
	2577-2631,	2578-2597,	2578-2598,	2578-2599,	2578-2600,	2578-2601,	2578-2602,	2578-2603,
	2578-2604,	2578-2605,	2578-2606,	2578-2607,	2578-2608,	2578-2609,	2578-2610,	2578-2611,
30	2578-2612,	2578-2613,	2578-2614,	2578-2615,	2578-2616,	2578-2617,	2578-2618,	2578-2619,
	2578-2620,	2578-2621,	2578-2622,	2578-2623,	2578-2624,	2578-2625,	2578-2626,	2578-2627,
	2578-2628,	2578-2629,	2578-2630,	2578-2631,	2579-2598,	2579-2599,	2579-2600,	2579-2601,
	2579-2602,	2579-2603,	2579-2604,	2579-2605,	2579-2606,	2579-2607,	2579-2608,	2579-2609,
	2579-2610,	2579-2611,	2579-2612,	2579-2613,	2579-2614,	2579-2615,	2579-2616,	2579-2617,
35	2579-2618,	2579-2619,	2579-2620,	2579-2621,	2579-2622,	2579-2623,	2579-2624,	2579-2625,
	2579-2626,	2579-2627,	2579-2628,	2579-2629,	2579-2630,	2579-2631,	2580-2598,	2580-2599,
	2580-2600,	2580-2601,	2580-2602,	2580-2603,	2580-2604,	2580-2605,	2580-2606,	2580-2607,
	2580-2608,	2580-2609,	2580-2610,	2580-2611,	2580-2612,	2580-2613,	2580-2614,	2580-2615,
	2580-2616,	2580-2617,	2580-2618,	2580-2619,	2580-2620,	2580-2621,	2580-2622,	2580-2623,
40	2580-2624,	2580-2625,	2580-2626,	2580-2627,	2580-2628,	2580-2629,	2580-2630,	2580-2631,
	2581-2597,	2581-2598,	2581-2599,	2581-2600,	2581-2601,	2581-2602,	2581-2603,	2581-2604,
	2581-2605,	2581-2606,	2581-2607,	2581-2608,	2581-2609,	2581-2610,	2581-2611,	2581-2612,
	2581-2613,	2581-2614,	2581-2615,	2581-2616,	2581-2617,	2581-2618,	2581-2619,	2581-2620,
	2581-2621,	2581-2622,	2581-2623,	2581-2624,	2581-2625,	2581-2626,	2581-2627,	2581-2628,
45	2581-2629,	2581-2630,	2581-2631,	2582-2600,	2582-2601,	2582-2602,	2582-2603,	2582-2604,
	2582-2605,	2582-2606,	2582-2607,	2582-2608,	2582-2609,	2582-2610,	2582-2611,	2582-2612,
	2582-2613,	2582-2614,	2582-2615,	2582-2616,	2582-2617,	2582-2618,	2582-2619,	2582-2620,
	2582-2621,	2582-2622,	2582-2623,	2582-2624,	2582-2625,	2582-2626,	2582-2627,	2582-2628,
	2582-2629,	2582-2630,	2582-2631,	2583-2601,	2583-2602,	2583-2603,	2583-2604,	2583-2605,
50	2583-2606,	2583-2607,	2583-2608,	2583-2609,	2583-2610,	2583-2611,	2583-2612,	2583-2613,
	2583-2614,	2583-2615,	2583-2616,	2583-2617,	2583-2618,	2583-2619,	2583-2620,	2583-2621,
	2583-2622,	2583-2623,	2583-2624,	2583-2625,	2583-2626,	2583-2627,	2583-2628,	2583-2629,
	2583-2630,	2583-2631,	2585-2603,	2585-2604,	2585-2605,	2585-2606,	2585-2607,	2585-2608,
	2585-2609,	2585-2610,	2585-2611,	2585-2612,	2585-2613,	2585-2614,	2585-2615,	2585-2616,
55	2585-2617,	2585-2618,	2585-2619,	2585-2620,	2585-2621,	2585-2622,	2585-2623,	2585-2624,
	2585-2625,	2585-2626,	2585-2627,	2585-2628,	2585-2629,	2585-2630,	2585-2631,	2586-2604,
	2586-2605,	2586-2606,	2586-2607,	2586-2608,	2586-2609,	2586-2610,	2586-2611,	2586-2612,
	2586-2613,	2586-2614,	2586-2615,	2586-2616,	2586-2617,	2586-2618,	2586-2619,	2586-2620,
	2586-2621,	2586-2622,	2586-2623,	2586-2624,	2586-2625,	2586-2626,	2586-2627,	2586-2628,
60	2586-2629,	2586-2630,	2586-2631,	2587-2605,	2587-2606,	2587-2607,	2587-2608,	2587-2609,
	2587-2610,	2587-2611,	2587-2612,	2587-2613,	2587-2614,	2587-2615,	2587-2616,	2587-2617,
	2587-2618,	2587-2619,	2587-2620,	2587-2621,	2587-2622,	2587-2623,	2587-2624,	2587-2625,
	2587-2626,	2587-2627,	2587-2628,	2587-2629,	2587-2630,	2587-2631,	2588-2606,	2588-2607,
	2588-2608,	2588-2609,	2588-2610,	2588-2611,	2588-2612,	2588-2613,	2588-2614,	2588-2615,

2588-2616, 2588-2617, 2588-2618, 2588-2619, 2588-2620, 2588-2621, 2588-2622, 2588-2623,
 2588-2624, 2588-2625, 2588-2626, 2588-2627, 2588-2628, 2588-2629, 2588-2630, 2588-2631,
 2589-2607, 2589-2608, 2589-2609, 2589-2610, 2589-2611, 2589-2612, 2589-2613, 2589-2614,
 2589-2615, 2589-2616, 2589-2617, 2589-2618, 2589-2619, 2589-2620, 2589-2621, 2589-2622,
 5 2589-2623, 2589-2624, 2589-2625, 2589-2626, 2589-2627, 2589-2628, 2589-2629, 2589-2630,
 2589-2631, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2608, 2590-2609, 2590-2610, 2590-2611, 2590-2612,
 2590-2613, 2590-2614, 2590-2615, 2590-2616, 2590-2617, 2590-2618, 2590-2619, 2590-2620,
 2590-2621, 2590-2622, 2590-2623, 2590-2624, 2590-2625, 2590-2626, 2590-2627, 2590-2628,
 2590-2629, 2590-2630, 2590-2631, 2591-2610, 2591-2611, 2591-2612, 2591-2613, 2591-2614,
 10 2591-2615, 2591-2616, 2591-2617, 2591-2618, 2591-2619, 2591-2620, 2591-2621, 2591-2622,
 2591-2623, 2591-2624, 2591-2625, 2591-2626, 2591-2627, 2591-2628, 2591-2629, 2591-2630,
 2591-2631, 2592-2611, 2592-2612, 2592-2613, 2592-2614, 2592-2615, 2592-2616, 2592-2617,
 2592-2618, 2592-2619, 2592-2620, 2592-2621, 2592-2622, 2592-2623, 2592-2624, 2592-2625,
 2592-2626, 2592-2627, 2592-2628, 2592-2629, 2592-2630, 2592-2631, 2593-2608, 2593-2612,
 15 2593-2613, 2593-2614, 2593-2615, 2593-2616, 2593-2617, 2593-2618, 2593-2619, 2593-2620,
 2593-2621, 2593-2622, 2593-2623, 2593-2624, 2593-2625, 2593-2626, 2593-2627, 2593-2628,
 2593-2629, 2593-2630, 2593-2631, 2594-2612, 2594-2613, 2594-2614, 2594-2615, 2594-2616,
 2594-2617, 2594-2618, 2594-2619, 2594-2620, 2594-2621, 2594-2622, 2594-2623, 2594-2624,
 2594-2625, 2594-2626, 2594-2627, 2594-2628, 2594-2629, 2594-2630, 2594-2631, 2595-2611,
 20 2595-2612, 2595-2613, 2595-2614, 2595-2615, 2595-2616, 2595-2617, 2595-2618, 2595-2619,
 2595-2620, 2595-2621, 2595-2622, 2595-2623, 2595-2624, 2595-2625, 2595-2626, 2595-2627,
 2595-2628, 2595-2629, 2595-2630, 2595-2631, 2596-2614, 2596-2615, 2596-2616, 2596-2617,
 2596-2618, 2596-2619, 2596-2620, 2596-2621, 2596-2622, 2596-2623, 2596-2624, 2596-2625,
 2596-2626, 2596-2627, 2596-2628, 2596-2629, 2596-2630, 2596-2631, 2597-2612, 2597-2613,
 25 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2597-2617, 2597-2618, 2597-2619, 2597-2620, 2597-2621,
 2597-2622, 2597-2623, 2597-2624, 2597-2625, 2597-2626, 2597-2627, 2597-2628, 2597-2629,
 2597-2630, 2597-2631, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2598-2618,
 2598-2619, 2598-2620, 2598-2621, 2598-2622, 2598-2623, 2598-2624, 2598-2625, 2598-2626,
 2598-2627, 2598-2628, 2598-2629, 2598-2630, 2598-2631, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616,
 30 2599-2617, 2599-2618, 2599-2619, 2599-2620, 2599-2621, 2599-2622, 2599-2623, 2599-2624,
 2599-2625, 2599-2626, 2599-2627, 2599-2628, 2599-2629, 2599-2630, 2599-2631, 2600-2615,
 2600-2616, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2600-2620, 2600-2621, 2600-2622, 2600-2623,
 2600-2624, 2600-2625, 2600-2626, 2600-2627, 2600-2628, 2600-2629, 2600-2630, 2600-2631,
 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620, 2601-2621, 2601-2622, 2601-2623,
 35 2601-2624, 2601-2625, 2601-2626, 2601-2627, 2601-2628, 2601-2629, 2601-2630, 2601-2631,
 2602-2618, 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2602-2622, 2602-2623, 2602-2624, 2602-2625,
 2602-2626, 2602-2627, 2602-2628, 2602-2629, 2602-2630, 2602-2631, 2603-2620, 2603-2621,
 2603-2622, 2603-2623, 2603-2624, 2603-2625, 2603-2626, 2603-2627, 2603-2628, 2603-2629,
 2603-2630, 2603-2631, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2604-2624,
 40 2604-2625, 2604-2626, 2604-2627, 2604-2628, 2604-2629, 2604-2630, 2604-2631, 2605-2620,
 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2605-2625, 2605-2626, 2605-2627, 2605-2628,
 2605-2629, 2605-2630, 2605-2631, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625,
 2606-2626, 2606-2627, 2606-2628, 2606-2629, 2606-2630, 2606-2631, 2607-2622, 2607-2623,
 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2607-2627, 2607-2628, 2607-2629, 2607-2630, 2607-2631,
 45 2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2608-2628, 2608-2629, 2608-2630,
 2608-2631, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2609-2629, 2609-2630,
 2609-2631, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2610-2630, 2610-2631,
 2611-2626, 2611-2627, 2611-2628, 2611-2629, 2611-2630, 2611-2631, 2612-2627, 2612-2628,
 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629,
 50 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2631 або 2616-2631. У деяких аспектах антисмислові
 сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на щонайменше 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 або 16
 суміжних азотистих основ у межах вищезазначених областей азотистих основ.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 1, при направленому
 впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 50 %
 55 інгібування: 30-49, 48-63, 150-169, 151-170, 152-171, 154-169, 154-173, 156-171, 156-175, 157-
 176, 158-173, 158-177, 480-499, 600-619, 638-657, 644-663, 738-757, 1089-1108, 1135-1154, 1141-
 1160, 1147-1166, 1150-1169, 1153-1172, 1159-1178, 1162-1181, 1165-1184, 1171-1186, 1171-1190,
 1173-1188, 1173-1192, 1175-1190, 1175-1194, 1177-1196, 1183-1202, 1208-1227, 1235-1254,
 1298-1317, 1304-1323, 1310-1329, 1316-1335, 1319-1338, 1322-1341, 1328-1347, 1349-1368,
 60 1355-1374, 1393-1412, 1396-1415, 1399-1418, 1405-1424, 1421-1440, 1621-1640, 1646-1665,

	1646-1665, 1647-1666, 1689-1708, 1749-1768, 1763-1782, 1912-1931, 2073-2092, 2085-2104,
	2166-2185, 2172-2191, 2189-2208, 2191-2210, 2193-2212, 2195-2210, 2195-2214, 2196-2215,
	2197-2212, 2197-2216, 2202-2221, 2223-2238, 2223-2242, 2225-2240, 2226-2245, 2227-2242,
	2227-2246, 2238-2257, 2241-2260, 2267-2286, 2361-2380, 2388-2407, 2397-2416, 2448-2467,
5	2453-2472, 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2459-2478, 2461-2476, 2461-2480,
	2532-2551, 2550-2569, 2551-2566, 2551-2570, 2552-2568, 2552-2570, 2552-2571, 2553-2568,
	2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572, 2554-2573, 2555-2570, 2555-2572,
	2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2573, 2557-2574, 2557-2575, 2557-2576,
	2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578, 2560-2577, 2560-2578,
10	2560-2579, 2561-2576, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581,
	2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2566-2585,
	2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2583, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588,
	2570-2585, 2570-2587, 2570-2589, 2571-2586, 2571-2588, 2571-2590, 2572-2589, 2572-2590,
	2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2590, 2574-2591, 2574-2593, 2575-2590, 2575-2591,
15	2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2595, 2577-2596, 2578-2594,
	2578-2596, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2597, 2580-2598, 2580-2599, 2581-2597,
	2581-2598, 2581-2599, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2599, 2582-2600, 2582-2601, 2583-2599,
	2583-2600, 2583-2601, 2583-2602, 2584-2600, 2584-2601, 2584-2602, 2584-2603, 2585-2601,
	2585-2603, 2585-2604, 2586-2601, 2586-2602, 2586-2604, 2586-2605, 2587-2602, 2587-2603,
20	2587-2605, 2587-2606, 2588-2603, 2588-2604, 2588-2605, 2588-2606, 2588-2607, 2589-2604,
	2589-2605, 2589-2606, 2589-2607, 2589-2608, 2590-2605, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2608,
	2590-2609, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2608, 2591-2609, 2591-2610, 2592-2607, 2592-2608,
	2592-2609, 2592-2610, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2609, 2593-2610, 2593-2612, 2594-2609,
	2594-2610, 2594-2611, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611, 2595-2612, 2595-2613,
25	2595-2614, 2596-2611, 2596-2612, 2596-2613, 2596-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2612,
	2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616,
	2598-2617, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2616,
	2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620,
	2602-2617, 2602-2618, 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2603-2618, 2603-2619, 2603-2620,
30	2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620,
	2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624,
	2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624,
	2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628,
	2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 2611-2627, 2611-2628,
35	2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628,
	2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2631 та
	2616-2631.

	У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 2, при направленому
	впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 50 %
40	інгібування: 1608-1627, 1685-1704, 1686-1705, 1751-1770, 1769-1784, 1871-1890, 1872-1891,
	1873-1892, 1875-1890, 1875-1894, 1877-1892, 1877-1896, 1878-1897, 1879-1894, 1879-1898,
	2288-2307, 2808-2827, 2846-2865, 2852-2871, 2946-2965, 3773-3792, 3819-3838, 3825-3844,
	3831-3850, 3834-3853, 3837-3856, 3843-3862, 4151-4166, 4151-4170, 4153-4172, 4159-4178,
	4184-4203, 4211-4230, 4609-4628, 4612-4631, 4615-4634, 4621-4640, 4642-4661, 4648-4667,
45	4686-4705, 4689-4708, 4692-4711, 4698-4717, 4714-4733, 5270-5289, 5295-5314, 5296-5315,
	5830-5849, 5890-5909, 5904-5923, 6406-6425, 6662-6681, 6674-6693, 6954-6973, 6960-6979,
	6977-6996, 6979-6998, 6981-7000, 6983-6998, 6983-7002, 6984-7003, 6985-7000, 6985-7004,
	6990-7009, 7122-7141, 7125-7144, 7151-7170, 7353-7372, 7362-7381, 7683-7702, 7688-7707,
	7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7694-7713, 7696-7711, 7696-7715, 7767-7786,
50	7785-7804, 7786-7801, 7787-7803, 7787-7805, 7787-7806, 7788-7803, 7788-7805, 7788-7806,
	7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7805, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808,
	7791-7809, 7791-7810, 7792-7808, 7792-7809, 7792-7810, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811,
	7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7811,
	7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815,
55	7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819,
	7802-7821, 7803-7818, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7820, 7805-7822,
	7805-7824, 7806-7821, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7825, 7807-7826, 7808-7825,
	7808-7827, 7809-7825, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7825, 7810-7826, 7810-7827, 7810-7829,
	7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7830, 7812-7831, 7813-7829, 7813-7831, 7813-7832,
60	7814-7833, 7815-7831, 7815-7832, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7833, 7816-7834,

7816-7835, 7817-7833, 7817-7834, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7835, 7818-7836,
 7818-7837, 7819-7835, 7819-7836, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839,
 7821-7836, 7821-7837, 7821-7839, 7821-7840, 7822-7837, 7822-7838, 7822-7840, 7822-7841,
 7823-7838, 7823-7839, 7823-7839, 7823-7840, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7839, 7824-7840,
 5 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843, 7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7843,
 7825-7844, 7826-7842, 7826-7843, 7826-7844, 7826-7845, 7827-7842, 7827-7843, 7827-7844,
 7827-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7844, 7828-7845, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845,
 7829-7846, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849,
 7831-7846, 7831-7847, 7831-7848, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849,
 10 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849,
 7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853,
 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853,
 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7853, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857,
 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857,
 15 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857,
 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861,
 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862,
 7846-7861 та 7846-7862.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 1, при направленому
 20 впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 60 %
 інгібування: 48-63, 150-169, 152-171, 154-169, 154-173, 156-171, 156-175, 158-173, 158-177, 600-
 619, 1135-1154, 1141-1160, 1147-1166, 1153-1172, 1171-1186, 1173-1188, 1175-1190, 1749-1768,
 1763-1782, 1763-1782, 1912-1931, 2189-2208, 2191-2210, 2193-2212, 2195-2210, 2195-2214,
 2197-2212, 2197-2216, 2223-2238, 2225-2240, 2227-2242, 2238-2257, 2448-2467, 2453-2472,
 25 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2459-2478, 2461-2476, 2461-2480, 2550-2569,
 2551-2566, 2552-2571, 2553-2568, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572,
 2554-2573, 2555-2572, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2574, 2557-2575,
 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578, 2560-2577,
 2560-2578, 2560-2579, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581,
 30 2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2566-2585,
 2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2583, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588,
 2570-2587, 2570-2589, 2571-2588, 2572-2590, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2591,
 2574-2593, 2575-2590, 2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2595,
 2577-2596, 2578-2594, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2597, 2580-2598, 2580-2599,
 35 2581-2597, 2581-2598, 2581-2599, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2599, 2582-2600, 2582-2601,
 2583-2599, 2583-2600, 2583-2601, 2583-2602, 2584-2600, 2584-2602, 2584-2603, 2585-2601,
 2585-2603, 2585-2604, 2586-2602, 2586-2604, 2586-2605, 2587-2603, 2587-2605, 2587-2606,
 2588-2603, 2588-2604, 2588-2606, 2588-2607, 2589-2605, 2589-2606, 2589-2607, 2589-2608,
 2590-2605, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2608, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2609, 2591-2610,
 40 2592-2608, 2592-2609, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2609, 2593-2612, 2594-2609, 2594-2610,
 2594-2611, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611, 2595-2612, 2595-2613, 2595-2614,
 2596-2611, 2596-2612, 2596-2613, 2596-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614,
 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614,
 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2616, 2600-2617, 2600-2618,
 45 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620, 2602-2617, 2602-2618,
 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2603-2618, 2603-2619, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622,
 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622,
 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622,
 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2625,
 50 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2610-2625,
 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 2611-2626, 2611-2627, 2611-2628,
 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628,
 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2630,
 2615-2631, 2615-2631 та 2616-2631.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 2, при направленому
 55 впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 60 %
 інгібування: 1685-1704, 1686-1705, 1769-1784, 1871-1890, 1873-1892, 1875-1890, 1875-1894,
 1877-1892, 1877-1896, 1879-1894, 1879-1898, 2808-2827, 3819-3838, 3825-3844, 3831-3850,
 3837-3856, 4151-4166, 5890-5909, 5904-5923, 5904-5923, 6406-6425, 6977-6996, 6979-6998,
 60 6981-7000, 6983-6998, 6983-7002, 6985-7000, 6985-7004, 7122-7141, 7683-7702, 7688-7707,

	7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7696-7711, 7696-7715, 7786-7801, 7787-7806, 7788-7803, 7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7809, 7792-7810, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814,
5	7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815, 7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819, 7802-7821, 7803-7818, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7822, 7805-7824, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7825, 7807-7826, 7808-7825, 7808-7827, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7825, 7810-7827, 7810-7829, 7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7830,
10	7812-7831, 7813-7829, 7813-7832, 7814-7833, 7815-7831, 7815-7832, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7833, 7816-7834, 7816-7835, 7817-7833, 7817-7834, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7835, 7818-7836, 7818-7837, 7819-7835, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839, 7821-7837, 7821-7839, 7821-7840, 7822-7838, 7822-7840, 7822-7841, 7823-7838, 7823-7839, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843,
15	7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7843, 7825-7844, 7826-7842, 7826-7844, 7826-7845, 7827-7843, 7827-7844, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7844, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845, 7829-7846, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849, 7831-7846, 7831-7847, 7831-7848, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849, 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849,
20	7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853, 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853, 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7853, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857, 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857,
25	7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861, 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862, 7846-7861, 7846-7862 та 7847-7862.

	У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 1, при направленому впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 70 % інгібування: 48-63, 150-169, 152-171, 154-169, 154-173, 156-171, 156-175, 158-173, 158-177, 1135-1154, 1141-1160, 1147-1166, 1171-1186, 1173-1188, 1175-1190, 1749-1768, 1763-1782, 1912-1931, 2193-2212, 2195-2210, 2195-2214, 2197-2212, 2197-2216, 2223-2238, 2225-2240, 2227-2242, 2453-2472, 2455-2474, 2457-2472, 2457-2476, 2459-2474, 2461-2476, 2461-2480, 2550-2569, 2551-2566, 2552-2571, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2571, 2554-2572, 2554-2573,
35	2554-2573, 2555-2572, 2555-2574, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2574, 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2558-2577, 2559-2576, 2559-2577, 2559-2578, 2560-2577, 2560-2579, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581, 2563-2578, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2566-2585, 2567-2582, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588, 2570-2587,
40	2570-2589, 2571-2588, 2571-2590, 2572-2589, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2591, 2574-2593, 2575-2592, 2575-2594, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2596, 2578-2597, 2579-2598, 2580-2596, 2580-2598, 2580-2599, 2581-2597, 2581-2600, 2582-2598, 2582-2600, 2582-2601, 2583-2599, 2583-2601, 2583-2602, 2584-2600, 2584-2602, 2584-2603, 2585-2601, 2585-2603, 2585-2604, 2586-2605, 2587-2606, 2588-2604, 2588-2606, 2588-2607, 2589-2605,
45	2589-2606, 2589-2607, 2589-2608, 2590-2605, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2609, 2591-2607, 2591-2610, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2612, 2594-2609, 2594-2610, 2594-2612, 2594-2613, 2595-2610, 2595-2611, 2595-2612, 2595-2613, 2595-2614, 2596-2611, 2596-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2615, 2599-2616, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615,
50	2600-2616, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 2601-2618, 2601-2619, 2601-2620, 2602-2617, 2602-2618, 2602-2619, 2602-2620, 2602-2621, 2603-2619, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624,
55	2608-2625, 2608-2626, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2625, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2627, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 2611-2627, 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2629, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2630, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630, 2615-2630, 2615-2631 та 2616-2631.

60	У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 2, при направленому
----	---

впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 70 % інгібування: 1685-1704, 1686-1705, 1769-1784, 1871-1890, 1873-1892, 1875-1890, 1875-1894, 1877-1892, 1877-1896, 1879-1894, 1879-1898, 3819-3838, 3825-3844, 3831-3850, 4151-4166, 5890-5909, 5904-5923, 5904-5923, 6406-6425, 6983-6998, 6983-7002, 6985-7000, 6985-7004, 5
7688-7707, 7690-7709, 7692-7707, 7692-7711, 7694-7709, 7696-7711, 7696-7715, 7786-7801, 7787-7806, 7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7806, 7789-7807, 7789-7808, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7809, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7793-7812, 7794-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7813, 7798-7815, 7798-7817, 10
7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7801-7820, 7802-7817, 7802-7819, 7802-7821, 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7822, 7805-7824, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824, 7807-7826, 7808-7825, 7808-7827, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7827, 7811-7828, 7811-7830, 7812-7829, 7812-7831, 7813-7832, 7814-7833, 7815-7831, 7815-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7835, 7817-7833, 7817-7835, 7817-7836, 7818-7834, 7818-7836, 7818-7837, 15
7819-7835, 7819-7837, 7819-7838, 7820-7836, 7820-7838, 7820-7839, 7821-7840, 7822-7841, 7823-7839, 7823-7841, 7823-7842, 7824-7840, 7824-7841, 7824-7842, 7824-7843, 7825-7840, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7844, 7826-7842, 7826-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7847, 7829-7844, 7829-7845, 7829-7847, 7829-7848, 7830-7845, 7830-7846, 7830-7847, 7830-7848, 7830-7849, 7831-7846, 7831-7849, 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849, 7832-7850, 20
7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849, 7834-7850, 7834-7851, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7851, 7835-7852, 7835-7853, 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7853, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7852, 7837-7853, 7837-7854, 7837-7855, 7837-7856, 7838-7854, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857, 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7858, 7840-7859, 25
7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857, 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7861, 7843-7862, 7844-7859, 7844-7860, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7845-7862, 7846-7861, 7846-7862 та 7847-7862.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 1, при направленому впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 80 % інгібування: 152-171, 154-169, 156-171, 158-173, 1135-1154, 1171-1186, 1173-1188, 1175-1190, 1763-1782, 1912-1931, 2197-2212, 2223-2238, 2225-2240, 2227-2242, 2457-2472, 2459-2474, 2461-2476, 2551-2566, 2553-2570, 2553-2571, 2553-2572, 2554-2573, 2555-2572, 2555-2574, 2556-2573, 2556-2574, 2556-2575, 2557-2574, 2557-2576, 2558-2575, 2558-2576, 2559-2577, 35
2559-2578, 2560-2577, 2560-2578, 2560-2579, 2561-2578, 2561-2579, 2561-2580, 2562-2577, 2562-2579, 2562-2581, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2564-2583, 2565-2584, 2566-2583, 2567-2584, 2567-2586, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2569-2588, 2570-2587, 2571-2588, 2571-2590, 2572-2589, 2572-2591, 2573-2590, 2573-2592, 2574-2591, 2574-2593, 2575-2592, 2576-2593, 2576-2595, 2577-2594, 2577-2596, 2578-2597, 2580-2598, 2580-2599, 2581-2597, 40
2581-2600, 2582-2601, 2583-2602, 2584-2603, 2585-2604, 2586-2605, 2587-2606, 2588-2607, 2589-2608, 2590-2606, 2590-2607, 2590-2609, 2591-2610, 2592-2611, 2593-2608, 2593-2612, 2594-2613, 2595-2611, 2595-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2614, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2613, 2598-2614, 2598-2615, 2598-2616, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2617, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2617, 2600-2618, 2600-2619, 2601-2616, 2601-2617, 45
2601-2619, 2601-2620, 2602-2618, 2602-2621, 2603-2620, 2603-2621, 2603-2622, 2604-2619, 2604-2620, 2604-2621, 2604-2622, 2604-2623, 2605-2620, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2623, 2605-2624, 2606-2621, 2606-2622, 2606-2623, 2606-2624, 2606-2625, 2607-2622, 2607-2623, 2607-2624, 2607-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2624, 2608-2625, 2608-2627, 2609-2624, 2609-2626, 2609-2627, 2609-2628, 2610-2625, 2610-2626, 2610-2628, 2610-2629, 2611-2626, 50
2611-2627, 2611-2629, 2611-2630, 2612-2627, 2612-2628, 2612-2630, 2612-2631, 2613-2628, 2613-2629, 2613-2631, 2614-2629, 2614-2630, 2614-2631, 2615-2630 та 2616-2631.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 2, при направленому впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 80 % інгібування: 1685-1704, 1686-1705, 1873-1892, 1875-1890, 1877-1892, 1879-1894, 3819-3838, 4151-4166, 5904-5923, 6406-6425, 6985-7000, 7692-7707, 7694-7709, 7696-7711, 7786-7801, 55
7788-7805, 7788-7806, 7788-7807, 7789-7808, 7790-7807, 7790-7809, 7791-7808, 7791-7809, 7791-7810, 7792-7809, 7792-7811, 7793-7810, 7793-7811, 7794-7812, 7794-7813, 7795-7812, 7795-7813, 7795-7814, 7796-7813, 7796-7814, 7796-7815, 7797-7812, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7815, 7798-7817, 7799-7816, 7799-7818, 7800-7819, 7801-7818, 7802-7819, 7802-7821, 60
7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7804-7823, 7805-7822, 7806-7823, 7806-7825, 7807-7824,

7807-7826, 7808-7825, 7808-7827, 7809-7826, 7809-7828, 7810-7827, 7811-7828, 7812-7829, 7812-7831, 7813-7832, 7814-7833, 7815-7834, 7816-7832, 7816-7835, 7817-7836, 7818-7837, 7819-7838, 7820-7839, 7821-7840, 7822-7841, 7823-7842, 7824-7843, 7825-7841, 7825-7842, 7825-7844, 7826-7845, 7827-7846, 7828-7843, 7828-7847, 7829-7848, 7830-7846, 7830-7849, 5 7831-7850, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7849, 7832-7850, 7832-7851, 7833-7848, 7833-7849, 7833-7850, 7833-7851, 7833-7852, 7834-7849, 7834-7852, 7834-7853, 7835-7850, 7835-7852, 7835-7853, 7835-7854, 7836-7851, 7836-7852, 7836-7854, 7836-7855, 7837-7853, 7837-7856, 7838-7855, 7838-7856, 7838-7857, 7839-7854, 7839-7855, 7839-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7855, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7858, 7840-7859, 7841-7856, 7841-7857, 7841-7858, 10 7841-7859, 7841-7860, 7842-7857, 7842-7858, 7842-7859, 7842-7860, 7842-7861, 7843-7858, 7843-7859, 7843-7860, 7843-7862, 7844-7859, 7844-7861, 7844-7862, 7845-7860, 7845-7861, 7846-7862 та 7847-7862.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 1, при направленому впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 90 % інгібування: 154-169, 156-171, 158-173, 1135-1154, 1171-1186, 1173-1188, 1763-1782, 1912-1931, 2223-2238, 2227-2242, 2459-2474, 2461-2476, 2554-2573, 2555-2574, 2560-2577, 2561-2578, 2561-2579, 2562-2581, 2563-2580, 2563-2582, 2564-2581, 2566-2583, 2567-2584, 2568-2585, 2568-2587, 2569-2586, 2570-2587, 2576-2593, 2577-2594, 2577-2596, 2578-2597, 2580-2599, 2581-2600, 2582-2601, 2583-2602, 2584-2603, 2586-2605, 2587-2605, 2587-2606, 2588-2607, 20 2589-2608, 2590-2607, 2590-2609, 2592-2611, 2595-2614, 2596-2615, 2597-2612, 2597-2613, 2597-2615, 2597-2616, 2598-2613, 2598-2613, 2598-2617, 2599-2614, 2599-2618, 2600-2615, 2600-2619, 2601-2617, 2601-2620, 2602-2621, 2603-2622, 2604-2623, 2605-2621, 2605-2622, 2605-2624, 2606-2625, 2607-2626, 2608-2623, 2608-2625, 2609-2628, 2611-2627, 2611-2630, 2612-2628, 2612-2631, 2613-2629, 2614-2629, 2615-2630 та 2616-2631.

У деяких варіантах реалізації наступні нуклеотидні області SEQ ID NO: 2, при направленому впливі антисмислових сполук або олігонуклеотидів, демонструють щонайменше 90 % інгібування: 1685-1704, 1686-1705, 1875-1890, 1877-1892, 1879-1894, 3819-3838, 5904-5923, 6406-6425, 7694-7709, 7696-7711, 7789-7808, 7790-7809, 7795-7812, 7795-7813, 7796-7813, 7796-7814, 7797-7814, 7797-7816, 7798-7815, 7798-7817, 7799-7816, 7801-7818, 7802-7819, 30 7803-7820, 7803-7822, 7804-7821, 7805-7822, 7811-7828, 7812-7829, 7812-7831, 7813-7832, 7815-7834, 7818-7837, 7819-7838, 7821-7840, 7822-7840, 7822-7841, 7825-7842, 7832-7847, 7832-7848, 7832-7850, 7833-7848, 7833-7852, 7834-7849, 7834-7853, 7835-7850, 7836-7852, 7836-7855, 7837-7856, 7838-7856, 7839-7857, 7839-7858, 7840-7856, 7840-7857, 7840-7859, 7843-7858, 7843-7860 та 7846-7862.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 50 % інгібування мРНК CFB, ISIS NO: 516350, 532614, 532632, 532635, 532638, 532639, 532686, 532687, 532688, 532689, 532690, 532691, 532692, 532692, 532693, 532694, 532695, 532696, 532697, 532698, 532699, 532700, 532701, 532702, 532703, 532704, 532705, 532706, 532707, 532770, 532775, 40 532778, 532780, 532791, 532800, 532809, 532810, 532811, 532917, 532952, 588509, 588510, 588511, 588512, 588513, 588514, 588515, 588516, 588517, 588518, 588519, 588520, 588522, 588523, 588524, 588525, 588527, 588528, 588529, 588530, 588531, 588532, 588533, 588534, 588535, 588536, 588537, 588538, 588539, 588540, 588541, 588542, 588543, 588544, 588545, 588546, 588547, 588548, 588549, 588550, 588551, 588552, 588553, 588554, 588555, 588556, 45 588557, 588558, 588559, 588560, 588561, 588562, 588563, 588564, 588565, 588566, 588567, 588568, 588569, 588570, 588571, 588572, 588573, 588574, 588575, 588576, 588577, 588580, 588581, 588585, 588586, 588589, 588590, 588599, 588603, 588606, 588608, 588610, 588614, 588616, 588628, 588631, 588632, 588634, 588636, 588638, 588640, 588645, 588646, 588654, 588656, 588658, 588660, 588662, 588664, 588670, 588672, 588676, 588682, 588688, 588696, 50 588698, 588807, 588808, 588809, 588813, 588814, 588815, 588819, 588820, 588822, 588823, 588838, 588839, 588840, 588841, 588842, 588846, 588847, 588848, 588849, 588850, 588851, 588852, 588853, 588854, 588855, 588856, 588857, 588858, 588859, 588860, 588861, 588862, 588863, 588864, 588865, 588866, 588867, 588868, 588870, 588871, 588872, 588873, 588874, 588875, 588876, 588877, 588878, 588879, 588880, 588881, 588882, 588883, 588884, 588885, 588886, 588887, 588888, 588889, 588890, 588891, 588892, 588893, 588894, 588895, 588896, 588897, 588898, 588899, 588900, 588901, 588902, 588903, 588904, 588905, 588906, 588907, 588908, 588909, 588910, 588911, 588912, 588913, 588914, 588915, 588916, 588917, 588918, 588919, 588920, 588921, 588922, 588923, 588924, 588925, 588926, 588927, 588928, 588929, 588930, 588931, 588932, 588933, 588934, 588935, 588936, 588937, 588938, 588939, 588940, 588941, 588942, 588943, 588944, 588945, 588946, 588947, 588948, 588949, 588950, 588951, 588952, 588953, 588954, 588955, 588956, 588957, 588958, 588959, 588960, 588961, 588962, 588963, 588964, 588965, 588966, 588967, 588968, 588969, 588970, 588971, 588972, 588973, 588974, 588975, 588976, 588977, 588978, 588979, 588980, 588981, 588982, 588983, 588984, 588985, 588986, 588987, 588988, 588989, 588990, 588991, 588992, 588993, 588994, 588995, 588996, 588997, 588998, 588999, 589000, 589001, 589002, 589003, 589004, 589005, 589006, 589007, 589008, 589009, 589010, 589011, 589012, 589013, 589014, 589015, 589016, 589017, 589018, 589019, 589020, 589021, 589022, 589023, 589024, 589025, 589026, 589027, 589028, 589029, 589030, 589031, 589032, 589033, 589034, 589035, 589036, 589037, 589038, 589039, 589040, 589041, 589042, 589043, 589044, 589045, 589046, 589047, 589048, 589049, 589050, 589051, 589052, 589053, 589054, 589055, 589056, 589057, 589058, 589059, 589060, 589061, 589062, 589063, 589064, 589065, 589066, 589067, 589068, 589069, 589070, 589071, 589072, 589073, 589074, 589075, 589076, 589077, 589078, 589079, 589080, 589081, 589082, 589083, 589084, 589085, 589086, 589087, 589088, 589089, 589090, 589091, 589092, 589093, 589094, 589095, 589096, 589097, 589098, 589099, 589100, 589101, 589102, 589103, 589104, 589105, 589106, 589107, 589108, 589109, 589110, 589111, 589112, 589113, 589114, 589115, 589116, 589117, 589118, 589119, 589120, 589121, 589122, 589123, 589124, 589125, 589126, 589127, 589128, 589129, 589130, 589131, 589132, 589133, 589134, 589135, 589136, 589137, 589138, 589139, 589140, 589141, 589142, 589143, 589144, 589145, 589146, 589147, 589148, 589149, 589150, 589151, 589152, 589153, 589154, 589155, 589156, 589157, 589158, 589159, 589160, 589161, 589162, 589163, 589164, 589165, 589166, 589167, 589168, 589169, 589170, 589171, 589172, 589173, 589174, 589175, 589176, 589177, 589178, 589179, 589180, 589181, 589182, 589183, 589184, 589185, 589186, 589187, 589188, 589189, 589190, 589191, 589192, 589193, 589194, 589195, 589196, 589197, 589198, 589199, 589200, 589201, 589202, 589203, 589204, 589205, 589206, 589207, 589208, 589209, 589210, 589211, 589212, 589213, 589214, 589215, 589216, 589217, 589218, 589219, 589220, 589221, 589222, 589223, 589224, 589225, 589226, 589227, 589228, 589229, 589230, 589231, 589232, 589233, 589234, 589235, 589236, 589237, 589238, 589239, 589240, 589241, 589242, 589243, 589244, 589245, 589246, 589247, 589248, 589249, 589250, 589251, 589252, 589253, 589254, 589255, 589256, 589257, 589258, 589259, 589260, 589261, 589262, 589263, 589264, 589265, 589266, 589267, 589268, 589269, 589270, 589271, 589272, 589273, 589274, 589275, 589276, 589277, 589278, 589279, 589280, 589281, 589282, 589283, 589284, 589285, 589286, 589287, 589288, 589289, 589290, 589291, 589292, 589293, 589294, 589295, 589296, 589297, 589298, 589299, 589300, 589301, 589302, 589303, 589304, 589305, 589306, 589307, 589308, 589309, 589310, 589311, 589312, 589313, 589314, 589315, 589316, 589317, 589318, 589319, 589320, 589321, 589322, 589323, 589324, 589325, 589326, 589327, 589328, 589329, 589330, 589331, 589332, 589333, 589334, 589335, 589336, 589337, 589338, 589339, 589340, 589341, 589342, 589343, 589344, 589345, 589346, 589347, 589348, 589349, 589350, 589351, 589352, 589353, 589354, 589355, 589356, 589357, 589358, 589359, 589360, 589361, 589362, 589363, 589364, 589365, 589366, 589367, 589368, 589369, 589370, 589371, 589372, 589373, 589374, 589375, 589376, 589377, 589378, 589379, 589380, 589381, 589382, 589383, 589384, 589385, 589386, 589387, 589388, 589389, 589390, 589391, 589392, 589393, 589394, 589395, 589396, 589397, 589398, 589399, 589400, 589401, 589402, 589403, 589404, 589405, 589406, 589407, 589408, 589409, 589410, 589411, 589412, 589413, 589414, 589415, 589416, 589417, 589418, 589419, 589420, 589421, 589422, 589423, 589424, 589425, 589426, 589427, 589428, 589429, 589430, 589431, 589432, 589433, 589434, 589435, 589436, 589437, 589438, 589439, 589440, 589441, 589442, 589443, 589444, 589445, 589446, 589447, 589448, 589449, 589450, 589451, 589452, 589453, 589454, 589455, 589456, 589457, 589458, 589459, 589460, 589461, 589462, 589463, 589464, 589465, 589466, 589467, 589468, 589469, 589470, 589471, 589472, 589473, 589474, 589475, 589476, 589477, 589478, 589479, 589480, 589481, 589482, 589483, 589484, 589485, 589486, 589487, 589488, 589489, 589490, 589491, 589492, 589493, 589494, 589495, 589496, 589497, 589498, 589499, 589500, 589501, 589502, 589503, 589504, 589505, 589506, 589507, 589508, 589509, 589510, 589511, 589512, 589513, 589514, 589515, 589516, 589517, 589518, 589519, 589520, 589521, 589522, 589523, 589524, 589525, 589526, 589527, 589528, 589529, 589530, 589531, 589532, 589533, 589534, 589535, 589536, 589537, 589538, 589539, 589540, 589541, 589542, 589543, 589544, 589545, 589546, 589547, 589548, 589549, 589550, 589551, 589552, 589553, 589554, 589555, 589556, 589557, 589558, 589559, 589560, 589561, 589562, 589563, 589564, 589565, 589566, 589567, 589568, 589569, 589570, 589571, 589572, 589573, 589574, 589575, 589576, 589577, 589578, 589579, 589580, 589581, 589582, 589583, 589584, 589585, 589586, 589587, 589588, 589589, 589590, 589591, 589592, 589593, 589594, 589595, 589596, 589597, 589598, 589599, 589600, 589601, 589602, 589603, 589604, 589605, 589606, 589607, 589608, 589609, 589610, 589611, 589612, 589613, 589614, 589615, 589616, 589617, 589618, 589619, 589620, 589621, 589622, 589623, 589624, 589625, 589626, 589627, 589628, 589629, 589630, 589631, 589632, 589633, 589634, 589635, 589636, 589637, 589638, 589639, 589640, 589641, 589642, 589643, 589644, 589645, 589646, 589647, 589648, 589649, 589650, 589651, 589652, 589653, 589654, 589655, 589656, 589657, 589658, 589659, 589660, 589661, 589662, 589663, 589664, 589665, 589666, 589667, 589668, 589669, 589670, 589671, 589672, 589673, 589674, 589675, 589676, 589677, 589678, 589679, 589680, 589681, 589682, 589683, 589684, 589685, 589686, 589687, 589688, 589689, 589690, 589691, 589692, 589693, 589694, 589695, 589696, 589697, 589698, 589699, 589700, 589701, 589702, 589703, 589704, 589705, 589706, 589707, 589708, 589709, 589710, 589711, 589712, 589713, 589714, 589715, 589716, 589717, 589718, 589719, 589720, 589721, 589722, 589723, 589724, 589725, 589726, 589727, 589728, 589729, 589730, 589731, 589732, 589733, 589734, 589735, 589736, 589737, 589738, 589739, 589740, 589741, 589742, 589743, 589744, 589745, 589746, 589747, 589748, 589749, 589750, 589751, 589752, 589753, 589754, 589755, 589756, 589757, 589758, 589759, 589760, 589761, 589762, 589763, 589764, 589765, 589766, 589767, 589768, 589769, 589770, 589771, 589772, 589773, 589774, 589775, 589776, 589777, 589778, 589779, 589780, 589781, 589782, 589783, 589784, 589785, 589786, 589787, 589788, 589789, 589790, 589791, 589792, 589793, 589794, 589795, 589796, 589797, 589798, 589799, 589800, 589801, 589802, 589803, 589804, 589805, 589806, 589807, 589808, 589809, 589810, 589811, 589812, 589813, 589814, 589815, 589816, 589817, 589818, 589819, 589820, 589821, 589822, 589823, 589824, 589825, 589826, 589827, 589828, 589829, 589830, 589831, 589832, 589833, 589834, 589835, 589836, 589837, 589838, 589839, 589840, 589841, 589842, 589843, 589844, 589845, 589846, 589847, 589848, 589849, 589850, 589851, 589852, 589853, 589854, 589855, 589856, 589857, 589858, 589859, 589860, 589861, 589862, 589863, 589864, 589865, 589866, 589867, 589868, 589869, 589870, 589871, 589872, 589873, 589874, 589875, 589876, 589877, 58

	599123, 599124, 599125, 599126, 599127, 599128, 599132, 599133, 599134, 599135, 599136, 599137, 599138, 599139, 599140, 599141, 599142, 599143, 599144, 599145, 599147, 599148, 599149, 599150, 599151, 599152, 599153, 599154, 599155, 599156, 599157, 599158, 599159, 599178, 599179, 599180, 599181, 599182, 599186, 599187, 599188, 599189, 599190, 599191,
5	599192, 599193, 599194, 599195, 599196, 599197, 599198, 599199, 599200, 599201, 599202, 599203, 599204, 599205, 599206, 599207, 599208, 599209, 599210, 599211, 599212, 599213, 599214, 599215, 599216, 599217, 599218, 599219, 599220, 599221, 599221, 599222, 599223, 599224, 599225, 599226, 599227, 599228, 599229, 599230, 599231, 599232, 599233, 599234, 599235, 599236, 599241, 599247, 599248, 599249, 599255, 599256, 599257, 599258, 599260,
10	599261, 599262, 599263, 599264, 599265, 599266, 599267, 599268, 599269, 599270, 599271, 599272, 599273, 599274, 599275, 599276, 599277, 599278, 599279, 599280, 599297, 599299, 599306, 599307, 599308, 599309, 599311, 599312, 599313, 599314, 599315, 599316, 599317, 599318, 599319, 599320, 599321, 599322, 599323, 599324, 599325, 599326, 599327, 599328, 599329, 599330, 599338, 599349, 599353, 599354, 599355, 599356, 599357, 599358, 599359,
15	599360, 599361, 599362, 599363, 599364, 599369, 599371, 599372, 599373, 599376, 599378, 599379, 599382, 599383, 599384, 599385, 599386, 599387, 599388, 599389, 599390, 599391, 599392, 599393, 599394, 599395, 599396, 599397, 599398, 599399, 599400, 599401, 599402, 599403, 599404, 599405, 599406, 599407, 599408, 599409, 599410, 599412, 599413, 599414, 599415, 599416, 599417, 599418, 599419, 599420, 599421, 599422, 599423, 599424, 599425,
20	599426, 599433, 599434, 599435, 599436, 599437, 599438, 599439, 599440, 599441, 599442, 599443, 599444, 599445, 599446, 599447, 599448, 599450, 599454, 599455, 599456, 599467, 599468, 599469, 599471, 599472, 599473, 599474, 599475, 599476, 599477, 599478, 599479, 599480, 599481, 599482, 599483, 599484, 599485, 599486, 599487, 599488, 599489, 599490, 599491, 599492, 599493, 599494, 599495, 599496, 599497, 599498, 599499, 599500, 599501,
25	599502, 599503, 599504, 599505, 599506, 599507, 599508, 599509, 599512, 599515, 599518, 599531, 599541, 599541, 599546, 599547, 599548, 599549, 599550, 599552, 599553, 599554, 599555, 599557, 599558, 599561, 599562, 599563, 599564, 599565, 599566, 599567, 599568, 599569, 599570, 599577, 599578, 599579, 599580, 599581, 599581, 599582, 599584, 599585, 599586, 599587, 599588, 599589, 599590, 599591, 599592, 599593, 599594, 599595, 601321,
30	601322, 601323, 601325, 601327, 601328, 601329, 601330, 601332, 601333, 601334, 601335, 601336, 601337, 601338, 601339, 601341, 601342, 601343, 601344, 601345, 601346, 601347, 601348, 601349, 601362, 601367, 601368, 601369, 601371, 601372, 601373, 601374, 601375, 601377, 601378, 601380, 601381, 601382, 601383, 601384, 601385, 601386, 601387 та 601388.
35	У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 50 % інгібування мРНК CFB, SEQ ID NO: 12, 30, 33, 36, 37, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 198, 203, 206, 208, 219, 228, 237, 238, 239, 317, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 434, 435,
40	436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 468, 472, 473, 475, 478, 479, 488, 492, 494, 495, 498, 499, 500, 502, 503, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 517, 518, 522, 523, 524, 525, 529, 530, 531, 534, 535, 537, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 563, 564, 565, 569, 570, 572, 573, 577, 588, 589, 590, 591, 592, 594, 595, 596, 597,
45	598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 623, 640, 641, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 700, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733,
50	734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 758, 759, 760, 761, 762, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 813, 833, 834, 841, 846, 849, 850, 867 та 873.
55	У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 60 % інгібування мРНК CFB, ISIS NO: 516350, 532614, 532635, 532686, 532687, 532688, 532689, 532770, 532800, 532809, 532810, 532811, 532917, 532952, 588512, 588513, 588514, 588515, 588516, 588517, 588518, 588519, 588522, 588523, 588524, 588525, 588527, 588528, 588529, 588530, 588531, 588532, 588533, 588534, 588535, 588536, 588537, 588538, 588539, 588540, 588541, 588542,
60	588543, 588544, 588545, 588546, 588547, 588548, 588549, 588550, 588551, 588552, 588553,

5	588554, 588555, 588556, 588557, 588558, 588559, 588560, 588561, 588562, 588563, 588564,
	588565, 588566, 588567, 588568, 588569, 588570, 588571, 588572, 588573, 588574, 588575,
	588576, 588577, 588636, 588638, 588640, 588664, 588676, 588696, 588698, 588807, 588808,
	588814, 588815, 588819, 588820, 588840, 588842, 588846, 588847, 588848, 588849, 588850,
	588851, 588852, 588853, 588854, 588855, 588856, 588857, 588858, 588859, 588860, 588861,
	588862, 588863, 588864, 588866, 588867, 588868, 588870, 588871, 588872, 588873, 588874,
	588875, 588876, 588877, 588878, 588879, 588880, 588881, 588882, 588883, 588884, 598999,
	599000, 599001, 599002, 599003, 599004, 599005, 599006, 599007, 599008, 599009, 599010,
10	599011, 599012, 599013, 599014, 599015, 599019, 599024, 599025, 599026, 599027, 599028,
	599029, 599030, 599031, 599032, 599033, 599034, 599035, 599064, 599065, 599071, 599072,
	599077, 599078, 599079, 599080, 599083, 599084, 599085, 599086, 599087, 599088, 599089,
	599090, 599091, 599092, 599093, 599094, 599095, 599096, 599097, 599125, 599126, 599127,
15	599133, 599134, 599135, 599136, 599138, 599139, 599140, 599141, 599142, 599148, 599149,
	599150, 599151, 599152, 599154, 599155, 599156, 599157, 599158, 599159, 599178, 599179,
	599180, 599181, 599187, 599188, 599190, 599192, 599193, 599194, 599195, 599196, 599197,
	599198, 599199, 599200, 599201, 599202, 599203, 599204, 599205, 599206, 599207, 599208,
	599209, 599210, 599211, 599212, 599213, 599214, 599215, 599216, 599217, 599218, 599219,
	599220, 599221, 599222, 599223, 599224, 599225, 599226, 599227, 599228, 599229, 599230,
	599231, 599232, 599233, 599234, 599235, 599236, 599247, 599255, 599256, 599257, 599263,
	599264, 599265, 599266, 599270, 599271, 599272, 599273, 599274, 599275, 599276, 599277,
20	599278, 599279, 599280, 599306, 599307, 599308, 599311, 599312, 599313, 599314, 599315,
	599316, 599317, 599318, 599319, 599320, 599321, 599322, 599323, 599324, 599325, 599327,
	599328, 599329, 599330, 599349, 599353, 599355, 599356, 599357, 599358, 599359, 599360,
	599361, 599362, 599363, 599364, 599369, 599371, 599372, 599373, 599376, 599378, 599379,
	599382, 599384, 599386, 599387, 599388, 599389, 599390, 599391, 599392, 599393, 599394,
	599395, 599396, 599397, 599398, 599399, 599400, 599401, 599402, 599403, 599404, 599405,
	599406, 599407, 599408, 599409, 599410, 599412, 599413, 599414, 599415, 599416, 599417,
	599418, 599419, 599420, 599421, 599422, 599423, 599424, 599425, 599433, 599434, 599435,
30	599436, 599437, 599438, 599439, 599440, 599441, 599442, 599443, 599444, 599445, 599446,
	599447, 599448, 599456, 599467, 599468, 599471, 599472, 599473, 599474, 599475, 599476,
	599477, 599478, 599479, 599480, 599481, 599482, 599483, 599484, 599485, 599486, 599487,
	599488, 599489, 599490, 599491, 599492, 599493, 599494, 599495, 599496, 599497, 599498,
	599499, 599500, 599501, 599502, 599503, 599504, 599505, 599506, 599507, 599508, 599512,
	599531, 599547, 599548, 599549, 599552, 599553, 599554, 599555, 599557, 599558, 599562,
	599563, 599564, 599565, 599566, 599567, 599568, 599569, 599570, 599577, 599578, 599579,
	599580, 599581, 599582, 599584, 599585, 599586, 599587, 599588, 599589, 599590, 599591,
35	599592, 599593, 599594, 599595, 601323, 601327, 601329, 601332, 601333, 601333, 601334,
	601335, 601336, 601338, 601339, 601341, 601342, 601343, 601344, 601345, 601346, 601347,
	601348, 601349, 601368, 601369, 601371, 601372, 601374, 601375, 601377, 601378, 601380,
	601381, 601382, 601383, 601384, 601385, 601386, 601387 ra 601388.
40	

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 60 % інгібування мРНК CFB, SEQ ID NO: 12, 33, 84, 85, 86, 87, 198, 228, 237, 238, 239, 317, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 472, 473, 513, 514, 515, 531, 537, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 564, 565, 569, 570, 577, 590, 592, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 700, 704, 706, 707, 708, 709, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 758, 759, 760, 761, 767, 768, 770, 772, 773, 774, 775, 775, 776, 776, 777, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 783, 784, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 813, 833, 834, 841, 846, 849 та 850.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 70 % інгібування мРНК CFB. ISIS NO: 516350, 532614, 532686, 532687, 532688, 532770, 532800, 532809, 532810.

532811, 532917, 532952, 588512, 588513, 588514, 588515, 588516, 588517, 588518, 588524,
 588529, 588530, 588531, 588532, 588533, 588534, 588535, 588536, 588537, 588538, 588539,
 588540, 588541, 588542, 588543, 588544, 588545, 588546, 588547, 588548, 588549, 588550,
 588551, 588552, 588553, 588554, 588555, 588556, 588557, 588558, 588559, 588560, 588561,
 5 588562, 588563, 588564, 588565, 588568, 588569, 588570, 588571, 588572, 588573, 588574,
 588575, 588577, 588636, 588638, 588640, 588696, 588698, 588807, 588814, 588815, 588819,
 588842, 588847, 588848, 588849, 588850, 588851, 588852, 588853, 588856, 588857, 588858,
 588859, 588860, 588861, 588862, 588863, 588866, 588867, 588870, 588871, 588872, 588873,
 588874, 588875, 588876, 588877, 588878, 588879, 588880, 588881, 588882, 588883, 588884,
 10 599000, 599001, 599003, 599004, 599005, 599008, 599009, 599010, 599011, 599014, 599015,
 599024, 599025, 599027, 599028, 599029, 599030, 599031, 599032, 599033, 599034, 599072,
 599077, 599080, 599085, 599086, 599087, 599088, 599089, 599090, 599091, 599093, 599094,
 599095, 599096, 599097, 599125, 599126, 599134, 599138, 599139, 599148, 599149, 599150,
 599151, 599152, 599154, 599155, 599156, 599157, 599158, 599187, 599188, 599193, 599195,
 15 599196, 599197, 599198, 599199, 599200, 599201, 599202, 599203, 599204, 599205, 599206,
 599207, 599208, 599210, 599211, 599212, 599213, 599214, 599215, 599216, 599217, 599218,
 599219, 599220, 599221, 599222, 599223, 599224, 599225, 599226, 599227, 599228, 599229,
 599230, 599231, 599232, 599233, 599234, 599235, 599236, 599266, 599272, 599272, 599273,
 599274, 599275, 599277, 599278, 599279, 599280, 599280, 599306, 599311, 599312, 599313,
 20 599314, 599315, 599316, 599317, 599318, 599319, 599320, 599321, 599322, 599323, 599325,
 599327, 599328, 599329, 599330, 599355, 599357, 599358, 599359, 599360, 599361, 599362,
 599363, 599364, 599369, 599371, 599372, 599373, 599378, 599379, 599382, 599384, 599386,
 599387, 599388, 599389, 599390, 599391, 599392, 599393, 599394, 599395, 599396, 599397,
 599398, 599399, 599400, 599401, 599402, 599403, 599404, 599405, 599406, 599407, 599408,
 25 599409, 599410, 599413, 599414, 599415, 599416, 599417, 599418, 599419, 599420, 599421,
 599422, 599423, 599424, 599433, 599434, 599435, 599436, 599437, 599438, 599439, 599440,
 599441, 599442, 599443, 599445, 599446, 599447, 599448, 599472, 599473, 599474, 599475,
 599476, 599477, 599478, 599479, 599480, 599481, 599482, 599483, 599484, 599485, 599486,
 599487, 599488, 599489, 599490, 599491, 599492, 599493, 599494, 599495, 599496, 599497,
 30 599498, 599499, 599500, 599501, 599502, 599503, 599504, 599505, 599506, 599507, 599508,
 599512, 599547, 599548, 599552, 599553, 599554, 599555, 599558, 599562, 599563, 599564,
 599566, 599567, 599568, 599569, 599570, 599577, 599578, 599579, 599580, 599581, 599582,
 599585, 599586, 599587, 599588, 599589, 599590, 599591, 599592, 599593, 599594, 599595,
 601332, 601335, 601341, 601343, 601344, 601345, 601346, 601347, 601348, 601349, 601371,
 35 601372, 601380, 601382, 601383, 601384, 601385, 601386 та 601387.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди
 спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 70 % інгібування
 мРНК CFB, SEQ ID NO: 12, 84, 85, 86, 198, 228, 237, 238, 239, 317, 395, 396, 397, 398, 399, 402,
 403, 404, 405, 407, 408, 410, 411, 412, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423,
 40 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442,
 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462,
 463, 464, 464, 465, 472, 473, 513, 514, 515, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 549, 550, 551, 552,
 553, 554, 555, 556, 557, 564, 565, 569, 592, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 606,
 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 653, 654,
 45 655, 656, 659, 660, 662, 663, 664, 665, 666, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 677,
 678, 679, 680, 682, 683, 684, 686, 687, 688, 689, 706, 708, 709, 711, 712, 713, 714, 715, 720, 721,
 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742,
 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 767, 768, 773, 775, 776, 777,
 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 793, 794, 795, 797,
 50 798, 799, 813, 833, 834, 841, 846, 849, 867 та 873.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди
 спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 80 % інгібування
 мРНК CFB, ISIS NO: 532686, 532809, 532810, 532811, 532917, 532952, 588512, 588517, 588518,
 588533, 588534, 588535, 588536, 588537, 588538, 588539, 588540, 588542, 588543, 588544,
 55 588545, 588546, 588547, 588548, 588549, 588550, 588551, 588552, 588553, 588554, 588555,
 588556, 588557, 588558, 588559, 588560, 588561, 588562, 588563, 588564, 588565, 588571,
 588638, 588640, 588696, 588698, 588807, 588814, 588849, 588850, 588851, 588853, 588857,
 588858, 588859, 588860, 588861, 588862, 588863, 588866, 588867, 588871, 588872, 588873,
 588874, 588875, 588876, 588877, 588878, 588879, 588880, 588881, 588882, 588883, 599001,
 60 599024, 599025, 599033, 599086, 599087, 599088, 599089, 599093, 599094, 599095, 599096,

599134, 599139, 599148, 599149, 599151, 599154, 599155, 599156, 599158, 599188, 599195, 599196, 599198, 599201, 599202, 599203, 599204, 599205, 599206, 599207, 599212, 599213, 599215, 599216, 599217, 599218, 599219, 599220, 599221, 599222, 599223, 599224, 599225, 599226, 599227, 599228, 599229, 599230, 599231, 599232, 599233, 599234, 599235, 599236, 599272, 599273, 599275, 599277, 599278, 599279, 599280, 599311, 599313, 599314, 599316, 599317, 599318, 599320, 599321, 599322, 599323, 599327, 599328, 599329, 599330, 599355, 599357, 599358, 599359, 599360, 599361, 599362, 599363, 599364, 599371, 599372, 599373, 599378, 599379, 599382, 599384, 599386, 599387, 599388, 599389, 599390, 599391, 599392, 599393, 599397, 599398, 599399, 599400, 599401, 599403, 599404, 599405, 599407, 599408, 599409, 599410, 599413, 599414, 599415, 599416, 599417, 599418, 599419, 599420, 599421, 599422, 599423, 599424, 599433, 599434, 599435, 599436, 599437, 599438, 599439, 599440, 599441, 599445, 599446, 599447, 599448, 599474, 599476, 599477, 599479, 599481, 599482, 599483, 599485, 599486, 599487, 599488, 599489, 599490, 599491, 599492, 599494, 599495, 599496, 599497, 599498, 599499, 599500, 599502, 599503, 599504, 599505, 599506, 599507, 599508, 599547, 599552, 599553, 599554, 599558, 599563, 599567, 599568, 599569, 599570, 599577, 599578, 599581, 599582, 599585, 599587, 599588, 599590, 599591, 599592, 599593, 599594, 601332, 601344, 601345, 601382, 601383 та 601385.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 80 % інгібування мРНК CFB, SEQ ID NO: 84, 237, 238, 239, 317, 395, 397, 411, 412, 413, 414, 415, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 425, 426, 427, 429, 430, 431, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 472, 473, 514, 515, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 564, 595, 599, 600, 601, 602, 603, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 646, 655, 660, 662, 663, 666, 669, 670, 671, 672, 673, 675, 676, 677, 678, 679, 682, 684, 686, 687, 688, 689, 706, 708, 709, 711, 712, 713, 714, 715, 720, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 729, 730, 731, 732, 733, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 768, 775, 776, 778, 781, 782, 783, 784, 785, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 799, 813, 833, 834, 841, 849, 867 та 873.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 90 % інгібування мРНК CFB, ISIS NO: 532686, 532811, 532917, 588536, 588537, 588538, 588539, 588544, 588545, 588546, 588548, 588551, 588552, 588553, 588554, 588555, 588556, 588557, 588558, 588559, 588560, 588561, 588562, 588564, 588638, 588640, 588696, 588698, 588849, 588850, 588851, 588860, 588866, 588867, 588872, 588873, 588874, 588876, 588877, 588878, 588879, 588881, 588883, 599149, 599188, 599203, 599206, 599220, 599221, 599222, 599223, 599224, 599225, 599226, 599227, 599228, 599229, 599235, 599236, 599279, 599280, 599314, 599321, 599362, 599378, 599390, 599391, 599398, 599399, 599404, 599413, 599414, 599416, 599419, 599420, 599422, 599435, 599437, 599438, 599441, 599483, 599494, 599508, 599552, 599553, 599554, 599568, 599570, 599577, 599581, 599591, 599592 та 599593.

У деяких варіантах реалізації наступні антисмислові сполуки або олігонуклеотиди спрямовані на область нуклеїнової кислоти CFB і викликають щонайменше 90 % інгібування мРНК CFB, SEQ ID NO: 84, 238, 239, 317, 412, 413, 420, 421, 426, 434, 436, 437, 438, 439, 440, 442, 443, 444, 445, 446, 448, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 464, 465, 472, 473, 514, 515, 542, 543, 544, 545, 546, 551, 553, 555, 556, 599, 600, 601, 602, 610, 616, 617, 618, 662, 666, 670, 676, 677, 678, 688, 689, 713, 723, 729, 730, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 755, 756, 768, 783, 793, 833 та 867.

У деяких варіантах реалізації сполука може містити або складатися з будь-якого олігонуклеотиду, спрямованого на CFB, описаний у цьому документі, та групи кон'югату.

У деяких варіантах реалізації сполука містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, комплементарних у діапазоні нуклеотидів 2193-2212, 2195-2210, 2457-2476, 2571-2590, 2584-2603, 2588-2607, 2592-2611, 2594-2613, 2597-2616, 2600-2619 або 2596-2611 SEQ ID NO: 1.

У деяких варіантах реалізації сполука містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ, яка містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598.

У деяких варіантах реалізації сполука містить модифікований олігонуклеотид і групу кон'югату, де модифікований олігонуклеотид має послідовність азотистих основ, що складається з будь-якої з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598.

У деяких варіантах реалізації будь-яка з попередніх сполук або олігонуклеотидів може містити щонайменше один модифікований міжнуклеозидний зв'язок, щонайменше один модифікований цукор і/або щонайменше одну модифіковану азотисту основу.

У деяких аспектах будь-яка з попередніх сполук або олігонуклеотидів може містити щонайменше один модифікований цукор. У деяких аспектах щонайменше один модифікований цукор містить 2'-О-метоксіетильну групу. У деяких аспектах щонайменше один модифікований цукор являє собою біциклічний цукор, такий як група 4'-CH(CH₃)-O-2', група 4'-CH₂-O-2' або група 4'-(CH₂)₂-O-2'.

У деяких аспектах модифікований олігонуклеотид містить щонайменше одну модифікований міжнуклеозидний зв'язок, такий як тіофосфатний міжнуклеозидний зв'язок.

У деяких варіантах реалізації модифікований олігонуклеотид містить щонайменше 1, 2, 3, 4, 5, 6 або 7 фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків.

У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок модифікованого олігонуклеотиду обран з фосфодіестерного міжнуклеозидного зв'язку та тіофосфатного міжнуклеозидного зв'язку.

У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок модифікованого олігонуклеотиду являє собою тіофосфатний зв'язок.

У деяких варіантах реалізації будь-які попередні сполуки або олігонуклеотиди містять щонайменше одну модифіковану азотисту основу, таку як 5-метилцитозин.

У деяких варіантах реалізації сполука містить групу кон'югату та модифікований олігонуклеотид, що містить:

сегмент геп, який складається зі зв'язаних дезоксинуклеозидів;

сегмент 5'-крила, який складається зі зв'язаних нуклеозидів; та

сегмент 3'-крила, який складається зі зв'язаних нуклеозидів;

причому сегмент геп розташований між сегментом 5'-крила і сегментом 3'-крила і, при цьому кожен нуклеозид кожного сегмента крила містить модифікований цукор. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містить послідовність, зазначену в SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 або 598.

У деяких варіантах реалізації модифікований олігонуклеотид має послідовність азотистих основ, яка містить або складається з послідовності, зазначеній у SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453 або 455, причому модифікований олігонуклеотид містить:

сегмент геп, який складається з десяти зв'язаних дезоксинуклеозидів;

сегмент 5'-крила, який складається з п'яти зв'язаних нуклеозидів; та

сегмент 3'-крила, який складається з п'яти зв'язаних нуклеозидів;

де кожен сегмент геп розташований між сегментом 5'-крила і сегментом 3'-крила, причому кожен нуклеозид кожного сегмента крила містить 2'-О-метоксіетильний цукор; де кожен міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфатний зв'язок, і де кожен цитозин являє собою 5-метилцитозин.

У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з одноланцюгового модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 20 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ, яка складається з послідовності, зазначеної в SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453 або 455, причому олігонуклеотид містить:

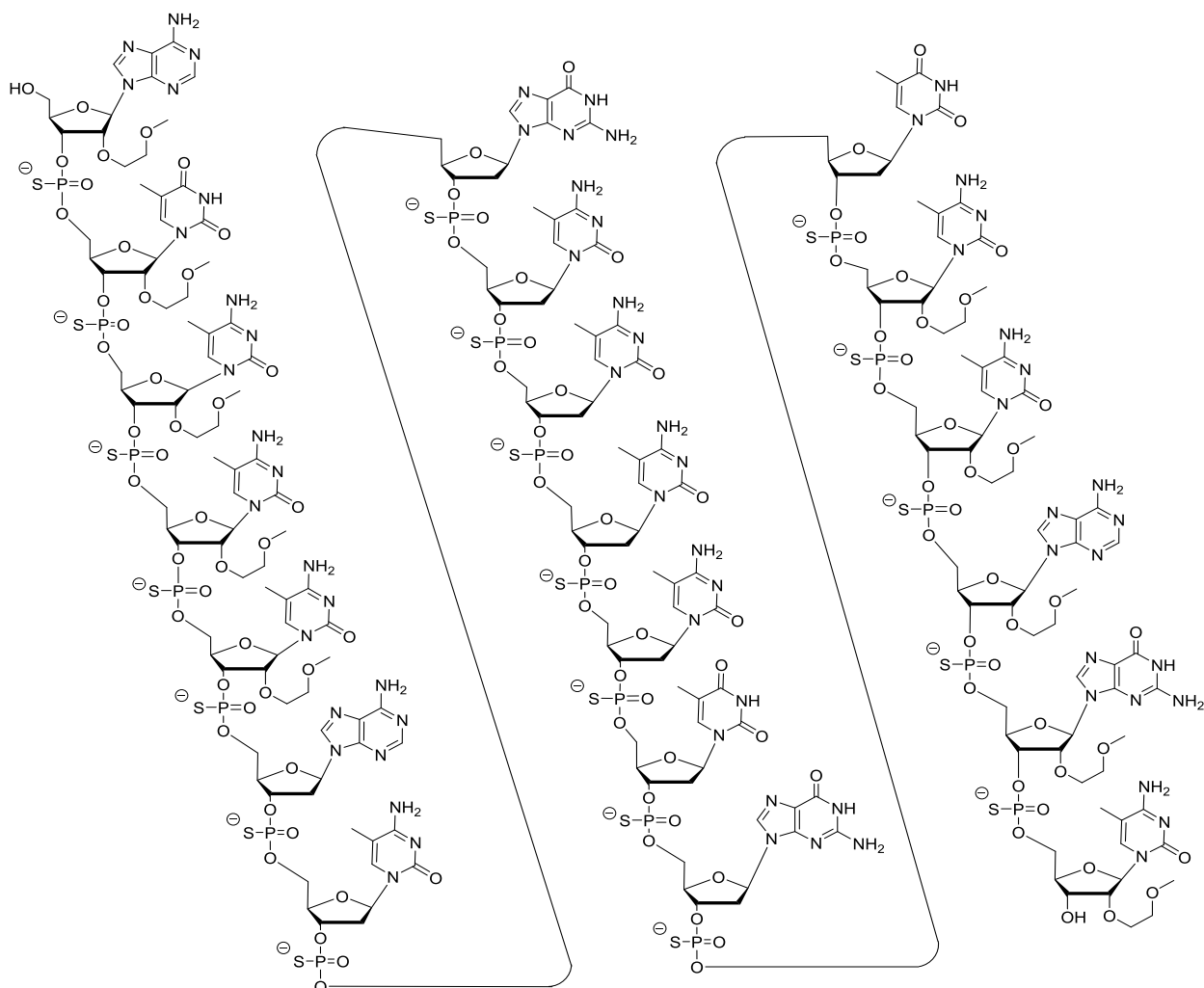
сегмент геп, який складається з десяти зв'язаних дезоксинуклеозидів;

сегмент 5'-крила, який складається з п'яти зв'язаних нуклеозидів; та

сегмент 3'-крила, який складається з п'яти зв'язаних нуклеозидів;

де сегмент геп розташований між сегментом 5'-крила і сегментом 3'-крила, причому кожен нуклеозид кожного сегмента крила містить 2'-О-метоксіетильний цукор; при цьому кожен міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфатний зв'язок, і де кожен цитозин являє собою 5-метилцитозин.

У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з ISIS 588540 і групи кон'югату. У деяких варіантах реалізації ISIS 588540 має наступну хімічну структуру:



У деяких варіантах реалізації модифікований олігонуклеотид має послідовність азотистих основ, що містить або складається з послідовності, зазначеної в SEQ ID NO: 549, де модифікований олігонуклеотид містить

сегмент геп, який складається з десяти зв'язаних дезоксинуклеозидів;
сегмент 5'-крила, який складається з трьох зв'язаних нуклеозидів; та
сегмент 3'-крила, який складається з трьох зв'язаних нуклеозидів;

де сегмент геп розташований між сегментом 5'-крила і сегментом 3'-крила; причому кожен нуклеозид кожного сегмента крила містить cEt цукор; при цьому кожен міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфатний зв'язок; і де кожен цитозин являє собою 5-метилцитозин.

У деяких аспектах модифікований олігонуклеотид має послідовність азотистих основ, що містить або складається з послідовності, зазначеної в SEQ ID NO: 598, де модифікований олігонуклеотид містить

сегмент геп, який складається з десяти зв'язаних дезоксинуклеозидів;
сегмент 5'-крила, який складається з трьох зв'язаних нуклеозидів; та
сегмент 3'-крила, який складається з трьох зв'язаних нуклеозидів;

де сегмент геп розташований між сегментом 5'-крила і сегментом 3'-крила; де сегмент 5'-крила містить 2'-О-метоксіетильний цукор, 2'-О-метоксіетильний цукор і cEt цукор у напрямку від 5' до 3'; де сегмент 3'-крила містить cEt цукор, cEt цукор і 2'-О-метоксіетильний цукор у напрямку від 5' до 3'; де кожний міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфатний зв'язок; і де кожен цитозин являє собою 5-метилцитозин.

У деяких попередніх варіантах реалізації сполука або олігонуклеотид може бути щонайменше на 85 %, щонайменше на 90 %, щонайменше на 95 %, щонайменше на 98 %, щонайменше на 99 % або на 100 % комплементарним нуклеїновій кислоти, яка кодує CFB.

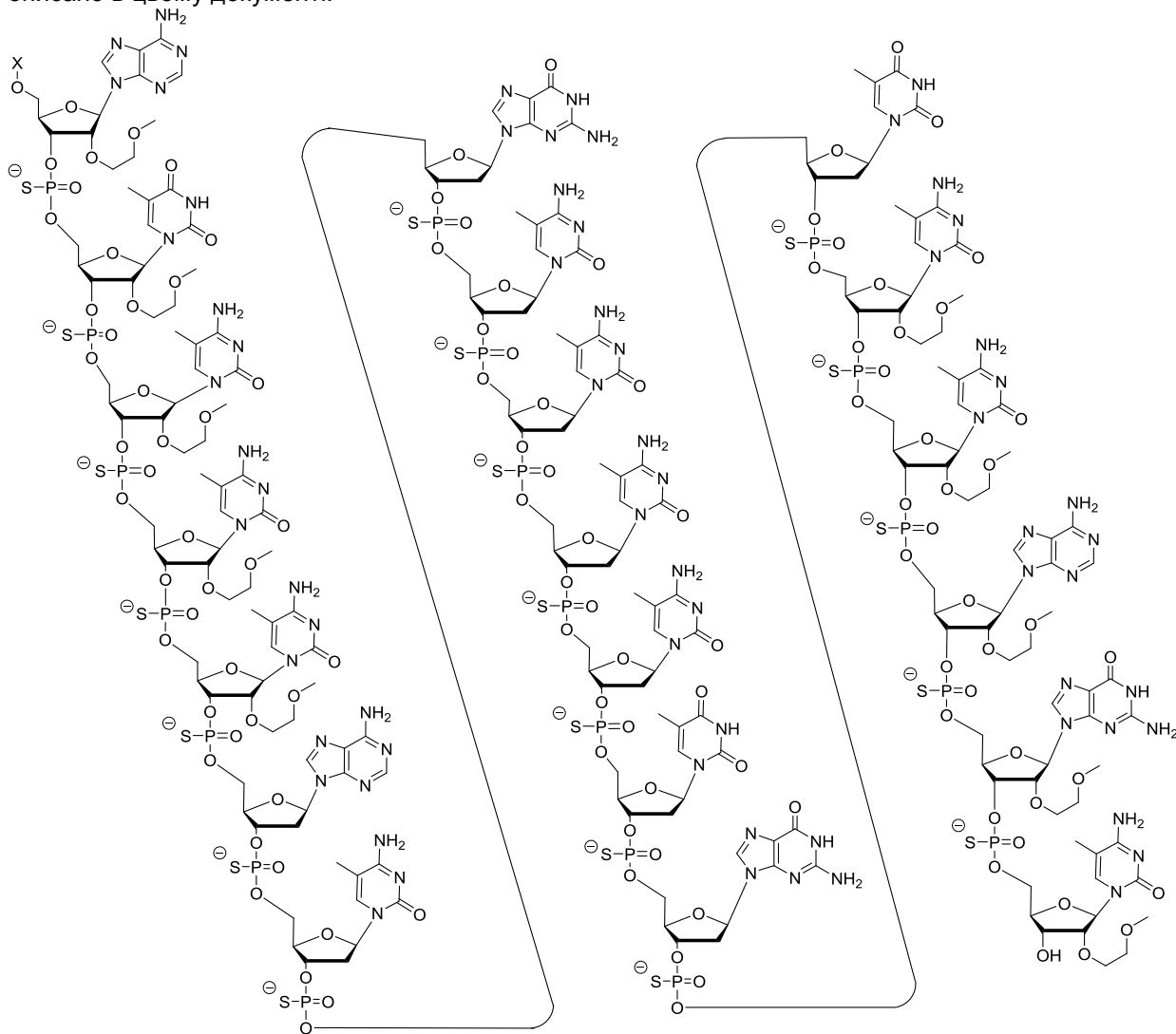
У будь-яких попередніх варіантах реалізації сполука або олігонуклеотид може бути одноланцюговим.

У деяких варіантах реалізації група кон'югату зв'язана з модифікований олігонуклеотидом на

5'-кінці модифікованого олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації група кон'югату зв'язана з модифікованим олігонуклеотидом на 3'-кінці модифікованого олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації група кон'югату містить щонайменше один N- ацетилгалактозамін (GalNAc) щонайменше два N- ацетилгалактозаміну (GalNAc) або щонайменше три N- ацетилгалактозаміну (GalNAc).

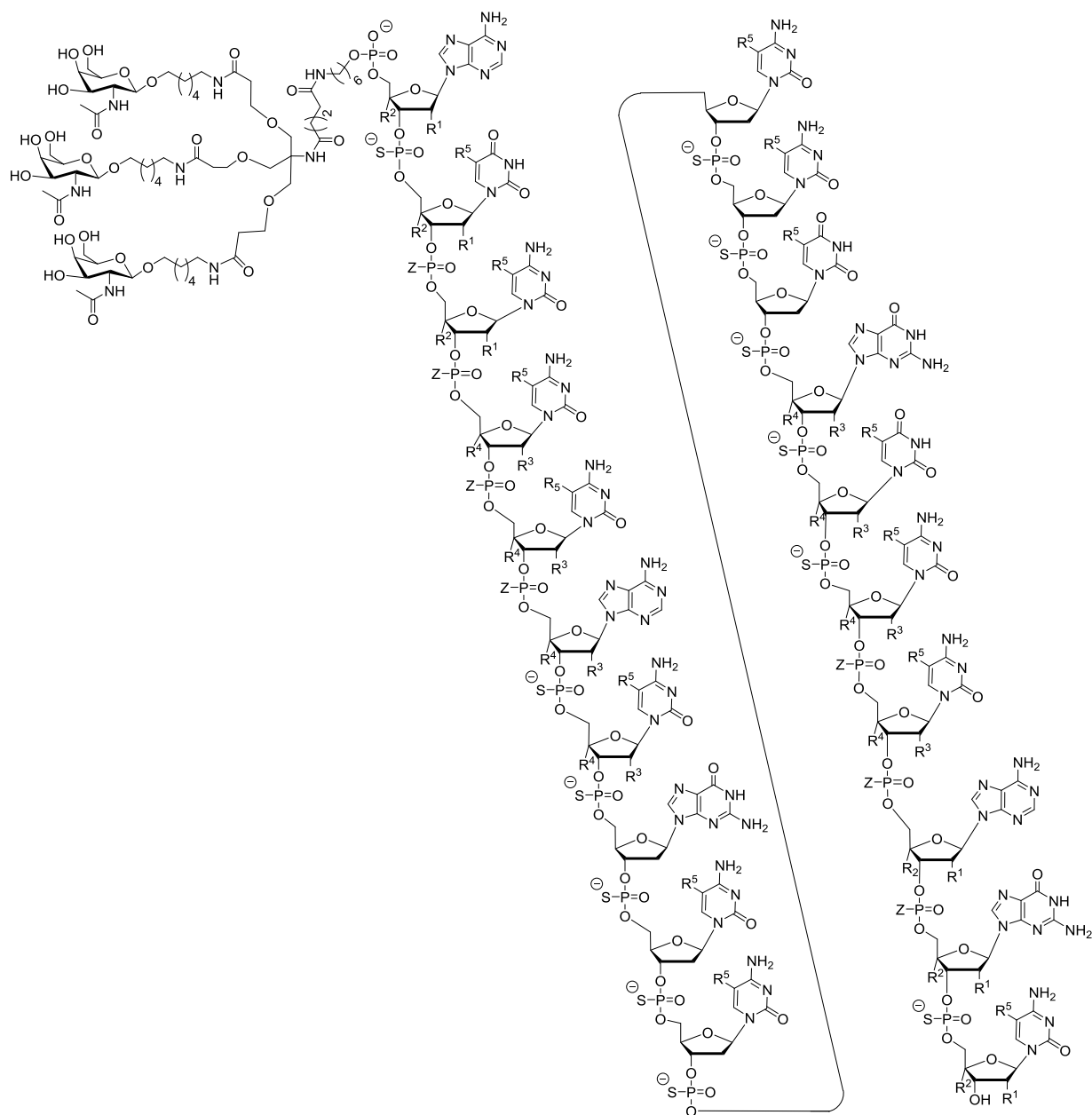
5

У деяких варіантах реалізації сполука, яка має наступну хімічну структуру, містить або складається з ISIS 588540 з 5'-X, де X являє собою групу кон'югату, що містить GalNAc, як описано в цьому документі:



10

У деяких варіантах реалізації сполука містить або складається з SEQ ID NO: 440, 5'-GalNAc і хімічних модифікацій, як показано наступною хімічною структурою:



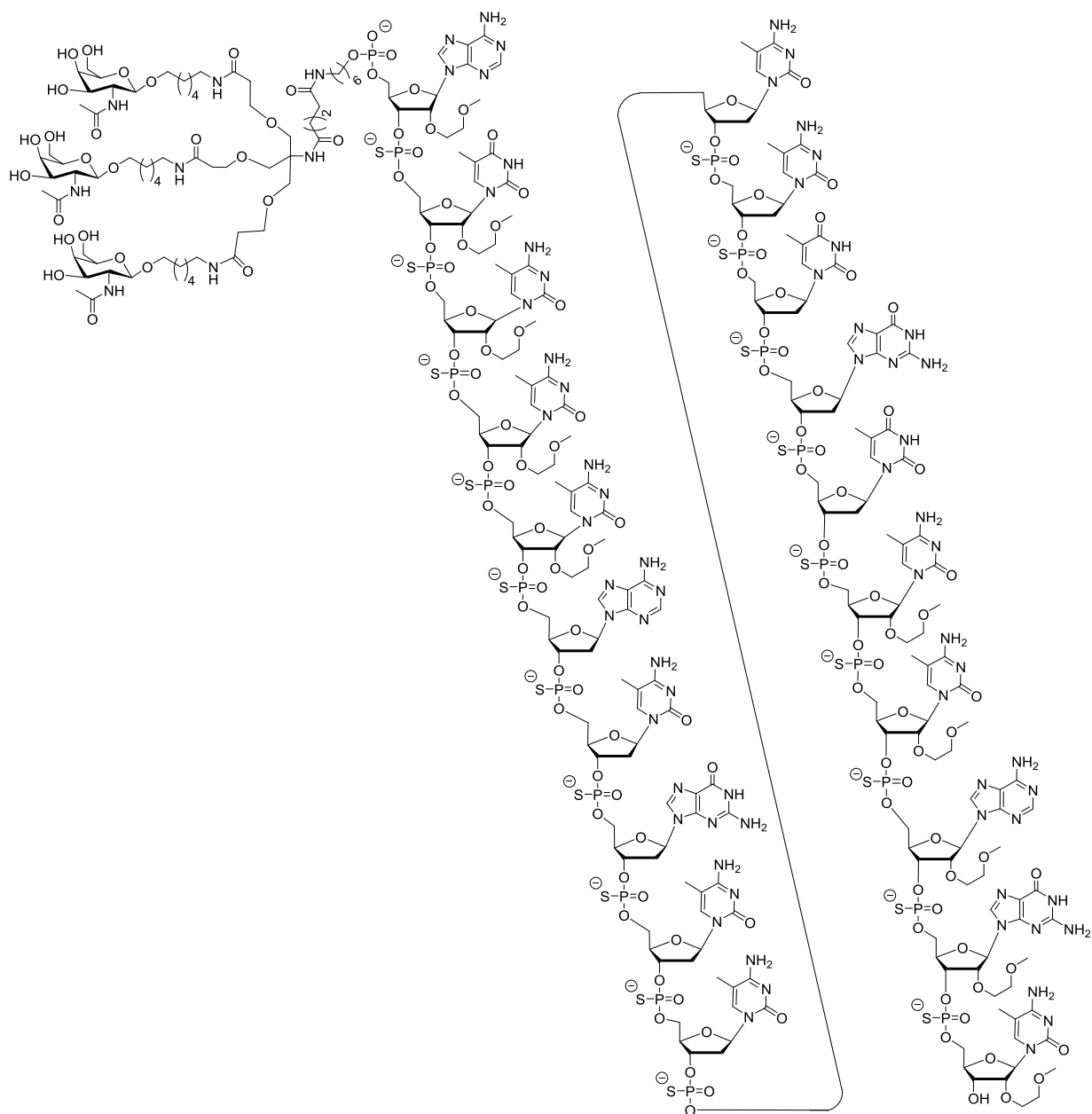
де будь-який R^1 являє собою $OCH_2CH_2OCH_3$ (MOE), і R^2 являє собою H; R^1 R^2 разом утворюють місток, де R^1 являє собою $-O$, R^2 являє собою $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$ або $-CH_2CH_2-$, і R^1 R^2 безпосередньо зв'язані так, що отриманий місток обирають з: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$ і $-O-CH_2CH_2-$;

І для кожної пари R^3 R^4 в одному кільці, незалежно для кожного кільця: кожен R^3 обраний з H і $-OCH_2CH_2OCH_3$ R^4 являє собою H; або R^3 R^4 разом утворюють місток, де R^3 являє собою $-O$, R^4 являє собою $-CH_2-$, $-CH(CH_3)-$ або $-CH_2CH_2-$ і R^3 R^4 безпосередньо з'єднані так, що отриманий місток обирають з: $-O-CH_2-$, $-O-CH(CH_3)-$ та $-O-CH_2CH_2-$;

І R^5 обраний з H і $-CH_3$;

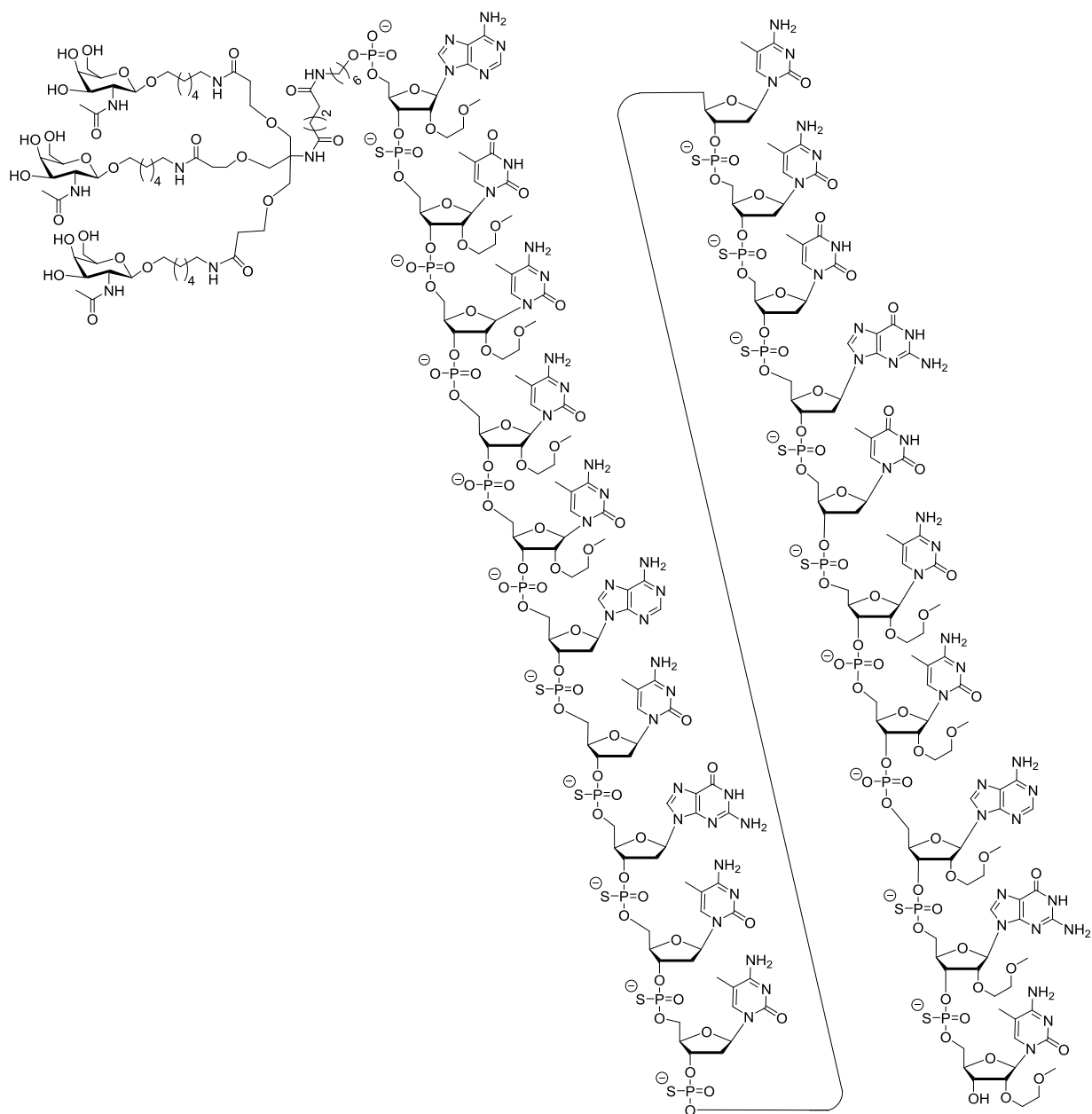
І Z обраний з S^-O^- .

У деяких варіантах реалізації сполука містить ISIS 696844. У деяких варіантах реалізації сполука складається з ISIS 696844. У деяких варіантах реалізації ISIS 696844 має наступну хімічну структуру:



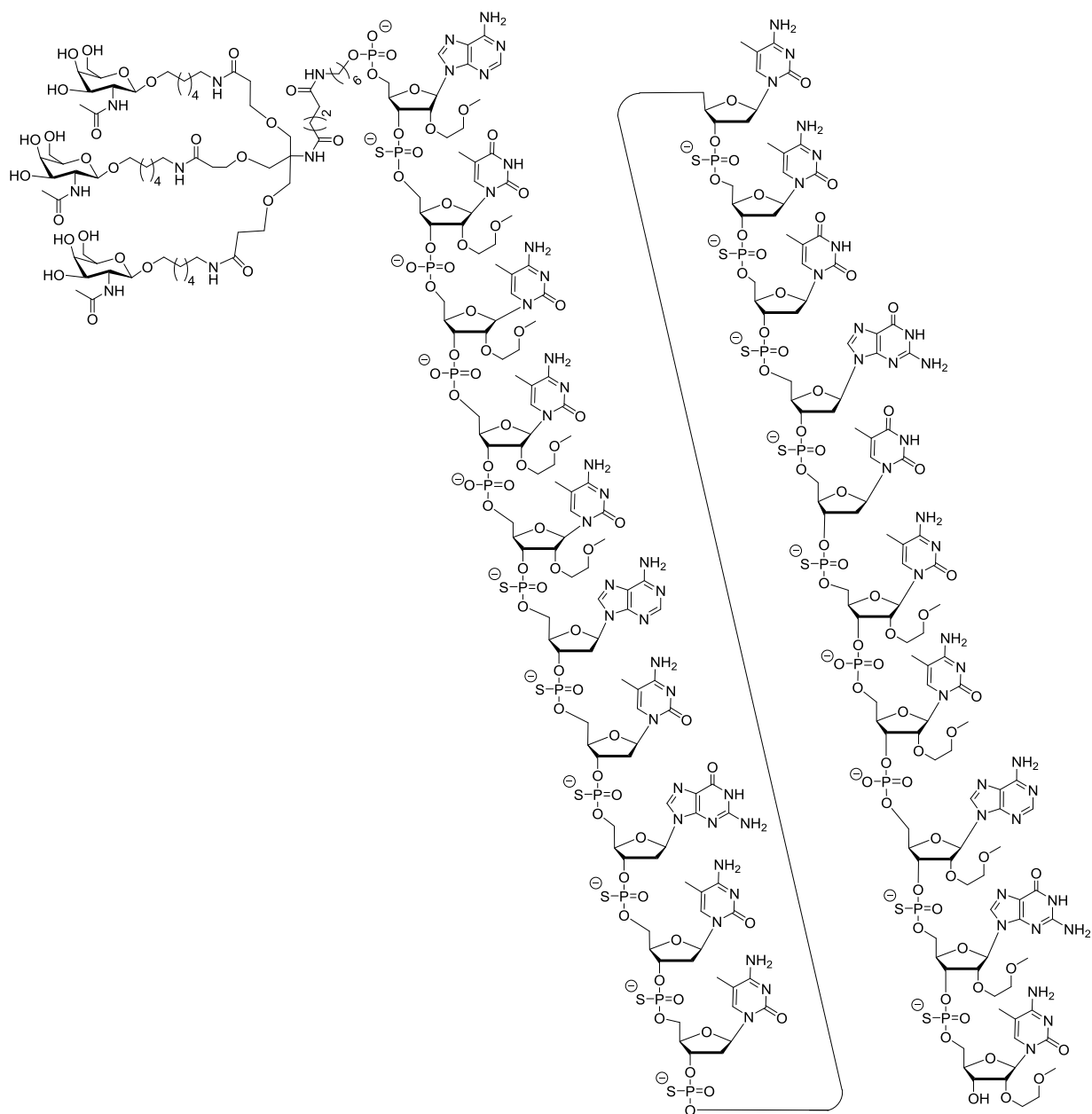
У деяких варіантах реалізації сполука містить ISIS 696845. У деяких варіантах реалізації сполука складається з ISIS 696845. У деяких варіантах реалізації ISIS 696845 має наступну хімічну структуру:

5



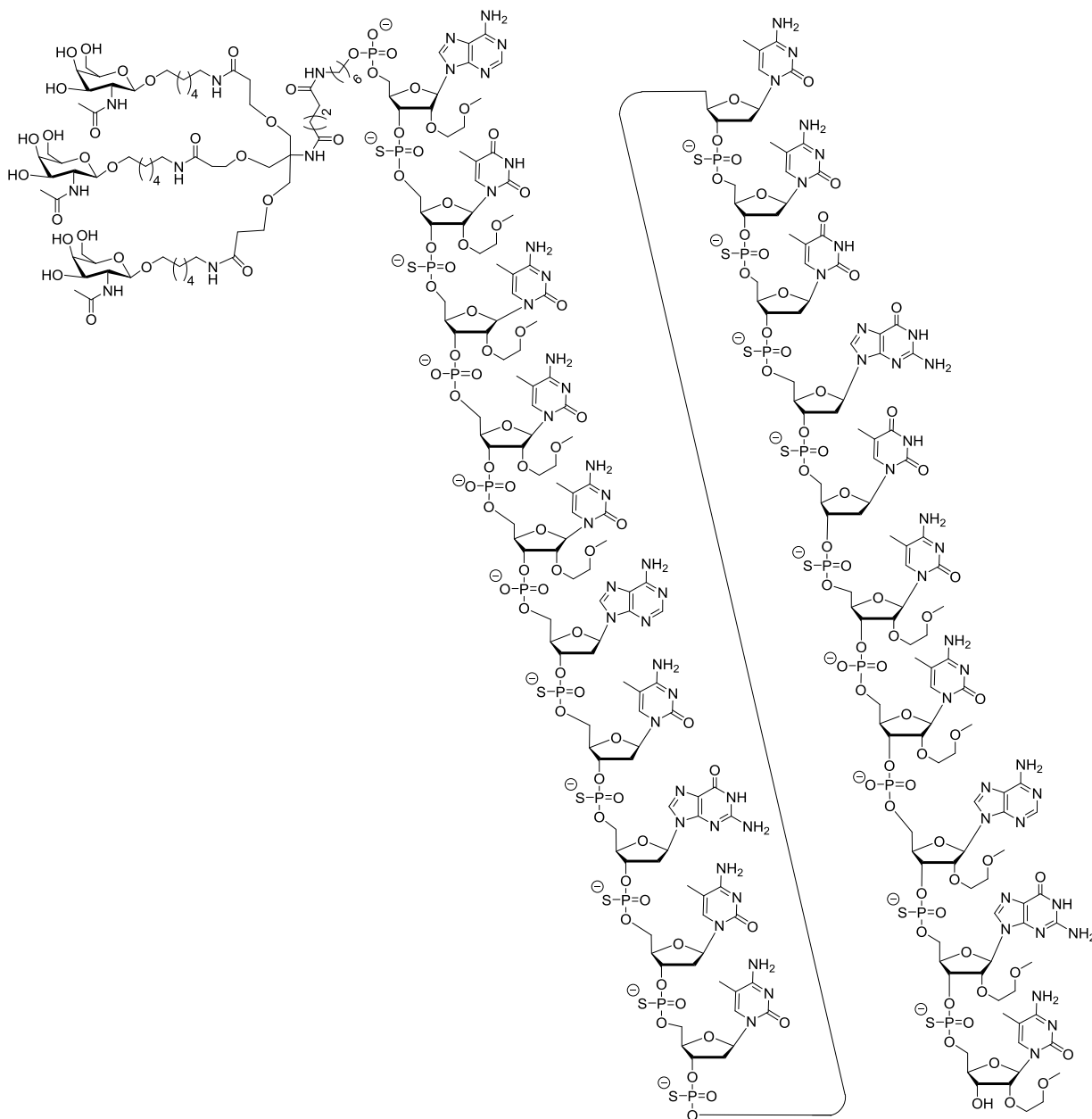
У деяких варіантах реалізації сполука містить ISIS 698969. У деяких варіантах реалізації сполука складається з ISIS 698969. У деяких варіантах реалізації ISIS 698969 має наступну хімічну структуру:

5



У деяких варіантах реалізації сполука містить ISIS 698970. У деяких варіантах реалізації сполука складається з ISIS 698970. У деяких варіантах реалізації ISIS 698970 має наступну хімічну структуру:

5



У деяких варіантах реалізації винаходу запропоновані композиції, які містять будь-яку сполуку, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду, спрямованого на CFB, або його сіль, і групу кон'югату, і щонайменше один фармацевтично прийнятний носій або розріджувач.

У деяких варіантах реалізації сполуки або композиції, описані в цьому документі, ефективні в тому відношенні, що вони мають щонайменше одну *in vitro* IC₅₀ менше 250 нМ, менше 200 нМ, менше 150 нМ, менше 100 нМ, менше 90 нМ, менше 80 нМ, менше 70 нМ, менше 65 нМ, менше 60 нМ, менше 55 нМ, менше 50 нМ, менше 45 нМ, менше 40 нМ, менше 35 нМ, менше 30 нМ, менше 25 нМ або менше 20 нМ.

У деяких варіантах реалізації сполуки або композиції, описані в цьому документі, добре переносяться, що демонструється наявністю щонайменше одного з показників: підвищення значення ALT або AST не більш ніж у 4 рази, 3 рази або 2 рази порівняно з тваринами, обробленими сольовим розчином, або збільшення маси печінки, селезінки або нирок не більше ніж на 30 %, 20 %, 15 %, 12 %, 10 %, 5 % або 2 %. У деяких варіантах реалізації сполуки або композиції, описані в цьому документі, добре переносяться, що демонструється відсутністю збільшення ALT або AST порівняно з тваринами, обробленими сольовим розчином. У деяких варіантах реалізації сполуки або композиції, описані в цьому документі, добре переносяться, що демонструється відсутністю збільшення маси печінки, селезінки або нирок порівняно з тваринами, обробленими сольовим розчином.

У деяких варіантах реалізації запропонована композиція, що містить сполуку по кожному з попередніх варіантів реалізації або його сіль і щонайменше один з фармацевтично прийняттого носія або розчинника. У деяких аспектах композиція має в'язкість менш ніж близько 40 сантипуаз (сП), менш ніж близько 30 сантипуаз (сП), менш ніж близько 20 сантипуаз (сП), менш ніж близько 15 сантипуаз (сП) або менш ніж близько 10 сантипуаз (сП). У деяких аспектах композиція, що має будь-яку вищевказану в'язкість, містить сполуку, запропоновану в цьому документі, у концентрації близько 100 мг/мл, близько 125 мг/мл, близько 150 мг/мл, близько 175 мг/мл, близько 200 мг/мл, близько 225 мг/мл, 250 мг/мл, близько 275 мг/мл або близько 300 мг/мл. У деяких аспектах композиція, що має будь-яку вищевказану в'язкість і/або концентрацію сполуки, має температуру що дорівнює кімнатній температурі або близько 20 °С, близько 21 °С, близько 22 °С, близько 23 °С, близько 24 °С, близько 25 °С, близько 26 °С, близько 27 °С, близько 28 °С, близько 29 °С або близько 30 °С.

У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або ослаблення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, тим самим забезпечуючи лікування, попередження та полегшення захворювання. У деяких аспектах альтернативний шлях комплементу активований вище нормального рівня. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970.

У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення дегенерації жовтої плями, такої як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), у суб'єкта включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, тим самим забезпечуючи лікування, попередження та полегшення ВДМ. У деяких аспектах альтернативний шлях комплементу активований вище нормального рівня. У деяких аспектах ВДМ являє собою вологу ВДМ. У деяких варіантах реалізації ВДМ являє собою суху ВДМ або географічну атрофію. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення дегенерації жовтої плями у суб'єкта, такої як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), волога ВДМ, суха ВДМ або географічна атрофія, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення дегенерації жовтої плями, такої як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), волога ВДМ, суха ВДМ або географічна атрофія у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення дегенерації жовтої плями, такої як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), волога ВДМ, суха ВДМ або географічна атрофія у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970. В деяких аспектах сполуку або композицію вводять суб'єкту парентерально.

У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання нирок, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, забезпечуючи тим самим лікування, попередження та полегшення захворювання нирок. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання нирок, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і

групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання нирок, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу у суб'єкта, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970. У деяких аспектах альтернативний шлях комплементу активований вище нормального рівня. У деяких аспектах захворювання нирок являє собою вовчаковий нефрит, системний червоний вовчак (SLE), хвороба щільного осаду (DDD), C3 гломерулонефрит (C3GN), CFHR5 нефропатію або атипичний гемолітико-уремічний синдром (aHUS), або будь-яку їх комбінацію. У деяких аспектах захворювання нирок пов'язано з відкладенням C3, наприклад, відкладенням C3 у гломерулі. У деяких аспектах захворювання нирок пов'язано з більш низькими, порівняно з нормальними, рівнями циркулюючого C3, наприклад, рівнями C3 у сироватці або плазмі. У деяких аспектах введення сполуки або композиції знижує або інгібує накопичення вмісту C3 в очах, наприклад, вмісту білка C3. У деяких аспектах введення сполуки або композиції знижує рівень відкладень C3 в очах або інгібує накопичення вмісту C3 в очах. У деяких аспектах сполуку або композицію вводять суб'єкту парентерально. У деяких аспектах введення сполуки або композиції знижує або інгібує накопичення вмісту C3 в нирках, наприклад, вмісту білка C3. У деяких аспектах введення сполуки або композиції знижує рівні відкладень C3 в нирках або інгібує накопичення відкладень C3 в нирках, наприклад, рівнів C3 в гломерулі. У деяких аспектах суб'єкта ідентифікують як такого, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, наприклад, шляхом визначення рівнів комплементу або рівнів мембраноатакуючого комплексу у крові суб'єкта та/або шляхом генетичного тесту на генетичні мутації факторів комплементу, які пов'язані із захворюванням.

У деяких варіантах реалізації спосіб інгібування експресії фактора комплементу В (CFB) у суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, забезпечуючи тим самим інгібування експресії CFB у суб'єкта. У деяких варіантах реалізації спосіб інгібування експресії фактора комплементу В (CFB) у суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб інгібування експресії фактора комплементу В (CFB) у суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб інгібування експресії фактора комплементу В (CFB) у суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970. У деяких аспектах введення сполуки або композиції інгібує експресію CFB в очах. У деяких аспектах суб'єкт страждає від або має ризик виникнення вікової дегенерації жовтої плями (ВДМ), такий як волога ВДМ або суха ВДМ. У деяких аспектах суха ВДМ може являти собою географічну атрофію. Географічну атрофію вважають прогресуючою формою сухої ВДМ, що зачіпає дегенерацію сітківки. У деяких аспектах введення сполуки або композиції інгібує експресію CFB у нирках, наприклад, у гломерулі. У деяких аспектах суб'єкт страждає від або має ризик виникнення вовчакового нефриту, системного червоної вовчака (СЧВ), хвороби щільного осаду (DDD), C3 гломерулонефриту C3GN), CFHR5 нефропатії або атипичного гемолітико-уремічного синдрому (aHUS), або будь-якої їх комбінації.

У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібування накопичення відкладення C3

в оці суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, тим самим знижуючи або інгібуючи накопичення відкладень C3 в оці суб'єкта. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в оці суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в оці суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в оці суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970. У деяких аспектах суб'єкт страждає від від або має ризик виникнення вікової дегенерації жовтої плями (ВДМ), такий як волога ВДМ або суха ВДМ. У деяких аспектах суха ВДМ може являти собою географічну атрофію. У деяких аспектах сполуку або композицію вводять суб'єкту парентерально.

У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки або композиції, описаної в цьому документі, тим самим знижуючи або інгібуючи накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, причому модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, що мають послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598. У деяких варіантах реалізації спосіб зниження або інгібувannya накопичення відкладень C3 в нирках суб'єкта, який страждає від або має ризик виникнення захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу, включає введення суб'єкту сполуки, що містить або складається з ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970. У деяких аспектах суб'єкт страждає від або має ризик виникнення вовчакового нефриту, системного червоної вовчака (СЧВ), хвороби щільного осаду (DDD), C3 гломерулонефриту C3GN), CFHR5 нефропатії або атипічного гемолітико-уремічного синдрому (aHUS), або будь-якої їх комбінації. У деяких аспектах сполуку або композицію вводять суб'єкту парентерально.

Деякі варіанти реалізації винаходу відносяться до застосування сполуки або композиції, описаної в цьому документі, для лікування захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу. Деякі варіанти реалізації відносяться до застосування сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів і має послідовність азотистих основ, що містить послідовність азотистих основ будь-якої з SEQ ID NO: 6-808, для лікування захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу. Деякі варіанти реалізації винаходу відносяться до застосування сполуки, що містить або складається з модифікованого олігонуклеотиду і групи кон'югату, де модифікований олігонуклеотид складається з 10-30 зв'язаних нуклеозидів, які мають послідовність азотистих основ, що містить будь-яку з SEQ ID NO: 198, 228, 237, 440, 444, 448, 450, 453, 455, 549 і 598, для лікування захворювання, пов'язаного з дисрегуляцією альтернативного шляху комплементу. Деякі варіанти реалізації відносяться до застосування сполуки, що містить або складається з

ISIS 696844, ISIS 696845, ISIS 698969 або ISIS 698970, для лікування захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу. У деяких аспектах альтернативний шлях комплементу активований вище нормального рівня. У деяких аспектах захворювання являє собою дегенерацію жовтої плями, таку як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), яка може бути вологою ВДМ або сухою ВДМ. У деяких аспектах суха ВДМ може являти собою географічну атрофію. У деяких аспектах захворювання являє собою хворобу нирок, таку як вовчаковий нефрит, системний червоний вовчак (СЧВ), хвороба щільного осаду (DDD), С3 гломерулонефрит (С3GN), CFHR5 нефропатія або атипичний гемолітико-уремічний синдром (аHUS), або будь-яку їх комбінація. У деяких аспектах сполуку або композицію вводять суб'єкту парентерально.

У деяких варіантах реалізації сполуку або композицію, описану у цьому документі, вводять парентерально. Наприклад, у деяких варіантах реалізації сполука або композиція може бути введена шляхом ін'єкції або інфузії. Парентеральне введення включає підшкірне введення, внутрішньовенне введення, внутрішньом'язове введення, внутрішньоартеріальне введення, внутрішньоочеревинне введення або внутрішньочерепний введення, наприклад, интратекальное або интрацеребровентрикулярное введення.

Антисмислові сполуки

Олігомерні сполуки включають, але не обмежуються ними, олігонуклеотиди, олігонуклеозиди, аналоги олігонуклеотидів, міметики олігонуклеотидів, антисмислові сполуки, антисмислові олігонуклеотиди та міРНК. Олігомерна сполука може бути "антисмисловою" до нуклеїнової кислоти-мішені, що означає, що вона здатна зазнавати гібридизації з нуклеїновою кислотою-мішенню за допомогою водневого зв'язування.

У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука містить послідовність азотистих основ, яка при написанні у 5'-3' напрямку містить зворотний комплемент цільового сегмента нуклеїнової кислоти-мішені, до якої вона спрямована.

У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 10-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 12-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 12-22 субодиноці у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 14-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 14-20 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 15-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 15-20 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 16-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 16-20 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 17-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 17-20 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 18-30 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 18-21 субодиноці у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 18-20 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 20-30 субодиноць у довжину. Іншими словами, такі антисмислові сполуки мають від 12 до 30 зв'язаних субодиноць, від 14 до 30 зв'язаних субодиноць, від 14 до 20 субодиноць, від 15 до 30 субодиноць, від 15 до 20 субодиноць, від 16 до 30 субодиноць, від 16 до 20 зв'язаних субодиноць, від 17 до 30 субодиноць, від 17 до 20 субодиноць, від 18 до 30 субодиноць, від 18 до 20 субодиноць, від 18 до 21 субодиноці, від 20 до 30 субодиноць або від 12 до 22 зв'язаних субодиноць, відповідно. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 14 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 16 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 17 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 18 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 19 субодиноць у довжину. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука має 20 субодиноць у довжину. В інших варіантах реалізації антисмислова сполука має 8-80, 12-50, 13-30, 13-50, 14-30, 14-50, 15-30, 15-50, 16-30, 16-50, 17-30, 17-50, 18-22, 18-24, 18-30, 18-50, 19-22, 19-30, 19-50 або 20-30 зв'язаних субодиноць. У деяких таких варіантах реалізації антисмислові сполуки містять 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 або 80 зв'язаних субодиноць у довжину або діапазон, обумовлений будь-якими двома з вказаних вище значень. У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука являє собою антисмисловий олігонуклеотид, а зв'язані субодиноці являють собою нуклеотиди.

У деяких варіантах реалізації антисмислові олігонуклеотиди можуть бути короткими або

усіченими. Наприклад, одна субодиноця може бути видалена з 5' кінця (5' усічення), або ж зі 3' кінця (3' усічення). Вкорочена або обрізана антисмислова сполука, спрямована до нуклеїнової кислоти CFB, може мати дві субодиноці видалені з 5' кінця, або ж може мати дві субодиноці видалені з 3' кінця антисмислової сполуки. В альтернативному варіанті, видалені нуклеозиди

5 можуть бути розсіяні по всій антисмисловій сполуці, наприклад, в антисмисловій сполуці з одним нуклеозидом, вилученим з 5' кінця, і одним нуклеозидом, вилученим зі 3' кінця.

Якщо одна додаткова субодиноця присутня в подовженому антисмисловій сполуці, додаткова субодиноця може бути розташована на 5' або 3' кінці антисмислової сполуки. Якщо присутні дві або більше додаткових субодиноць, приєднані субодиноці можуть бути суміжними

10 одна з одною, наприклад, в антисмисловій сполуці, що має дві субодиноці приєднані до 5' кінця (5' приєднання), або ж до 3' кінця (3' приєднання) антисмислової сполуки. В альтернативному варіанті приєднані субодиноці можуть бути розсіяні по всій антисмисловій сполуці, наприклад, в антисмисловій сполуці, що має одну субодиноцю, приєднану до 5' кінця, і одну субодиноцю, приєднану до 3' кінця.

15 Можливо збільшення або зменшення довжини антисмислової сполуки, такої як антисмисловий олігонуклеотид, та/або введення некомплементарної азотистої основи без усунення активності. Наприклад, Woolf et al. (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:7305-7309, 1992), описують ряд антисмислових олігонуклеотидів довжиною 13-25 азотистих основ, які були випробувані на їх здатність індукувати розщеплення РНК-мішені в моделі ін'єкції в ооцит.

20 Антисмислові олігонуклеотиди довжиною 25 азотистих основ з 8 або 11 некомплементарними основами поблизу кінців антисмислових олігонуклеотидів були в змозі управляти прямим специфічним розщепленням мРНК-мішені, хоча і в меншій мірі, ніж антисмислові олігонуклеотиди, які не містили жодних невідповідностей. Аналогічним чином, цільове специфічне розщеплення було отримано із застосуванням антисмислових олігонуклеотидів з 13

25 азотистих основ, включаючи такі, що мали 1 або 3 невідповідності.

Gautschi et al. (J. Natl. Cancer Inst. 93:463-471, March, 2001) продемонстрували здатність олігонуклеотиду, який має 100 % комплементарності до мРНК bcl-2 і містить 3 неузгоджених основи по відношенню до мРНК bcl-xL, зменшувати експресію як bcl-2 так і bcl-xL *in vitro* та *in vivo*. Крім того, цей олігонуклеотид продемонстрував високу протипухлинну активність *in vivo*.

30 Maher and Dolnick (Nuc. Acid. Res. 16:3341-3358, 1988) випробування серії тандемів антисмислових олігонуклеотидів з 14 азотистих основ і антисмислових олігонуклеотидів з 28 і 42 азотистих основ, що складається з послідовності двох або трьох тандемів антисмислових олігонуклеотидів, відповідно, на їх здатність до блокування трансляції ДГФР людини в аналізі на ретикулоцитах кролика. Кожен з трьох антисмислових олігонуклеотидів з 14 азотистих основ

35 поодиноці був здатний інгібувати трансляцію, хоча і на більш низькому рівні, ніж антисмислові олігонуклеотиди з 28 або 42 азотистих основ.

Деякі мотиви і механізми антисмислових сполук

У деяких варіантах реалізації винаходу антисмислові сполуки містять хімічно модифіковані субодиноці, організовані в патерни або мотиви, для додання антисмисловим сполукам таких

40 властивостей, як посиленна інгібуюча активність, підвищена афінність зв'язування з нуклеїновою кислотою-мішенню або опір до розкладання нуклеазами *in vivo*

Химерні антисмислові сполуки зазвичай містять щонайменше одну ділянку, змінену таким чином, щоб надати підвищену стійкість до деградації під дією нуклеаз, посилення клітинного поглинання, підвищену афінність зв'язування з нуклеїновою кислотою-мішенню і/або підвищену

45 інгібуючу активність. Друга ділянка химерної антисмислової сполуки може забезпечувати іншу необхідну властивість, наприклад, служити в якості субстрату для клітинної ендонуклеази РНКазі Н, яка розщеплює спіраль РНК у дуплексі РНК:ДНК.

Антисмислова активність може бути результатом будь-якого механізму, який зачіпає гібридизацію антисмислової сполуки (наприклад, олігонуклеотиду) з нуклеїновою кислотою-мішенню, при цьому гібридизація в кінцевому підсумку призводить до біологічного ефекту. У деяких варіантах реалізації модулюють кількість і/або активність нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації знижується кількість і/або активність нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації гібридизація антисмислової сполуки з нуклеїновою кислотою-мішенню в кінцевому підсумку призводить до руйнування нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких

50 варіантах реалізації гібридизація антисмислової сполуки з нуклеїновою кислотою-мішенню не призводить до руйнування нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації наявність антисмислової сполуки, гібридизованого з нуклеїновою кислотою-мішенню (зайнятість), призводить до модулювання антисмислової активності. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, які мають певний хімічний мотив або патерн хімічних модифікацій,

60 особливо підходять для функціонування одного або більше механізмів. У деяких варіантах

реалізації антисмислові сполуки функціонують більше ніж по одному механізму і/або механізмам, які не були з'ясовані. Відповідно, антисмислові сполуки, описані в цьому документі, не обмежені конкретним механізмом.

Антисмислові механізми включають, без обмежень, антисенс, опосередкований РНКазой Н; РНКі-механізми, в яких використовується шлях RISC і які включають, без обмеження, механізми міРНК, олРНК та мікроРНК; і механізми на основі зайнятості. Деякі антисмислові сполуки можуть діяти більше ніж за одним таким механізмом та/або за додатковими механізмами.

Антисенс, опосередкований РНКазой Н

У деяких варіантах реалізації антисмислова активність щонайменше частково обумовлена руйнуванням РНК-мішені РНКазой Н. РНКазою Н являє собою клітинну ендонуклеазу, яка розщеплює спіраль РНК дуплексу РНК:ДНК. У цій області техніки відомо, що одноланцюгові антисмислові сполуки, які є "ДНК-подібними", викликають активність РНКазою Н у клітинах ссавців. Відповідно, антисмислові сполуки, які містять щонайменше частину ДНК або ДНК-подібних нуклеозидів, можуть активувати РНКазу Н, приводячи до розщеплення нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації антисмислових сполук, які використовують РНКазу Н, містять один або більше модифікованих нуклеозидів. У деяких варіантах реалізації такі антисмислові сполуки містять щонайменше один блок з 1-8 модифікованих нуклеозидів. У деяких варіантах реалізації модифіковані нуклеозиди не підтримують активність РНКазою Н. У деяких варіантах реалізації такі антисмислові сполуки являють собою гепмери, як описано в цьому документі. У деяких таких варіантах реалізації геп гепмеру містить ДНК нуклеозиди. У деяких таких варіантах реалізації геп гепмеру містить ДНК-подібні нуклеозиди. У деяких таких варіантах реалізації геп гепмеру містить ДНК нуклеозиди і ДНК-подібні нуклеозиди.

Деякі антисмислові сполуки, які мають гепмерний мотив, вважаються химерними антисмисловими сполуками. У гепмері внутрішня ділянка має безліч нуклеотидів, які підтримують розщеплення РНКазой Н, розташованих між зовнішніми областями, які мають безліч нуклеозидів, хімічно відмінних від нуклеозидів внутрішньої області. У разі, коли антисмисловий олігонуклеотид має гепмерний мотив, сегмент геп, як правило, служить в якості субстрату для розщеплення ендонуклеазою, у той час, як сегменти крил містять модифіковані нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації ділянки гепмеру розрізняються за типами цукрових фрагментів у складі кожної окремої ділянки. Типи цукрових фрагментів, які використовуються для диференціації ділянок гепмеру, у деяких варіантах реалізації можуть включати β-D-рибонуклеозиди, β-D-дезоксирибонуклеозиди, 2'-модифіковані нуклеозиди (2'-модифіковані нуклеозиди можуть включати, серед інших, 2'-MOE і 2'-O-CH₃) і модифіковані нуклеозиди з біциклічним цукром (такі модифіковані нуклеозиди з біциклічним цукром можуть включати ті, які містять стерично утруднений етил). У деяких варіантах реалізації нуклеозиди в крилах можуть містити кілька модифікованих цукрових фрагментів, включаючи, наприклад, 2'-MOE і біциклічні цукрові фрагменти, такі як стерично утруднений етил або ЗНК. У деяких варіантах реалізації крила можуть містити кілька модифікованих і немодифікованих цукрових фрагментів. У деяких варіантах реалізації крила можуть містити різні комбінації 2'-MOE нуклеозидів, біциклічних цукрових фрагментів, таких як нуклеозиди зі стерично утрудненим етилом або ЗНК нуклеозиди, і 2'-дезоксинуклеозиди.

Кожна окрема ділянка може містити однакові цукрові фрагменти, або цукрові фрагменти які відрізняються або чергуються. Мотив крило-геп-крило часто описують як "X-Y-Z", де "X" позначає довжину 5' крила, "Y" позначає довжину гепу, а "Z" позначає довжину 3' крила. "X" і "Z" можуть містити однакові цукрові фрагменти, або цукрові фрагменти які відрізняються або чергуються. У деяких варіантах реалізації "X" та "Y" можуть містити один або більше 2'-дезоксинуклеозидів. "Y" може містити 2'-дезоксинуклеозиди. У цьому контексті гепмер, описаний як "X-Y-Z", має конфігурацію, в якій геп розташований безпосередньо прилягаючи до 5' крила і 3' крила. Таким чином, між 5' крилом і гепом або гепом і 3' крилом не існує проміжних нуклеотидів. Будь-які антисмислові сполуки, описані в цьому документі, можуть мати гепмерний мотив. У деяких варіантах реалізації "X" і "Z" є однаковими; в інших варіантах реалізації вони різні. У деяких варіантах реалізації "Y" містить від 8 до 15 нуклеозидів. X, Y або Z можуть містити 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 25, 30 або більше нуклеозидів.

У деяких варіантах реалізації антисмислова сполука, спрямована на нуклеїнову кислоту CFB, має гепмерний мотив, у якому геп складається з 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 або 16 зв'язаних нуклеозидів.

У деяких варіантах реалізації антисмисловий олігонуклеотид має цукровий мотив, описаний формулою А, представленою нижче: (J)_m-(B)_n-(J)_p-(B)_r-(A)_t-(D)_g-(A)_v-(B)_w-(J)_x-(B)_y-(J)_z

де:

кожен А незалежно являє собою 2'-заміщений нуклеозид;
 кожен В незалежно являє собою біциклічний нуклеозид;
 кожен J незалежно являє собою або 2'-заміщений нуклеозид, або 2'-дезоксинуклеозид;
 кожен D являє собою 2'-дезоксинуклеозид;

5 м дорівнює 0-4; n дорівнює 0-2; p дорівнює 0-2; r дорівнює 0-2; t дорівнює 0-2; v дорівнює 0-2; w дорівнює 0-4; x дорівнює 0-2; y дорівнює 0-2; z дорівнює 0-4; g дорівнює 6-14;

за умови, що:

шонайменше один з m, n і r є відмінним від 0;

шонайменше один з w і y є відмінним від 0;

10 сума m, n, p, r і t дорівнює від 2 до 5; і

сума v, w, x, y і z дорівнює від 2 до 5.

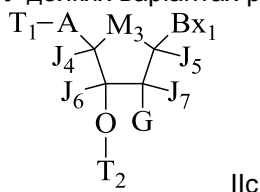
РНКi сполуки

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки являють собою сполуки інтерферуючої РНК (РНКi), які включають дволанцюгові сполуки РНК (також відомі як малі інтерферуючі РНК або міРНК) і одноланцюгові сполуки РНКi (або олРНК). Такі сполуки щонайменше частково діють по шляху RISC для руйнування та/або ізолювання нуклеїнової кислоти-мішені (отже, включають сполуки мікроРНК/мікроРНК-міметики). У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки містять модифікації, які роблять їх особливо придатними для таких механізмів.

i. Сполуки олРНК

20 У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, включаючи сполуки, які особливо підходять для застосування в якості одноланцюгових РНКi сполук (олРНК), містять модифікований 5'-термінальний кінець. У деяких таких варіантах реалізації 5'-термінальний кінець містить модифікований фосфатний фрагмент. У деяких варіантах реалізації такий модифікований фосфат є стабілізованим (наприклад, стійким до розкладання/розщеплення порівняно з немодифікованим 5'-фосфатом). У деяких варіантах реалізації такі 5'-кінцеві нуклеозиди стабілізують 5'-фосфорний фрагмент. Деякі модифіковані 5'-кінцеві нуклеозиди описані у відомому рівні техніки, наприклад, у WO/2011/139702.

У деяких варіантах реалізації 5'-нуклеозид сполуки олРНК має формулу IIc:

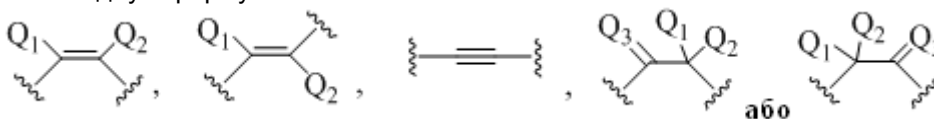


де:

T₁ являє собою необов'язково захищений фосфорний фрагмент;

T₂ являє собою міжнуклеозидну лінкерну групу, яка зв'язує сполуку Формули IIc з олігомерною сполукою;

A має одну з формул:



35 Q₁ та Q₂, кожен незалежно, являють собою H, галоген, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл, C₁-C₆ алкокси, заміщений C₁-C₆ алкокси, C₂-C₆ алкеніл, заміщений C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл, заміщений C₂-C₆ алкініл або N(R₃)(R₄);

Q₃ являє собою O, S, N(R₅) або C(R₆)(R₇);

40 кожен R₃, R₄, R₅, R₆, R₇ незалежно являє собою H, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл або C₁-C₆ алкокси;

M₃ являє собою O, S, NR₁₄, C(R₁₅)(R₁₆), C(R₁₅)(R₁₆)C(R₁₇)(R₁₈), C(R₁₅)=C(R₁₇), °C(R₁₅)(R₁₆) або OC(R₁₅)(Bx₂);

R₁₄ являє собою H, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл, C₁-C₆ алкокси, заміщений C₁-C₆ алкокси, C₂-C₆ алкеніл, заміщений C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл або заміщений C₂-C₆ алкініл;

45 R₁₅, R₁₆, R₁₇ та R₁₈, кожен незалежно, являють собою H, галоген, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл, C₁-C₆ алкокси, заміщений C₁-C₆ алкокси, C₂-C₆ алкеніл, заміщений C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл або заміщений C₂-C₆ алкініл;

Bx₁ являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

50 або якщо присутній Bx₂, Bx₂ являє собою фрагмент гетероциклічної основи, а Bx₁ являє собою H, галоген, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл, C₁-C₆ алкокси, заміщений C₁-C₆ алкокси, C₂-C₆ алкеніл, заміщений C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл або заміщений C₂-C₆ алкініл;

J_4 , J_5 , J_6 та J_7 , кожен незалежно, являють собою H, галоген, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_1-C_6 алкокси, заміщений C_1-C_6 алкокси, C_2-C_6 алкеніл, заміщений C_2-C_6 алкеніл, C_2-C_6 алкініл або заміщений C_2-C_6 алкініл;

або J_4 утворює місток з одним з J_5 J_7 , де зазначений місток складається з 1-3 зв'язаних бірадикальних груп, вибраних з O, S, NR_{19} , $C(R_{20})(R_{21})$, $C(R_{20})=C(R_{21})$, $C=[C(R_{20})(R_{21})]$ і $C(=O)$, а інші два з J_5 , J_6 J_7 , кожен незалежно, являють собою H, галоген, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_1-C_6 алкокси, заміщений C_1-C_6 алкокси, C_2-C_6 алкеніл, заміщений C_2-C_6 алкеніл, C_2-C_6 алкініл або заміщений C_2-C_6 алкініл;

кожен R_{19} , R_{20} та R_{21} незалежно являє собою H, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_1-C_6 алкокси, заміщений C_1-C_6 алкокси, C_2-C_6 алкеніл, заміщений C_2-C_6 алкеніл, C_2-C_6 алкініл або заміщений C_2-C_6 алкініл;

G являє собою H, OH, галоген або $O-[C(R_8)(R_9)]_n-[(C=O)_m-X_1]_j-Z$;

кожен R_8 R_9 незалежно являє собою H, галоген, C_1-C_6 алкіл або заміщений C_1-C_6 алкіл;

X_1 являє собою O, S або $N(E_1)$;

Z являє собою H, галоген, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_2-C_6 алкеніл, заміщений C_2-C_6 алкеніл, C_2-C_6 алкініл, заміщений C_2-C_6 алкініл або $N(E_2)(E_3)$;

E_1 E_2 E_3 , кожен незалежно, являють собою H, C_1-C_6 алкіл або заміщений C_1-C_6 алкіл;

n дорівнює від 1 до близько 6;

m дорівнює 0 або 1;

j дорівнює 0 або 1;

кожна заміщена група містить одну або більше необов'язково захищених груп замісників, незалежно вибраних з галогену, OJ_1 , $N(J_1)(J_2)$, $=NJ_1$, SJ_1 , N_3 , CN , $^{\circ}C(=X_2)J_1$, $^{\circ}C(=X_2)N(J_1)(J_2)$ і $C(=X_2)N(J_1)(J_2)$;

X_2 являє собою O, S або NJ_3 ;

кожен J_1 , J_2 J_3 незалежно являє собою H або C_1-C_6 алкіл;

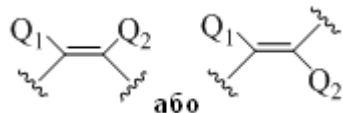
якщо j дорівнює 1, то Z відрізняється від галогену або $N(E_2)(E_3)$;

де зазначена олігомерна сполука містить від 8 до 40 мономерних субодиниць і може піддаватися гібридизації щонайменше частиною нуклеїнової кислоти-мішені.

У деяких варіантах реалізації M_3 являє собою O, $CH=CH$, OCH_2 або $OC(H)(Vx_2)$. У деяких варіантах реалізації M_3 являє собою O.

У деяких варіантах реалізації J_4 , J_5 , J_6 та J_7 являють собою H. У деяких варіантах реалізації J_4 утворює місток з одним з J_5 або J_7 .

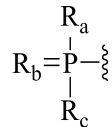
У деяких варіантах реалізації A має одну з формул:



де:

Q_1 Q_2 , кожен незалежно, являють собою H, галоген, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_1-C_6 алкокси або заміщений C_1-C_6 алкокси. У деяких варіантах реалізації Q_1 та Q_2 являють собою H. У деяких варіантах реалізації Q_1 та Q_2 , кожен незалежно, являють собою H або галоген. У деяких варіантах реалізації Q_1 та Q_2 являє собою H, а інший з Q_1 та Q_2 являє собою F, CH_3 або OCH_3 .

У деяких варіантах реалізації T_1 має формулу:



де:

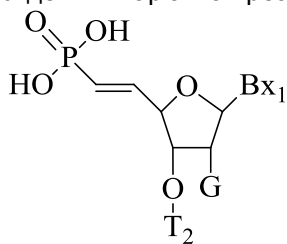
R_a R_c , кожен незалежно, являють собою захищений гідроксил, захищений тіол, C_1-C_6 алкіл, заміщений C_1-C_6 алкіл, C_1-C_6 алкокси, заміщений C_1-C_6 алкокси, захищений аміно або заміщений аміно;

R_b являє собою O або S. У деяких варіантах реалізації R_b являє собою O, а R_a R_c , кожен незалежно, являють собою OCH_3 , OCH_2CH_3 або $CH(CH_3)_2$.

У деяких варіантах реалізації G являє собою галоген, OCH_3 , OCH_2F , $OCHF_2$, OCF_3 , OCH_2CH_3 , $O(CH_2)_2F$, OCH_2CHF_2 , OCH_2CF_3 , $OCH_2-CH=CH_2$, $O(CH_2)_2-OCH_3$, $O(CH_2)_2-SCH_3$, $O(CH_2)_2-OCF_3$, $O(CH_2)_3-N(R_{10})(R_{11})$, $O(CH_2)_2-ON(R_{10})(R_{11})$, $O(CH_2)_2-O(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$, $OCH_2C(=O)-N(R_{10})(R_{11})$, $OCH_2C(=O)-N(R_{12})-(CH_2)_2-N(R_{10})(R_{11})$ або $O(CH_2)_2-N(R_{12})-C(=NR_{13})[N(R_{10})(R_{11})]$, де R_{10} , R_{11} , R_{12} R_{13} , кожен незалежно, являє собою H або C_1-C_6 алкіл. У деяких варіантах реалізації G являє собою галоген, OCH_3 , OCF_3 , OCH_2CH_3 , OCH_2CF_3 , OCH_2-

$\text{CH}=\text{CH}_2$, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-OCH}_3$, $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-O}(\text{CH}_2)_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$, $\text{OCH}_2\text{C(=O)-N(H)CH}_3$, $\text{OCH}_2\text{C(=O)-N(H)-(CH}_2)_2\text{-N}(\text{CH}_3)_2$ або $\text{OCH}_2\text{-N(H)-C(=NH)NH}_2$. У деяких варіантах реалізації G являє собою F, OCH_3 або $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-OCH}_3$. У деяких варіантах реалізації G являє собою $\text{O}(\text{CH}_2)_2\text{-OCH}_3$.

У деяких варіантах реалізації 5'-кінцевий нуклеозид має Формулу IIe:



IIe

У деяких варіантах реалізації винаходу антисмислові сполуки, включаючи сполуки, які особливо підходять для олРНК, містять один або більше типів модифікованих цукрових фрагментів і/або природних цукрових фрагментів, розташованих уздовж олігонуклеотиду або його області у певному патерні або мотиві цукрової модифікації. Такі мотиви можуть містити будь-які цукрові модифікації, описані в цьому документі, та/або інші відомі модифікації цукру.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять або складаються з області, що має однакові цукрові модифікації. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області містить однакову РНК-подібну цукрову модифікацію. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області являє собою 2'-F нуклеозид. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області являє собою 2'-ОМе нуклеозид. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області являє собою 2'-МОЕ нуклеозид. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області являє собою сEt нуклеозид. У деяких варіантах реалізації кожен нуклеозид області являє собою ЗНК нуклеозид. У деяких варіантах реалізації однорідна область утворює весь або по суті весь олігонуклеотид. У деяких варіантах реалізації область утворює весь нуклеотид, за винятком 1-4 кінцевих нуклеозидів.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять одну або більше областей цукрових модифікацій, що чергуються, де нуклеозиди чергуються між нуклеотидами, які мають цукрову модифікацію першого типу, і нуклеотидами, які мають цукрову модифікацію другого типу. У деяких варіантах реалізації нуклеозиди обох типів являють собою РНК-подібні нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації нуклеозиди, що чергуються вибрані з: 2'-ОМе, 2'-F, 2'-МОЕ, ЗНК і сEt. У деяких варіантах реалізації модифікації що чергуються являють собою 2'-F і 2'-ОМе. Такі області можуть бути суміжними або можуть бути перервані по-іншому модифікованими нуклеозидами або кон'югованими нуклеозидами.

У деяких варіантах реалізації кожна область що чергується модифікацій які чергуються складається з одного нуклеозиду (тобто патерн являє собою $(\text{AB})_x\text{A}_y$, де А являє собою нуклеозид, який має цукрову модифікацію першого типу, і В являє собою нуклеозид, який має цукрову модифікацію другого типу; x дорівнює 1-20, а y дорівнює 0 або 1). У деяких варіантах реалізації одна або більше областей що чергуються у мотиві який чергується містить більше одного нуклеозиду деякого типу. Наприклад, олігонуклеотиди можуть містити одну або більше областей будь-якого з наступних нуклеозидних мотивів:

AABVAA;
 ABBABV;
 AABAAB;
 ABBABAABV;
 AVABA;
 AABABAB;
 AVABA;
 AVBAABVABABA;
 BAVBAABVABABA; або
 AVABBAABVABABA;

де А являє собою нуклеозид першого типу, і В являє собою нуклеозид другого типу. У деяких варіантах реалізації кожний А і В обраний з 2'-F, 2'-ОМе, БНК та МОЕ.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди, які мають такий мотив, що чергується, містять також модифікований 5'-кінцевий нуклеозид, такий як нуклеозид формули IIc або IIe.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять область, що має мотив 2-2-3. Такі області містять наступний мотив:

$-(\text{A})_2-(\text{B})_x-(\text{A})_2-(\text{C})_y-(\text{A})_3-$

де: А являє собою перший тип модифікованого нуклеозиду;

В і С являють собою нуклеозиди, модифіковані інакше, ніж А, однак В і С можуть мати однакові або різні модифікації відносно один одного;

х та у дорівнюють від 1 до 15.

У деяких варіантах реалізації А являє собою 2'-ОМе модифікований нуклеозид. У деяких варіантах реалізації В і С являють собою 2'-F модифіковані нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації А являє собою 2'-ОМе модифікований нуклеозид, а В і С являють собою 2'-F модифіковані нуклеозиди.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеозиди мають наступний цукровий мотив:

5'- (Q)- (AB)_xA_y-(D)_z

де:

Q являє собою нуклеозид, що містить стабілізований фосфатний фрагмент. У деяких варіантах реалізації Q являє собою нуклеозид, який має Формули IIc або IIe;

А являє собою перший тип модифікованого нуклеозиду;

В являє собою другий тип модифікованого нуклеозиду;

D являє собою модифікований нуклеозид, що містить модифікацію, відмінну від нуклеозиду, суміжного з ним. Так, якщо у дорівнює 0, то D повинен бути модифікований інакше, ніж В, а якщо у дорівнює 1, то D повинен бути модифікований інакше, ніж А. У деяких варіантах реалізації D відмінний як від А, так і від В.

Х дорівнює 5-15;

Y дорівнює 0 або 1;

Z дорівнює 0-4.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеозиди мають наступний цукровий мотив:

5'- (Q)- (A)_x-(D)_z

де:

Q являє собою нуклеозид, що містить стабілізований фосфатний фрагмент. У деяких варіантах реалізації Q являє собою нуклеозид, що має Формули IIc або IIe;

А являє собою перший тип модифікованого нуклеозиду;

D являє собою модифікований нуклеозид, що містить модифікацію, відмінну від А.

Х дорівнює 11-30;

Z дорівнює 0-4.

У деяких варіантах реалізації А, В, С і D у представлених вище мотивах обрані з: 2'-ОМе, 2'-F, 2'-МОЕ, ЗНК і cEt. У деяких варіантах реалізації D являє собою кінцеві нуклеозиди. У деяких варіантах реалізації такі кінцеві нуклеозиди не призначені для гібридизації з нуклеїновою кислотою-мішенню (хоча може відбуватися випадкова гібридизація одного або більше з них). У деяких варіантах реалізації азотиста основа кожного нуклеозиду D являє собою аденін, незалежно від ідентичності азотистої основи у відповідному положенні нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації азотиста основа кожного нуклеозиду D являє собою тимін.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, включаючи сполуки, які особливо підходять для застосування в якості олРНК, містять модифіковані міжнуклеозидні зв'язки, розташовані вздовж олігонуклеотиду або його області в певному порядку або в мотиві модифікованого міжнуклеозидного зв'язку. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять область, що має мотив міжнуклеозидних зв'язків які чергуються. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять область однаково модифікованих міжнуклеозидних зв'язків. У деяких таких варіантах реалізації олігонуклеотид містить область, що рівномірно зв'язана тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид рівномірно зв'язаний тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок олігонуклеотиду вибран із фосфодіестеру і тіофосфату. У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок олігонуклеотиду вибран з фосфодіестеру і тіофосфату, і щонайменше один міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфат.

У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 6 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 8 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 10 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 6 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 8 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 10 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 12

послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких таких варіантах реалізації щонайменше один такий блок розташований на 3' кінці олігонуклеотиду. У деяких таких варіантах реалізації щонайменше один такий блок розташований в межах 3 нуклеозидів від 3' кінця олігонуклеотиду.

- 5 Олігонуклеотиди, які мають будь-які з різних цукрових мотивів, описаних у цьому документі, можуть мати будь-який мотив який зв'язує. Наприклад, олігонуклеотиди, включаючи, без обмеження, ті, які описані вище, можуть мати мотив, що зв'язує, вибраний з необмежуючої таблиці, поданої нижче:

5' крайній зв'язок	Центральна область	3'-область
PS	PO/PS які чергуються	6 PS
PS	PO/PS які чергуються	7 PS
PS	PO/PS які чергуються	8 PS

10 ii. Сполуки міРНК

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки являють собою дволанцюгові РНКі сполуки (міРНК). У таких варіантах реалізації один або обидва ланцюга можуть містити будь-який мотив модифікації, описаний вище для олРНК. У деяких варіантах реалізації олРНК сполуки можуть являти собою немодифіковані РНК. У деяких варіантах реалізації сполуки міРНК можуть містити немодифіковані нуклеозиди РНК, але модифіковані міжнуклеозидні зв'язки.

Деякі варіанти реалізації відносяться до дволанцюгових композицій, в яких кожен ланцюг містить мотив, визначений положенням одного або більше модифікованих або немодифікованих нуклеозидів. У деяких варіантах реалізації запропоновані композиції, що містять першу і другу олігомерну сполуку, які повністю або щонайменше частково гібридизовані з утворенням дуплексної області, та додатково містять область, яка комплементарна нуклеїновій кислоти-мішені і гібридується з нею. Зручно, що така композиція містить першу олігомерну сполуку, яка являє собою антисмисловий ланцюг, що має повну або часткову комплементарність до нуклеїновій кислоти-мішені, і другу олігомерну сполуку, яка являє собою смисловий ланцюг, що має одну або більше областей, які комплементарні та утворюють щонайменше одну дуплексну область з першою олігомерною сполукою.

Композиції згідно з деякими варіантами реалізації модулюють генну експресію шляхом гібридизації з нуклеїною кислотою-мішенню, що призводить до втрати її нормальної функції. У деяких варіантах реалізації нуклеїнова кислота-мішень являє собою CFB. У деяких варіантах реалізації руйнування CFB-мішені полегшується активованим комплексом RISC, який утворюється з композиціями за цим винаходом.

Деякі варіанти реалізації відносяться до дволанцюгових композицій, в яких один із ланцюгів підходить, наприклад, для впливу на переважне включення протилежного ланцюга в RISC (або розщеплює) комплекс. Зазначені композиції підходять для спрямованого впливу на вибрані молекули нуклеїнових кислот і для модулювання експресії одного або більше генів. У деяких варіантах реалізації композиції згідно з цим винаходом гібридизуються з частиною РНК-мішені, що призводить до втрати нормальної функції РНК-мішені.

Деякі варіанти реалізації відносяться до двохланцюгових композицій, в яких обидва ланцюги містять гемімерний мотив, повністю модифікований мотив, позиційно модифікований мотив або мотив, який чергується. Кожен ланцюг композицій згідно з цим винаходом може бути модифікована для виконання певної ролі, наприклад, у каскаді міРНК. Використовуючи різні мотиви в кожному ланцюзі або однаковий мотив з різними хімічними модифікаціями в кожному ланцюзі, може бути забезпечено спрямований вплив на онтисенсний ланцюг комплексу RISC при інгібуванні впровадження смислового ланцюга. В рамках такої моделі кожен ланцюг може бути модифікован незалежно, так щоб він краще виконував свою конкретну роль. Антисмисловий ланцюг може бути модифікован на 5'-кінці для посилення його ролі в одній області RISC, тоді як 3'-кінець може бути модифікований інакше для посилення його ролі в іншій області RISC.

Молекули дволанцюгових олігонуклеотидів можуть являти собою молекулу дволанцюгового поліонуклеотиду, який містить автокомплементарні смислові і антисмислові області, де антисмислова область містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності в молекулі нуклеїновій кислоти-мішені або її частини, а смислова область має нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності нуклеїновій кислоти-мішені або її частини. Молекули дволанцюгових олігонуклеотидів можуть бути зібрані з двох окремих олігонуклеотидів, де один ланцюг являє собою смисловий ланцюг, а інший являє собою

антисмисловий ланцюг, при цьому антисмисловий і смисловий ланцюги є автокомплементарними (тобто кожен ланцюг містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності іншого ланцюга; наприклад, якщо антисмисловий ланцюг і смисловий ланцюг утворюють дуплекс або дволанцюгову структуру, наприклад, якщо дволанцюгова область має від близько 15 до близько 30, наприклад, близько 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 або 30 пар основ); антисмисловий ланцюг містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності в молекулі нуклеїнової кислоти-мішені або її частини, а смисловий ланцюг містить нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності нуклеїнової кислоти-мішені або її частини (наприклад, від близько 15 до близько 25 або більше нуклеотидів молекули дволанцюгового олігонуклеотиду комплементарні нуклеїновій кислоті-мішені або її частини). В альтернативному варіанті, дволанцюговий олігонуклеотид збирається з одного олігонуклеотиду, де автокомплементарні смислові і антисмислові області міРНК зв'язані за допомогою лінкеру(-ів) на основі нуклеїнової кислоти або не на основі нуклеїнової кислоти.

Дволанцюговий олігонуклеотид може являти собою полінуклеотид з дуплексом, асиметричним дуплексом, шпильковою або асиметричною шпильковою вторинною структурою, що має автокомплементарні смислові і антисмислові області, при цьому антисмислова область містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності в окремій молекулі нуклеїнової кислоти-мішені або її частини, а смислова область має нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності нуклеїнової кислоти-мішені або її частини. Дволанцюговий олігонуклеотид може являти собою кільцевий одностанцюговий полінуклеотид, що має дві або більше петльових структур і стовбур, що містить автокомплементарні смислові і антисмислові області, при цьому антисмислова область містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності в молекулі нуклеїнової кислоти-мішені або її частини, а смислова область має нуклеотидну послідовність, що відповідає послідовності нуклеїнової кислоти-мішені або її частини, і при цьому кільцевий полінуклеотид може бути процесованим *in vivo* або *in vitro* з отриманням активної молекули міРНК, здатної опосередкувати РНКі.

У деяких варіантах реалізації дволанцюговий олігонуклеотид містить окремі смислові і антисмислові послідовності або області, при цьому смислова і антисмислова області ковалентно зв'язані нуклеотидними або ненуклеотидними лінкерними молекулами, відомими в цій галузі техніки, або в альтернативному варіанті реалізації зв'язані нековалентно за допомогою іонних взаємодій, водневого зв'язування, ван-дер-ваальсовських взаємодій, гідрофобних взаємодій та/або стекинг-взаємодій. У деяких варіантах реалізації дволанцюговий олігонуклеотид містить нуклеотидну послідовність, яка комплементарна нуклеотидній послідовності гена-мішені. В іншому варіанті реалізації дволанцюговий олігонуклеотид взаємодіє з нуклеотидною послідовністю гена-мішені таким чином, щоб викликати інгібування експресії гена-мішені.

У даному контексті дволанцюгові олігонуклеотиди не обмежені молекулами, що містять тільки РНК, а додатково охоплюють хімічно модифіковані нуклеотиди і ненуклеотиди. У деяких варіантах реалізації молекули малої інтерферуючої нуклеїнової кислоти не мають нуклеотидів, що містять 2'-гідрокси (2'-ОН). У деяких варіантах реалізації малі інтерферуючі нуклеїнові кислоти необов'язково не містять рибонуклеотидів (наприклад, нуклеотидів, які мають групу 2'-ОН). Такі дволанцюгові олігонуклеотиди, які не вимагають наявності рибонуклеотидів у молекулі для підтримання РНКі, можуть тим не менш мати приєднаний лінкер або лінкери або інші приєднані або зв'язані групи, фрагменти або ланцюги, що містять один або більше нуклеотидів з групами 2'-ОН. Необов'язково, дволанцюгові олігонуклеотиди можуть містити рибонуклеотиди у близько 5, 10, 20, 30, 40 або 50 % положеннях нуклеотидів. У контексті цього документа термін міРНК вважають еквівалентним іншим термінам, що використовуються для опису молекул нуклеїнових кислот, які можуть опосередкувати послідовність-специфічну РНКі, наприклад, малої інтерферуючої РНК (міРНК), дволанцюгової РНК (длРНК), мікро-РНК (мікроРНК), короткої шпилькової РНК (кшРНК), малого інтерферуючого олігонуклеотиду, малої інтерферуючої нуклеїнової кислоти, малого інтерферуючого модифікованого олігонуклеотиду, хімічно модифікованої міРНК, РНК посттранскрипційного сайленсингу гена (ptgsРНК) та інших. Крім того, у цьому контексті термін РНКі вважають еквівалентним іншим термінам, що використовуються для опису послідовність-специфічної інтерференції РНК, такий як посттранскрипційний сайленсинг гена, трансляційне інгібування або епігенетика. Наприклад, дволанцюгові олігонуклеотиди можуть бути використані для епігенетичного сайленсингу генів на посттранскрипційному рівні і на дотранскрипційному рівні. У необмежуючому прикладі епігенетичне регулювання генної експресії молекулами міРНК відповідно до цього винаходу

може бути результатом міРНК-опосередкованої модифікації структури хроматину або патерну метилювання для зміни генної експресії (див., наприклад, Verdel et al., 2004, Science, 303, 672-676; Pal-Bhadra et al., 2004, Science, 303, 669-672; Allshire, 2002, Science, 297, 1818-1819; Volpe et al., 2002, Science, 297, 1833-1837; Jenuwein, 2002, Science, 297, 2215-2218; i Hall et al., 2002, Science, 297, 2232-2237).

Мається на увазі, що сполуки і композиції згідно з деякими варіантами реалізації, запропонованими у цьому документі, можуть цілеспрямовано впливати на CFB за допомогою длРНК-опосередкованого сайленсингу гена або механізму РНКі, включаючи, наприклад, ефекторні молекули "шпилькової" або дволанцюгової РНК з стовбура-петлі, в яких один ланцюг РНК з автокомплементарними послідовностями може приймати дволанцюгову конформацію, або ефекторні молекули дуплексної длРНК, що містять два окремі ланцюга РНК. В різних варіантах реалізації длРНК повністю складається з рибонуклеотидів або складається з суміші рибонуклеотидів і дезоксинуклеотидів, таких як гібриди РНК/ДНК, описані, наприклад, в WO 00/63364, поданої 19 квітня 2000 року, або в патенті США з серійним номером 60/130377, поданому 21 квітня 1999 року. длРНК або ефекторна молекула длРНК може являти собою одну молекулу з областю автокомплементарності, так що нуклеотиди в одному сегменті молекули беруть участь у паруванні основ з нуклеотидами в іншому сегменті молекули. У різних варіантах реалізації длРНК, яка складається з однієї молекули, повністю складається з рибонуклеотидів або містить область рибонуклеотидів, яка комплементарна області дезоксирибонуклеотидів. В альтернативному варіанті реалізації длРНК може містити два різні ланцюги, які мають область комплементарності один з одним.

У різних варіантах реалізації обидва ланцюги повністю складаються з рибонуклеотидів, один ланцюг повністю складається з рибонуклеотидів, і один ланцюг повністю складається з дезоксирибонуклеотидів, або один або обидва ланцюги містять суміш рибонуклеотидів і дезоксирибонуклеотидів. У деяких варіантах реалізації області комплементарності щонайменше є на 70, 80, 90, 95, 98 або 100 % комплементарними одна одній і послідовності нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації область длРНК, яка знаходиться в дволанцюговій конформації, містить щонайменше 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 50, 75, 100, 200, 500, 1000, 2000 або 5000 нуклеотидів або містить всі нуклеотиди в кДНК або іншій послідовності нуклеїнової кислоти-мішені, що знаходиться в длРНК. У деяких варіантах реалізації длРНК не містить одноланцюгових областей, таких як одноланцюгові кінці, або длРНК являє собою шпильку. В інших варіантах реалізації длРНК має одну або більше одноланцюгових областей або виступів. У деяких варіантах реалізації гібриди РНК/ДНК містять ланцюг або область ДНК, яка являє собою антисмисловий ланцюг або область (наприклад, має щонайменше 70, 80, 90, 95, 98 або 100 % комплементарності з нуклеїновою кислотою-мішенню), і ланцюг або область РНК, яка являє собою смисловий ланцюг або область (наприклад, має щонайменше 70, 80, 90, 95, 98 або 100 % ідентичності з нуклеїновою кислотою-мішенню) і навпаки.

У різних варіантах реалізації гібрид РНК/ДНК отримують *in vitro* за допомогою методів ферментного або хімічного синтезу, таких як описано в цьому документі або в WO 00/63364, поданої 19 квітня 2000 року, або в патенті США з серійним номером 60/130377, поданому 21 квітня 1999 року. В інших варіантах реалізації ланцюг ДНК, який синтезований *in vitro*, зв'язаний у комплекс із ланцюгом РНК, отриманим *in vivo* або *in vitro* до, після або одночасно з трансформацією ланцюга ДНК у клітину. В інших варіантах реалізації длРНК представляє собою одну кільцеву нуклеїнову кислоту, яка містить смислову і антисмислову область, або длРНК містить кільцеву нуклеїнову кислоту і другу кільцеву нуклеїнову кислоту або лінійну нуклеїнову кислоту (див., наприклад, WO 00/63364, подану 19 квітня 2000 року, або в патенті США з серійним номером 60/130377, поданому 21 квітня 1999 року). Ілюстративні кільцеві нуклеїнові кислоти включають ларіатні структури, у яких вільна 5' фосфорильна група нуклеотиду стає зв'язаною з 2' гідроксильною групою іншого нуклеотиду шляхом за кільцювання.

В інших варіантах реалізації длРНК містить один або більше модифікованих нуклеотидів, в яких 2' положення цукру містить галоген (такий як група фтору) або містить алкокси-групу (таку як метокси-група), що збільшує період напіввиведення длРНК *in vitro* або *in vivo* порівняно з відповідною длРНК, у якій відповідне 2' положення містить водень або гідроксильну групу. В інших варіантах реалізації длРНК містить одну або більше зв'язків між сусідніми нуклеотидами, відмінних від природного фосфодіестерного зв'язку. Приклади таких зв'язків включають фосфорамідні, тіофосфатні і дитіофосфатні зв'язки. длРНК також можуть являти собою хімічно модифіковані молекули нуклеїнових кислот, як описано в патенті США № 6673661. В інших варіантах реалізації длРНК містить один або два кепірованих ланцюгів, як описано, наприклад, в WO 00/63364, поданої 19 квітня 2000 року, або в патенті США з серійним номером 60/130377, поданому 21 квітня 1999 року.

В інших варіантах реалізації длРНК може являти собою будь-яку з щонайменше частково длРНК молекул, описаних в WO 00/63364, а також будь-яку з длРНК молекул, описаних у попередній заявці США 60/399998; і у попередній заявці США 60/419532, і в PCT/US2003/033466, зміст яких включено в цей документ за допомогою посилання. Будь-яка з

Зайнятість

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки імовірно не призводять до розщеплення нуклеїнової кислоти-мішені за допомогою РНКаз Н або не призводять до розщеплення або секвестрації по шляху RISC. У деяких таких варіантах реалізації антисмислова активність може бути результатом зайнятості, при цьому наявність гібридизованої антисмислової сполуки порушує активність нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких таких варіантах реалізації антисмислова сполука може бути рівномірно модифікована або може містити суміш модифікацій і/або модифікованих і немодифікованих нуклеозидів.

Нуклеїнові кислоти-мішені, області-мішені та нуклеотидні послідовності

Нуклеотидні послідовності, що кодують фактор комплементу В (CFB), включають, без обмежень, наступні: з номером доступу GENBANK NM_001710.5 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 1), з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 2), з номером доступу GENBANK NW_001116486.1, усічену з нуклеотиду 536000 до 545000 (включену в справжній документ як SEQ ID NO: 3), з номером доступу GENBANK XM_001113553.2 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 4) або за номером доступу GENBANK NM_008198.2 (включену в цей документ як SEQ ID NO: 5).

Гібридизація

У деяких варіантах реалізації відбувається гібридизація між антисмисловою сполукою, описаною у цьому документі, і нуклеїновою кислотою CFB. Найбільш поширений механізм гібридизації включає водневе зв'язування (наприклад, уотсон-криковське, хугстиновське або зворотнє хугстиновське водневе зв'язування) між комплементарними азотистими основами молекул нуклеїнових кислот.

Гібридизація може відбуватися в різних умовах. Жорсткі умови є послідовність-залежними і визначаються природою та складом молекул нуклеїнових кислот які гібридизуються.

Спосіб визначення, чи є послідовність специфічно гібридизуємою з цільовою нуклеїновою кислотою, добре відомі в цій галузі техніки. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, представлені в цьому документі, є специфічно гібридизуємим з нуклеїновою кислотою CFB.

Комплементарність

Антисмислові сполуки і нуклеїнова кислота-мішень є комплементарними один до одного, якщо достатня кількість азотистих основ антисмислової сполуки можуть утворювати водневі зв'язки з відповідними азотистими основами нуклеїнової кислоти-мішені, таким чином, щоб виникав бажаний ефект (наприклад, антисмислове інгібування нуклеїнової кислоти-мішені, такої як нуклеїнова кислота CFB).

Некомплементарні азотисті основи між антисмисловими сполуками і нуклеїновою кислотою CFB можуть бути прийнятними за умови, що антисмислова сполука як і раніше здатна специфічно гібридизуватися з нуклеїновою кислотою-мішенню. Крім того, антисмислова сполука може гібридизуватися більш ніж з одним або більше сегментами нуклеїнової кислоти CFB так, щоб проміжні або сусідні сегменти не брали участі в гібридизації (наприклад, петльова структура, некомплементарна основа або шпилька).

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, представлені в цьому винаході, або певні їх частини, є або щонайменше на 70 %, 80 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % комплементарними до нуклеїнової кислоти CFB, області-мішені, сегменту-мішені або певної її частини. Відсоток комплементарності антисмислової сполуки з цільовою нуклеїновою кислотою може бути визначений з використанням стандартних методів.

Наприклад, антисмислова сполука, в якій 18 з 20 азотистих основ антисмислової сполуки є комплементарними до області-мішені, і тому будуть специфічно гібридизуватися, має 90 відсотків комплементарності. У даному прикладі некомплементарні азотисті основи, які залишилися можуть бути розташовані кластерно або упереміш з комплементарними азотистими основами і не повинні бути суміжними один з одним або комплементарними азотистими основам. Таким чином, антисмислова сполука, довжина якої становить 18 азотистих основ, містить чотири некомплементарні азотисті основи, фланковані двома ділянками повної комплементарності з нуклеїновою кислотою-мішенню, має загальну комплементарності з

нуклеїнової кислотою-мішенню 77,8 %, і таким чином, входить в межі обсягу цього винаходу. Відсоток комплементарності антисмислової сполуки з областю нуклеїнової кислоти-мішені може бути визначений за допомогою програм BLAST (основний засіб пошуку локального вирівнювання) і програм PowerBLAST, відомих у цій області техніки (Altschul et al., J. Mol. Товарbiol., 1990, 215, 403 410; Zhang і Madden, Genome Res., 1997, 7, 649 656). Відсоток гомології, ідентичність або комплементарність послідовностей, можуть бути визначені, наприклад, програмою Gap (вісконсінський пакет аналізу послідовностей, версія 8 для Unix, Genetics Computer Group, Вісконсінський Університет, Медісон, штат Вісконсін), з використанням налаштувань за замовчуванням, які використовує алгоритм Сміта і Ватермана (Adv. Appl. Math., 1981, 2, 482 489).

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, запропоновані в цьому документі, або їх окремі частини повністю комплементарні (тобто на 100 % комплементарні) нуклеїновій кислоті-мішені або її певній частині. Наприклад, антисмисловасполука може бути повністю комплементарною нуклеїновій кислоті CFB або її області-мішені, або її сегменту-мішені, або її послідовності-мішені. У цьому контексті "повністю комплементарний" означає, що кожна азотиста основа антисмислової сполуки здатне точно злучатися з відповідними азотистими основами нуклеїнової кислоти-мішені. Наприклад, антисмислова сполука з 20 азотистих основ повністю комплементарна цільовій послідовності, що має 400 азотистих основ, якщо існує відповідний фрагмент з 20 азотистих основ нуклеїнової кислоти-мішені, повністю комплементарний антисмисловій сполуці. Повністю комплементарний може також використовуватися в посиланні на певний фрагмент першої та/або другої нуклеїнової кислоти. Наприклад, фрагмент з 20 азотистих основ антисенсної сполуки, що складається з 30 азотистих основ, може бути "повністю комплементарним" послідовності-мішені, яка має 400 азотистих основ у довжину. Фрагмент з 20 азотистих основ олігонуклеотиду, що складається з 30 азотистих основ, повністю комплементарен цільовій послідовності, якщо цільова послідовність має відповідний фрагмент з 20 азотистих основ, при цьому кожна його азотисту основу комплементарного фрагменту з 20 азотистих основ антисмислової сполуки. У той же час, уся антисмислова сполука з 30 азотистих основ може бути або не бути повністю комплементарною цільовій послідовності залежно від того, чи будуть інші 10 азотистих основ антисмислової сполуки також комплементарні цільовій послідовності.

Некомплементарна азотиста основа може розташовуватися на 5' кінці або 3' кінці антисмислової сполуки. В альтернативному варіанті некомплементарна азотиста основу або азотисті основи можуть бути всередині антисмислової сполуки. Якщо присутні два або більше некомплементарні азотисті основи, вони можуть бути суміжними (тобто зв'язаними) або не суміжними. В одному варіанті реалізації некомплементарна азотиста основа розташована у сегменті крила гепмеру антисмислового олігонуклеотиду.

В деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, які містять точно або до 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 або 20 азотистих основ у довжину, містять не більше 4, не більше 3, не більше 2 не більше 1 некомплементарних азотистих основ щодо нуклеїнової кислоти-мішені, такий як нуклеїнова кислота CFB, або її певної частини.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, які містять точно або до 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 або 30 азотистих основ у довжину, містять не більше 6, 5, 4, 3, не більше 2 не більше 1 некомплементарних азотистих основ щодо нуклеїнової кислоти-мішені, такий як нуклеїнова кислота CFB, або її певної частини.

Запропоновані антисмислові сполуки включають також сполуки, які є комплементарними частини нуклеїнової кислоти-мішені. У цьому контексті "частина" відноситься до певної кількості суміжних (тобто зв'язаних) азотистих основ у межах області або сегмента нуклеїнової кислоти-мішені. "Частина" також може відноситися до певної кількості суміжних азотистих основ антисмислової сполуки. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 8 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 9 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 10 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 11 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 12 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 13 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 14 азотистих основ. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки комплементарні частині цільового сегменту з щонайменше 15 азотистих основ. Також

розглядаються антисмислові сполуки, які є комплементарними щонайменше 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 або більше азотистим основам частини цільового сегменту, або діапазону, обумовленому будь-якими двома з зазначених значень.

Ідентичність

Антисмислові сполуки, представлені в цьому документі, також можуть мати певний відсоток ідентичності конкретної нуклеотидної послідовності, SEQ ID NO, або сполуці, представлений конкретним номером Isis, або її частині. У цьому контексті антисмислові сполуки ідентично послідовності, описаній в цьому документі, якщо воно має таку ж здатність до спарювання азотистих основ. Наприклад, РНК, яка містить урацил замість тимідину в описаній послідовності ДНК, вважають ідентичною послідовності ДНК, оскільки і урацил, і тимідин спаровуються з аденоїном. Розглядаються також укорочений і подовжений варіанти антисмислових сполук, описаних у цьому документі, а також сполук, що мають неідентичні основи по відношенню до антисмислових сполук, запропонованих у цьому документі. Неідентичних основи можуть бути суміжними один з одним або розсіяними по всій антисмисловій сполуці. Відсоток ідентичності антисмислової сполуки розраховують за кількістю основ, які мають ідентичне спарювання основ, щодо послідовності, з якою йде порівняння.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки або їх частини щонайменше на 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % або 100 % ідентичні одного або більше антисмисловим сполукам з SEQ ID NO, або їх частині, як описано в цьому документі.

У деяких варіантах реалізації фрагмент антисмислової сполуки порівнюють із рівною по довжині частиною нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації порівнюють частини з 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 або 25 азотистих основ із рівною по довжині частиною нуклеїнової кислоти-мішені.

У деяких варіантах реалізації частину антисмислового олігонуклеотиду порівнюють із рівною по довжині частиною нуклеїнової кислоти-мішені. У деяких варіантах реалізації порівнюють частини з 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24 або 25 азотистих основ із рівною по довжині частиною нуклеїнової кислоти-мішені.

Модифікації

Нуклеозид являє собою комбінацію азотиста основа-цукор. Азотиста основа (також відома як основа) - частина нуклеозиду, зазвичай являє собою фрагмент гетероциклічної основи. Нуклеотиди являють собою нуклеозиди, які додатково містять фосфатну групу, ковалентно зв'язану з цукровою частиною нуклеозиду. Для тих нуклеозидів, які містять пентофуранозильний цукор, фосфатна група може бути зв'язана з 2', 3', 5' гідроксильним фрагментом цукру. Олігонуклеотиди утворюються за допомогою ковалентного зв'язування сусідніх нуклеозидів один з одним з утворенням лінійного полімерного олігонуклеотиду. В олігонуклеотидній структурі фосфатні групи зазвичай називають як ті, що утворюють міжнуклеозидні зв'язки.

Модифікації антисмислових сполук охоплюють заміщення або зміни міжнуклеозидних зв'язків, цукрових фрагментів або азотистих основ. Модифіковані антисмислові сполуки часто переважні в порівнянні з нативними формами за рахунок бажаних властивостей, таких як, наприклад, покращене клітинне поглинання, підвищена афінність зв'язування з нуклеїновою кислотою-мішенню, підвищена стабільність у присутності нуклеаз або підвищена інгібуюча активність.

Хімічно модифіковані нуклеозиди також можуть бути використані для підвищення афінності зв'язування укороченого або усіченого антисенсового олігонуклеотиду з його нуклеїновою кислотою-мішенню. Отже, зіставні результати часто можуть бути отримані за допомогою більш коротких антисмислових сполук, які мають такі хімічно модифіковані нуклеозиди.

Модифіковані міжнуклеозидні зв'язки

Природний міжнуклеозидний зв'язок РНК і ДНК являє собою 3'-5' фосфодіестерний зв'язок. Антисмислові сполуки, що мають одну або більше модифікованих, тобто неприродних міжнуклеозидних зв'язків, часто кращі порівняно з антисмисловими сполуками, що мають природні міжнуклеозидні зв'язки, завдяки бажаним властивостям, таким як, наприклад, покращене клітинне поглинання, посилені афінності зв'язування з нуклеїновими кислотами-мішенями і підвищена стабільність у присутності нуклеаз.

Олігонуклеотиди, які мають модифіковані міжнуклеозидні зв'язки, включають міжнуклеозидні зв'язки, які мають атом фосфору, а також міжнуклеозидні зв'язки, які не мають атома фосфору. Ілюстративні фосфоровмісні міжнуклеозидні зв'язки включають, але не обмежуються ними, фосфодіестери, фосфотриєфіри, метилфосфонати, фосфорамідати і тіофосфати. Способи отримання фосфоровмісних і нефосфоровмісних зв'язків добре відомі.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, які спрямовані на нуклеїнову кислоту

CFB, містять один або більше модифікованих міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації модифіковані міжнуклеозидні зв'язки являють собою тіофосфатні зв'язки. У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок антисмислової сполуки являє собою тіофосфатний міжнуклеозидний зв'язок.

5 У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять модифіковані міжнуклеозидні зв'язки, розташовані вздовж олігонуклеотиду або його області певним чином у вигляді мотиву модифікованого міжнуклеозидного зв'язку. У деяких варіантах реалізації міжнуклеозидні зв'язки розташовані в розірваному мотиві. У таких варіантах реалізації міжнуклеозидні зв'язки в кожній з двох областей крил відмінні від міжнуклеозидних зв'язків в області гепу. У деяких варіантах

10 реалізації міжнуклеозидні зв'язки в крилах є фосфодіестерними, а міжнуклеозидні зв'язки в гепі є тіофосфатними. Нуклеозидний мотив обраний незалежно, так що олігонуклеотиди, мають розірваний мотив міжнуклеозидних зв'язків може мати або не мати розірваний нуклеозидний мотив, і якщо він має розірваний нуклеозидний мотив, то довжина крил і гепу може бути або не бути однаковою.

15 У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять область, що має мотив міжнуклеозидних зв'язків які чергуються. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди згідно з цим винаходу містять область однаково модифікованих міжнуклеозидних зв'язків. У деяких таких варіантах реалізації олігонуклеотид містить область, що рівномірно зв'язана тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид

20 рівномірно зв'язаний тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок олігонуклеотиду вибран із фосфодіестеру і тіофосфату. У деяких варіантах реалізації кожен міжнуклеозидний зв'язок олігонуклеотиду вибран з фосфодіестеру і тіофосфату, і щонайменше один міжнуклеозидний зв'язок являє собою тіофосфат.

25 У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 6 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 8 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше 10 тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 6 послідовними

30 тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 8 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 10 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить щонайменше один блок з щонайменше 12 послідовними тіофосфатними міжнуклеозидними зв'язками. У деяких таких варіантах реалізації щонайменше один такий блок розташований на 3' кінці олігонуклеотиду. У деяких таких варіантах реалізації щонайменше один такий блок розташований в межах 3 нуклеозидів від 3' кінця олігонуклеотиду.

40 У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди містять одну або більше метилфосфонатних зв'язків. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди, які мають гепмерний нуклеозидний мотив, містять мотив зв'язку, що містить всі тіофосфатні міжнуклеозидні зв'язки, за винятком одного чи двох метилфосфонатних зв'язків. У деяких варіантах реалізації один метилфосфонатний зв'язок знаходиться в центральному гепі олігонуклеотиду, який має гепмерний нуклеозидний мотив.

45 У деяких варіантах реалізації бажано розподіляти кількість тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків і фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків для збереження стійкості до дії нуклеаз. У деяких варіантах реалізації бажано розподіляти кількість і положення тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків і положення фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків для збереження стійкості до дії нуклеаз. У деяких варіантах реалізації кількість тіофосфатних

50 міжнуклеозидних зв'язків може бути зменшено, а кількість фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків може бути збільшено. У деяких варіантах реалізації кількість тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків може бути зменшено, а кількість фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків може бути збільшено при збереженні стійкості до дії нуклеаз. У деяких варіантах реалізації бажано зменшити кількість тіофосфатних міжнуклеозидних зв'язків при збереженні стійкості до дії нуклеаз. У деяких варіантах реалізації бажано збільшити кількість фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків при збереженні стійкості до дії нуклеаз.

Модифіковані цукрові фрагменти

Антисмислові сполуки можуть обов'язково містити один або більше нуклеозидів, в яких модифікована цукрова група. Зазначені нуклеозиди з модифікованим цукром можуть

60 забезпечувати підвищену стійкість до дії нуклеаз, підвищену афінність зв'язування або деякі

інші корисні біологічні властивості антисмислових сполук. У деяких варіантах реалізації нуклеозиди містять хімічно модифіковані фрагменти рибофуранозного кільця. Приклади хімічно модифікованих рибофуранозних кілець включають, без обмежень, додавання груп замісників (включаючи 5' і 2' групи замісників, сполуки місткових негемінальних кільцевих атомів з утворенням біциклічних нуклеїнових кислот (БНК), заміну рибозильного кільцевого атома кисню на S, N(R) або C(R₁)(R₂) (R, R₁ R₂, кожен незалежно, являють собою H, C₁-C₁₂ алкіл або захисну групу) та їх комбінації. Приклади хімічно модифікованих цукрів включають 2'-F-5'-метилзаміщений нуклеозид (див. міжнародну заявку РСТ WO 2008/101157, опубліковану 8/21/08, де описані інші 5',2'-біс-заміщені нуклеозиди) або заміну рибозильного кільцевого атома кисню на S з додатковим заміщенням у 2'-положенні (див. опубліковану заявку на патент США US2005-0130923, опубліковану 16 червня 2005 року), або в альтернативному варіанті 5'-заміщення БНК (див. міжнародну заявку РСТ WO 2007/134181, опубліковану 11/22/07, де ЗНК заміщена, наприклад, 5'-метильної або 5'-вінільної групою).

Приклади нуклеозидів, що мають модифіковані цукрові фрагменти, що включають, без обмежень, нуклеозиди, які містять 5'-вінільні, 5'-метильні (R або S), 4'-S, 2'-F, 2'-OCH₃, 2'-OCH₂CH₃, 2'-OCH₂CH₂F і 2'-O(CH₂)₂OCH₃ групи замісників. Замісник у 2' положенні також може бути вибраний з аліла, аміно, азидо, тіо, О-аліла, О-С₁-С₁₀ алкіла, OCF₃, OCH₂F, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂-O-N(R_m)(R_n), O-CH₂-C(=O)-N(R_m)(R_n) і O-CH₂-C(=O)-N(R_i)-(CH₂)₂-N(R_m)(R_n), де кожен R_i, R_m R_n незалежно являє собою H або заміщений або незаміщений С₁-С₁₀ алкіл.

У цьому контексті "біциклічні нуклеозиди" відносяться до модифікованих нуклеозидів, які містять біциклічний цукровий фрагмент. Приклади біциклічних нуклеозидів включають без обмеження нуклеозиди, що містять місток між 4' і 2' атомами рибозильного кільця. У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки, запропоновані в цьому документі, містять один або більше біциклічних нуклеозидів, що містять 4'-2' місток. Приклади таких біциклічних нуклеозидів з 4'-2' мотиками включають, але не обмежуються однією з формул: 4'-(CH₂)-O-2' (ЗНК); 4'-(CH₂)-S-2'; 4'-(CH₂)₂-O-2' (ЕНК); 4'-CH(CH₃)-O-2' (також звана стерично затрудненим етилом або cEt) і 4'-CH(CH₂OCH₃)-O-2' (і їх аналоги, див. патент США 7399845, виданий 15 липня 2008 року); 4'-C(CH₃)(CH₃)-O-2' (і їх аналоги, див. опубліковану міжнародну заявку WO 2009/006478, опублікований 8 січня 2009 року); 4'-CH₂-N(OCH₃)-2' (і їх аналоги, див. опубліковану міжнародну заявку WO/2008/150729, опубліковану 11 грудня 2008 року); 4'-CH₂-O-N(CH₃)-2' (див. опубліковану заявку на патент США US2004-0171570, опубліковану 2 вересня 2004 року); 4'-CH₂-N(R)-O-2', де R являє собою H, С₁-С₁₂ алкіл або захисну групу (див. патент США 7427672, виданий 23 вересня 2008 року); 4'-CH₂-C(H)(CH₃)-2' (див. Zhou et al., J. Org. Chem., 2009, 74, 118-134); і 4'-CH₂-C(=CH₂)-2' (і їх аналоги, див. опубліковану міжнародну заявку WO 2008/154401, опубліковану 8 грудня 2008 року).

Подальші повідомлення, пов'язані з біциклічними нуклеозидами можуть також бути знайдені в опублікованій літературі (див., наприклад: Singh et al., Chem. Commun., 1998, 4, 455-456; Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630; Wahlestedt et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2000, 97, 5633-5638; Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222; Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039; Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26) 8362-8379; Elayadi et al., Curr. Opinion Invest. Drugs, 2001, 2, 558-561; Braasch et al., Chem. Biol., 2001, 8, 1-7; и Orum et al., Curr. Opinion Mol. Ther., 2001, 3, 239-243; патенти США № 6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 7034133; 7053207; 7399845; 7547684;

8530640; і 7696345; публікації патентів США № US2008-0039618; US2009-0012281; патенти США з серійними номерами 61/026995 і 61/097787; опубліковані міжнародні заявки РСТ; WO 2009/067647; WO 2011/017521; WO 2010/036698 WO 1999/014226; WO 2004/106356; WO 2005/021570; WO 2007/134181; WO 2008/150729; WO 2008/154401; WO 2009/006478. Кожен із зазначених біциклічних нуклеозидів можна отримати, маючи одну або більше стереохімічну цукрову конфігурацію, що включають, наприклад, α-L-рибофуранозу і β-D-рибофуранозу (див. міжнародну заявку РСТ РСТ/DK98/00393, опубліковану 25 березня 1999 як WO 99/14226).

У деяких варіантах реалізації біциклічні цукрові фрагменти нуклеозидів БНК включають, але не обмежуються ними, сполуки, які, мають щонайменше один місток між 4' і 2' положенням пентофуранозильного цукрового фрагмента, де такі містки незалежно містять 1 або від 2 до 4 зв'язаних груп, незалежно вибраних з -[C(R_a)(R_b)]_n-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=O)-, -C(=NR_a)-, -C(=S)-, O-, -Si(R_a)₂-, -S(=O)_x- -N(R_a)-;

де:

x дорівнює 0, 1 або 2;

n дорівнює 1, 2, 3 або 4;

кожен R_a R_b незалежно являє собою H, захисну групу, гідроксил, С₁-С₁₂ алкіл, заміщений С₁-С₁₂ алкіл, С₂-С₁₂ алкеніл, заміщений С₂-С₁₂ алкеніл, С₂-С₁₂ алкініл, заміщений С₂-С₁₂ алкініл,

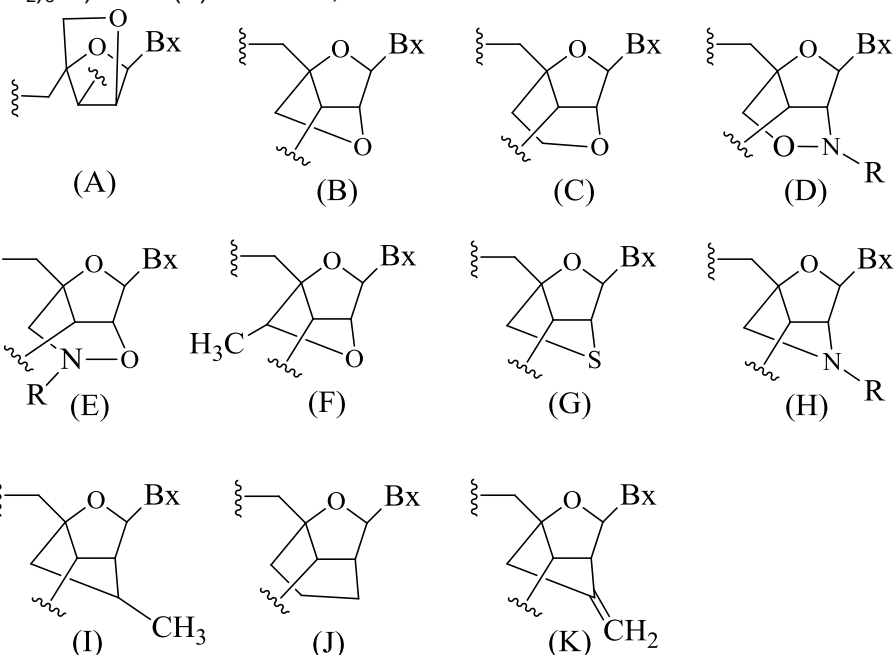
C_5 - C_{20} арил, заміщений C_5 - C_{20} арил, гетероциклічний радикал, заміщений гетероциклічний радикал, гетероарил, заміщений гетероарил, C_5 - C_7 аліциклічний радикал, заміщений C_5 - C_7 аліциклічний радикал, галоген, OJ_1 , NJ_1J_2 , SJ_1 , N_3 , $COOJ_1$, ацил ($C(=O)-H$), заміщений ацил, CN , сульфоніл ($S(=O)_2J_1$) або сульфоксил ($S(=O)-J_1$);

5 кожен J_1 J_2 незалежно являє собою H , C_1 - C_{12} алкіл, заміщений C_1 - C_{12} алкіл, C_2 - C_{12} алкеніл, заміщений C_2 - C_{12} алкеніл, C_2 - C_{12} алкініл, заміщений C_2 - C_{12} алкініл, C_5 - C_{20} арил, заміщений C_5 - C_{20} арил, ацил ($C(=O)-H$), заміщений ацил, гетероциклічний радикал, заміщений гетероциклічний радикал, C_1 - C_{12} аміноалкіл, заміщений C_1 - C_{12} аміноалкіл або захисну групу.

10 У деяких варіантах реалізації місток біциклічних цукрового фрагмента являє собою $-[C(R_a)(R_b)]_n-$, $-[C(R_a)(R_b)]_n-O-$, $-C(R_aR_b)-N(R)-O-$ або $-C(R_aR_b)-O-N(R)-$. У деяких варіантах реалізації місток являє собою $4'-CH_2-2'$, $4'-(CH_2)_2-2'$, $4'-(CH_2)_3-2'$, $4'-CH_2-O-2'$, $4'-(CH_2)_2-O-2'$, $4'-CH_2-O-N(R)-2'$ і $4'-CH_2-N(R)-O-2'$, де кожен R незалежно являє собою H , захисну групу або C_1 - C_{12} алкіл.

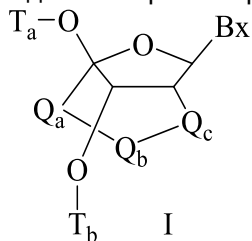
15 У деяких варіантах реалізації біциклічні нуклеозиди додатково визначають за ізомерною конфігурацією. Наприклад, нуклеозид, що містить місток $4'-2'$ -метиленокси, може бути в α -L конфігурації або в β -D конфігурації. Раніше α -L-метиленокси ($4'-CH_2-O-2'$) БНК були впроваджені в антисмислові олігонуклеотиди, які демонстрували антисмислову активність (Frieden et al., Nucleic Acids Research, 2003, 21, 6365-6372).

20 У деяких варіантах реалізації біциклічні нуклеозиди включають, але не обмежуються ними, (A) α -L-метиленокси ($4'-CH_2-O-2'$) БНК, (B) β -D-метиленокси ($4'-CH_2-O-2'$) БНК (C) етиленокси ($4'-(CH_2)_2-O-2'$) БНК (D) аміноокси ($4'-CH_2-O-N(R)-2'$) БНК (E) оксіаміно ($4'-CH_2-N(R)-O-2'$) БНК і (F) метил(метиленокси) ($4'-CH(CH_3)-O-2'$) БНК (G) метилентіо ($4'-CH_2-S-2'$) БНК, (H) метиленаміно ($4'-CH_2-N(R)-2'$) БНК (I) метилкарбоциклічні ($4'-CH_2-CH(CH_3)-2'$) БНК (J) пропіленкарбоциклічні ($4'-(CH_2)_3-2'$) БНК і (K) вініл БНК, як показано нижче:



25 де Bx являє собою фрагмент основи, а R незалежно являє собою H , захисну групу, C_1 - C_{12} алкіл або C_1 - C_{12} алкокси.

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу I:



де:

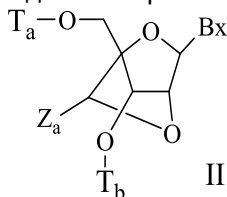
Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

$-Q_aQ_bQ_c-$ являє собою $-CH_2-N(R_c)-CH_2-$, $-C(=O)-N(R_c)-CH_2-$, $-CH_2-O-N(R_c)-$, $-CH_2-N(R_c)-O-$ або $-N(R_c)-O-CH_2-$;

R_c являє собою C_1 - C_{12} алкіл або амінозахисну групу;

T_a і T_b , кожен незалежно, являють собою Н, гідроксил-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентне приєднання до середовища підкладки.

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу II:



де:

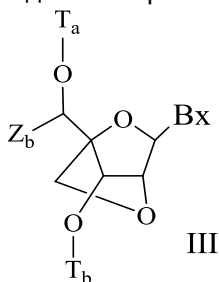
Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

T_a T_b , кожен незалежно, являють собою Н, гідрокси-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентне приєднання до середовища підкладки;

Z_a являє собою C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_2 - C_6 алкеніл, заміщений C_2 - C_6 алкініл, ацил, заміщений ацил, заміщений амід, тиол або заміщений тіо.

В одному з варіантів реалізації кожна з заміщених груп незалежно є моно або полізаміщеною групами замісників, вибраних з галогену, оксо, гідроксилу, OJ_c , NJ_cJ_d , SJ_c , N_3 , $^{\circ}C(=X)J_c$, $NJ_eC(=X)NJ_cJ_d$, де кожен J_c , J_d , J_e незалежно являє собою Н, C_1 - C_6 алкіл або заміщений C_1 - C_6 алкіл, і X являє собою О або NJ_c .

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу III:



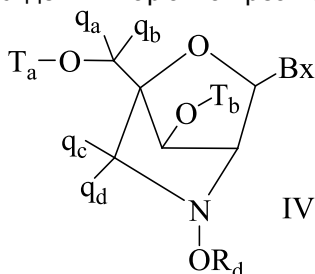
де:

Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

T_a T_b , кожен незалежно, являють собою Н, гідрокси-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентне приєднання до середовища підкладки;

Z_b являє собою C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_2 - C_6 алкеніл, заміщений C_2 - C_6 алкініл або заміщений ацил ($C(=O)-$).

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу IV:



де:

Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

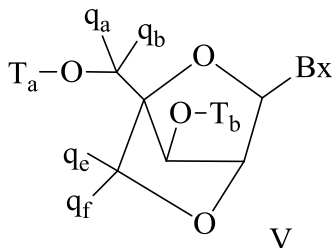
T_a T_b , кожен незалежно, являють собою Н, гідрокси-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентне приєднання до середовища підкладки;

R_d представляє собою C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, заміщений C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл або заміщений C_2 - C_6 алкініл;

кожен q_a q_b q_c q_d незалежно являє собою Н, галоген, C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, заміщений C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл або заміщений C_2 - C_6 алкініл, C_1 - C_6

алкоксил, заміщений C₁-C₆ алкоксил, ацил, заміщений ацил, C₁-C₆ аміноалкіл або заміщений C₁-C₆ аміноалкіл;

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу V:



де:

Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

T_a T_b, кожен незалежно, являють собою H, гідрокси-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентное приєднання до середовища підкладки;

qa qb, qe qf, кожен незалежно, являють собою водень, галоген, C₁-C₁₂ алкіл, заміщений C₁-C₁₂ алкіл, C₂-C₁₂ алкеніл, заміщений C₂-C₁₂ алкеніл, C₂-C₁₂ алкініл, заміщений C₂-C₁₂ алкініл, C₁-C₁₂ алкокси, заміщений C₁-C₁₂ алкокси, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)NJJ_k, N(H)C(=NH)NJJ_k, N(H)C(=O)NJJ_k або N(H)C(=S)NJJ_k;

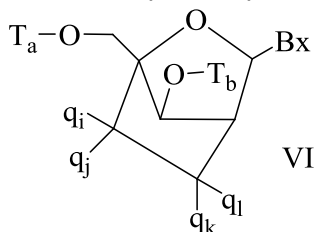
або qe qf разом являють собою =C(q_g)(q_h);

q_g q_h, кожен незалежно, являє собою H, галоген, C₁-C₁₂ алкіл або заміщений C₁-C₁₂ алкіл.

Описано синтез та отримання метиленокси (4'-CH₂-O-2') мономерів БНК: аденіну, цитозину, гуаніну, 5-метилцитозину, тиміну і урацилу, а також їх олігомеризація і властивості розпізнавання нуклеїнових кислот (Koshkin et al., Tetrahedron, 1998, 54, 3607-3630). БНК та їх отримання також описані в WO 98/39352 і WO 99/14226.

Були також отримані аналоги метиленокси (4'-CH₂-O-2') БНК і 2'-тіо-БНК (Kumar et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, 2219-2222). Описано також отримання аналогів замкнених нуклеозидів, що містять олігодезоксирибонуклеотидні дуплекси в якості субстратів полімераз нуклеїнових кислот (Wengel et al., WO 99/14226). Крім того, у цій області техніки описаний синтез 2'-аміно-БНК, нового конформаційно обмеженого високоафінного аналогу олігонуклеотиду (Singh et al., J. Org. Chem., 1998, 63, 10035-10039). Крім того, раніше були отримані 2'-аміно- і 2'-метиленаміно БНК, і була описана термостабільність їх дуплексів з комплементарними ланцюгами РНК і ДНК.

У деяких варіантах реалізації представлені біциклічні нуклеозиди, що мають формулу VI:



де:

Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

T_a T_b, кожен незалежно, являють собою H, гідрокси-захисну групу, групу кон'югату, реакційноздатну фосфорну групу, фосфорний фрагмент або ковалентное приєднання до середовища підкладки;

кожен qi qj qk ql незалежно являє собою H, галоген, C₁-C₁₂ алкіл, заміщений C₁-C₁₂ алкіл, C₂-C₁₂ алкеніл, заміщений C₂-C₁₂ алкеніл, C₂-C₁₂ алкініл, заміщений C₂-C₁₂ алкініл, C₁-C₁₂ алкоксил, заміщений C₁-C₁₂ алкоксил, OJ_j, SJ_j, SOJ_j, SO₂J_j, NJJ_k, N₃, CN, C(=O)OJ_j, C(=O)NJJ_k, C(=O)J_j, O-C(=O)NJJ_k, N(H)C(=NH)NJJ_k, N(H)C(=O)NJJ_k або N(H)C(=S)NJJ_k; і

qi qj або qk ql разом являють собою =C(q_g)(q_h), де q_g q_h, кожен незалежно, являють собою H, галоген, C₁-C₁₂ алкіл або заміщений C₁-C₁₂ алкіл.

Описаний один карбоциклічний біциклічний нуклеозид, який має місток 4'-(CH₂)₃-2', і місток з аналога алкенілу 4'-CH=CH-CH₂-2' (Freier et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4429-4443 і Albaek et al., J. Org. Chem., 2006, 71, 7731-7740). Описаний також синтез та отримання карбоциклічних біциклічних нуклеозидів разом з їх олігомеризацією і біохімічними дослідженнями (Srivastava et al., J. Am. Chem. Soc., 2007, 129(26), 8362-8379).

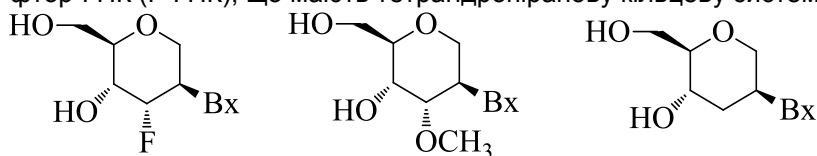
У цьому контексті "4'-2' біциклічний нуклеозид" або "4' до 2' біциклічний нуклеозид"

відноситься до біциклічного нуклеозиду, який містить фуранозне кільце, що містить місток, який з'єднує два атоми вуглецю фуранозного кільця, що з'єднує 2' атом вуглецю і 4' атом вуглецю цукрового кільця.

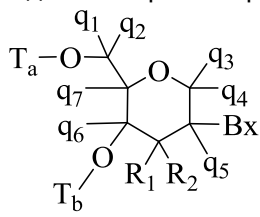
У цьому контексті "моноциклічні нуклеозиди" відносяться до нуклеозидів, що містять модифіковані цукрові фрагменти, які не є біциклічними цукровими фрагментами. У деяких варіантах реалізації цукровий фрагмент або аналог цукрового фрагмента нуклеозиду може бути модифікований або заміщений в будь-якому положенні.

У цьому контексті "2'-модифікований цукор" означає фуранозильний цукор, модифікований в 2' положенні. У деяких варіантах реалізації такі модифікації включають замісники, обрані з: галогенідів, включаючи, не обмежуючись ними, заміщений і незаміщений алкокси, заміщений і незаміщений тіоалкіл, заміщений і незаміщений аміноалкіл, заміщений і незаміщений алкіл, заміщений і незаміщений аліл і заміщений і незаміщений алкініл. У деяких варіантах реалізації 2' модифікації обрані із замісників, що включають, не обмежуючись ними: $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$, $O(CH_2)_nNH_2$, $O(CH_2)_nCH_3$, $O(CH_2)_nF$, $O(CH_2)_nONH_2$, $OCH_2C(=O)N(H)CH_3$ и $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$, де n та m дорівнюють від 1 до близько 10. Інші 2' групи замісників також можуть бути обрані з: C_1 - C_{12} алкілу, заміщеного алкілу, алкенілу, алкінілу, алкарилу, аралкілу, О-алкарилу або О-аралкілу, SH, SCH₃, OCN, Cl, Br, CN, F, CF₃, OCF₃, SOCH₃, SO₂CH₃, ONO₂, NO₂, N₃, NH₂, гетероциклоалкілу, гетероциклоалкарилу, аміноалкіламіно, поліалкіламіно, заміщеного силілу, групи, що розщеплює РНК, репортерної групи, інтеркалятора, групи для поліпшення фармакокінетичних властивостей або групи для поліпшення фармакодинамічних властивостей антисмислової сполуки, і інших замісників з подібними властивостями. У деяких варіантах реалізації модифіковані нуклеозиди містять 2'-MOE бічний ланцюг (Baker et al., J. Товарbiol. Chem., 1997, 272, 11944-12000). Такі 2'-MOE заміщення описані як поліпшують афінність зв'язування порівняно з немодифікованими нуклеозидами і з іншими модифікованими нуклеозидами, такими як 2'- О-метил, О-пропіл та О-амінопропіл. Було показано, що олігонуклеотиди, мають 2'-MOE замісник, які є антисмисловими інгібіторами експресії генів з перспективними можливостями для застосування in vivo (Martin, Helv. Chim. Acta, 1995, 78, 486-504; Altmann et al., Chimia, 1996, 50, 168-176; Altmann et al., Biochem. Soc. Trans., 1996, 24, 630-637; та Altmann et al., Nucleosides Nucleotides, 1997, 16, 917-926).

У цьому контексті "модифікований тетрагідропірановий нуклеозид" або "модифікований ТГП нуклеозид" означає нуклеозид, що має шестичленний тетрагідропірановий "цукор", що замінив пентофуранозильний залишок у звичайних нуклеозидах (замінник цукру). ТГП-модифіковані нуклеозиди включають, але не обмежуються ними, ті, які в даній області техніки називають гекситоловою нуклеїновою кислотою (ГНК), анитоловою нуклеїновою кислотою (АНК), манитоловою нуклеїновою кислотою (МНК) (див. Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854) або фтор-ГНК (F-ГНК), що мають тетрагідропіранову кільцеву систему, представлену нижче:



У деяких варіантах реалізації обрані замісники цукру, мають формулу VII:



VII

де незалежно для кожного з зазначеного щонайменше одного тетрагідропіранового нуклеозидного аналога формули VII:

Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

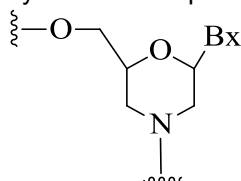
Ta Tb, кожен незалежно, являють собою міжнуклеозидну лінкерну групу, яка зв'язує тетрагідропірановий нуклеозидний аналог з антисмисловим сполукам, або один з Ta Tb являє собою міжнуклеозидну лінкерну групу, яка зв'язує тетрагідропірановий нуклеозидний аналог з антисмисловою сполукою, а інший з Ta Tb являє собою H, гідроксил-захисну групу, зв'язану групу кон'югату або 5' 3'-кінцеву групу;

q1 q2 q3 q4 q5 q6 q7, кожен незалежно, являють собою H, C₁-C₆ алкіл, заміщений C₁-C₆ алкіл, C₂-C₆ алкеніл, заміщений C₂-C₆ алкеніл, C₂-C₆ алкініл або заміщений C₂-C₆ алкініл; і кожен з R₁ R₂ вибраний з водню, гідроксилу, галогену, заміщеного або незаміщеного алкокси, NJ₁J₂, SJ₁,

N_3 , $^{\circ}C(=X)J_1$, $^{\circ}C(=X)NJ_1J_2$, $NJ_3C(=X)NJ_1J_2$ CN, де X являє собою O, S або NJ_1 , і кожен J_1 , J_2 и J_3 незалежно являє собою H або C_1-C_6 алкіл.

У деяких варіантах реалізації запропоновано модифіковані ТГП нуклеозиди формули VII, де q_1 q_2 q_3 q_4 q_5 q_6 q_7 являють собою H. У деяких варіантах реалізації щонайменше один з q_1 q_2 q_3 q_4 q_5 q_6 q_7 є відмінним від H. У деяких варіантах реалізації щонайменше один з q_1 q_2 q_3 q_4 q_5 q_6 q_7 являє собою метил. У деяких варіантах реалізації запропоновані ТГП нуклеозиди формули VII, де один з R_1 R_2 являє собою фтор. У деяких варіантах реалізації R_1 являє собою фтор, а R_2 являє собою H; R_1 являє собою метокси, а R_2 являє собою H, R_1 являє собою метоксиетокси, а R_2 являє собою H.

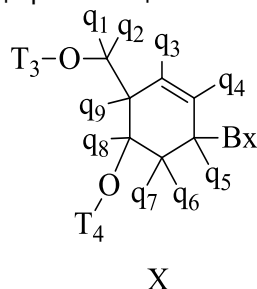
у деяких варіантах реалізації замінники цукру містять кільця, що мають більше 5 атомів і більше одного гетероатому. Наприклад, описані нуклеозиди, що містять морфоліносахарні фрагменти, та їх застосування в олігомерних сполуках (див., наприклад: Braasch et al., *Biochemistry*, 2002, 41, 4503-4510; і патенти США 5698685; 5166315; 5185444; і 5034506). У цьому контексті термін "морфоліно" означає замінник цукру, який має наступну формулу:



У деяких варіантах реалізації морфоліно можуть бути модифікованими, наприклад, шляхом додавання або зміною різних груп замісників щодо представленої вище структури морфоліно. Такі замінники цукру в цьому контексті називають "модифікованими морфоліно".

Запропоновані також комбінації модифікацій, без обмеження, такі як 2'-F-5'-метил-заміщені нуклеозиди (див. міжнародну заявку PCT WO 2008/101157, опубліковану 8/21/08, де описані інші 5', 2'-біс-заміщені нуклеозиди) і заміну рибозильного кільцевого атома кисню на S із додатковим заміщенням у 2'-положенні (див. опубліковану заявку на патент США US2005-0130923, опубліковану 16 червня 2005 року) або в альтернативному варіанті 5'-заміщенням біциклічної нуклеїнової кислоти (див. міжнародну заявку PCT WO 2007/134181, опубліковану 11/22/07, де 4'- CH_2 -O-2' біциклічний нуклеозид додатково заміщений в 5' положенні 5'-метильною або 5'-вінільною групою). Описаний також синтез та отримання карбоциклічних біциклічних нуклеозидів разом з їх олігомеризацією і біохімічними дослідженнями (див. наприклад, Srivastava et al., *J. Am. Chem. Soc.* 2007, 129(26), 8362-8379).

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки містять один або більше модифікованих циклогексенільних нуклеозидів, які являють собою нуклеозиди, що мають шестичленний циклогексеніл замість пентофуранозильного залишку в природних нуклеозидах. Модифіковані циклогексенільні нуклеозиди включають, але не обмежуються ними, нуклеозиди, описані в цій області техніки (див., наприклад, паралельну опубліковану заявку PCT WO 2010/036696, опубліковану 10 квітня, 2010, Robeyns et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2008, 130(6), 1979-1984; Horváth et al., *Tetrahedron Letters*, 2007, 48, 3621-3623; Nauwelaerts et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 2007, 129(30), 9340-9348; Gu et al., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2005, 24(5-7), 993-998; Nauwelaerts et al., *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(8), 2452-2463; Robeyns et al., *Acta Crystallographica, Section F: Structural Biology and Crystallization Communications*, 2005, F61(6), 585-586; Gu et al., *Tetrahedron*, 2004, 60(9), 2111-2123; Gu et al., *Oligonucleotides*, 2003, 13(6), 479-489; Wang et al., *J. Org. Chem.*, 2003, 68, 4499-4505; Verbeure et al., *Nucleic Acids Research*, 2001, 29(24), 4941-4947; Wang et al., *J. Org. Chem.*, 2001, 66, 8478-82; Wang et al., *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*, 2001, 20(4-7), 785-788; Wang et al., *J. Am. Chem.*, 2000, 122, 8595-8602; опубліковану заявку PCT WO 06/047842; і опубліковану заявку PCT WO 01/049687; повний зміст кожної з яких включено в справжній документ за допомогою посилання). Деякі модифіковані циклогексенільні нуклеозиди мають формулу X.



X

де незалежно для кожного зазначеного щонайменше одного циклогексенільного

нуклеозидного аналога формули X:

Вх являє собою фрагмент гетероциклічної основи;

T_3 T_4 , кожен незалежно, являють собою міжнуклеозидн лінкерну групу, яка зв'язує циклогексенільний нуклеозидний аналог з антисмисловою сполукою, або один з T_3 T_4 являє собою міжнуклеозидну лінкерну групу, яка зв'язує тетрагідропірановий нуклеозидний аналог з антисмисловими сполуками, а інший з T_3 T_4 являє собою Н, гідроксил-захисну групу, зв'язану групу кон'югату або 5'-і 3'-кінцеву групу;

q_1 q_2 q_3 q_4 q_5 q_6 q_7 q_8 q_9 , кожен незалежно, являють собою Н, C_1 - C_6 алкіл, заміщений C_1 - C_6 алкіл, C_2 - C_6 алкеніл, заміщений C_2 - C_6 алкеніл, C_2 - C_6 алкініл, заміщений C_2 - C_6 алкініл або інші групи-замісники цукру.

У цьому контексті "2'-модифікований" або "2'-заміщений" відноситься до нуклеозиду, який містить цукор, що містить замісник у 2' положенні, відмінний від Н або ОН. 2'-модифіковані нуклеозиди включають, але не обмежуються ними, біциклічні нуклеозиди, в яких місток, що з'єднує два атоми вуглецю цукрового кільця, з'єднує 2' атом вуглецю та інший атом вуглецю цукрового кільця; та нуклеозиди з немістковими 2' замісниками, такими як аліл, аміно, азидо, тіо, О-аліл, О- C_1 - C_{10} алкіл, $-OCF_3$, О- $(CH_2)_2$ -О- CH_3 , 2'-О $(CH_2)_2SCH_3$, О- $(CH_2)_2$ -О- $N(R_m)(R_n)$, або О- CH_2 - $C(=O)$ - $N(R_m)(R_n)$, де кожен R_m R_n незалежно являє собою Н або заміщений або незаміщений C_1 - C_{10} алкіл. 2'-модифіковані нуклеозиди можуть також містити інші модифікації, наприклад, в інших положеннях цукру і/або азотистої основи.

У цьому контексті "2'-F" відноситься до нуклеозиду, який містить цукор, що містить групу фтору у 2' положенні цукрового кільця.

У цьому контексті "2'-OMe" або "2'-OCH₃", або "2'-О-метил" відноситься до нуклеозиду, який містить цукор, що містить групу -OCH₃ у 2' положенні цукрового кільця.

У цьому контексті "MOE" або "2'-MOE", або "2'-OCH₂CH₂OCH₃", або "2'-О-метоксіетил" відноситься до нуклеозиду, який містить цукор, що містить групу -OCH₂CH₂OCH₃ у 2' положенні цукрового кільця.

У цьому контексті "олігонуклеотид" відноситься до сполуки, що містить безліч зв'язаних нуклеозидів. У деяких варіантах реалізації один або більше з безлічі нуклеозидів є модифікованими. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотид містить один або більше рибонуклеозидів (РНК) та/або дезоксирибонуклеозидів (ДНК).

У цій області техніки відомі також багато інших біциклічних і трициклічних кільцевих систем заміників цукру, які можуть бути використані для модифікації нуклеозидів для впровадження в антисмислові сполуки (див., наприклад, оглядову статтю: Leumann, Bioorg. Med. Chem., 2002, 10, 841-854). Такі кільцеві системи можуть піддаватися різним додатковим заміщенням для підвищення активності.

Способи одержання модифікованих цукрів добре відомі фахівцям в цій області техніки. Деякі ілюстративні патенти США, які описують отримання таких модифікованих цукрів, включають, без обмежень, патенти США: 4981957; 5118800; 5319080; 5359044; 5393878; 5446137; 5466786; 5514785; 5519134; 5567811; 5576427; 5591722; 5597909; 5610300; 5627053; 5639873; 5646265; 5670633; 5700920; 5792847 і 6600032, а також міжнародну заявку РСТ/US2005/019219, подану 2 червня 2005 року та опублікованої як WO 2005/121371 22 грудня 2005 року, повний зміст кожного з які включено в справжній документ за допомогою посилання.

У нуклеотидах, які мають модифіковані цукрові фрагменти, фрагменти азотистих основ (природні, модифіковані або їх комбінації) зберігаються для гібридизації з відповідною нуклеїновою кислотою-мішенню.

У деяких варіантах реалізації антисмислові сполуки містять один або більше нуклеозидів, що мають модифіковані цукрові фрагменти. У деяких варіантах реалізації модифікований цукровий фрагмент являє собою 2'-MOE. У деяких варіантах реалізації 2'-MOE модифіковані нуклеозиди розташовані в гепмерному мотиві. У деяких варіантах реалізації модифікований цукровий фрагмент являє собою біциклічний нуклеозид, який має місткову групу (4'-CH(CH₃)-O-2'). У деяких варіантах реалізації (4'-CH(CH₃)-O-2') модифіковані нуклеозиди розташовані в крилах гепмерного мотиву.

Модифіковані азотисті основи

Модифікації або заміщення азотистої основи (або основи) структурно відрізняються і функціонально взаємозамінні з природними або синтетичними немодифікованими азотистими основами. Природні модифіковані азотисті основи можуть брати участь у водневому зв'язуванні. Такі модифікації азотистих основ можуть впливати на стабільність до дії нуклеаз, афінність зв'язування або деякі інші корисні біологічні властивості антисмислових сполук. Модифіковані азотисті основи включають синтетичні і природні азотисті основи, такі як, наприклад, 5-метилцитозин (5-me-C). Деякі заміщення азотистих основ, включаючи 5-

метилцитозиніві заміщення, особливо підходять для підвищення афінності зв'язування антисмислової сполуки з нуклеїною кислотою-мішенню. Наприклад, було показано, що 5-метилцитозиніві заміщення підвищують стабільність дуплексу нуклеїнової кислоти на 0,6-1,2 °C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. i Lebleu, B., ред., *Antisense Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, сс. 276-278).

Додаткові модифіковані азотисті основи включають 5-гідроксиметилцитозин, ксантин, гіпоксантин, 2-аминоаденін, 6-метил та інші алкільні похідні аденіну і гуаніну, 2-пропіл і інші алкільні похідні аденіну і гуаніну, 2-тіоурацил, 2-тіотимін і 2-тіоцитозин, 5-галогенурацил і цитозин, 5-пропініл ($-C\equiv C-CH_3$) урацил і цитозин і інші алкінільні похідні піримідинових основ, 6-азоурацил, цитозин і тимін, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тіоурацил, 8-галоген, 8-аміно, 8-тіол, 8-тіоалкил, 8-гідроксил і інші 8-заміщені аденіни і гуаніни, 5-галоген, зокрема, 5-бром, 5-трифторметил і інші 5-заміщені урацили і цитозини, 7-метилгуанін і 7-метиладенін, 2-F-аденін, 2-аміноаденін, 8-азагуанін і 8-азааденін, 7-дезазагуанін і 7-дезазааденін, і 3-дезазагуанін і 3-дезазааденін.

Фрагменти гетероциклічних основ також можуть включати ті, в яких пуринова або піримідинова основа замінена іншими гетероциклами, наприклад, 7-дезазааденін, 7-дезазагуанозин, 2-амінопіридин і 2-піридон. Азотисті основи, які особливо підходять для підвищення афінності зв'язування антисмислової сполуки, включають 5-заміщені піримідини, 6-азаппіримідини і N-2 N-6 і O-6 заміщені пурини, включаючи 2-амінопропіладенін, 5-пропінілурацил і 5-пропінілцитозин.

У деяких варіантах реалізації антисмислової сполуки, спрямовані на нуклеїнову кислоту CFB, містять одну або більше модифікованих азотистих основ. У деяких варіантах реалізації укорочені або геп-розширені антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту CFB, містять одне або більше модифікованих азотистих основ. У деяких варіантах реалізації модифікована азотиста основа являє собою 5-метилцитозин. У деяких варіантах реалізації кожен цитозин являє собою 5-метилцитозин.

Спряжені антисмислові сполуки

У деяких варіантах реалізації цього опису запропоновані спряжені антисмислові сполуки. У деяких варіантах реалізації цього опису запропоновані спряжені антисмислові сполуки, які містять антисмисловий олігонуклеотид, комплементарний транскрипту нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах реалізації цього опису запропоновані способи, що включають приведення в контакт клітини з парним антисмисловою сполукою, що містить антисмисловий олігонуклеотид, комплементарний транскрипту нуклеїнової кислоти. У деяких варіантах реалізації цього опису запропоновані способи, що включають приведення в контакт клітини з парною антисмисловою сполукою, що містить антисмисловий олігонуклеотид, і зменшення кількості або активності транскрипту нуклеїнової кислоти в клітині.

Раніше був описаний асіалоглікопротеїновий рецептор (ASGP-R). Див. наприклад, Park et al., *PNAS*, тому. 102, № 47, сс. 17125-17129 (2005). Такі рецептори експресуються на клітинах печінки, зокрема, гепатоцитах. Крім того, було показано, що сполуки, що містять кластери трьох N-ацетилгалактозамінових (GalNAc) лігандів, здатні зв'язуватися з ASGP-R, приводячи до захоплення зазначеної сполуки в клітку. Див., наприклад, Khorev et al., *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16, 9, сс. 5216-5231 (May, 2008). Відповідно, кон'югати, що містять такі кластери GalNAc, використовували для полегшення захоплення деяких сполук у клітини печінки, зокрема, гепатоцитах. Наприклад, було показано, що деякі кон'югати які містять GalNAc збільшують активність дуплексних міРНК сполук у клітинах печінки *in vivo*. У таких випадках кон'югат який містить GalNAc, як правило, прикріплюється до смислової спіралі дуплексу міРНК. Оскільки смислова спіраль відкидається перед остаточною гібридизацією антисмислової спіралі з нуклеїнової кислотою-мішенню, то мало ймовірно, що такий кон'югат буде впливати на активність. Як правило, кон'югат приєднується до 3'-кінця смислової спіралі міРНК. Див. наприклад, патент США 8106022. Деякі групи кон'югату, описані в цьому документі, більш активні та/або синтезуються легше, ніж групи кон'югату, описані раніше.

У деяких варіантах реалізації цього винаходу кон'югати приєднуються до одноланцюгових антисмислових сполук, включаючи, але не обмежуючись ними, антисмислові сполуки на основі РНКази Н та антисмислові сполуки, які змінюють сплайсинг цільової нуклеїнової кислоти премРНК. У таких варіантах реалізації кон'югат повинен залишатися приєднаним до антисмислової сполуки досить довго для забезпечення переваги (покращеного захоплення в клітині), але потім він повинен або розщеплюватися, або іншим чином не перешкоджати подальшим стадіями, необхідним для активності, таким як гібридизація з цільовою нуклеїновою кислотою і взаємодія з РНКазою Н або ферментами, пов'язаними зі сплайсингом або моделюванням сплайсингу. Такий баланс властивостей більш важливий при осадженні одноланцюгових

антисмисенсних сполук, ніж сполук міРНК, де кон'югат може бути просто приєднаний до смислового ланцюга. У цьому документі описані одноланцюгові антисмислові сполуки, які мають покращену активність в клітинах печінки *in vivo*, порівняно з такою-самою антисмисловою сполукою, яка не має кон'югату. Враховуючи необхідний баланс властивостей цих сполук, така покращена активність є несподіваною.

У деяких варіантах реалізації групи кон'югату за цим документом містять фрагмент що розщеплюється. Як було відзначено, не обмежуючись якимось механізмом, логічно, що кон'югат повинен зберігатися у сполуки досить довго для забезпечення посилення захоплення, але після цього бажано, щоб певна його частина або, в ідеалі, весь кон'югат розщеплювався, виділяючи вихідну сполуку (наприклад, антисмислову сполуку) в її найбільш активній формі. У деяких варіантах реалізації фрагмент що розщеплюється являє собою нуклеозид що розщеплюється. Такі варіанти реалізації мають перевагу ендогенних нуклеаз у клітці за рахунок приєднання частини кон'югату (кластера) до антисенного олігонуклеотиду через нуклеозид за допомогою одного або більше зв'язків що розщеплюється, таких як фосфодіестерний зв'язок. У деяких варіантах реалізації кластер зв'язаний з нуклеозидом що розщеплюється через фосфодіестерний зв'язок. У деяких варіантах реалізації нуклеозид що розщеплюється приєднаний до антисмислового олігонуклеотиду (антисмисловій сполуці) фосфодіестерним зв'язком. У деяких варіантах реалізації група кон'югату може містити два або три нуклеозиду що розщеплюються. У таких варіантах реалізації зазначені нуклеозиди що розщеплюються зв'язані один з одним, з антисмисловою сполукою та/або з кластером за допомогою зв'язків що розщеплюються (таких як фосфодіестерний зв'язок). Деякі кон'югати за цим документом не містять нуклеозид що розщеплюється, а замість цього містять зв'язок що розщеплюється. Показано, що достатнє розщеплення кон'югату з олігонуклеотиду забезпечується щонайменше за рахунок одного зв'язку, який легко піддається розщепленню в клітині (зв'язок що розщеплюється).

У деяких варіантах реалізації зв'язані антисмислові сполуки являють собою проліки. Такі проліки вводять тварині, і вони в кінцевому підсумку метаболізуються до більш активної форми. Наприклад, спряжені антисмислові сполуки розщеплюються з видаленням всього або частини кон'югату, приводячи до активної (або більш активної) форми антисмислової сполуки, що не містить всього або частини кон'югату.

У деяких варіантах реалізації кон'югати приєднані у 5'-кінця олігонуклеотиду. Деякі такі 5'-кон'югати розщеплюються більш ефективно, ніж аналоги, які мають таку ж групу кон'югату, приєднану у 3'-кінця. У деяких варіантах реалізації покращена активність може корелювати з поліпшеним розщепленням. У деяких варіантах реалізації олігонуклеотиди, містять кон'югат у 5'-кінця, мають вищу ефективність, ніж олігонуклеотиди, містять кон'югат у 3'-кінця (див., наприклад, Приклади 56, 81, 83 і 84). Крім того, 5'-приєднання забезпечує більш простий синтез олігонуклеотиду. Як правило, олігонуклеотиди синтезують на твердій підкладці в напрямку від 3' до 5'. Для отримання 3'-сполученого олігонуклеотиду, як правило приєднують попередньо сполучений 3'-нуклеозид до твердої підкладки, а потім звичайним шляхом створюють олігонуклеотид. Однак приєднання такого сполученого нуклеозиду до твердої підкладки ускладнює синтез. Крім того, використовуючи такий підхід, кон'югат потім присутній в ході всього синтезу олігонуклеотиду і може руйнуватися під час наступних стадій або може обмежувати типи реакцій та реагентів, які можна використовувати. Використовуючи структури та методики, описані в цьому документі для 5'-сполучених олігонуклеотидів, можна синтезувати олігонуклеотид за допомогою стандартних автоматизованих методик і впроваджувати в кон'югат останній (5'-крайній) нуклеозид або після відділення олігонуклеотиду від твердої підкладки.

З урахуванням відомого рівня техніки і цього опису, фахівці в даній області техніки можуть легко отримати будь-які з кон'югатів та сполучених олігонуклеотидів, описаних у цьому документі. Крім того, синтез деяких таких кон'югатів та сполучених олігонуклеотидів, описаних у цьому документі, простіше і/або вимагає менше стадій і, отже, менш дорогий, ніж синтез раніше описаних кон'югатів, що дає перевагу при виробництві. Наприклад, синтез деяких груп кон'югату складається з меншої кількості синтетичних стадій, що приводить до збільшення виходу, порівняно з раніше описаними групами кон'югату. Групи кон'югатів, такі як GalNAc3-10 у Прикладі 46 і GalNAc3-7 у Прикладі 48 набагато простіше, ніж раніше описані кон'югати, такі як описано в публікаціях U.S. 8106022 або U.S. 7262177, для яких необхідне складання більшої кількості хімічних проміжних сполук. Відповідно, ці та інші кон'югати, описані в цьому документі, мають переваги у порівнянні з раніше описаними сполуками для застосування з будь-яким олігонуклеотидом, включаючи одноланцюгові олігонуклеотиди і будь-яку спіраль дволанцюгові олігонуклеотидів (наприклад, міРНК).

Також, в цьому документі описані групи кон'югатів, які мають тільки один або два ліганди GalNAc. Як показано, такі парні групи посилюють активність антисмислових сполук. Такі сполуки набагато простіше отримати, ніж кон'югати, що містять три ліганди GalNAc. Групи кон'югатів, які містять один або два ліганди GalNAc, можуть бути приєднані до будь-яких антисмислових сполук, включаючи одноланцюгові олігонуклеотиди і будь-який ланцюгдволанцюгових олігонуклеотидів (наприклад, міРНК).

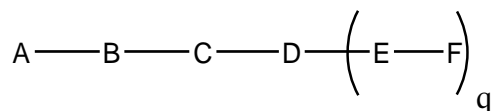
У деяких варіантах реалізації кон'югати, описані в цьому документі, суттєво не змінюють деякі показники переносимості. Наприклад, у цьому документі показано, що зв'язані антисмислові сполуки є імуногенними, ніж несполучені вихідні сполуки. Оскільки активність поліпшується, то варіанти реалізації, в яких переносимість залишається такою ж (або в дійсності якщо навіть погіршується переносимість лише незначно, в порівнянні з приростом активності), мають поліпшені характеристики для терапії.

У деяких варіантах реалізації сполучення дозволяє змінювати антисмислові сполуки так, щоб вони мали менш виражені наслідки у відсутність сполучення. Наприклад, у деяких варіантах реалізації заміна одного чи більше тіофосфатних зв'язків повністю тіофосфатної антисмислової сполуки на фосфодіестерні зв'язки приводить до покращення деяких показників переносимості. Наприклад, у деяких випадках такі антисмислові сполуки, що мають один або більше фосфодіестерів, є менш імуногенними, ніж такі ж сполуки, в яких кожен зв'язок являє собою тіофосфат. Проте у деяких випадках, як показано в Прикладі 26, таке ж заміщення одного чи більше тіофосфатних зв'язків на фосфодіестерні зв'язки призводить також до зниження клітинного захоплення та/або до зниження активності. У деяких варіантах реалізації зв'язані антисмислові сполуки, описані в цьому документі, допускають таку зміну зв'язків з невеликим зниженням або без зниження захоплення і активності, порівняно з парним повністю тіофосфатним аналогом. Насправді, у деяких варіантах реалізації, наприклад, у Прикладах 44, 57, 59 і 86, олігонуклеотиди, містять кон'югат і щонайменше одну фосфодіестерний міжнуклеозидний зв'язок, фактично демонструють підвищену активність *in vivo* навіть у порівнянні з повністю тіофосфатним аналогом, який також містить такий саме кон'югат. Більше того, оскільки сполучення призводить до значного збільшення захоплення /активності, то невелике зниження такого істотного приросту може бути прийнятним для досягнення покращеної переносимості. Відповідно, у деяких варіантах реалізації зв'язані антисмислові сполуки містять щонайменше один фосфодіестерний зв'язок.

У деяких варіантах реалізації сполучення антисмислових сполук за цим документом призводить до покращеної доставки, захоплення і активності в гепатоцитах. Отже, у тканину печінки доставляється більша кількість сполуки. Однак у деяких варіантах реалізації така поліпшена доставка сама по собі не пояснює загального збільшення активності. У деяких таких варіантах реалізації в гепатоцити надходить більша кількість сполуки. У деяких варіантах реалізації навіть таке покращене захоплення гепатоцитів сам по собі не пояснює загального збільшення активності. У таких варіантах реалізації збільшується продуктивне захоплення сполученої сполука. Наприклад, як показано в Прикладі 102, деякі варіанти реалізації кон'югатів що містять GalNAc збільшують збагачення антисених олігонуклеотидів у гепатоцитах, порівняно з не паренхимальними клітинами. Таке збагачення переважно для олігонуклеотидів, які спрямовані на гени, які експресуються в гепатоцитах.

У деяких варіантах реалізації спряжені антисмислові сполуки за цим документом призводять до зменшення впливу на нирки. Наприклад, як показано в Прикладі 20, концентрації антисмислових олігонуклеотидів, що містять деякі варіанти реалізації кон'югатів що містять GalNAc, в нирках нижче, ніж концентрації антисмислових олігонуклеотидів, кон'югату що не містять GalNAc. Це має кілька нагальних терапевтичних застосувань. Для терапевтичних показань, в яких не вимагається прояв активності в нирках, вплив на нирки піддає їх ризику токсичності без відповідної користі. Більш того, висока концентрація в нирках зазвичай приводить до виведення сполуки з сечею, забезпечуючи більш швидке виведення. Відповідно, для позаниркових мішеней накопичення в нирках є небажаним.

У деяких варіантах реалізації цього опису запропоновані спряжені антисмислові сполуки, представлені формулою:



де

A являє собою антисмисловий олігонуклеотид;

B являє собою фрагмент, що розщеплюється

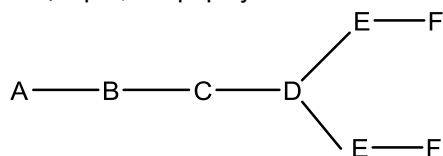
С являє собою лінкер кон'югату
 D являє собою групу розгалуження
 кожен E являє собою зв'язку;
 кожен F являє собою ліганд;

5 q являє собою ціле число від 1 до 5.

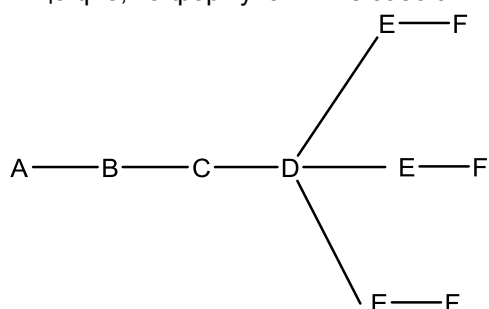
На представлений вище схемі та в аналогічних схемах у цьому документі група розгалуження "D" розгалужується таку кількість разів, що необхідно для відповідності кількості груп (E-F), вказаної кількості "q". Отже, якщо q=1, то формула являє собою:

10 A — B — C — D — E — F

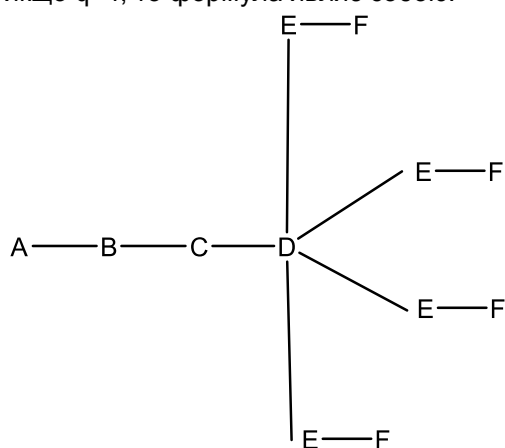
якщо q=2, то формула являє собою:



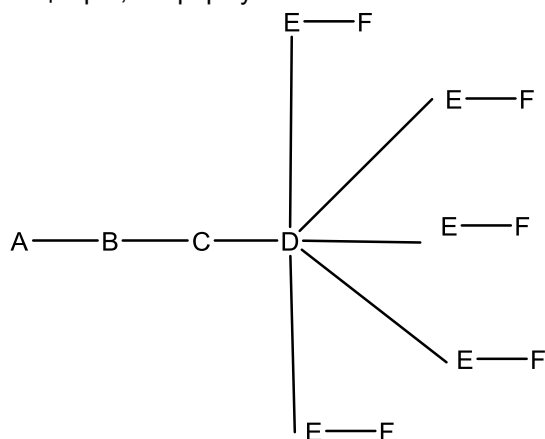
якщо q=3, то формула являє собою:



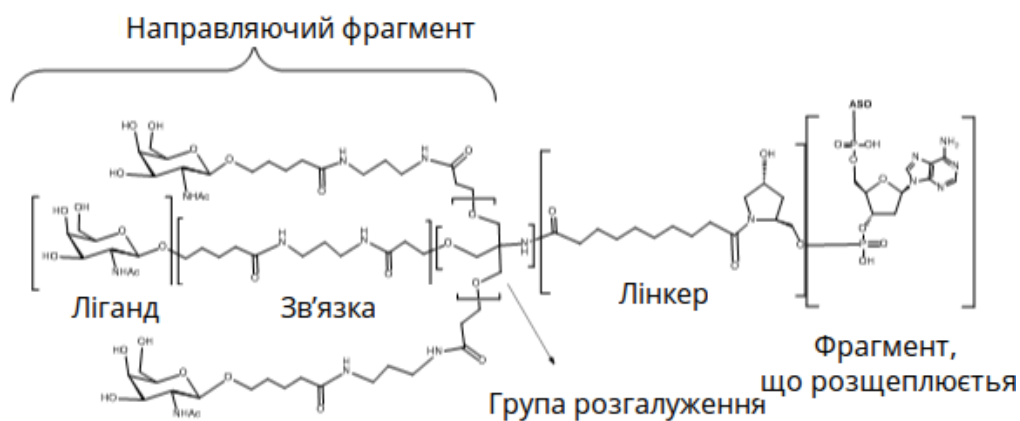
якщо q=4, то формула являє собою:



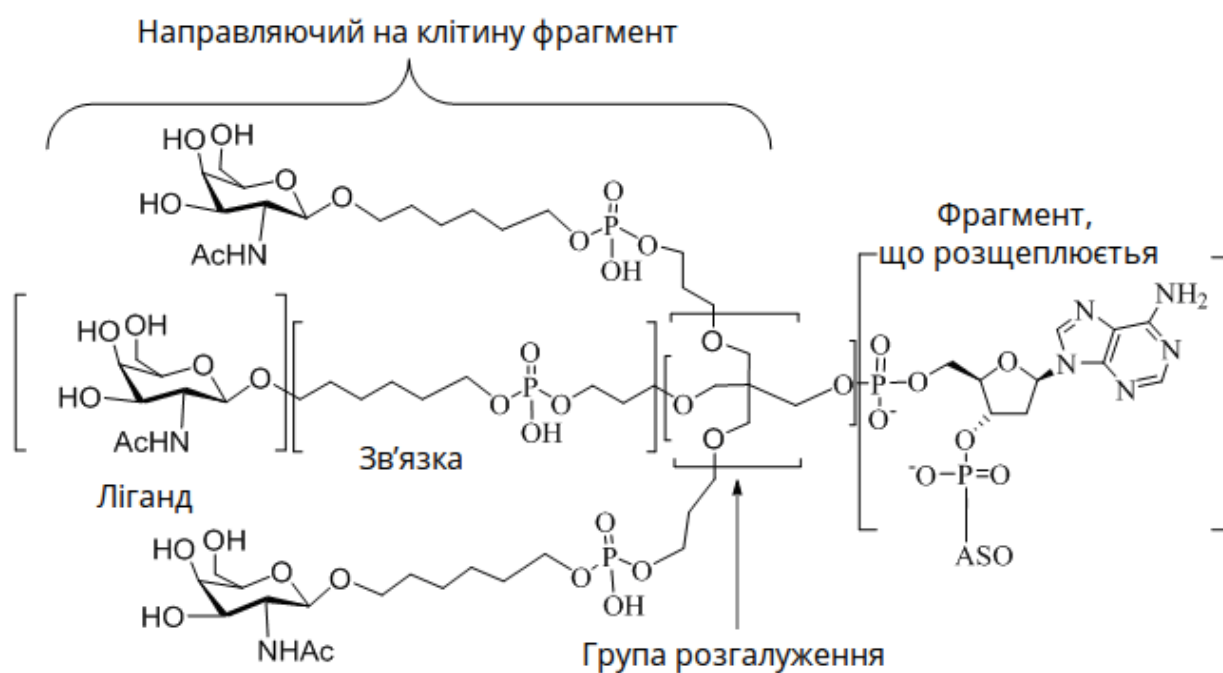
15 якщо q=5, то формула являє собою:



У деяких варіантах реалізації запропоновані спряжені антисмислові сполуки, які мають структуру:

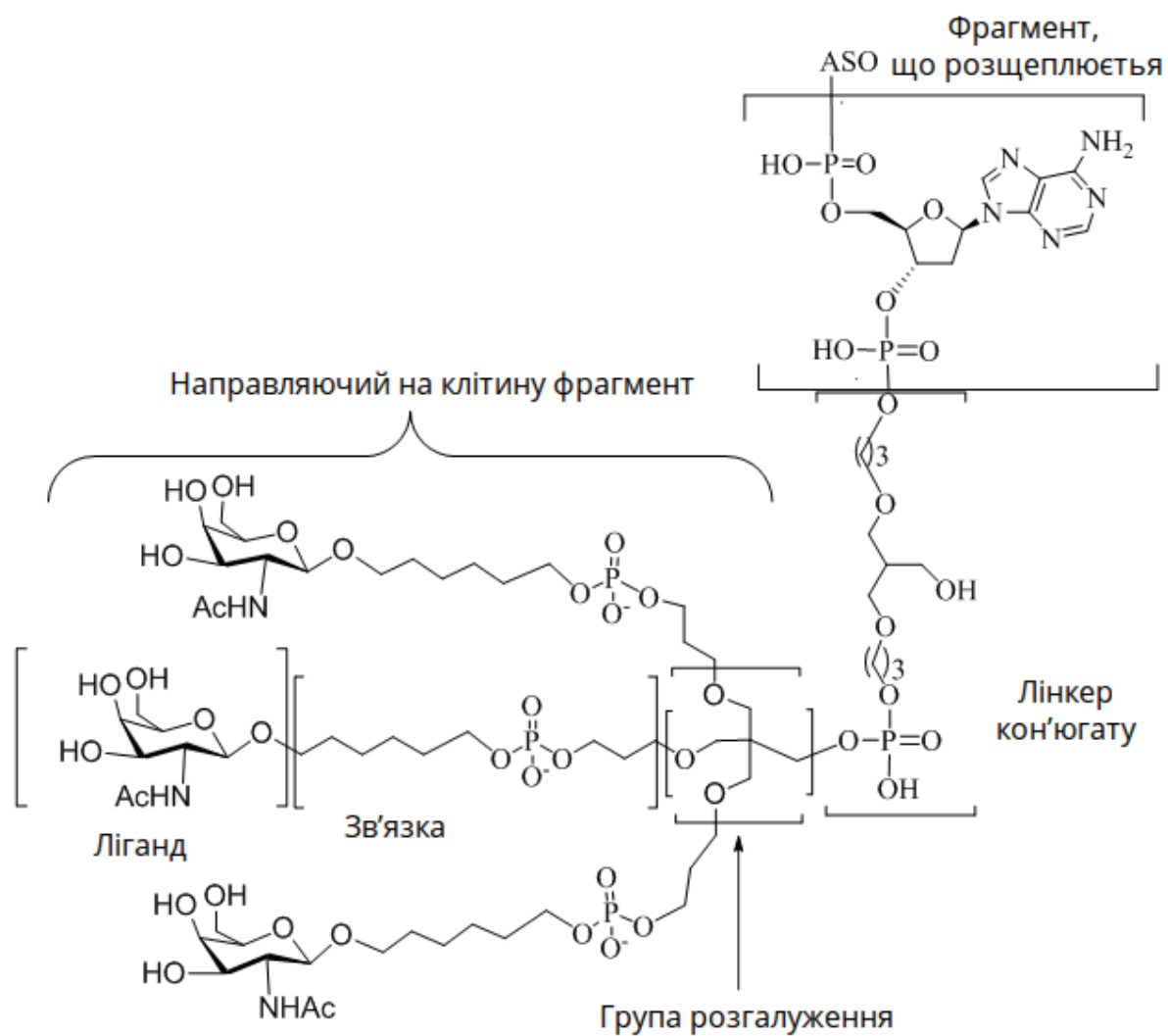


У деяких варіантах реалізації запропоновані спряжені антисмислові сполуки, які мають структуру:

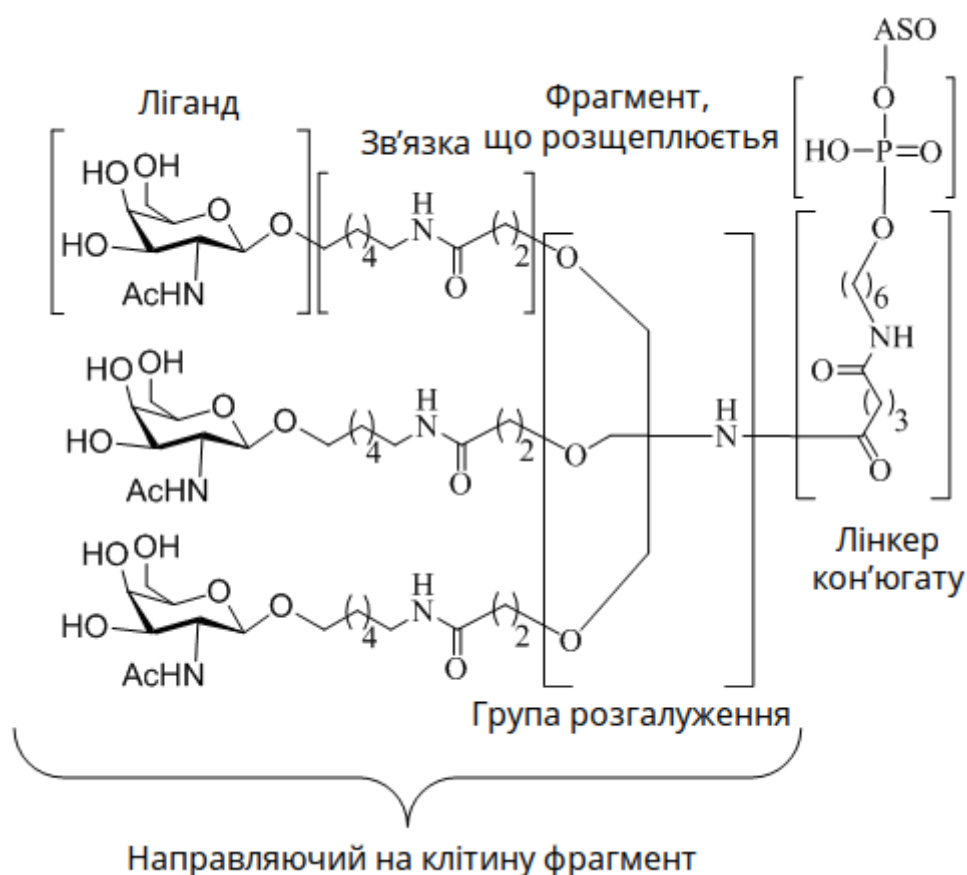


5

У деяких варіантах реалізації запропоновані спряжені антисмислові сполуки, які мають структуру:

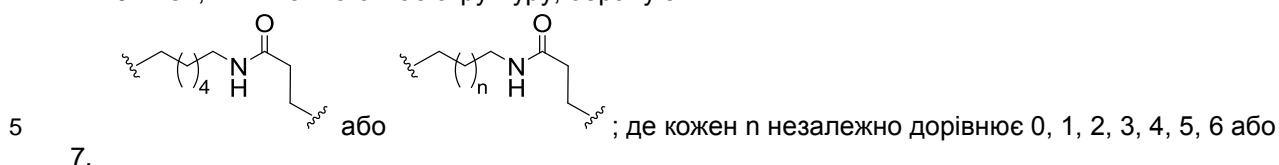


У деяких варіантах реалізації запропоновані спряжені антисмислові сполуки, які мають структуру:

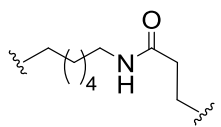


У цьому описі запропоновані наступні необмежуючі нумеровані варіанти реалізації:

Варіант реалізації 1. Кон'югована антисмислова сполука за будь-яким з варіантів реалізації 1179-1182, в якій зв'язка має структуру, обрану з:

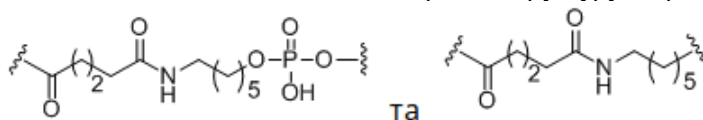


Варіант реалізації 2. Кон'югована антисмислова сполука за будь-яким з варіантів реалізації 1179-1182, в якій зв'язка має структуру:

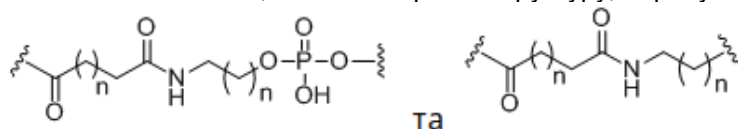


10

Варіант реалізації 3. Кон'югована антисмислова сполука за будь-яким з варіантів реалізації 1179-1182 або 1688-1689, в якій лінкер має структуру, обрану з:



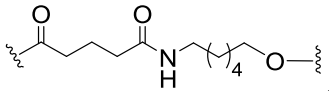
Варіант реалізації 4. Кон'югована антисмислова сполука за будь-яким з варіантів реалізації 1179-1182 або 1688-1689, в якій лінкер має структуру, обрану з:



15

де кожен n незалежно дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 або 7.

Варіант реалізації 5. Кон'югована антисмислова сполука за будь-яким з варіантів реалізації 1179-1182 або 1688-1689, в якій лінкер має структуру:



У варіантах реалізації, які мають більше однієї конкретної змінної (наприклад, більше одного "m" або "n"), якщо не вказано інше, кожна така конкретна змінна обрана незалежно. Отже, для структури, яка має більше одного n, кожен n обраний незалежно, так що вони можуть бути або

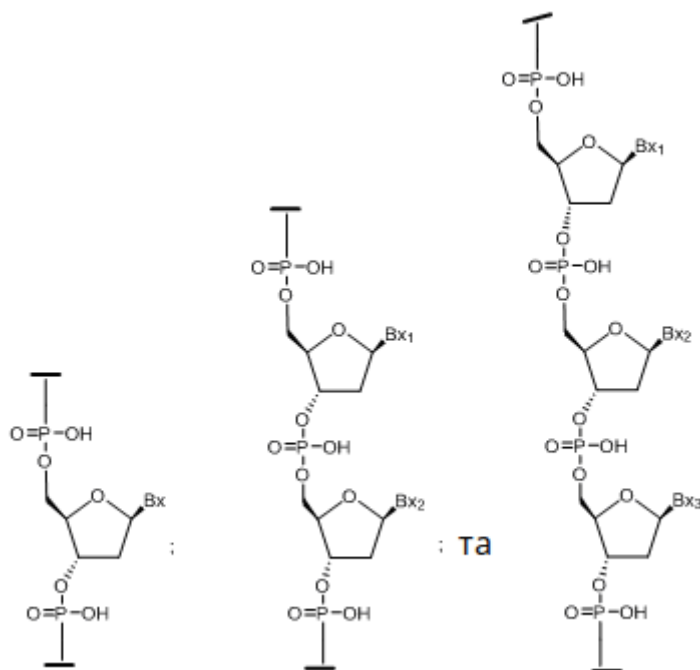
5 не бути однаковими між собою.

i. Деякі фрагменти, що розщеплюються

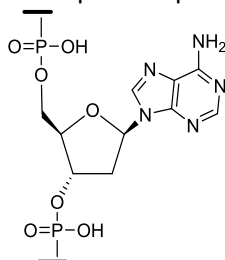
У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою зв'язок, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється містить зв'язок, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації група кон'югату містить фрагмент, що розщеплюється. У деяких таких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднується до антисмислового олігонуклеотиду. У деяких таких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднується безпосередньо до фрагмента, який спрямовує на клітку. У деяких таких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднується до лінкеру кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється містить фосфат або фосфодіестер. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою нуклеозид, що розщеплюється або нуклеозидний аналог. У деяких варіантах реалізації нуклеозид або нуклеозидний аналог містить додатково захищену гетероциклічну основу, вибрану з пурину, заміщеного пурину, піримідину або заміщеного піримідину. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою нуклеозид, який містить додатково захищену гетероциклічну основу, вибрану з урацилу, тиміну, цитозину, 4-N-бензоїлцитозину, 5-метилцитозину, 4-N-бензоїл-5-метилцитозину, аденіну, 6-N-бензоїладеніну, гуаніну і 2-N-ізобутирилгуаніну. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою 2'-дезоксинуклеозид, який приєднаний до 3'-положення антисмислового олігонуклеотиду за допомогою фосфодіестерного зв'язку і приєднаний до лінкеру фосфодіестерним або тіофосфатним зв'язком. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою 2'-дезоксиаденозин, який приєднаний до 3'-положення антисмислового олігонуклеотиду за допомогою фосфодіестерного зв'язку і приєднаний до лінкеру фосфодіестерним або тіофосфатним зв'язком. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою 2'-дезоксиаденозин, який приєднаний до 3'-положення антисмислового олігонуклеотиду за допомогою фосфодіестерного зв'язку і приєднаний до лінкеру фосфодіестерним зв'язком.

У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до 3'-положення антисмислового олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до 5'-положення антисмислового олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до 2'-положення антисмислового олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до антисмислового олігонуклеотиду фосфодіестерним зв'язком. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до зазначеного лінкеру або фосфодіестерним, або тіофосфатним зв'язком. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється приєднаний до зазначеного лінкеру фосфодіестерним зв'язком. У деяких варіантах реалізації група кон'югату не містить фрагмент, що розщеплюється.

У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється розщеплюється після введення зазначеного комплексу в організм тварини тільки після його поглинання цільовою кліткою. Всередині клітини фрагмент, що розщеплюється розщеплюється, вивільняючи таким чином активний антисмисловий олігонуклеотид. Не обмежуючись теорією, припускають, що фрагмент, що розщеплюється розщеплюється під дією однієї або більше нуклеаз всередині клітини. У деяких варіантах реалізації одна або більше нуклеаз розщеплюють фосфодіестерний зв'язок між фрагментом, що розщеплюється і лінкером. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється має структуру, обрану з наступних:



де кожен з Bx, Bx₁, Bx₂, Bx₃ незалежно являє собою фрагмент гетероциклічної основи. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється має структуру, обрану з наступних:



5 ii. Деякі лінкери

У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять лінкер. У деяких таких варіантах реалізації лінкер ковалентно зв'язаний з фрагментом, що розщеплюється. У деяких таких варіантах реалізації лінкер ковалентно зв'язаний з антисмисловим олігонуклеотидом. У деяких варіантах реалізації лінкер ковалентно зв'язаний з фрагментом, спрямованим на клітку. У деяких варіантах реалізації лінкер додатково містить ковалентне приєднання до твердої підкладки. У деяких варіантах реалізації лінкер додатково містить ковалентне приєднання до білкового зв'язуючого фрагменту. У деяких варіантах реалізації лінкер додатково містить ковалентне приєднання до твердої підкладки і додатково містить ковалентне приєднання до білкового зв'язуючого фрагменту. У деяких варіантах реалізації лінкер містить кілька положень для приєднання зв'язаних лігандів. У деяких варіантах реалізації лінкер містить кілька положень для приєднання зв'язаних лігандів і не є приєднаним до групи розгалуження. У деяких варіантах реалізації лінкер додатково містить один або більше зв'язків, що розщеплюються. У деяких варіантах реалізації група кон'югату не містить лінкер.

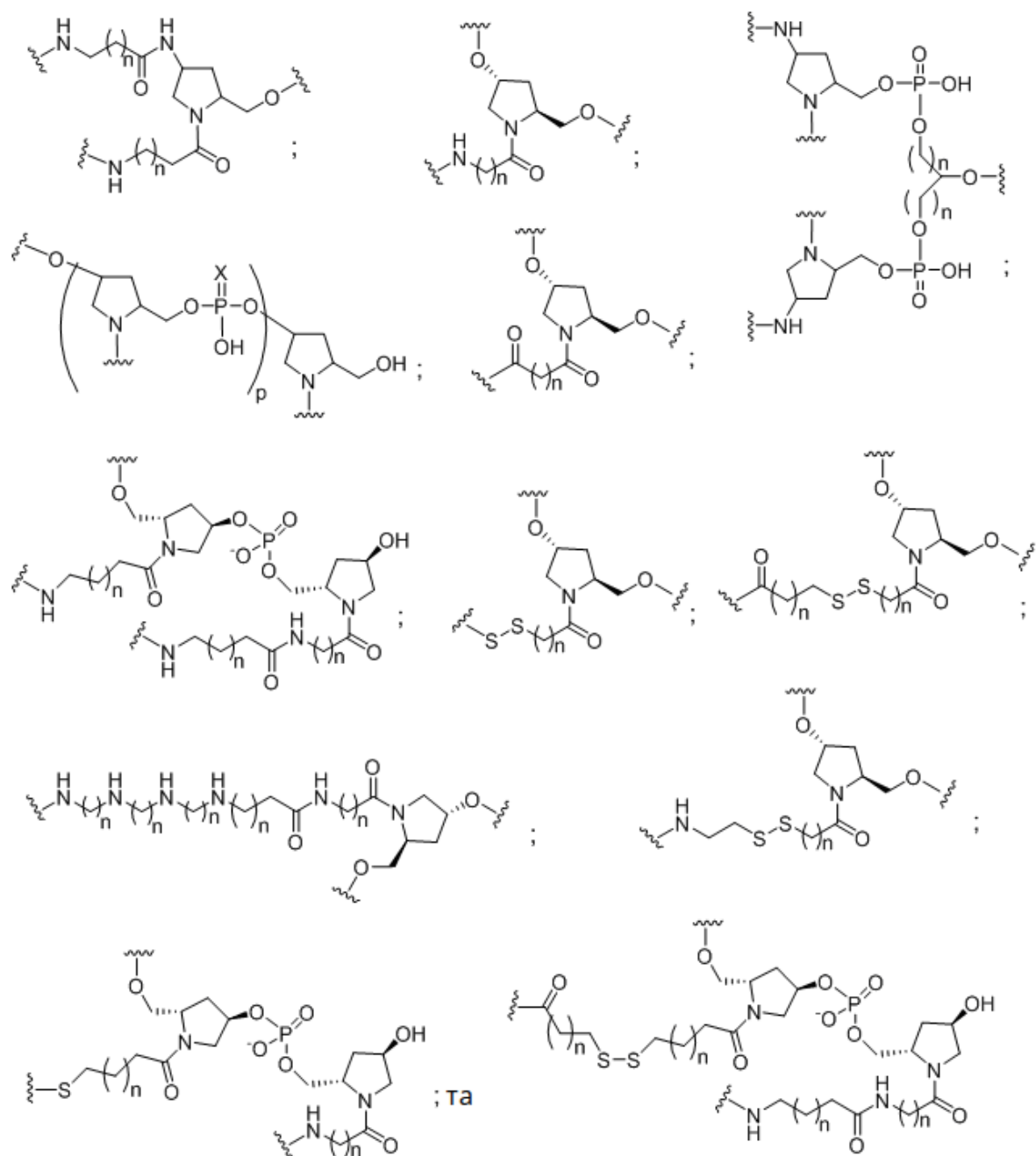
У деяких варіантах реалізації лінкер містить щонайменше одну лінійну групу, яка містить групи, вибрані з алкільних, амідних, дисульфідних, поліетиленгліколевих, тіоефірних (-S-) і гідроксиламіно (-O-N(H)-) груп. У деяких варіантах реалізації лінійна група містить групи, вибрані з алкільних, амідних і простих ефірних груп. У деяких варіантах реалізації лінійна група містить щонайменше одну фосфорну лінкерну групу. У деяких варіантах реалізації лінійна група містить щонайменше одну фосфодіестерну групу. У деяких варіантах реалізації лінійна група містить щонайменше одну нейтральну лінкерну групу. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до фрагмента, який спрямовує на клітку, і до фрагмента, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до фрагмента, який спрямовує на клітку, і до антисмислового олігонуклеотиду. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до фрагмента, який спрямовує на клітку, до фрагмента, що розщеплюється і до твердої підкладки. У деяких варіантах реалізації лінійна

група ковалентно приєднана до фрагмента, який спрямовує на клітку, до фрагмента, що розщеплюється, до твердої підкладки і до білкового зв'язуючого фрагменту. У деяких варіантах реалізації лінійна група містить один або більше розщеплюваних зв'язків.

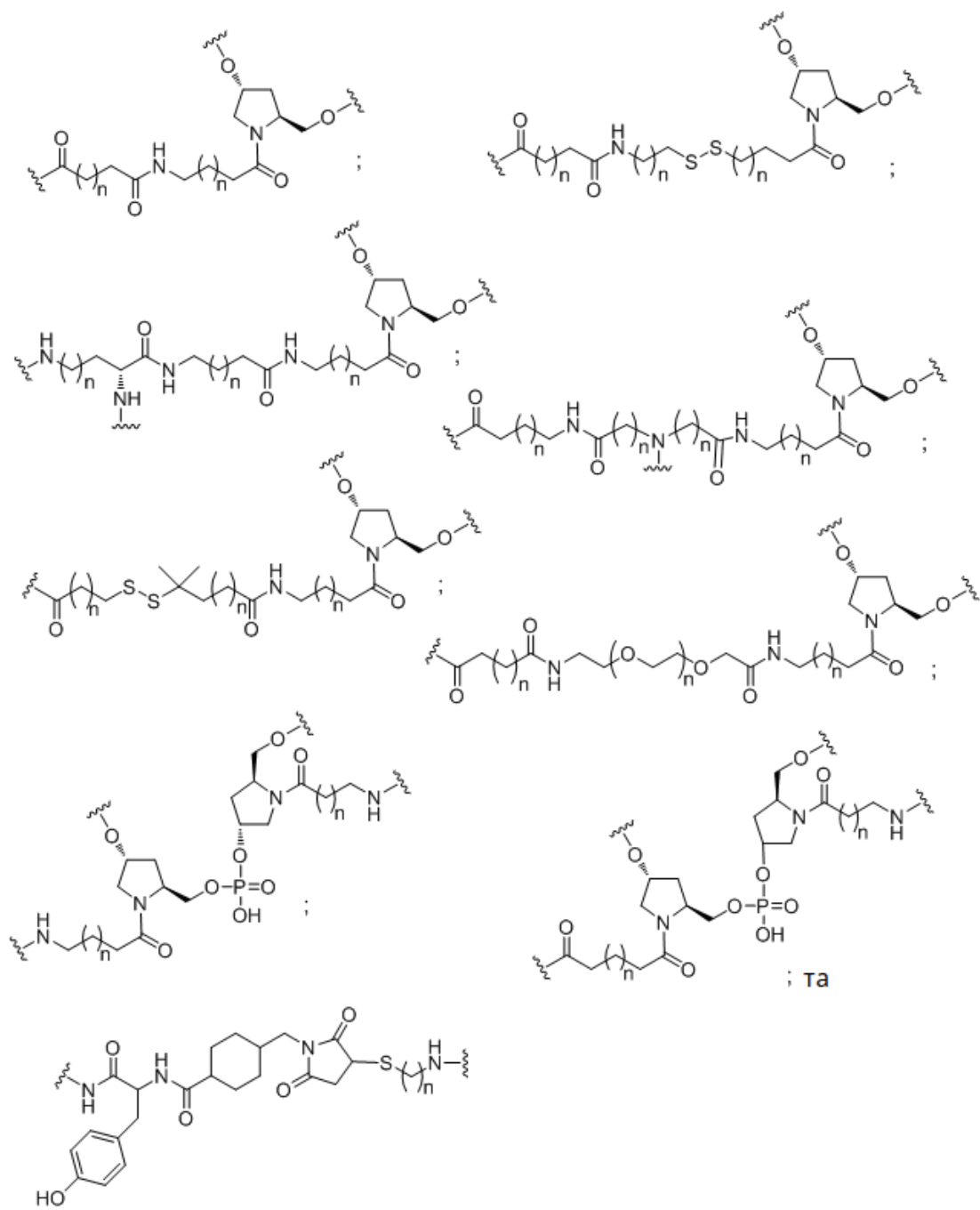
- У деяких варіантах реалізації лінкер містить лінійну групу, ковалентно приєднану до групи скелета. У деяких варіантах реалізації скелет містить розгалужену аліфатичну групу, яка містить групи, вибрані з алкільних, амідних, дисульфідних, поліетиленгліколевих, простих ефірних, тіоефірних і гідроксиламіно-груп. У деяких варіантах реалізації скелет містить розгалужену аліфатичну групу, яка містить групи, вибрані з алкільних, амідних і простих ефірних груп. У деяких варіантах реалізації скелет містить щонайменше одну моно - або поліциклічну кільцеву систему. У деяких варіантах реалізації скелет містить щонайменше дві моно - або поліциклічні кільцеві системи. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до групи скелета, а група скелета ковалентно приєднана до фрагменту, що розщеплюється і лінкеру. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до групи скелета, а група скелета ковалентно приєднана до фрагменту, що розщеплюється, лінкеру і твердої підкладки. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до групи скелета, а група скелета ковалентно приєднана до фрагменту, що розщеплюється, лінкеру і білкового зв'язуючого фрагменту. У деяких варіантах реалізації лінійна група ковалентно приєднана до групи скелета, а група скелета ковалентно приєднана до фрагмента, що розщеплюється, лінкеру, білкового зв'язуючого фрагменту і твердої підкладки. У деяких варіантах реалізації група скелета містить один або більше зв'язків, що розщеплюються.

- У деяких варіантах реалізації лінкер містить зв'язуючий білок фрагмент. У деяких варіантах реалізації зв'язуючий білок фрагмент являє собою ліпід, такий як, наприклад, включаючий, без обмежень, холестерин, холева кислота, адамантан-оцтова кислота, 1-пірен-масляна кислота, дигідротестостерон, 1,3-біс-О(гексадецил)гліцерин, геранилксигексилова група, гексадецилгліцерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандіол, гептадецилова група, пальмітинова кислота, міристинова кислота, ОЗ-(олеоїл)літохолева кислота, ОЗ-(олеоїл)холенова кислота, диметокситритил або феноксазин, вітамін (наприклад, фолат, вітамін А, вітамін Е, біотин, піридоксаль), пептид, вуглевод (наприклад, моносахарид, дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олігосахарид, полісахарид), ендосомолітичний компонент, стероїд (наприклад, уаол, гецигенин, діосгенін), терпен (наприклад, тритерпен, наприклад, сарсасапогенин, фриделін, літохолева кислота, дериватизована епіфриделанолом) або катіонний ліпід. У деяких варіантах реалізації зв'язуючий білок фрагмент являє собою насичену або ненасичену жирну кислоту з довжиною ланцюга від C16 до C22, холестерин, холеву кислоту, вітамін Е, адамантан або 1-пентафторпропил.

- У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

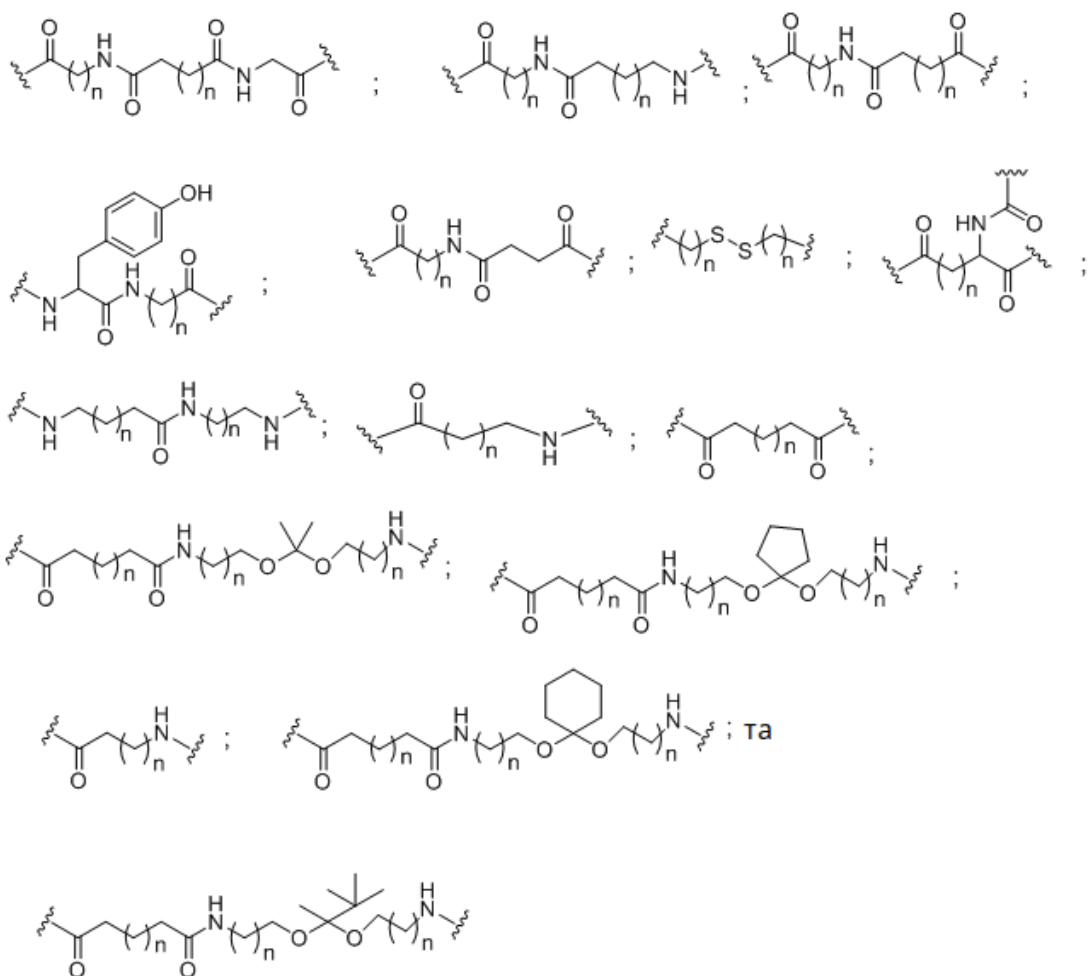


де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20; р дорівнює від 1 до 6.
У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



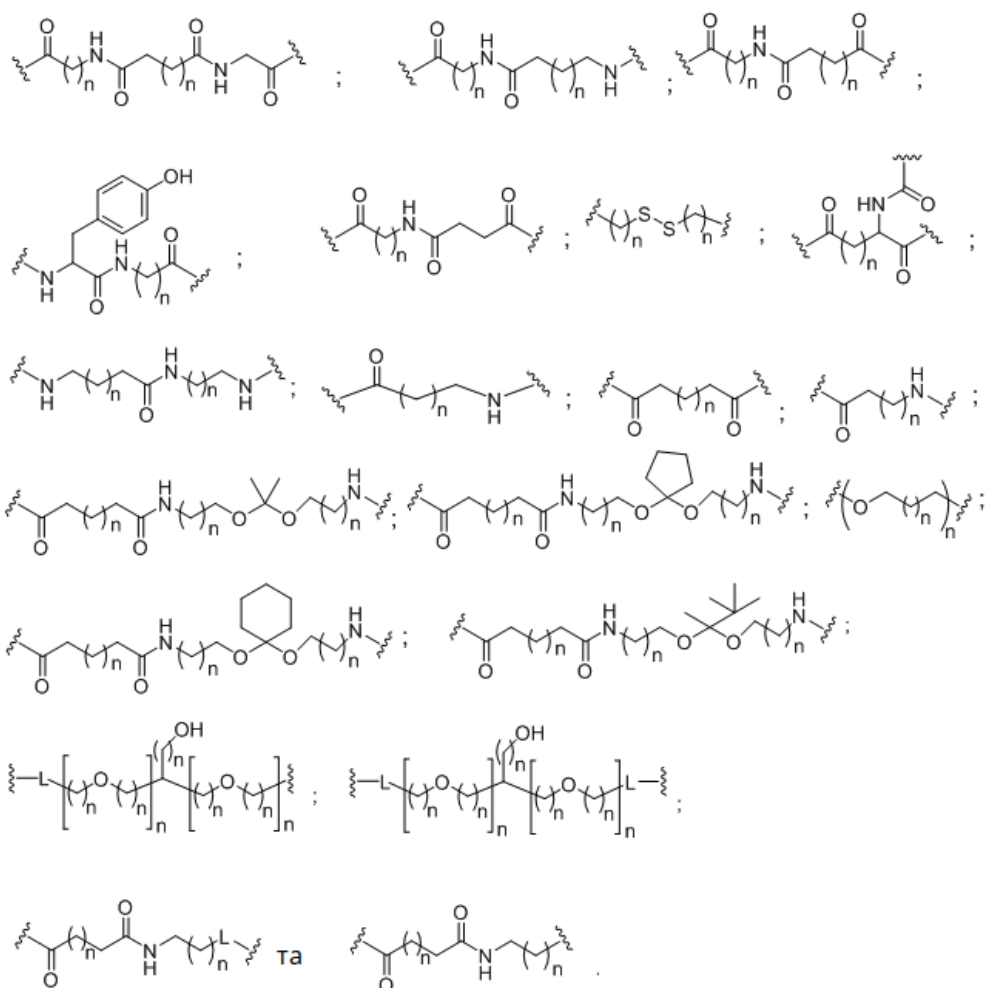
де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



де n дорівнює від 1 до 20.

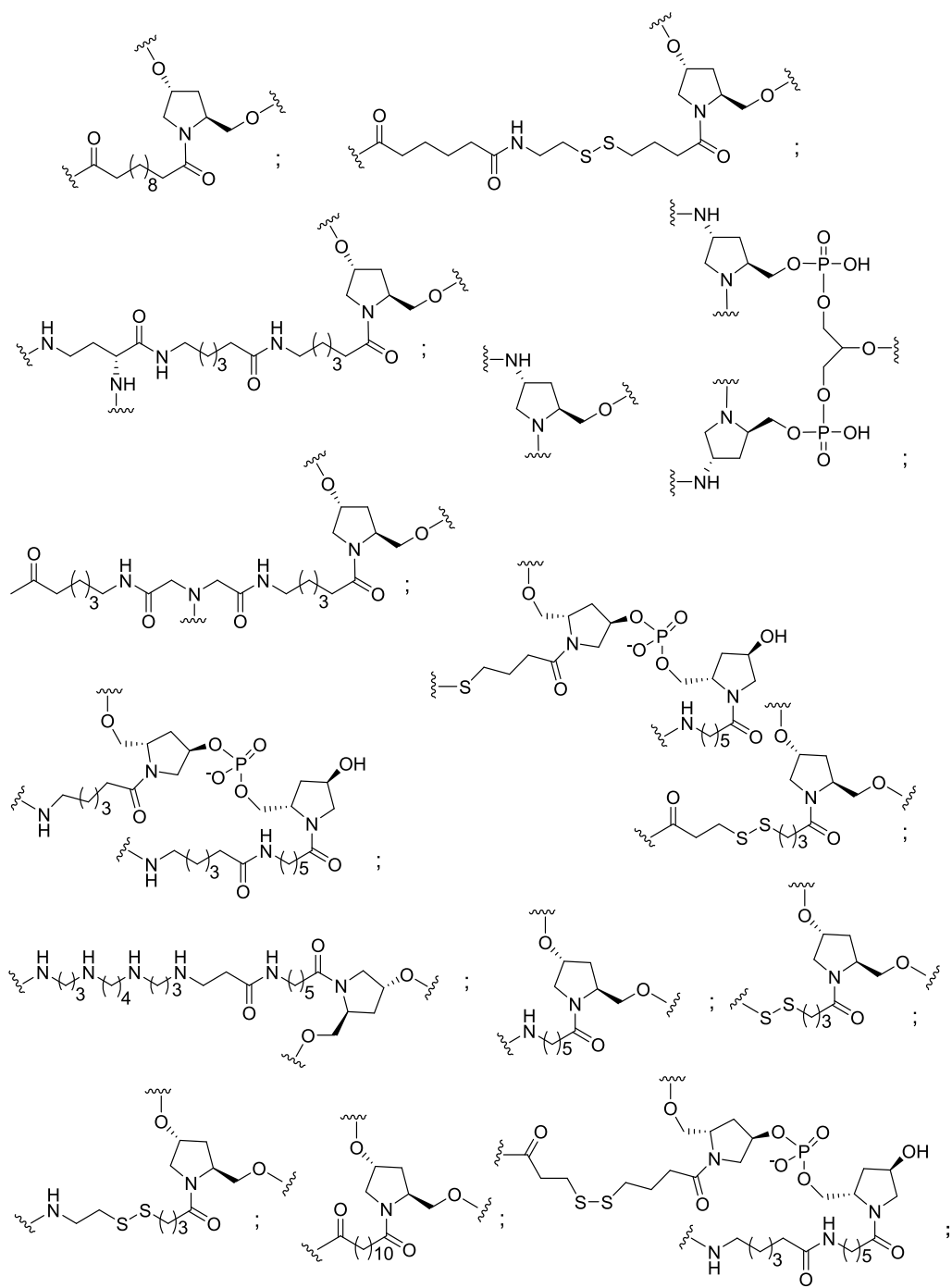
У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

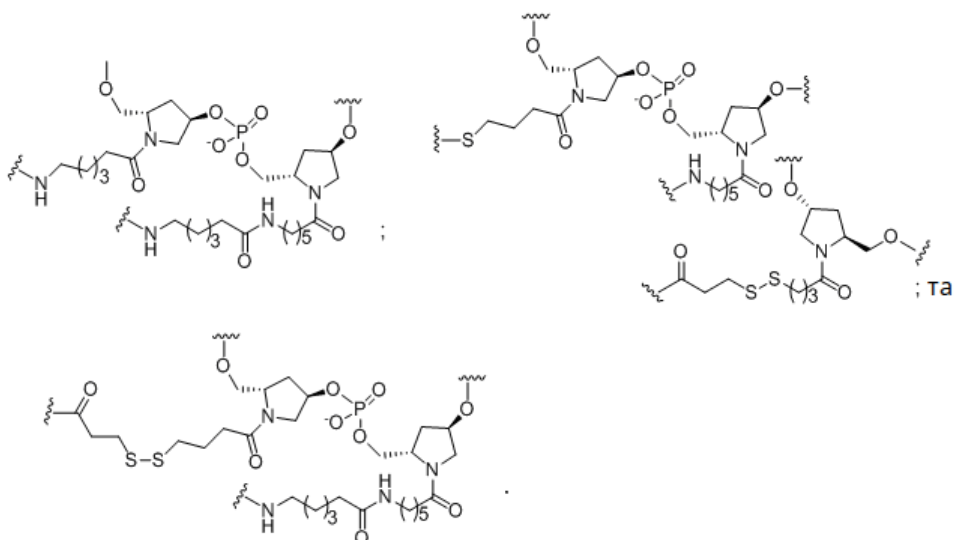


де кожен L незалежно являє собою фосфорну лінкерну групу або нейтральну лінкерну групу;

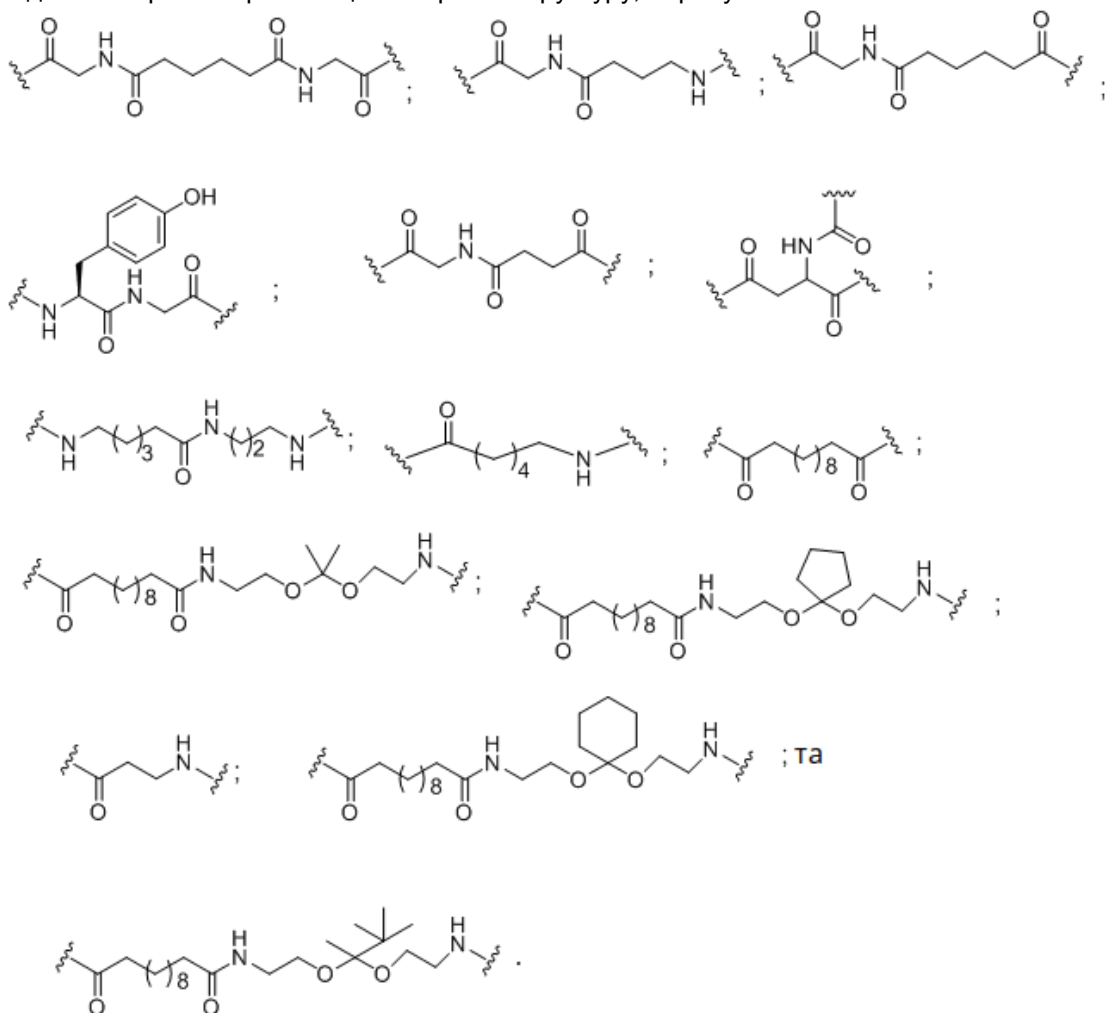
кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

5 У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

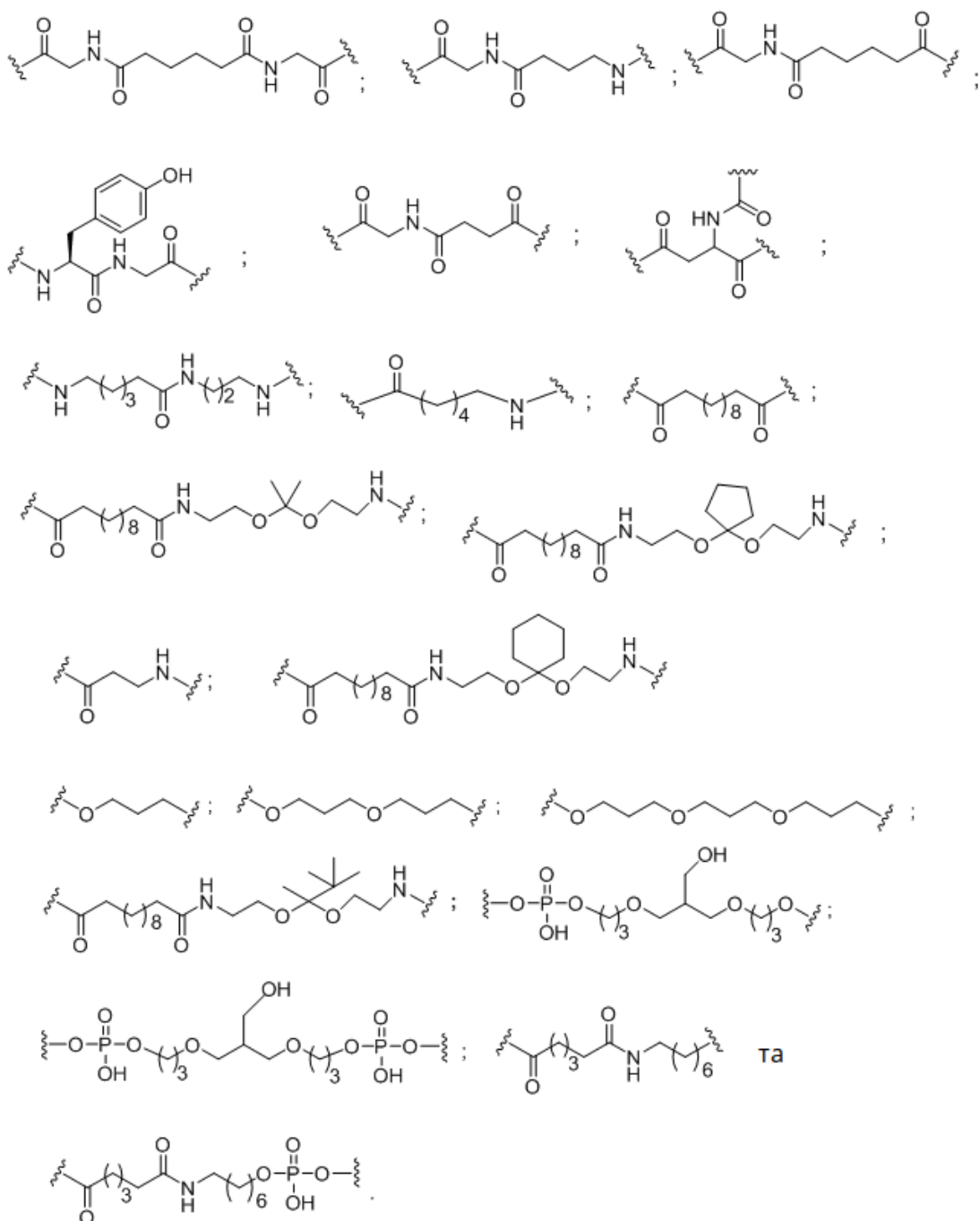




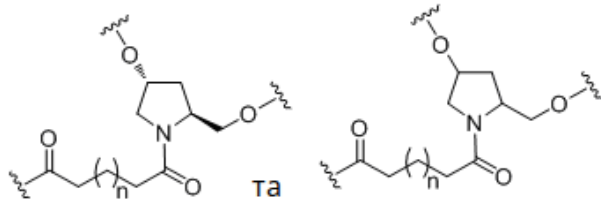
У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

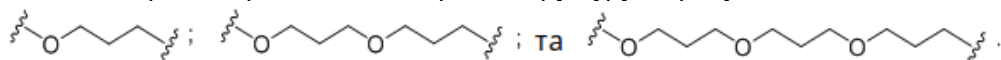


У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

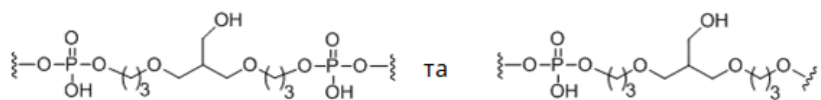


де n дорівнює від 1 до 20.

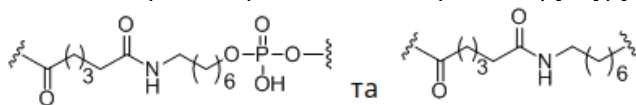
5 У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



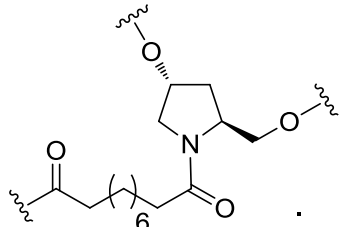
У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:

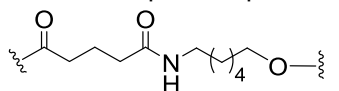


У деяких варіантах реалізації лінкер кон'югату має структуру:

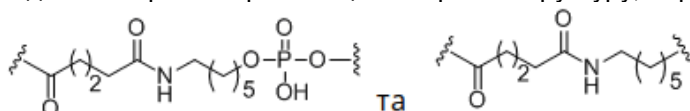


5

У деяких варіантах реалізації лінкер кон'югату має структуру:

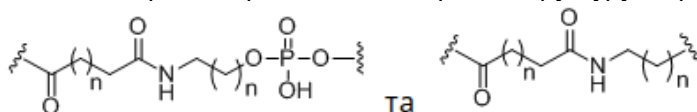


У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



10

У деяких варіантах реалізації лінкер має структуру, обрану з:



де кожен n незалежно дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 або 7.

iii. Деякі фрагменти, спрямовані на клітину

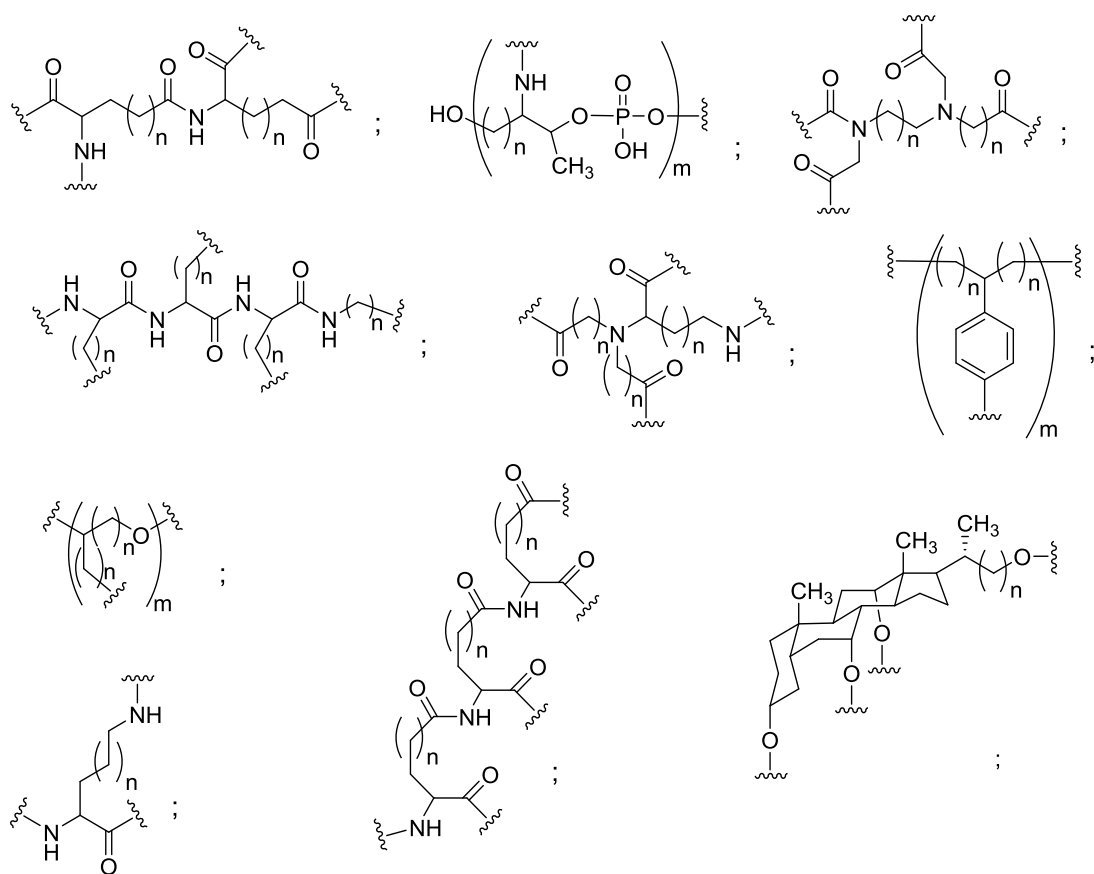
У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять фрагменти, спрямовані на клітину.

- 15 Деякі такі фрагменти, - спрямовані на клітину, збільшують клітинний захоплення антисмислової сполуки. У деяких варіантах реалізації фрагменти, спрямовані на клітину, містять групу розгалуження, одну чи більше зв'язок і один або більше лігандів. У деяких варіантах реалізації фрагменти, спрямовані на клітину, містять групу розгалуження, одну або більше зв'язок, один або більше лігандів і один або більше зв'язків, що розщеплюються.

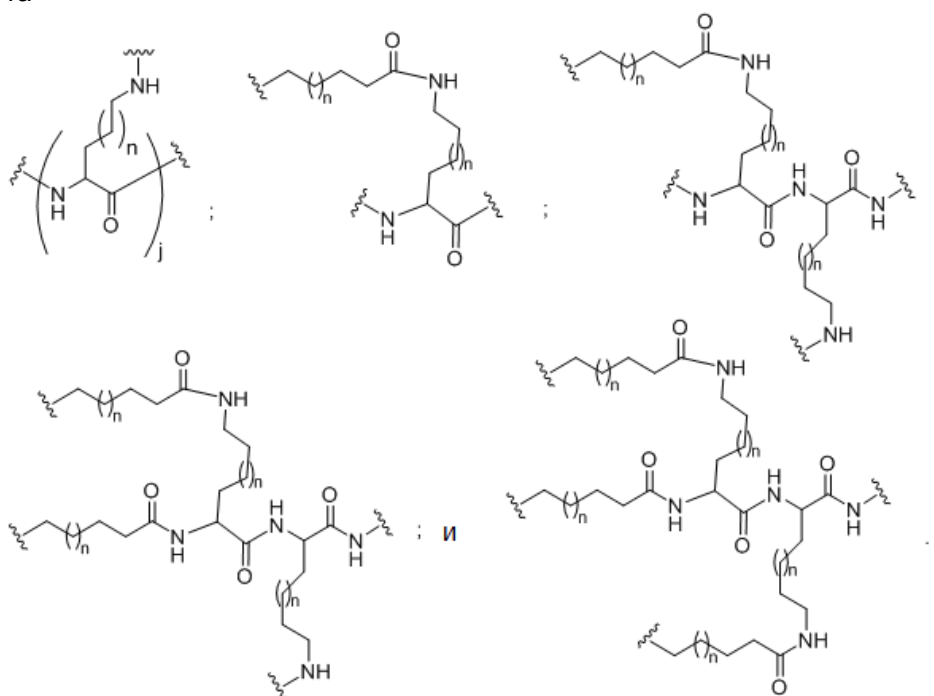
- 20 1. Деякі групи розгалуження

У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять націлюючий фрагмент, що містить групу розгалуження і щонайменше два зв'язаних ліганди. У деяких варіантах реалізації група розгалуження приєднує лінкер кон'югату. У деяких варіантах реалізації група розгалуження приєднує фрагмент, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації група розгалуження приєднує антисмисловий олігонуклеотид. У деяких варіантах реалізації група розгалуження ковалентно приєднана до лінкеру і до кожного зі зв'язаних лігандів. У деяких варіантах реалізації група розгалуження містить розгалужену аліфатичну групу, яка містить групи, вибрані з алкільних, амідних, дисульфідних, поліетиленгліколевих, простих ефірних, тіоефірних і гідроксиламіно-груп. У деяких варіантах реалізації група розгалуження містить групи, вибрані з алкільних, амідних і простих ефірних груп. У деяких варіантах реалізації група розгалуження містить моно - або поліциклічну кільцеву систему. У деяких варіантах реалізації група розгалуження містить один або більше зв'язків, що розщеплюються. У деяких варіантах реалізації група кон'югату не містить групу розгалуження.

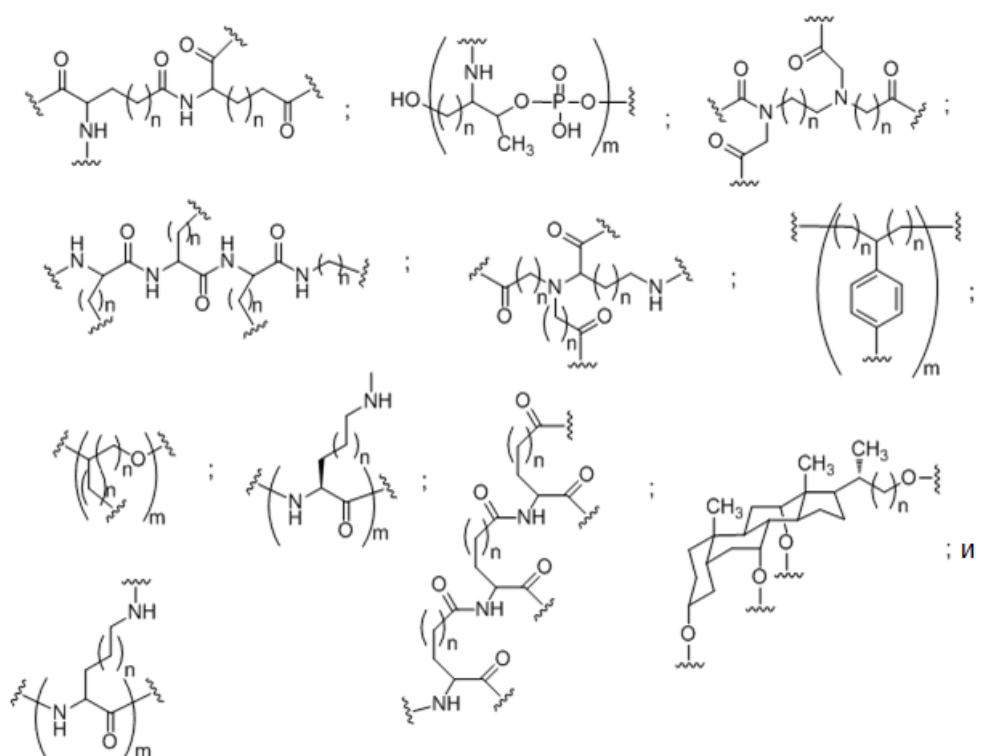
- 35 У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



та



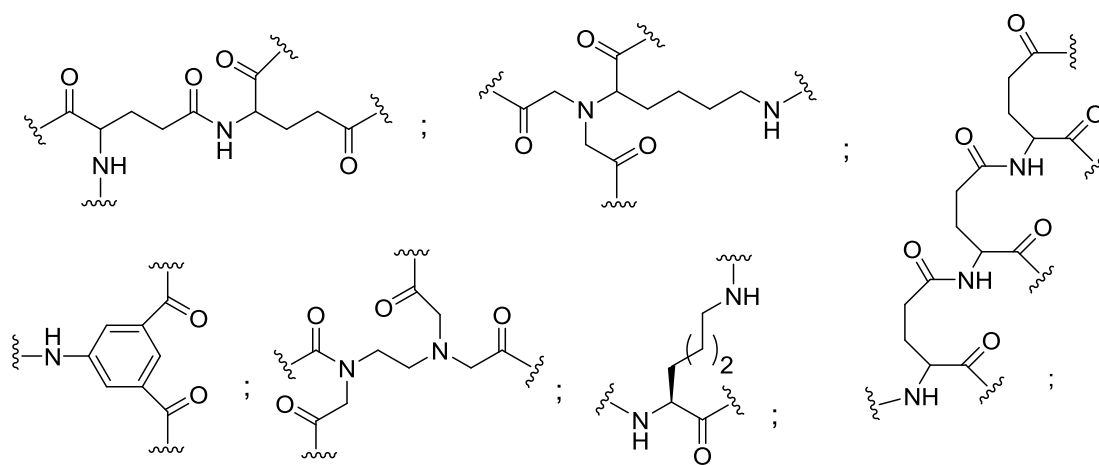
- де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20;
 j дорівнює від 1 до 3; та
 m дорівнює від 2 до 6.
та
У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:

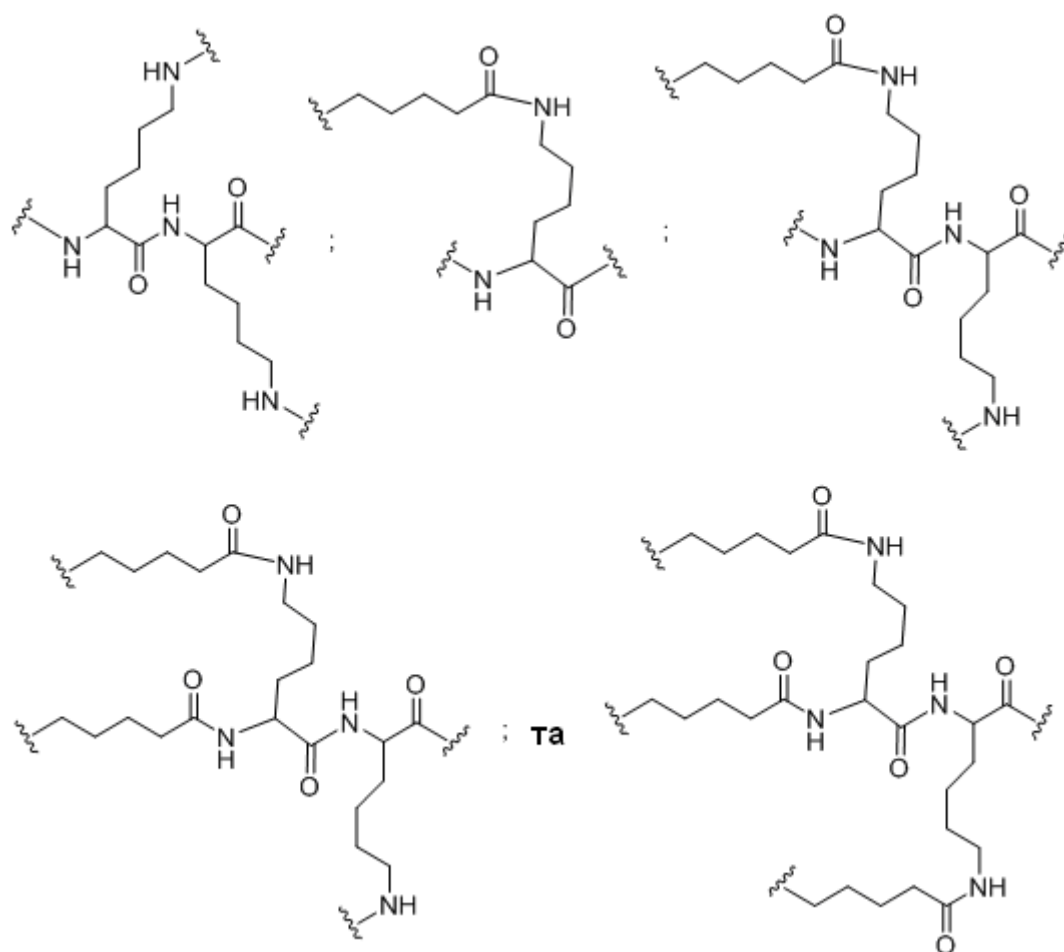


де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20; та
 m дорівнює від 2 до 6.

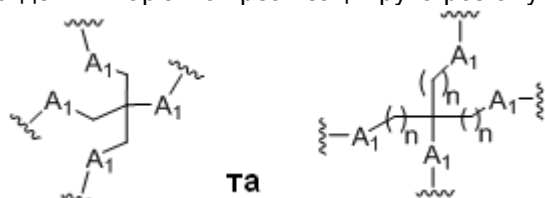
У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:

5



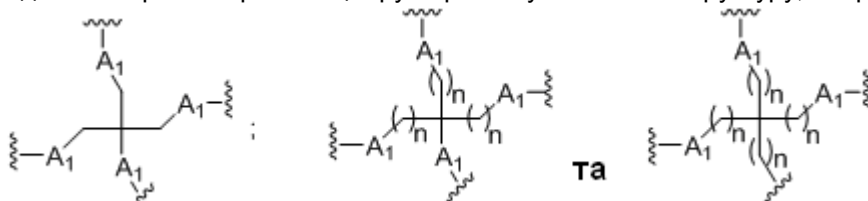


У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



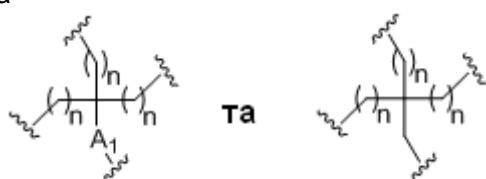
- 5 де кожен A_1 незалежно являє собою O, S, C=O або NH; та кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



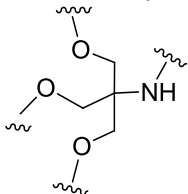
- 10 де кожен A_1 незалежно являє собою O, S, C=O або NH; та кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:
та

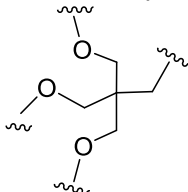


де A_1 являє собою O, S, C=O або NH; та кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

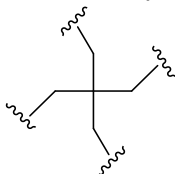
У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



5 У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



У деяких варіантах реалізації група розгалуження має структуру, вибрану з:



2. Деякі зв'язки

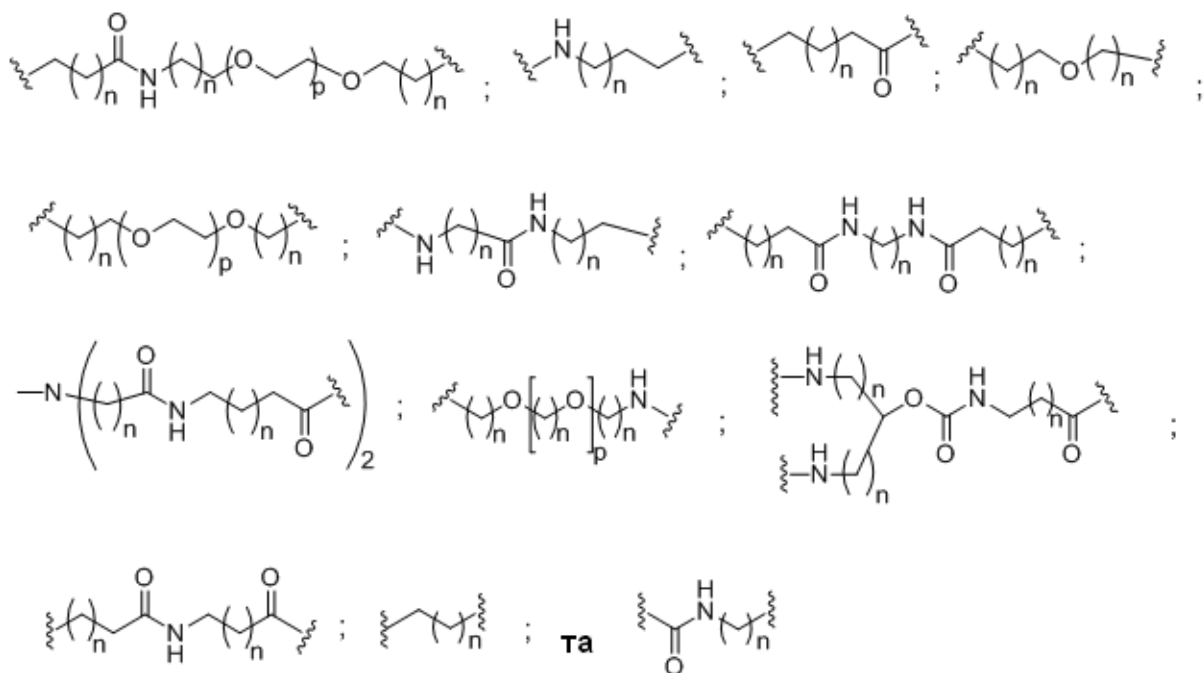
10 У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять одну або більше зв'язок, ковалентно
приєднаних до групи розгалуження. У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять одну
або більше зв'язок, ковалентно приєднаних до лінійної групи. У деяких варіантах реалізації
кожен зв'язок являє собою лінійну аліфатичну групу, яка містить одну або більше груп, вибраних
15 з алкільних, простих ефірних, тіоефірних, дисульфідних, амідних і поліетиленгліколевих груп у
будь-якій комбінації. У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок являє собою лінійну
аліфатичну групу, яка містить одну або більше груп, вибраних з алкільних, заміщених алкільних,
простих ефірних, тіоефірних, дисульфідних, амідних, фосфодіестерних і поліетиленгліколевих
груп у будь-якій комбінації. У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок являє собою лінійну
20 аліфатичну групу, яка містить одну або більше груп, вибраних з алкільних, простих ефірних і
амідних груп у будь-якій комбінації. У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок являє собою
лінійну аліфатичну групу, яка містить одну або більше груп, вибраних з алкільних, заміщених
алкільних, фосфодіестерних, простих ефірних і амідних груп у будь-якій комбінації. У деяких
варіантах реалізації кожен зв'язок являє собою лінійну аліфатичну групу, яка містить одну або
25 більше груп, вибраних з алкіла і фосфодіестера в будь-якій комбінації. У деяких варіантах
реалізації кожен зв'язок містить щонайменше одну фосфорну лінійну групу або нейтральну
лінійну групу.

У деяких варіантах реалізації зв'язка містить один або більше зв'язків, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до групи розгалуження або через амідну, або через просту ефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до групи розгалуження через фосфордіефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до групи розгалуження через фосфорну лінкерну групу або через нейтральну лінкерну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до групи розгалуження через просту ефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до ліганда або через амідну, або через просту ефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до ліганда через просту ефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до ліганда або через амідну, або через просту ефірну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка приєднана до ліганда через просту ефірну групу.

У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок має довжину від близько 8 до близько 20 атомів у ланцюгу між лігандом і групою розгалуження. У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок має довжину від близько 10 до близько 18 атомів в ланцюгу між лігандом і групою розгалуження. У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок має довжину близько 13 атомів у ланцюгу.

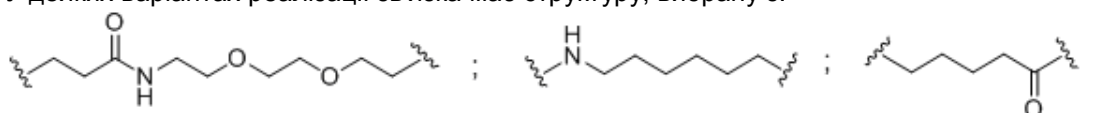
У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:

Ta



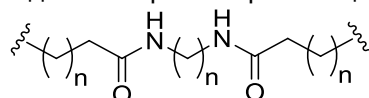
де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20; та
кожен p дорівнює від 1 до близько 6.

У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:



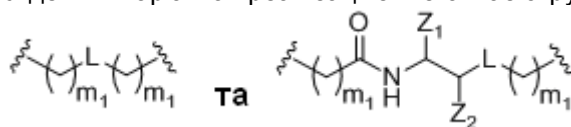
5

У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:



де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:



10

де L являє собою або фосфорну лінкерну групу, або нейтральну лінкерну групу;

Z_1 являє собою $C(=O)O-R_2$;

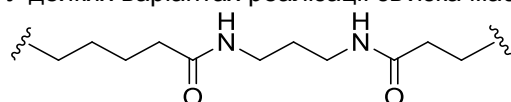
Z_2 являє собою H , C_1-C_6 алкіл або заміщений C_1-C_6 алкіл;

R_2 являє собою H , C_1-C_6 алкіл або заміщений C_1-C_6 алкіл; та

15

кожен m_1 незалежно дорівнює від 0 до 20, при цьому щонайменше один m_1 є більшим за 0
для кожного зв'язку.

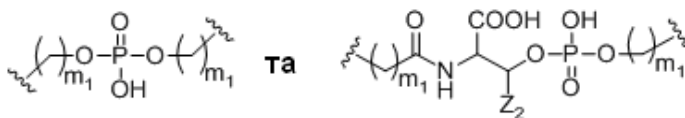
У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:



20

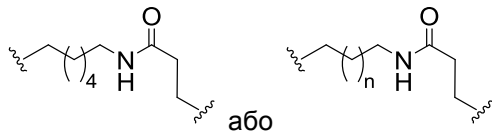
У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:

та



де Z_2 являє собою H або CH_3 ; та
кожен m_1 незалежно дорівнює від 0 до 20, при цьому щонайменше один m_1 є більшим за 0
для кожного зв'язку.

5 У деяких варіантах реалізації зв'язка має структуру, вибрану з:



7. де кожен n незалежно дорівнює 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 або

У деяких варіантах реалізації зв'язка містить фосфорну лінкерну групу. У деяких варіантах реалізації зв'язка не містить жодного амідного зв'язку. У деяких варіантах реалізації зв'язка містить фосфорну лінкерну групу і не містить жодного амідного зв'язку.

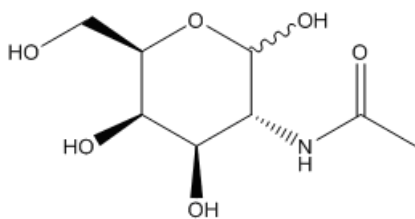
3. Деякі ліганди

У деяких варіантах реалізації цього опису представлені ліганди, при цьому кожен ліганд ковалентно приєднаний до зв'язки. У деяких варіантах реалізації кожен ліганд вибрано так, щоб він мав афінність щонайменше до одного типу рецептору на клітині-мішені. У деяких варіантах реалізації кожен ліганд вибрано так, щоб він мав афінність щонайменше до одного типу рецептору на поверхні клітини печінки ссавця. У деяких варіантах реалізації кожен ліганд вибрано так, щоб він мав афінність до печінкового асіалоглікопротеїнового рецептору (ASGP-R). У деяких варіантах реалізації кожен ліганд являє собою вуглевод. У деяких варіантах реалізації кожен ліганд незалежно обраний з галактози, N-ацетилгалактозаміна, манози, глюкози, глюкозаміна і фукози. У деяких варіантах реалізації кожен ліганд являє собою N-ацетилгалактозамін (GalNAc). У деяких варіантах реалізації націлюючий фрагмент містить 2-6 лігандів. У деяких варіантах реалізації націлюючий фрагмент містить 3 ліганди. У деяких варіантах реалізації націлюючий фрагмент містить 3 N-ацетилгалактозамінових ліганда.

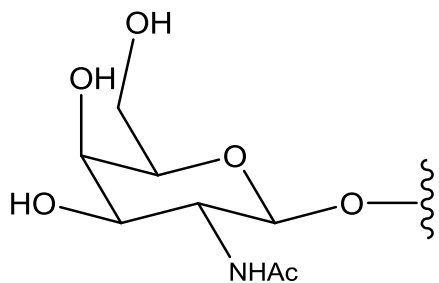
У деяких варіантах реалізації ліганд являє собою вуглевод, вуглеводне похідне, модифікований вуглевод, полівалентний вуглеводний кластер, полісахарид, модифікований полісахарид або полісахаридне похідне. У деяких варіантах реалізації ліганд являє собою аміноцукор або тіоцукор. Наприклад, аміноцукри можуть бути вибрані з будь-якої кількості сполук, відомих у цій області техніки, наприклад, глюкозаміну, сілової кислоти, α -D-галактозаміна, N-ацетилгалактозаміна, 2-ацетамідо-2-дезоксид-D-галактопіранози (GalNAc), 2-аміно-3-O-[(R)-1-карбоксиетил]-2-дезоксид- β -D-глюкопіранози (β -мурамової кислоти), 2-дезоксид-2-метиламіно-L-глюкопіранози, 4,6-дидезокси-4-формамідо-2,3-ди-O-метил-D-маннопіранози, 2-дезоксид-2-сульфоаміно-D-глюкопіранози та N-сульфо-D-глюкозаміну, та N-гліколоїл- α -нейрамінової кислоти. Наприклад, тіоцукри можуть бути вибрані з групи, що складається з 5-тіо- β -D-глюкопіранози, метил-2,3,4-три-O-ацетил-1-тіо-6-O-третил- α -D-глюкопіранозида, 4-тіо- β -D-галактопіранози та етил-3,4,6,7-тетра-O-ацетил-2-дезоксид-1,5-дитіо- α -D-глюко-гептопіранозида.

У деяких варіантах реалізації "GalNAc" або "Gal-NAc" відноситься до 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози, зазвичай згадується в літературі як N-ацетилгалактозамін. У деяких варіантах реалізації "N-ацетилгалактозамін" відноситься до 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози. У деяких варіантах реалізації "GalNAc" або "Gal-NAc" відноситься до 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози. У деяких варіантах реалізації "GalNAc" або "Gal-NAc" відноситься до 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози, яка включає і β -форму: 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид- β -D-галактопіранозу, і α -форму: 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранозу. У деяких варіантах реалізації обидві форми, β -форма: 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид- β -D-галактопіраноза, і α -форма: 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіраноза, можуть бути використані як взаємозамінні. Відповідно, у структурах, в яких зображена одна форма, мається на увазі, що ці структури включають також і іншу форму. Наприклад, якщо показана структура α -форми: 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози, то мається на увазі, що ця структура включає також і іншу форму. У деяких бажаних варіантах реалізації β -форма 2-(ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіранози є кращим варіантом реалізації.

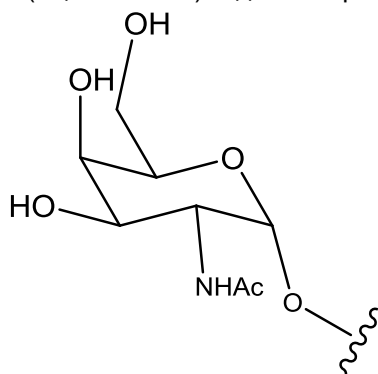
2-(Ацетиламіно)-2-дезоксид-D-галактопіраноза



2-(Ацетиламіно)-2-дезоксид-галактопіраноза

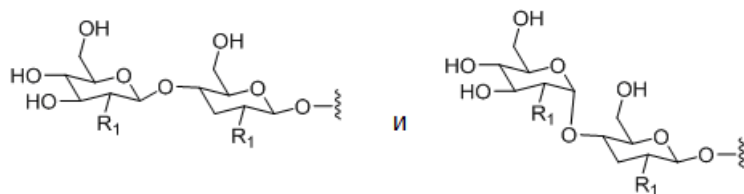


2-(Ацетиламіно)-2-дезоксид-β-D-галактопіраноза



5 2-(Ацетиламіно)-2-дезоксид-α-D-галактопіраноза

У деяких варіантах один або більше лігандів мають структуру, вибрану з:

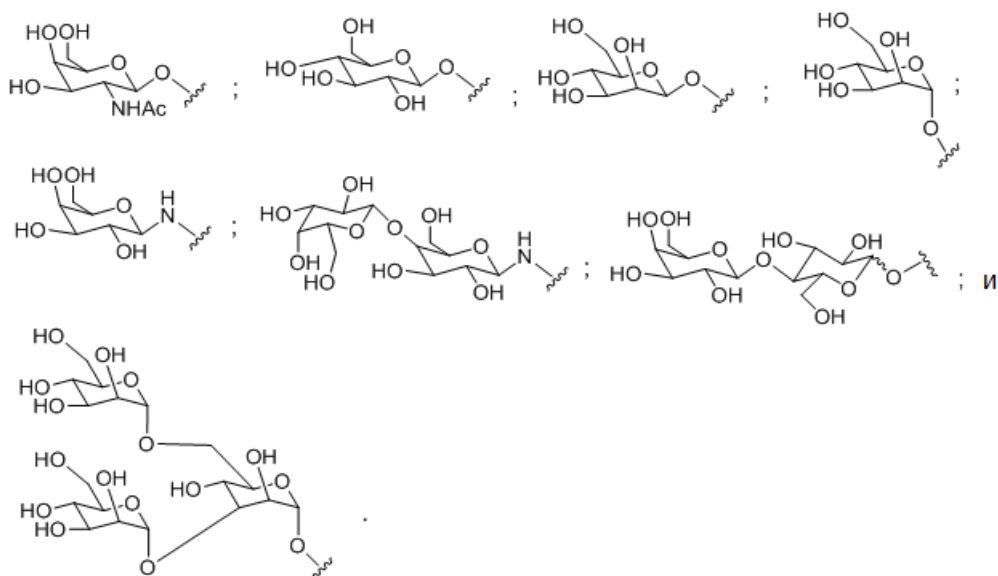


де кожен R₁ вибраний OH з NHCOOH.

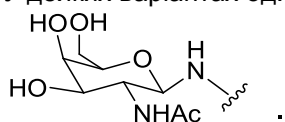
10

та

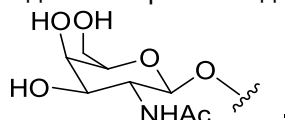
У деяких варіантах один або більше лігандів мають структуру, вибрану з:



У деяких варіантах один або більше лігандів мають структуру, вибрану з:



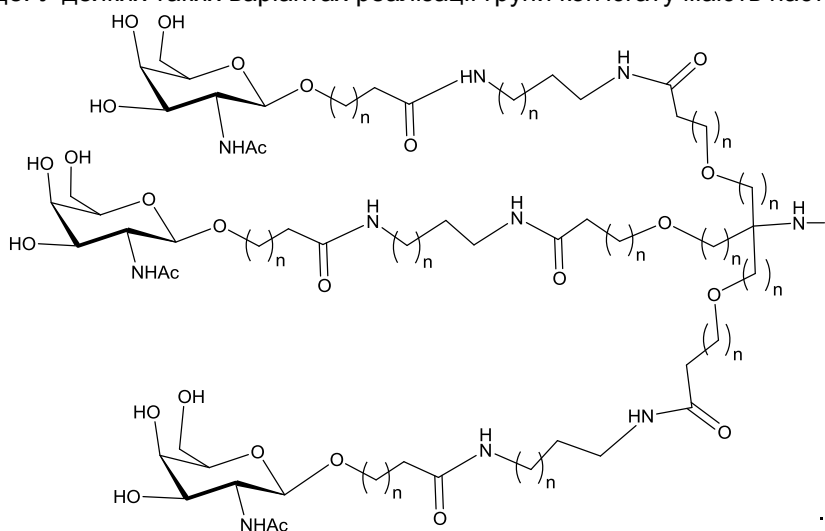
У деяких варіантах один або більше лігандів мають структуру, вибрану з:



5

і. Деякі кон'югати

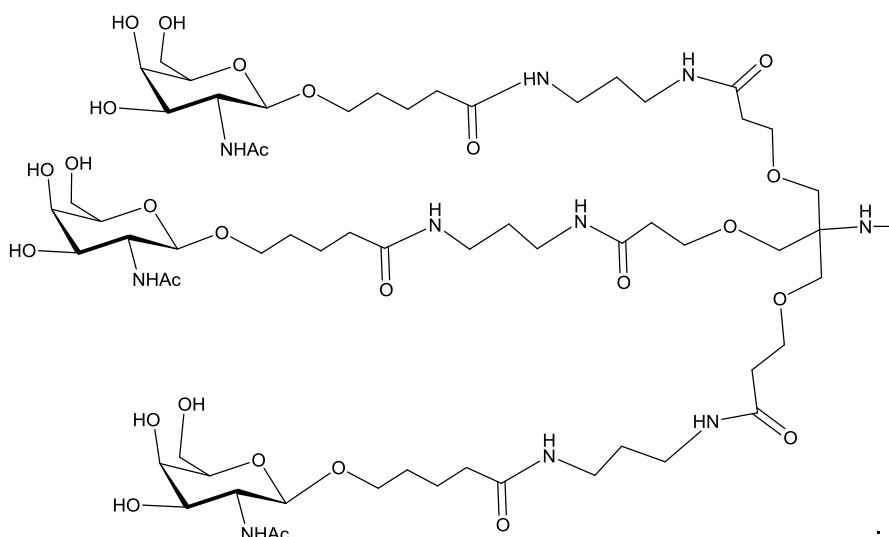
У деяких варіантах реалізації групи кон'югату містять структурні особливості, представлені вище. У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



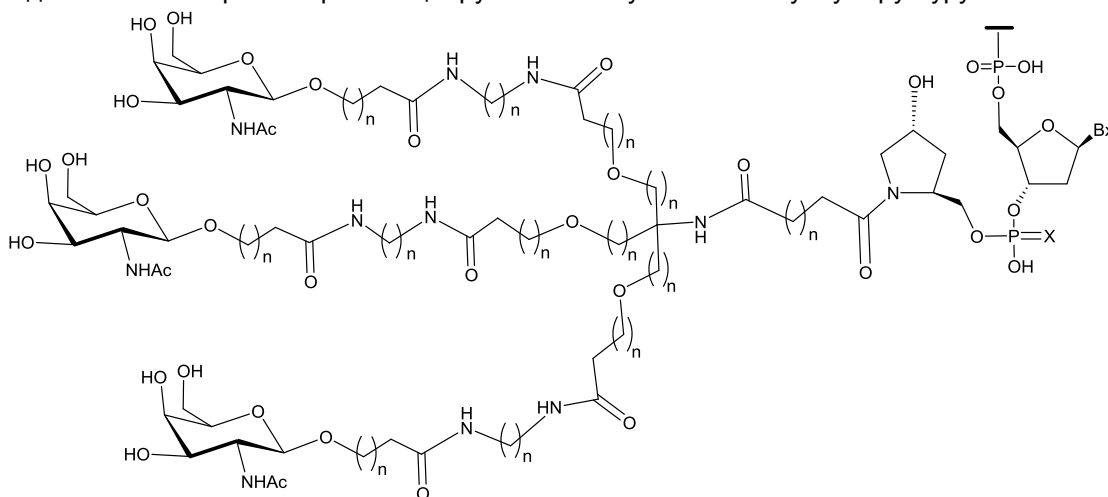
10

де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20.

У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



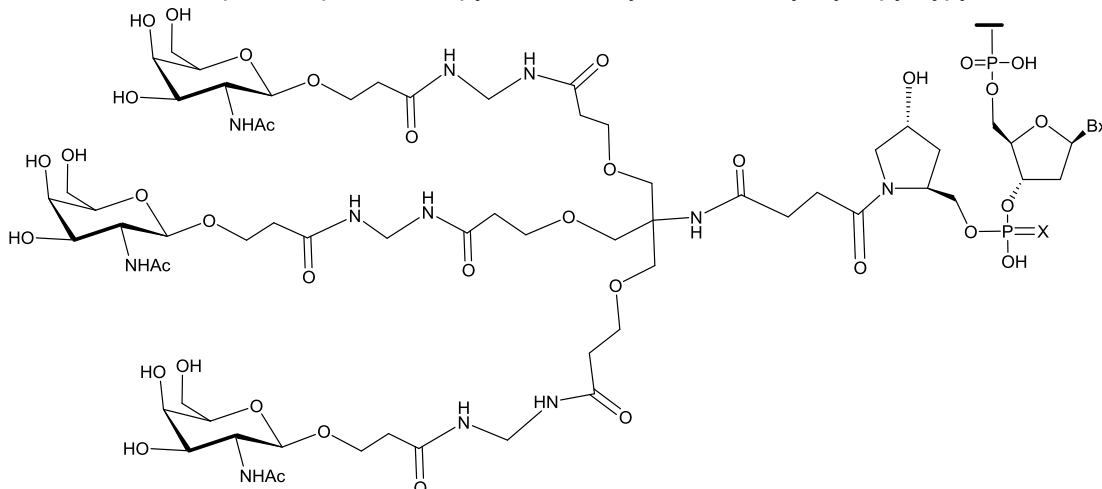
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



5

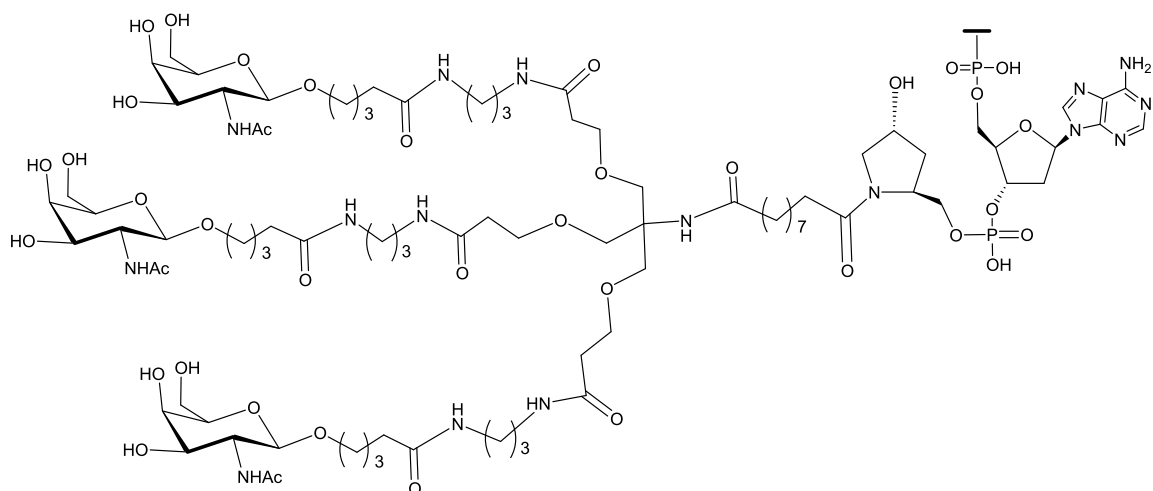
де кожен n незалежно дорівнює від 1 до 20;
 Z являє собою H або зв'язану тверду підкладку;
 Q являє собою антисмислову сполуку;
 X являє собою O або S; та
 Bx являє собою фрагмент гетероциклічної основи.

У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

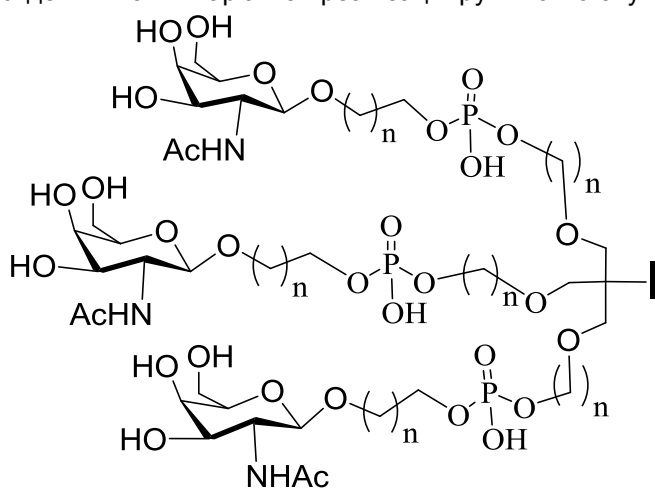


10

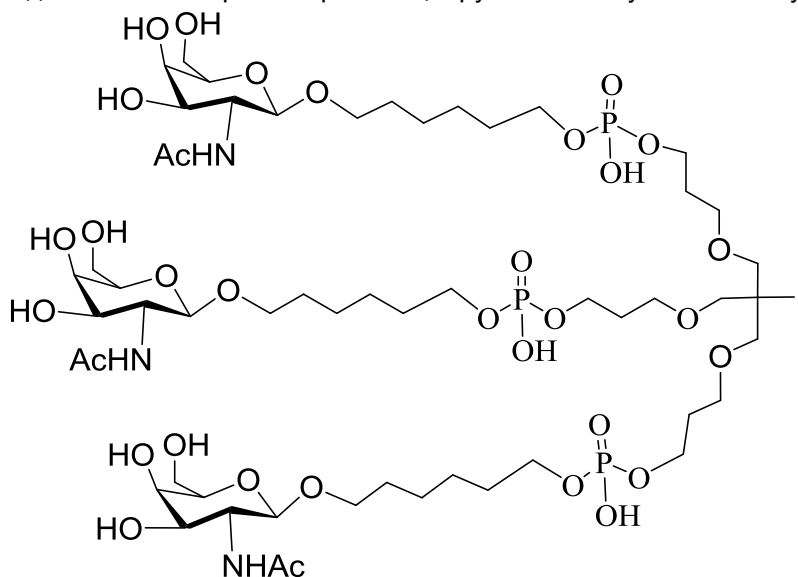
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

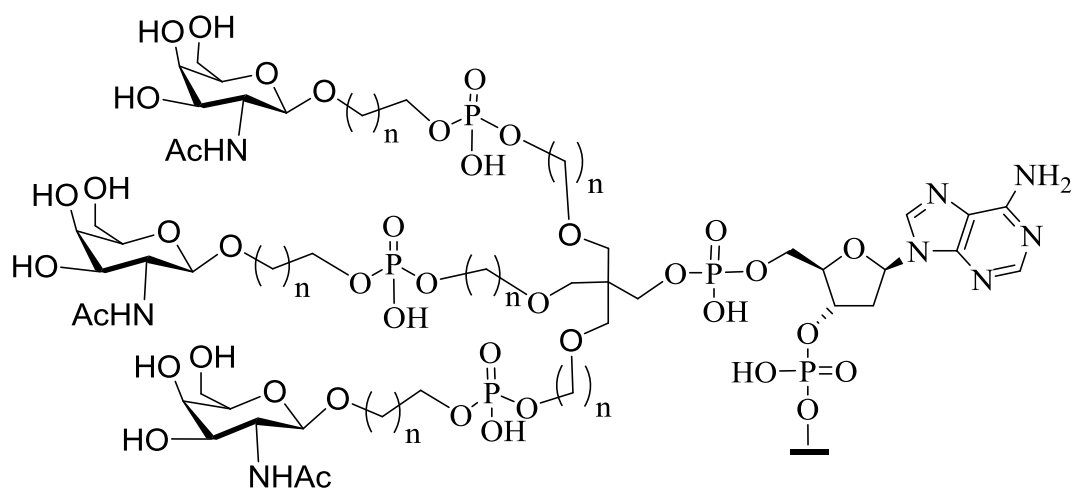


У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

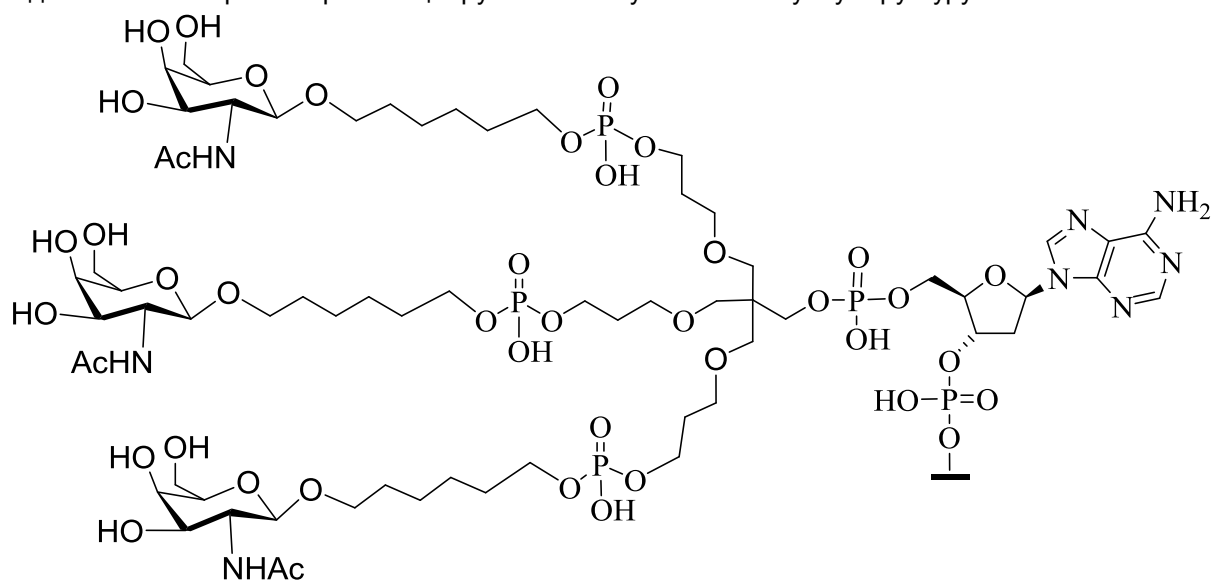


5

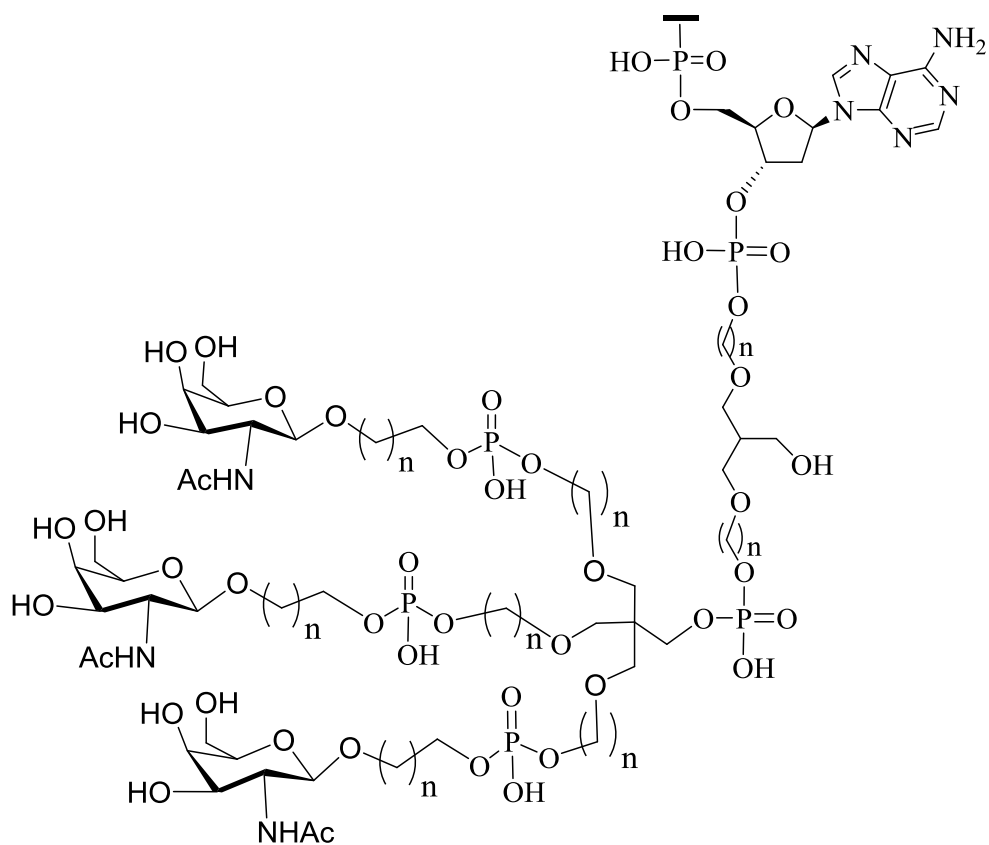
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



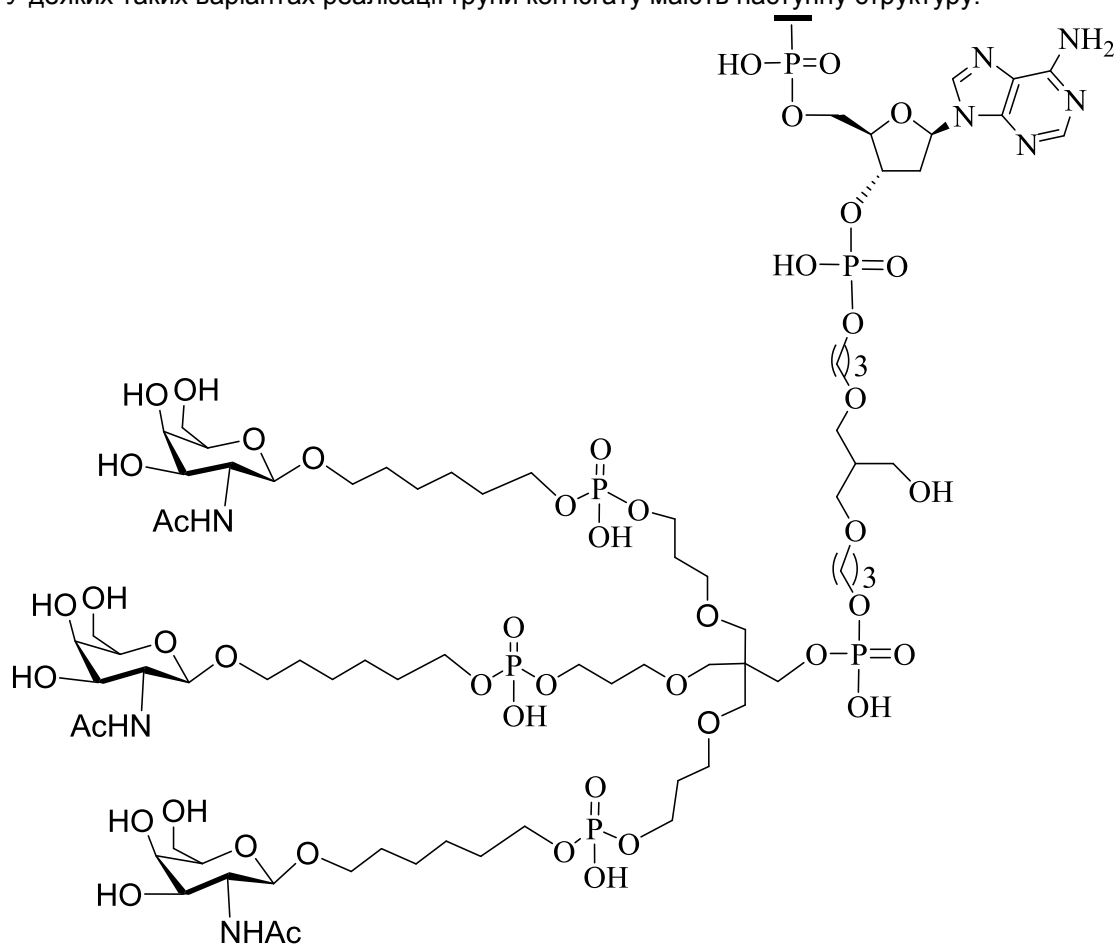
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



5 У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

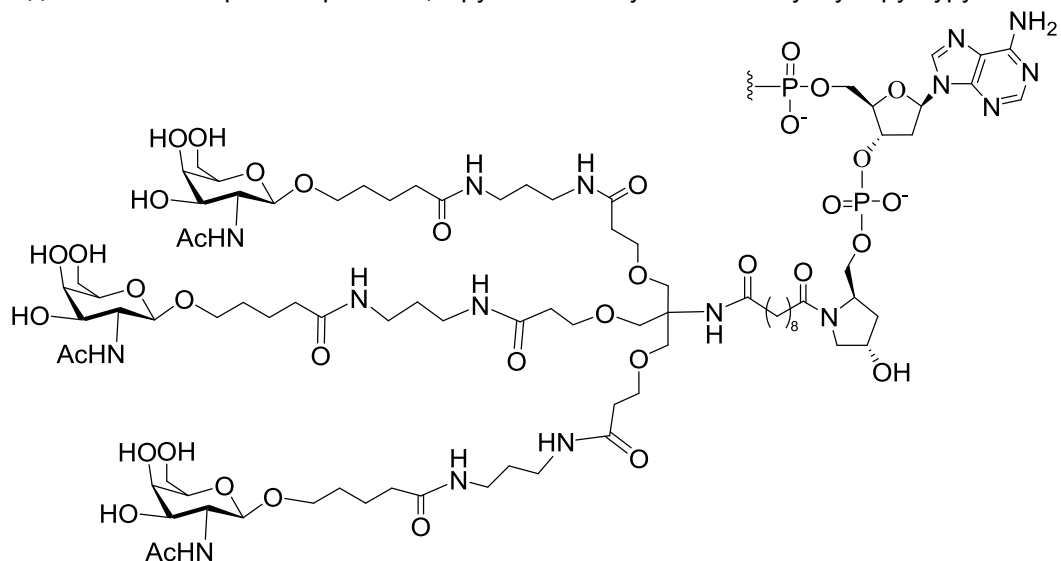


У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

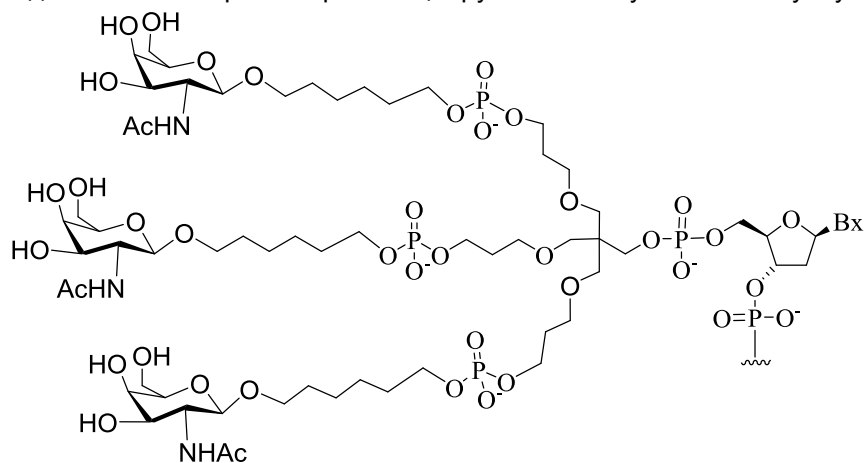


У деяких варіантах реалізації кон'югати не містять піролідин.

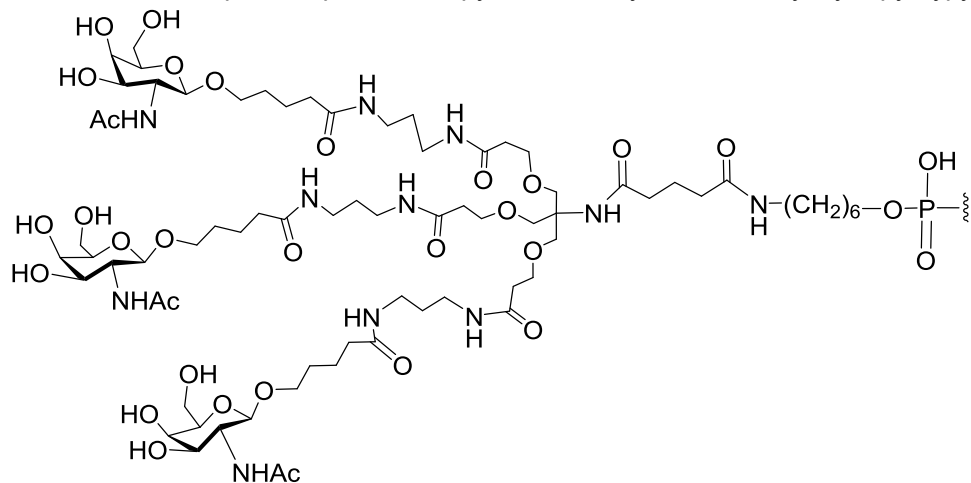
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



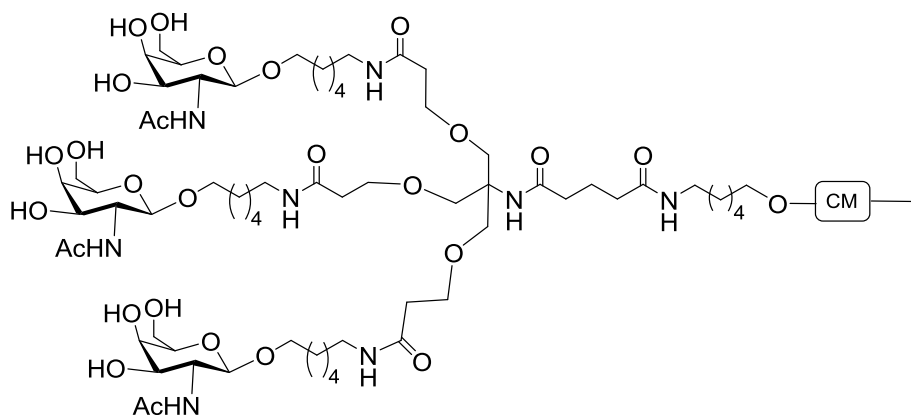
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



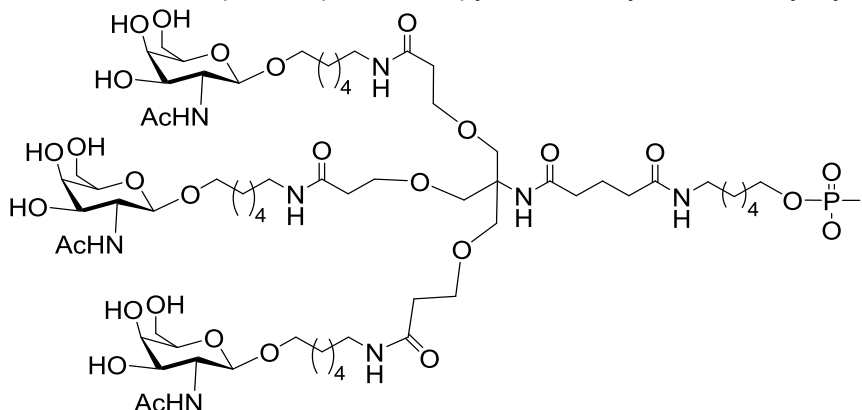
5 У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



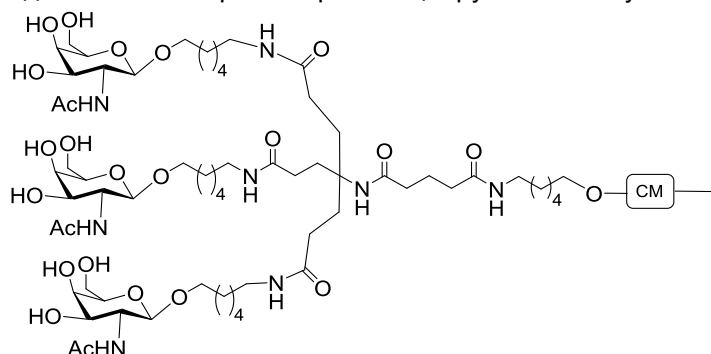
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

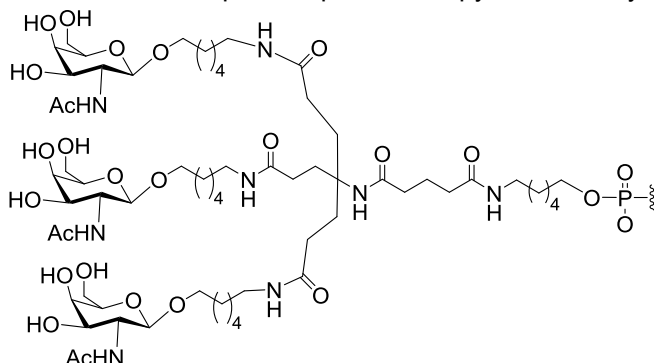


У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

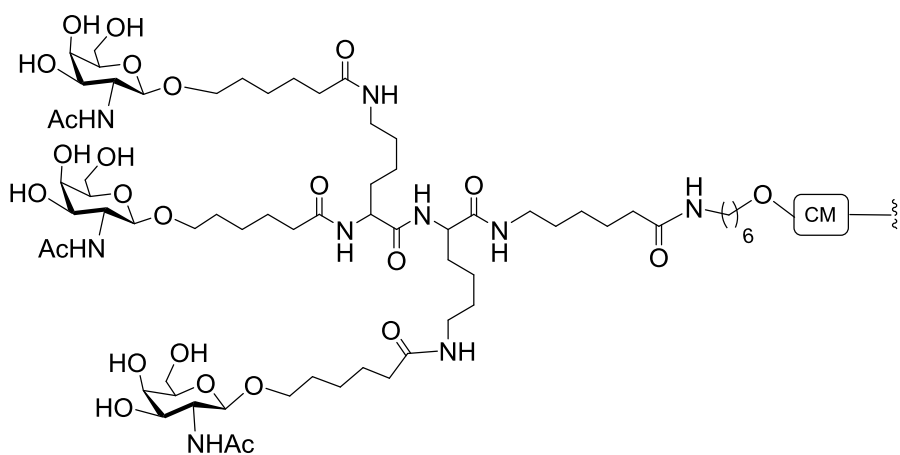


5

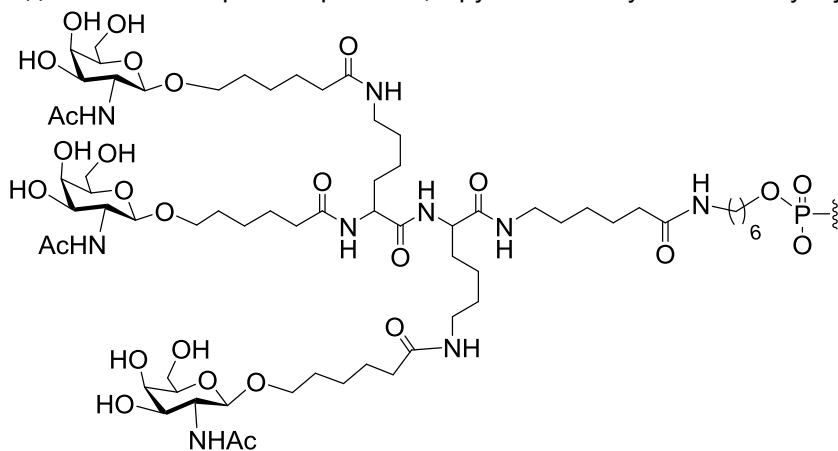
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



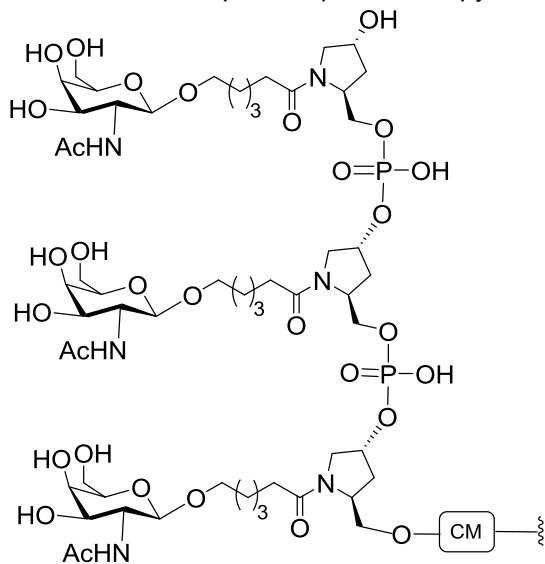
У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:



У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

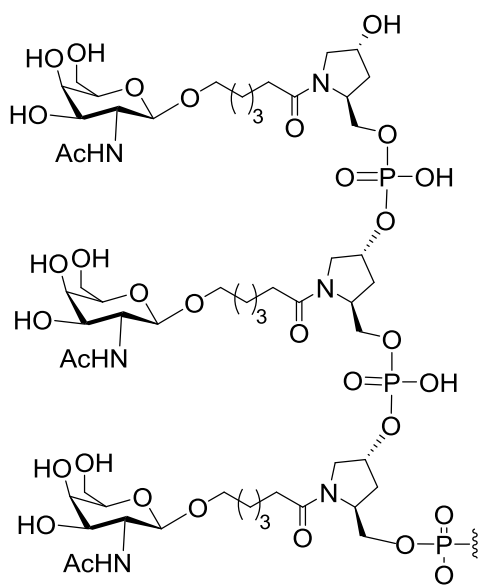


У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

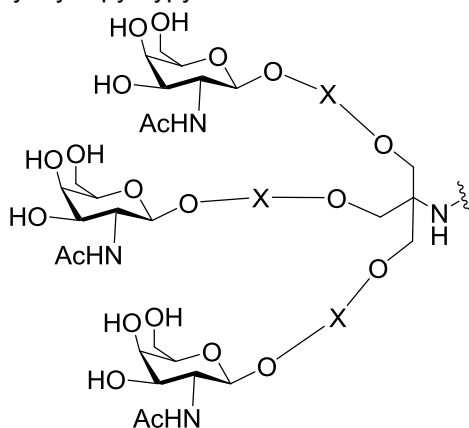


5

У деяких таких варіантах реалізації групи кон'югату мають наступну структуру:

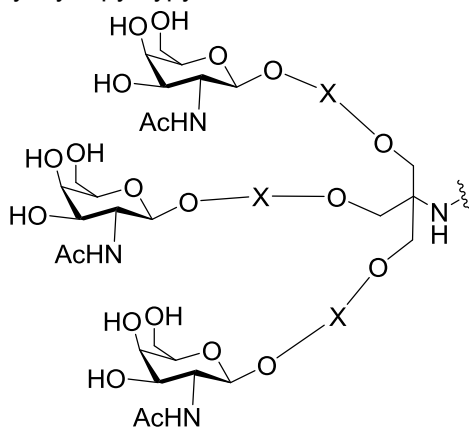


У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



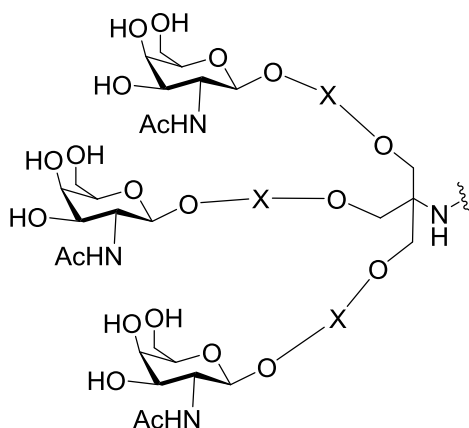
5 де X являє собою заміщену або незаміщену зв'язку з шести до одинадцяти послідовно зв'язаних атомів.

У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



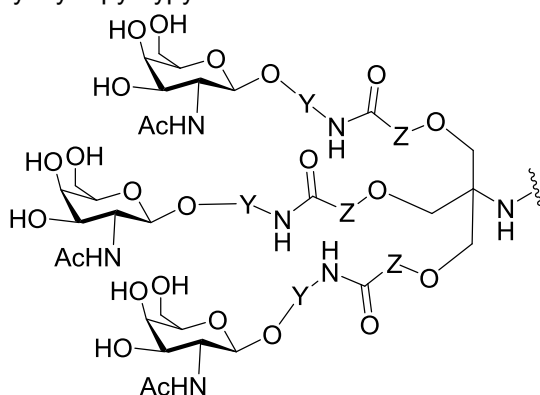
10 де X являє собою заміщену або незаміщену зв'язку з десяти послідовно зв'язаних атомів.

У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



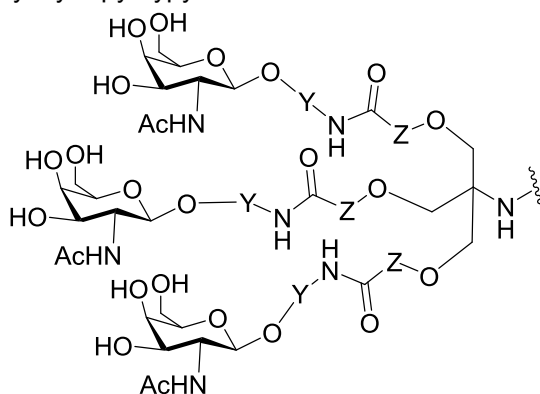
де X являє собою заміщену або незаміщену в'язку з чотирьох-одинадцяти послідовно зв'язаних атомів, і при цьому зазначена зв'язка містить тільки один амідний зв'язок.

- У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



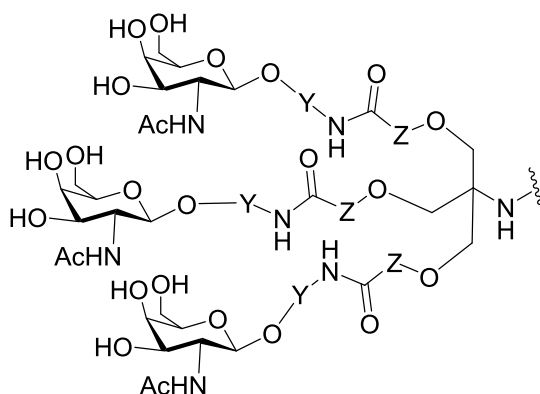
де Y і Z незалежно вибрані з C_1 - C_{12} заміщеної або незаміщеної алкільної, алкенільної або алкінільної групи або групи, що містить ефір, кетон, амід, естер, карбамат, амін, піперидин, фосфат, фосфодіестер, тіофосфат, триазол, піролідін, дисульфід або тіоефір.

- У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



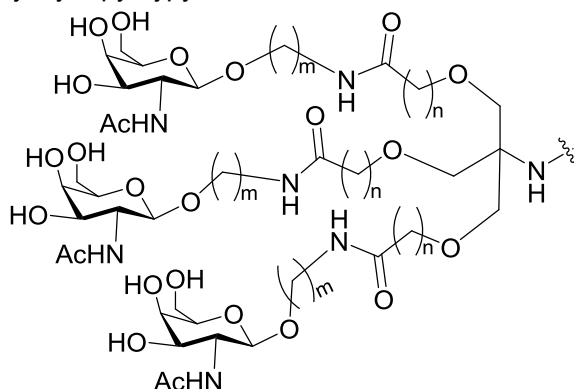
де Y і Z незалежно вибрані з C_1 - C_{12} заміщеної або незаміщеної алкільної групи або групи, що містить тільки один ефір або тільки два ефіри, амід, амін, піперидин, фосфат, фосфодіестер або тіофосфат.

- У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



де Y і Z незалежно вибрані з C₁-C₁₂ заміщеної або незаміщеної алкільної групи.

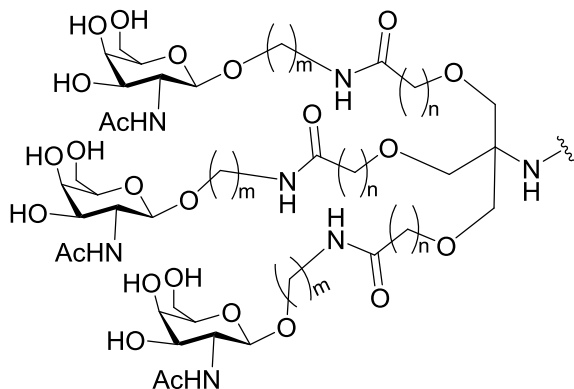
У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



5

де m і n незалежно вибрані з 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 і 12.

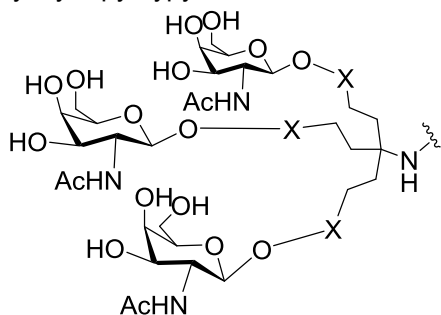
У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



10

де m дорівнює 4, 5, 6, 7 або 8, та n дорівнює 1, 2, 3 або 4.

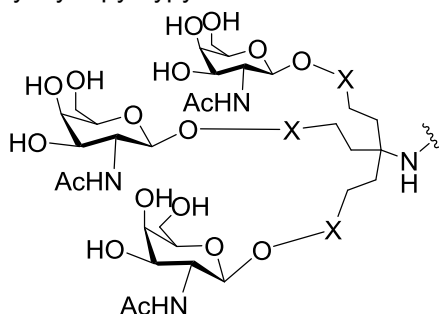
У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



15

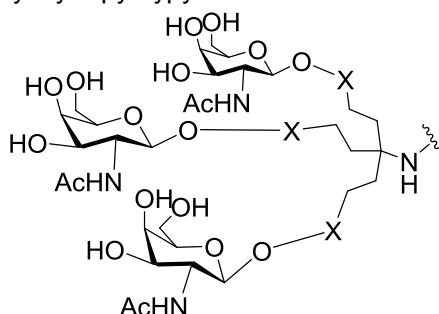
де X являє собою заміщену або незаміщену в'язку з чотирьох-тринадцяти послідовно зв'язаних атомів, і при цьому X не містить ефірну групу.

У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



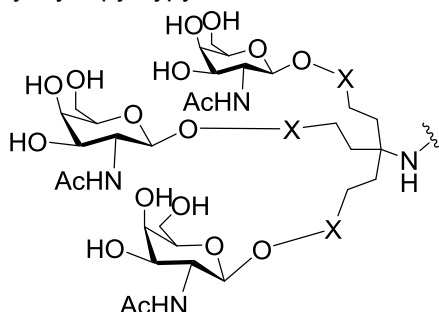
5 де X являє собою заміщену або незаміщену зв'язку з восьми послідовно зв'язаних атомів, і при цьому X не містить ефірну групу.

У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



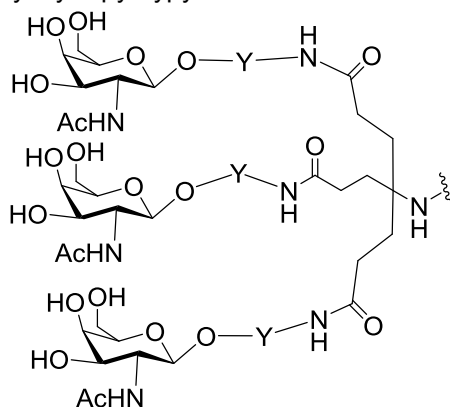
10 де X являє собою заміщену або незаміщену зв'язку з чотирьох-тринадцяти послідовно зв'язаних атомів, і при цьому зазначена зв'язка містить тільки один амідний зв'язок, а X не містить ефірну групу.

У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



15 де X являє собою заміщену або незаміщену зв'язку з чотирьох-тринадцяти послідовно зв'язаних атомів, і при цьому зазначена зв'язка складається з амідного зв'язку та заміщеної або незаміщеної C₂-C₁₁ алкільної групи.

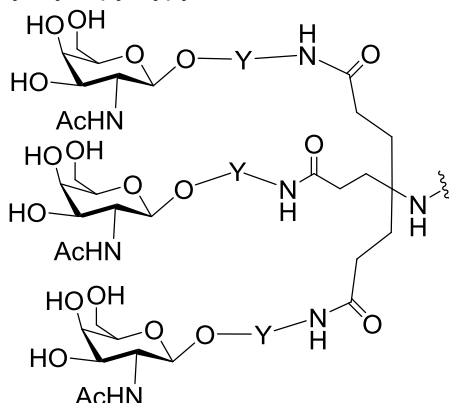
У деяких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



20

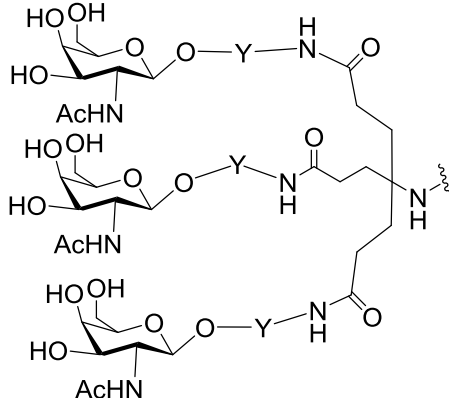
де Y вибраний з C₁-C₁₂ заміщеної або незаміщеної алкільної, алкенільної або алкінільної групи або групи, що містить ефір, кетон, амід, естер, карбамат, амін, піперидин, фосфат, фосфодіестер, тіофосфат, триазол, піролідин, дисульфід або тіоефір.

У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



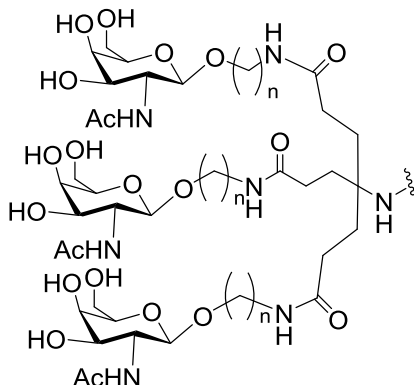
де Y вибраний з C₁-C₁₂ заміщеної або незаміщеної алкільної групи або групи, що містить ефір, амін, піперидин, фосфат, фосфодіестер або тіофосфат.

У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



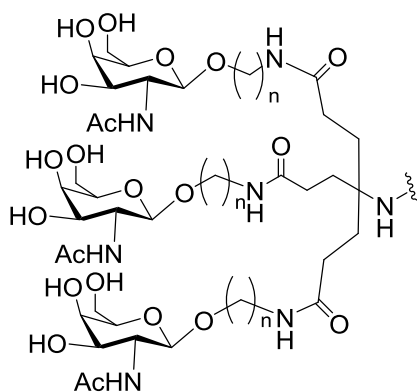
де Y вибрано з C₁-C₁₂ заміщеної або незаміщеної алкільної групи.

У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:



де n дорівнює 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 або 12.

У деяких таких варіантах реалізації фрагмент групи кон'югату, націлюючий на клітину, має наступну структуру:

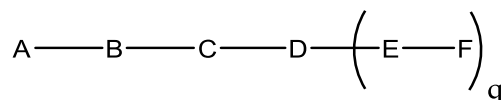


де n дорівнює 4, 5, 6, 7 або 8.

У деяких варіантах реалізації кон'югати не містять піролідин.

Деякі спряжені антисмислові сполуки

- 5 У деяких варіантах реалізації кон'югати зв'язані з нуклеозидом антисмислового олігонуклеотиду в 2', 3' або 5' положенні нуклеозиду. У деяких варіантах реалізації кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:



10

де

A являє собою антисмисловий олігонуклеотид;

B являє собою фрагмент, що розщеплюється

C являє собою лінкер кон'югату

D являє собою групу розгалуження

15

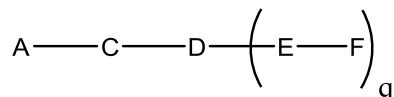
кожен E являє собою зв'язку;

кожен F являє собою ліганд; та

q являє собою ціле число від 1 до 5.

У деяких варіантах реалізації кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:

20



де

A являє собою антисмисловий олігонуклеотид;

C являє собою лінкер кон'югату

25

D являє собою групу розгалуження

кожен E являє собою зв'язку;

кожен F являє собою ліганд; та

q являє собою ціле число від 1 до 5.

У деяких таких варіантах реалізації лінкер кон'югату містить щонайменше один зв'язок, що розщеплюється.

30

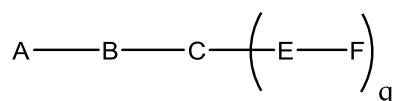
У деяких таких варіантах реалізації група розгалуження містить щонайменше один зв'язок, що розщеплюється.

У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок містить щонайменше один зв'язок, що розщеплюється.

35

У деяких варіантах реалізації кон'югати зв'язані з нуклеозидом антисмислового олігонуклеотиду в 2', 3' або 5' положенні нуклеозиду.

У деяких варіантах реалізації кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:



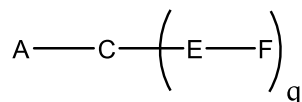
40

де

A являє собою антисмисловий олігонуклеотид;

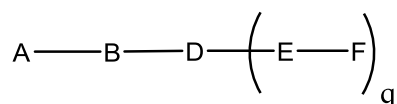
В являє собою фрагмент, що розщеплюється
 С являє собою лінкер кон'югату
 кожен Е являє собою зв'язку;
 кожен F являє собою ліганд; та
 q являє собою ціле число від 1 до 5.

У деяких варіантах реалізації кон'югати зв'язані з нуклеозидом антисмислового олігонуклеотиду в 2', 3' або 5' положенні нуклеозиду. У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:



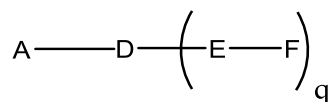
де
 А являє собою антисмисловий олігонуклеотид;
 С являє собою лінкер кон'югату
 кожен Е являє собою зв'язку;
 кожен F являє собою ліганд; та
 q являє собою ціле число від 1 до 5.

У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:



де
 А являє собою антисмисловий олігонуклеотид;
 В являє собою фрагмент, що розщеплюється
 D являє собою групу розгалуження
 кожен Е являє собою зв'язку;
 кожен F являє собою ліганд; та
 q являє собою ціле число від 1 до 5.

У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має наступну структуру:

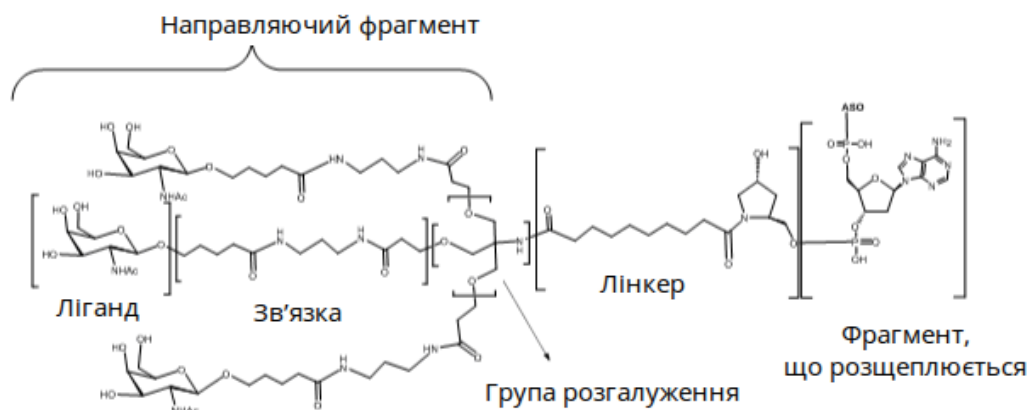


де
 А являє собою антисмисловий олігонуклеотид;
 D являє собою групу розгалуження
 кожен Е являє собою зв'язку;
 кожен F являє собою ліганд; та
 q являє собою ціле число від 1 до 5.

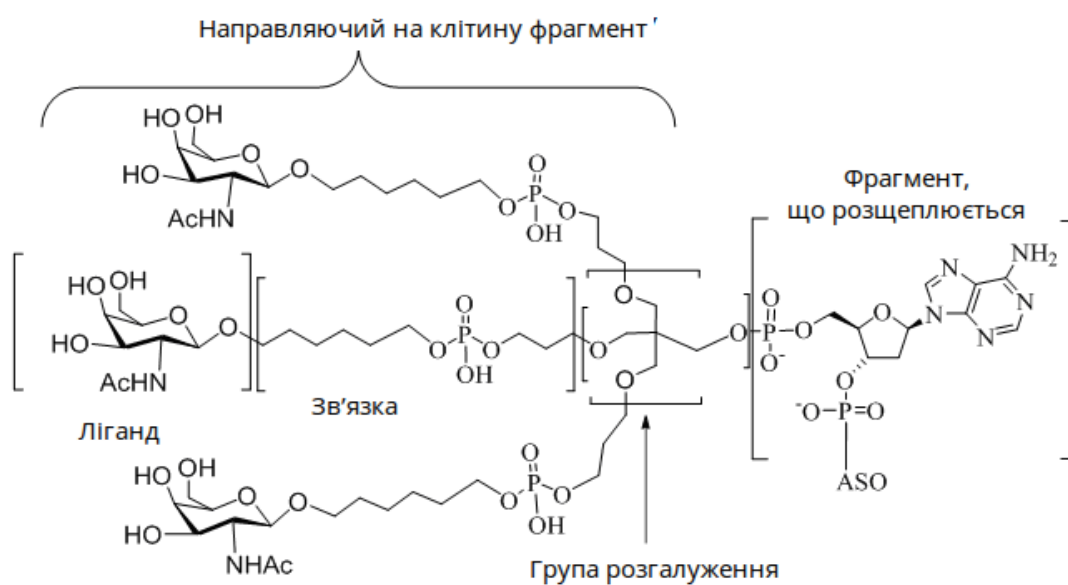
У деяких таких варіантах реалізації лінкер кон'югату містить щонайменше один зв'язок, що розщеплюється.

У деяких варіантах реалізації кожен зв'язок містить щонайменше один зв'язок, що розщеплюється.

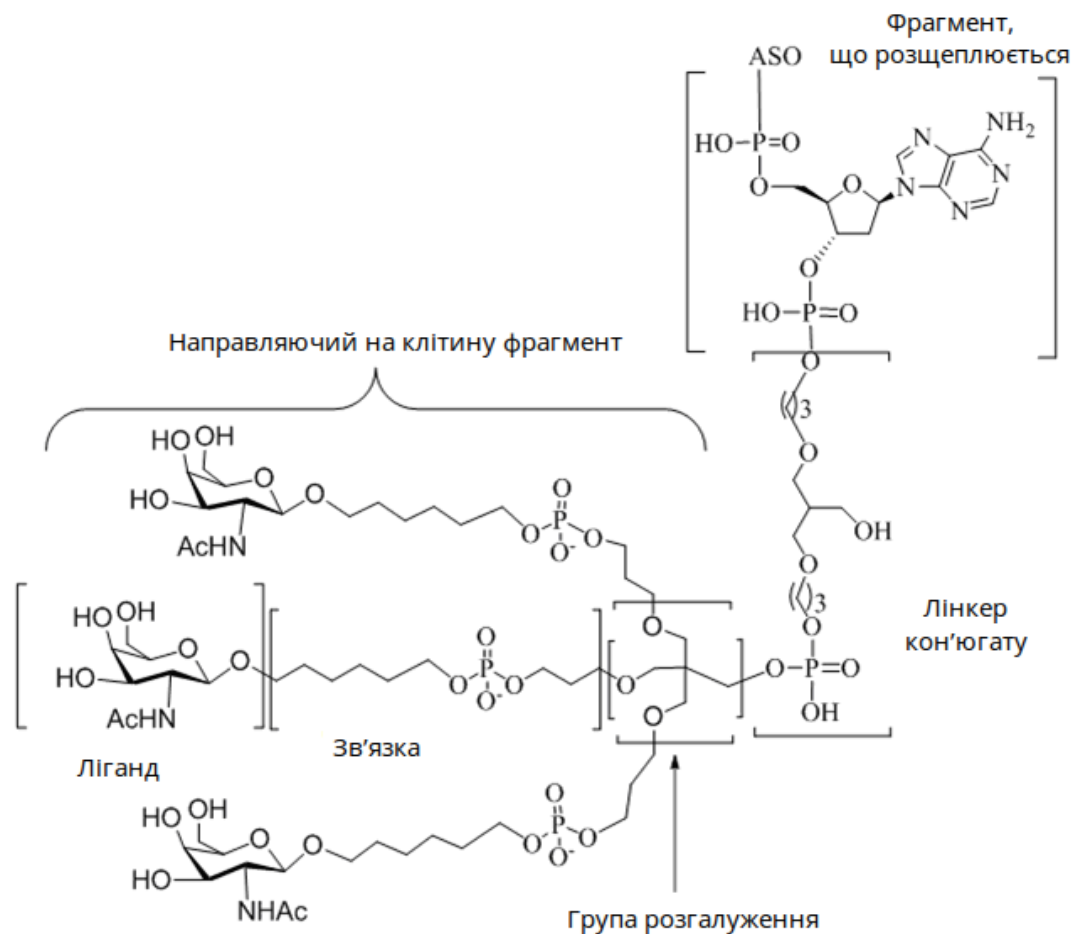
У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має структуру, обрану з наступних:



У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має структуру, обрану з наступних:



- 5 У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука має структуру, обрану з наступних:



Ілюстративні патенти Сполучених штатів Америки, публікації патентних заявок Сполучених штатів Америки і публікації міжнародних патентних заявок, в яких описано отримання деяких із зазначених вище кон'югатів, сполучених антисмислових сполук, зв'язок, лінкерів, груп розгалуження, лігандів, фрагментів, що розщеплюються, а також інших модифікацій, включають, без обмежень, US 5994517, US 6300319, US 6660720, US 6906182, US 7262177, US 7491805, US 8106022, US 7723509, US 2006/0148740, US 2011/0123520, WO 2013/033230 і WO 2012/037254, кожна з яких включена в цей документ за допомогою посилання в повному обсязі.

Ілюстративні публікації, в яких описано отримання деяких із зазначених вище кон'югатів, сполучених антисмислових сполук, зв'язок, лінкерів, груп розгалуження, лігандів, фрагментів, що розщеплюються, а також інших модифікацій, включають, без обмежень, BIESSEN et al., "The Cholesterol Derivative of a Triantennary Galactoside with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor: a Potent Cholesterol Lowering Agent" J. Med. Chem. (1995) 38:1846-1852, BIESSEN et al., "Synthesis of Cluster Galactosides with High Affinity for the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1995) 38:1538-1546, LEE et al., "New and more efficient multivalent glyco-ligands for asialoglycoprotein receptor of mammalian hepatocytes" Bioorganic & Medicinal Chemistry (2011) 19:2494-2500, RENSEN et al., "Determination of the Upper Size Limit for Uptake and Processing of Ligands by the Asialoglycoprotein Receptor on Hepatocytes in Vitro and in Vivo" J. Biol. Chem. (2001) 276(40):37577-37584, RENSEN et al., "Design and Synthesis of Novel N-Acetylgalactosamine-Terminated Glycolipids for Targeting of Lipoproteins to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (2004) 47:5798-5808, SLIEDREGT et al., "Design and Synthesis of Novel Amphiphilic Dendritic Galactosides for Selective Targeting of Liposomes to the Hepatic Asialoglycoprotein Receptor" J. Med. Chem. (1999) 42:609-618, і Valentijn et al., "Solid-phase synthesis of lysine-cluster based galactosides affinity with high for the Asialoglycoprotein Receptor" Tetrahedron, 1997, 53(2), 759-770, кожен які включені у цей документ за допомогою посилання у повному обсязі.

У деяких варіантах реалізації спряжені антисмислові сполуки містять олігонуклеотид на основі РНКази Н (такий як гепмер) або сплайс-модулюючий олігонуклеотид (такий як повністю модифікований олігонуклеотид) і будь-яку групу кон'югату, яка містить щонайменше одну, дві або три групи GalNAc. У деяких варіантах реалізації Кон'югована антисмислова сполука містить

будь-яку групу кон'югату, описану в будь-якому з наступних посилань: Lee, Carbohydr Res, 1978, 67, 509-514; Connolly et al., J Biochem, 1982, 257, 939-945; Pavia et al., Int J Pept Protein Res, 1983, 22, 539-548; Lee et al., Biochem, 1984, 23, 4255-4261; Lee et al., Glycoconjugate J, 1987, 4, 317-328; Toyokuni et al., Tetrahedron Lett, 1990, 31, 2673-2676; Biessen et al., J Med Chem, 1995, 38, 1538-1546; Valentijn et al., Tetrahedron, 1997, 53, 759-770; Kim et al., Tetrahedron Lett, 1997, 38, 3487-3490; Lee et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 762-765; Kato et al., Glycobiol, 2001, 11, 821-829; Rensen et al., J Biochem, 2001, 276, 37577-37584; Lee et al., Methods Enzymol, 2003, 362, 38-43; Westerlind et al., Glycoconj J, 2004, 21, 227-241; Lee et al., Bioorg Med Chem Lett, 2006, 16(19), 5132-5135; Maierhofer et al., Bioorg Med Chem, 2007, 15, 7661-7676; Khorev et al., Bioorg Med Chem, 2008, 16, 5216-5231; Lee et al., Bioorg Med Chem, 2011, 19, 2494-2500; Kornilova et al., Analyt Biochem, 2012, 425, 43-46; Pujol et al., Angew Chemie Int Ed Engl, 2012, 51, 7445-7448; Biessen et al., J Med Chem, 1995, 38, 1846-1852; Sliedregt et al., J Med Chem, 1999, 42, 609-618; Rensen et al., J Med Chem, 2004, 47, 5798-5808; Rensen et al., Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006, 26, 169-175; van Rossenberg et al., Gene Ther, 2004, 11, 457-464; Sato et al., J Am Chem Soc, 2004, 126, 14013-14022; Lee et al., J Org Chem, 2012, 77, 7564-7571; Biessen et al., FASEB J, 2000, 14, 1784-1792; Rajur et al., Bioconjug Chem, 1997, 8, 935-940; Duff et al., Methods Enzymol, 2000, 313, 297-321; Maier et al., Bioconjug Chem, 2003, 14, 18-29; Jayaprakash et al., Org Lett, 2010, 12, 5410-5413; Manoharan, Antisense Nucleic Acid Drug Dev, 2002, 12, 103-128; Merwin et al., Bioconjug Chem, 1994, 5, 612-620; Tomiya et al., Bioorg Med Chem, 2013, 21, 5275-5281; міжнародних заявках WO1998/013381; WO2011/038356; WO1997/046098; WO2008/098788; WO2004/101619; WO2012/037254; WO2011/120053; WO2011/100131; WO2011/163121; WO2012/177947; WO2013/033230; WO2013/075035; WO2012/083185; WO2012/083046; WO2009/082607; WO2009/134487; WO2010/144740; WO2010/148013; WO1997/020563; WO2010/088537; WO2002/043771; WO2010/129709; WO2012/068187; WO2009/126933; WO2004/024757; WO2010/054406; WO2012/089352; WO2012/089602; WO2013/166121; WO2013/165816; патентах США 4751219; 8552163; 6908903; 7262177; 5994517; 6300319; 8106022; 7491805; 7491805; 7582744; 8137695; 6383812; 6525031; 6660720; 7723509; 8541548; 8344125; 8313772; 8349308; 8450467; 8501930; 8158601; 7262177; 6906182; 6620916; 8435491; 8404862; 7851615; опублікованих заявках на патент США US2011/0097264; US2011/0097265; US2013/0004427; US2005/0164235; US2006/0148740; US2008/0281044; US2010/0240730; US2003/0119724; US2006/0183886; US2008/0206869; US2011/0269814; US2009/0286973; US2011/0207799; US2012/0136042; US2012/0165393; US2008/0281041; US2009/0203135; US2012/0035115; US2012/0095075; US2012/0101148; US2012/0128760; US2012/0157509; US2012/0230938; US2013/0109817; US2013/0121954; US2013/0178512; US2013/0236968; US2011/0123520; US2003/0077829; US2008/0108801; i US2009/0203132; повний зміст яких включено в цей документ за допомогою посилання.

Тестування антисмислових олігонуклеотидів *in vitro*

Описані в цьому документі способи лікування клітин за допомогою антисмислових олігонуклеотидів можуть бути змінені відповідним чином для лікування іншими антисмисловими сполуками.

Клітини можуть бути оброблені антисмисловими олігонуклеотидами при 60-80 % рівні конфлюентності в культурі.

Реагент, який використовується для введення антисмислових олігонуклеотидів у культивовані клітини, включає катіонний ліпідний трансфекційний реагент Ліпофектин (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія). Антисмислові олігонуклеотиди можуть бути змішані з Ліпофектином OPTI-MEM 1 (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія) для досягнення бажаної кінцевої концентрації антисмислових олігонуклеотидів і концентрації Ліпофектину в межах від 2 до 12 мкг/мл при 100 нМ антисмислового олігонуклеотиду.

Інший реагент, який використовується для введення антисмислових олігонуклеотидів у культивовані клітини, включає Ліпофектамін (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія). Антисмисловий олігонуклеотид змішують з Ліпофектаміном в середовищі OPTI-MEM 1 зі зниженим вмістом сироватки (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія) для досягнення бажаної концентрації антисмислових олігонуклеотидів і концентрації Ліпофектаміна в межах від 2 до 12 мкг/мл при 100 нМ антисмислового олігонуклеотиду.

Ще одна методика, що використовувалась для введення антисмислових олігонуклеотидів у культивовані клітини, включає електропорацію.

Інша методика, що використовувалась для введення антисмислових олігонуклеотидів у культивовані клітини, включає вільне захоплення олігонуклеотидів клітинами.

Клітини обробляють антисмисловими олігонуклеотидами за допомогою стандартних способів. Клітини можуть бути відібрані через 16-24 годин після обробки антисмисловим

олігонуклеотидом, після чого рівні РНК або білків нуклеїнових кислот-мішеней вимірюють методами, відомими у цій галузі техніки і описаними в цьому документі. Як правило, якщо обробку проводять в декількох повтореннях, дані представляються як середнє значення для багаторазових обробок.

Концентрація використаного антисмислового олігонуклеотиду варіює в залежності від лінії клітин. Способи визначення оптимальної концентрації антисмислового олігонуклеотиду для конкретної лінії клітин добре відомі в цій галузі техніки. Антисмислові олігонуклеотиди зазвичай використовують у концентраціях від 1 нМ до 300 нМ при трансфекціюванні з використанням Ліпофектаміну. Антисмислові олігонуклеотиди використовують в більш високих концентраціях в діапазоні від 625 до 20000 нМ при трансфекціюванні з використанням електропорації.

Ізоляція РНК

Аналіз РНК може бути проведено на загальній клітинній РНК або полі(А)+ мРНК. Способи ізоляції РНК добре відомі в цій галузі техніки. РНК отримують з використанням способів, добре відомих в цій області техніки, наприклад, з використанням реагенту Тризол (Invitrogen, Карлсбад, Каліфорнія) за рекомендованими протоколами виробника.

Деякі показання

Деякі варіанти реалізації, запропоновані в цьому документі, відносяться до способів лікування, попередження або полегшення захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, у суб'єкта за допомогою введення специфічного інгібітора CFB, такого як антисмислові сполуки, спрямоване на CFB.

Приклади ниркових захворювань, пов'язаних з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, які можна лікувати, попереджати і/або полегшувати способами, запропонованими у цьому документі, включають С3 гломерулопатію, атиповий геполітико-уремічний синдром (аHUS), хвороба щільного осаду (DDD; також відому як MPGN типу II або C3Neph) і CFHR5 нефропатію.

Додаткові ниркові захворювання, пов'язані з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, які можна лікувати, попереджати і/або полегшувати способами, запропонованими у цьому документі, включають IgA нефропатію; мезангіокапілярний (мембранопротіферативний) гломерулонефрит (MPGN); аутоімунні розлади, включаючи вовчаковий нефрит і системний червоний вовчак (СЧВ); інфекційний гломерулонефрит (також відомий як постінфекційний гломерулонефрит) ішемічно-реперфузійне пошкодження нирок, наприклад, ішемічно-реперфузійне пошкодження нирок після пересадки органу.

Приклади позаниркових розладів, пов'язаних з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, які можна лікувати і/або попереджати способами, запропонованими у цьому документі, включають очні захворювання, такі як дегенерація жовтої плями, наприклад, вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), включаючи вологу ВДМ і суху ВДМ, таку як географічна атрофія; нейромієліт зорового нерва; хвороба рогівки, така як запалення рогівки; аутоімунні увеїти; і діабетичну ретинопатію. Описано, що система комплементу бере участь в очних захворюваннях. Jha P, et al., Mol Immunol (2007) 44(16): 3901-3908. Додаткові приклади позаниркових розладів, пов'язаних з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, які можна лікувати і/або попереджати способами, запропонованими у цьому документі, включають ANCA-пов'язані васкуліти, антифосфоліпідний синдром (також відомий як синдром антифосфоліпідних антитіл (APS)), астму, ревматоїдний артрит, міастенію гравіс і розсіяний склероз.

Деякі варіанти реалізації, запропоновані в цьому документі, відносяться до способів лікування, попередження або полегшення ниркового захворювання, пов'язаного з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, у суб'єкта за допомогою введення специфічного інгібітора CFB, такого як антисмислова сполука, спрямована на CFB. У деяких аспектах ниркове захворювання являє собою вовчаковий нефрит, системний червоний вовчак (СЧВ), хвороба щільного осаду (DDD), С3 гломерулонефрит (С3GN), CFHR5 нефропатію або атиповий гемолітико-уремічний синдром), або будь-яку їх комбінацію.

Деякі варіанти реалізації, запропоновані в цьому документі, відносяться до способів лікування, попередження або полегшення дегенерації жовтої плями, такої як вікова дегенерація жовтої плями (ВДМ), у суб'єкта за допомогою введення специфічного інгібітора CFB, такого як антисмислова сполука, спрямована на CFB. У деяких аспектах ВДМ являє собою вологу ВДМ або суху ВДМ. У деяких аспектах суха ВДМ може являти собою географічну атрофію. У дослідженнях показано зв'язок дизрегуляції альтернативного шляху комплементу з ВДМ. Компоненти комплементу являють собою звичайні складові очної дружи, позаклітинного матеріалу, який накопичується в жовтій плямі пацієнтів з ВДМ. Крім того, було описано, що CFB і CFB варіанти становлять близько 75 % випадків ВДМ у Північній Європі і Північній Америці.

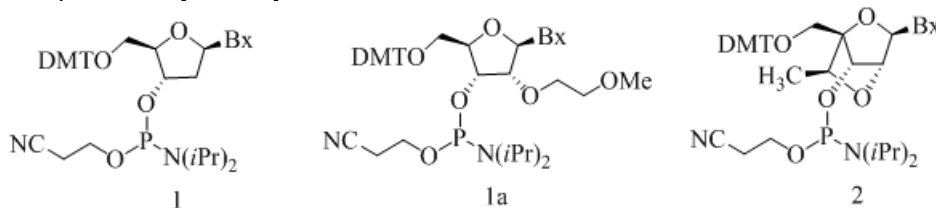
<skj також виявлено, що специфічний поліморфізм CFB забезпечує захист від ВДМ. Patel, N. et al., *Eye* (2008) 22(6):768-76. Крім того, гомозиготні по нульовому CFB миші мають більш низьку активністю шляху комплементу, демонструють більш слабкі очні пошкодження і хоріоїдальну неоваскуляризацію (CNV) після лазерної фотокоагуляції. Rohrer, B. et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2009) 50(7):3056-64. Крім того, лікування із застосуванням міРНК CFB захищає мишей від CNV, індукованої лазером. Bora, NS et al., *J Immunol.* (2006) 177(3):1872-8. У дослідженнях показано також, що нирки та очі мають спільні шляхи розвитку та структурні особливості, включаючи склад промотору колагену базальної мембрани IV і васкулярність. Savige et al., *J Am Soc Nephrol.* (2011) 22(8):1403-15. Існують дані, що шлях комплементу бере участь у ниркових і очних захворюваннях. Наприклад, спадковий дефіцит регуляторного білка системи комплементу викликає схильність до атипічного гемолітико-уремического синдрому і AMD. Richards A et al., *Adv Immunol.* (2007) 96:141-77. Крім того, хронічна хвороба нирок пов'язана з ВДМ. Nitsch, D. et al., *Ophthalmic Epidemiol.* (2009) 16(3):181-6; Choi, J. et al, *Ophthalmic Epidemiol.* (2011) 18(6):259-63. Хвороба щільного осаду (DDD), захворювання нирок, пов'язане з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, що характеризується гострим нефритичним синдромом і очними друзями. Cruz and Smith, *GeneReviews* (2007) Jul 20. Крім того, миші, які несуть генетичну делецію компоненту альтернативного шляху комплементу, одночасно демонструють фенотипом ниркової та очної хвороби. Описано, що у гомозиготних за нульовим CFH мишей розвивається DDD і присутні патології сітківки, а також зорова дисфункція. Pickering et al., *Nat Genet.* (2002) 31(4):424-8. Мишачі моделі ниркових захворювань, пов'язаних з дизрегуляцією альтернативного шляху комплементу, також є загальноприйнятими моделями ВДМ. Pennesi ME et al., *Mol Aspects Med* (2012) 33:487-509. Нульові за CFH миші, наприклад, являють собою загальноприйнятую модель ниркових захворювань, таких як DDD і ВДМ. Крім того, описано, що ВДМ пов'язана з системним джерелом факторів комплементу, які локально накопичуються в очах, приводячи в дію альтернативний шлях активації комплементу. Loyet et al., *Invest Ophthalmol Vis Sci.* (2012) 53(10):6628-37.

Приклади

Наступні приклади ілюструють деякі варіанти реалізації цього опису і не є обмежувачими. Більш того, якщо подані конкретні варіанти реалізації, автори винаходу мають на увазі загальне застосування зазначених конкретних варіантів реалізації. Наприклад, опис олігонуклеотиду, який містить конкретний мотив, дає обґрунтовану підставу для додаткових олігонуклеотидів, що містять такий самий або схожий мотив. І, наприклад, якщо конкретна високоафінна модифікація виникає в певному положенні, то в цьому ж положенні вважаються придатними інші високоафінні модифікації, якщо не зазначено інше.

Приклад 1: Загальний спосіб одержання фосфорамідитів, Сполук 1, 1a і 2

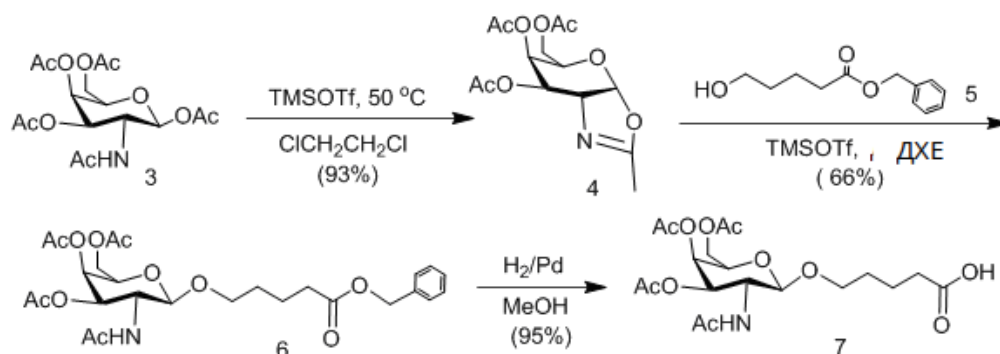
Вх являє собою
гетероциклічну основу;



Вх представляет собой
гетероциклическое основание;

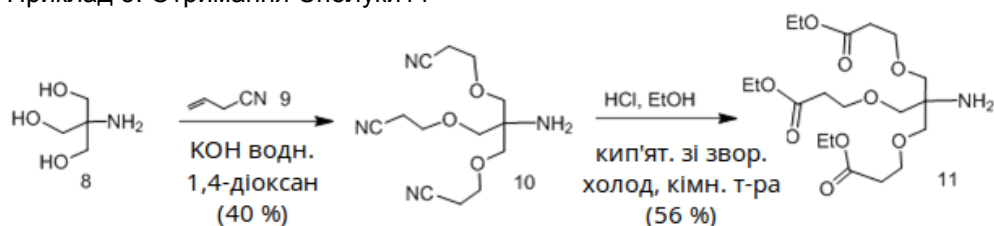
Сполуки 1, 1a і 2 були отримані способами, загальновідомими у цій області техніки, як описано в цьому документі (див. Seth et al., *Bioorg. Med. Chem.*, 2011, 21(4), 1122-1125, *J. Org. Chem.*, 2010, 75(5), 1569-1581, *Nucleic Acids Symposium Series*, 2008, 52(1), 553-554); и см. також опубліковані Міжнародні заявки PCT (WO 2011/115818, WO 2010/077578, WO2010/036698, WO2009/143369, WO 2009/006478 і WO 2007/090071) і патент США 7569686).

Приклад 2: Отримання Сполуки 7



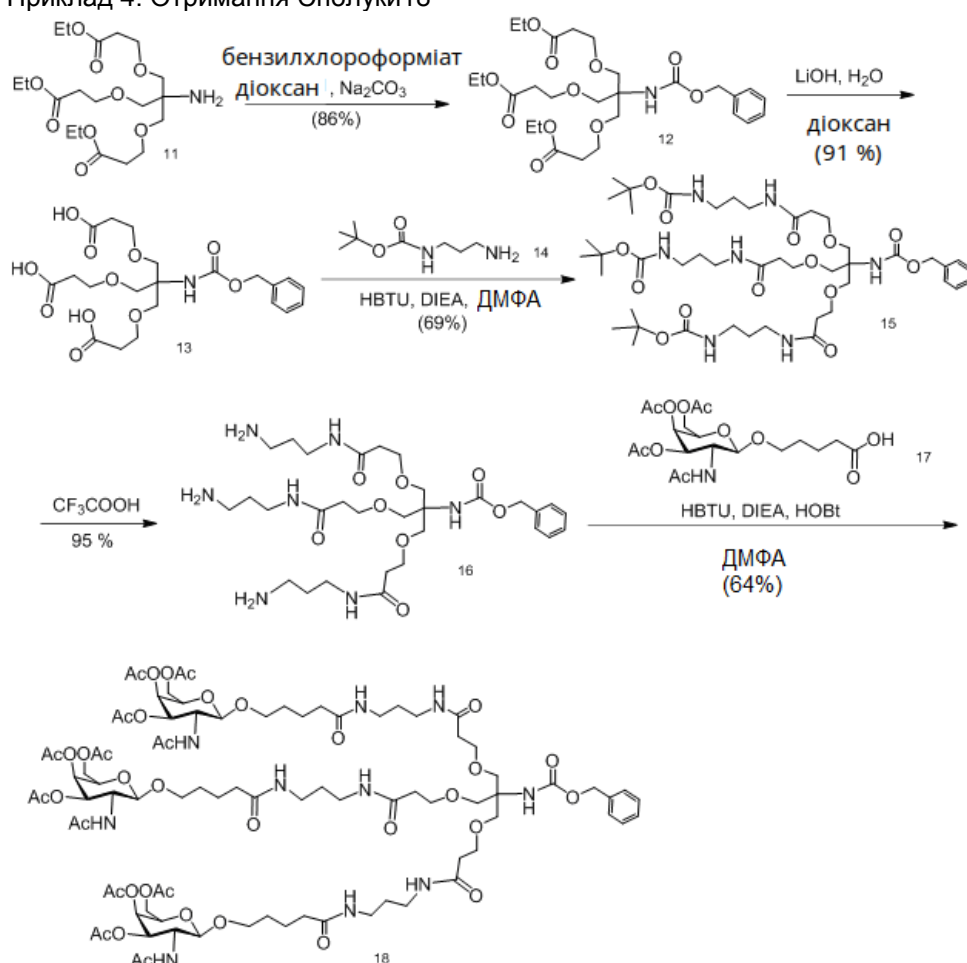
Сполука 3 (2-ацетамідо-1,3,4,6-тетра-О-ацетил-2-дезоксi-β-D-галактопіраноза або галактозаїна пентаацетат) є у продажу. Сполуку 5 отримали за опублікованими методиками (Weber et al., J. Med. Chem., 1991, 34, 2692).

Приклад 3: Отримання Сполуки11



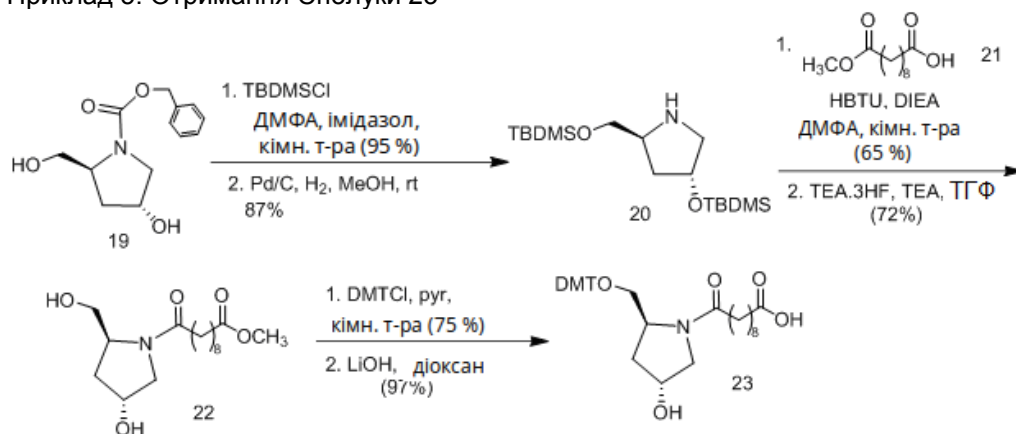
Сполуки 8 і 9 є в продажу.

Приклад 4: Отримання Сполуки18



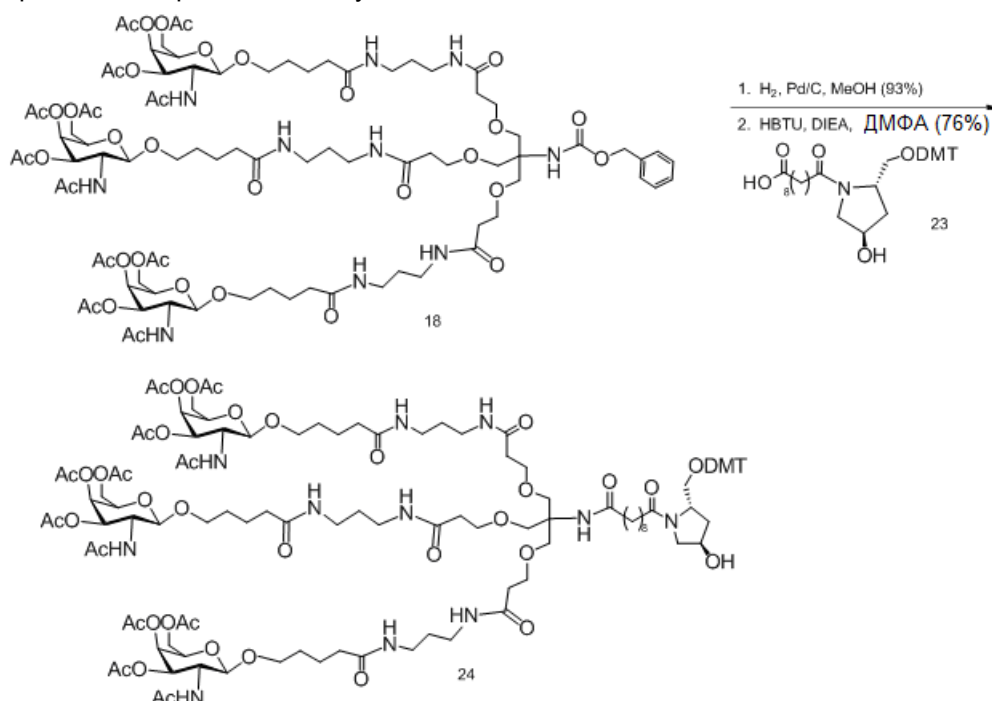
10 Сполуки 11 отримали способами, описаними у Прикладі 3. Сполука 14 є у продажу. Сполуку 17 отримали таким-саме способом, як описаний у публікації Rensen et al., J. Med. Chem., 2004, 47, 5798-5808.

Приклад 5: Отримання Сполуки 23



Сполуки 19 і 21 є в продажу.

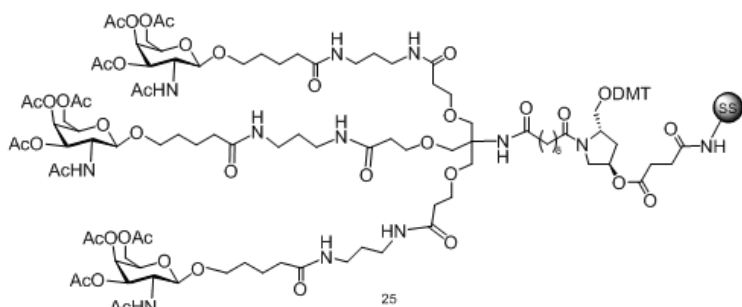
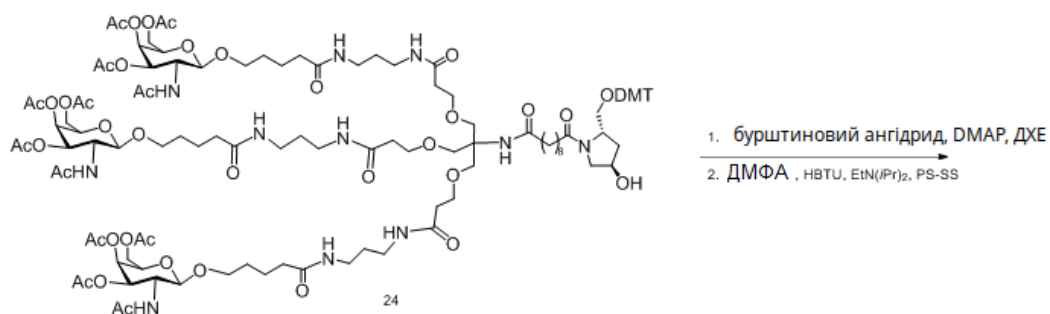
Приклад 6: Отримання Сполуки 24



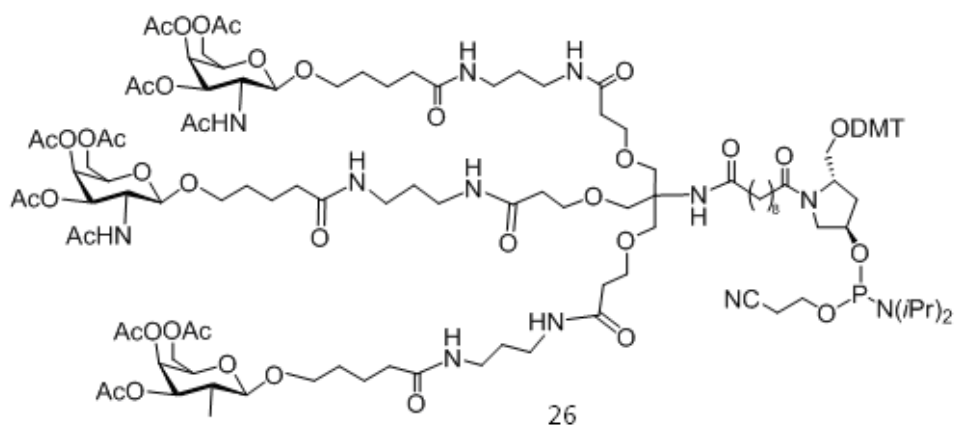
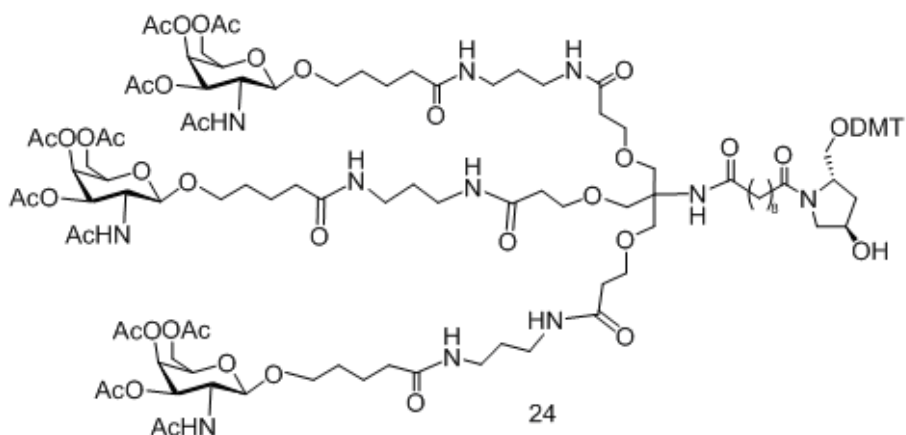
5

Сполуки 18 і 23 отримали так, як описано в способах у Прикладах 4 і 5.

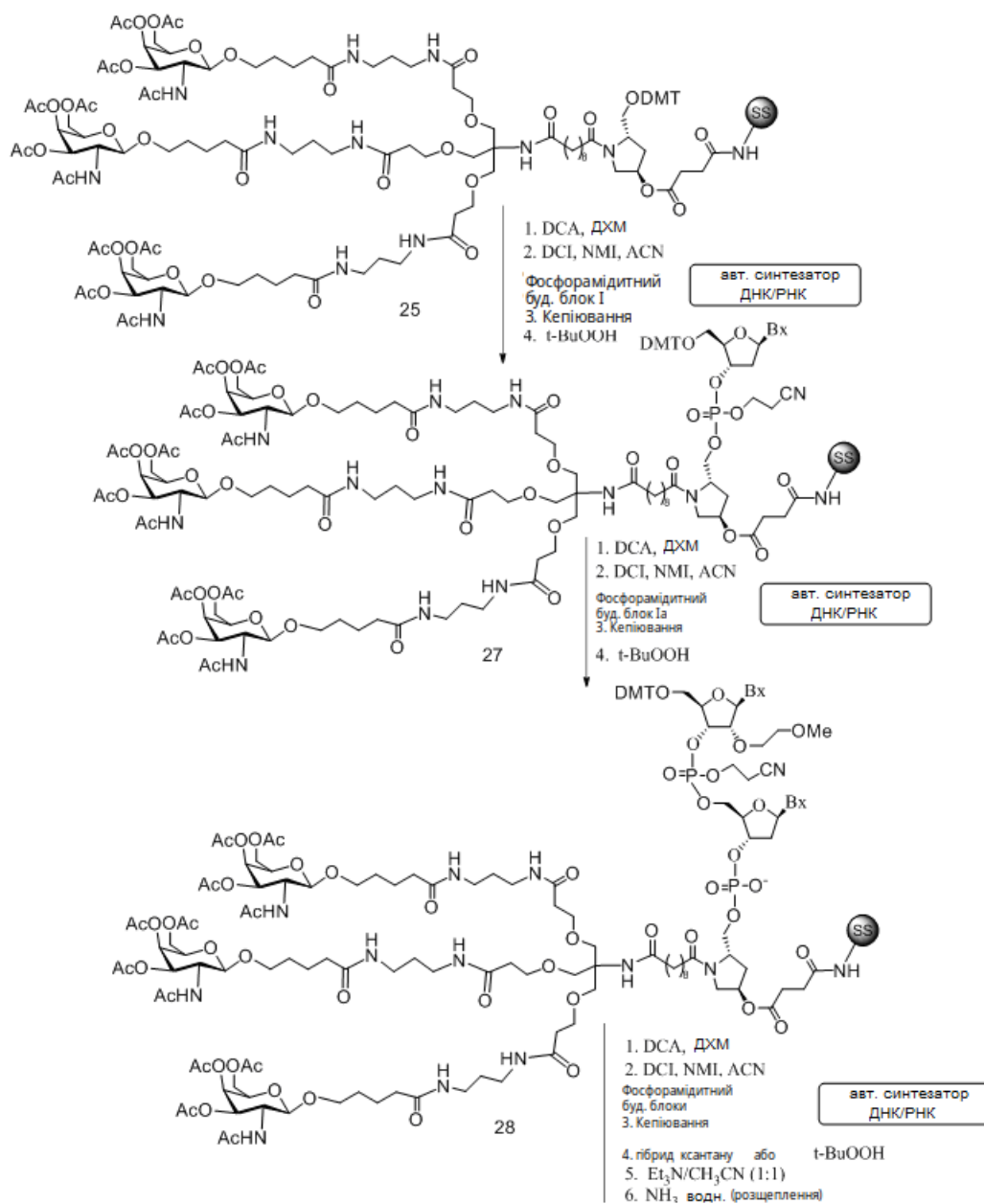
Приклад 7: Отримання Сполуки 25

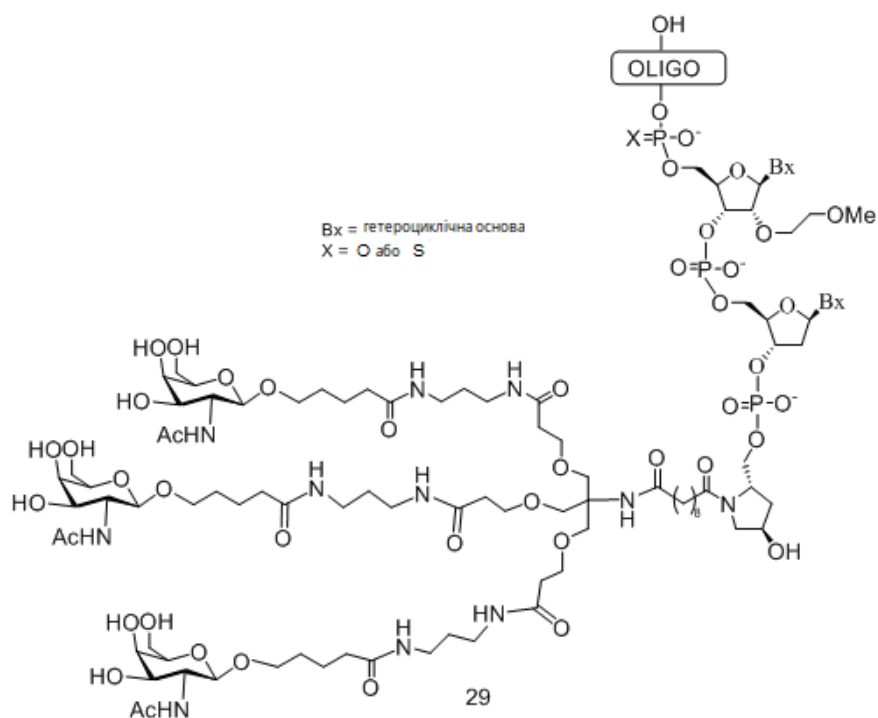


Сполуку 24 отримали способом, представленими в Прикладі 6.
Приклад 8: Отримання Сполуки 26

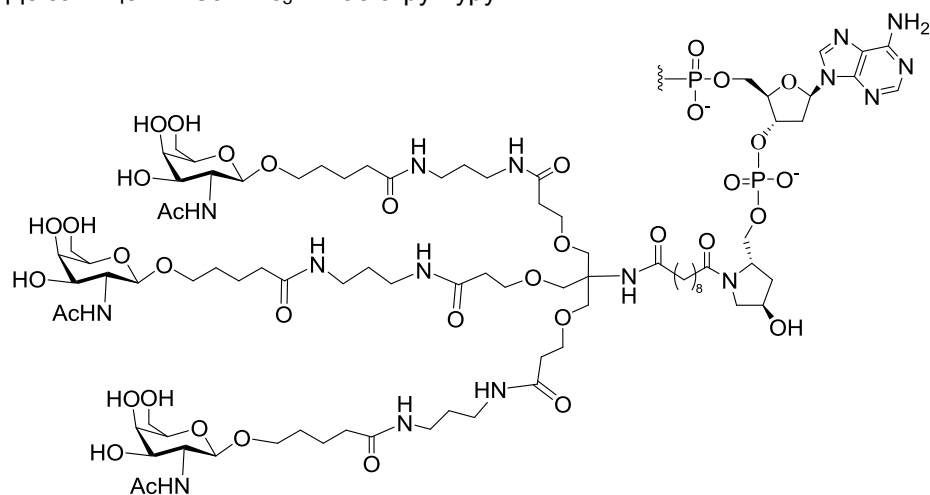


- 5 Сполуку 24 отримали способом, представленими в Прикладі 6.
Приклад 9: Загальне отримання сполучених ASO, що містять GalNAc₃-1 у 3'-кінця, Сполуки

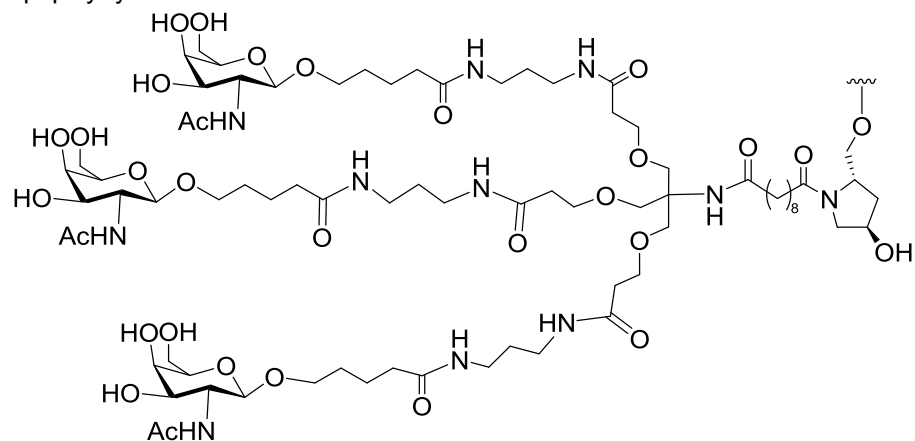




Де захищений GalNAc₃-1 має структуру:



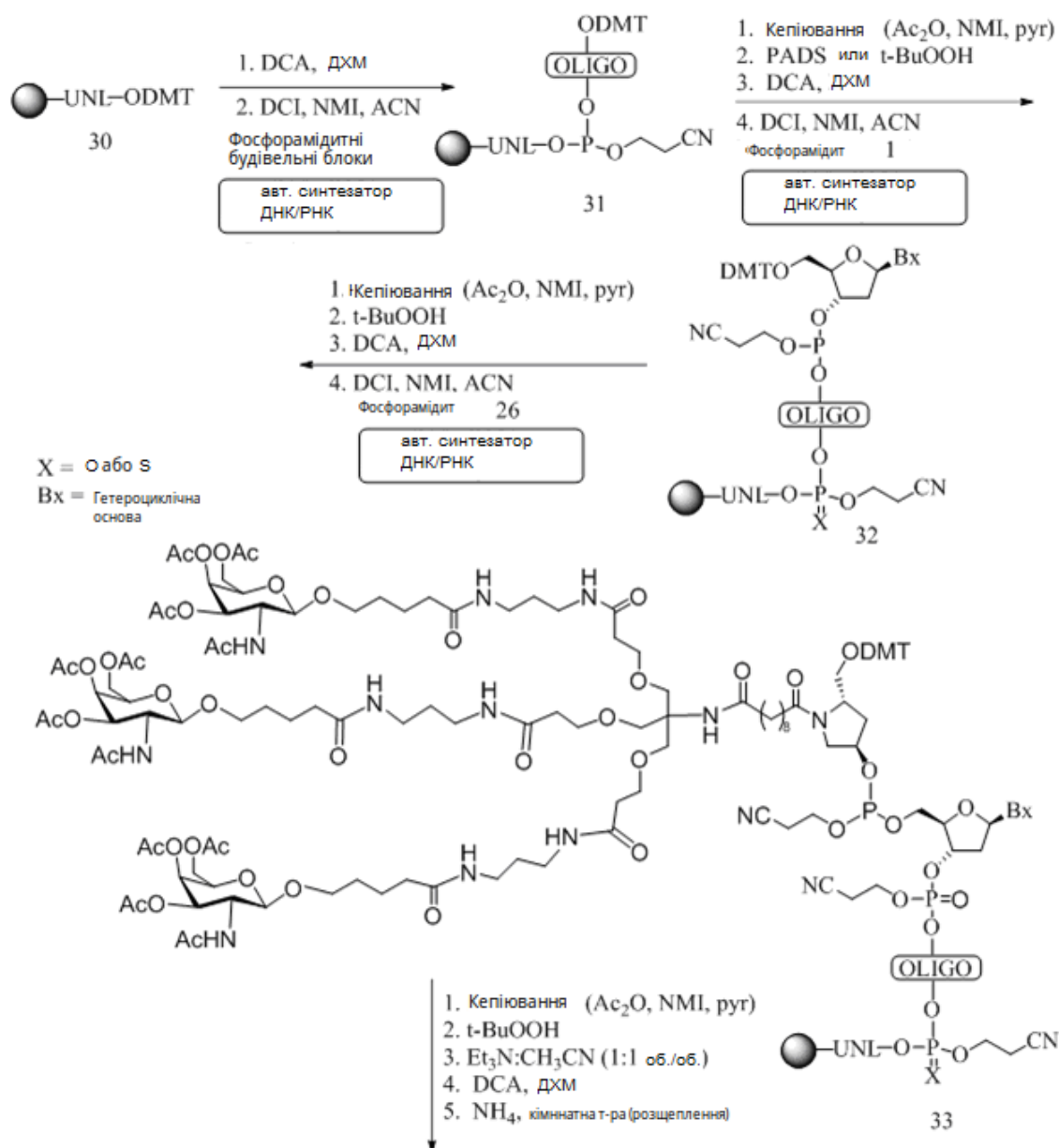
- 5 Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-1 (GalNAc₃-1_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Де GalNAc₃-1_a має формулу:

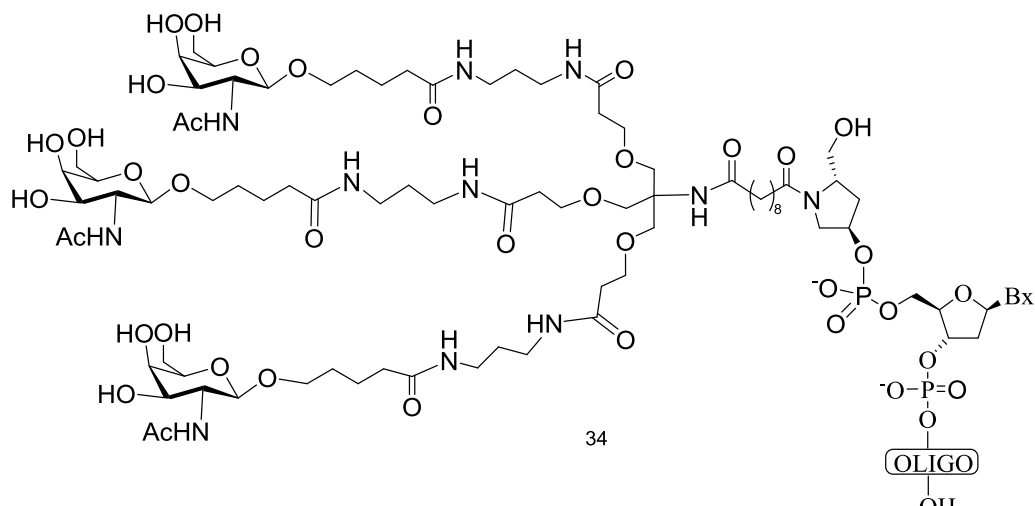


Захищений GalNAc₃-1, зв'язаний з твердою підкладкою, Сполуку 25, отримали способами,

наведеними в Прикладі 7. Олігомерна сполука 29, що містить $\text{GalNAc}_3\text{-1}$ у 3'-кінця, отримали за стандартними способами в автоматичному синтезаторі ДНК/РНК (див. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамідитні будівельні блоки, Сполуки 1 та 1а, отримали так, як описано в способах у прикладі 1. Зображені фосфорамідити є ілюстративними і не призначені для обмеження, оскільки можуть бути використані інші фосфорамідитні будівельні блоки для отримання олігомерних сполук, що мають задану послідовність і склад. Порядок і кількість фосфорамідитів, що додаються до твердої підкладки, може бути підібрана для отримання розірваних олігомерних сполук, описаних у цьому документі. Такі розірвані олігомерні сполуки можуть мати заданий склад і послідовність основ, продиктовану будь-якою даною мішенню.

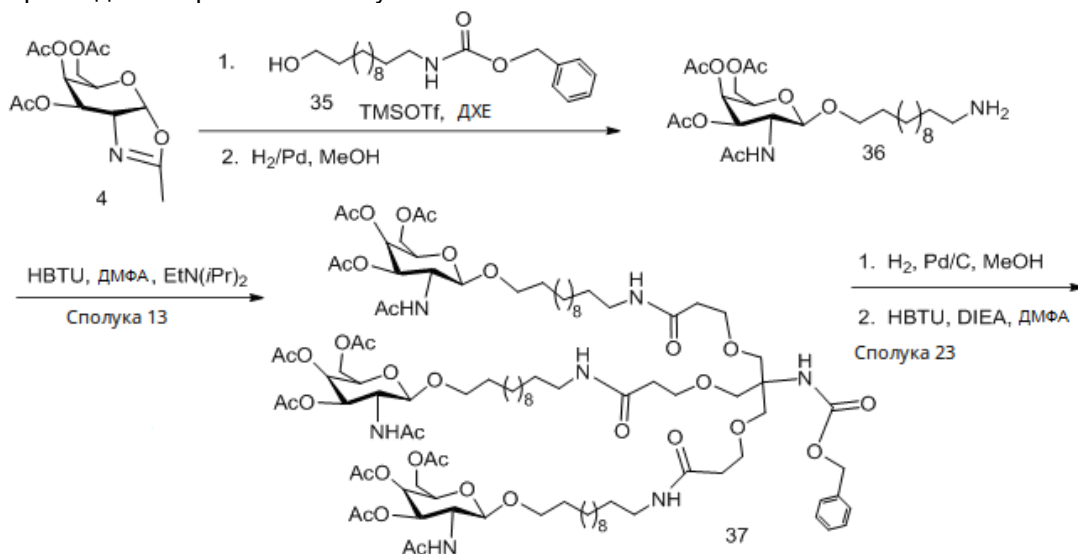
Приклад 10: Загальне отримання сполучених ASO, що містять $\text{GalNAc}_3\text{-1}$ у 5'-кінця, Сполуки 34

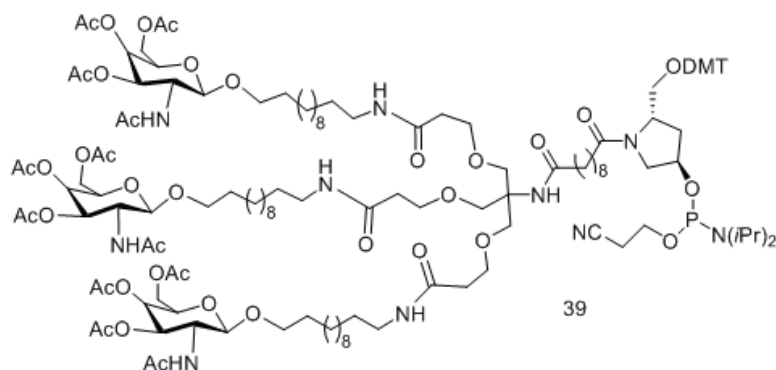
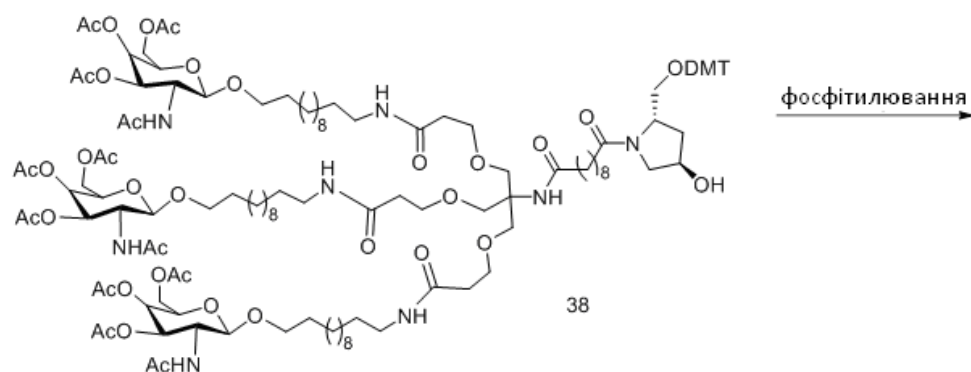




Unylinker™ 30 є у продажу. Олігомерна сполука 34, що містить кластер GalNAc₃-1 у 5'-кінця, отримали за стандартними способами в автоматичному синтезаторі ДНК/РНК (див. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамідитні будівельні блоки, Сполуки 1 і 1a, отримали так, як описано в способах у прикладі 1. Зображені фосфорамідити є ілюстративними і не призначені для обмеження, оскільки можуть бути використані інші фосфорамідитні будівельні блоки для отримання олігомерних сполук, що мають задану послідовність і склад. Порядок і кількість фосфорамідитів, що додаються до твердої підкладки, може бути підібрана для отримання розірваних олігомерних сполук, описаних у цьому документі. Такі розірвані олігомерні сполуки можуть мати заданий склад і послідовність основ, продиктовану будь-якою даною мішенню.

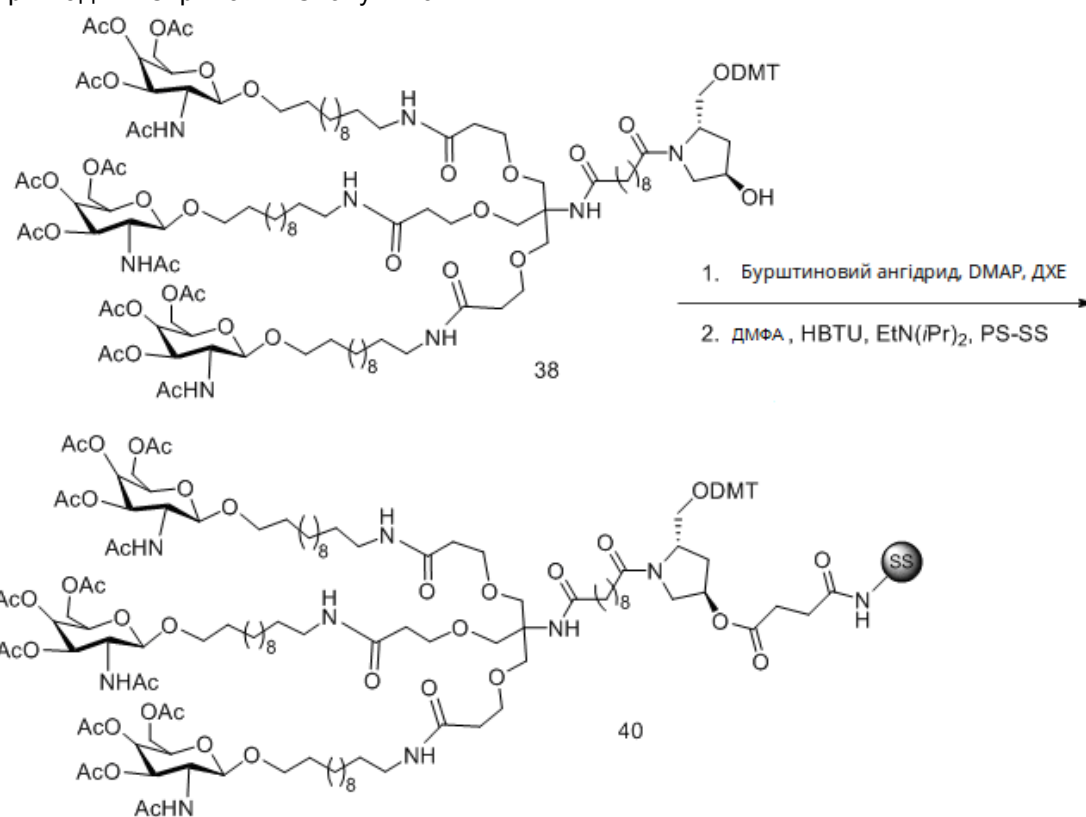
Приклад 11: Отримання Сполуки 39



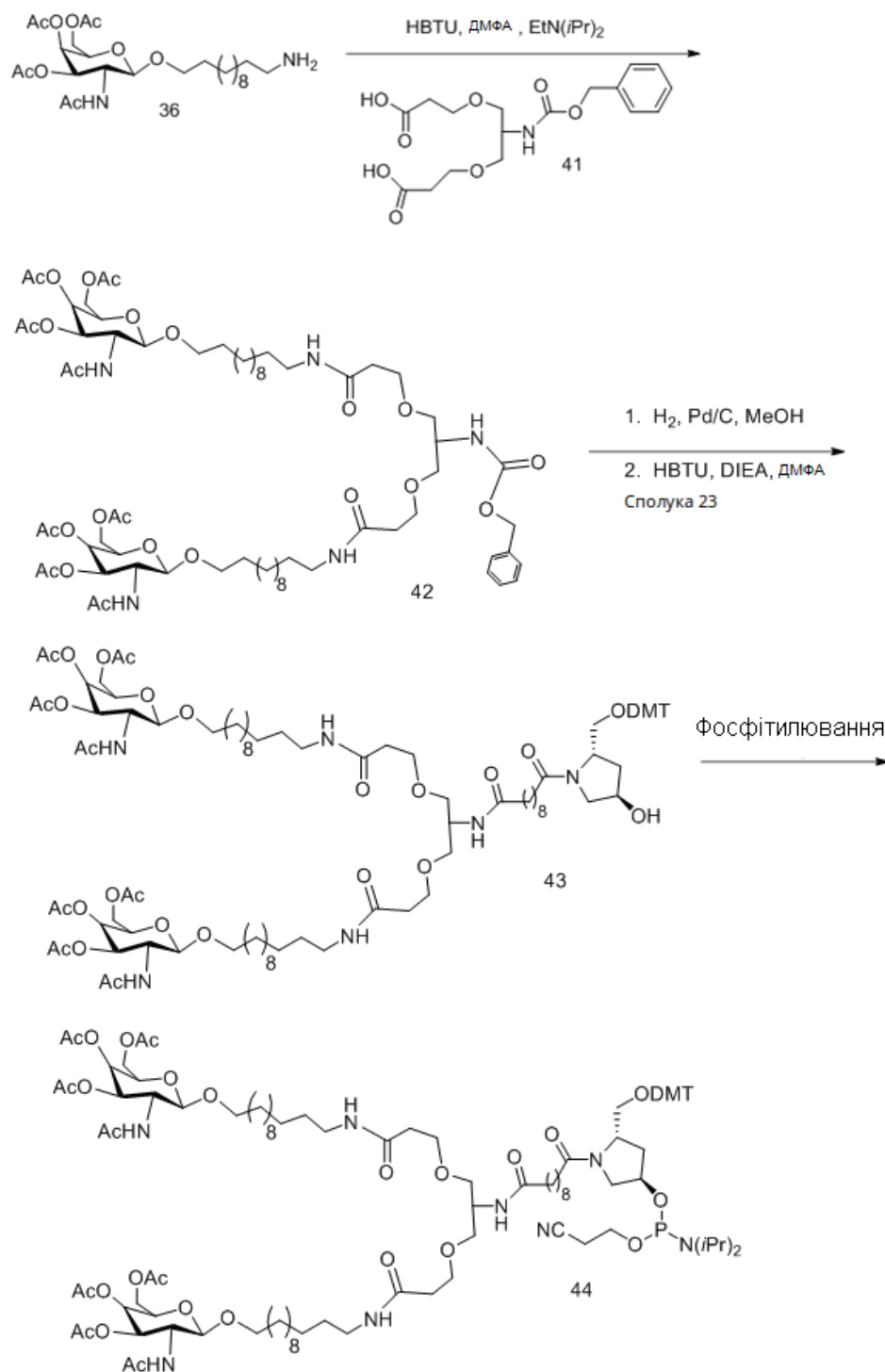


Сполуки 4, 13 та 23 отримали так, як описано в способах у Прикладах 2, 4 і 5. Сполуку 35 отримали за таким-саме способом, як описаний у публікації Rouchaud et al., Eur. J. Org. Chem., 2011, 12, 2346-2353.

5 Приклад 12: Отримання Сполуки 40

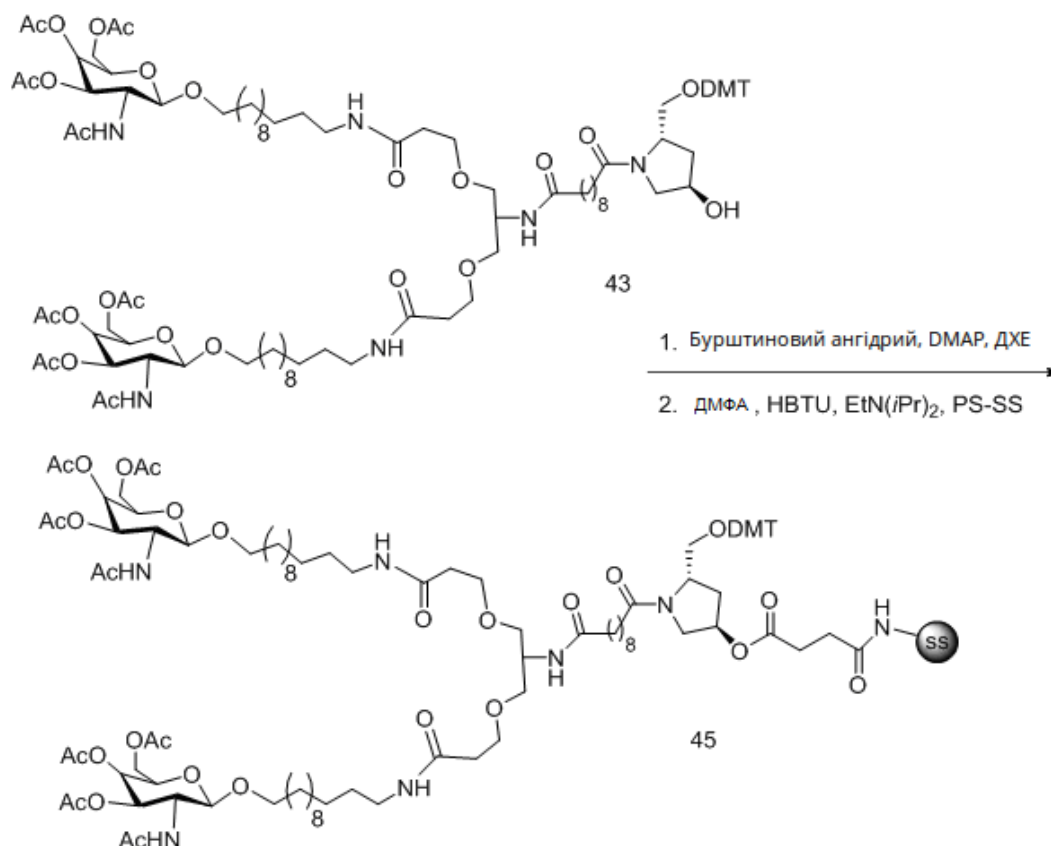


Сполуку 38 отримали за способами, наведеними в Прикладі 11.
Приклад 13: Отримання Сполуки 44

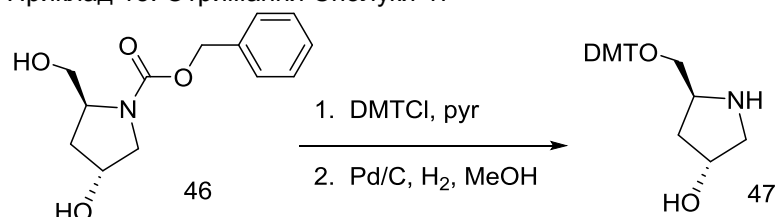


Сполуки 23 і 36 отримали так, як описано в способах у Прикладах 5 і 11. Сполуку 41 отримали таким-саме способом, як описаний у публікації WO 2009082607.

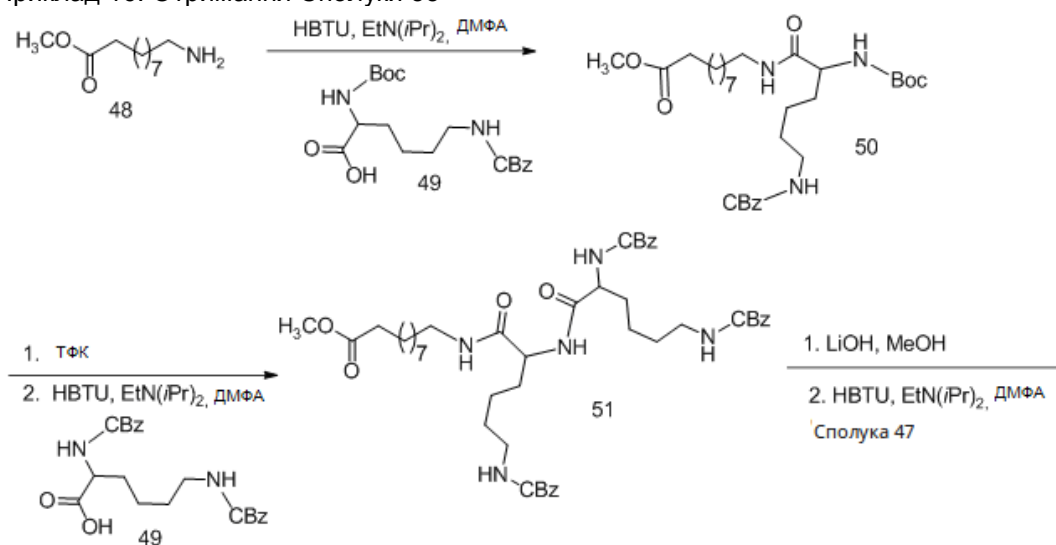
5 Приклад 14: Отримання Сполуки 45

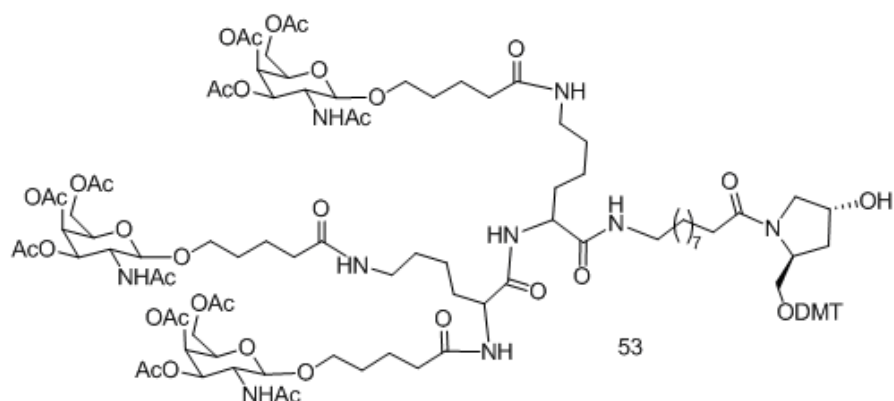
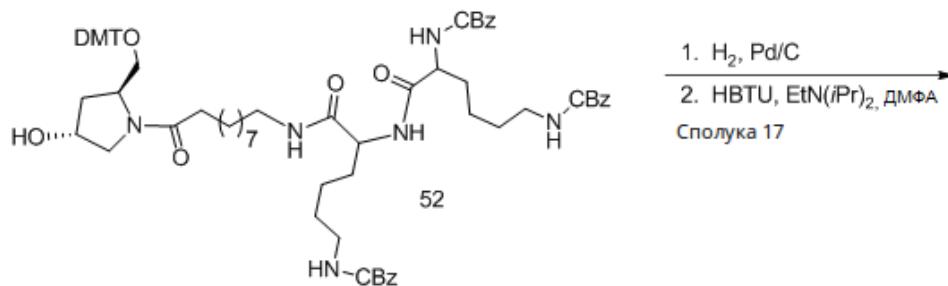


Сполуку 43 отримали за способами, наведеними в Прикладі 13.
Приклад 15: Отримання Сполуки 47



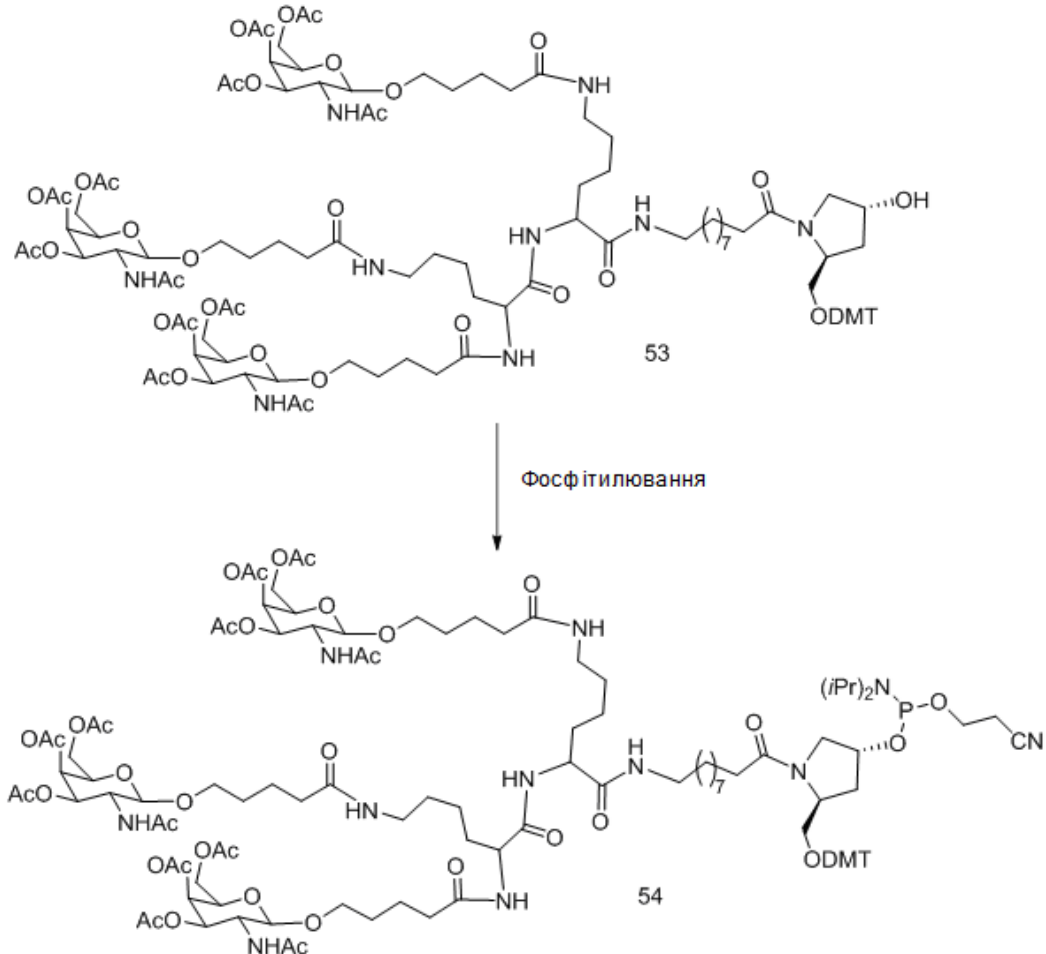
5 Сполука 46 є у продажу.
Приклад 16: Отримання Сполуки 53





Сполуки 48 і 49 є у продажу. Сполуки 17 та 47 отримали так, як описано в способах у Прикладах 4 і 15.

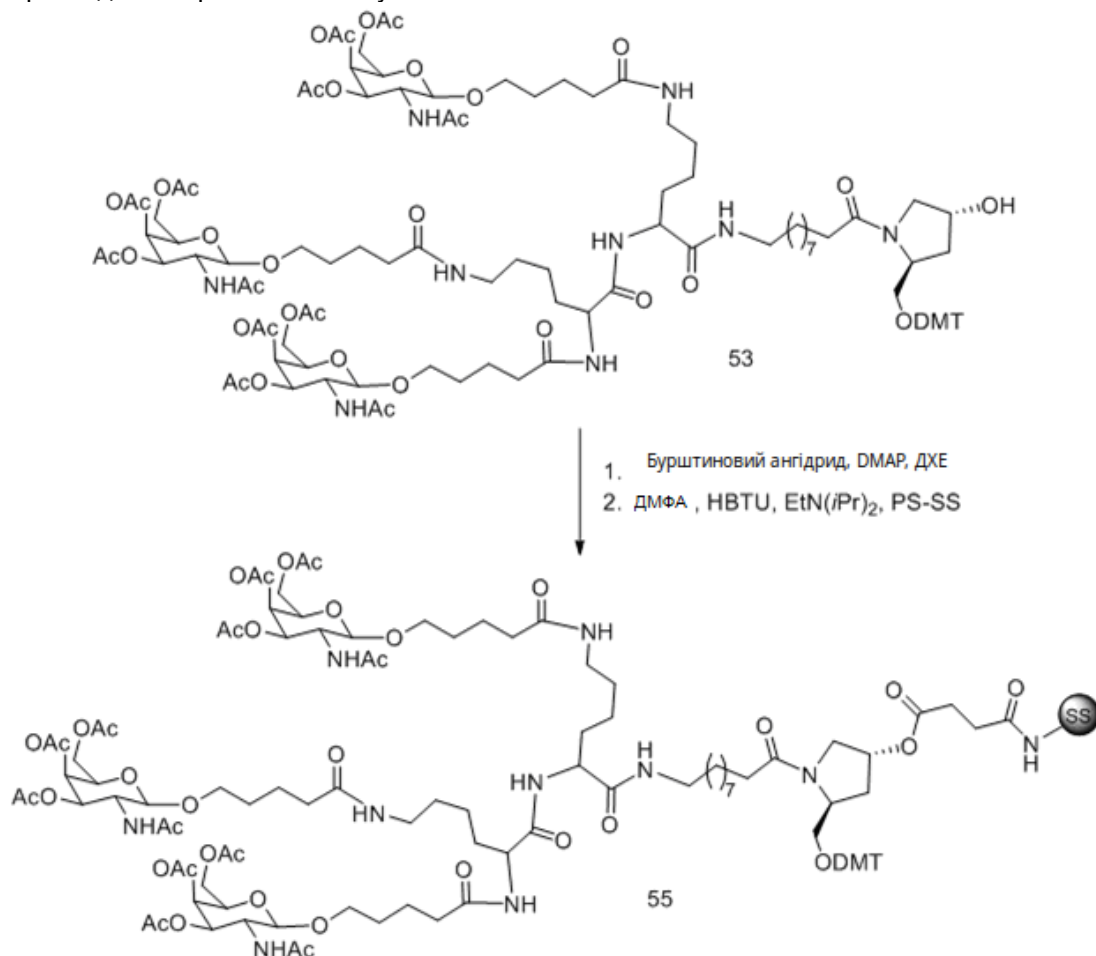
Приклад 17: Отримання Сполуки 54



5

Сполуки 53 отримали способами, наведеними в Прикладі 16.

Приклад 18: Отримання Сполуки 55



Сполуки 53 отримали способами, наведеними в Прикладі 16.

Приклад 19: Загальний спосіб отримання сполучених ASO, що містять GalNAc₃-1 в 3'-положенні, за допомогою твердофазних методик (отримання ISIS 647535, 647536 і 651900)

Якщо не вказано інше, всі реагенти і розчини, використані для синтезу олігомерних сполук, придбані у комерційних постачальників. Стандартні фосфорамідитні будівельні блоки і тверду підкладку використовували для впровадження нуклеозидних залишків, які включають, наприклад, залишки Т, А, G і ^mC. 0,1 М розчин фосфорамідиту у безводному ацетонітрилі використовували для β-D-2'-дезоксирибонуклеозиду і 2'-МОЕ.

Синтез антисмислових олігонуклеотидів (ASO) виконували на синтезаторі ABI 394 (в масштабі 1-2 мкмоль) або на синтезаторі AKTA Oligopilot виробництва GE Healthcare Bioscience (в масштабі 40-200 мкмоль) способом фосфорамідитного зв'язування на твердій підкладці VIMAD, наповненої GalNAc₃-1 (110 мкмоль/р, Guzaev et al., 2003), упакованої в колонку. Для стадії зв'язування фосфорамідити вводили в 4-кратному надлишку порівняно з завантаженням на твердій підкладці, а конденсацію фосфорамідиту виконували протягом 10 хвилин. Всі інші стадії виконували за стандартними протоколами, наданими виробником. Для видалення диметокситрипильної (DMT) групи з 5'-гідроксильної групи нуклеотиду використовували 6 % розчин дихлороцтової кислоти в толуолі. На стадії зв'язування в якості активатора використовували 4,5-диціаноімідазол (0,7 М) в безводному CH₃CN. Тіофосфатні зв'язки впроваджували сульфидуванням за допомогою 0,1 М розчину гідриду ксантану в 1:1 суміші піридину/CH₃CN протягом 3 хвилин часу контакту. В якості окислюючого агента для отримання фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків використовували 20 % розчин трет-бутилгідропероксиду CH₃CN, що містить 6 % води, протягом 12 хвилин часу контакту.

Після збирання необхідної послідовності цианоетил-фосфатні захисні групи знімали за допомогою 1:1 (об./об.) суміші триетиламіну і ацетонітрилу протягом 45 хвилин часу контакту. Зв'язані з твердою підкладкою ASO суспендували у водному розчині аміаку (28-30 мас. %) і нагрівали при 55 °C протягом 6 годин.

Потім відфільтровували незв'язані ASO і випаровували аміак кип'ятінням. Залишок очищали рідинної хроматографією високого тиску на сильній аніонообмінній колонці (GE Healthcare

Bioscience, Source 30Q, 30 мкм, 2,54 × 8 см, A=100 mM ацетату амонію в 30 % водному CH₃CN, B=1,5 M NaBr A, 0-40 % B за 60 хв., швидкість потоку 14 мл.мін⁻¹, λ = 260 нм). Залишок обезсолювали за допомогою ВЕРХ на зворотньо-фазовій колонці з отриманням заданих ASO з виділеним виходом 15-30 % щодо початкового завантаження на тверду підкладку. ASO характеризували за допомогою іон-парної ВЕРХ, поєднаної з МС-аналізом на системі Agilent 1100 MSD.

Антисмислові олігонуклеотиди, які не містять кон'югат, синтезували за стандартним способом синтезу олігонуклеотидів, загальновідомим в цій галузі техніки.

Застосовуючи ці способи отримали три окремих антисмислових сполук, спрямованих на ApoC III. Як показано нижче в Таблиці 17, кожна з трьох антисмислових сполук, спрямованих на ApoC III, має одну і ту ж послідовність азотистих основ. ISIS 304801 являє собою 5-10-5 MOE гепмер, який містить тільки тіофосфатні зв'язки; ISIS 647535 є таким-саме, як ISIS 304801, за винятком того, що він містить GalNAc₃-1, сполучений у його 3'-кінця; і ISIS 647536 є таким-саме, як ISIS 647535, за винятком того, що деякі міжнуклеозидні зв'язки цієї сполуки являють собою фосфодіестерні зв'язки. Як додатково показано в Таблиці 17, були синтезовані дві окремі антисмислові сполуки, спрямовані на SRB-1. ISIS 440762 являє собою 2-10-2 cEt гепмер, містить тільки тіофосфатні міжнуклеозидні зв'язки; ISIS 651900 є таким-самим, як ISIS 440762, за винятком того, що він містить GalNAc₃-1 у його 3'-кінця.

Таблиця 17

Модифіковані ASO, спрямовані на ApoC III і SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мішень	Розрахункова маса	Спостережувана маса	SEQ ID NO
ISIS 304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	ApoC III	7165,4	7164,4	821
ISIS 647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	ApoC III	9239,5	9237,8	822
ISIS 647536	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	ApoC III	9142,9	9140,8	822
ISIS 440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	SRB-1	4647,0	4646,4	823
ISIS 651900	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ko} A _{do} '- GalNAc ₃ -1 _a	SRB-1	6721,1	6719,4	824

Нижні індекси: "e" означає 2'-MOE модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "k" означає 6'-(S)-CH₃ біциклічний нуклеозид (наприклад, cEt); "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні зв'язки (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні зв'язки (PO); і "o'" означає -O-P(=O)(OH)-. Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини. "GalNAc₃-1" означає групу кон'югату, що має структуру, показану раніше у Прикладі 9. Слід зазначити, що GalNAc₃-1 містить аденозин, який розщеплюється, який зв'язує ASO з рештою кон'югату, позначеною "GalNAc₃-1_a". Номенклатура, використана в представленій вище таблиці, показує повну послідовність азотистих основ, включаючи аденозин, який є частиною кон'югату. Отже, у представленій вище таблиці послідовності також можуть бути наведені з закінчення "GalNAc₃-1", без "A_{do}". Таке умовне застосування нижнього індексу "a" для позначення частини групи кон'югату, яка не містить нуклеозиду, що розщеплюється або фрагмента, що розщеплюється, використовується у всіх поданих Прикладах. Ця частина групи кон'югату, не містить фрагмента, що розщеплюється, згадується в цьому документі як "кластер" або "кластер кон'югату" або "кластер GalNAc₃". У деяких випадках група кон'югату для зручності описана шляхом окремого подання її кластера та її фрагмента, що розщеплюється.

Приклад 20: Дозозалежне антисмислове інгібування людського ApoC III у huApoC III у трансгенних мишей

ISIS 304801 і ISIS 647535, кожен з яких спрямований на людський ApoC III і описаний вище, окремо відчували і оцінювали в дозозалежному дослідженні на їх здатність інгібувати людський ApoC III у трансгенних мишей з людським ApoC III.

Лікування

5 Трансгенних мишей з людським ApoCIII витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували ad libitum доступ до їжі Teklad lab. До початку експерименту тварин акліматизували щонайменше протягом 7 днів у дослідницькій лабораторії. Отримали ASO в PBS і стерилізували фільтруванням через фільтр 0,2 мікрона. ASO розчинили в 0,9 % PBS для ін'єкцій.

10 Трансгенним мишам з людським ApoC III один раз на тиждень протягом двох тижнів внутрішньочеревно вводили ін'єкції ISIS 304801 або 647535 при 0,08, 0,25, 0,75, 2,25 або 6,75 мкмоль/кг або PBS в якості контролю. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Через сорок вісім годин після введення останньої дози кожну мишу знекровили і приспали, та зібрали тканини.

15 Аналіз мРНК ApoC III

Рівні мРНК ApoC-III в печінці мишей визначили за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні мРНК ApoC III визначали відносно загальної РНК (за допомогою Ribogreen), потім нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS. 20 Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК ApoC III для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого PBS, і позначені як «% PBS». Полумаксимальна ефективна доза (ЕД₅₀) кожного ASO представлена також нижче у Таблиці 18.

25 Показано, що обидві антисмислові сполуки знижують РНК ApoC III, порівняно з контрольним зразком, обробленим PBS. Крім того, антисмислова сполука, поєднана з GalNAc₃-1 (ISIS 647535), була значно більш ефективною, ніж антисмислова сполука, яка не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 304801).

Таблиця 18

Вплив ASO лікування на рівні мРНК ApoC III у трансгенних мишей з людським ApoC III

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мкмоль/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	-	--	
ISIS 304801	0,08	95	0,77	немає	PS/20	821
	0,75	42				
	2,25	32				
	6,75	19				
	0,08	50				
ISIS 647535	0,75	15	0,074	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	2,25	17				
	6,75	8				
	0,08	50				

30 Аналіз білка ApoC III (турбідиметричний аналіз)

Аналіз білка ApoC III в плазмі виконували способами, описаними в роботі Graham et al, Circulation Research, до друку опублікованій онлайн 29 березня 2013 року.

35 Приблизно 100 мкл плазми, виділеної з мишей, аналізували без розведення, використовуючи клінічний аналізатор Olympus і наявний у продажу турбідиметричний аналітичний набір ApoC III (Kamiya, кат. № KAI-006, Kamiya Biomedical, Сіетл, штат Вашингтон). Протокол аналізу виконували за описом постачальника.

40 Як показано нижче в Таблиці 19, обидві антисмислові сполуки знижують білок ApoC III, порівняно з PBS контрольним зразком. Крім того, антисмислова сполука, сполучена з GalNAc₃-1 (ISIS 647535), була значно більш ефективною, ніж антисмислова сполука, яка не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 304801).

Таблиця 19

Вплив ASO лікування на рівні білка ApoC III в плазмі у трансгенних мишей з людським ApoC III

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мкмоль/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0,08	86	0,73	немає	PS/20	821
	0,75	51				
	2,25	23				
	6,75	13				
ISIS 647535	0,08	72	0,19	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	0,75	14				
	2,25	12				
	6,75	11				

Тригліцериди і холестерин плазми виділили способом Bligh і Dyer (Bligh, E. G. и Dyer, W.J. Can. J. Biochem. Physiol. 37: 911-917, 1959)(Bligh E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959)(Bligh, E and Dyer, W, Can J Biochem Physiol, 37, 911-917, 1959) і виміряли за допомогою клінічного аналізатора Beckmann Coulter і наявних у продажу реагентів.

Рівні тригліцеридів виміряли щодо мишей, ін'єкованих PBS, і виражали як « % PBS». Результати представлені у Таблиці 20. Показано, що обидві антисмислові сполуки знижують рівні тригліцеридів. Крім того, антисмислова сполука, поєднана з GalNAc₃-1 (ISIS 647535), була значно більш ефективною, ніж антисмислова сполука, яка не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 304801).

Таблиця 20

Вплив ASO лікування на рівні тригліцеридів у трансгенних мишей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мкмоль/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	--	
ISIS 304801	0,08	87	0,63	немає	PS/20	821
	0,75	46				
	2,25	21				
	6,75	12				
ISIS 647535	0,08	65	0,13	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	0,75	9				
	2,25	8				
	6,75	9				

Зразки плазми аналізували за допомогою ВЕРХ для визначення кількості загального холестерину і різних фракцій холестерину (HDL і LDL). Результати представлені в таблицях 21 і 22. Показано, що обидві антисмислові сполуки знижують загальні рівні холестерину; обидва знижують LDL; і обидві підвищують HDL. Крім того, антисмислова сполука, поєднана з GalNAc₃-1 (ISIS 647535), була значно більш ефективною, ніж антисмислова сполука, яка не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 304801). Збільшення рівнів HDL і зниження рівнів LDL являє собою переважний серцево-судинний ефект антисмислового інгібування ApoC III.

Таблиця 21

Вплив ASO лікування на рівні загального холестерину у трансгенних мишей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	Загальний холестерин (мг/дл)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	257	--	--	
ISIS 304801	0,08	226	немає	PS/20	821
	0,75	164			
	2,25	110			
	6,75	82			
ISIS 647535	0,08	230	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	0,75	82			
	2,25	86			
	6,75	99			

Таблиця 22

Вплив ASO лікування на рівні HDL і LDL холестерину у трансгенних мишей

ASO	Доза (мкмоль/кг)	HDL (мг/дл)	LDL (мг/дл)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	17	28	--	--	
ISIS 304801	0,08	17	23	немає	PS/20	821
	0,75	27	12			
	2,25	50	4			
	6,75	45	2			
ISIS 647535	0,08	21	21	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	0,75	44	2			
	2,25	50	2			
	6,75	58	2			

Фармакокінетичний аналіз (ФК)

- 5 Досліджували також ФК ASO. Зразки печінки і нирок подрібнювали і екстрагували за стандартними протоколами. Зразки аналізували на MSD1, використовуючи ІП-BEPX-МС. Визначили зміст (мкг/г) у тканини ISIS 304801 і 647535 повної довжини, і результати представлені в Таблиці 23. Показано, що концентрації в печінці антисмислових сполук повної довжини були однаковими для двох антисмислових сполук. Отже, навіть не зважаючи на те, що
- 10 GalNAc₃-1-Кон'югована антисмислова сполука є більш активною в печінці (як показано за даними РНК і білка, представленим вище), її вміст у печінці не набагато вище. Дійсно, розраховане значення EC₅₀ (представлене в Таблиці 23) підтверджує, що спостережуване збільшення ефективності парної сполуки не може бути приписано виключно підвищеному накопиченню. Такий результат дозволяє припустити, що кон'югат покращує ефективність за
- 15 іншим механізмом, ніж просте накопичення в печінці, можливо за рахунок збільшення продуктивного захоплення антисмислової сполуки в клітини.

Ці результати показують, що концентрація GalNAc₃-1-сполученої антисмислової сполуки в нирках нижче, ніж концентрація антисмислової сполуки, що не містить кон'югату GalNAc. Це має кілька нагальних терапевтичних застосувань. Для терапевтичних показань, в яких не

20 вимагається прояв активності в нирках, вплив на нирки піддає їх ризику токсичності без відповідної користі. Більш того, висока концентрація в нирках зазвичай приводить до виведення сполуки з сечею, забезпечуючи більш швидке виведення. Відповідно, для позаниркових мішеней накопичення в нирках є небажаним. Ці дані дозволяють припустити, що сполучення з GalNAc₃-1 знижує накопичення в нирках.

25

Таблиця 23

ФК аналіз ASO лікування у трансгенних мишей

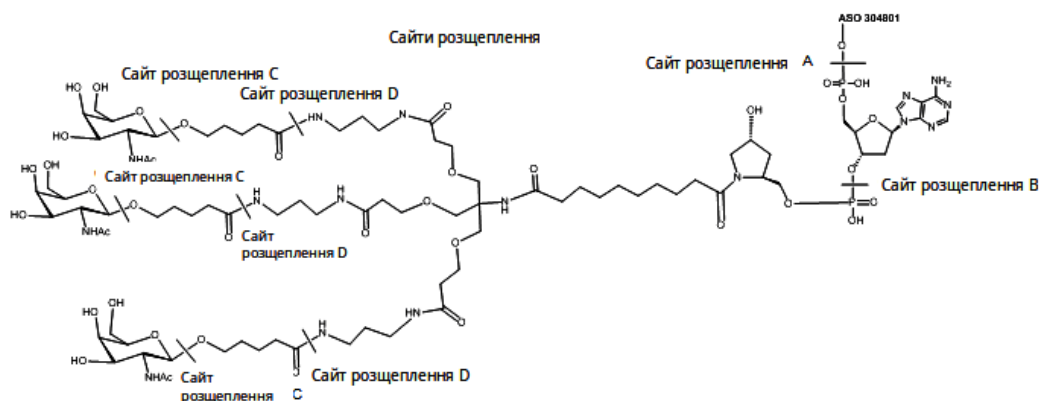
ASO	Доза (мкмоль/кг)	Печінка (мкг/г)	Нирки (мкг/г)	EC ₅₀ у печінці (мкг/г)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
ISIS 304801	0,1	5,2	2,1	53	немає	PS/20	821
	0,8	62,8	119,6				
	2,3	142,3	191,5				
	6,8	202,3	337,7				
ISIS 647535	0,1	3,8	0,7	3,8	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	0,8	72,7	34,3				
	2,3	106,8	111,4				
	6,8	237,2	179,3				

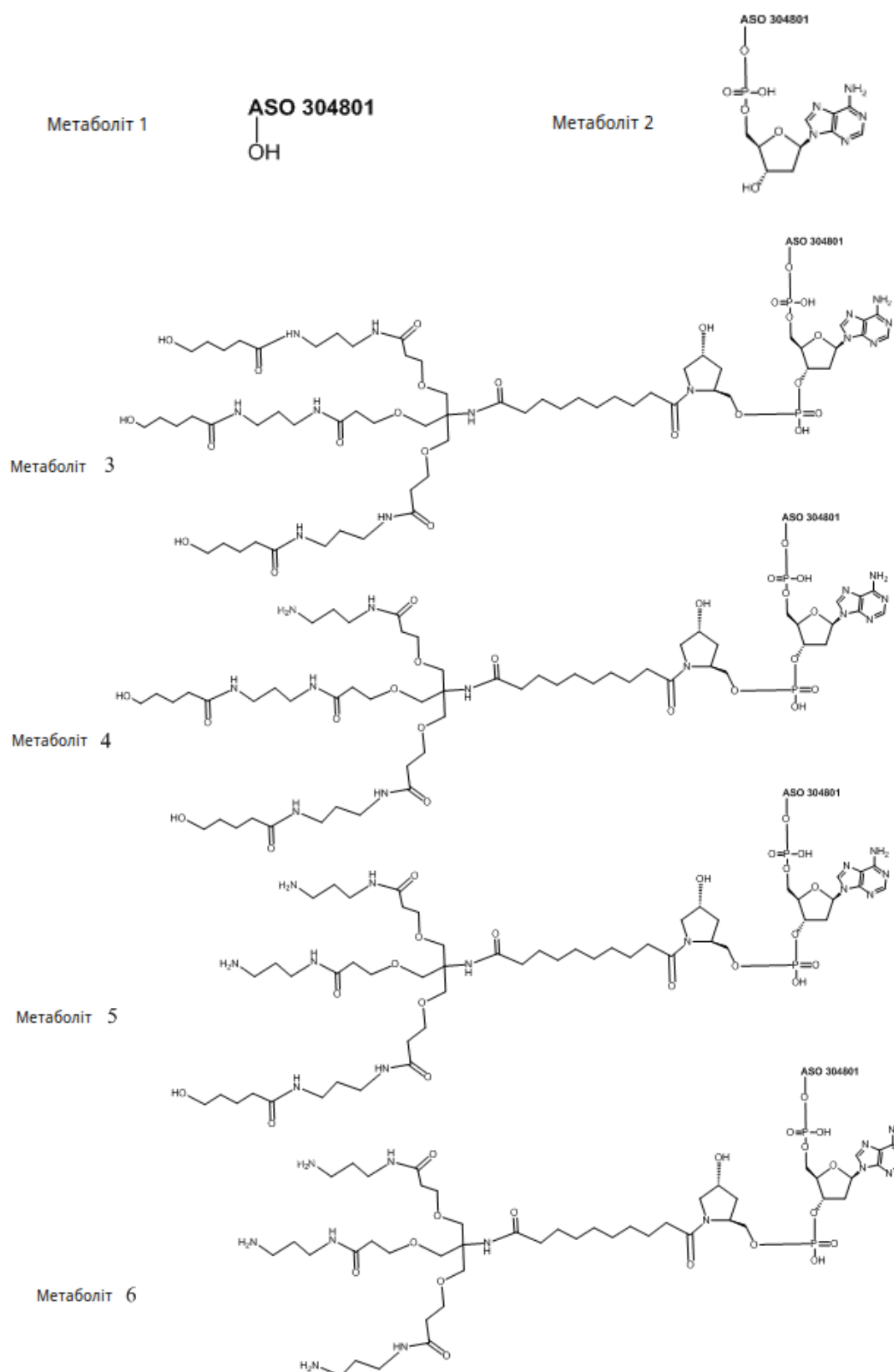
Також ідентифікували метаболіти ISIS 647535 і підтвердили їх маси за допомогою мас-спектрометричного аналізу високого дозволу. Сайти розщеплення і структури спостережуваних метаболітів представлені нижче. Відносний % від загальної довжини ASO розраховували за стандартними технологіями, а результати представлені в Таблиці 23а. Основний метаболіт ISIS 647535 являє собою ASO повної довжини без кон'югату (тобто ISIS 304801), який утворюється в результаті розщеплення по сайту розщеплення А, поданому нижче. Крім того, спостерігали також додаткові метаболіти, що утворюються з інших сайтів розщеплення. Ці результати дозволяють припустити, що може бути придатним також впровадження інших зв'язків, що розщеплюються таких як складні ефіри, пептиди, дисульфіді, фосфорамідати або ацил-гідразони, між цукром GalNAc₃-1 і ASO, які можуть розщеплюватися під дією ферментів всередині клітини або які можуть розщеплюватися у відновному середовищі цитозолу, або які лабільні в кислотному рН всередині ендосом і лізосом.

Таблиця 23а

Спостережені метаболіти повної довжини ISIS 647535

Метаболіт	ASO	Сайт розщеплення	Відносний %
1	ISIS 304801	A	36,1
2	ISIS 304801+dA	B	10,5
3	ISIS 647535 мінус [3 GalNAc]	C	16,1
4	ISIS 647535 мінус [3 GalNAc+1 зв'язка 5-гідроксипентанової кислоти]	D	17,6
5	ISIS 647535 мінус [2 GalNAc+2 зв'язки 5-гідроксипентанової кислоти]	D	9,9
6	ISIS 647535 мінус [3 GalNAc+3 зв'язки 5-гідроксипентанової кислоти]	D	9,8





Приклад 21: Антисмислове інгібування людського АроС III у трансгенних мишей з АроС III в дослідженні одного введення

ISIS 304801, 647535 і 647536, кожен з яких спрямований на людський АроС III і описаний у Таблиці 17, додатково оцінювали в дослідженні однократного введення на їх здатність інгібувати людський АроС III у трансгенних мишей з людським АроС III.

Лікування

Трансгенних мишей з людським ApoCIII витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували ad libitum доступ до їжі Teklad lab. До початку експерименту тварин акліматизували щонайменше протягом 7 днів в дослідницькій лабораторії. Отримали ASO в PBS і стерилізували фільтруванням через фільтр 0,2 мікрона. ASO розчинили в 0,9 % PBS для ін'єкцій.

Трансгенним мишам з людським ApoC III внутрішньочеревно ввели одноразову ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 304801, 647535 або 647536 (описаних вище), або PBS в якості контрольного зразка. Експериментальна група складалася з 3 тварин, а контрольна група складалася з 4 тварин. Перед лікуванням, а також після останньої дози у кожній миші брали кров і аналізували зразки плазми. Мишей приспали через 72 години після останнього введення.

Зразки зібрали і аналізували для визначення рівнів мПНК ApoC III і білка в печінці; тригліцеридів у плазмі; і холестерину, включаючи фракції HDL і LDL, які аналізували так, як описано вище (Приклад 20). Дані цих аналізів представлені нижче в Таблицях 24-28. Рівні трансамінази печінки, аланін-аміотрансферази (ALT) та аспартат-аміотрансферази (AST) у сироватці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Рівні ALT та AST показали, що антисмислові сполуки добре переносяться при всіх введених дозах.

Ці результати демонструють посилення ефективності антисмислових сполук, що містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця (ISIS 647535 і 647536), порівняно з антисмисловою сполукою, що не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 304801). Крім того, ISIS 647536, який містить кон'югат GalNAc₃-1 і кілька фосфодіестерних зв'язків, був таким же ефективним, як ISIS 647535, який містить той же кон'югат, і всі міжнуклеозидні зв'язки в цьому ASO є тіофосфатними.

Таблиця 24

Вплив ASO лікування на рівні мПНК ApoC III у трансгенних мишей з людським ApoC III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мг/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	99	--	-	--	
ISIS 304801	1	104	13,2	немає	PS/20	821
	3	92				
	10	71				
	30	40				
ISIS 647535	0,3	98	1,9	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	1	70				
	3	33				
	10	20				
ISIS 647536	0,3	103	1,7	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	822
	1	60				
	3	31				
	10	21				

Таблиця 25

Вплив ASO лікування на рівні білка ApoC III в плазмі у трансгенних мишей з людським ApoC III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мг/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	99	--	--	--	
ISIS 304801	1	104	23,2	немає	PS/20	821
	3	92				
	10	71				
	30	40				
ISIS 647535	0,3	98	2,1	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	1	70				
	3	33				
	10	20				

Таблиця 25

Вплив ASO лікування на рівні білка ApoC III в плазмі у трансгенних мишей з людським ApoC III

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мг/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
ISIS 647536	0,3	103	1,8	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	822
	1	60				
	3	31				
	10	21				

Таблиця 26

Вплив ASO лікування на рівні тригліцеридів у трансгенних мишей

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	ЕД ₅₀ (мг/кг)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	98	--	--	--	
ISIS 304801	1	80	29,1	немає	PS/20	821
	3	92				
	10	70				
	30	47				
ISIS 647535	0,3	100	2,2	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	1	70				
	3	34				
	10	23				
ISIS 647536	0,3	95	1,9	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	822
	1	66				
	3	31				
	10	23				

Таблиця 27

Вплив ASO лікування на рівні загального холестерину у трансгенних мишей

ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	96	--	--	
ISIS 304801	1	104	немає	PS/20	821
	3	96			
	10	86			
	30	72			
ISIS 647535	0,3	93	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	1	85			
	3	61			
	10	53			
ISIS 647536	0,3	115	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	822
	1	79			
	3	51			
	10	54			

Вплив ASO лікування на рівні HDL і LDL холестерину у трансгенних мишей

ASO	Доза (мг/кг)	HDL % PBS	LDL % PBS	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	131	90	--	--	
ISIS 304801	1	130	72	немає	PS/20	821
	3	186	79			
	10	226	63			
	30	240	46			
ISIS 647535	0,3	98	86	GalNAc ₃ -1	PS/20	822
	1	214	67			
	3	212	39			
	10	218	35			
ISIS 647536	0,3	143	89	GalNAc ₃ -1	PS/PO/20	822
	1	187	56			
	3	213	33			
	10	221	34			

Ці результати підтверджують, що кон'югат GalNAc₃-1 покращує ефективність антисмислової сполуки. Ці результати показують також рівну ефективність GalNAc₃-1-сполучених антисмислових сполук, в яких антисмислові олігонуклеотиди мають змішані зв'язки (ISIS 647536, який має шість фосфодіестерних зв'язків), і повністю тіофосфатної версії тієї ж антисмислової сполуки (ISIS 647535).

Тіофосфатні зв'язки забезпечують кілька властивостей антисмислових сполук. Наприклад, вони стійкі до нуклеазного розщеплення і зв'язуються з білками, що призводить до накопичення сполуки в печінці, а не в нирках/сечі. Ці властивості є бажаними, особливо при лікуванні показань у печінці. Однак тіофосфатні зв'язки пов'язані також зі запальною реакцією. Відповідно, зменшення кількості тіофосфатних зв'язків у сполуці імовірно знижує ризик запалення, але також знижує концентрацію сполуки в печінці, підвищує концентрацію в нирках і сечі, знижує стабільність у присутності нуклеаз і зменшує загальну ефективність. Представлені результати демонструють, що GalNAc₃-1-кон'югована антисмислова сполука, у якій деякі тіофосфатні зв'язки замінені фосфодіестерними зв'язками, настільки ж ефективні проти мішені в печінці, як і аналог, що містить тільки тіофосфатні зв'язки. Такі сполуки імовірно є менш прозапальними (див. Приклад 24, в якому описаний експеримент, який демонструє, що зменшення тіофосфатів (PS) призводить до зниження запальної дії).

Приклад 22: Вплив модифікованого GalNAc₃-1-сполученого ASO, спрямованого на SRB-1, in vivo

ISIS 440762 та 651900, кожен з яких спрямований на SRB-1 і описаний в Таблиці 17, оцінили в дозозалежне дослідження на їх здатність інгібувати SRB-1 у Balb/c мишей.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 440762, 651900 або PBS в якості контрольного зразка. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 48 годин після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні мРНК SRB-1 визначали відносно загальної РНК (за допомогою Ribogreen), потім нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого PBS, і позначені як «% PBS».

Як показано в Таблиці 29, обидві антисмислові сполуки знижують рівні мРНК SRB-1. Крім того, антисмислова сполука, що містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 651900), була значно більш ефективною, ніж антисмислова сполука, що не містить кон'югат GalNAc₃-1 (ISIS 440762). Ці результати демонструють, що перевага ефективності кон'югатів GalNAc₃-1 спостерігається при використанні антисмислових олігонуклеотидів, комплементарних різних мішеням які мають різні хімічно модифіковані нуклеозиди, в цьому випадку модифіковані нуклеозиди містять стерично утруднені етил-цукрові фрагменти (біциклічний цукровий фрагмент).

Вплив ASO лікування на рівні мПНК SRB-1 у мишей Balb/c

ASO	Доза (мг/кг)	Печінка % PBS	ЕД ₅₀ (мг/кг)	З'-кон'югат		Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	100		-		--	
ISIS 440762	0,7	85	2,2	немає		PS/14	823
	2	55					
	7	12					
	20	3					
ISIS 651900	0,07	98	0,3	GalNAc ₃ -1		PS/14	824
	0,2	63					
	0,7	20					
	2	6					
	7	5					

Приклад 23: Протокол аналізу людських мононуклеарних клітин периферичної крові (hPBMC)

5 Аналіз hPBMC виконували за допомогою пробіркового способу BD Vautainer CPT. Отримали зразок цільної крові, отриманої від донорів-добровольців, дали інформовану згоду у Медичній клініці США (Faraday & El Camino Real, Карлсбад), і зібрали його в 4-15 пробірок BD Vacutainer CPT по 8 мл (VWR, кат. № BD362753). Приблизний початковий загальний обсяг цільної крові в пробірці CPT для кожного донора записали у формулярі аналізу PBMC.

10 Безпосередньо перед центрифугуванням зразок крові повторно перемішали, обережно перевертаючи пробірки 8-10 разів. Пробірки CPT центрифугували при кімнатній температурі (18-25 °C) в горизонтальному (з надлишковою обертаємостю) роторі протягом 30 хвилин з фактором поділу (RCF) 1500-1800 з загальмуванням (2700 об./мін. Beckman Allegra 6R). Клітини зняли з лейкоцитарною поверхні розділу між шарами фіколлу і полімерного гелю; перенесли в стерильну 50 мл конічну пробірку і згрупували по 5 CPT пробірок/50 мл конічна пробірка/донор. Потім клітини двічі промили PBS (без Ca⁺⁺, Mg⁺⁺; GIBCO). Пробірки поповнили до 50 мл і перемішали, перевертаючи кілька разів. Потім зразок центрифугували при 330 x g протягом 15 хвилин при кімнатній температурі (1215 об./мін. у Beckman Allegra 6R) і зливали максимальну кількість надосадової рідини, не порушуючи осад. Клітинний осад зняли, обережно повертаючи пробірку, і повторно суспендували клітини в RPMI+10 % ФБС+пеніцилін/стрептоміцин (~1 мл / 10 мл початкового об'єму цільної крові). Піпеткою взяли 60 мкл зразка і помістили у флакон з пробією (Beckman Coulter), що містить 600 мкл реагенту VersaLyse (Beckman Coulter, кат. № A09777), і обережно перемішували на вортексе протягом 10-15 секунд. Зразок залишили інкубуватися протягом 10 хвилин при кімнатній температурі, й знову перемішали перед підрахунком. Суспензію клітин зчитували на аналізаторі життєздатності клітин Vicell XR (Beckman Coulter), використовуючи клітини типу PBMC (зберегли фактор розбавлення 1:11 з іншими параметрами). Записали кількість живих клітин/мл і життєздатність. Клітинну суспензію розбавили до 1×10^7 живих PBMC/мл у RPMI+10 % ФБС+пеніцилін/стрептоміцин.

30 Клітини помістили на планшет при 5×10^5 в 50 мкл/лунки 96-лункового тканинного культурального планшета (Falcon Microtest). 50 мкл/лунку 2х концентрації олігомерів/контролю, розбавлених в RPMI+10 % ФБС+пеніцилін/стрептоміцин, додали у відповідності з експериментальною матрицею (в цілому 100 мкл/лунку). Планшети встановили на шейкер і залишили перемішуватися протягом приблизно 1 хв. Після інкубації протягом 24 годин при 37 °C; 5 % CO₂, планшети центрифугували при 400 x g протягом 10 хвилин, потім видалили надосадову рідину для аналізу цитокінів MSD (тобто людських ІЛ-6, ІЛ-10, ІЛ-8 та MCP-1).

35 Приклад 24: Оцінка прозапальних ефектів в аналізі hPBMC для GalNAc₃-1-сполучених ASO

40 Антисмислові олігонуклеотиди (ASO), перелічені у Таблиці 30, оцінили на прозапальну дію в аналізі hPBMC, використовуючи протокол, описаний у Прикладі 23. ISIS 353512 являє собою внутрішній стандарт, який, як відомо, має високу відповідь на вивільнення ІЛ-6 у цьому аналізі. hPBMC виділили зі свіжих зразків, отриманих від донорів-добровольців, і обробили ASO в концентраціях 0, 0,0128, 0,064, 0,32, 1,6, 8, 40 і 200 мкМ. Через 24 години обробки виміряли рівні цитокінів.

Рівні ІЛ-6 використовували в якості первинного значення. ЕК₅₀ Е_{max} розраховували за стандартним способом. Результати виразили як середнє відношення Е_{max}/ЕК₅₀ для двох донорів

та позначили як " E_{\max}/EK_{50} ". Більш низьке співвідношення означає відносне зниження прозапальної відповіді, а більш високе співвідношення означає відносне збільшення прозапальної відповіді.

Щодо досліджуваних сполук, найменш прозапальною сполукою була ASO, сполучена за допомогою PS/PO (ISIS 616468). $GalNAc_3$ -1-сполучене ASO, ISIS 647535, було трохи менше прозапальним, ніж його несполучений аналог, ISIS 304801. Ці результати показують, що впровадження декількох PO зв'язків знижує прозапальну реакцію, а додавання кон'югату $GalNAc_3$ -1 не робить сполуку більш прозапальною, і може знижувати прозапальну реакцію. Відповідно, можна очікувати, що антисмислова сполука, що містить змішані PS/PO зв'язки і кон'югат $GalNAc_3$ -1, може викликати більш слабкі прозапальні реакції, порівняно з антисмисловою сполукою, зв'язаною тільки за допомогою PS, з кон'югатом $GalNAc_3$ -1 або без нього. Ці результати показують, що $GalNAc_3$ -1-спряжені антисмислові сполуки, зокрема, сполуки, що мають менший вміст PS, є менш прозапальними.

В цілому, ці результати дозволяють припустити, що $GalNAc_3$ -1-сполучена сполука, зокрема, сполука зі зниженим вмістом PS, може бути введена у більш високій дозі, ніж аналогічна повністю PS антисмислова сполука без кон'югату $GalNAc_3$ -1. Оскільки не очікується, що період напіввиведення для цих сполук буде істотно відрізнятися, то таке введення у більш високій дозі зумовить менш часте введення доз. Насправді, таке введення може бути ще більш рідкісним, оскільки $GalNAc_3$ -1-сполучені сполуки є більш ефективними (див. Приклади 20-22), а повторне введення дози необхідно тільки при зниженні концентрації сполуки нижче заданого рівня, при цьому заданий рівень зумовлений ефективністю.

Таблиця 30

Модифіковані ASO

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мішень	SEQ ID NO
ISIS 104838	$G_{es}^m C_{es} T_{es} G_{es} A_{es} T_{ds} T_{ds} A_{ds} G_{ds} A_{ds} G_{ds}$ $A_{ds} G_{ds} A_{ds} G_{ds} G_{es} T_{es} m C_{es} m C_{es} m C_e$	ФНО α	825
ISIS 353512	$T_{es} m C_{es} m C_{es} m C_{ds} A_{ds} T_{ds} T_{ds} T_{ds} m C_{ds} A_{ds} G_{ds}$ $G_{ds} A_{ds} G_{ds} A_{ds} m C_{ds} m C_{ds} T_{es} G_{es} G_e$	CRP	826
ISIS 304801	$A_{es} G_{es} m C_{es} T_{es} T_{es} m C_{ds} T_{ds} T_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} m C_{ds} A_{ds} G_{ds} m C_{ds} T_{es} T_{es} T_{es} A_{es} T_e$	АроС III	821
ISIS 647535	$A_{es} G_{es} m C_{es} T_{es} T_{es} m C_{ds} T_{ds} T_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} m C_{ds} A_{ds} G_{ds} m C_{ds} T_{es} T_{es} T_{es} A_{es} T_{eo} A_{do}'-GalNAc_3-1_a$	АроС III	822
ISIS 616468	$A_{es} G_{eo} m C_{eo} T_{eo} T_{eo} m C_{ds} T_{ds} T_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} m C_{ds} A_{ds} G_{ds} m C_{ds} T_{eo} T_{eo} T_{es} A_{es} T_e$	АроС III	821

Нижні індекси: "е" означають 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β -D-2'-дезоксирибонуклеозид; "k" означає 6'-(S)-CH₃ біциклічний нуклеозид (наприклад, cEt); "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні зв'язки (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні зв'язки (PO); і "o'" означає -O-P(=O)(OH)-. Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини. " $A_{do}'-GalNAc_3-1_a$ " означає кон'югат, що має структуру $GalNAc_3$ -1, показану у Прикладі 9, приєднану до 3'-кінця антисмислового олігонуклеотиду, як показано.

Таблиця 31

Прозапальна дія ASO, спрямованих на АроС III, в аналізі hPBMC

ASO	EK_{50} (мкМ)	E_{\max} (мкМ)	E_{\max}/EK_{50}	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
ISIS 353512 (підвищена реакція)	0,01	265,9	26590	немає	PS/20	826
ISIS 304801	0,07	106,55	1522	немає	PS/20	821
ISIS 647535	0,12	138	1150	$GalNAc_3$ -1	PS/20	822
ISIS 616468	0,32	71,52	224	немає	PS/PO/20	821

Приклад 25: Вплив модифікованого $GalNAc_3$ -1-сполученого ASO, спрямованого на людський АроС III, in vitro

ISIS 304801 і 647535, описані вище, випробували in vitro. Первинні гепатоцитарні клітини

трансгенних мишей при щільності 25000 клітин на лунку обробили концентраціями 0,03, 0,08, 0,24, 0,74, 2,22, 6,67 і 20 мкМ модифікованих олігонуклеотидів. Після обробки протягом приблизно 16 годин, з клітин виділили РНК і виміряли рівні мРНК за допомогою кількісного ПЛР у реальному часі, а рівні мРНК hApoC III скорегували у відповідності із загальним вмістом РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN.

IK₅₀ розраховували за стандартними способами, а результати представлені в Таблиці 32. Показано, що спостерігали порівнянну ефективність у клітинах, оброблених ISIS 647535, порівняно з контрольним зразком, ISIS 304801.

Таблиця 32

Модифіковані ASO, спрямовані на людські ApoC III, у первинних гепатоцитах

ASO	IK ₅₀ (мкМ)	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
ISIS 304801	0,44	немає	PS/20	821
ISIS 647535	0,31	GalNAc ₃ -1	PS/20	822

У цьому експерименті *in vitro* не спостерігали такої великої переваги ефективності сполучення з GalNAc₃-1, як спостерігали *in vivo*. Наступні експерименти вільного захоплення у первинних гепатоцитах *in vitro* не показали підвищеної ефективності олігонуклеотидів, що містять різні кон'югати GalNAc, порівняно з олігонуклеотидами, що не містять кон'югати GalNAc (див. Приклади 60, 82 та 92).

Приклад 26: Вплив лінкерів PO/PS на активність ASO щодо ApoC III

Трансгенним мишам з людським ApoC III внутрібрюшинно вводили ін'єкцією 25 мг/кг ISIS 304801 або ISIS 616468 (обидва описані вище) або PBS в якості контрольного зразка, один раз на тиждень протягом двох тижнів. Експериментальна група складалася з 3 тварин, а контрольна група складалася з 4 тварин. Перед лікуванням, а також після останньої дози у кожній миші брали кров і аналізували зразки плазми. Мишей приспали через 72 години після останнього введення.

Зразки зібрали і аналізували для визначення рівнів білка ApoC III в печінці, як описано вище (Приклад 20). Дані цих аналізів представлені нижче в Таблиці 33.

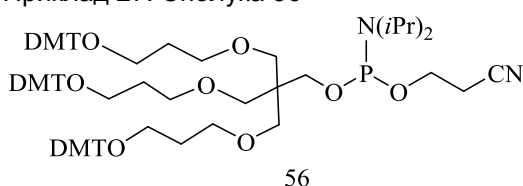
Ці результати демонструють зниження ефективності антисмислових сполук з PO/PS (ISIS 616468) в крилах, порівняно зі сполуками, що містять тільки PS (ISIS 304801).

Таблиця 33

Вплив ASO лікування на рівні білка ApoC III у трансгенних мишей з людським ApoC III

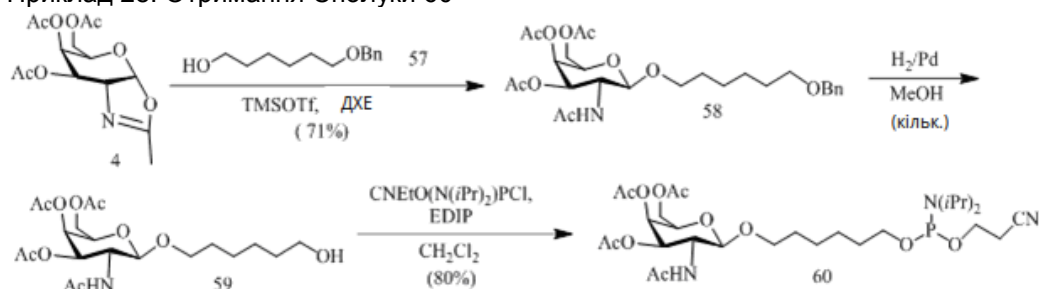
ASO	Доза (мг/кг)	% PBS	3'-кон'югат	Міжнуклеозидний зв'язок/довжина	SEQ ID NO
PBS	0	99	-	--	
ISIS 304801	25 мг/кг/тиждень протягом 2 тижнів	24	немає	Повністю PS	821
ISIS 616468	25 мг/кг/тиждень протягом 2 тижнів	40	немає	14 PS/6 PO	821

Приклад 27: Сполука 56



Сполука 56 є у продажу у компанії Glen Research або може бути отримана за опублікованими методиками, описаними авторами Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454.

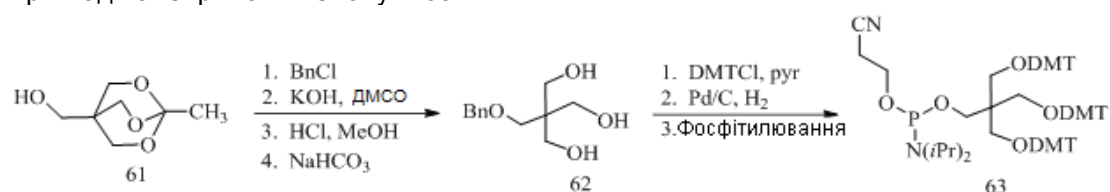
Приклад 28: Отримання Сполуки 60



Сполуку 4 отримали способом, представленим у Прикладі 2. Сполука 57 є у продажу. Сполуку 60 підтвердили структурним аналізом.

- 5 Сполука 57 є ілюстративною, і її не слід вважати обмежуючим, оскільки можуть бути використані інші монозахищені заміщені або незахищені алкідіолі, включаючи, але не обмежуючись ними, ті, які представлені в цьому описі, для отримання фосфорамідитів, що мають заданий склад.

Приклад 29: Отримання Сполуки 63



10 Сполуки 61 та 62 отримали таким-саме способом, як описано в публікації Tober et al., Eur. J. Org. Chem., 2013, 3, 566-577; та Jiang et al., Tetrahedron, 2007, 63(19), 3982-3988.

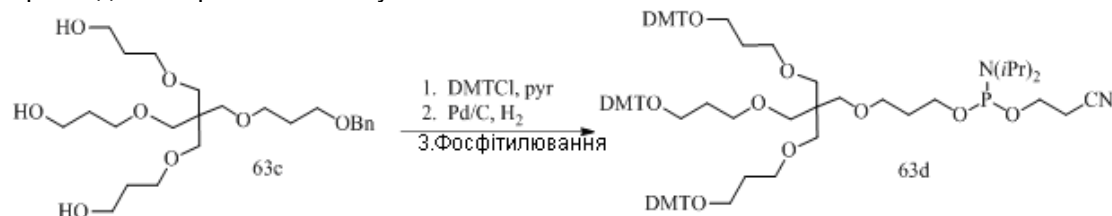
Альтернативно, Сполуку 63 отримали за такими-саме способами, як описані в науковій і патентній літературі авторами Kim et al., Synlett, 2003, 12, 1838-1840; Kim et al., в опублікованій міжнародній заявці РСТ WO 2004063208.

Приклад 30: Отримання Сполуки 63b



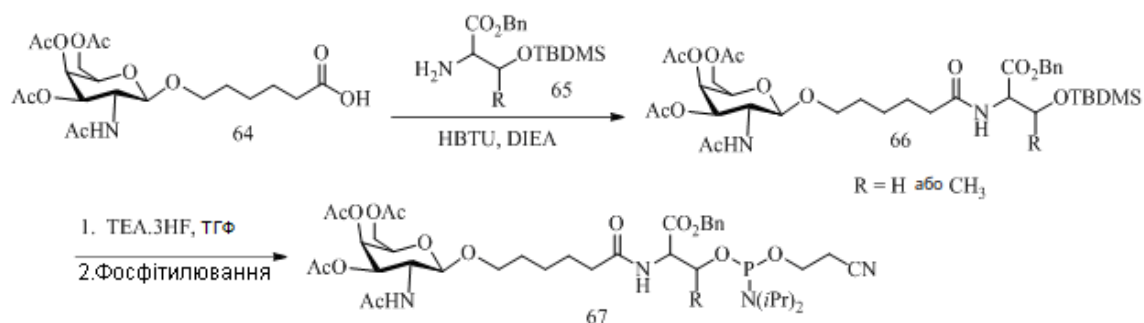
20 Сполуку 63a отримали такими-саме способами, як описані авторами Hanessian et al., Canadian Journal of Chemistry, 1996, 74(9), 1731-1737.

Приклад 31: Отримання Сполуки 63d



25 Сполуку 63c отримали такими-саме способами, як описані авторами Chen et al., Chinese Chemical Letters, 1998, 9(5), 451-453.

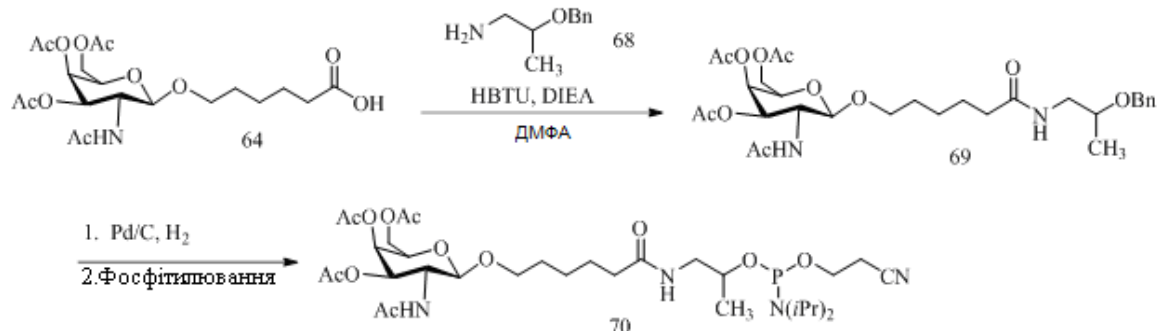
Приклад 32: Отримання Сполуки 67



Сполуку 64 отримали способами, наведеними в Прикладі 2. Сполуки 65 отримали такими-саме способами, як описані авторами Or et al., в опублікованій міжнародній заявці РСТ WO 2009003009. Захисні групи, використані для Сполуки 65, є ілюстративним, і їх не слід вважати обмеженням, оскільки можуть бути використані інші захисні групи, включаючи, але не обмежуючись ними, ті, які представлені в даному описі.

5

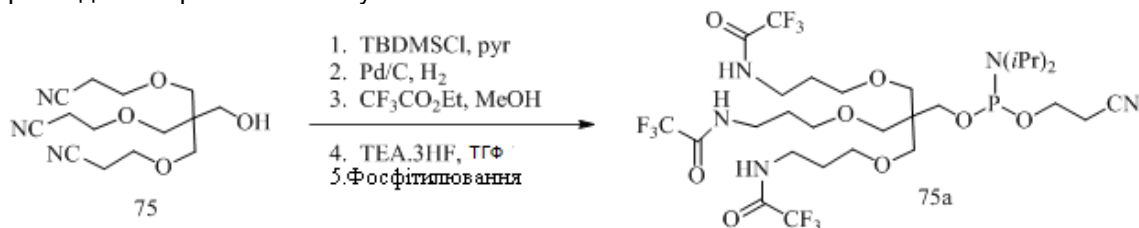
Приклад 33: Отримання Сполуки 70



Сполуку 64 отримали способами, наведеними в Прикладі 2. Сполука 68 є у продажу. Захисна група, використана для Сполуки 68, є ілюстративною, і її не слід вважати обмеженням, оскільки можуть бути використані інші захисні групи, включаючи, але не обмежуючись ними, ті, які представлені в цьому описі.

10

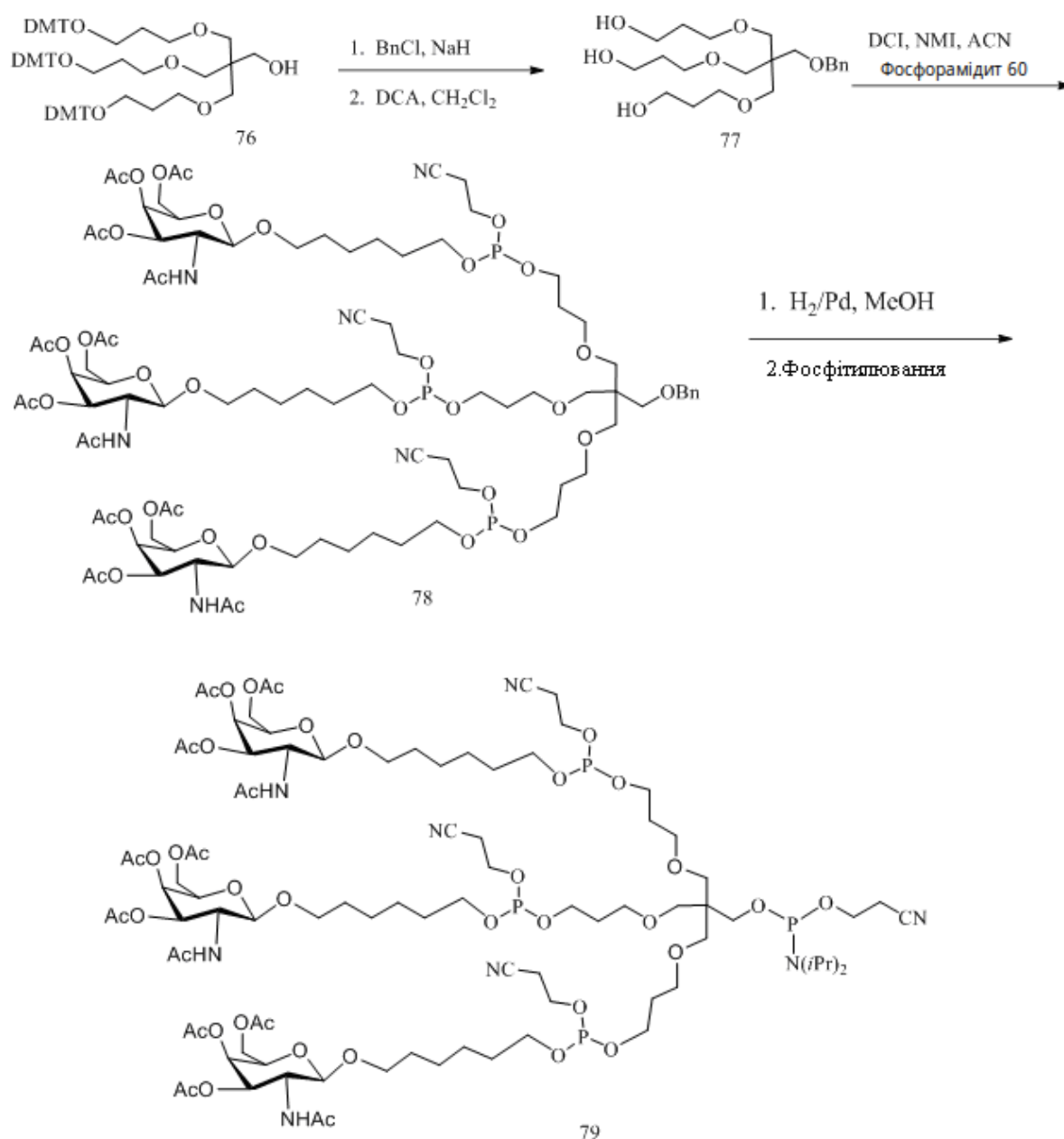
Приклад 34: Отримання Сполуки 75a



Сполуку 75 отримали за опублікованими способами, описаними авторами Shchepinov et al., Nucleic Acids Research, 1997, 25(22), 4447-4454.

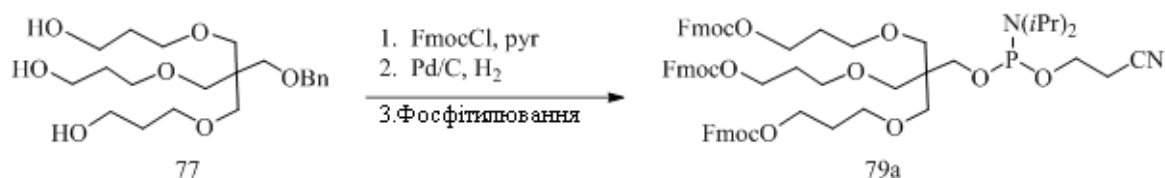
15

Приклад 35: Отримання Сполуки 79



Сполуку 76 отримали за опублікованими способами, описаними авторами Shchepinov et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4447-4454.

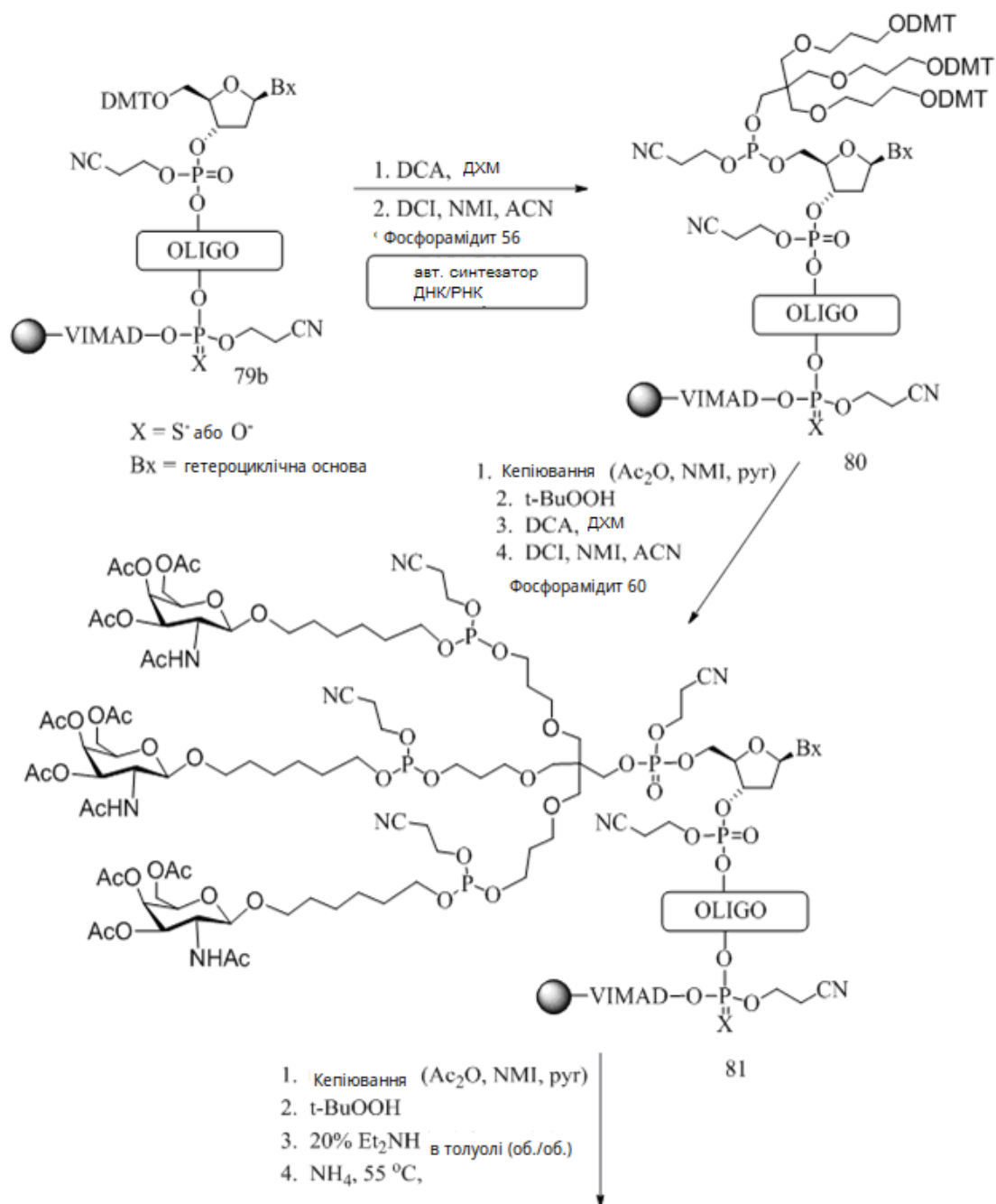
Приклад 36: Отримання Сполуки 79а

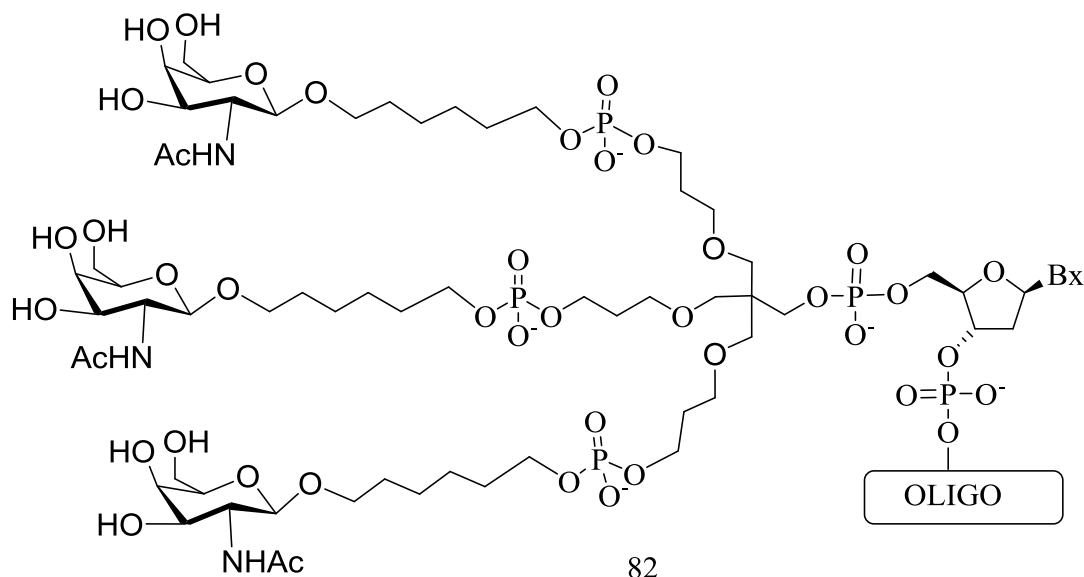


5

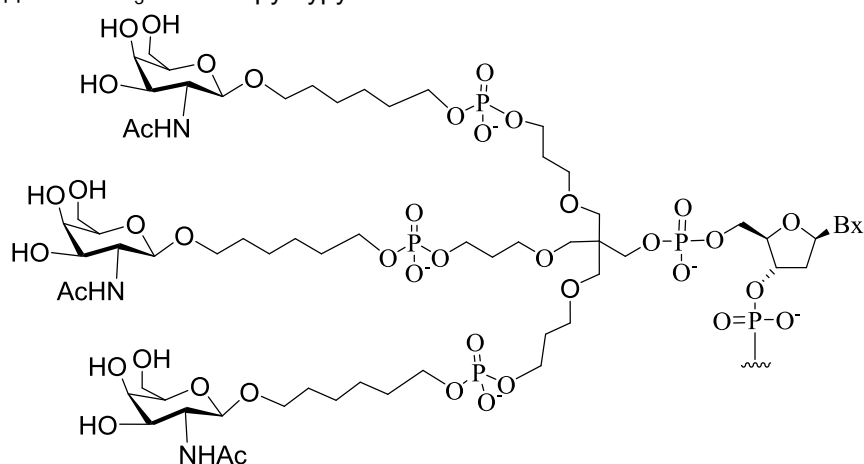
Сполуку 77 отримали способами, наведеними в Прикладі 35.

Приклад 37: Загальний спосіб отримання асоційованої олігомерної сполуки 82, яка містить фосфодіестер-зв'язаний кон'югат $\text{GalNAc}_3\text{-}2$ у 5'-кінця, via твердої підкладки (Спосіб I),

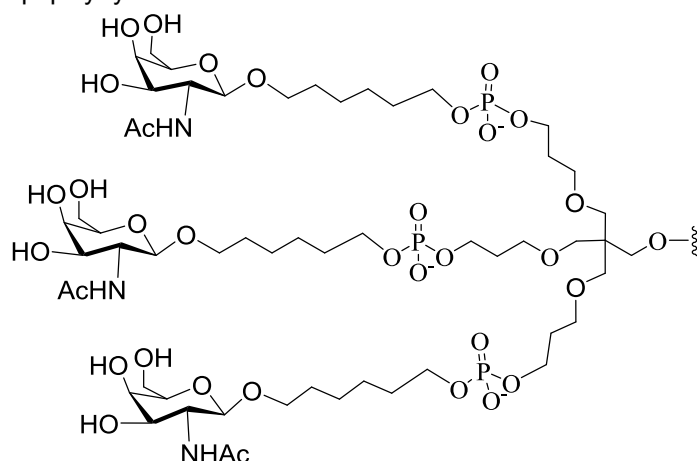




де GalNAc₃-2 має структуру:



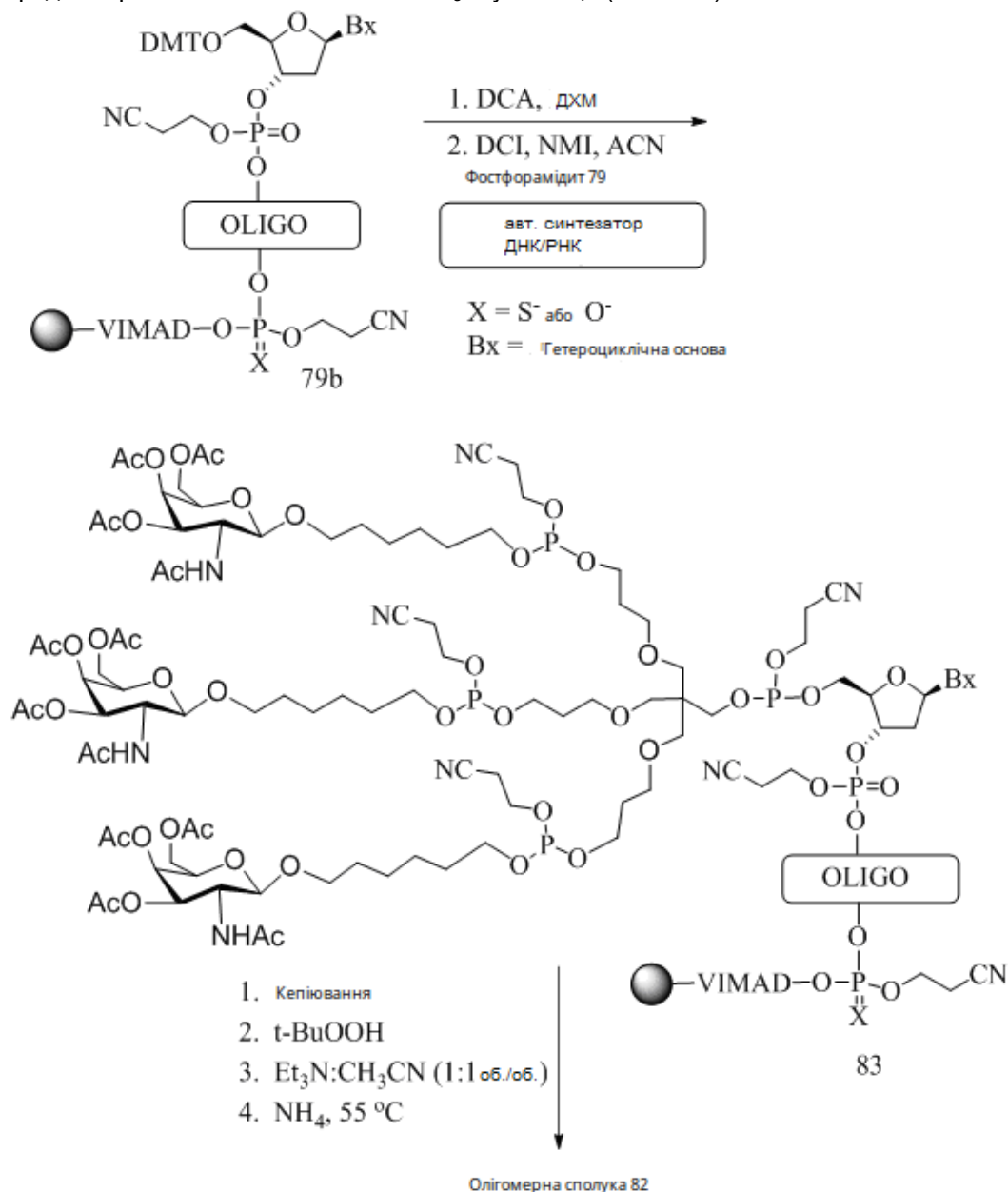
- 5 Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-2 (GalNAc₃-2_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Де GalNAc₃-2_a має формулу:



- 10 VIMAD-зв'язану олігомерну сполуку 79b отримали стандартними способами в автоматичному синтезаторі ДНК/РНК (див. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3623-3627). Фосфорамідитні Сполуки 56 і 60 отримали так, як описано в способах у Прикладах 27 і 28 відповідно. Зображені фосфорамідити є ілюстративними, і їх не слід вважати обмеженням, оскільки можуть бути використані інші фосфорамідитні будівельні блоки, включаючи, але не обмежуючись ними, ті, які представлені в цьому описі, для отримання олігомерної сполуки, що містить фосфодіестер зв'язану групу кон'югату у 5'-кінця. Порядок і кількість фосфорамідитів,

що додаються до твердої підкладки, може бути підібран для отримання олігомерних сполук, описаних у цьому документі, які мають будь-яку задану послідовність і склад.

Приклад 38: Альтернативний спосіб отримання олігомерної сполуки 82, яка містить фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 у 5'-кінця (Спосіб II)

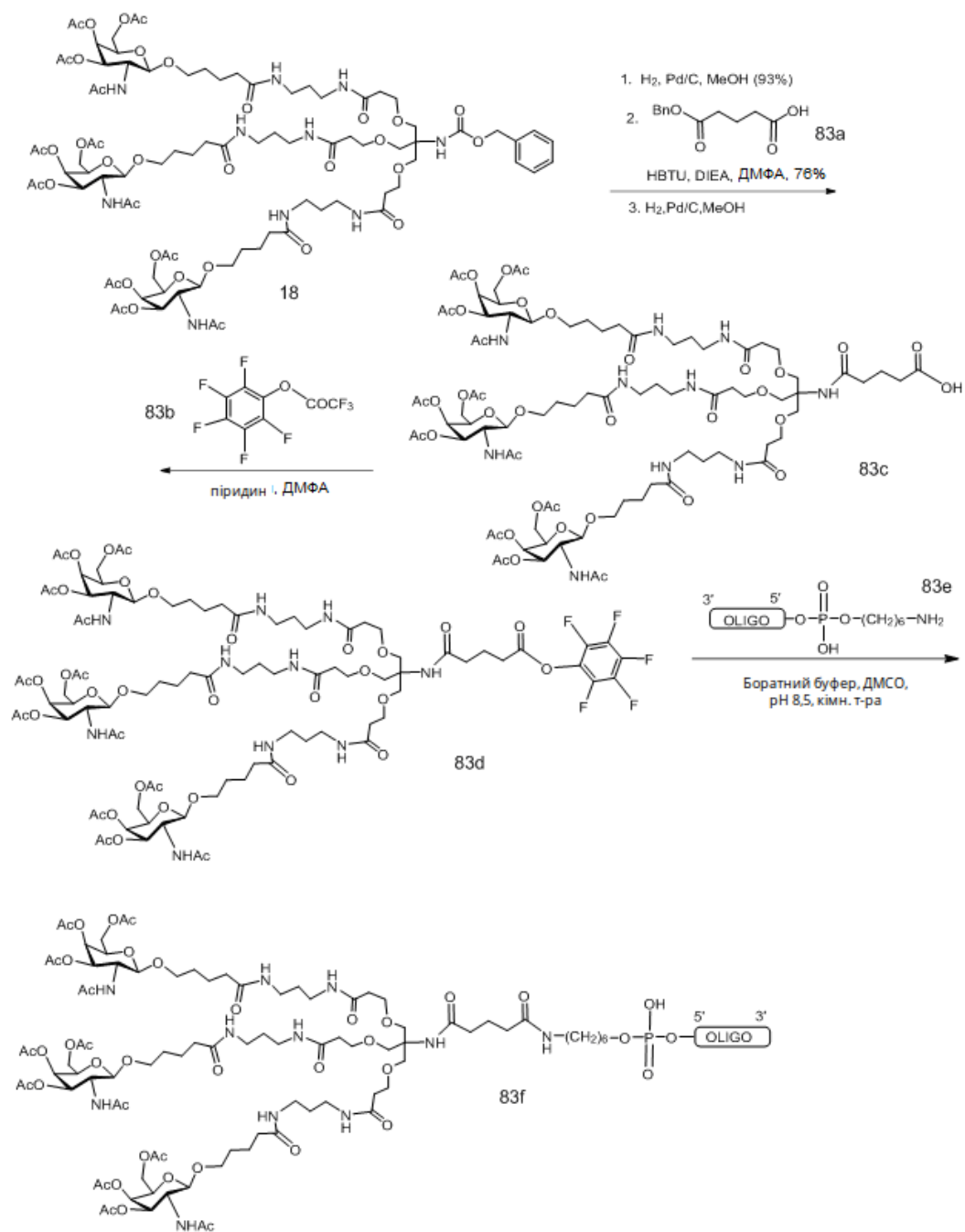


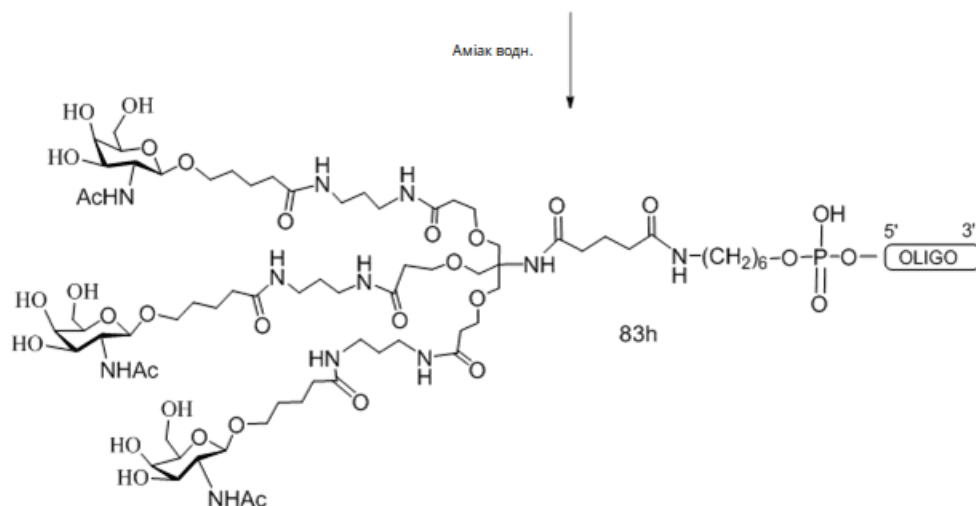
5

VIMAD-зв'язану олігомерну сполуку 79b отримали за стандартними способами в автоматичному синтезаторі ДНК/РНК (див. Dupouy et al., Angew. Chem. Int. Ed., 2006, 45, 3623-3627). GalNAc₃-2-кластерний фосфорамідит, Сполуку 79 отримали способами, наведеними в Прикладі 35. Альтернативний спосіб забезпечує можливість одностадійної установки фосфодіестер-зв'язаного GalNAc₃-2 кон'югату на олігомерну сполуку на останній стадії синтезу. Зображені фосфорамідити є ілюстративними, і їх не слід вважати обмеженням, оскільки можуть бути використані інші фосфорамідитні будівельні блоки, включаючи, але не обмежуючись ними, ті, які представлені в цьому описі, для отримання олігомерних сполук, що містять фосфодіестерний кон'югат у 5'-кінця. Порядок і кількість фосфорамідитів, що додаються до твердої підкладки, може бути підібрана для отримання олігомерних сполук, описаних у цьому документі, які мають будь-яку задану послідовність і склад.

Приклад 39: Загальний спосіб отримання олігомерної сполуки 83h, що містить кон'югат GalNAc₃-3 у 5'-кінця (GalNAc₃-1, модифікований для 5'-кінцевого приєднання), via твердої підкладки.

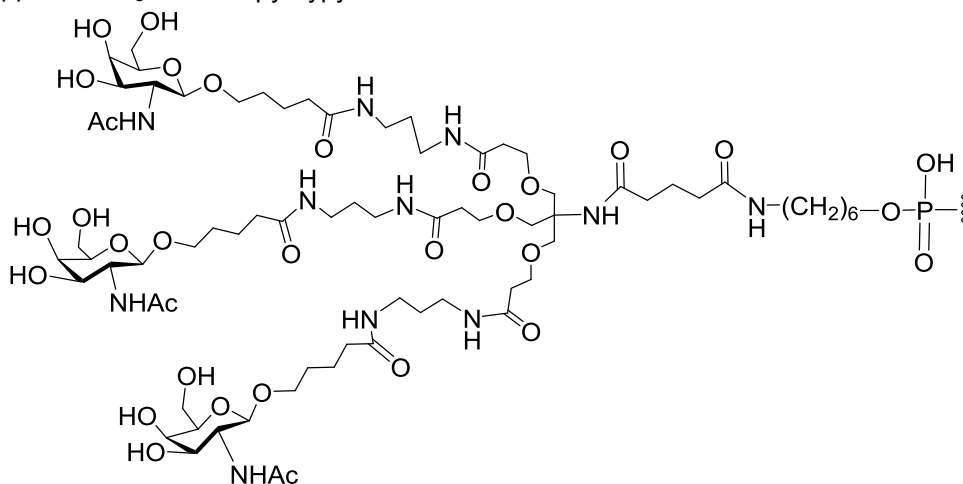
20



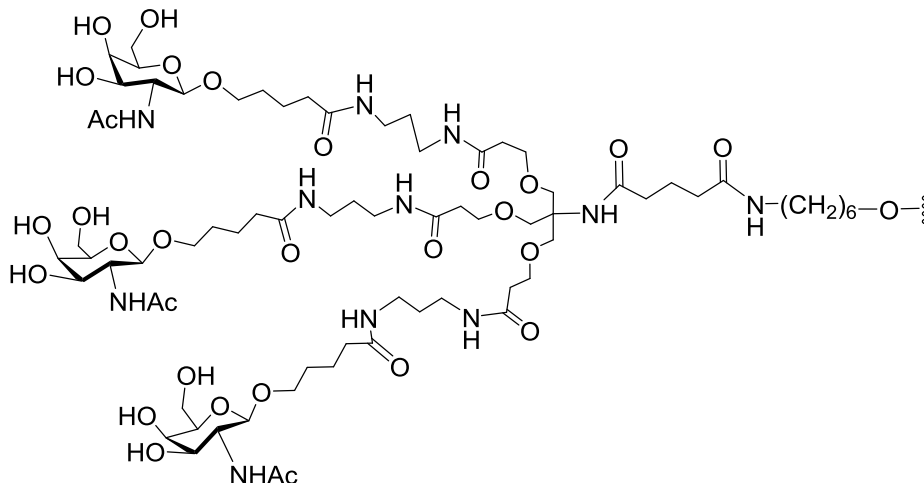


Сполуку 18 отримали за способами, наведеними в Прикладі 4. Сполуки 83a і 83b є у продажі. Олігомерну Сполуку 83e, що містить зв'язаний через фосфодіестер гексиламін, отримали стандартним способом синтезу олігонуклеотидів. В результаті обробки захищеної олігомерної сполуки водним розчином аміаку отримали 5'-GalNAc₃-3 сполучену олігомерну сполуку (83h).

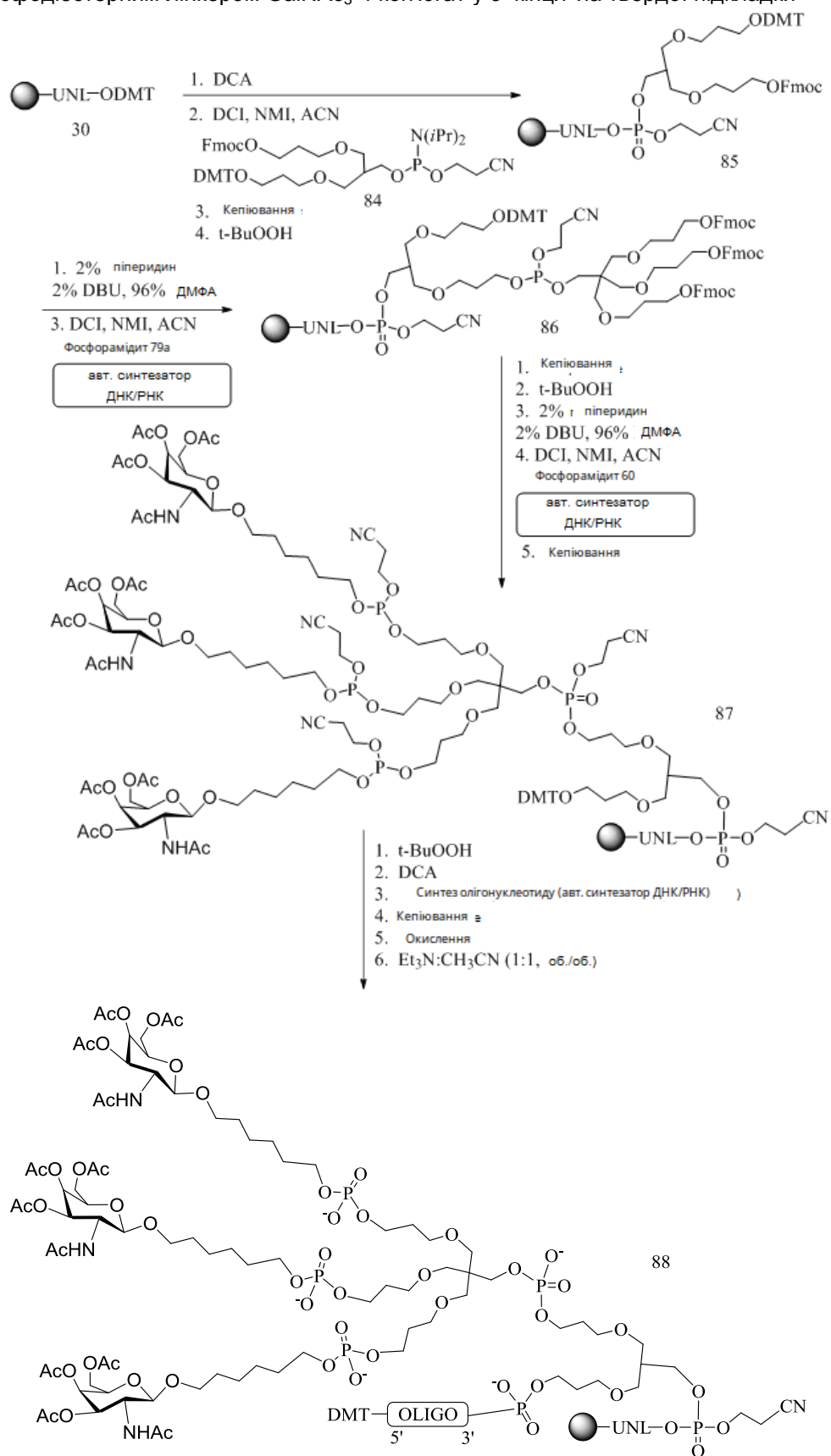
Де GalNAc₃-3 має структуру:

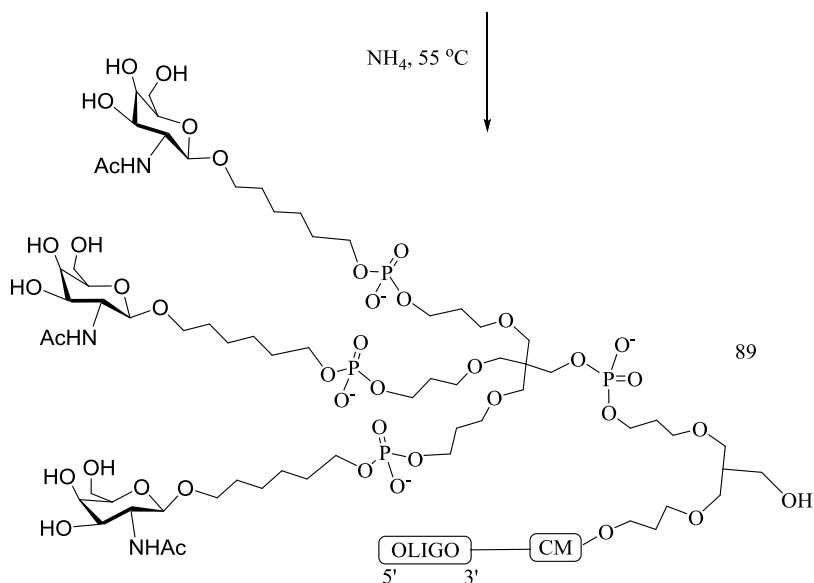


Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-3_a (GalNAc₃-3_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Де GalNAc₃-3_a має формулу:

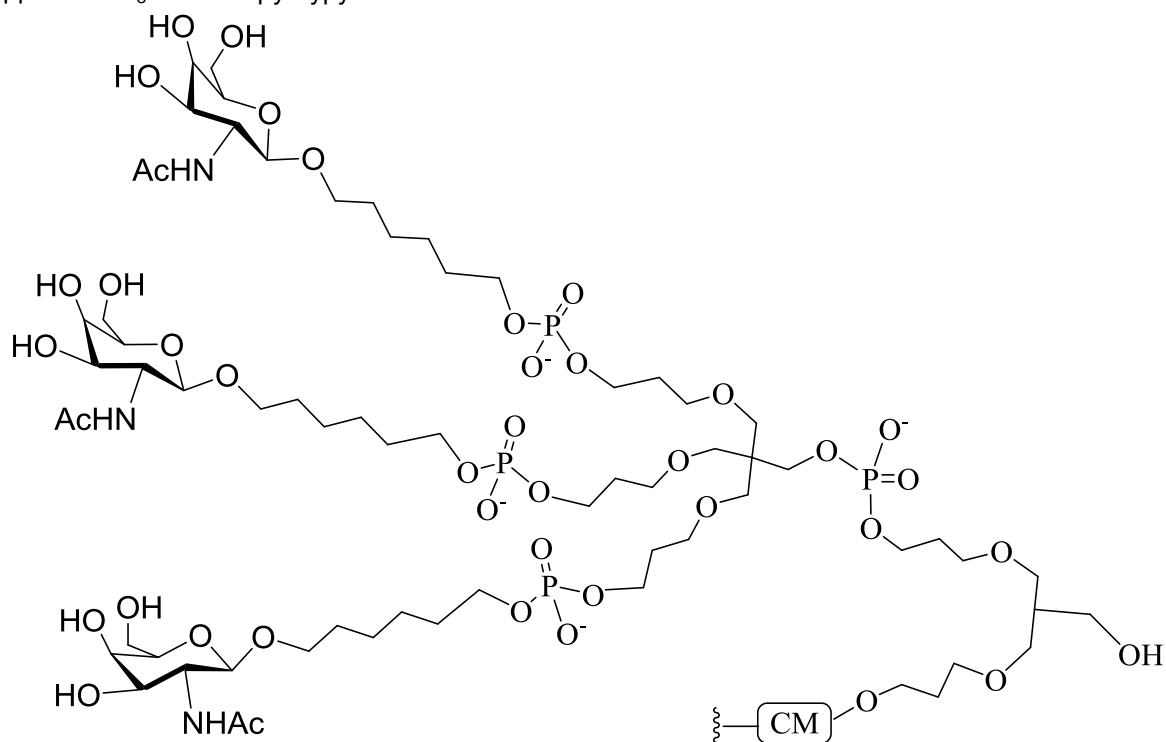


Приклад 40: Загальний спосіб отримання олігомерної сполуки 89, яка містить зв'язаний фосфодіестерним лінкером GalNAc₃-4 кон'югат у 3'-кінця via твердої підкладки

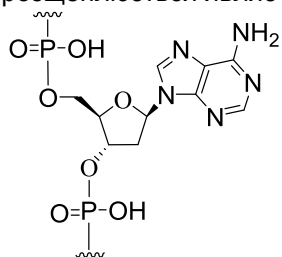




Де GalNAc₃-4 має структуру:

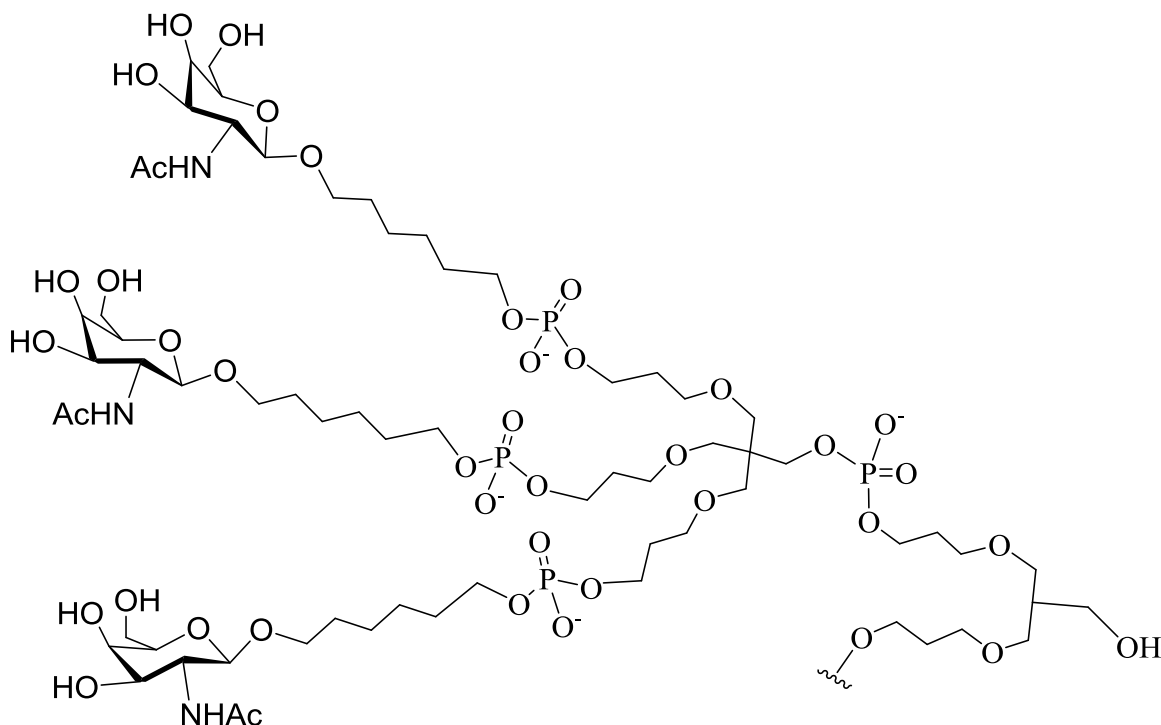


- 5 Де CM являє собою фрагмент, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою:



Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-4 (GalNAc₃-4_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Де GalNAc₃-4_a має формулу:

10



Захищена Сполука 30 на функціоналізованій твердій підкладці Unylinker є у продажу. Сполуку 84 отримали такими-саме способами, як описані в літературі (Shchepinov et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4447-4454; Shchepinov et al., *Nucleic Acids Research*, 1999, 27, 3035-3041; і Horner et al., *Nucleic Acids Research*, 1997, 25, 4842-4849).

Фосфорамідитні будівельні блоки, Сполук 60 і 79а, отримали так, як описано в способах у прикладах 28 і 36. Зображені фосфорамідити є ілюстративними і не призначені для обмеження, оскільки можуть бути використані інші фосфорамідитні будівельні блоки для отримання олігомерної сполуки, що має фосфодіестер-зв'язаний кон'югат у 3'-кінця і задану послідовність і склад. Порядок і кількість фосфорамідитів, що додаються до твердої підкладки, може бути підібрана для отримання олігомерних сполук, описаних у цьому документі, які мають будь-яку задану послідовність і склад.

Приклад 41: Загальний спосіб отримання ASO, що містять фосфодіестер-зв'язаний кон'югат $\text{GalNAc}_3\text{-2}$ (див. Приклад 37, Вх являє собою аденін) в 5'-положенні *via* твердофазному способу (отримання ISIS 661134)

Якщо не вказано інше, всі реагенти і розчини, використані для синтезу олігомерних сполук, придбані у комерційних постачальників. Стандартні фосфорамідитні будівельні блоки і тверду підкладку використовували для впровадження нуклеозидних залишків, які включають, наприклад, залишки Т, А, G і ^{18}C . Фосфорамідитні сполуки 56 і 60 використовували для синтезу фосфодіестер-зв'язаного кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-2}$ у 5'-кінця. 0,1 М розчин фосфорамідиту в безводному ацетонітрилі використовували для $\beta\text{-D-2'}$ -дезоксирибонуклеозиду і 2'-MOE.

Синтез антисмислових олігонуклеотидів (ASO) виконали на синтезаторі ABI 394 (в масштабі 1-2 мкмоль) або на синтезаторі ÄKTA Oligopilot виробництва GE Healthcare Bioscience (в масштабі 40-200 мкмоль) способом фосфорамідитного зв'язування на твердій підкладці VIMAD (110 мкмоль/г, Guzaev et al., 2003), упакованої в колонку. Для стадії зв'язування фосфорамідити вводили в 4-кратному надлишку порівняно з вихідною завантаженням на твердій підкладці, а конденсацію фосфорамідиту виконували протягом 10 хвилин. Всі інші стадії виконували за стандартними протоколами, наданими виробником. Для видалення диметокситритильних (DMT) груп з 5'-гідроксильних груп нуклеотиду використовували 6 % розчин дихлороцтової кислоти в толуолі. На стадії зв'язування в якості активатора використовували 4,5-диціаноімідазол (0,7 М) в безводному CH_3CN . Тіофосфатні зв'язки впроваджували сульфидуванням за допомогою 0,1 М розчину гідриду ксантану в 1:1 суміші піридину/ CH_3CN протягом 3 хвилин часу контакту. В якості окислюючого агента для отримання фосфодіестерних міжнуклеозидних зв'язків використовували 20 % розчин трет-бутилгідропероксиду в CH_3CN , що містить 6 % води, протягом 12 хвилин часу контакту.

Після складання необхідної послідовності ціаноетил-фосфатні захисні групи знімали за допомогою 20 % діетиламіну в толуолі (об./об.) протягом 45 хвилин часу контакту. Зв'язані з

твердою підкладкою ASO суспендували у водному розчині аміаку (28-30 мас. %) і нагрівали при 55 °С протягом 6 годин. Потім відфільтровували не зв'язані ASO і випарювали аміак кип'ятінням. Залишок очищали рідинною хроматографією високого тиску на сильній аніонообмінній колонці (GE Healthcare Bioscience, Source 30Q, 30 мкм, 2,54 × 8 см, A=100 мМ ацетату амонію в 30 % водному CH₃CN, B=1,5 М NaBr в А, 0-40 % В за 60 хв., швидкість потоку 14 мл хв⁻¹, λ = 260 нм). Залишок обезсолювали за допомогою ВЕРХ на зворотньо-фазовій колонці з отриманням заданих ASO з виділеним виходом 15-30 % щодо початкового завантаження на тверду підкладку. ASO характеризували за допомогою іон-парної ВЕРХ, поєднаної з МС-аналізом на системі Agilent 1100 MSD.

Таблиця 34

ASO, які містять фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 в 5'-положенні, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Розрахункова маса	Спостережувана маса	SEQ ID NO
661134	GalNAc ₃ -2 _{a-o} -A _{do} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	6482,2	6481,6	827

Нижні індекси: "e" означають 2'-MOE модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "k" означає 6'-(S)-CH₃ біциклічний нуклеозид (наприклад, cEt); "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні зв'язки (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні зв'язки (PO); і "o'" означає -O-P(=O)(OH)-. Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини. Структура GalNAc₃-2_a показана у Прикладі 37.

Приклад 42: Загальний спосіб отримання ASO, що містять кон'югат GalNAc₃-3 в 5'-положенні, via твердофазним методиками (отримання ISIS 661166)

Синтез ISIS 661166 виконали такими-саме способами, як представлені в Прикладах 39 та 41.

ISIS 661166 являє собою 5-10-5 MOE гепмер, в якому 5'-положення містить кон'югат GalNAc₃-3. Це ASO характеризували за допомогою іон-парної ВЕРХ, поєднаної з МС-аналізом на системі Agilent 1100 MSD.

Таблиця 34а

ASO, що містить кон'югат GalNAc₃-3 в 5'-положенні через гексиламіно-фосфодіестерний лінкер, спрямоване на Malat-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кон'югат	Розрахункова маса	Спостережувана маса	SEQ ID NO
661166	5'-GalNAc ₃ -3 _{a-o'} ^m C _{es} G _{es} G _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{es} A _{es} A _{es} T _{es} T _e	5'-GalNAc ₃ -3	8992,16	8990,51	828

Нижні індекси: "e" означає 2'-MOE модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні лінкери (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні лінкери (PO); і "o'" означає OP(=O)(OH)-. Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини. Структура "5'-GalNAc₃-3_a" показана в Прикладі 39.

Приклад 43: Дозозалежне дослідження фосфодіестер-зв'язаного GalNAc₃-2 (див. Приклади 37 і 41, Вх являє собою аденін) у 5'-кінця, спрямованого на SRB-1, in vivo

ISIS 661134 (див. Приклад 41), що містить фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 у 5'-кінця, відчували в дозозалежне дослідженні на антисмислове інгібування SRB-1 у мишей. Неспарені ISIS 440762 і 651900 (кон'югат (GalNAc₃-1 у 3'-кінця, див. Приклад 9) включені в дослідження для порівняння та описані раніше в Таблиці 17.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 440762, 651900, 661134 або PBS в якості контрольного зразка. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК

RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні мРНК SRB-1 визначали відносно загальної РНК (за допомогою Ribogreen), потім нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого PBS, і позначені як «% PBS». ЕД₅₀ вимірювали такими-саме способами, як описано раніше, і ці значення представлені нижче.

Як показано в Таблиці 35, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Дійсно, антисмислові олігонуклеотиди, містять фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 у 5'-кінця (ISIS 661134) або кон'югат GalNAc₃-1, зв'язаний у 3'-кінця (ISIS 651900), демонструють значне поліпшення ефективності, порівняно з неспареним антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 440762). Крім того, ISIS 661134, який містить фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 у 5'-кінця, був настільки ж ефективним, як ISIS 651900, який містить кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця.

Таблиця 35

ASO, які містять GalNAc₃-1 або GalNAc₃-2, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	Рівні мРНК SRB-1 (% PBS)	ЕД ₅₀ (мг/кг)	Кон'югат	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	
440762	0,2	116	2,58	Без кон'югату	823
	0,7	91			
	2	69			
	7	22			
	20	5			
651900	0,07	95	0,26	3" GalNAc ₃ -1	824
	0,2	77			
	0,7	28			
	2	11			
	7	8			
661134	0,07	107	0,25	5" GalNAc ₃ -2	827
	0,2	86			
	0,7	28			
	2	10			
	7	6			

Структури 3' GalNAc₃-1 і 5' GalNAc₃-2 описані раніше у Прикладах 9 і 37.

Фармакокінетичний аналіз (ФК)

ФК для ASO з групи високої дози (7 мг/кг) досліджували та оцінили таким-саме чином, як описано в Прикладі 20. Зразки печінки подрібнили та екстрагували за стандартними протоколами. Ідентифікували метаболіти повної довжини 661134 (5' GalNAc₃-2) і ISIS 651900 (3' GalNAc₃-1) і підтвердили їх маси за допомогою мас-спектрометричного аналізу високої роздільної здатності. Результати показали, що основний метаболіт, виявлений для ASO, що містить фосфодіестер-зв'язаний кон'югат GalNAc₃-2 у 5'-кінця (ISIS 661134), являв собою ISIS 440762 (дані не показані). Не спостерігали ніяких додаткових метаболітів у виявляемій кількості. На відміну від нього, для ASO, що містить кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця (ISIS 651900), спостерігали додаткові метаболіти, аналогічні тим, які описані раніше в Таблиці 23а. Ці результати дозволяють припустити, що наявність фосфодіестер-зв'язаного кон'югату GalNAc₃-1 або GalNAc₃-2 може покращувати ФК профіль ASO без погіршення їх ефективності.

Приклад 44: Вплив PO/PS лінкерів на антисмислове інгібування ASO, що містять кон'югат GalNAc₃-1 (див. Приклад 9) у 3'-кінця, спрямованих на SRB-1

ISIS 655861 і 655862, містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця, кожний з яких спрямований на SRB-1, випробували в дослідженні одноразового введення на їх здатність інгібувати SRB-1 у мишей. Початкову неспаровану сполуку, ISIS 353382, включили в дослідження для порівняння.

Ці ASO являють собою 5-10-5 MOE гепмери, в яких геп-область містить десять 2'-дезоксирибонуклеозидів, і кожна область крил містить п'ять 2'-MOE модифікованих нуклеозидів. Ці ASO отримали такими-саме способами, як показано раніше в Прикладі 19, і вони описані нижче в Таблиці 36.

Модифіковані ASO, містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Хімізм	SEQ ID NO
353382 (вихідна)	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	Повністю PS, без кон'югату	829
655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GalNAc_3-1_a$	Повністю PS з кон'югатом GalNAc ₃ -1	830
655862	$G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo}^m C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GalNAc_3-1_a$	Суміш PS/PO з кон'югатом GalNAc ₃ -1	830

Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні лінкери (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні лінкери (PO); і "o" означає OP(=O)(OH)-. Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини. Структура "GalNAc₃-1" показано в Прикладі 9.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки <SIS 353382, 655861, 655862 або PBS в якості контрольного зразка. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Перед лікуванням, а також після останньої дози у кожній миші брали кров і аналізували зразки плазми. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні мРНК SRB-1 визначали відносно загальної РНК (за допомогою Ribogreen), потім нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого PBS, і позначені як «% PBS». ЕД₅₀ вимірювали такими-саме способами, як описано раніше, і ці значення представлені нижче.

Як показано в Таблиці 37, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином, у порівнянні з контрольним зразком, обробленим PBS. Дійсно, антисмислові олігонуклеотиди, містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця (ISIS 655861 і 655862), демонструють значне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 353382). Крім того, ISIS 655862 зі змішаними PS/PO лінкерами демонструє посилення ефективності, порівняно зі сполукою, що містить тільки PS (ISIS 655861).

Таблиця 37

Вплив PO/PS лінкерів на антисмислове інгібування ASO, які містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця, спрямованих на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	Рівні мРНК SRB-1 (% PBS)	ЕД ₅₀ (мг/кг)	Хімізм	SEQ ID NO
PBS	0	100	--	--	
353382 (вихідна)	3	76,65	10,4	Повністю PS, без кон'югату	829
	10	52,40			
	30	24,95			
655861	0,5	81,22	2,2	Повністю PS з кон'югатом GalNAc ₃ -1	830
	1,5	63,51			
	5	24,61			
	15	14,80			
655862	0,5	69,57	1,3	Суміш PS/PO з кон'югатом GalNAc ₃ -1	830
	1,5	45,78			
	5	19,70			
	15	12,90			

Рівні трансамінази печінки, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці вимірювали щодо мишей, ін'єктованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також масу органів. Результати показують, що не спостерігали

будь-якого збільшення рівнів трансамінази (Таблиця 38) або маси органів (дані не показані) у мишей, оброблених ASO, порівняно з PBS контролем. Крім того, ASO зі змішаними PS/PO лінкерами (ISIS 655862) демонструє схожі рівні трансамінази, порівняно зі сполукою, що містить тільки PS (ISIS 655861).

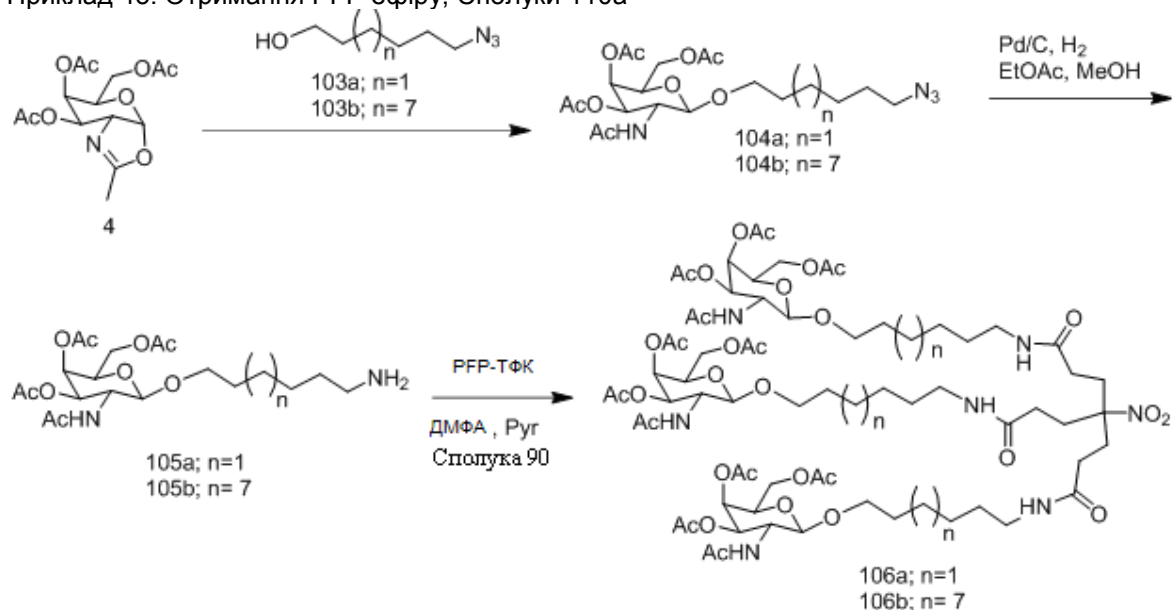
5

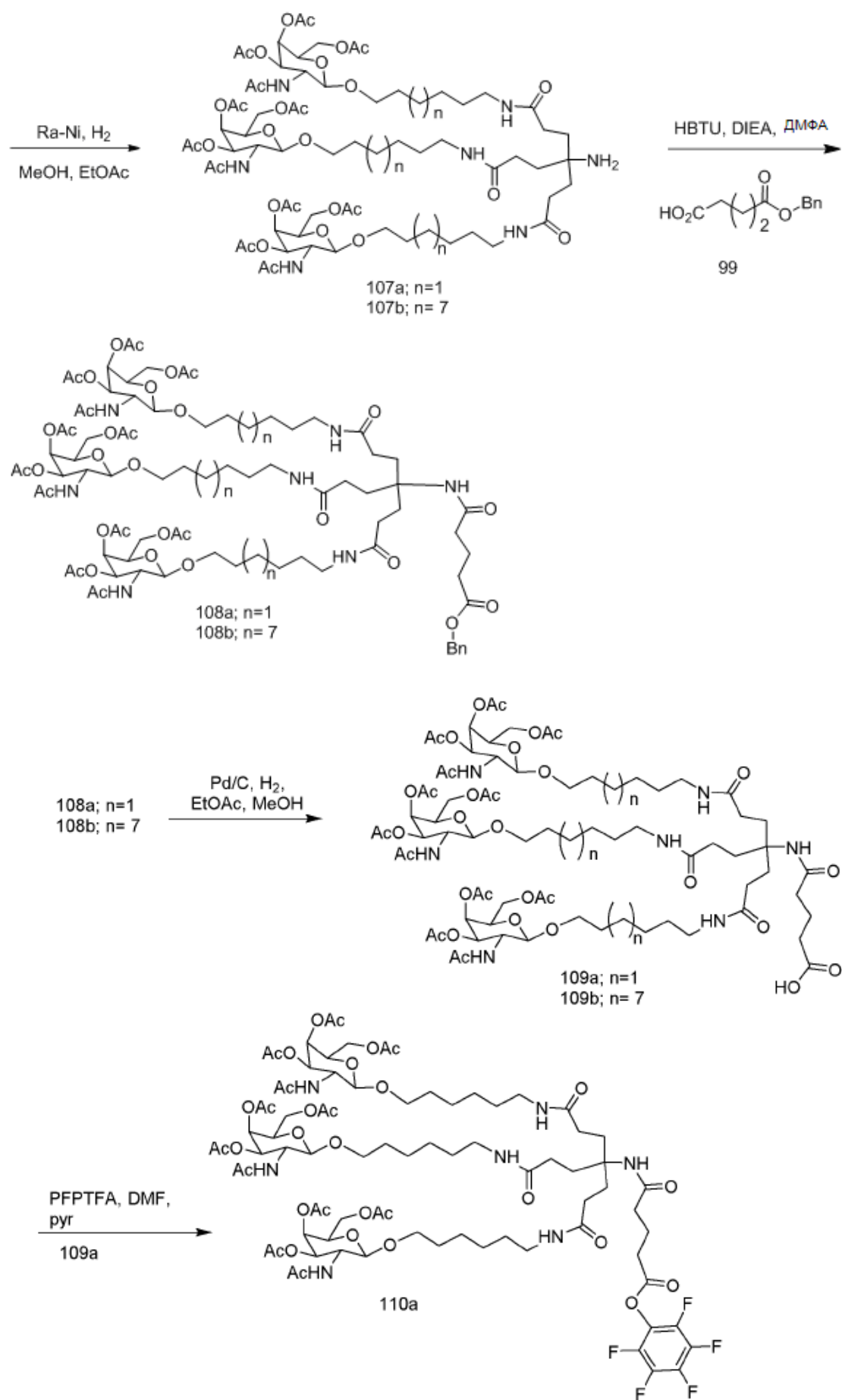
Таблиця 38

Вплив PO/PS лінкерів на рівні трансамінази ASO, які містять кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця, спрямованих на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Хімізм	SEQ ID NO
PBS	0	28,5	65	--	
353382 (вихідна)	3	50,25	89	Повністю PS, без кон'югату	829
	10	27,5	79,3		
	30	27,3	97		
655861	0,5	28	55,7	Повністю PS GalNAc ₃ -1	830
	1,5	30	78		
	5	29	63,5		
	15	28,8	67,8		
655862	0,5	50	75,5	Суміш PS/PO GalNAc ₃ -1	830
	1,5	21,7	58,5		
	5	29,3	69		
	15	22	61		

Приклад 45: Отримання PFP ефіру, Сполуки 110a





Сполуку 4 (9,5 г, 28,8 ммоль) обробили окремо сполукою 103а або 103b (38 ммоль) і TMSOTf

(0,5 екв.), і молекулярними ситами в дихлорметані (200 мл), і перемішували протягом 16 годин при кімнатній температурі. Потім органічний шар відфільтрували через целит, потім промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску.

5 Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (2 %→10 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 104a і 104b з виходом >80 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 104a і 104b обробили в тих-саме умовах, що і сполуки 100a-d (Приклад 47), з отриманням сполук 105a і 105b з виходом >90 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 105a і 105b окремо обробили сполукою 90 при тих-саме умовах, що і сполуки 901a-d, з отриманням сполуки 106a (80 %) і 106b (20 %). Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 106a і 106b обробили в тих-саме умовах, що і сполуки 96a-d (Приклад 47), з отриманням сполуки 107a (60 %) і 107b (20 %). Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

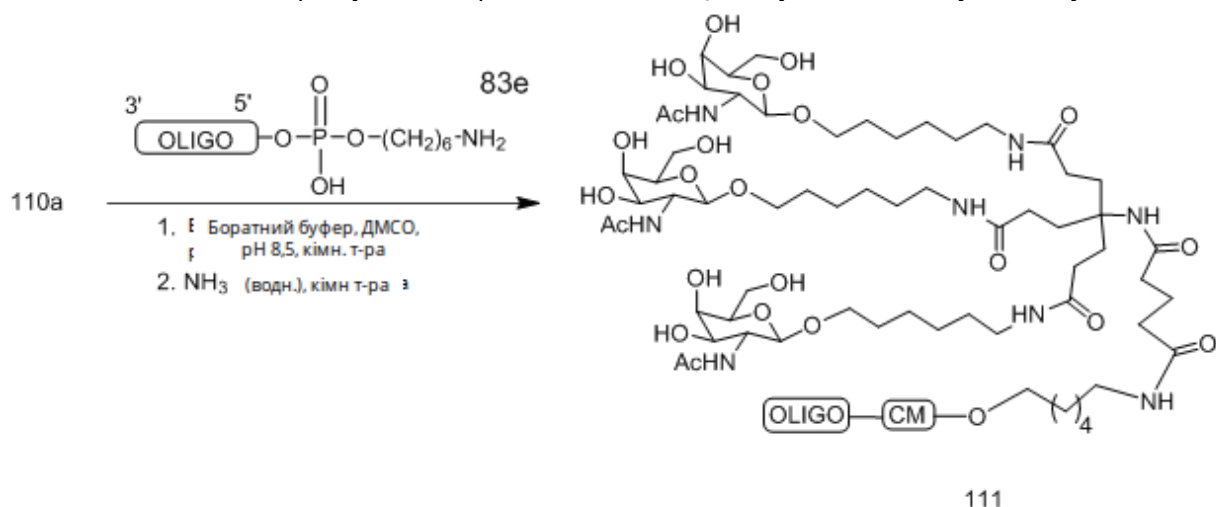
Сполуки 107a і 107b обробили в тих-саме умовах, що і сполуки 97a-d (Приклад 47), з отриманням сполук 108a та 108b з виходом 40-60 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 108a (60 %) і 108b (40 %) обробили в тих-саме умовах, що і сполуки 100a-d (Приклад 47), з отриманням сполук 109a і 109b з виходом >80 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 109a обробили в тих-саме умовах, що і сполуки 101a-d (Приклад 47), з отриманням сполуки 110a з виходом 30-60 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Альтернативно, Сполука 110b може бути отримана таким-саме чином, виходячи зі Сполуки 109b.

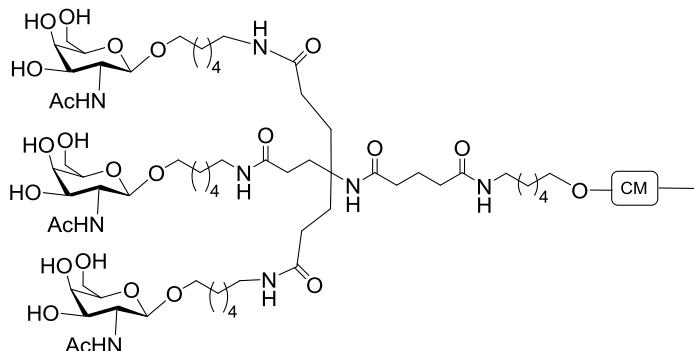
Приклад 46: Загальний спосіб сполучення з PFP ефірами (олігонуклеотид 111); отримання ISIS 666881 (GalNAc₃-10)

Синтезували та очистили 5'-гексиламіно-модифікований олігонуклеотид за стандартними способами твердофазного отримання олігонуклеотидів. 5'-Гексиламіно-модифікований олігонуклеотид розчинили в 0,1 М розчині тетраборату натрію, рН 8,5 (200 мкл) і додали 3 еквіваленти обраного PFP-естерифікованого кластеру GalNAc₃, розчиненого у ДМСО (50 мкл). Якщо при додаванні розчину ASO ефір PFP випадав в осад, то додавали ДМСО до переходу всього ефіру PFP у розчин. Реакція була завершена приблизно через 16 годин перемішування при кімнатній температурі. Отриманий розчин розбавили водою до 12 мл, а потім центрифугували при 3000 об./мін. у відцентровому фільтрі з відсіканням по масі 3000 Да. Цей прийом повторили два рази для видалення низькомолекулярних домішок. Потім розчин ліофілізували насухо і повторно розчинили в концентрованому водному розчині аміаку, і перемішували при кімнатній температурі протягом 2,5 годин, потім концентрували in vacuo для видалення більшої частини аміаку. Сполучений олігонуклеотид очистили і обессолили за допомогою ОФ-ВЕРХ, і ліофілізували з отриманням GalNAc₃ сполученого олігонуклеотиду.



Олігонуклеотид 111 зв'язаний з GalNAc₃-10. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-10 (GalNAc₃-10_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з

отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою- $P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-$, як показано нижче в олігонуклеотиді (ISIS 666881), синтезованому з $GaInAc_3-10$. Структура $GaInAc_3-10$ ($GaInAc_3-10_a-CM-$) представлена нижче:



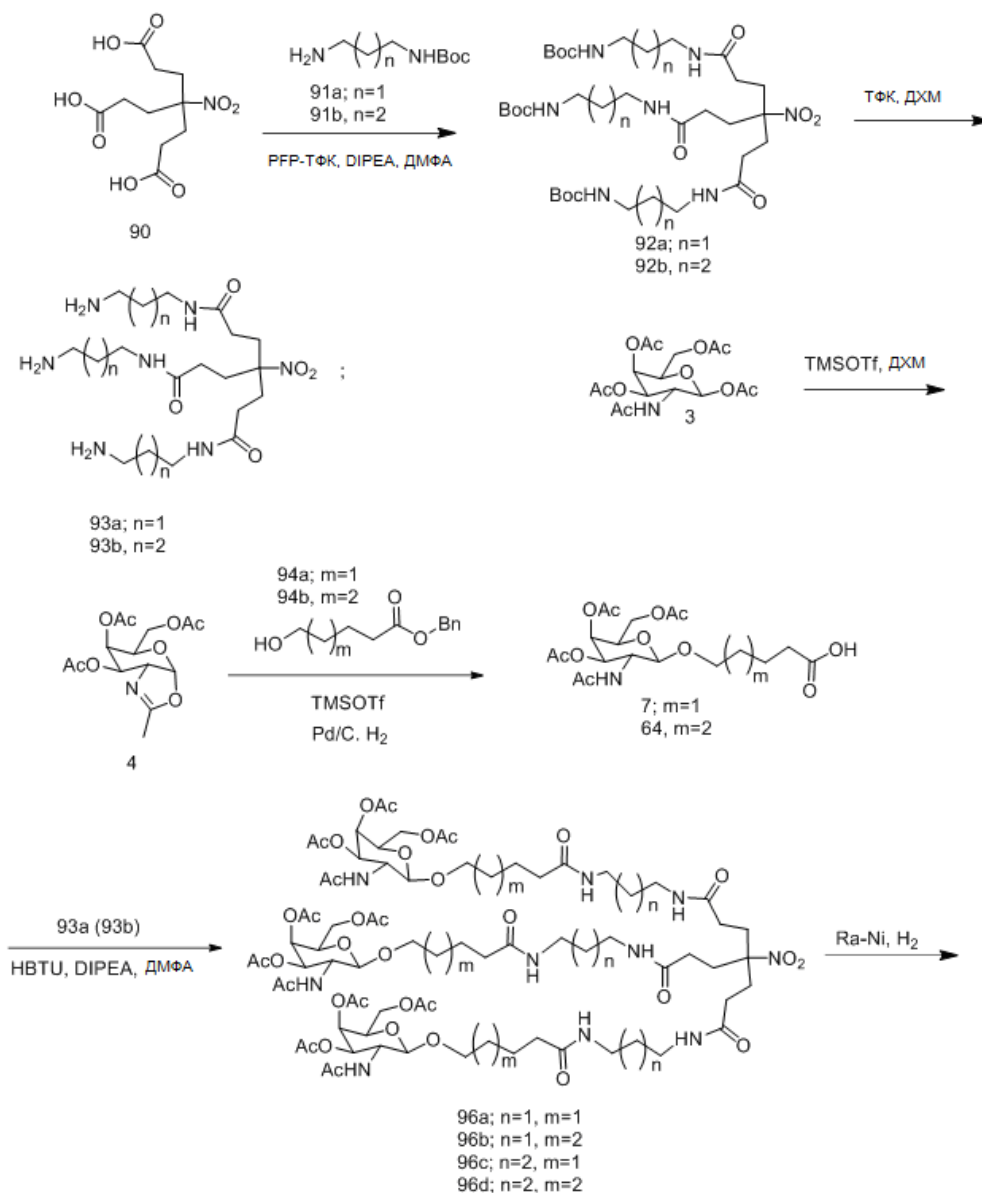
Вказаним загальним способом отримали ISIS 666881. Синтезували і очистили 5'-гексиламіно-модифікований олігонуклеотид, ISIS 660254, за стандартними способами твердофазного отримання олігонуклеотидів. ISIS 660254 (40 мг, 5,2 мкмоль) розчинили в 0,1 М розчині тетраборату натрію, рН 8,5 (200 мкл) і додали 3 еквівалента PFP ефіру (Сполука 110а), розчиненого в ДМСО (50 мкл). Ефір PFP випав в осад при додаванні розчину ASO, тому треба додавання додаткової кількості ДМСО (600 мкл) для повного розчинення PFP ефіру. Реакція була завершена через 16 годин перемішування при кімнатній температурі. Розчин розбавили водою до загального об'єму 12 мл, а потім центрифугували при 3000 об./мін. у відцентровому фільтрі з відсіканням по масі 3000 Да. Цей прийом повторили два рази для видалення низькомолекулярних домішок. Потім розчин ліофілізували насуху і повторно розчинили в концентрованому водному розчині аміаку, і перемішували при кімнатній температурі протягом 2,5 годин, потім концентрували in vacuo для видалення більшої частини аміаку. Спряжений олігонуклеотид очистили та обессолили за допомогою ОФ-ВЕРХ, і ліофілізували з отриманням ISIS 666881 з виходом 90 % по масі (42 мг, 4,7 мкмоль).

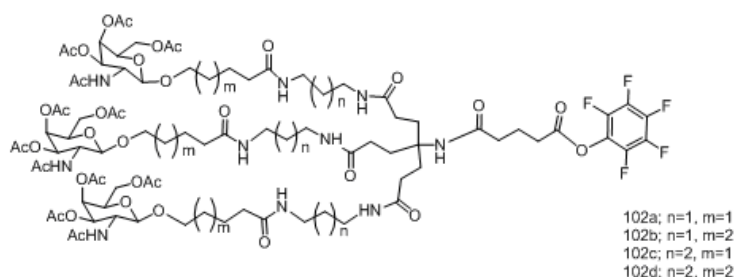
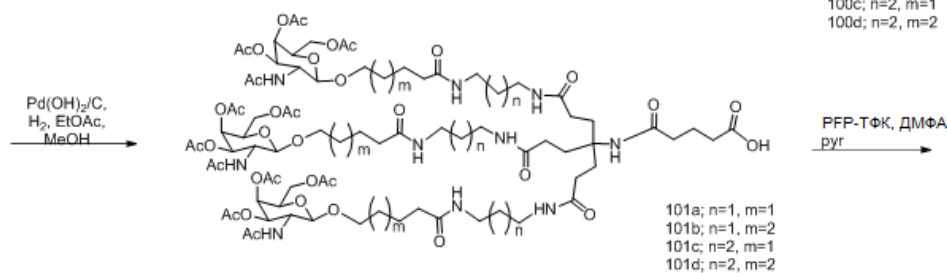
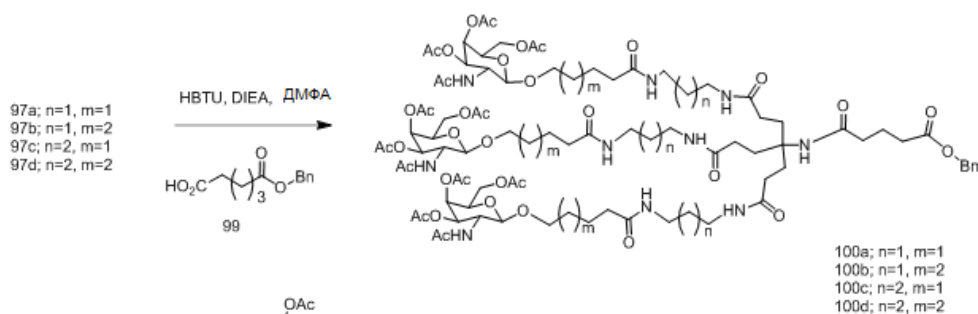
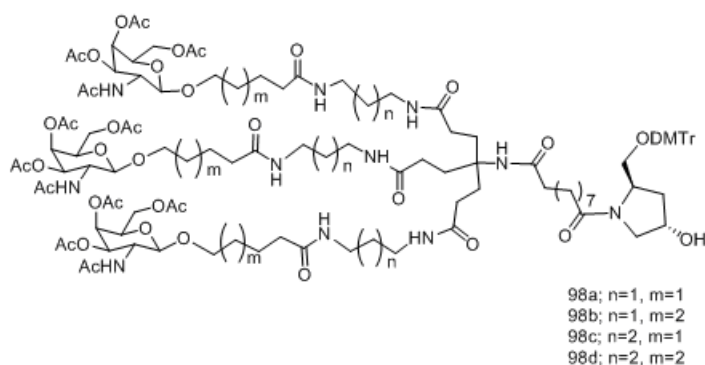
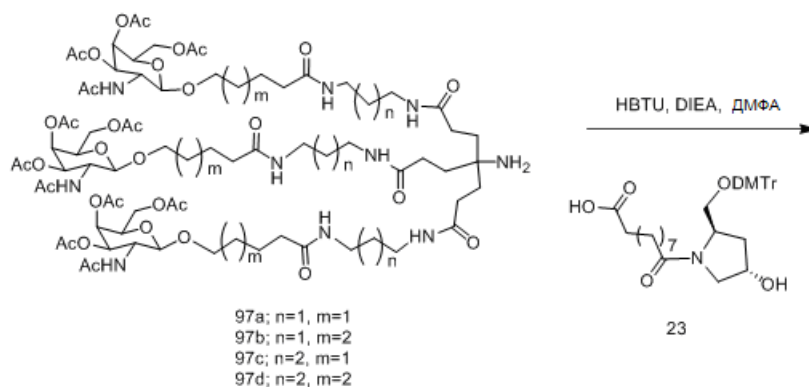
GalNAc₃-10-сполучений олігонуклеотид

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	5'-група	SEQ ID NO
ISIS 660254	$\text{NH}_2(\text{CH}_2)_{6-\text{o}}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	Гексиламін	831
ISIS 666881	$\text{GalNac}_3\text{-10}_{\text{a-o}}\text{A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{T}_{\text{es}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNac}_3\text{-10}$	831

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ¹³C означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o'" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

Приклад 47: Отримання олігонуклеотиду 102, який містить GalNAc₃-8





5 Трьохкислотну сполуку 90 (4 г, 14,43 ммоль) розчинили в ДМФА (120 мл) і N, N-діізопропілетіламіні (12,35 мл, 72 ммоль). По краплях додали пентафторфеніл трифторацетат (8,9 мл, 52 ммоль) в атмосфері аргону і залишили реакційну суміш перемішуватися при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Додали Вос-діамін 91а або 91b (68,87 ммоль) разом з N, N-діізопропілетіламіном (12,35 мл, 72 ммоль) і залишили реакційну суміш перемішуватися при кімнатній температурі протягом 16 годин. Потім упарили ДМФА на >75 % при зниженому

тиску, а потім розчинили суміш в дихлорметані. Органічний шар промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску до маслянистого залишку. Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (2 %→10 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 92a і 92b з приблизними виходом 80 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 92a або 92b (6,7 ммоль) обробляли 20 мл дихлорметану і 20 мл трифтороцтової кислоти при кімнатній температурі протягом 16 годин. Отриманий розчин випарували, а потім розчинили в метанолі та обробляли смолою DOWEX-OH протягом 30 хвилин. Отриманий розчин відфільтрували і упарили до маслянистої речовини при зниженому тиску з отриманням 85-90 % виходу сполук 93a і 93b.

Сполуки 7 або 64 (9,6 ммоль) обробляли НВТУ (3,7 м, 9,6 ммоль) і N, N-діізопропілетиламіном (5 мл) у ДМФА (20 мл) протягом 15 хвилин. До суміші додали або сполуку 93a, або 93b (3 ммоль) і залишили перемішуватися при кімнатній температурі на 16 годин. Потім упарили ДМФА на >75 % при зниженому тиску, а потім розчинили суміш у дихлорметані. Органічний шар промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску до маслянистого залишку. Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (5 %→20 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 96a-d з виходом 20-40 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

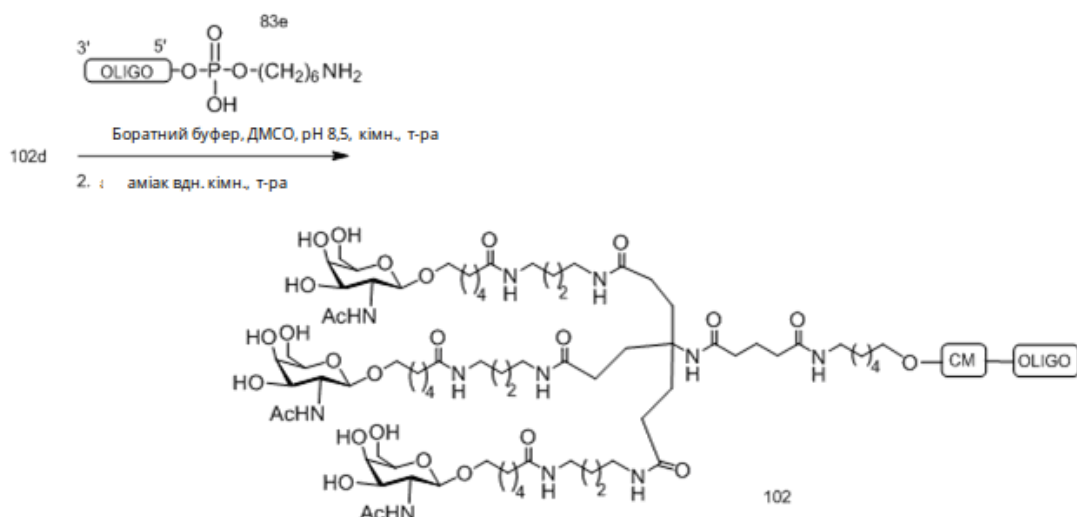
Сполуки 96a-d (0,75 ммоль) окремо гідризували на нікель Ренея протягом 3 годин в етанолі (75 мл). Потім каталізатор видалили фільтруванням через целит, а етанол видалили при зниженому тиску з отриманням сполук 97a-d з виходом 80-90 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 23 (0,32 г, 0,53 ммоль) обробляли НВТУ (0,2 г, 0,53 ммоль) і N, N-діізопропілетиламіном (0,19 мл, 1,14 ммоль) у ДМФА (30 мл) протягом 15 хвилин. До суміші окремо додали сполуки 97a-d (0,38 ммоль) і залишили перемішуватися при кімнатній температурі на 16 годин. Потім упарили ДМФА на >75 % при зниженому тиску, а потім розчинили суміш в дихлорметані. Органічний шар промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску до маслянистого залишку. Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (2 %→20 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 98a-d з виходом 30-40 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуку 99 (0,17 г, 0,76 ммоль) обробляли НВТУ (0,29 г, 0,76 ммоль) і N, N-діізопропілетиламіном (0,35 мл, 2,0 ммоль) у ДМФА (50 мл) протягом 15 хвилин. До суміші окремо додали сполуки 97a-d (0,51 ммоль) і залишили перемішуватися при кімнатній температурі на 16 годин. Потім упарили ДМФА на >75 % при зниженому тиску, а потім розчинили суміш в дихлорметані. Органічний шар промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску до маслянистого залишку. Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (5 %→20 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 100a-d з виходом 40-60 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

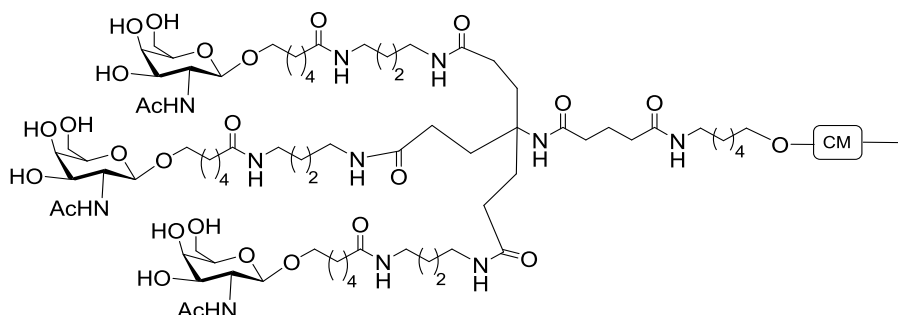
Сполуки 100a-d (0,16 ммоль) окремо гідризували на 10 % Pd(OH)₂/C протягом 3 годин у метанолі/етилацетаті (1:1, 50 мл). Потім каталізатор видалили фільтруванням через целит, а органічні розчинники видалили при зниженому тиску з отриманням сполук 101a-d з виходом 80-90 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Сполуки 101a-d (0,15 ммоль) окремо розчинили в ДМФА (15 мл) і піридині (0,016 мл, 0,2 ммоль). По краплях додали пентафторфеніл трифторацетат (0,034 мл, 0,2 ммоль) в атмосфері аргону і залишили реакційну суміш перемішуватися при кімнатній температурі протягом 30 хвилин. Потім упарили ДМФА на >75 % при зниженому тиску, а потім розчинили суміш в дихлорметані. Органічний шар промили бікарбонатом натрію, водою і насиченим сольовим розчином. Потім відокремили органічний шар і висушили над сульфатом натрію, відфільтрували та упарили при зниженому тиску до маслянистого залишку. Отриману маслянисту речовину очистили хроматографією на силікагелі (2 %→5 % метанол/дихлорметан) з отриманням сполук 102a-d з приблизними виходом 80 %. Дані РХМС та протонного ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

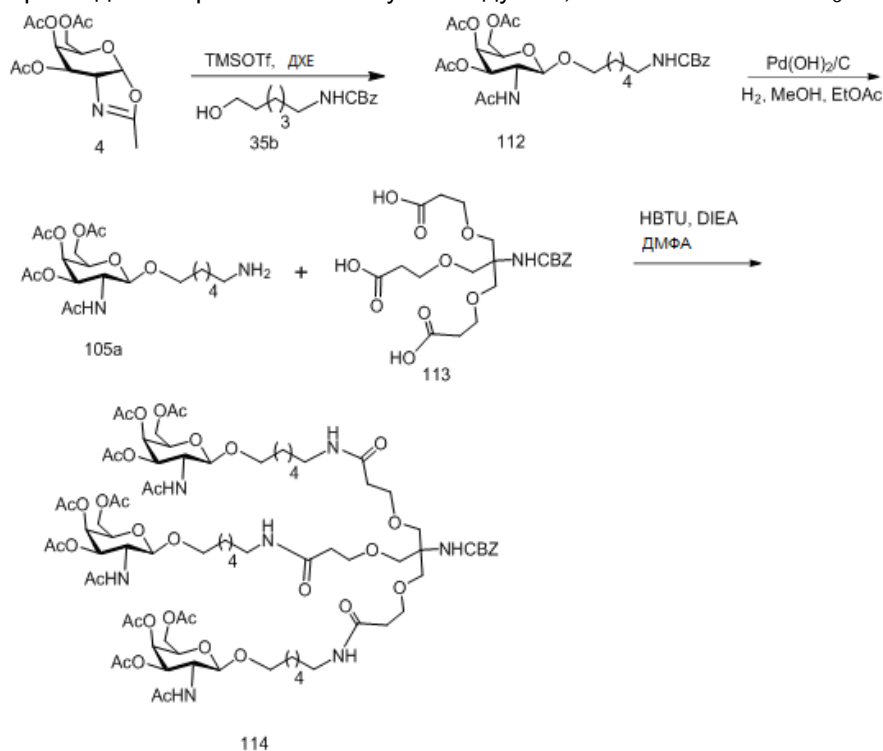


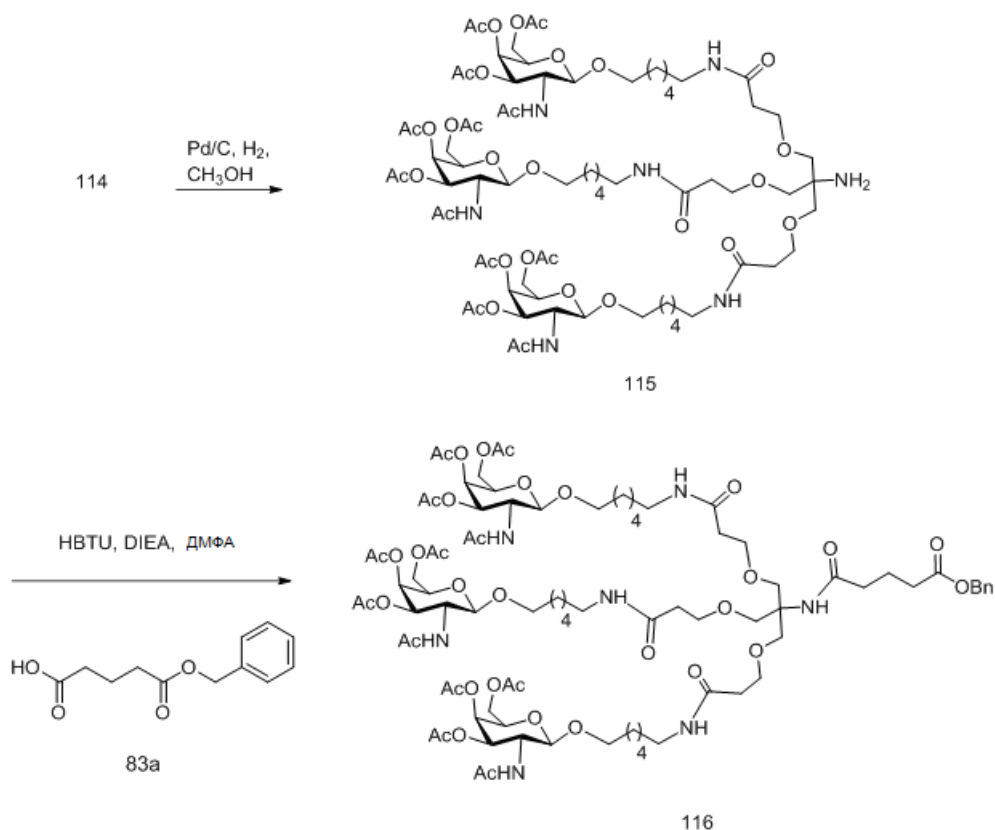
- Олігомерну сполуку 102, яка містить групу кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-8}$, отримали стандартними способами синтезу олігонуклеотидів проілюстровані у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc_3 групи кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-8}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-8}_a$) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У кращому варіанті реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою $\text{P(=O)(OH)-A}_d\text{-P(=O)(OH)-}$.

Структура $\text{GalNAc}_3\text{-8}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-8}_a\text{-CM-}$) представлена нижче:



- 10 Приклад 48: Отримання олігонуклеотиду 119, який містить $\text{GalNAc}_3\text{-7}$





Сполуку 112 синтезували способом, описаним в літературі (J. Med. Chem. 2004, 47, 5798-5808).

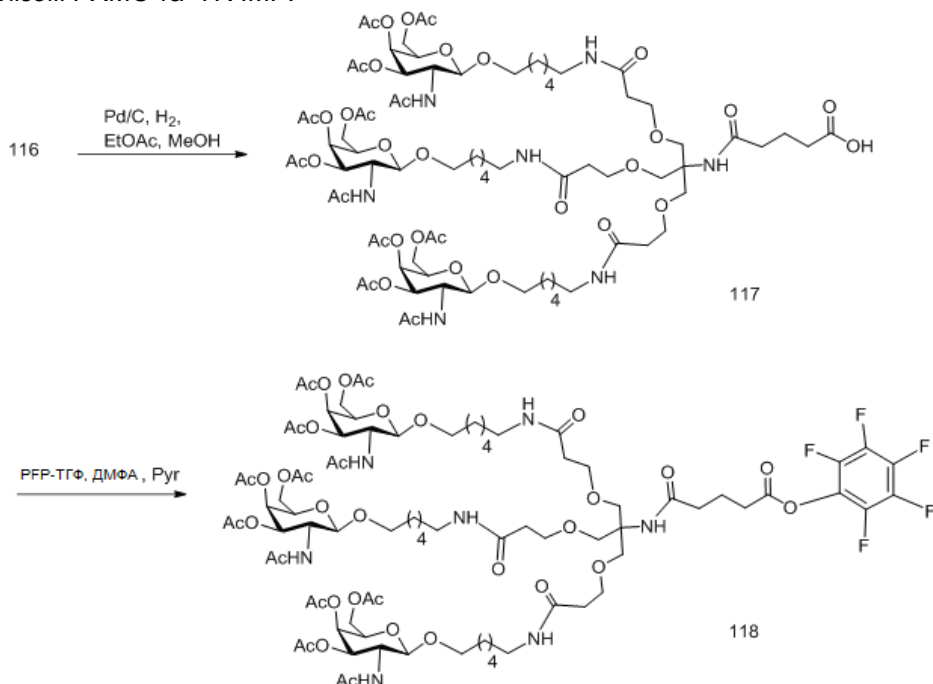
Сполуку 112 (5 г, 8,6 ммоль) розчинили в 1:1 суміші метанол/етилацетат (22 мл/22 мл). Додали гідроксид паладію на вуглєці (0,5 г). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері водню протягом 12 годин. Реакційну суміш відфільтрували через шар целиту і промили цей шар 1:1 сумішшю метанол/етилацетат. Фільтрат і промивні розчини об'єднали і концентрували насухо з отриманням Сполуки 105а (кількісно). Структуру підтвердили за допомогою РХМС.

Сполуку 113 (1,25 м, 2,7 ммоль), НВТУ (3,2 м, 8,4 ммоль) і DIEA (2,8 мл, 16,2 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (17 мл) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. До цієї суміші додали розчин Сполуки 105а (3,77 м, 8,4 ммоль) у безводному ДМФА (20 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Розчинник видалили при зниженому тиску з отриманням маслянистої речовини. Залишок розчинили в CH_2Cl_2 (100 мл) і промили насиченим водним розчином NaHCO_3 (100 мл) і насиченим сольовим розчином (100 мл). Органічну фазу відокремили, висушили (Na_2SO_4), відфільтрували і випарили. Залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією та елюїровали від 10 до 20 % MeOH у дихлорметані з отриманням Сполуки 114 (1,45 м, 30 %). Структуру підтвердили аналізом РХМС та ^1H ЯМР.

Сполуку 114 (1,43 г, 0,8 ммоль) розчинили в 1:1 суміші метанол/етилацетат (4 мл/4 мл). Додали паладій на вуглєці (вологий, 0,14 г). Реакційну суміш продували воднем і перемішували при кімнатній температурі в атмосфері водню протягом 12 годин. Реакційну суміш фільтрували через шар целіту. Шар целіту промили метанолом/етилацетатом (1:1). Фільтрат і промивні розчини об'єднали і випарували при зниженому тиску з отриманням Сполуки 115 (кількісно). Структуру підтвердили за допомогою аналізу РХМС і ^1H ЯМР.

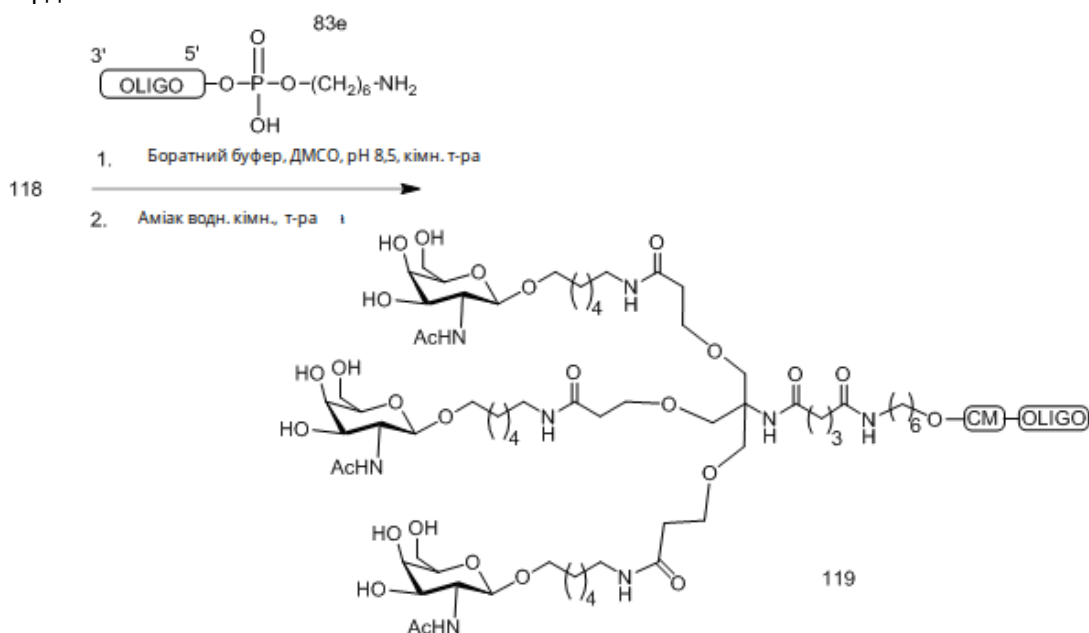
Сполуку 83а (0,17 г, 0,75 ммоль), НВТУ (0,31 г, 0,83 ммоль) і DIEA (0,26 мл, 1,5 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (5 мл) та реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. До цієї суміші додали розчин Сполуки 115 (1,22 м, 0,75 ммоль) у безводному ДМФА і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 6 годин. Розчинник видалили при зниженому тиску, а залишок розчинили в CH_2Cl_2 . Органічний шар промили насиченим водним розчином NaHCO_3 і насиченим сольовим розчином, і висушили на безводному Na_2SO_4 , та відфільтрували. Органічний шар концентрували насухо, а отриманий залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією та елюїровали від 3 до 15 %

MeOH у дихлорметані з отриманням Сполуки 116 (0,84 г, 61 %). Структуру підтвердили аналізом РХМС та ^1H ЯМР.



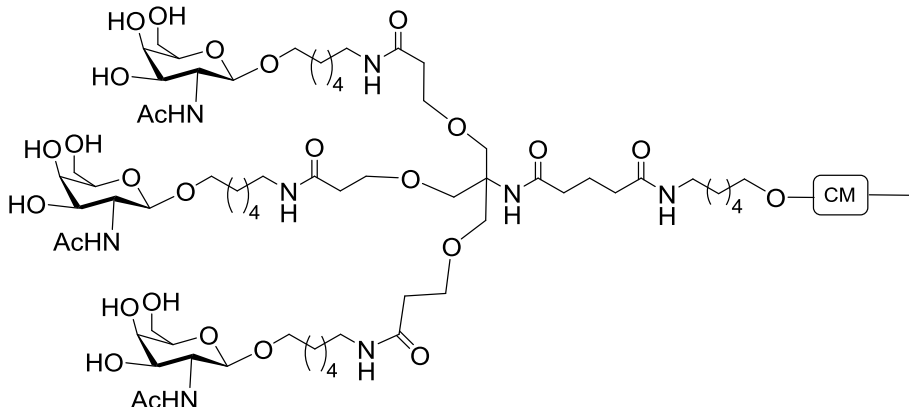
Сполуку 116 (0,74 г, 0,4 ммоль) розчинили в 1:1 суміші метанол/етилацетат (5 мл/5 мл). Додали паладій на вуглці (вологий, 0,074 р). Реакційну суміш продували воднем і перемішували при кімнатній температурі в атмосфері водню протягом 12 годин. Реакційну суміш фільтрували через шар целіту. Шар целіту промили метанолом/етилацетатом (1:1). Фільтрат і промивні розчини об'єднали і випарували при зниженому тиску з отриманням сполуки 117 (0,73 м, 98 %). Структуру підтвердили за допомогою аналізу РХМС і ^1H ЯМР.

Сполуку 117 (0,63 м, 0,36 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (3 мл). До цього розчину додали N, N-діізопропілетиламін (70 мкл, 0,4 ммоль) пентафторфенілу трифторацетат (72 мкл, 0,42 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 12 годин і вилили в насичений водний розчин NaHCO_3 . Суміш екстрагували дихлорметаном, промили насиченим сольовим розчином і висушили на безводному Na_2SO_4 . Дихлорметановий розчин концентрували насуху та очистили сілікагелевою колоночною хроматографією, та елюїровали від 5 до 10 % MeOH у дихлорметані з отриманням сполуки 118 (0,51 г, 79 %). Структуру підтвердили аналізом РХМС і ^1H ^{19}F ЯМР.

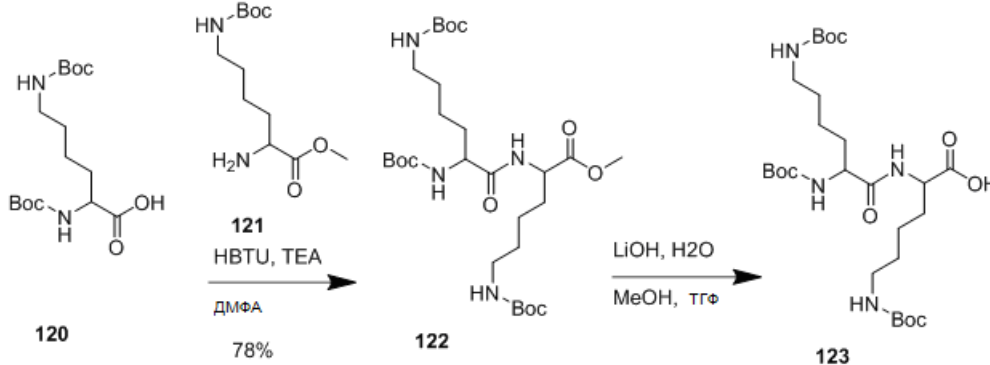


5

Структура GalNAc₃-7 (GalNAc₃-7-а-СМ-) представлена нижче:



Приклад 49: Отримання олігонуклеотиду 132, який містить GalNAc₃-5



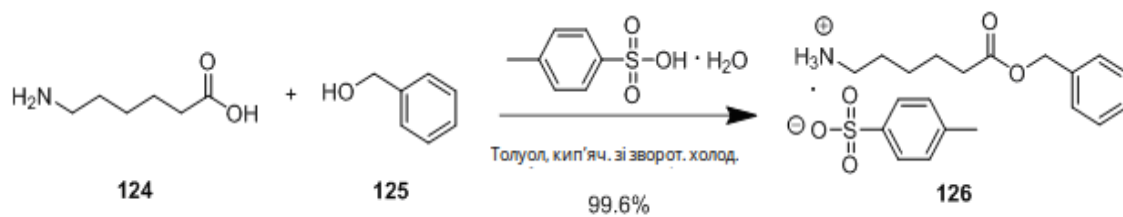
10

15

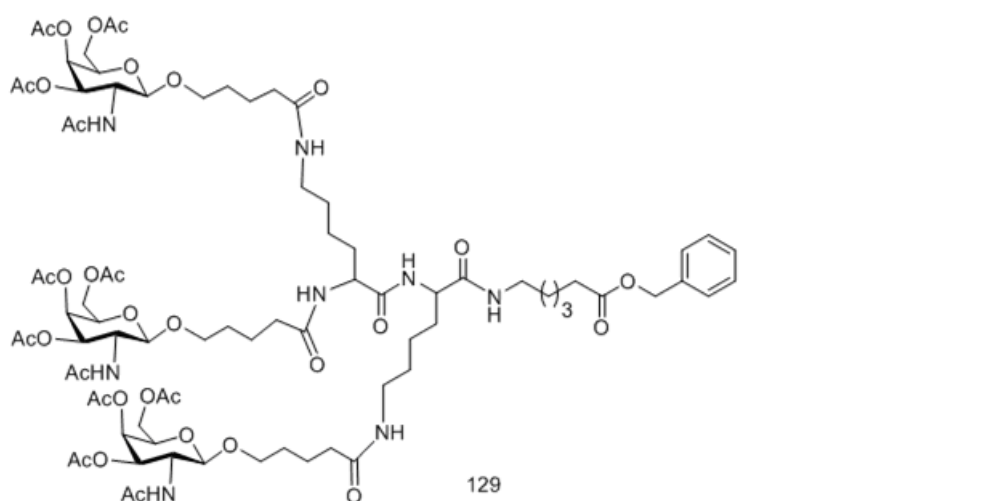
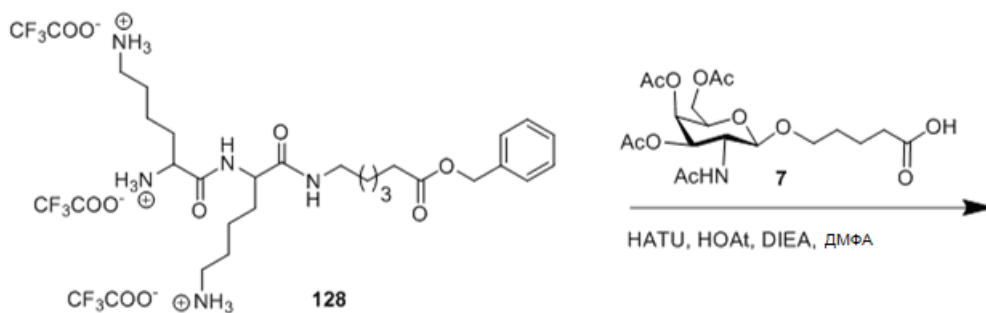
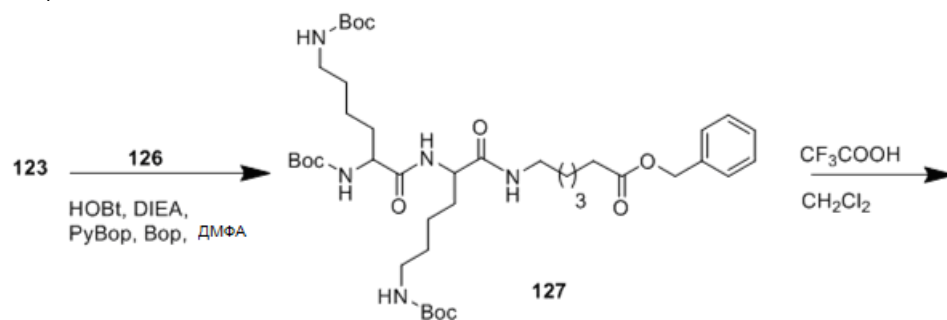
20

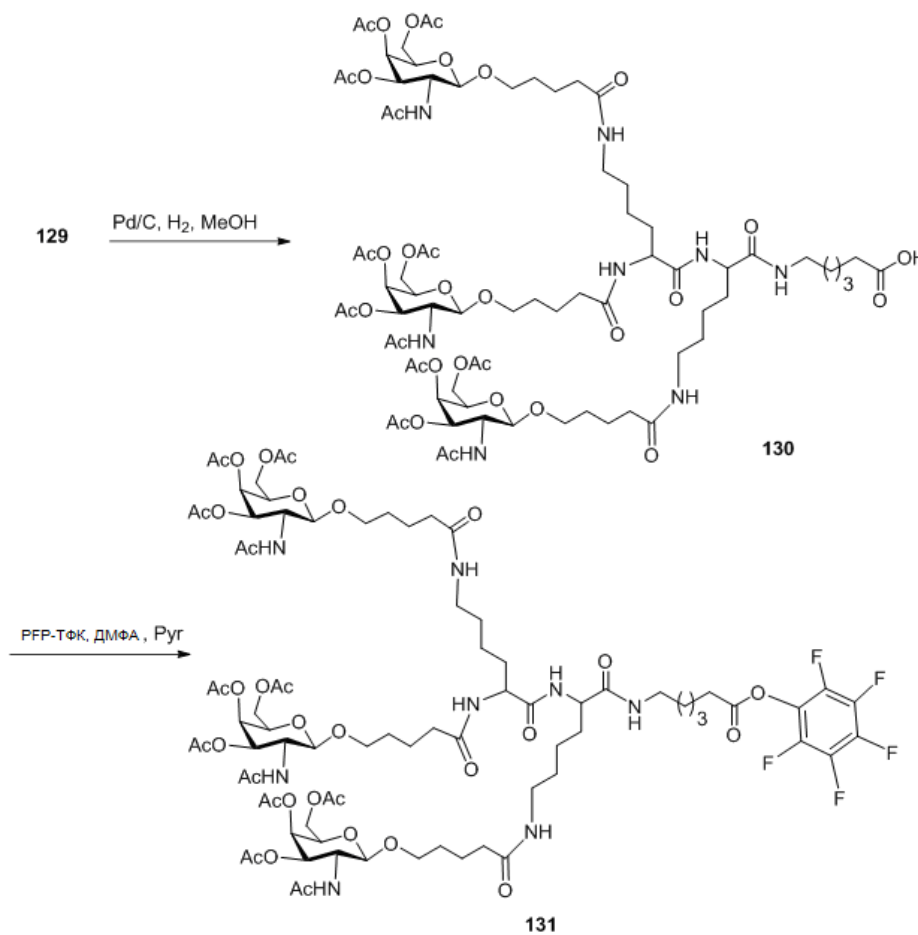
25

30



Сполуку 126 синтезували способом, описаним у літературі (J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 958-963).





Сполуку 123 (7,419 г, 12,91 ммоль), НОВт (3,49 г, 25,82 ммоль) і сполуку 126 (6,33 г, 16,14 ммоль) розчинили в ДМФА (40 мл), а отриману реакційну суміш охолодили на крижаній бані. До суміші додали N, N-діізопропілетиламін (4,42 мл, 25,82 ммоль), PyВор (8,7 г, 16,7 ммоль, потім Вор-зв'язувальний агент (1,17 г, 2,66 ммоль) в атмосфері аргону Крижану баню прибрали і залишили розчин нагріватися до кімнатної температури. Реакція була завершена через 1 годину, за результатами ТШХ (ДХМ:MeOH:AA; 89:10:1). Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску. Залишок розчинили в EtOAc (200 мл) і промили 1 М NaHSO₄ (3 × 100 мл), насиченим водним розчином NaHCO₃ (3 × 100 мл) і насиченим сольовим розчином (2 × 100 мл). Відокремлену органічну фазу висушили (Na₂SO₄), відфільтрували і концентрували. Залишок очистили хроматографією на сілікагелевій колонці з градієнтом від 50 % гексанів/EtOAc до 100 % EtOAc з отриманням Сполуки 127 (9,4 г) у вигляді білої пінистої речовини. Дані РХМС і ¹Н ЯМР узгоджувалися зі структурою. Маса m/z 778,4 [M+H]⁺.

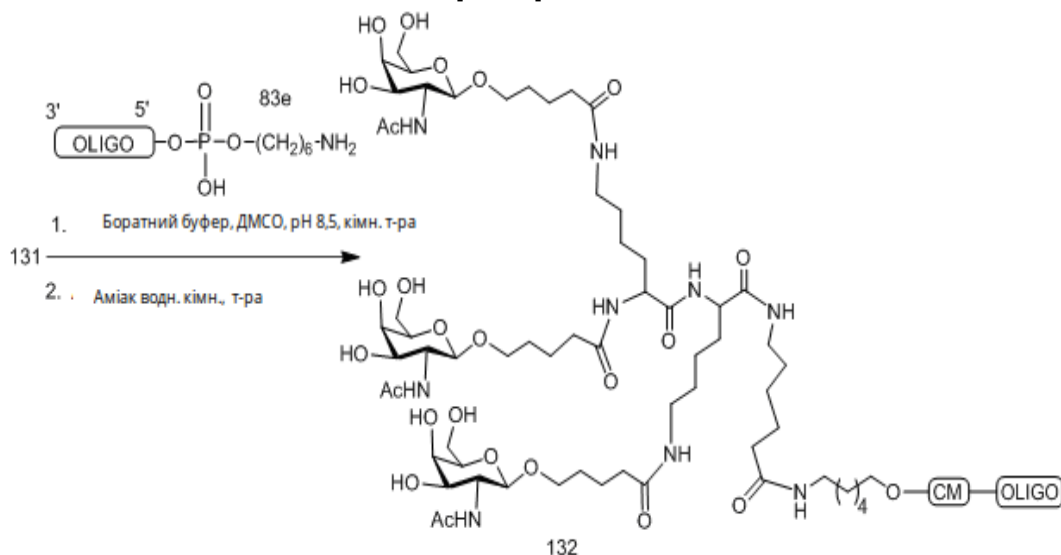
Трифтороцтову кислоту (12 мл) додали до розчину сполуки 127 (1,57 г, 2,02 ммоль) у дихлорметані (12 мл) і перемішували при кімнатній температурі протягом 1 години. Реакційну суміш випарували спільно з толуолом (30 мл) при зниженому тиску насухо. Отриманий залишок два рази спільно випарували ацетонітрилом (30 мл) і толуолом (40 мл) з отриманням Сполуки 129 (1,67 г) у вигляді трифторацетатної солі і використовували для наступної стадії без додаткової очистки. Дані РХМС і ¹Н ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Маса m/z 478,2 [M+H]⁺.

Сполуку 7 (0,43 г, 0,963 ммоль), НАТУ (0,35 г, 0,91 ммоль) НОAt (0,035 г, 0,26 ммоль) об'єднали і висушували протягом 4 годин Р₂O₅ при зниженому тиску в круглодонній колбі, а потім розчинили в безводному ДМФА (1 мл) і перемішували протягом 5 хвилин. До отриманої суміші додали розчин сполуки 128 (0,20 г, 0,26 ммоль) у безводному ДМФА (0,2 мл) і N, N-діізопропілетиламіні (0,2 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері аргону. Реакція була завершена через 30 хвилин, за даними РХМС і ТШХ (7 % MeOH/ДХМ). Реакційну суміш концентрували при зниженому тиску. Залишок розчинили в ДХМ (30 мл) і промили 1 М NaHSO₄ (3 × 20 мл), насиченим водним розчином NaHCO₃ (3 × 20 мл) і насиченим сольовим розчином (3 × 20 мл). Органічну фазу відокремили, висушили над Na₂SO₄, відфільтрували і концентрували. Залишок очистили колонковою хроматографією на силікагелі,

використовуючи 5-15 % MeOH у дихлорметані, з отриманням Сполуки 129 (96,6 мг). Дані РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися зі структурою. Маса m/z 883,4 $[\text{M}+2\text{H}]^+$.

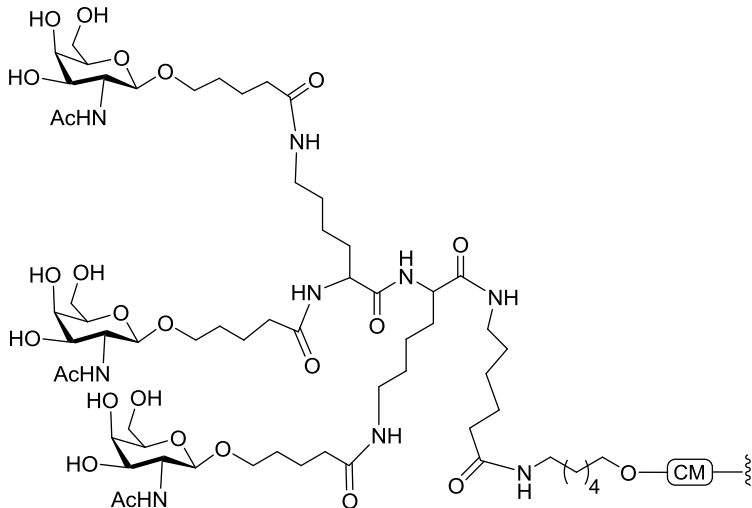
Сполуку 129 (0,09 г, 0,051 ммоль) розчинили в метанолі (5 мл) у сцинтиляційній пробірці обсягом 20 мл. До суміші додали невелику кількість 10 % Pd/C (0,015 мг) і продували реакційний посудину газоподібним H_2 . Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері H_2 протягом 18 годин. Реакційну суміш відфільтрували через шар целіту і промили шар целіту метанолом. Фільтрат і промивні розчини злили разом і концентрували при зниженому тиску з отриманням Сполуки 130 (0,08 м). Дані РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Продукт використовували без додаткового очищення. Маса m/z 838,3 $[\text{M}+2\text{H}]^+$.

У конічну круглодонну колбу об'ємом 10 мл додали сполуку 130 (75,8 мг, 0,046 ммоль), 0,37 М піридин/ДМФА (200 мкл) і мішалку. До цього розчину по краплях додали 0,7 М пентафторфенілтрифторацетат/ДМФА (100 мкл) при перемішуванні. За даними РХМС реакція була завершена через 1 годину. Розчинник видалили при зниженому тиску і розчинили залишок у CHCl_3 (~ 10 мл). Органічний шар розділили між NaHSO_4 (1 М, 10 мл), насиченим водним розчином NaHCO_3 (10 іл) і насиченим сольовим розчином (10 мл), з кожним розчином по три рази. Органічну фазу відокремили і висушили над Na_2SO_4 , відфільтрували і концентрували з отриманням Сполуки 131 (77,7 мг). РХМС узгоджувався зі структурою. Використовували без додаткового очищення. Маса m/z 921,3 $[\text{M}+2\text{H}]^+$.

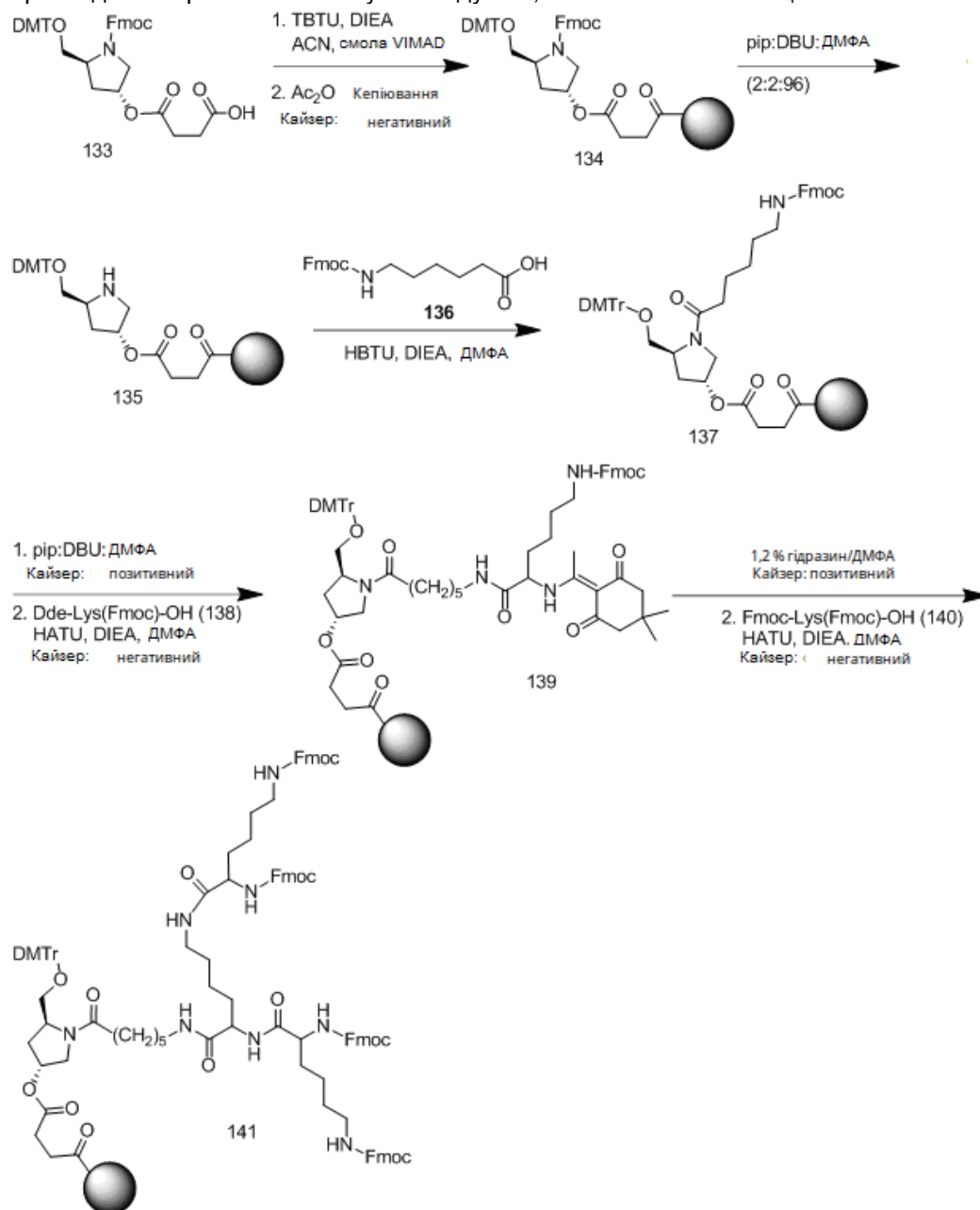


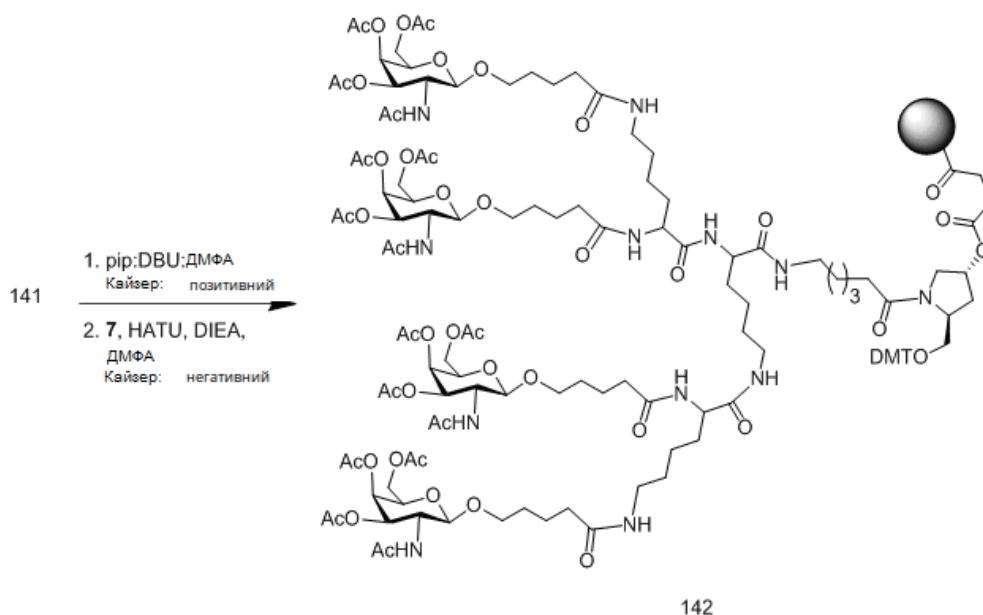
Олігомерну Сполуку 132, яка містить групу кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-5}$, отримали загальним способом, представленим у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc_3 групи кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-5}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-5}_a$) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$.

Структура $\text{GalNAc}_3\text{-5}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-5}_a\text{-CM-}$) представлена нижче:



Приклад 50: Отримання олігонуклеотиду 144, який містить GalNAc₄-11

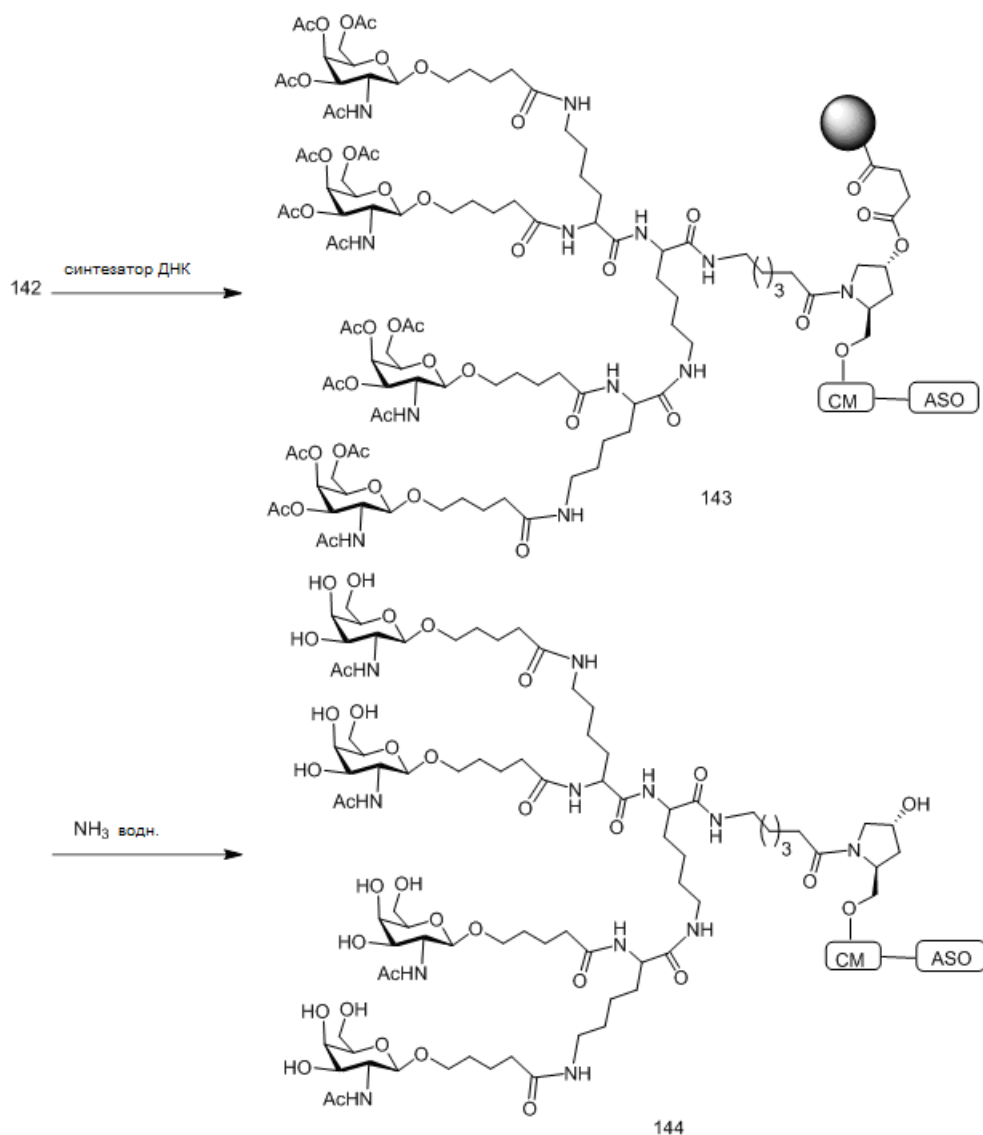




Синтез Сполуки 134. У колбу Меррифільда додали амінометилкову смолу VIMAD (2,5 г, 450 мкмоль/р), яку промили ацетонітрилом, диметилформамідом, дихлорметаном і ацетонітрилом. Смола залишили набухати в ацетонітрилі (4 мл). Сполуку 133 попередньо активували в 100 мл круглодонній колбі шляхом додавання 20 (1,0 ммоль, 0,747 р), TBTU (1,0 ммоль, 0,321 р), ацетонітрилу (5 мл) і DIEA (3,0 ммоль, 0,5 мл). Цей розчин залишили перемішуватися на 5 хвилин, а потім додали в колбу Меррифільда при струшуванні. Суспензію залишили струшуватися на 3 години. Реакційну суміш злили, а смолу промили ацетонітрилом, ДМФА і ДХМ. Заповнення нової смоли кількісно визначили для вимірювання абсорбції DMT катіона при 500 нм (коефіцієнт екстинкції = 76000) в ДХМ, яка склала 238 мкмоль/р. Смола кепували триразовим суспендуванням в розчині оцтового ангідриду протягом десяти хвилин.

Сполуку 141, зв'язану з твердою підкладкою, синтезували багаторазовим повторенням способів твердофазного синтезу пептидів за допомогою Fmoc. Взяли невелику кількість твердої підкладки і суспендували у водному розчині аміаку (28-30 мас. %) протягом 6 годин. Розщеплену сполуку аналізували за РХ-МС і спостерігали, що маса узгоджується зі структурою. Маса m/z 1063,8 $[M+2H]^+$.

Сполуку 142, зв'язану з твердою підкладкою, синтезували способами твердофазного синтезу пептидів.

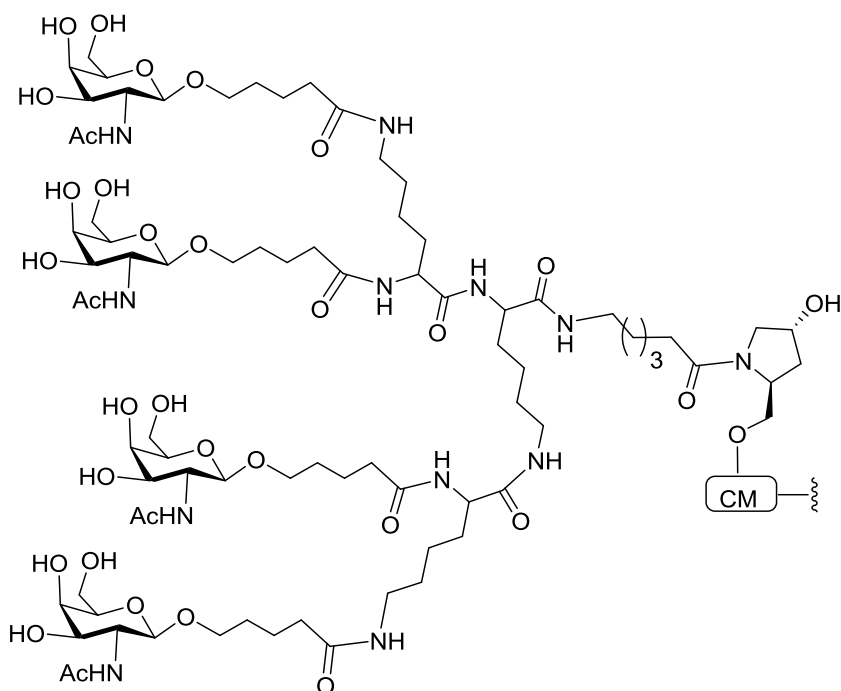


Сполуку 143, зв'язану з твердою підкладкою, синтезували за допомогою стандартного твердофазного синтезу на ДНК синтезаторі.

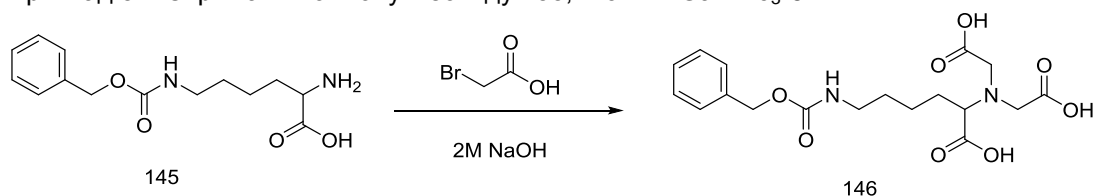
Сполуку 143, зв'язану з твердою підкладкою, суспендували у водному аміаку (28-30 мас. %) і нагрівали при 55 °С протягом 16 годин. Розчин охолодили, а тверду підкладку відфільтрували. Фільтрат концентрували, а залишок розчинили у воді та очистили за допомогою ВЕРХ на сильній аніонообмінній колонці. Фракції, що містять сполуку 144 повної довжини, злили разом і обессолили. Отриману GalNAc₄-11-сполучену олігомерну сполуку аналізували за допомогою РХ-МС і спостерігали, що маса узгоджується зі структурою.

Кластерна частина GalNAc₄ групи кон'югату GalNAc₄-11 (GalNAc₄-11_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-.

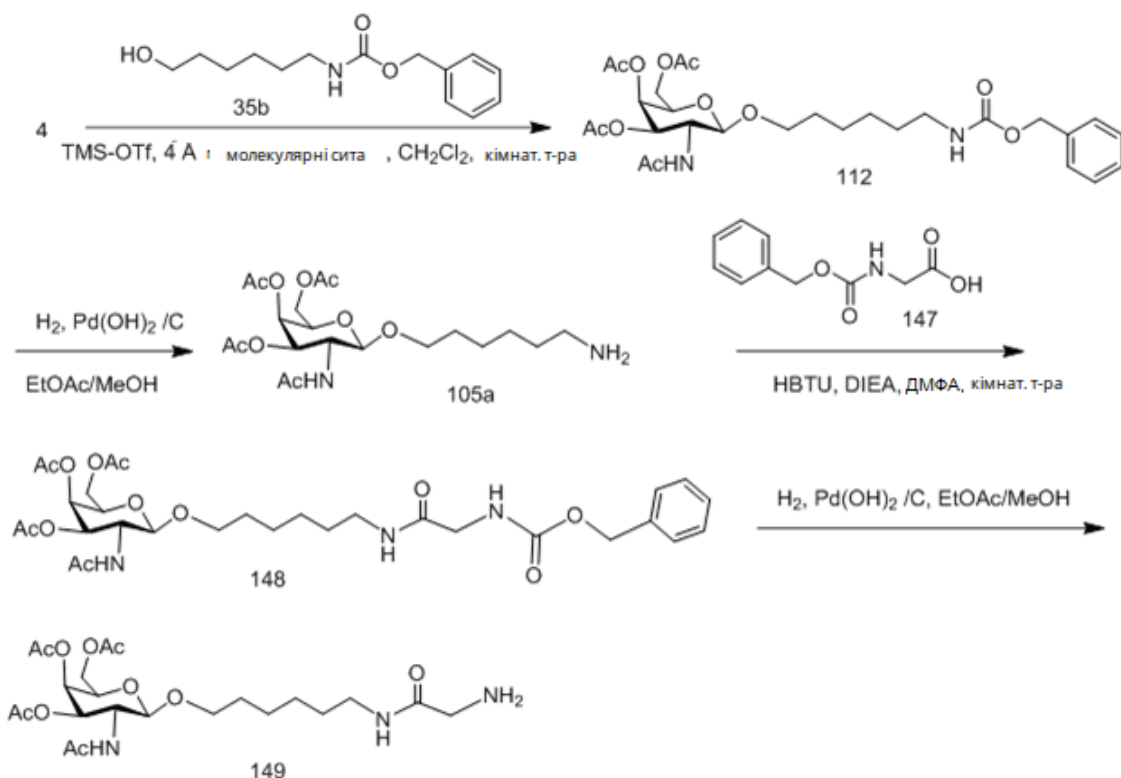
Структура GalNAc₄-11 (GalNAc₄-11_a-CM) представлена нижче:



Приклад 51: Отримання олігонуклеотиду 155, містить GalNAc₃-6



5 60). Сполуку 146 синтезували так, як описано в літературі (Analytical Biochemistry 1995, 229, 54-60).



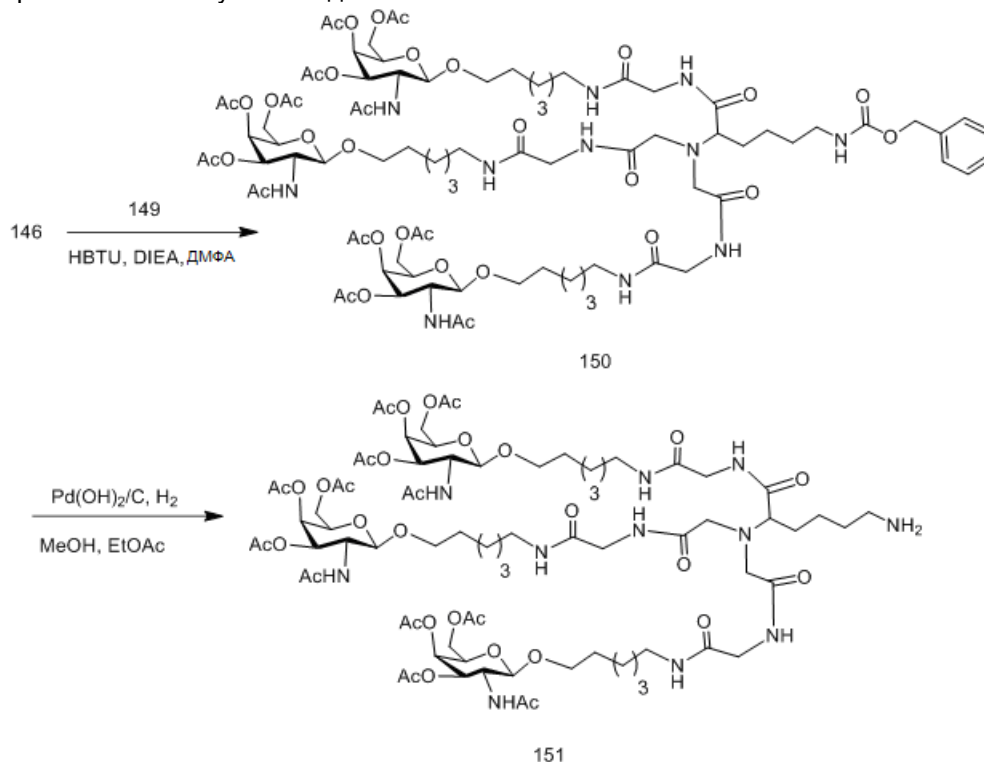
Сполуку 4 (15 р, 45,55 ммоль) і сполуку 35b (14,3 грам, 57 ммоль) розчинили в CH₂Cl₂ (200 мл). Додали активовані молекулярні сита (4 Å, 2 м, порошкоподібні) і залишили реакційну суміш перемішуватися протягом 30 хвилин в атмосфері азоту. Додали TMS-OTf (4,1 мл, 22,77 ммоль) і

залишили реакційну суміш перемішуватися при кімнатній температурі протягом ночі. Після завершення реакції суміш погасили, виливши в насичений водний розчин NaHCO_3 (500 мл) з подрібненим льодом (~ 150 г). Органічний шар відокремили, промили насиченим сольовим розчином, висушили над MgSO_4 , відфільтрували і концентрували до помаранчевої маслянистої речовини при зниженому тиску. Неочищений матеріал очистили сілікагелевою колонковою хроматографією і елюїровали 2-10 % MeOH CH_2Cl_2 з отриманням Сполуки 112 (16,53 м, 63 %). РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися з очікуваною сполукою.

Сполуку 112 (4,27 м, 7,35 ммоль) розчинили в 1:1 MeOH/EtOAc (40 мл). Реакційну суміш очистили пропусканням потоку аргону через розчин протягом 15 хвилин. Додали каталізатор Перлмана (гідроксид паладію на вуглеці, 400 мг) і пропускали через розчин газоподібний водень протягом 30 хвилин. Після завершення (ТШХ, 10 % MeOH CH_2Cl_2 , і РХМС), каталізатор видалили фільтруванням через шар целіту. Фільтрат концентрували на ротаційному випарнику і швидко висушили під значним вакуумом з отриманням Сполуки 105a (3,28 м). Дані РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися з заданим продуктом.

Сполуку 147 (2,31 г, 11 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (100 мл). Додали N, N-діізопропілетиламін (DIEA, 3,9 мл, 22 ммоль), потім HBTU (4 г, 10,5 ммоль). Реакційну суміш залишили перемішуватися протягом ~15 хвилин в атмосфері азоту. До цієї суміші додали розчин сполуки 105a (3,3 г, 7,4 ммоль) у сухому ДМФА і перемішували протягом 2 годин в атмосфері азоту. Реакційну суміш розбавили EtOAc і промили насиченим водним розчином NaHCO_3 і насиченим сольовим розчином. Органічну фазу відокремили, висушили (MgSO_4), відфільтрували і концентрували до помаранчевої сиропоподібної речовини. Неочищений матеріал очистили колонковою хроматографією і елюїровали 2-5 % MeOH CH_2Cl_2 з отриманням сполуки 148 (3,44 г, 73 %). РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися з очікуваним продуктом.

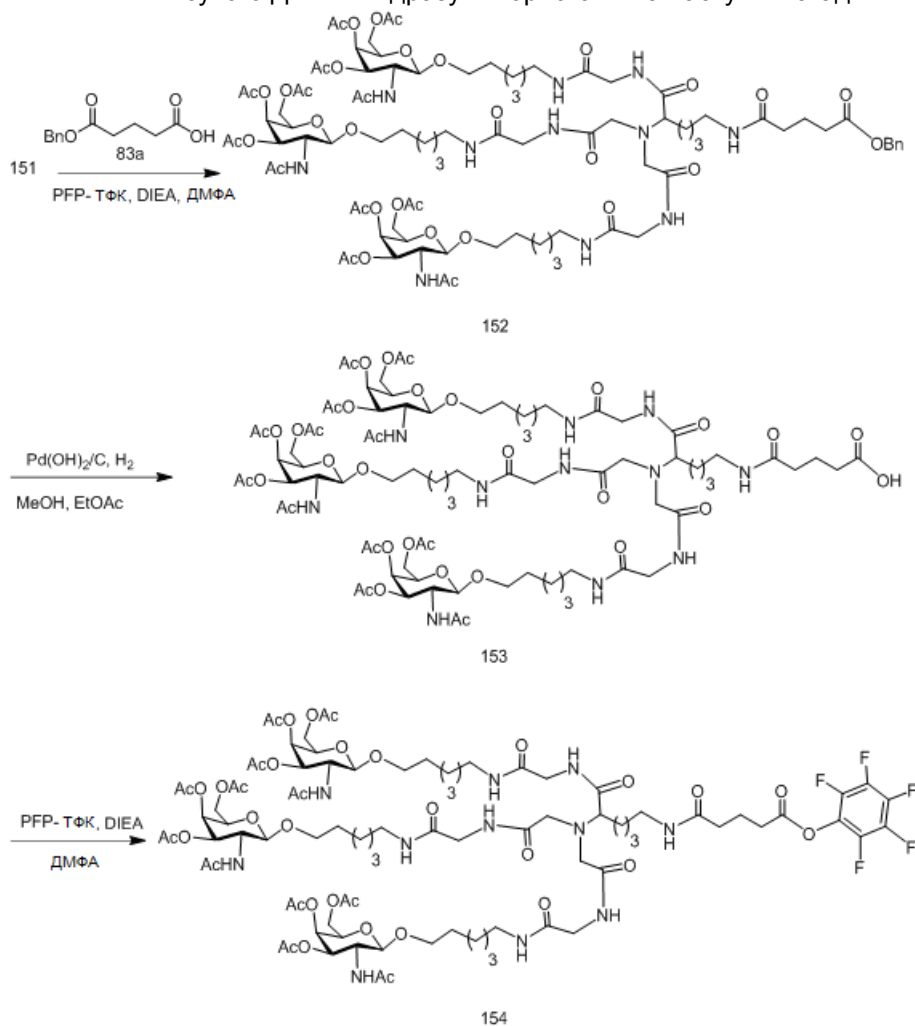
Сполуку 148 (3,3 г, 5,2 ммоль) розчинили в 1:1 MeOH/EtOAc (75 мл). Реакційну суміш очистили пропусканням потоку аргону через розчин протягом 15 хвилин. Додали каталізатор Перлмана (гідроксид паладію на вуглеці) (350 мг). Через розчин продували газоподібний водень протягом 30 хвилин. Після завершення (ТШХ, 10 % MeOH у ДХМ, і РХМС), каталізатор видалили фільтруванням через шар целіту. Фільтрат концентрували на ротаційному випарнику і швидко висушили під значним вакуумом з отриманням Сполуки 149 (2,6 м). Дані РХМС узгоджувалися з заданим продуктом. Залишок розчинили в сухому ДМФА (10 мл) і відразу використали на наступній стадії.



Сполуку 146 (0,68 г, 1,73 ммоль) розчинили в сухому ДМФА (20 мл). До нього додали DIEA (450 мкл, 2,6 ммоль, 1,5 екв.) та HBTU (1,96 г, 0,52 ммоль). Реакційну суміш залишили перемішуватися протягом 15 хвилин при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Додали розчин сполуки 149 (2,6 м) у безводному ДМФА (10 мл). рН реакційної суміші довели до рН = 9-

10 додаванням DIEA (при необхідності). Реакційну суміш залишили перемішуватися протягом 2 годин при кімнатній температурі в атмосфері азоту. Після завершення реакції суміш розбавили EtOAc (100 мл) і промили насиченим водним раствором NaHCO_3 , потім насиченим сольовим розчином. Органічну фазу відокремили, висушили над MgSO_4 , відфільтрували і концентрували. Залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією і елюювали 2-10 % MeOH CH_2Cl_2 з отриманням Сполуки 150 (0,62 г, 20 %). РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися з заданим продуктом.

Сполуку 150 (0,62 г) розчинили в 1:1 MeOH/EtOAc (5 л). Реакційну суміш очистили пропусканням потоку аргону через розчин протягом 15 хвилин. Додали каталізатор Перлмана (гідроксид паладію на вуглєці) (60 мг). Через розчин продували газоподібний водень протягом 30 хвилин. Після завершення (ТШХ, 10 % MeOH у ДХМ, і ЖХМС), каталізатор видалили фільтруванням (тефлоновий фільтр з перехідною канюлею шприца, 0,45 мкм). Фільтрат концентрували на ротаційному випарнику і швидко висушили під високим вакуумом з отриманням Сполуки 151 (0,57 г). Дані РХМС узгоджувалися з заданим продуктом. Продукт розчинили в 4 мл сухого ДМФА і відразу використали на наступній стадії.



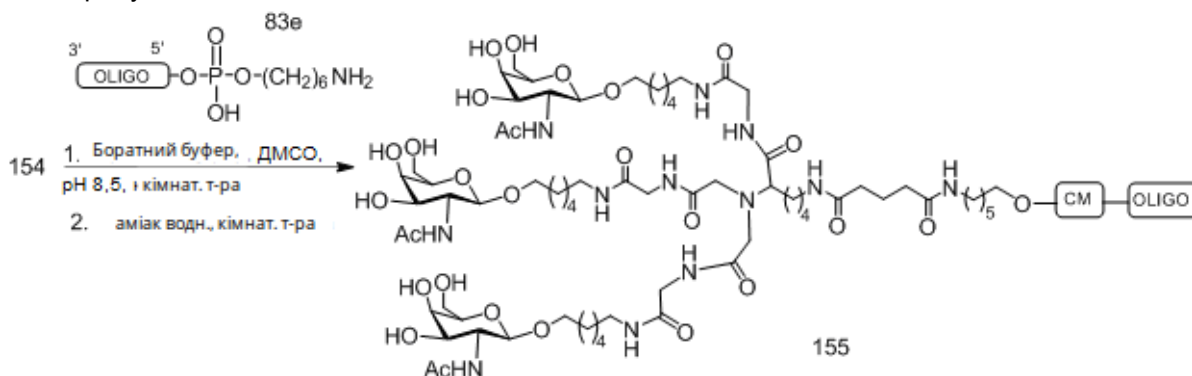
Сполуку 83a (0,11 г, 0,33 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (5 мл) і додали N, N-діізопропілетиламін (75 мкл, 1 ммоль) і PFP-TfK (90 мкл, 0,76 ммоль). При зіткненні реакційна суміш стала пурпурою і поступово змінила колір на помаранчевий протягом наступних 30 хвилин. Хід реакції контролювали за ТШХ і РХМС. Після завершення утворення ефіру PFP) додали розчин сполуки 151 (0,57 г, 0,33 ммоль) у ДМФА. pH реакційної суміші довели до pH = 9-10 додаванням N, N-діізопропілетиламіну (при необхідності). Реакційну суміш перемішували в атмосфері азоту протягом ~ 30 хвилин. Після завершення реакції більшу частину розчинника видалили при зниженому тиску. Залишок розбавили CH_2Cl_2 і промили насиченим водним розчином NaHCO_3 , потім насиченим сольовим розчином. Органічну фазу відокремили, висушили над MgSO_4 , відфільтрували і концентрували до помаранчевої сиропоподібної речовини. Залишок очистили колонковою хроматографією на силікагелі (2-10 % MeOH CH_2Cl_2) з отриманням Сполуки 152 (0,35 г, 55 %). РХМС і ^1H ЯМР узгоджувалися з заданим продуктом.

Сполуку 152 (0,35 г, 0,182 ммоль) розчинили в 1:1 MeOH/EtOAc (10 мл). Реакційну суміш очистили пропусканням потоку аргону через розчин протягом 15 хвилин. Додали каталізатор Перлмана (гідроксид паладію на вугліці) (35 мг). Через розчин продували газоподібний водень протягом 30 хвилин. Після завершення (ТШХ, 10 % MeOH у ДХМ, і РХМС), каталізатор

5 видалили фільтруванням (тефлоновий фільтр із перехідною канюлею шприца, 0,45 мкм). Фільтрат концентрували на ротаційному випарнику і швидко висушили під значним вакуумом з отриманням Сполуки 153 (0,33 г, кількісно). Дані РХМС узгоджувалися з заданим продуктом.

Сполуку 153 (0,33 г, 0,18 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (5 мл) при перемішуванні в атмосфері азоту. До нього додали N, N-діізопропілетиламін (65 мкл, 0,37 ммоль) і PFP-ТФК (35 мкл, 0,28 ммоль). Реакційну суміш перемішували в атмосфері азоту протягом ~ 30 хвилин. При зіткненні реакційна суміш стала пурпурою і поступово змінила колір на помаранчевий. рН реакційної суміші підтримували при рН = 9-10 додаванням додаткової кількості N, -діізопропілетиламіну. Хід реакції контролювали за ТШХ і РХМС. Після завершення реакції більшу частину розчинника видалили при зниженому тиску. Залишок розбавили CH₂Cl₂ (50 мл) і

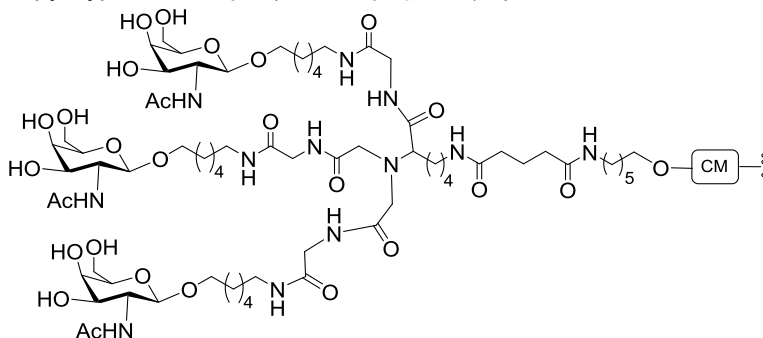
15 промили насиченим водним розчином NaHCO₃, потім насиченим сольовим розчином. Органічний шар висушили над MgSO₄, відфільтрували і концентрували до помаранчевої сиропоподібної речовини. Залишок очистили колонковою хроматографією і елюїровали 2-10 % MeOH CH₂Cl₂ з отриманням Сполуки 154 (0,29 г, 79 %). РХМС і ¹H ЯМР узгоджувалися з заданим продуктом.



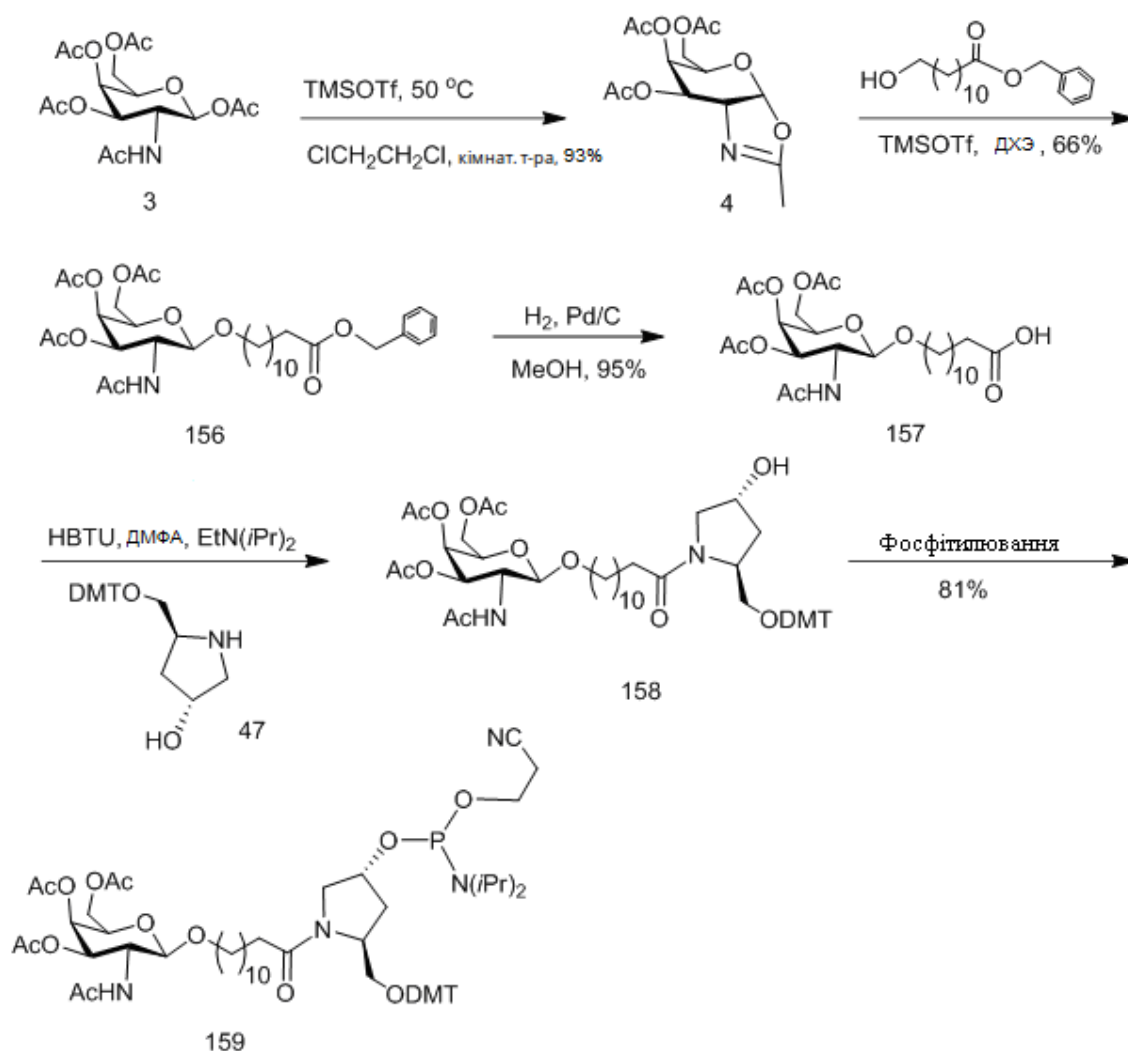
20 Олігомерну Сполуку 155, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-6, отримали за загальним способом, представленим у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-6 (GalNAc₃-6_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою

25 -P(=O)(OH)-A_n-P(=O)(OH)-.

Структура GalNAc₃-6 (GalNAc₃-6_a-CM-) представлена нижче:



Приклад 52: Отримання олігонуклеотиду 160, який містить GalNAc₃-9



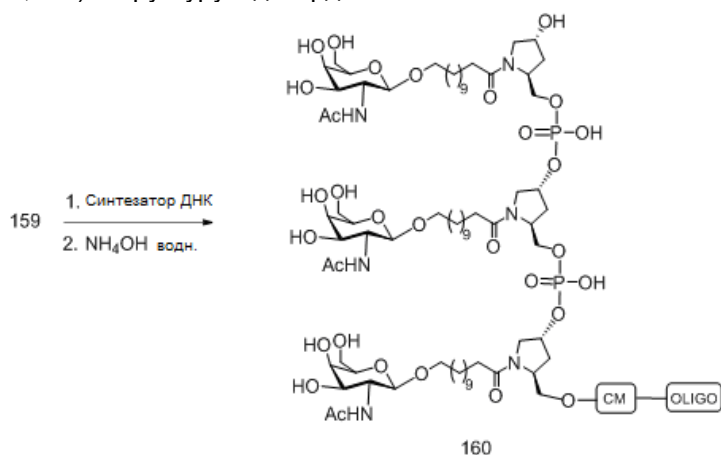
Сполуку 156 синтезували способом, описаним в літературі (J. Med. Chem. 2004, 47, 5798-5808).

Сполуку 156 (18,60 г, 29,28 ммоль) розчинили в метанолі (200 мл). Додали паладій на вуглі (6,15 г, завантаження 10 мас. % (перерахунку на суху речовину), матриця з порошкоподібного вуглецю, вологий). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі в атмосфері водню протягом 18 годин. Реакційну суміш відфільтрували через шар целіту і ретельно промили шар целіту метанолом. Об'єднаний фільтрат промили і концентрували насухо. Залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією і елюювали 5-10 % метанолу в дихлорметані з отриманням Сполуки 157 (14,26 г, 89 %). Маса m/z 544,1 $[\text{M}-\text{H}]^-$.

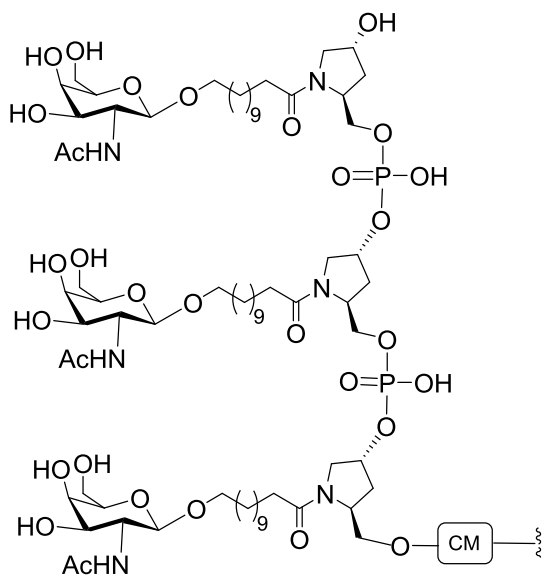
Сполуку 157 (5 г, 9,17 ммоль) розчинили в безводному ДМФА (30 мл). Додали HBTU (3,65 г, 9,61 ммоль) N, N-діізопропілетиламін (13,73 мл, 78,81 ммоль) і реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 5 хвилин. До нього додали розчин сполуки 47 (2,96 г, 7,04 ммоль). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 8 годин. Реакційну суміш вилити в насичений водний розчин NaHCO_3 . Суміш екстрагували етилацетатом, а органічний шар промили насиченим сольовим розчином і висушили (Na_2SO_4), відфільтрували і випарували. Отриманий залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією і елюювали 50 % етилацетатом у гексані з отриманням Сполуки 158 (8,25 г, 73,3 %). Структуру підтвердили аналізом МС і ^1H ЯМР.

Сполуку 158 (7,2 г, 7,61 ммоль) висушили над P_2O_5 при зниженому тиску. Висушену сполуку розчинили в безводному ДМФА (50 мл). До нього додали 1H-тетразол (0,43 г, 6,09 ммоль) N-метилімідазол (0,3 мл, 3,81 ммоль), і 2-цианоетил-N, N,N',N'-тетраізопропіл-фосфорордіамідит (3,65 мл, 11,50 ммоль). Реакційну суміш перемішували в атмосфері аргону протягом 4 годин. Реакційну суміш розбавили етилацетатом (200 мл). Реакційну суміш промили насиченим розчином NaHCO_3 і насиченим сольовим розчином. Органічну фазу відокремили, висушили (Na_2SO_4), відфільтрували і випарували. Залишок очистили сілікагелевою колонковою

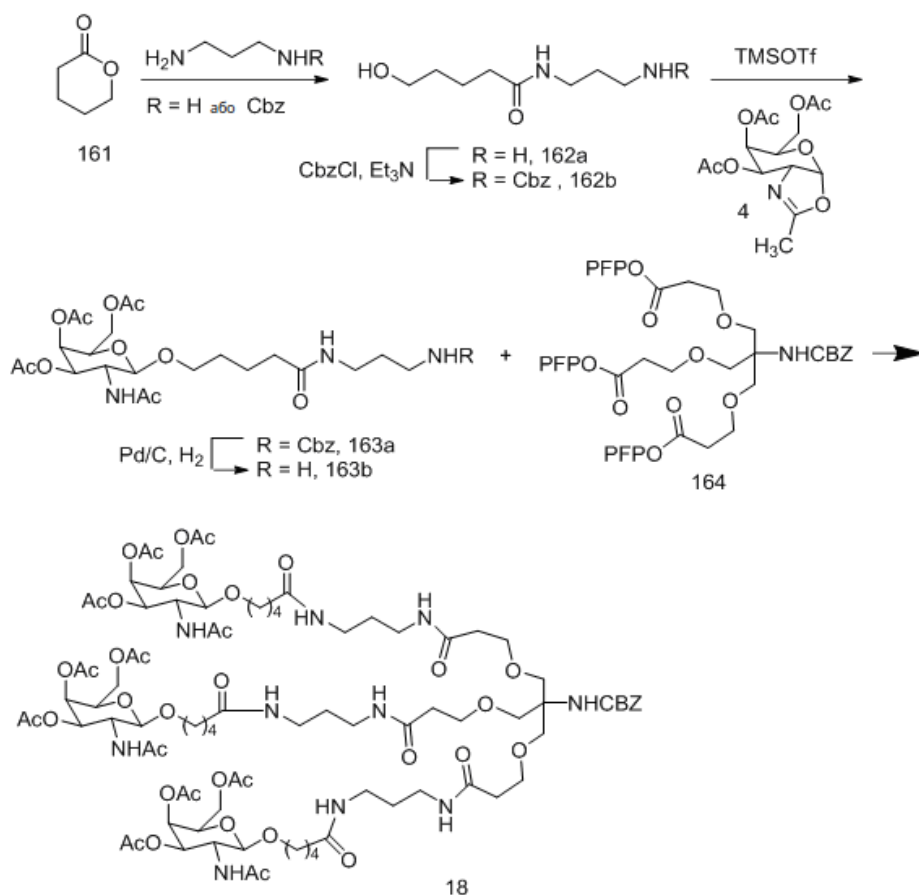
хроматографією і елюїровали 50-90 % етилацетатом у гексані з отриманням Сполуки 159 (7,82 м, 80,5 %). Структуру підтвердили аналізом РХМС і ^{31}P ЯМР.



Олігомерну сполуку 160, яка містить групу кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-9}$, отримали стандартними способами синтезу олігонуклеотидів. Три одиниці сполуки 159 зв'язали з твердою підкладкою, потім з фосфорамідитами нуклеотидів. В результаті обробки захищеної олігомерної сполуки водним розчином аміаку отримали сполуку 160. Кластерна частина GalNAc_3 групи кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-9}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-9}_a$) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})\text{-A}_d\text{-P}(=\text{O})(\text{OH})\text{-}$. Структура $\text{GalNAc}_3\text{-9}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-9}_a\text{-CM}$) представлена нижче:

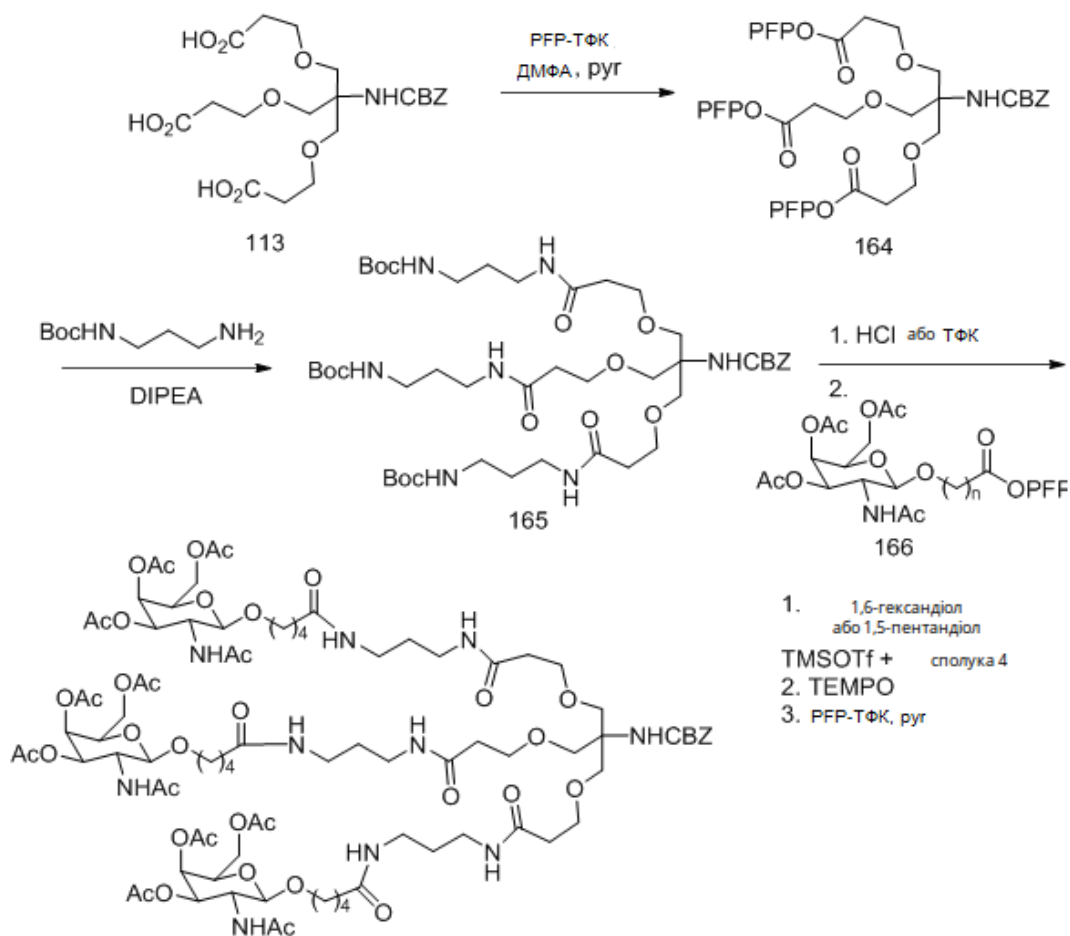


Приклад 53: Альтернативний спосіб отримання Сполуки 18($\text{GalNAc}_3\text{-1a}$ і $\text{GalNAc}_3\text{-3a}$)



Виконали реакцію лактона 161 з діамінопропаном (3-5 екв.) або моно-Вос-захищеним діамінопропаном (1 екв.) з отриманням спирту 162a або 162b. При використанні для описаної вище реакції незахищеного пропандіаміну, надлишок діаміну видалили випарюванням під значним вакуумом, а вільну аміногрупу в 162a захистили за допомогою CbzCl з отриманням 162b у вигляді білої твердої речовини після очищення колонковою хроматографією. Спирт 162b потім взаємодіяв зі сполукою 4 у присутності TMSOTf з отриманням 163a, яку перетворили в 163b шляхом зняття Cbz групи за допомогою каталітичного гідрування. Пентафторфеніловий (PFP) ефір 164 отримали взаємодією трьохкисlotної сполуки 113 (див. Приклад 48) з PFP-ТФК (3,5 екв.) та піридином (3,5 екв.) в ДМФА (від 0,1 до 0,5 М). Триєфір 164 безпосередньо взаємодіяв з аміном 163b (3-4 екв.) і DIPEA (3-4 екв.) з отриманням Сполуки 18. Представлений вище спосіб значно полегшує очищення проміжних сполук і мінімізує утворення побічних продуктів, які утворюються при використанні способу, описаного в Прикладі 4.

Приклад 54: Альтернативний спосіб отримання Сполуки 18(GalNAc₃-1a і GalNAc₃-3a)



18

Три-PFP ефір 164 отримали з кислоти 113 способом, представленим вище в Прикладі 53, виконали реакцію цього ефіру з моно-Вос-захищеним діаміном з отриманням 165 практично з кількісним виходом. Вос групи зняли хлористоводневою кислотою або трифтороцтовою кислотою з отриманням триаміну, що взаємодіє з активованою кислотою PFP 166 в присутності відповідної основи, такої як DIPEA, з отриманням Сполуки 18.

PFP-захищену кислоту Gal-NAc 166 отримали з відповідної кислоти обробкою PFP-TfK (1-1,2 екв.) та піридином (1-1,2 екв.) у ДМФА. Кислоту-попередник, у свою чергу, отримали з відповідного спирту окисленням із використанням TEMPO (0,2 екв.) і BAIB вацетонітрилі і воді. Спирт-попередник отримали з цукрової проміжної сполуки 4 взаємодією з 1,6-гександіолом (або 1,5-гександіолом або іншим діолом для інших значень n) (2-4 екв.) і TMSOTf, використовуючи умови, описані вище в Прикладі 47.

Приклад 55: Дозозалежне дослідження олігонуклеотидів, які містять або 3', або 5'-групу кон'югату (порівняння GalNAc₃-1, 3, 8 і 9), спрямованих на SRB-1, in vivo

Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Неспарений ISIS 353382 включили в якості стандарту. Кожна з різних груп кон'югату GalNAc₃ була приєднана до 3', або до 5'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фосфодіестер-зв'язаного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозиду (фрагмент, що розщеплюється).

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мотив	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 353382 (вихідна)	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	немає	829
ISIS 655861	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do}' - GalNAc_3-1_a$	5/10/5	GalNAc ₃ -1	830
ISIS 664078	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do}' - GalNAc_3-9_a$	5/10/5	GalNAc ₃ -9	830
ISIS 661161	$GalNAc_3-3_{a-o} A_{do}$ $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc ₃ -3	831
ISIS 665001	$GalNAc_3-8_{a-o} A_{do}$ $G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	GalNAc ₃ -8	831

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o'" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9. Структура GalNAc₃-9 показана раніше в Прикладі 52. Структура GalNAc₃-3 показана раніше в Прикладі 39. Структура GalNAc₃-8 показана раніше в Прикладі 47.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 353382, 655861, 664078, 661161, 665001 або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 у печінці за допомогою ПЛР у реальному часі та реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

Як показано в Таблиці 40, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Дійсно, антисмислові олігонуклеотиди, містять фосфодіестер-зв'язані кон'югати GalNAc₃-1 і GalNAc₃-9 у 3'-кінця (ISIS 655861 і ISIS 664078), а також кон'югати GalNAc₃-3 і GalNAc₃-8, зв'язані у 5'-кінця (ISIS 661161 і ISIS 665001) демонструють істотне поліпшення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 353382). Крім того, ISIS 664078, що містить кон'югат GalNAc₃-9 у 3'-кінця, був, по суті, настільки ж ефективним, як ISIS 655861, який містить кон'югат GalNAc₃-1 у 3'-кінця. 5'-спряжені антисмислові олігонуклеотиди, ISIS 661161 і ISIS 665001, які містять GalNAc₃-3 або GalNAc₃-9, відповідно, володіють підвищеною ефективністю, порівняно з 3'-сполученими антисмисловими сполуками (ISIS 655861 і ISIS 664078).

Таблиця 40

ASO, містять GalNAc₃-1, 3, 8 або 9, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кон'югат
Сольовий розчин	н.д.	100	
353382	3	88	немає
	10	68	
	30	36	
	0,5	98	
655861	0,5	98	GalNAc ₃ -1 (3')

Таблиця 40

ASO, містять GalNAc₃-1, 3, 8 або 9, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кон'югат
	1,5	76	
	5	31	
	15	20	
664078	0,5	88	GalNAc ₃ -9 (3')
	1,5	85	
	5	46	
	15	20	
661161	0,5	92	GalNAc ₃ -3 (5')
	1,5	59	
	5	19	
	15	11	
665001	0,5	100	GalNAc ₃ -8 (5')
	1,5	73	
	5	29	
	15	13	

- Рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) і аспартат-амінотрансферази (AST) в сировитці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК).
 5 Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином. Значення ALT, AST, загального білірубіну та АМК представлені нижче в таблиці.

Таблиця 41

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Загальний білірубін	АМК	Кон'югат
Сольовий розчин		24	59	0,1	37,52	
353382	3	21	66	0,2	34,65	немає
	10	22	54	0,2	34,2	
	30	22	49	0,2	33,72	
655861	0,5	25	62	0,2	30,65	GalNAc ₃ -1 (3')
	1,5	23	48	0,2	30,97	
	5	28	49	0,1	32,92	
	15	40	97	0,1	31,62	
664078	0,5	40	74	0,1	35,3	GalNAc ₃ -9 (3')
	1,5	47	104	0,1	32,75	
	5	20	43	0,1	30,62	
	15	38	92	0,1	26,2	
661161	0,5	101	162	0,1	34,17	GalNAc ₃ -3 (5')
	1,5 г	42	100	0,1	33,37	
	5 г	23	99	0,1	34,97	
	15	53	83	0,1	34,8	
665001	0,5	28	54	0,1	31,32	GalNAc ₃ -8 (5')
	1,5	42	75	0,1	32,32	
	5	24	42	0,1	31,85	
	15	32	67	0,1	31.	

- Приклад 56: Дозозалежне дослідження олігонуклеотидів, які містять або 3', або 5'-групу кон'югату (порівняння GalNAc₃-1, 2, 3, 5, 6, 7 і 10), спрямованих на SRB-1, in vivo
 10 Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Неспарений ISIS 353382 включили в якості стандарту. Кожна з різних груп кон'югату GalNAc₃ була приєднана до 5'-кінця відповідного

олігонуклеотиду фосфодіестер-зв'язаним 2'-дезоксиденозиновим нуклеозидом (фрагмент, що розщеплюється), за винятком ISIS 655861, в якому група кон'югату GalNAc₃ приєднана до 3'-кінця.

Таблиця 42

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мотив	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 353382 (вихідна)	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	Без кон'югату	829
ISIS 655861	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{eo} A ^m _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	5/10/5	GalNAc ₃ -1	830
ISIS 664507	GalNAc ₃ -2 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -2	831
ISIS 661161	GalNAc ₃ -3 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -3	831
ISIS 666224	GalNAc ₃ -5 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -5	831
ISIS 666961	GalNAc ₃ -6 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -6	831
ISIS 666981	GalNAc ₃ -7 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -7	831
ISIS 666881	GalNAc ₃ -10 _a -o ^m -A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	5/10/5	GalNAc ₃ -10	831

5

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

10

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9. Структура GalNAc₃-2_a показана раніше в Прикладі 37. Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39. Структура GalNAc₃-5_a показана раніше в Прикладі 49. Структура GalNAc₃-6_a показана раніше в Прикладі 51. Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48. Структура GalNAc₃-10_a показана раніше в Прикладі 46.

15

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 353382, 655861, 664507, 661161, 666224, 666961, 666981, 666881 або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 у печінці за допомогою ПЛР в реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

25

Як показано в Таблиці 43, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Дійсно, спряжені антисмислові олігонуклеотиди демонструють значне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 353382). 5'-спряжені антисмислові олігонуклеотиди демонструють невелике посилення ефективності, порівняно з 3'-сполученим антисмисловим олігонуклеотидом.

30

Таблиця 43

ISIS №	Доза (мг/кг)	МРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кон'югат
Сольовий розчин	н.д.	100,0	
353382	3	96,0	немає
	10	73,1	
	30	36,1	
655861	0,5	99,4	GalNac ₃ -1 (3')
	1,5	81,2	
	5	33,9	
	15	15,2	
664507	0,5	102,0	GalNac ₃ -2 (5')
	1,5	73,2	
	5	31,3	
	15	10,8	
661161	0,5	90,7	GalNac ₃ -3 (5')
	1,5	67,6	
	5	24,3	
	15	11,5	
666224	0,5	96,1	GalNac ₃ -5 (5')
	1,5	61,6	
	5	25,6	
	15	11,7	
666961	0,5	85,5	GalNac ₃ -6 (5')
	1,5	56,3	
	5	34,2	
	15	13,1	
666981	0,5	84,7	GalNac ₃ -7 (5')
	1,5	59,9	
	5	24,9	
	15	8,5	
666881	0,5	100,0	GalNac ₃ -10 (5')
	1,5	65,8	
	5	26,0	
	15	13,0	

5 Рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) і аспартат-амінотрансферази (AST) в сировитці вимірювали щодо мишей, ін'єктованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином. Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 44.

Таблиця 44

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Загальний білірубін	АМК	Кон'югат
Сольовий розчин		26	57	0,2	27	
353382	3	25	92	0,2	27	немає
	10	23	40	0,2	25	
	30	29	54	0,1	28	
655861	0,5	25	71	0,2	34	GalNac ₃ -1 (3')
	1,5	28	60	0,2	26	
	5	26	63	0,2	28	
	15	25	61	0,2	28	

Таблиця 44

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Загальний білірубін	АМК	Кон'югат
664507	0,5	25	62	0,2	25	GalNac ₃ -2 (5')
	1,5	24	49	0,2	26	
	5	21	50	0,2	26	
	15	59	84	0,1	22	
661161	0,5	20	42	0,2	29	GalNac ₃ -3 (5')
	1,5 г	37	74	0,2	25	
	5 г	28	61	0,2	29	
	15	21	41	0,2	25	
666224	0,5	34	48	0,2	21	GalNac ₃ -5 (5')
	1,5	23	46	0,2	26	
	5	24	47	0,2	23	
	15	32	49	0,1	26	
666961	0,5	17	63	0,2	26	GalNac ₃ -6 (5')
	1,5	23	68	0,2	26	
	5	25	66	0,2	26	
	15	29	107	0,2	28	
666981	0,5	24	48	0,2	26	GalNac ₃ -7 (5')
	1,5	30	55	0,2	24	
	5	46	74	0,1	24	
	15	29	58	0,1	26	
666881	0,5	20	65	0,2	27	GalNac ₃ -10 (5')
	1,5	23	59	0,2	24	
	5	45	70	0,2	26	
	15	21	57	0,2	24	

Приклад 57: Дослідження тривалості дії олігонуклеотидів, які містять 3'-групу кон'югату, спрямованих на ApoC III *in vivo*

- 5 Мишам одноразово ввели ін'єкцію дози, вказаної нижче, і протягом 42 днів спостерігали рівні ApoC-III і тригліцеридів у плазмі (TG в плазмі). Дослідження виконали, використовуючи в кожній групі 3 трансгенних мишей, які експресують людський APOC-III.

Таблиця 45

Модифіковані ASO, спрямовані на ApoC III

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Зв'язки	SEQ ID NO
ISIS 304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} mC _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	PS	821
ISIS 647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNac ₃ -1 _a	PS	822
ISIS 647536	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNac ₃ -1 _a	PO/PS	822

- 10 Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

- 15 Структура GalNac₃-1_a показана раніше у Прикладі 9.

Таблиця 46

мРНК ApoC III (% від сольового розчину на 1 день) і рівні TG в плазмі
(% від сольового розчину на 1 день)

ASO	Доза	Мішень	3 день	7 день	День 14	35 день	День 42
Сольовий розчин	0 мг/кг	ApoC-III	98	100	100	95	116
ISIS 304801	30 мг/кг	ApoC-III	28	30	41	65	74
ISIS 647535	10 мг/кг	ApoC-III	16	19	25	74	94
ISIS 647536	10 мг/кг	ApoC-III	18	16	17	35	51
Сольовий розчин	0 мг/кг	TG у плазмі	121	130	123	105	109
ISIS 304801	30 мг/кг	TG у плазмі	34	37	50	69	69
ISIS 647535	10 мг/кг	TG у плазмі	18	14	24	18	71
ISIS 647536	10 мг/кг	TG у плазмі	21	19	15	32	35

Як можна бачити в представленій вище таблиці, тривалість дії збільшується при додаванні 3'-групи кон'югату, порівняно неспареним олігонуклеотидом. Додаткове збільшення тривалості дії спостерігали для змішаного сполученого PO/PS олігонуклеотиду 647536, порівняно зі спареним олігонуклеотидом 647535, що містить тільки PS.

Приклад 58: Дозозалежне дослідження олігонуклеотидів, які містять 3'-групу кон'югату (порівняння GalNAc₃-1 і GalNAc₄-11), спрямованих на SRB-1, in vivo

Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Несполучений ISIS 440762 включили в якості несполученого стандарту. Кожна з груп кон'югату була приєднана до 3'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фрагмента, що розщеплюється фосфодіестер-зв'язаного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозиду.

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9. Структура GalNAc₃-11_a показана раніше в Прикладі 50.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 440762, 651900, 663748 або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 у печінці за допомогою ПЛР у реальному часі та реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

Як показано в Таблиці 47, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Антисмислові олігонуклеотиди, містять фосфодіестер-зв'язані кон'югати GalNAc₃-1 і GalNAc₄-11 у 3'-кінця (ISIS 651900 і ISIS 663748), демонструють значне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 440762). Ці два сполучених олігонуклеотиди, GalNAc₃-1 і GalNAc₄-11, були однаково ефективними.

Таблиця 47

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Доза, мг/кг	% від контролю з сольовим розчином	SEQ ID NO
Сольовий розчин			100	
ISIS 440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	0,6	73,45	823
		2	59,66	
		6	23,50	
ISIS 651900	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ko} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	0,2	62,75	824
		0,6	29,14	
		2	8,61	

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Доза, мг/кг	% від контролю з сольовим розчином	SEQ ID NO
		6	5,62	
ISIS 663748	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ko} A _{do} -GalNAc ₄ -11 _a	0,2	63,99	824
		0,6	33,53	
		2	7,58	
		6	5,52	

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "k" означає 6'-(S)-CH₃ біциклічний нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний зв'язок (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний зв'язок (PO); "o" означає -O-P(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

Рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) аспартат-амінотрансферази (AST) в сировитці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином. Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 48.

Таблиця 48

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Загальний білірубін	АМК	Кон'югат
Сольовий розчин		30	76	0,2	40	
440762	0,60	32	70	0,1	35	немає
	2	26	57	0,1	35	
	6	31	48	0,1	39	
651900	0,2	32	115	0,2	39	GalNAc ₃ -1 (3')
	0,6	33	61	0,1	35	
	2	30	50	0,1	37	
	6	34	52	0,1	36	
663748	0,2	28	56	0,2	36	GalNAc ₄ -11 (3')
	0,6	34	60	0,1	35	
	2	44	62	0,1	36	
	6	38	71	0,1	33	

Приклад 59: Дія GalNAc₃-1-сполучених ASO, спрямованих на FXI, in vivo

Олігонуклеотиди, наведені нижче, випробували в дослідженні дії багаторазових наростаючих доз на антисмислове інгібування FXI у мишей. ISIS 404071 включили в якості несполученого стандарту. Кожна з груп кон'югату була приєднана до 3'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фрагменту, що розщеплюється фосфодіестер-зв'язаного 2'-дезоксиденозинового нуклеозиду.

Таблиця 49

Модифіковані ASO, спрямовані на FXI

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Зв'язки	SEQ ID NO
ISIS 404071	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _e	PS	832
ISIS 656172	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	PS	833
ISIS 656173	T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	PO/PS	833

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ¹³C означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o'" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9.

Лікування

Шоститижневим самцям мишей Balb/c (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) двічі на тиждень протягом 3 тижнів вводили підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 404071, 656172, 656173 або PBS в якості контрольного зразка. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК FXI в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі та реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Виміряли також рівні білка FXI в плазмі за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу. Рівні мРНК FXI визначали відносно загальної РНК (за допомогою RIBOGREEN®), потім нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК FXI для кожної експериментальної групи. Дані нормалізували до контрольного зразка, обробленого PBS, і позначили як «% PBS». ЕД₅₀ вимірювали такими-саме способами, як описано раніше, і ці значення представлені нижче.

Таблиця 50

мРНК фактора XI (% від сольового розчину)

ASO	Доза, мг/кг	% від контрольного зразка	Кон'югат	Зв'язки
Сольовий розчин		100	немає	
ISIS 404071	3	92	немає	PS
	10	40		
	30	15		
ISIS 656172	0,7	74	GalNAc ₃ -1	PS
	2	33		
	6	9		
ISIS 656173	0,7	49	GalNAc ₃ -1	PO/PS
	2	22		
	6	1		

Як показано в Таблиці 50, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК FXI дозозалежним чином. Олігонуклеотиди, що містять групу кон'югату 3'-GalNAc₃-1, демонструють значне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 404071). Між цими двома сполученими олігонуклеотидами додаткове посилення ефективності було забезпечено за рахунок заміни деяких PS линкерів PO (ISIS 656173).

Як показано в Таблиці 50а, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні білка FXI дозозалежним чином. Олігонуклеотиди, що містять групу кон'югату 3'-GalNAc₃-1, демонструють значне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 404071). Між цими двома сполученими олігонуклеотидами додаткове посилення ефективності було забезпечено за рахунок заміни деяких PS линкерів PO (ISIS 656173).

Таблиця 50а

Білок фактора XI (% від сольового розчину)

ASO	Доза, мг/кг	Білок (% контрольного зразка)	Кон'югат	Зв'язки
Сольовий розчин		100	немає	
ISIS 404071	3	127	немає	PS
	10	32		
	30	3		
ISIS 656172	0,7	70	GalNAc ₃ -1	PS
	2	23		
	6	1		
ISIS 656173	0,7	45	GalNAc ₃ -1	PO/PS
	2	6		
	6	0		

Рівні трансаминази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) і аспартат-амінотрансферази (AST) в сировитці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін, загальний альбумін, CRE та азот сечовини крові (AMK). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином. Значення ALT, AST, загального білірубину та AMK представлені нижче в таблиці.

Таблиця 51

ISIS №	Доза мг/кг	ALT	AST	Загальний альбумін	Загальний білірубін	CRE	AMK	Кон'югат
Сольовий розчин		71,8	84,0	3,1	0,2	0,2	22,9	
404071	3	152,8	176,0	3,1	0,3	0,2	23,0	немає
	10	73,3	121,5	3,0	0,2	0,2	21,4	
	30	82,5	92,3	3,0	0,2	0,2	23,0	
656172	0,7	62,5	111,5	3,1	0,2	0,2	23,8	GalNAc ₃ -1 (3')
	2	33,0	51,8	2,9	0,2	0,2	22,0	
	6	65,0	71,5	3,2	0,2	0,2	23,9	
656173	0,7	54,8	90,5	3,0	0,2	0,2	24,9	GalNAc ₃ -1 (3')
	2	85,8	71,5	3,2	0,2	0,2	21,0	
	6	114,0	101,8	3,3	0,2	0,2	22,7	

Приклад 60: Дія сполучених ASO, спрямованих на SRB-1, in vitro.

Олігонуклеотиди, наведені нижче, випробували в дослідженні дії багаторазових наростаючих доз антисмислового інгібування SRB-1 у первинних гепатоцитах мишей. ISIS 353382 включили як несполученого стандарту. Кожна з груп кон'югату була приєднана до 3', 5'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фрагмента, що розщеплюється фосфодіестер-зв'язаного 2'-дезоксиаденозинового нуклеозиду.

Таблиця 52

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мотив	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 353382	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	5/10/5	немає	829
ISIS 655861	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} mC _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} -GalNAc ₃ -1 _a	5/10/5	GalNAc ₃ -1	830

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ASO	Послідовність (від 5' до 3')	Мотив	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 655862	$G_{es}^m C_{eo} T_{eo} T_{eo} C_{eo} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{eo}^m C_{eo} C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GaINAc_3-1_a$	5/10/5	$GaINAc_3-1$	830
ISIS 661161	$GaINAc_3-3_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds}$ $T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-3$	831
ISIS 665001	$GaINAc_3-8_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds}$ $T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-8$	831
ISIS 664078	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}$ $m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_{eo} A_{do} - GaINAc_3-9_a$	5/10/5	$GaINAc_3-9$	830
ISIS 666961	$GaINAc_3-6_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds}$ $T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-6$	831
ISIS 664507	$GaINAc_3-2_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-2$	831
ISIS 666881	$GaINAc_3-10_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-10$	831
ISIS 666224	$GaINAc_3-5_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-5$	831
ISIS 666981	$GaINAc_3-7_{a-o} A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}$ $m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	5/10/5	$GaINAc_3-7$	831

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β -D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o" означає $OP(=O)(OH)-$. Групи кон'югату виділені жирним.

Структура $GaINAc_3-1_a$ показана раніше у Прикладі 9. Структура $GaINAc_3-3_a$ показана раніше в Прикладі 39. Структура $GaINAc_3-8_a$ показана раніше в Прикладі 47. Структура $GaINAc_3-9_a$ показана раніше в Прикладі 52. Структура $GaINAc_3-6_a$ показана раніше в Прикладі 51. Структура $GaINAc_3-2_a$ показана раніше в Прикладі 37. Структура $GaINAc_3-10_a$ показана раніше в Прикладі 46. Структура $GaINAc_3-5_a$ показана раніше в Прикладі 49. Структура $GaINAc_3-7_a$ показана раніше в Прикладі 48.

Лікування

Олігонуклеотиди, наведені вище, відчували *in vitro* у первинних гепатоцитах мишей, поміщених на планшет при щільності 25000 клітин на лунку та обробляли 0,03, 0,08, 0,24, 0,74, 2,22, 6,67 або 20 нМ модифікованого олігонуклеотиду. Після обробки протягом приблизно 16 годин, з клітин виділили РНК і виміряли рівні мРНК за допомогою кількісної ПЛР в реальному часі, а рівні мРНК SRB-1 III скорегували у відповідності із загальним вмістом РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®.

IC_{50} розраховували за стандартними способами, а результати представлені в Таблиці 53. Результати показують, що за умов вільного поглинання, в яких не використані ніякі реагенти або електроімпульсні прийоми для штучного прискорення входу олігонуклеотидів в клітини, олігонуклеотиди, містять кон'югат $GaINAc$, були істотно більш ефективними в гепатоцитах, ніж вихідний олігонуклеотид (ISIS 353382), який не містить кон'югат $GaINAc$.

Таблиця 53

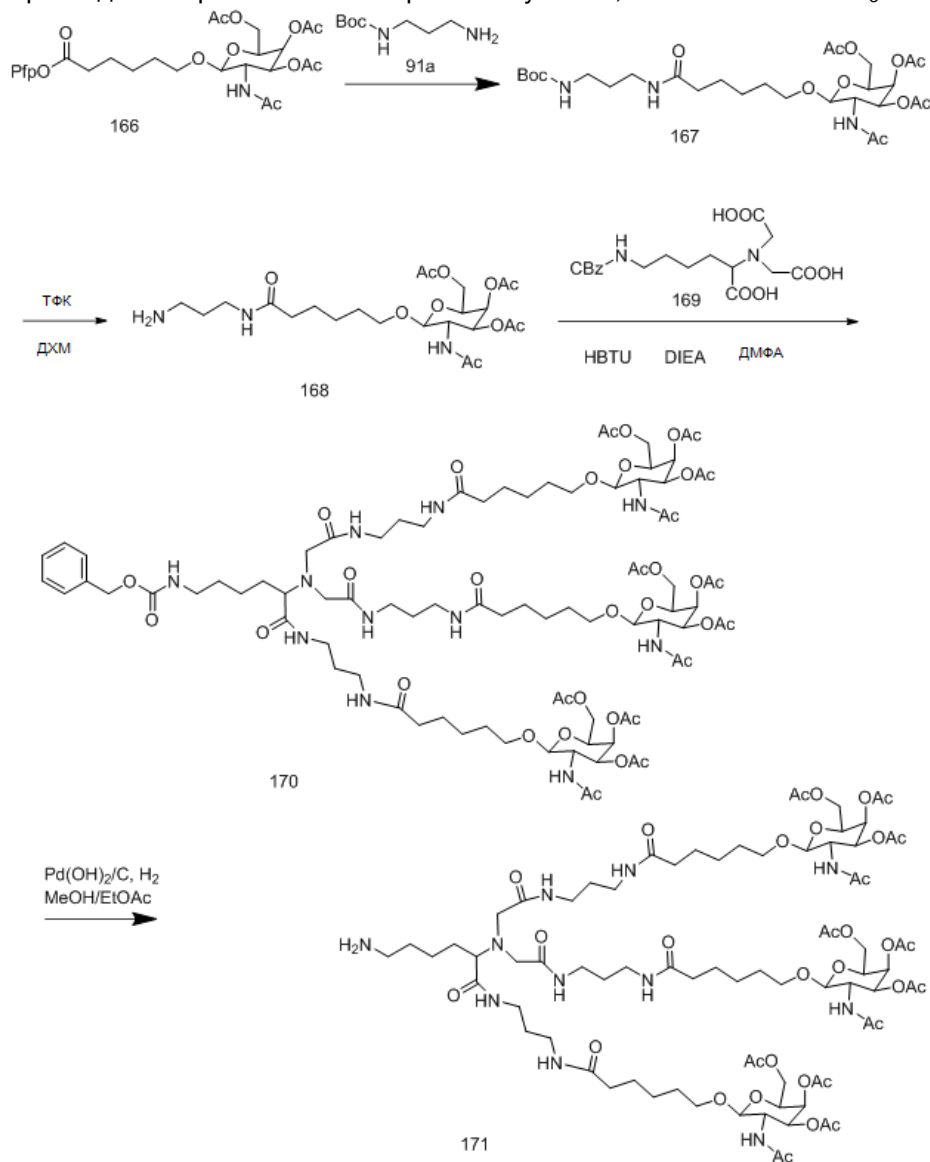
ASO	IC_{50} (нМ)	Міжнуклеозидні зв'язки	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 353382	190 ^a	PS	немає	829
ISIS 655861	11 ^a	PS	$GaINAc_3-1$	830
ISIS 655862	3	PO/PS	$GaINAc_3-1$	830
ISIS 661161	15 ^a	PS	$GaINAc_3-3$	831
ISIS 665001	20	PS	$GaINAc_3-8$	831
ISIS 664078	55	PS	$GaINAc_3-9$	830
ISIS 666961	22 ^a	PS	$GaINAc_3-6$	831

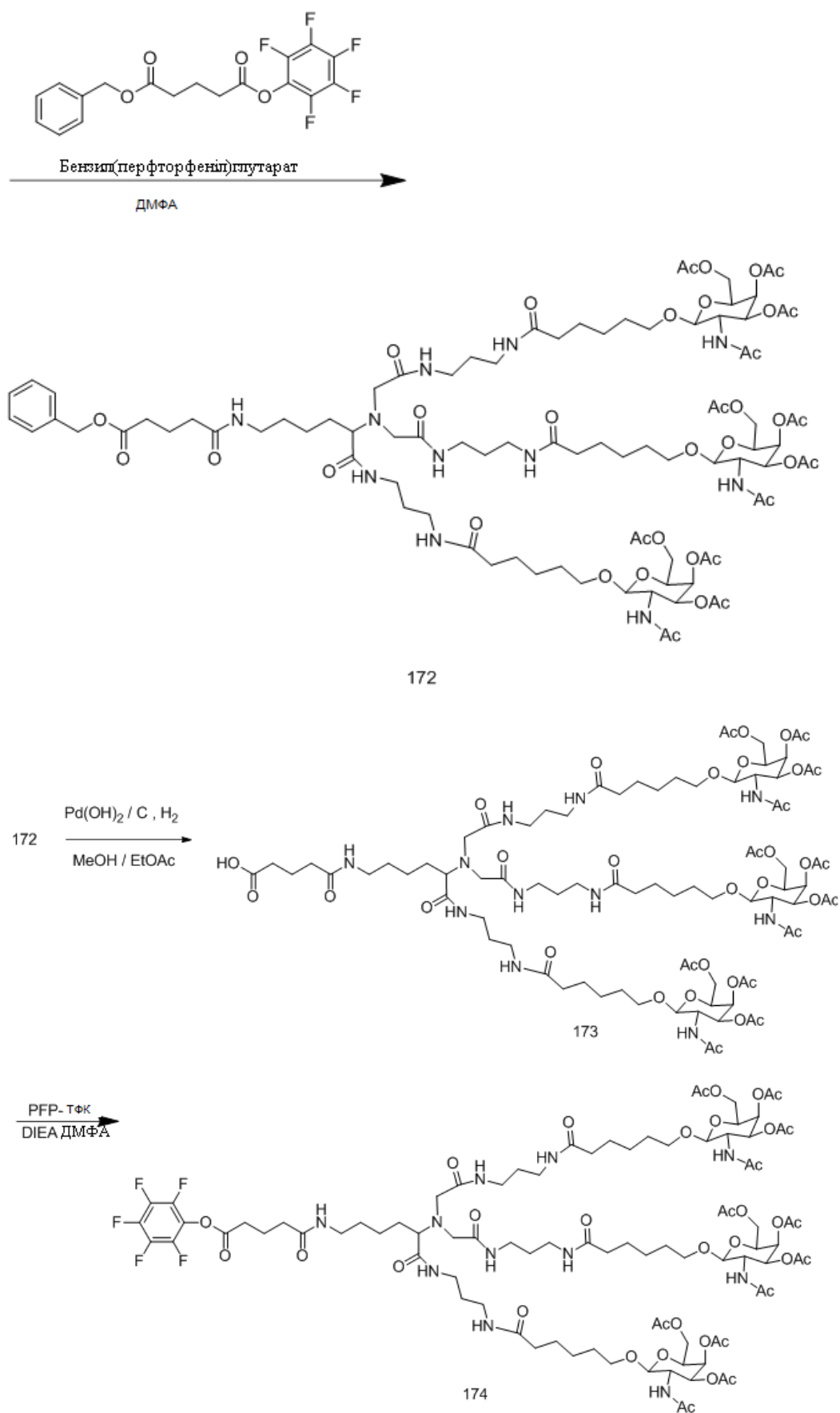
Таблиця 53

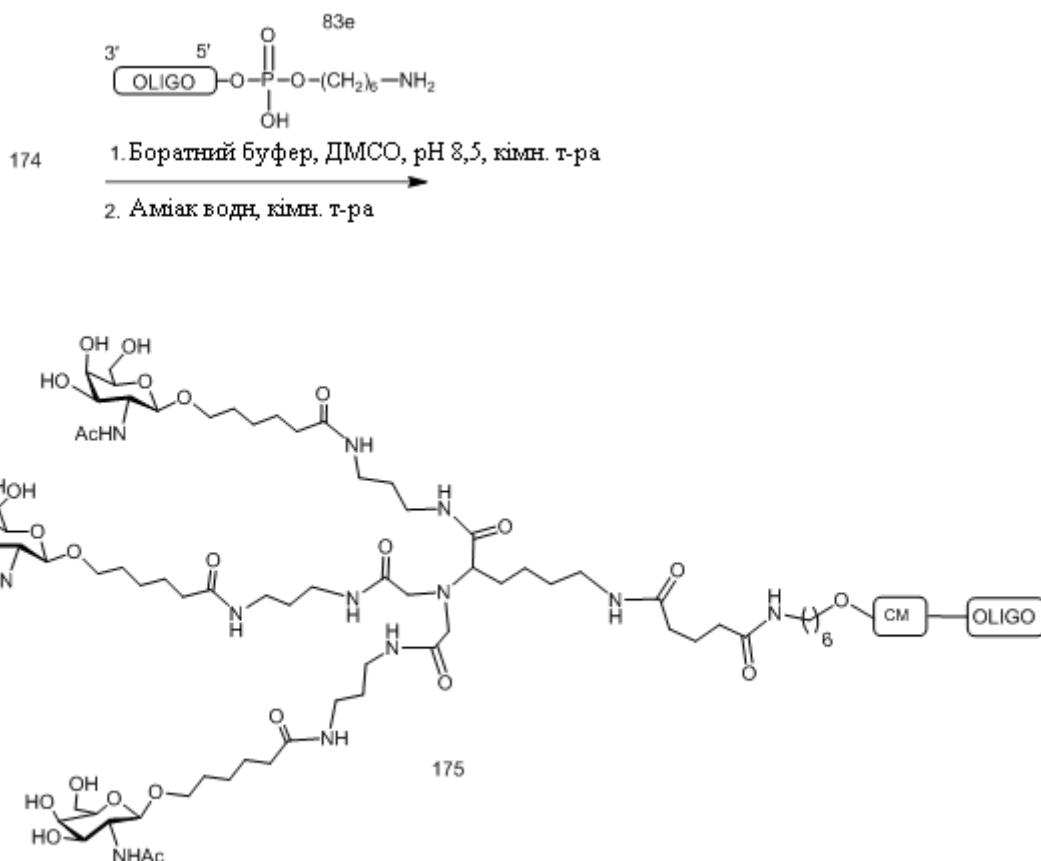
ASO	IC ₅₀ (нМ)	Міжнуклеозидні зв'язки	Кон'югат	SEQ ID NO
ISIS 664507	30	PS	GalINAc ₃ -2	831
ISIS 666881	30	PS	GalINAc ₃ -10	831
ISIS 666224	30 ^a	PS	GalINAc ₃ -5	831
ISIS 666981	40	PS	GalINAc ₃ -7	831

^aСереднє для кількох повторів.

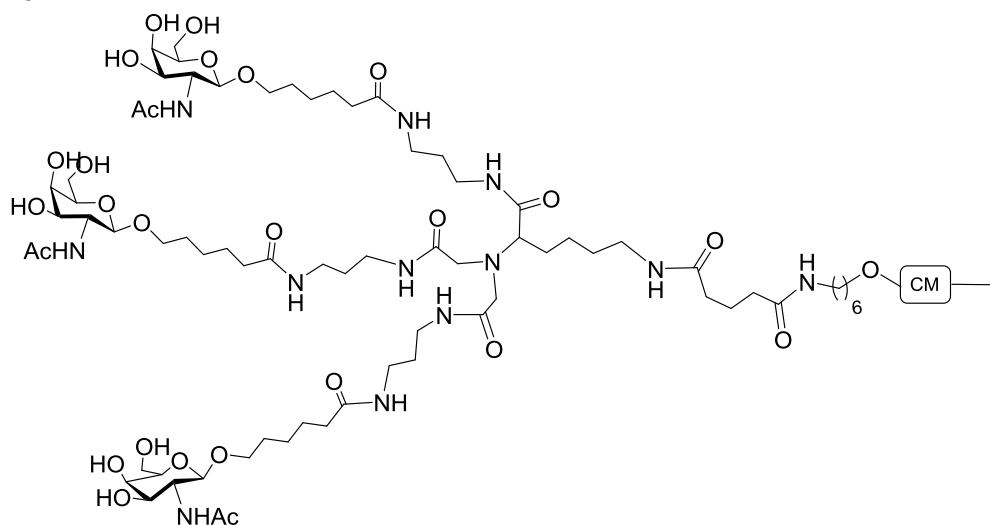
Приклад 61: Отримання олігомерної сполуки 175, яка містить $\text{GaInAc}_3\text{-}12$



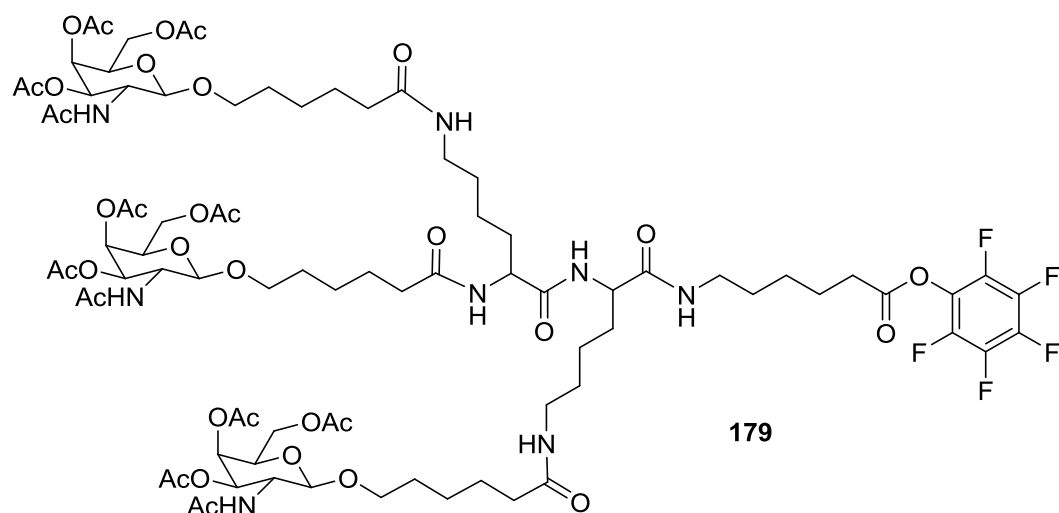
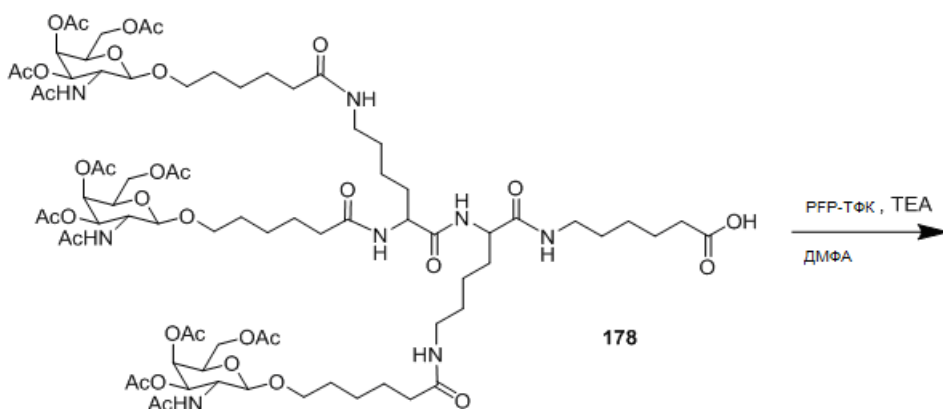
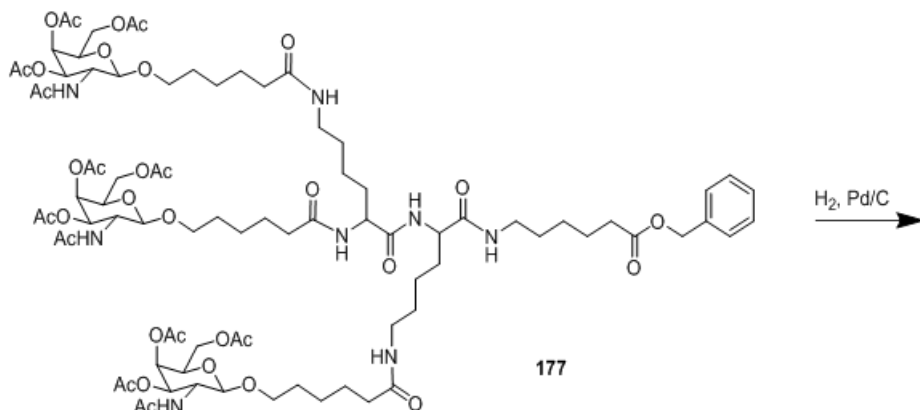
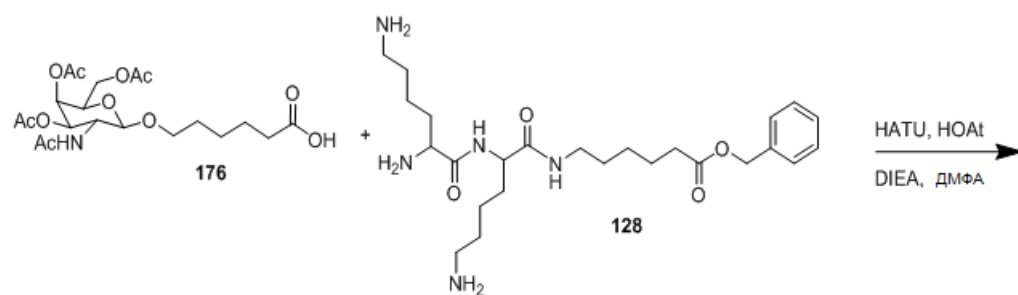


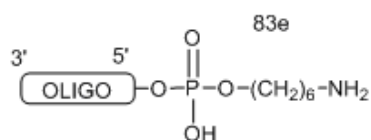


Сполука 169 є у продажу. Сполуку 172 отримали додаванням бензил(перфторфеніл)глутарату до сполуки 171. Бензил(перфторфеніл)глутарат отримали додаванням PFP-ТФК і DIEA до 5-(бензилокси)-5-оксопентанової кислоти в ДМФА. Олігомерну сполука 175, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-12, отримали зі сполуки 174, використовуючи загальні способи, описані в Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-12 (GalNAc₃-12_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-12 (GalNAc₃-12_a-CM-) представлена



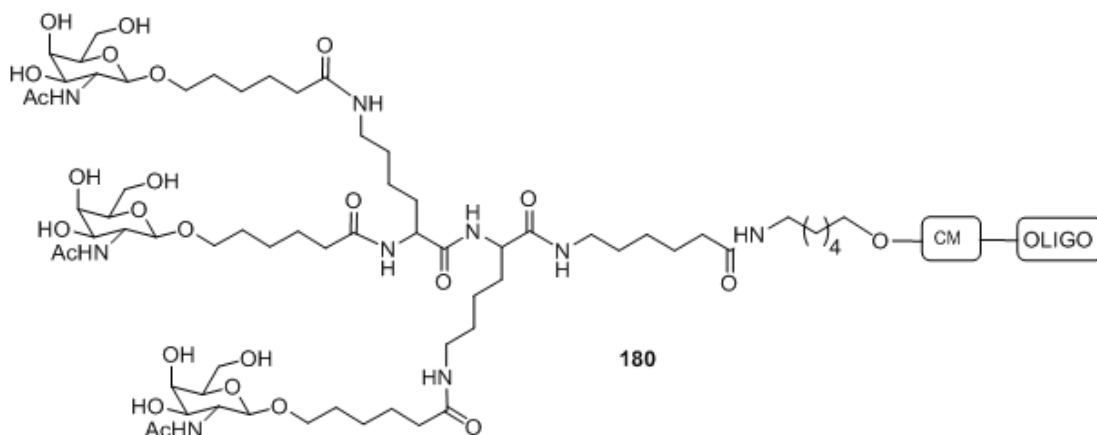
Приклад 62: Отримання олігомерної сполуки 180, яка містить GalNAc₃-13



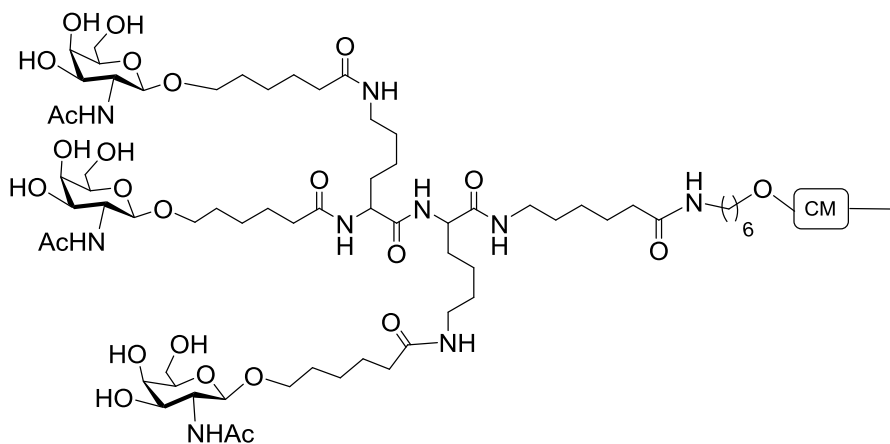


1. Боратний буфер, ДМСО, рН 8,5, кімн. т-ра

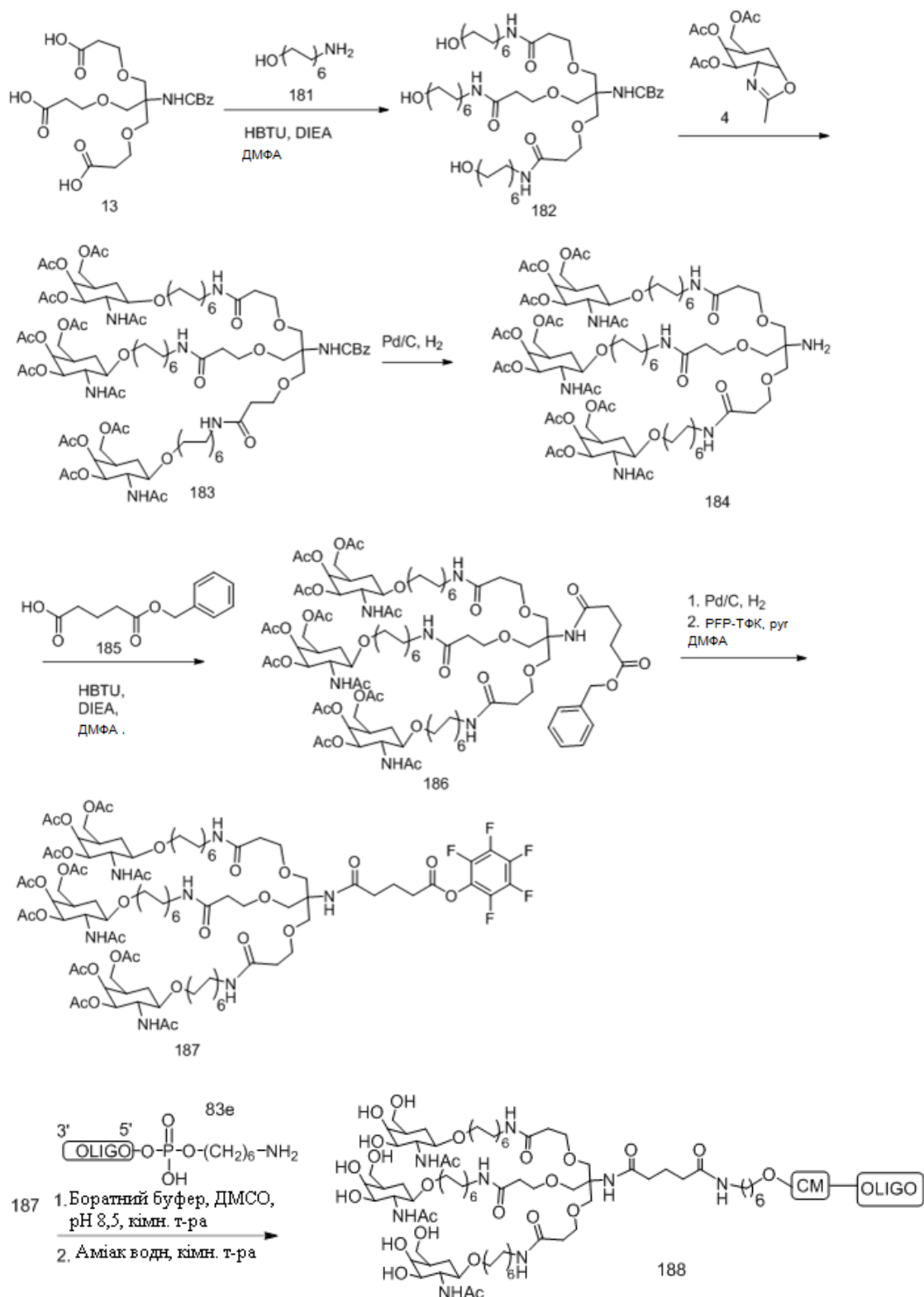
2. Аміак водн, кімн. т-ра



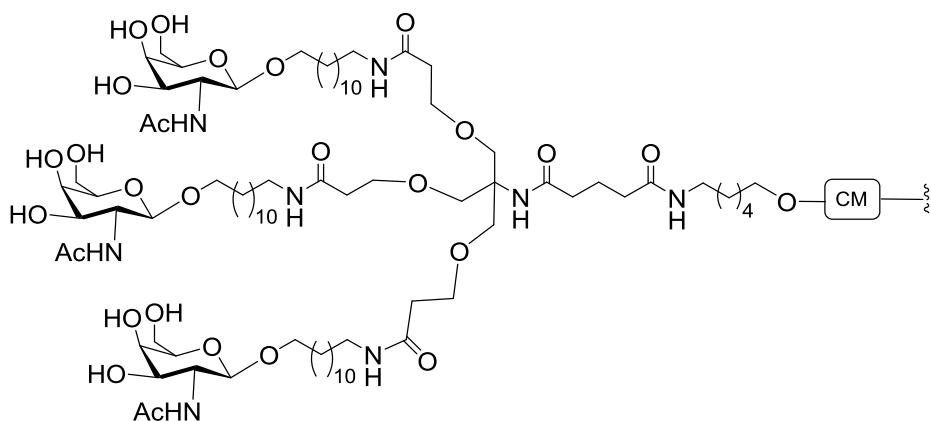
Сполуку 176 отримали загальним способом, наведеним у Прикладі 2. Олігомерну сполуку 180, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-13, отримали зі сполуки 177, використовуючи загальні способи, описані в Прикладі 49. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-13 (GalNAc₃-13_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_n-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-13 (GalNAc₃-13_a-CM-) представлена нижче:



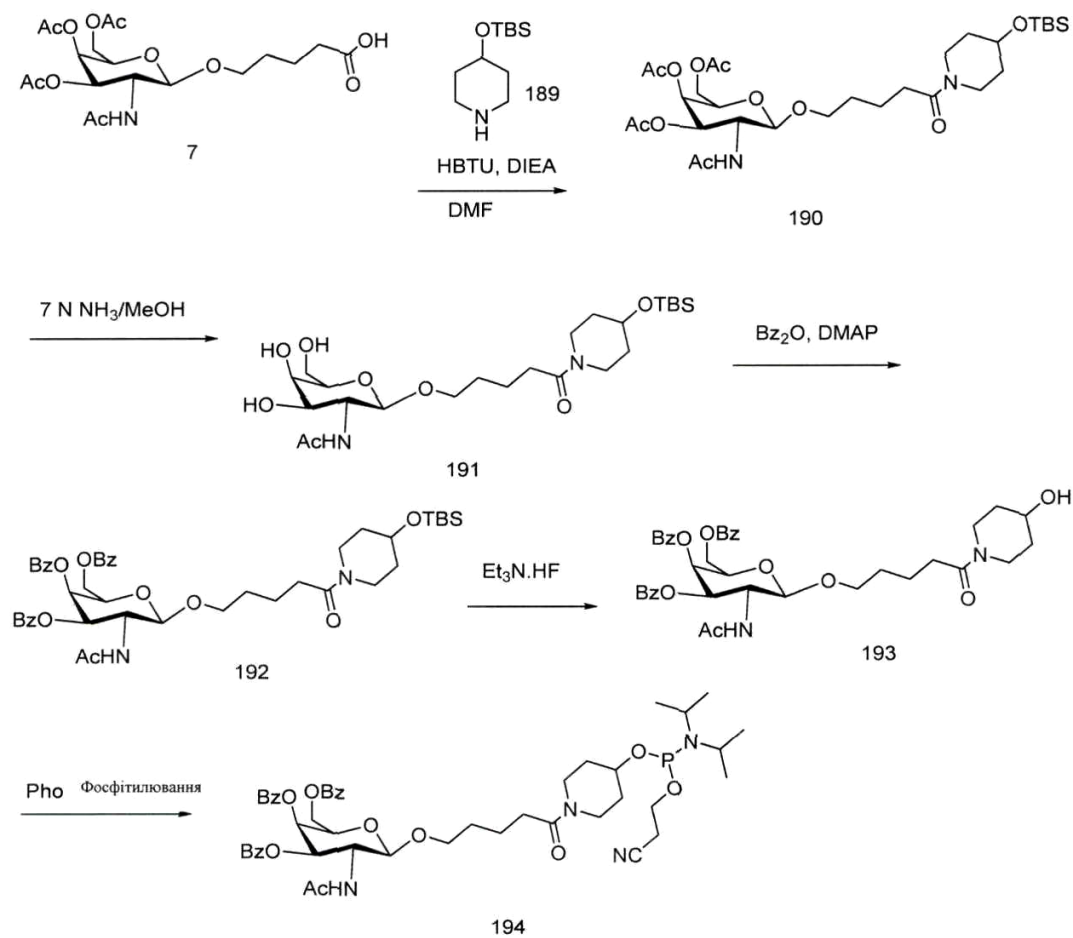
Приклад 63: Отримання олігомерної сполуки 188, яка містить GalNAc₃-14

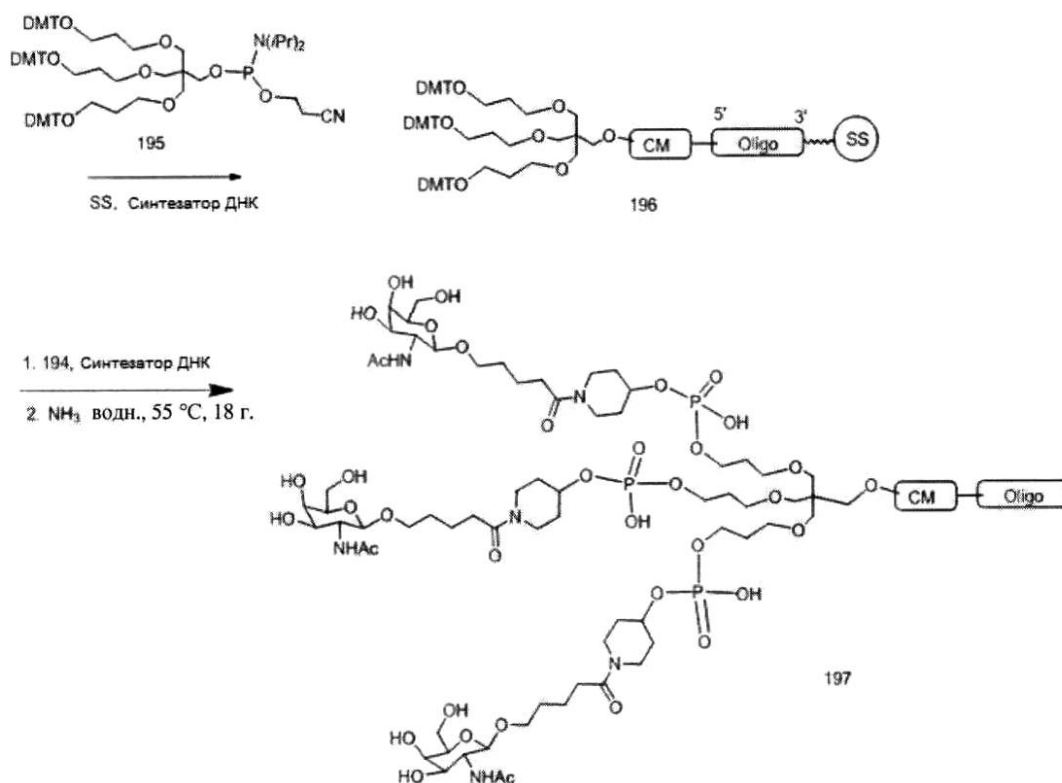


5. Сполуки 181 і 185 є у продажу. Олігомерну сполуку 188, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-14, отримали зі сполуки 187, використовуючи загальні способи, описані в Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-14 (GalNAc₃-14_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-14 (GalNAc₃-14_a-CM-) представлена нижче:

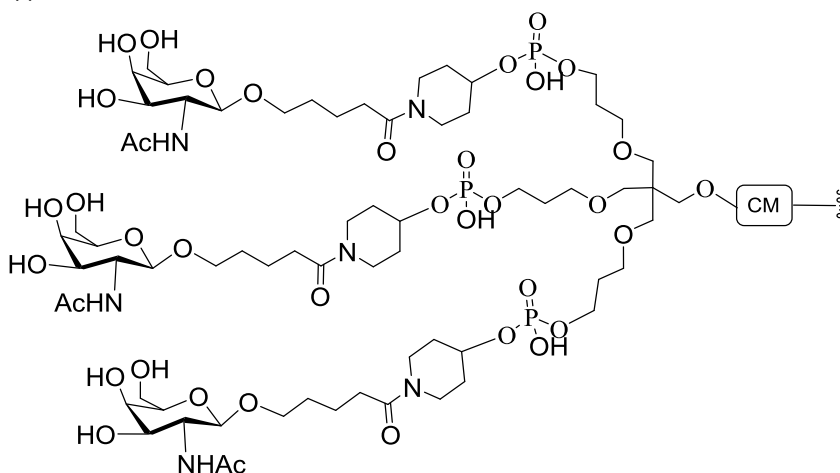


Приклад 64: Отримання олігомерної сполуки 188, яка містить GalNAc₃-15





Сполука 189 є у продажу. Сполуку 195 отримали загальним способом, наведеним у Прикладі 31. Олігомерну сполуку 197, яка містить групу кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-15}$, отримали зі сполук 194 і 195 стандартним способом синтезу олігонуклеотидів. Кластерна частина GalNAc_3 групи кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-15}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-15}_a$) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою $-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-\text{A}_d-\text{P}(=\text{O})(\text{OH})-$. Структура $\text{GalNAc}_3\text{-15}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-15}_a\text{-CM-}$) представлена нижче:



Приклад 65: Дозозалежне дослідження олігонуклеотидів, які містять 5'-групу кон'югату (порівняння $\text{GalNAc}_3\text{-3}$, 12, 13, 14 і 15), спрямованих на SRB-1, *in vivo*

Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Неспарений ISIS 353382 включили в якості стандарту. Кожна з груп кон'югату GalNAc_3 була приєднана до 5'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фрагмента, що розщеплюється фосфодіестер-зв'язаного 2'-дезоксиденозинового нуклеозиду.

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кон'югат	SEQ ID NO
353382	$G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	немає	829
661161	$GalNAc_3-3a-o' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	GalNAc ₃ -3	831
671144	$GalNAc_3-12a-o' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	GalNAc ₃ -12	831
670061	$GalNAc_3-13a-o' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	GalNAc ₃ -13	831
671261	$GalNAc_3-14a-o' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	GalNAc ₃ -14	831
671262	$GalNAc_3-15a-o' A_{do} G_{es}^m C_{es} T_{es} T_{es}^m C_{es} A_{ds} G_{ds} T_{ds}^m C_{ds} A_{ds} T_{ds} G_{ds} A_{ds}^m C_{ds} T_{ds} T_{es}^m C_{es}^m C_{es} T_{es} T_e$	GalNAc ₃ -15	831

Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o'" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39. Структура GalNAc₃-12_a показана раніше в Прикладі 61. Структура GalNAc₃-13_a показана раніше в Прикладі 62. Структура GalNAc₃-14_a показана раніше в Прикладі 63. Структура GalNAc₃-15_a показана раніше в Прикладі 64.

Лікування

Шости-восьмитижневим мишам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) один або два рази ввели підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 353382, 661161, 671144, 670061, 671261, 671262 або сольового розчину. Миши, яким вводили дозу два рази, другу дозу вводили через три дні після першої дози. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

Як показано в Таблиці 55, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Значної різниці нокдауну мішені між тваринами, які отримували одну дозу, і тваринами, які отримували дві дози не спостерігалось (див. ISIS 353382 у дозах 30 і 2 × 15 мг/кг; і ISIS 661161 у дозах 5 і 2 × 2,5 мг/кг). Антисмислові олігонуклеотиди, містять фосфодіестер-зв'язані кон'югати GalNAc₃-3, 12, 13, 14 і 15, демонструють істотне посилення ефективності, порівняно з несполученим антисмисловим олігонуклеотидом (ISIS 335382).

Таблиця 55

МРНК SRB-1 (% від сольового розчину)

ISIS №	Доза (мг/кг)	МРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	ЕД ₅₀ (мг/кг)	Кон'югат
Сольовий розчин	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
353382	3	85,0	22,4	немає
	10	69,2		
	30	34,2		
	2 × 15	36,0		
661161	0,5	87,4	2,2	GalNAc ₃ -3
	1,5	59,0		
	5	25,6		
	2 × 2,5	27,5		
671144	15	17,4	3,4	GalNAc ₃ -12
	0,5	101,2		
	1,5	76,1		
	5	32,0		
670061	15	17,6	2,1	GalNAc ₃ -13
	0,5	94,8		
	1,5	57,8		
	5	20,7		
671261	15	13,3	4,1	GalNAc ₃ -14
	0,5	110,7		
	1,5	81,9		
	5	39,8		
671262	15	14,1	9,8	GalNAc ₃ -15
	0,5	109,4		
	1,5	99,5		
	5	69,2		
	15	36,1		

Рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) і аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці заміряли до мишей, ін'єктованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином (дані не показані). Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 56.

Таблиця 56

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кон'югат
Сольовий розчин	н.д.	28	60	0,1	39	н.д.
353382	3	30	77	0,2	36	немає
	10	25	78	0,2	36	
	30	28	62	0,2	35	
	2 × 15	22	59	0,2	33	
661161	0,5	39	72	0,2	34	GalNAc ₃ -3
	1,5	26	50	0,2	33	
	5	41	80	0,2	32	
	2 × 2,5	24	72	0,2	28	
	15	32	69	0,2	36	

Таблиця 56

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кон'югат
671144	0,5	25	39	0,2	34	GalNAc ₃ -12
	1,5	26	55	0,2	28	
	5	48	82	0,2	34	
	15	23	46	0,2	32	
670061	0,5	27	53	0,2	33	GalNAc ₃ -13
	1,5	24	45	0,2	35	
	5	23	58	0,1	34	
	15	24	72	0,1	31	
671261	0,5	69	99	0,1	33	GalNAc ₃ -14
	1,5	34	62	0,1	33	
	5	43	73	0,1	32	
	15	32	53	0,2	30	
671262	0,5	24	51	0,2	29	GalNAc ₃ -15
	1,5	32	62	0,1	31	
	5	30	76	0,2	32	
	15	31	64	0,1	32	

Приклад 66: Вплив різних фрагментів, що розщеплюються на антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, які містять кластер 5'-GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Кожна з груп кон'югату GalNAc₃ була приєднана до 5'-кінця відповідного олігонуклеотиду за допомогою фосфодіестер-зв'язаного нуклеозиду (фрагмент, що розщеплюється (CM)).

Таблиця 57

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
661161	GalNAc ₃ -3 _{a-o} -A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	831
670699	GalNAc ₃ -3 _{a-o} -T _{do} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	T _d	834
670700	GalNAc ₃ -3 _{a-o} -A _{eo} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _e	831
670701	GalNAc ₃ -3 _{a-o} -T _{eo} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	T _e	834
671165	GalNAc ₃ -13 _{a-o} -A _{do} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	831

10 Заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

15 Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39. Структура GalNAc₃-13a показана раніше в Прикладі 62.

Лікування

20 Шости-восьмитижневим мишам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, сполуки ISIS 661161, 670699, 670700, 670701, 671165 або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-

1 в печінці за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізовані до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

5

Як показано в Таблиці 58, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Всі антисмислові олігонуклеотиди, що містять різні фрагменти, що розщеплюються, демонструють однакову ефективність.

Таблиця 58

мРНК SRB-1(% від сольового розчину)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	СМ
Сольовий розчин	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
661161	0,5	87,8	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	61,3		
	5	33,8		
	15	14,0		
670699	0,5	89,4	GalNAc ₃ -3a	T _d
	1,5	59,4		
	5	31,3		
	15	17,1		
670700	0,5	79,0	GalNAc ₃ -3a	A _e
	1,5	63,3		
	5	32,8		
	15	17,9		
670701	0,5	79,1	GalNAc ₃ -3a	T _e
	1,5	59,2		
	5	35,8		
	15	17,7		
671165	0,5	76,4	GalNAc ₃ -13a	A _d
	1,5	43,2		
	5	22,6		
	15	10,0		

10

Рівні трансамінази печінки, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці вимірювали щодо мишей, ін'єктованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином (дані не показані). Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 56.

15

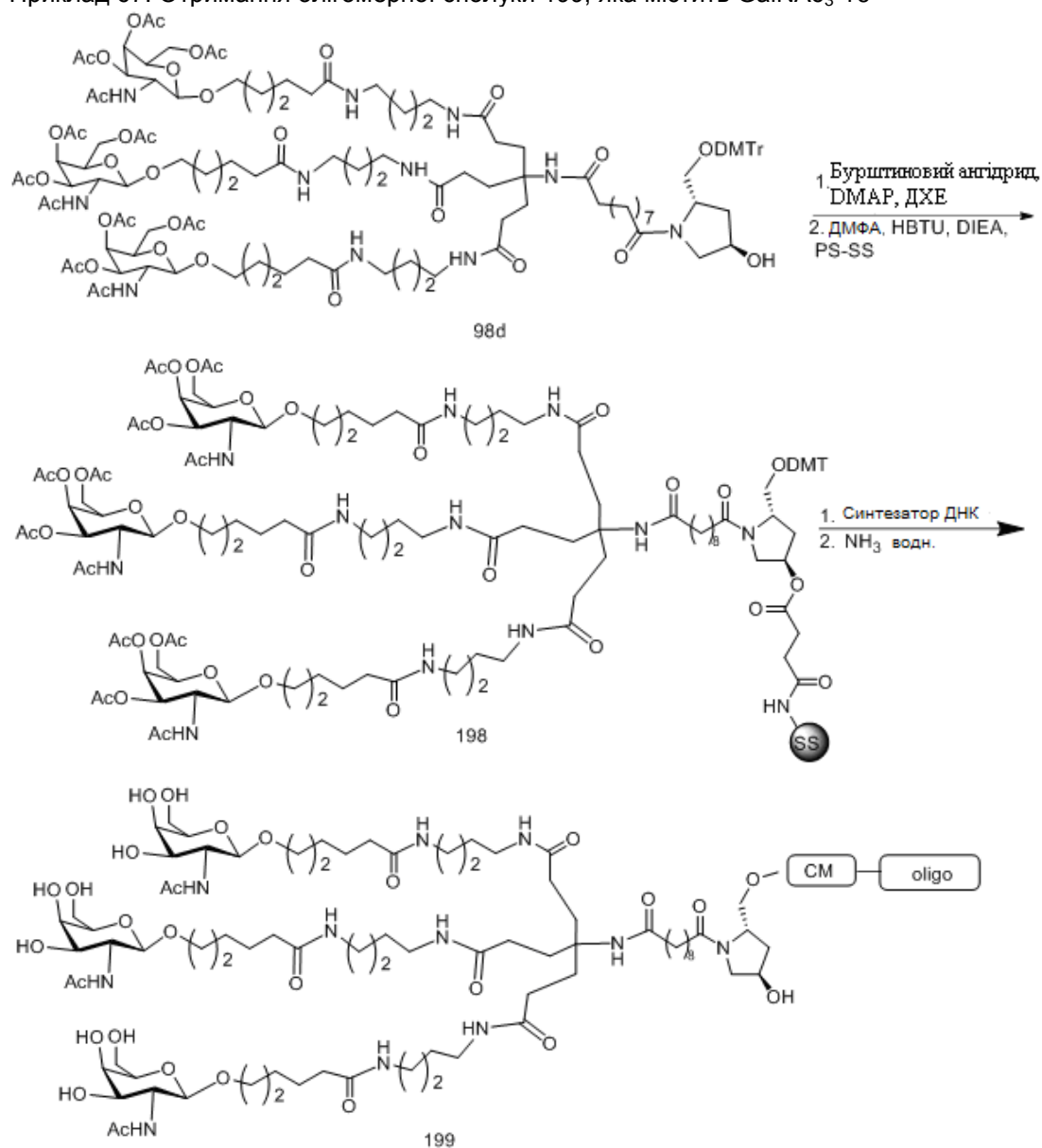
Таблиця 59

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	СМ
Сольовий розчин	н.д.	24	64	0,2	31	н.д.	н.д.
661161	0,5	25	64	0,2	31	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	24	50	0,2	32		
	5	26	55	0,2	28		
	15	27	52	0,2	31		
670699	0,5	42	83	0,2	31	GalNAc ₃ -3a	T _d
	1,5	33	58	0,2	32		
	5	26	70	0,2	29		
	15	25	67	0,2	29		

Таблиця 59

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	СМ
670700	0,5	40	74	0,2	27	GalNAc ₃ -3a	A _e
	1,5	23	62	0,2	27		
	5	24	49	0,2	29		
	15	25	87	0,1	25		
670701	0,5	30	77	0,2	27	GalNAc ₃ -3a	T _e
	1,5	22	55	0,2	30		
	5	81	101	0,2	25		
	15	31	82	0,2	24		
671165	0,5	44	84	0,2	26	GalNAc ₃ -13a	A _d
	1,5	47	71	0,1	24		
	5	33	91	0,2	26		
	15	33	56	0,2	29		

Приклад 67: Отримання олігомерної сполуки 199, яка містить GalNAc₃-16

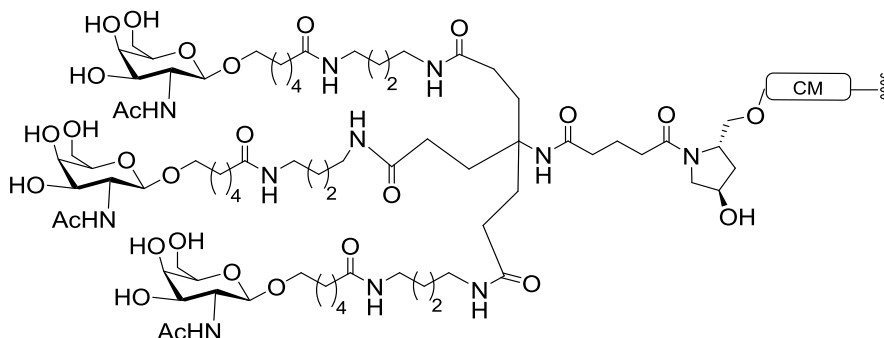


Олігомерну сполуку 199, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-16, отримали за допомогою

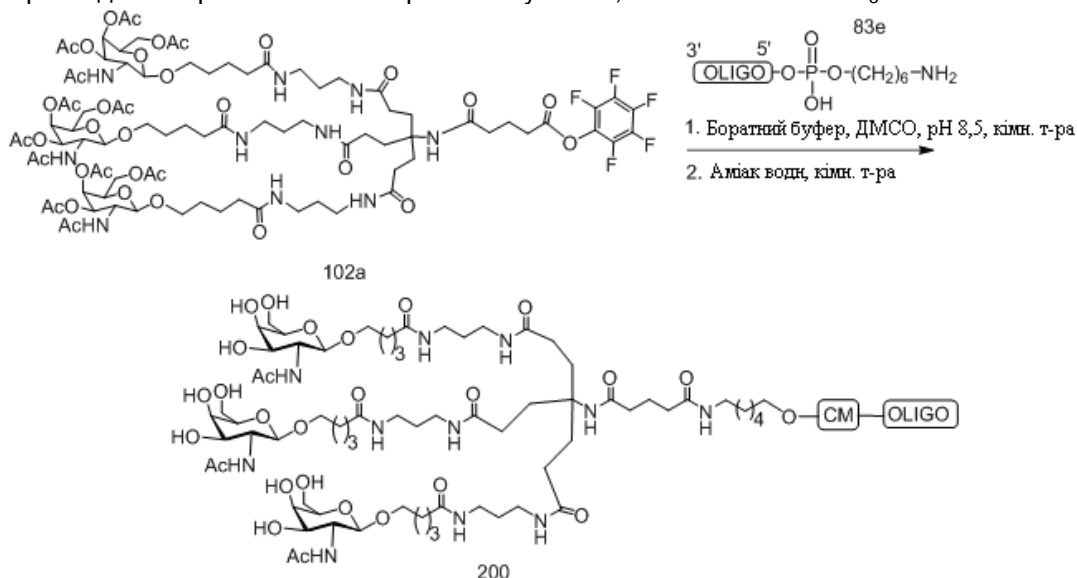
загальних способів, наведених у Прикладах 7 і 9. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-16 (GalNAc₃-16_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-16 (GalNAc₃-16_a-CM-) представлена

5

нижче:



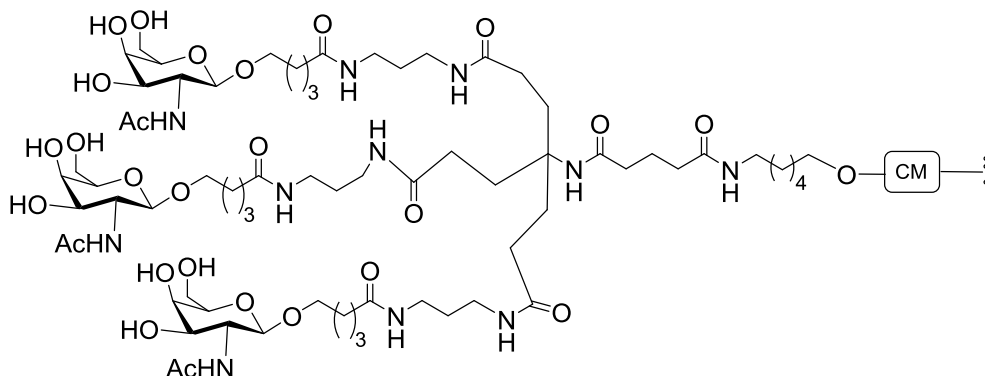
Приклад 68: Отримання олігомерної сполуки 200, яка містить GalNAc₃-17



Олігомерну Сполуку 200, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-17, отримали загальними способами, представленими у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-17 (GalNAc₃-17_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-17 (GalNAc₃-17_a-CM-) представлена

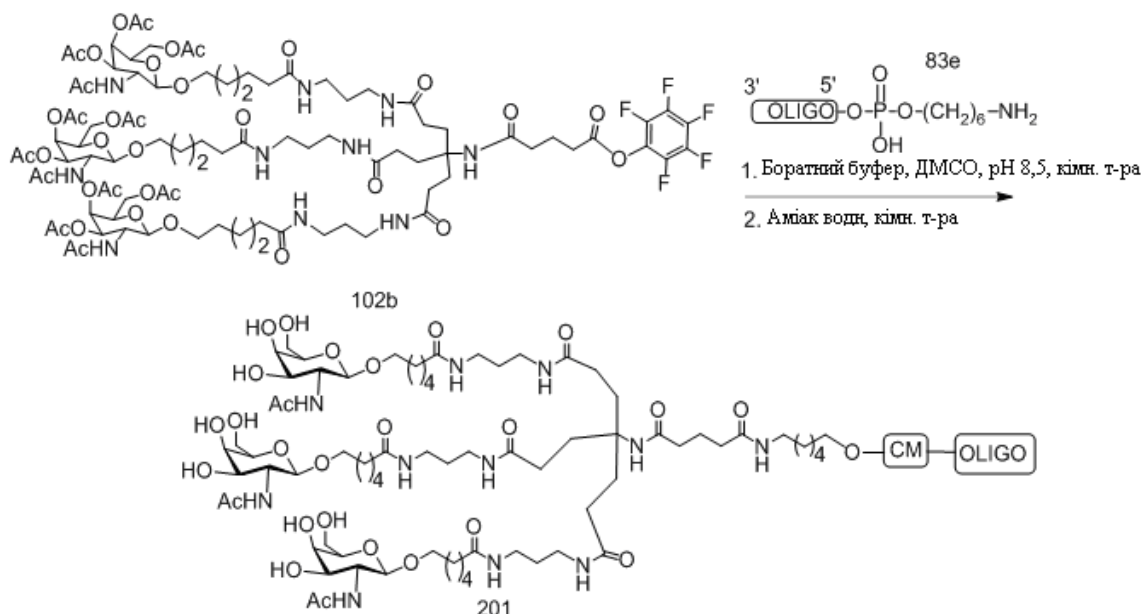
10

нижче:

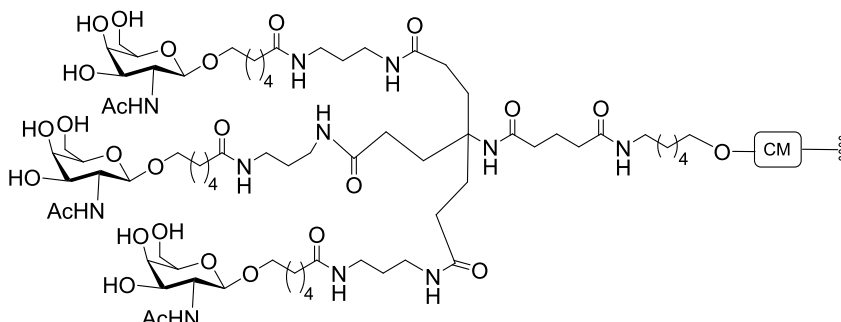


15

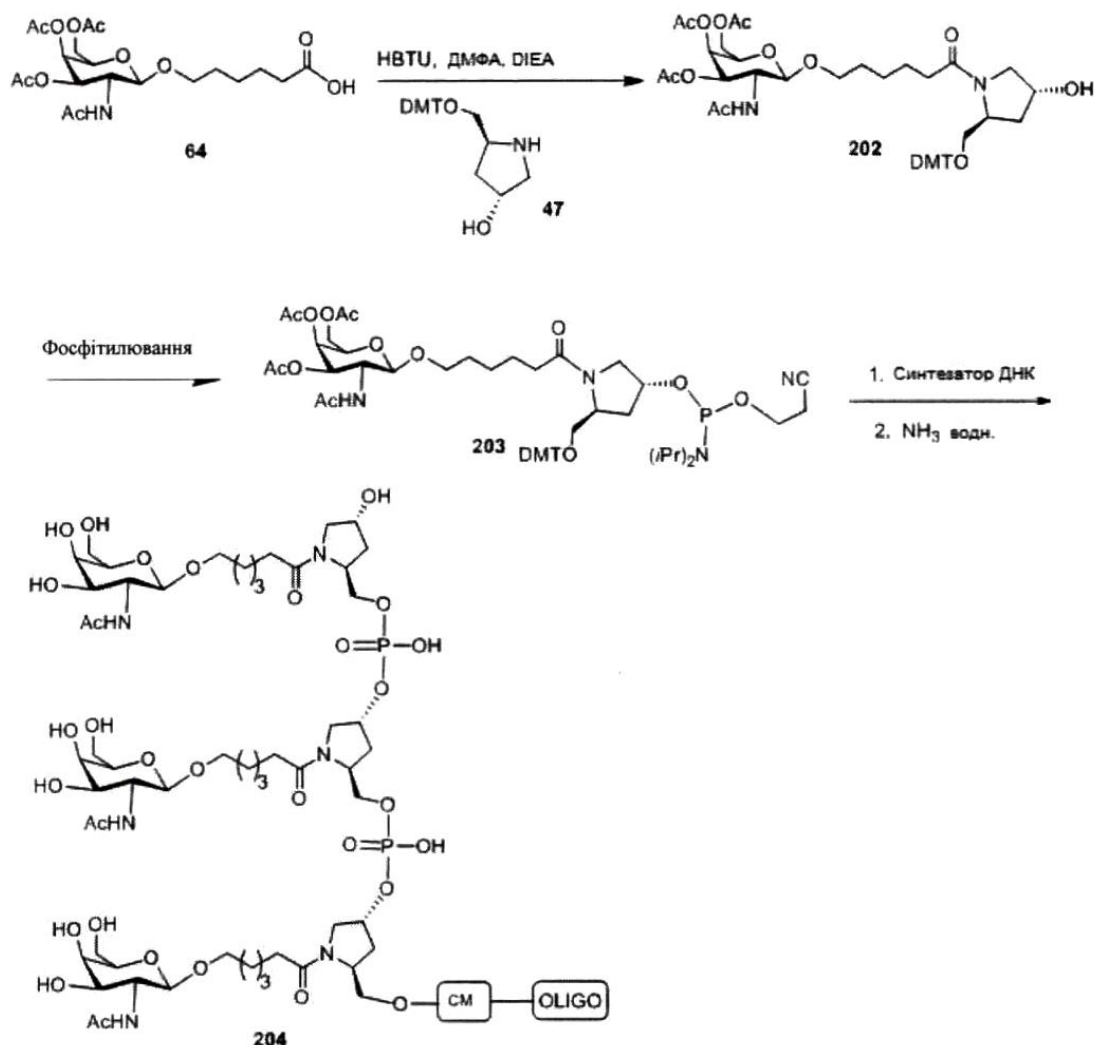
Приклад 69: Отримання олігомерної сполуки 201, містить GalNAc₃-18



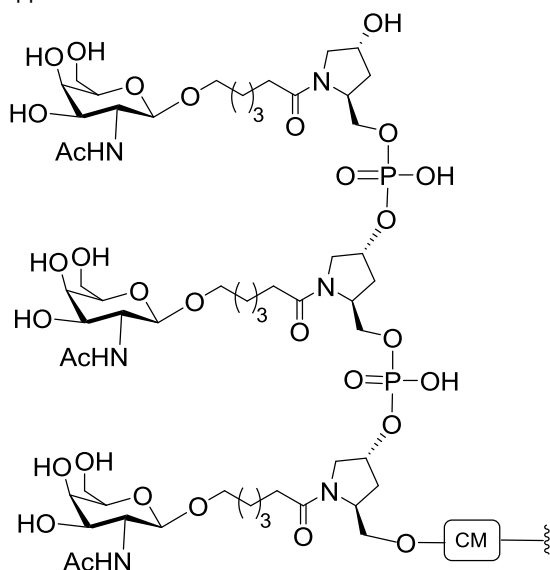
Олігомерну Сполуку 201, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-18, отримали загальним способом, представленим у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-18 (GalNAc₃-18_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-18 (GalNAc₃-18_a-CM-) представлена нижче:



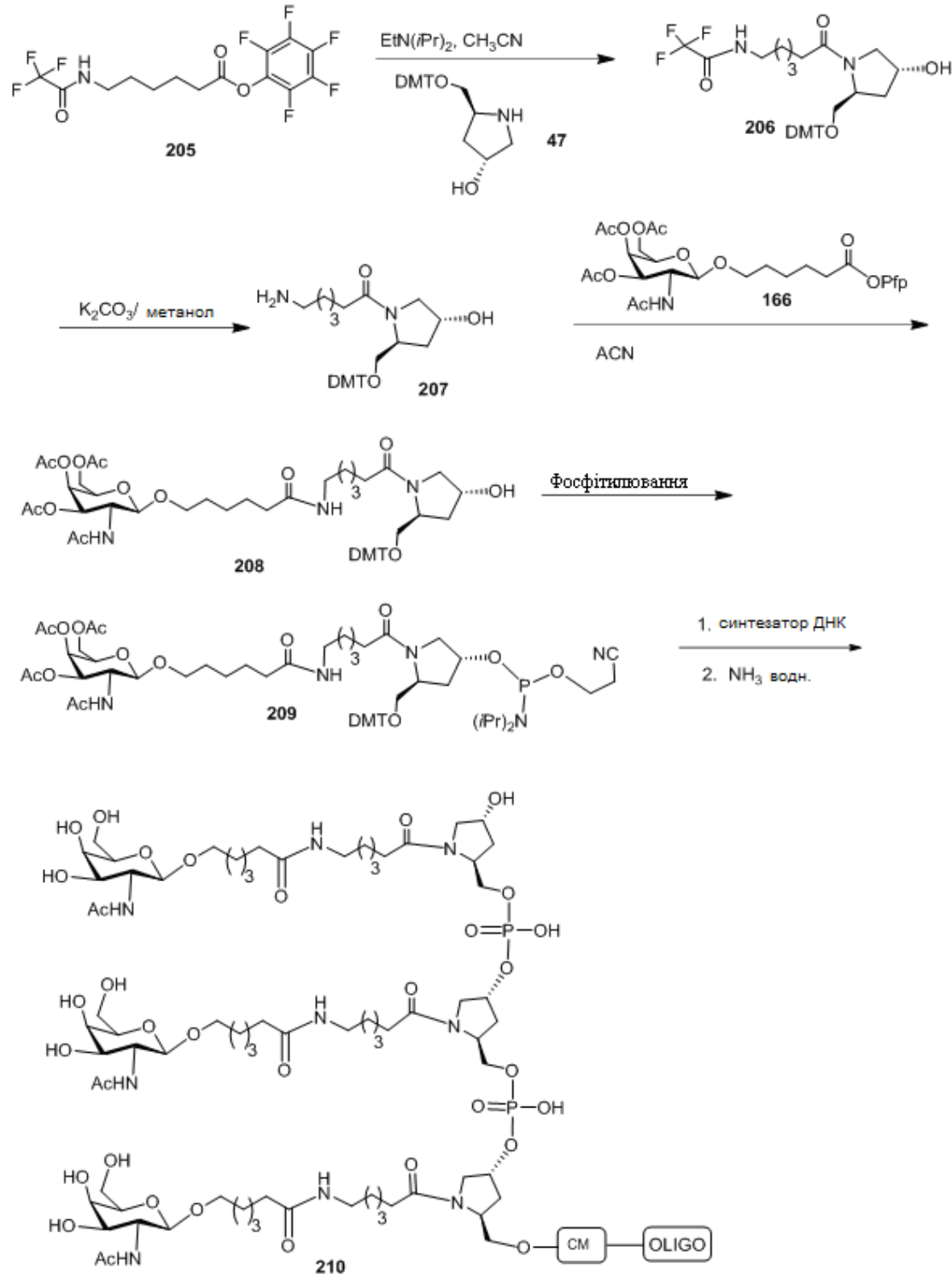
10 Приклад 70: Отримання олігомерної сполуки 204, що містить GalNAc₃-19



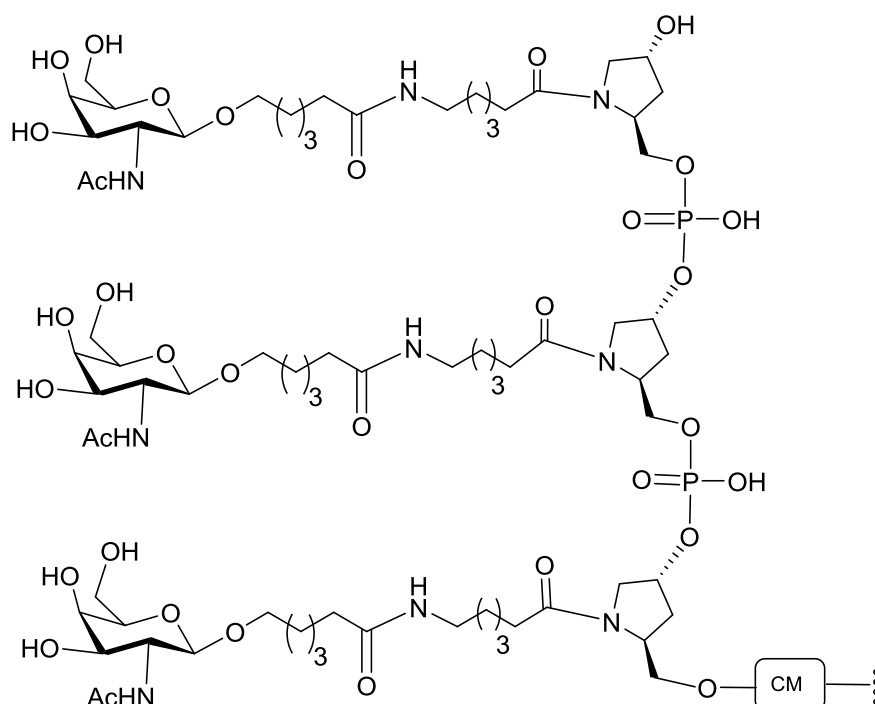
- Олігомерну сполуку 204, що містить групу кон'югату GalNAc₃-19, отримали зі сполуки 64, використовуючи загальні способи, описані в Прикладі 52. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-19 (GalNAc₃-19_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-19 (GalNAc₃-19_a-CM-) представлена нижче:



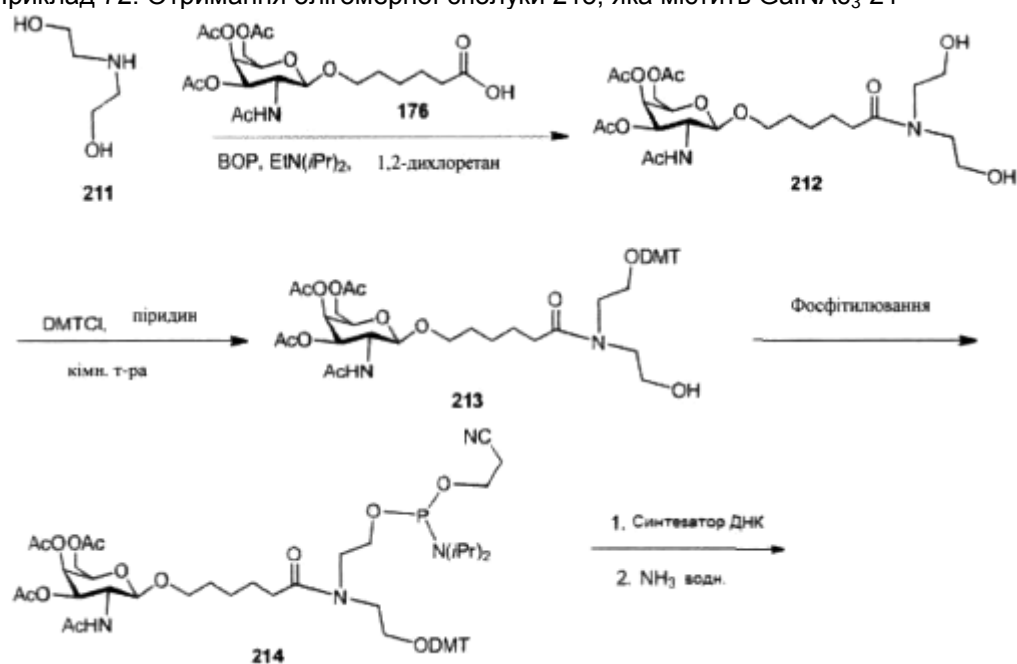
Приклад 71: Отримання олігомерної сполуки 210, яка містить GalNAc₃-20

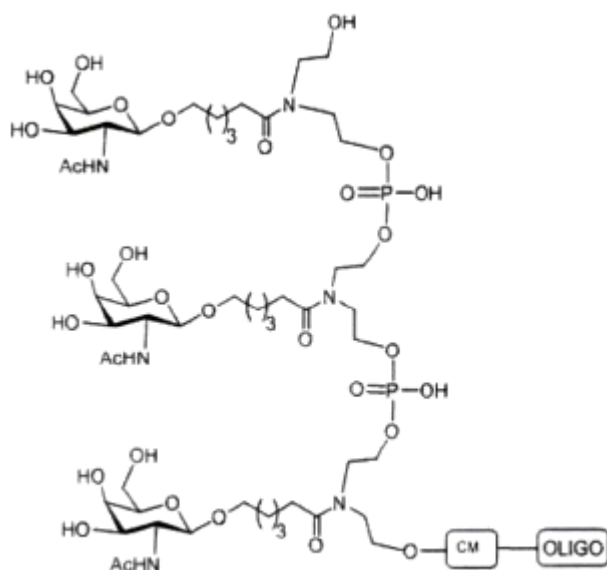


Сполуку 205 отримали додаванням PFP-ТФК і DIEA до 6-(2,2,2-трифторацетамідо) рексанової кислоти в ацетонітрилі, яку отримали додаванням трифтороцтового ангідриду до 6-аміногексанової кислоти. Реакційну суміш нагрівали до 80 °С, потім охолодили до кімнатної температури. Олігомерну сполуку 210, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-20, отримали зі сполуки 208, використовуючи загальні способи, представлені в Прикладі 52. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-20 (GalNAc₃-20_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-20 (GalNAc₃-20_a-CM-) представлена нижче:



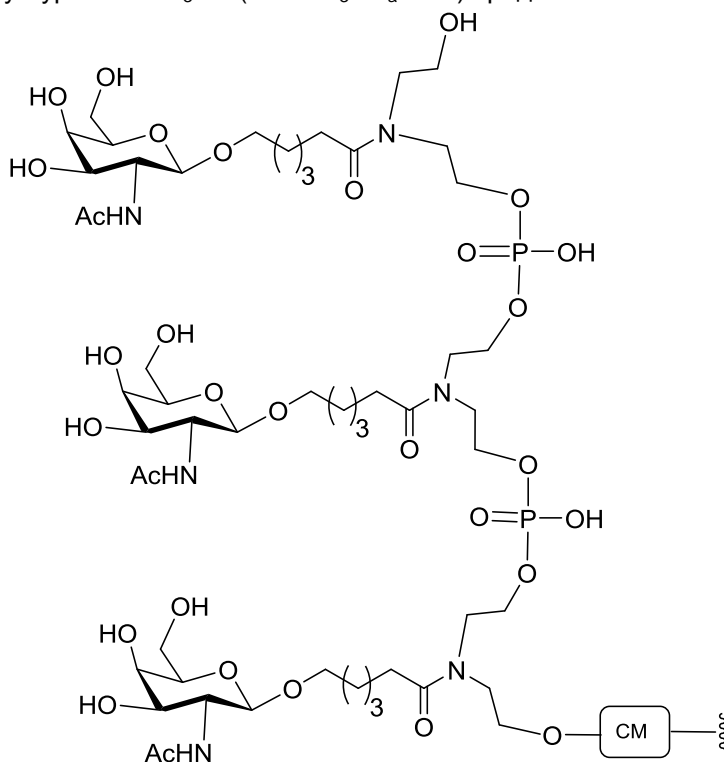
Приклад 72: Отримання олігомерної сполуки 215, яка містить $\text{GaInAc}_3\text{-}21$

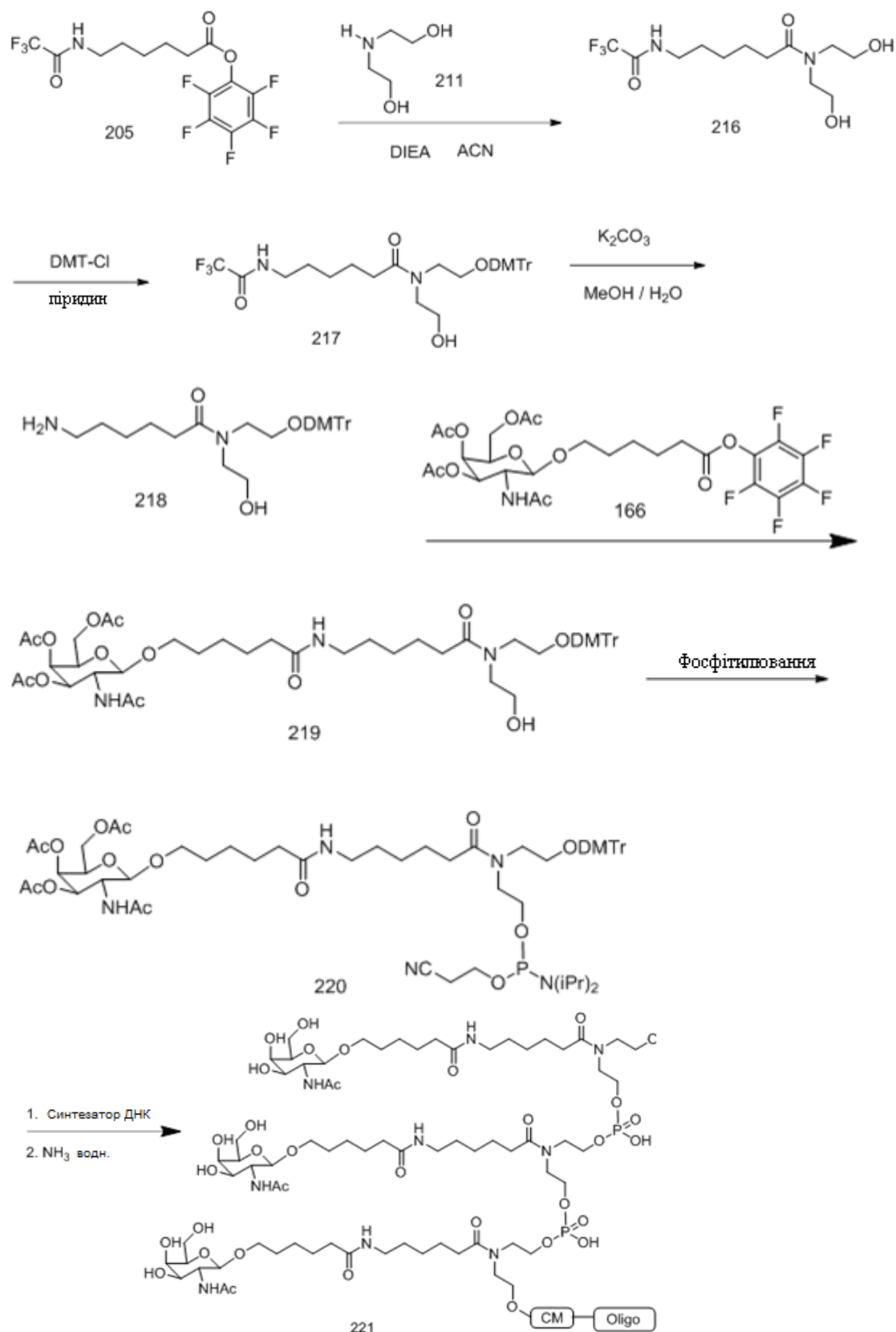




215

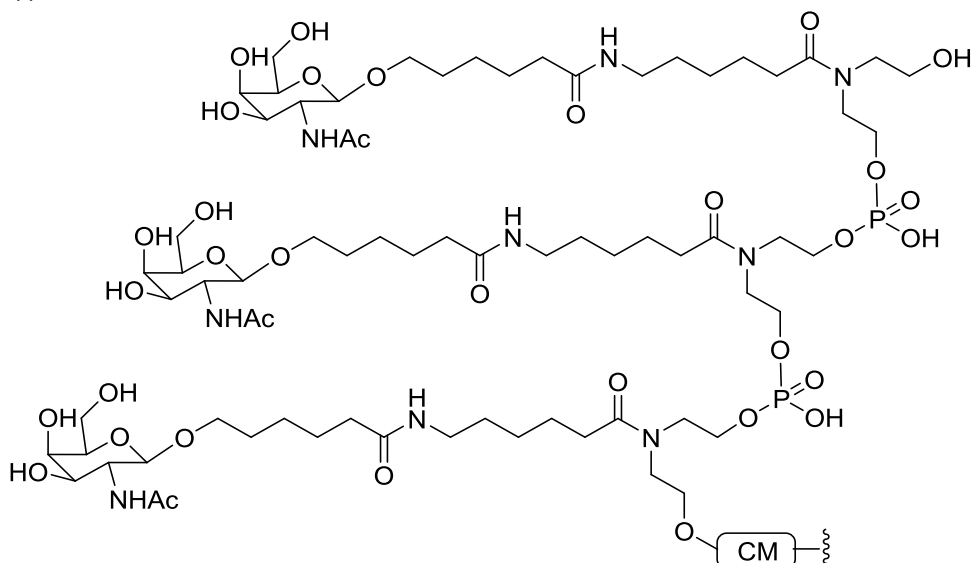
- 5 Сполука 211 є у продажу. Олігомерну сполуку 215, яка містить групу кон'югату GalNAc₃-21, отримали зі сполуки 213, використовуючи загальні способи, представлені в Прикладі 52. Кластерна частина GalNAc₃ групи кон'югату GalNAc₃-21 (GalNAc₃-21_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою -P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-. Структура GalNAc₃-21 (GalNAc₃-21_a-CM-) представлена нижче:

Приклад 73: Отримання олігомерної сполуки 221, яка містить GalNAc₃-22



5. Сполуку 220 отримали зі сполуки 219, використовуючи тетразолід діізопропіламонію. Олігомерну сполуку 221, яка містить групу кон'югату $GalNAc_3$ -21, отримали зі сполуки 220, використовуючи загальний спосіб, описаний у Прикладі 52. Кластерна частина $GalNAc_3$ групи кон'югату $GalNAc_3$ -22 ($GalNAc_3$ -22_a) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації фрагмент, що розщеплюється являє собою $-P(=O)(OH)-A_d-P(=O)(OH)-$. Структура $GalNAc_3$ -22 ($GalNAc_3$ -22_a-CM-

) представлена нижче:



Приклад 74: Вплив різних фрагментів, що розщеплюються на антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, що містять кон'югат 5'-GalNAc₃

- 5 Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей. Кожна з груп кон'югату GalNAc₃ була приєднана до 5'-кінця відповідного олігонуклеотиду.

Таблиця 60

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
353382	G ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} G ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} T ^{es} _{es} G ^{es} _{es} A ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es}	н.д.	н.д.	829
661161	GalNAc ₃ -3 _a -o ^o -A ^{do} _{es} G ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} G ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} T ^{es} _{es} G ^{es} _{es} A ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es}	GalNAc ₃ -3a	A _d	831
666904	GalNAc ₃ -3 _a -o ^o -G ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} G ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} T ^{es} _{es} G ^{es} _{es} A ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es}	GalNAc ₃ -3a	PO	829
675441	GalNAc ₃ -17 _a -o ^o -A ^{do} _{es} G ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} G ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} T ^{es} _{es} G ^{es} _{es} A ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es}	GalNAc ₃ -17a	A _d	831
675442	GalNAc ₃ -18 _a -o ^o -A ^{do} _{es} G ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} G ^{es} _{es} T ^{es} _{es} C ^{es} _{es} A ^{es} _{es} T ^{es} _{es} G ^{es} _{es} A ^{es} _{es} C ^{es} _{es} T ^{es} _{es} T ^{es} _{es}	GalNAc ₃ -18a	A _d	831

- 10 У всіх таблицях заголовні букви вказують азотисту основу для кожного нуклеозиду, а ^mC означає 5-метилцитозин. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "s" означає тіофосфатний міжнуклеозидний лінкер (PS); "o" означає фосфодіестерний міжнуклеозидний лінкер (PO); і "o" означає OP(=O)(OH)-. Групи кон'югату виділені жирним.

- 15 Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39. Структура GalNAc₃-17a показана раніше в Прикладі 68, а структура GalNAc₃-18a показана раніше в Прикладі 69.

Лікування

- Шости-восьмитижневим мишам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленого нижче, олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 60, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

Як показано в Таблиці 61, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином. Антисмислові олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, демонструють рівні ефективності і є значно більш ефективними, ніж вихідний олігонуклеотид, який не має кон'югату GalNAc.

5

Таблиця 61

мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	СМ
Сольовий розчин	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
353382	3	79,38	н.д.	н.д.
	10	68,67		
	30	40,70		
661161	0,5	79,18	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	75,96		
	5	30,53		
	15	12,52		
666904	0,5	91,30	GalNAc ₃ -3a	PO
	1,5	57,88		
	5	21,22		
	15	16,49		
675441	0,5	76,71	GalNAc ₃ -17a	A _d
	1,5	63,63		
	5	29,57		
	15	13,49		
675442	0,5	95,03	GalNAc ₃ -18a	A _d
	1,5	60,06		
	5	31,04		
	15	19,40		

Рівні трансамінази печінки, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином (дані не показані). Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 62.

10

Таблиця 62

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	СМ
Сольовий розчин	н.д.	26	59	0,16	42	н.д.	н.д.
353382	3	23	58	0,18	39	н.д.	н.д.
	10	28	58	0,16	43		
	30	20	48	0,12	34		
661161	0,5	30	47	0,13	35	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	23	53	0,14	37		
	5	26	48	0,15	39		
	15	32	57	0,15	42		
666904	0,5	24	73	0,13	36	GalNAc ₃ -3a	PO
	1,5	21	48	0,12	32		
	5	19	49	0,14	33		
	15	20	52	0,15	26		

Таблиця 62

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	СМ
675441	0,5	42	148	0,21	36	GalNAc ₃ -17a	A _d
	1,5	60	95	0,16	34		
	5	27	75	0,14	37		
	15	24	61	0,14	36		
675442	0,5	26	65	0,15	37	GalNAc ₃ -18a	A _d
	1,5	25	64	0,15	43		
	5	27	69	0,15	37		
	15	30	84	0,14	37		

Приклад 75: Фармакокінетичний аналіз олігонуклеотидів, які містять 5'-групу кон'югату

- 5 ФК ASO, представлених вище в таблицях 54, 57 та 60, оцінили з використанням зразків печінки, які отримали після виконання способів лікування, описаних у Прикладах 65, 66, 74. Зразки печінки подрібнили і екстрагували за стандартними протоколами, та аналізували за допомогою ІП-ВЕРХ-МС разом з внутрішнім стандартом. Сумарний рівень (мкг/г) усіх метаболітів у тканині виміряли інтегруванням відповідних УФ піків, а рівні у тканини ASO повної довжини, що не містять кон'югату ("початкове", в цьому випадку Isis № 353382), виміряли з використанням відповідних іон-екстракційних хроматограм (EIC).
- 10

Таблиця 63

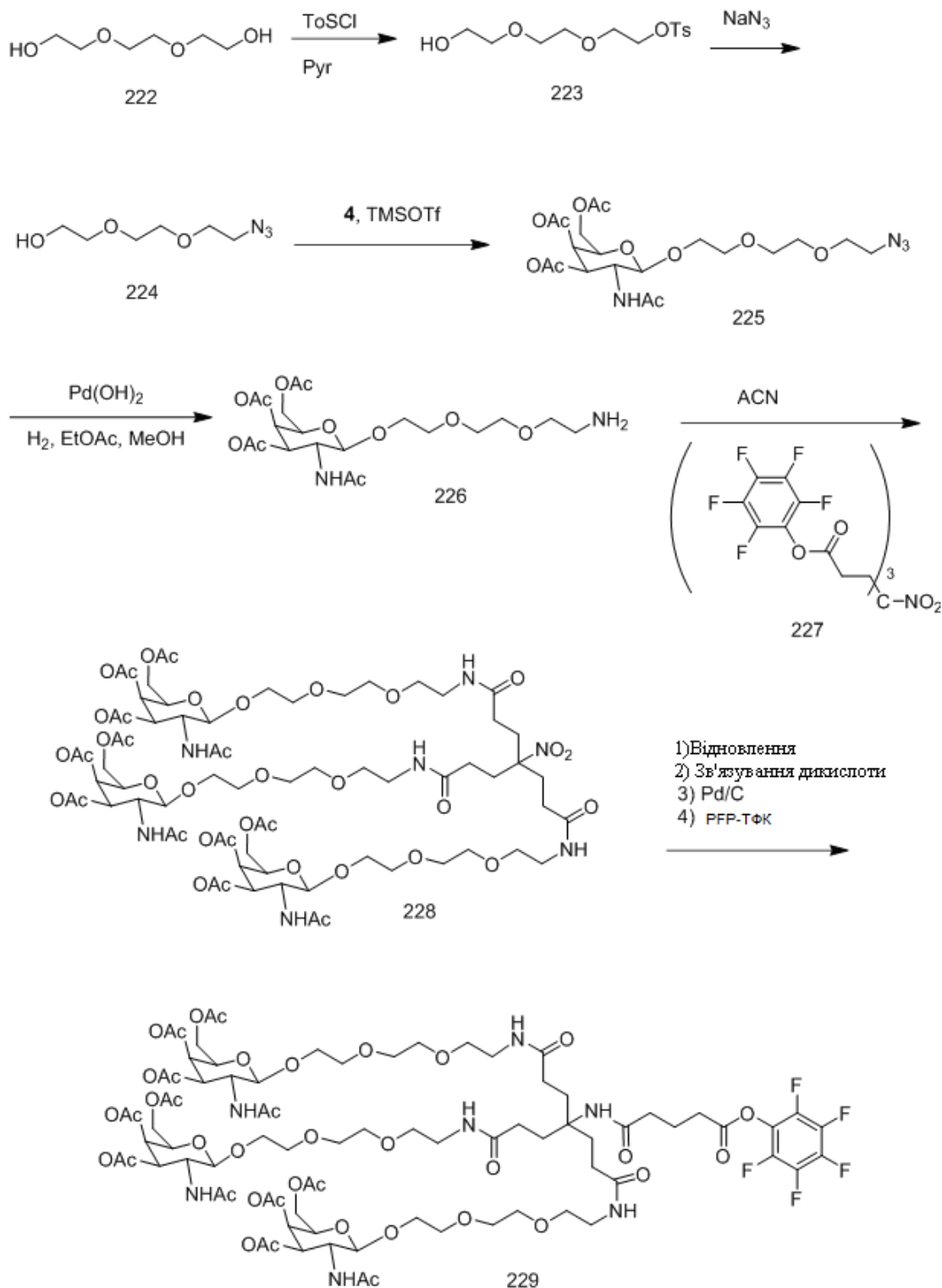
ФК аналіз у печінці

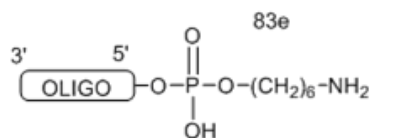
ISIS №	Доза (мг/кг)	Загальний рівень в печінці з УФ (мкг/г)	Рівень вихідного ASO в печінці за EIC (мкг/г)	Кластер GalNAc ₃	СМ
353382	3	8,9	8,6	Н.Д.	Н.Д.
	10	22,4	21,0		
	30	54,2	44,2		
661161	5	32,4	20,7	GalNAc ₃ -3a	A _d
	15	63,2	44,1		
671144	5	20,5	19,2	GalNAc ₃ -12a	A _d
	15	48,6	41,5		
670061	5	31,6	28,0	GalNAc ₃ -13a	A _d
	15	67,6	55,5		
671261	5	19,8	16,8	GalNAc ₃ -14a	A _d
	15	64,7	49,1		
671262	5	18,5	7,4	GalNAc ₃ -15a	A _d
	15	52,3	24,2		
670699	5	16,4	10,4	GalNAc ₃ -3a	T _d
	15	31,5	22,5		
670700	5	19,3	10,9	GalNAc ₃ -3a	A _e
	15	38,1	20,0		
670701	5	21,8	8,8	GalNAc ₃ -3a	T _e
	15	35,2	16,1		
671165	5	27,1	26,5	GalNAc ₃ -13a	A _d
	15	48,3	44,3		
666904	5	30,8	24,0	GalNAc ₃ -3a	PO
	15	52,6	37,6		
675441	5	25,4	19,0	GalNAc ₃ -17a	A _d
	15	54,2	42,1		
675442	5	22,2	20,7	GalNAc ₃ -18a	A _d
	15	39,6	29,0		

Результати, представлені вище в Таблиці 63, демонструють, що спостерігали більш високі

- рівні в печінці олігонуклеотидів, що містять групу кон'югату GalNAc₃, ніж вихідного олігонуклеотиду, який не містить групу GalNAc₃ (ISIS 353382) через 72 години після введення олігонуклеотиду, особливо з урахуванням введення різних доз для олігонуклеотидів з групою кон'югату GalNAc₃ і без неї. Крім того, через 72 години 40-98 % кожного олігонуклеотиду, що містить групу кон'югату GalNAc₃, було метаболізовано до вихідної сполуки, що вказує на те, що групи кон'югату GalNAc₃ розщеплюються в зазначених олігонуклеотидах.

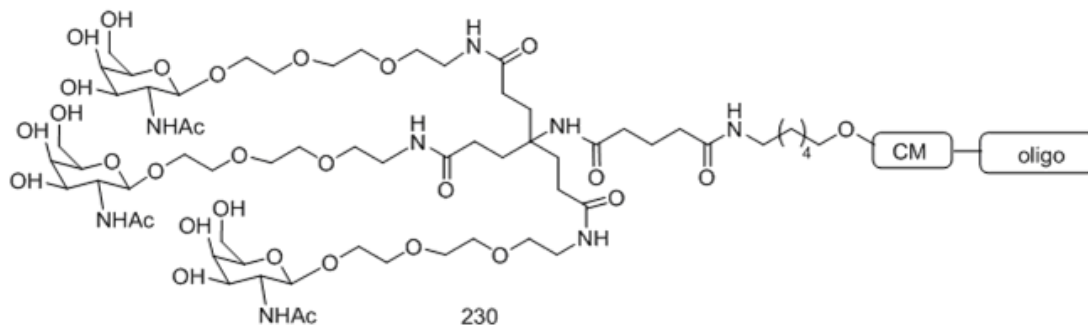
Приклад 76: Отримання олігомерної сполуки 230, яка містить GalNAc₃-23





1. Боратний буфер, ДМСО, рН 8,5, кімн. т-ра

2. Аміак водн, кімн. т-ра

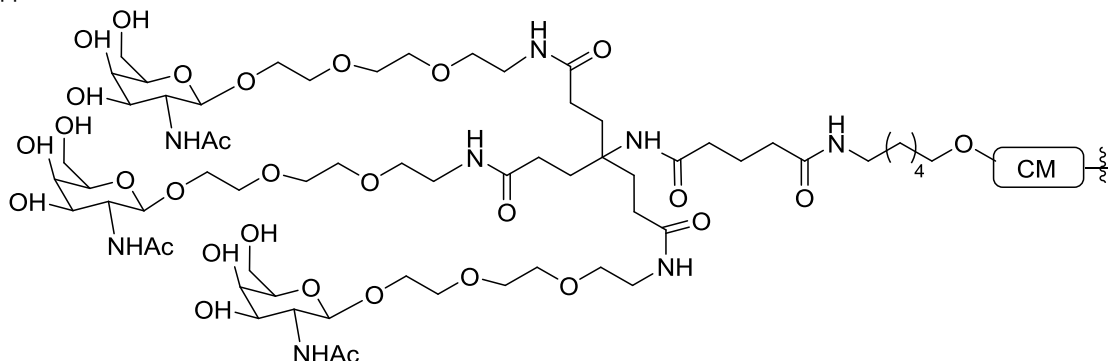


Сполука 222 є у продажу. 44,48 мл (0,33 моль) сполуки 222 обробляли тозилхлоридом (25,39 г, 0,13 моль) в піридині (500 мл) протягом 16 годин. Потім реакційну суміш випарували до маслянистої речовини, розчинили в EtOAc і промили водою, насиченим розчином NaHCO_3 , насиченим сольовим розчином і висушили над Na_2SO_4 . Етилацетат концентрували насуху і очистили колоночною хроматографією, елюїровали EtOAc у гексанах (1:1), потім 10 % метанолу в CH_2Cl_2 з отриманням сполуки 223 у вигляді безбарвної маслянистої речовини. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. 10 г (32,86 ммоль) 1-тозилтриетилєнєліколю (сполука 223) обробляли азидом натрію (10,68 г, 164,28 ммоль) у ДМСО (100 мл) при кімнатній температурі протягом 17 годин. Потім реакційну суміш вилили у воду і екстрагували EtOAc. Органічний шар три рази промили водою і висушили над Na_2SO_4 . Органічний шар концентрували насуху з отриманням 5,3 г сполуки 224 (92 %). Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. 1-Азидотриетилєнєліколь (сполука 224, 5,53 г, 23,69 ммоль) та сполука 4 (6 г, 18,22 ммоль) обробили 4А молекулярними ситами (5 г) і TMSOTf (1,65 мл, 9,11 ммоль) у дихлорметані (100 мл) під інертною атмосферою. Через 14 годин реакційну суміш відфільтрували для видалення сит, а органічний шар промили насиченим розчином NaHCO_3 , водою, насиченим сольовим розчином і висушили над Na_2SO_4 . Органічний шар концентрували насуху і очистили колоночною хроматографією, елюїровали градієнтом від 2 до 4 % метанолу в дихлорметані з отриманням сполуки 225. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Сполуку 225 (11,9 г, 23,59 ммоль) гідризували в EtOAc/метанолі (4:1, 250 мл) на каталізаторі Перлмана. Через 8 годин каталізатор видалили фільтруванням, а розчинники видалили насуху з отриманням сполуки 226. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Для отримання сполуки 227 розчин нітрометантриспропіонової кислоти (4,17 г, 15,04 ммоль) та основу Хюніга (10,3 мл, 60,17 ммоль) у ДМФА (100 мл) по краплях обробили пентафтортрифторацетатом (9,05 мл, 52,65 ммоль). Через 30 хвилин реакційну суміш вилити в крижану воду і екстрагували EtOAc. Органічний шар промили водою, насиченим сольовим розчином і висушили над Na_2SO_4 . Органічний шар концентрували насуху, а потім перекристалізували з гептану з отриманням сполуки 227 у вигляді білої твердої речовини. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Сполуку 227 (1,5 г, 1,93 ммоль) і сполуку 226 (3,7 г, 7,74 ммоль) перемішували при кімнатній температурі в ацетонітрилі (15 мл) протягом 2 годин. Потім реакційну суміш випарували насуху і очистили колоночною хроматографією, елюїруючи градієнтом від 2 до 10 % метанолу в дихлорметані, з отриманням сполуки 228. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Сполуку 228 (1,7 г, 1,02 ммоль) обробили нікелем Ренея (близько 2 г, вологий) в етанолі (100 мл) в атмосфері водню. Через 12 годин каталізатор видалили фільтруванням, а органічний шар випарували до твердої речовини, яку використовували безпосередньо на наступній стадії. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Цю тверду речовину (0,87 г, 0,53 ммоль) обробили бензилглутаровою кислотою (0,18 г, 0,8 ммоль), HBTU (0,3 г, 0,8 ммоль) і DIEA (273,7 мкл, 1,6 ммоль) у ДМФА (5

мл). Через 16 годин ДМФА видалили при зниженому тиску при 65° до маслянистої речовини, і цю маслянисту речовину розчинили в дихлорметані. Органічний шар промили насиченим розчином NaHCO_3 , насиченим сольовим розчином і висушили над Na_2SO_4 . Після випарювання органічного шару сполуку очистили колонковою хроматографією і елюїровали градієнтом від 2 до 20 % метанолу в дихлорметані зв'язаного з отриманням продукту. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. З бензилового ефіру зняли захист на каталізаторі Перлмана в атмосфері водню протягом 1 години. Потім каталізатор видалили фільтруванням, а розчинники видалили насуху з отриманням кислоти. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Цю кислоту (486 мг, 0,27 ммоль) розчинили в сухому ДМФА (3 мл). Додали піридин (53,61 мкл, 0,66 ммоль) і продули реакційну суміш аргонном. До реакційної суміші повільно додали пентафторфенілтрифторацетат (46,39 мкл, 0,4 ммоль). Колір реакційної суміші змінився з блідо-жовтого на винний, та з'явився легкий димок, який випарувався з потоком аргону. Реакційну суміш залишили перемішуватися при кімнатній температурі на одну годину (завершення реакції підтвердили РХМС). Розчинник видалили при зниженому тиску (ротаційний випарник) при 70 °С. Залишок розбавили ДХМ і промили 1 н. NaHSO_4 , насиченим сольовим розчином, насиченим розчином бікарбонату натрію і знову насиченим сольовим розчином. Органічний шар висушили над Na_2SO_4 , відфільтрували і концентрували насуху з отриманням 225 мг сполуки 229 у вигляді тендітної жовтої піни. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою.

Олігомерну сполуку 230, що містить групу кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-23}$, отримали зі сполуки 229, використовуючи загальний спосіб, описаний у Прикладі 46. Кластерна частина GalNAc_3 групи кон'югату $\text{GalNAc}_3\text{-23}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-23}_a$) може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Структура $\text{GalNAc}_3\text{-23}$ ($\text{GalNAc}_3\text{-23}_a\text{-CM}$) представлена нижче:



Приклад 77: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, що містять кон'югат GalNAc_3

Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Таблиця 64

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc_3	CM	SEQ ID NO
661161	$\text{GalNAc}_3\text{-3}_a\text{-o-A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNAc}_3\text{-3}_a$	A_{d}	831
666904	$\text{GalNAc}_3\text{-3}_a\text{-o-A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNAc}_3\text{-3}_a$	PO	829
673502	$\text{GalNAc}_3\text{-10}_a\text{-o-A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNAc}_3\text{-10}_a$	A_{d}	831
677844	$\text{GalNAc}_3\text{-9}_a\text{-o-A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNAc}_3\text{-9}_a$	A_{d}	831
677843	$\text{GalNAc}_3\text{-23}_a\text{-o-A}_{\text{do}}\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}$ $\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{e}}$	$\text{GalNAc}_3\text{-23}_a$	A_{d}	831
655861	$\text{G}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}\text{A}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}\text{G}_{\text{ds}}\text{A}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{ds}}\text{T}_{\text{ds}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{C}_{\text{es}}$ $\text{mC}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{es}}^{\text{m}}\text{T}_{\text{eo}}^{\text{m}}\text{A}_{\text{do}}\text{-GalNAc}_3\text{-1}_a$	$\text{GalNAc}_3\text{-1}_a$	A_{d}	830

Таблиця 64

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
677841	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} mC ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{do} '-GalNAc ₃ -19 _a	GalNAc ₃ -19a	A _d	830
677842	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} mC ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{do} '-GalNAc ₃ -20 _a	GalNAc ₃ -20a	A _d	830

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNAc₃-3_a показана в Прикладі 39, GalNAc₃-9_a показана в Прикладі 52, GalNAc₃-10_a показана в Прикладі 46, GalNAc₃-19_a показана в Прикладі 70, GalNAc₃-20_a показана в Прикладі 71 і GalNAc₃-23_a показана в Прикладі 76.

Лікування

Шости-восьмитижневим мишам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленого нижче, олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 64, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином.

Як показано в Таблиці 65, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином.

Таблиця 65

мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	CM
Сольовий розчин	н.д.	100,0	н.д.	н.д.
661161	0,5	89,18	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	77,02		
	5	29,10		
	15	12,64		
666904	0,5	93,11	GalNAc ₃ -3a	PO
	1,5	55,85		
	5	21,29		
	15	13,43		
673502	0,5	77,75	GalNAc ₃ -10a	A _d
	1,5	41,05		
	5	19,27		
	15	14,41		
677844	0,5	87,65	GalNAc ₃ -9a	A _d
	1,5	93,04		
	5	40,77		
	15	16,95		
677843	0,5	102,28	GalNAc ₃ -23a	A _d
	1,5	70,51		
	5	30,68		
	15	13,26		

Таблиця 65

мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	CM
655861	0,5	79,72	GalNAc ₃ -1a	A _d
	1,5	55,48		
	5	26,99		
	15	17,58		
677841	0,5	67,43	GalNAc ₃ -19a	A _d
	1,5	45,13		
	5	27,02		
	15	12,41		
677842	0,5	64,13	GalNAc ₃ -20a	A _d
	1,5	53,56		
	5	20,47		
	15	10,23		

5 Виміряли також рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін і азот сечовини крові (АМК). Перевірили зміну маси тіла, що істотно не відрізнялася від групи з сольовим розчином (дані не показані). Значення ALT, AST, загального білірубину та АМК представлені нижче в Таблиці 66.

Таблиця 66

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	CM
Сольовий розчин	н.д.	21	45	0,13	34	н.д.	н.д.
661161	0,5	28	51	0,14	39	GalNAc ₃ -3a	A _d
	1,5	23	42	0,13	39		
	5	22	59	0,13	37		
	15	21	56	0,15	35		
666904	0,5	24	56	0,14	37	GalNAc ₃ -3a	PO
	1,5	26	68	0,15	35		
	5	23	77	0,14	34		
	15	24	60	0,13	35		
673502	0,5	24	59	0,16	34	GalNAc ₃ -10a	A _d
	1,5	20	46	0,17	32		
	5	24	45	0,12	31		
	15	24	47	0,13	34		
677844	0,5	25	61	0,14	37	GalNAc ₃ -9a	A _d
	1,5	23	64	0,17	33		
	5	25	58	0,13	35		
	15	22	65	0,14	34		
677843	0,5	53	53	0,13	35	GalNAc ₃ -23a	A _d
	1,5	25	54	0,13	34		
	5	21	60	0,15	34		
	15	22	43	0,12	38		

Таблиця 66

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Загальний білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	CM
655861	0,5	21	48	0,15	33	GalNAc ₃ -1a	A _d
	1,5	28	54	0,12	35		
	5	22	60	0,13	36		
	15	21	55	0,17	30		
677841	0,5	32	54	0,13	34	GalNAc ₃ -19a	A _d
	1,5	24	56	0,14	34		
	5	23	92	0,18	31		
	15	24	58	0,15	31		
677842	0,5	23	61	0,15	35	GalNAc ₃ -20a	A _d
	1,5	24	57	0,14	34		
	5	41	62	0,15	35		
	15	24	37	0,14	32		

Приклад 78: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на ангіотензиноген, що містять кон'югат GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, перелічені нижче, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування ангіотензиногену (AGT) у нормотензивних щурів Спрег-Доулі.

Таблиця 67

Модифіковані ASO, спрямовані на AGT

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
552668	^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} G _{es} A _{es} T _e	н.д.	н.д.	835
669509	^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} G _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	836

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9.

10 Лікування

Шоститижневим самцям щурів Спрег-Доулі один раз на тиждень вводили підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, у цілому три дози олігонуклеотиду, представленого у Таблиці 67, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Щурів приспали через 72 години після останньої дози. Рівні мРНК AGT у печінці виміряли за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні білка AGT у плазмі виміряли за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу для визначення загального ангіотензиногену (кат. № JP27412, IBL International, Торонто, штат Онтаріо) з розведенням сироватки 1:20000. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток від рівнів мРНК AGT у печінці або від рівнів білка AGT у плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразку з PBS.

15

20

25

Як показано в Таблиці 68, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК AGT у печінці та рівні білка в плазмі дозозалежним чином, та олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, був значно ефективнішим, ніж вихідний олігонуклеотид, який не містить кон'югату GalNAc.

Таблиця 68

Рівні мРНК AGT у печінці та білка в плазмі

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК AGT у печінці (% PBS)	Білок AGT у плазмі (% PBS)	Кластер GalNAc ₃	CM
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.
552668	3	95	122	н.д.	н.д.
	10	85	97		
	30	46	79		
	90	8	11		
	0,3	95	70		
669509	1	95	129	GalNAc ₃ -1a	A _d
	3	62	97		
	10	9	23		
	10	9	23		

Виміряли також рівні трансамінази в печінці, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у плазмі, а також масу тіла у момент вбивства, використовуючи стандартні протоколи. Результати представлені нижче в Таблиці 69.

Таблиця 69

Рівні трансамінази печінки і маси тіла щурів

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Маса тіла (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM
PBS	н.д.	51	81	186	н.д.	н.д.
552668	3	54	93	183	н.д.	н.д.
	10	51	93	194		
	30	59	99	182		
	90	56	78	170		
669509	0,3	53	90	190	GalNAc ₃ -1a	A _d
	1	51	93	192		
	3	48	85	189		
	10	56	95	189		

Приклад 79: Тривалість дії in vivo олігонуклеотидів, спрямованих на АРОС-III, що містять кон'югат GalNAc₃

Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 70, випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Таблиця 70

Модифіковані ASO, спрямовані на АРОС-III

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m T _{es} A _{es} T _e	н.д.	н.д.	821
647535	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m T _{es} A _{es} T _e GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1a	A _d	822
663083	GalNAc ₃ -3 _a -o _a -A _{do} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	837
674449	GalNAc ₃ -7 _a -o _a -A _{do} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -7a	A _d	837
674450	GalNAc ₃ -10 _a -o _a -A _{do} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} ^m T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -10a	A _d	837

Таблиця 70

Модифіковані ASO, спрямовані на АРОС-III

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
674451	GalNAc ₃ -13 _a -o ₁ A _{do} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	837

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39, GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48, GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46 і GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62.

5 Лікування

Шости-восьмитижневим трансгенним мишам, які експресують людський АРОС-III, ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 70, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 3 тварин. Зразки крові брали до введення дози для визначення вихідного значення, а також через 72 години, 1 тиждень, 2 тижні, 3 тижні, 4 тижні, 5 тижнів і 6 тижнів після введення дози. Рівні тригліцеридів і білка АРОС-III в плазмі вимірювали так, як описано в Прикладі 20. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток від рівнів тригліцеридів та АРОС-III в плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних значень, і вони демонструють, що олігонуклеотиди, які містять групу кон'югату GalNAc, мають більш тривалу дію, ніж вихідний олігонуклеотид, який не містить групи кон'югату (ISIS 304801) навіть незважаючи на те, що доза вихідної сполуки була в три рази вище, ніж доза олігонуклеотидів, які містять групу кон'югату GalNAc.

Таблиця 71

Рівні тригліцеридів і білка АРОС-III в плазмі трансгенних мишей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення дози)	Тригліцериди (% від вихідного значення)	Білок АРОС-III (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM
PBS	н.д.	3	97	102	н.д.	н.д.
		7	101	98		
		14	108	98		
		21	107	107		
		28	94	91		
		35	88	90		
		42	91	105		
304801	30	3	40	34	н.д.	н.д.
		7	41	37		
		14	50	57		
		21	50	50		
		28	57	73		
		35	68	70		
		42	75	93		
647535	10	3	36	37	GalNAc ₃ -1a	A _d
		7	39	47		
		14	40	45		
		21	41	41		
		28	42	62		
		35	69	69		
		42	85	102		

Таблиця 71

Рівні тригліцеридів і білка АПОС-III в плазмі трансгенних мишей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення доз)	Тригліцериди (% від вихідного значення)	Білок АПОС-III (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM
663083	10	3	24	18	GalNAc ₃ -3a	A _d
		7	28	23		
		14	25	27		
		21	28	28		
		28	37	44		
		35	55	57		
		42	60	78		
674449	10	3	29	26	GalNAc ₃ -7a	A _d
		7	32	31		
		14	38	41		
		21	44	44		
		28	53	63		
		35	69	77		
		42	78	99		
674450	10	3	33	30	GalNAc ₃ -10a	A _d
		7	35	34		
		14	31	34		
		21	44	44		
		28	56	61		
		35	68	70		
		42	83	95		
674451	10	3	35	33	GalNAc ₃ -13a	A _d
		7	24	32		
		14	40	34		
		21	48	48		
		28	54	67		
		35	65	75		
		42	74	97		

Приклад 80: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на альфа-1 антитрипсин (A1AT), що містять кон'югат GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, перелічені нижче в Таблиці 72, випробували в дослідженні дозозалежного інгібування A1AT у мишей.

Таблиця 72

Модифіковані ASO, спрямовані на A1AT

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
476366	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	н.д.	н.д.	838
656326	A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _{eo} A _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1a	A _d	839
678381	GalNAc ₃ -3 _a -o _o A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	840
678382	GalNAc ₃ -7 _a -o _o A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -7a	A _d	840
678383	GalNAc ₃ -10 _a -o _o A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -10a	A _d	840

Таблиця 72

Модифіковані ASO, спрямовані на A1AT

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
678384	GalNAc ₃ -13 _a -o _o A _{do} A _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{es} A _{es} G _{es} G _{es} A _e	GalNAc ₃ -13a	A _d	840

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39, GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48, GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46 і GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62.

5 Лікування

Шоститижневим самцям мишей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) один раз на тиждень вводили підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, в цілому три дози олігонуклеотиду, переліченого в Таблиці 72, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення. Рівні мРНК A1AT у печінці визначили за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні білка A1AT у плазмі визначили за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу для визначення мишачого альфа 1-антитрипсину (кат. № 41-A1AMS-E01, Alrco, Салем, штат Нью-Гемпшир). Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК A1AT у печінці і білка в плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до контрольного зразку з PBS.

Як показано в Таблиці 73, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК A1AT у печінці і рівні білка A1AT у плазмі дозозалежним чином. Олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, були значно ефективнішими, ніж вихідна сполука (ISIS 476366).

Таблиця 73

Рівні мРНК A1AT у печінці та білка в плазмі

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК A1AT у печінці (% PBS)	Білок A1AT у плазмі (% PBS)	Кластер GalNAc ₃	CM
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.
476366	5	86	78	н.д.	н.д.
	15	73	61		
	45	30	38		
656326	0,6	99	90	GalNAc ₃ -1a	A _d
	2	61	70		
	6	15	30		
	18	6	10		
678381	0,6	105	90	GalNAc ₃ -3a	A _d
	2	53	60		
	6	16	20		
	18	7	13		
678382	0,6	90	79	GalNAc ₃ -7a	A _d
	2	49	57		
	6	21	27		
	18	8	11		
678383	0,6	94	84	GalNAc ₃ -10a	A _d
	2	44	53		
	6	13	24		
	18	6	10		
678384	0,6	106	91	GalNAc ₃ -13a	A _d
	2	65	59		
	6	26	31		
	18	11	15		

Під час умертвіння виміряли рівні трансамінази печінки та АМК у плазмі за стандартними протоколами. Виміряли також маси тіла і маси органів. Результати представлені нижче в Таблиці 74. Маса тіла представлена як % відносно вихідного значення. Маса органів представлені як % від маси тіла відносно контрольної групи з PBS.

5

Таблиця 74

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	АМК (мг/дл)	Маса тіла (% від вихідного значення)	Маса печінки (% від маси тіла)	Маса нирок (% від маси тіла)	Маса селезінки (% від маси тіла)
PBS	н.д.	25	51	37	119	100	100	100
476366	5	34	68	35	116	91	98	106
	15	37	74	30	122	92	101	128
	45	30	47	31	118	99	108	123
656326	0,6	29	57	40	123	100	103	119
	2	36	75	39	114	98	111	106
	6	32	67	39	125	99	97	122
	18	46	77	36	116	102	109	101
678381	0,6	26	57	32	117	93	109	110
	2	26	52	33	121	96	106	125
	6	40	78	32	124	92	106	126
	18	31	54	28	118	94	103	120
678382	0,6	26	42	35	114	100	103	103
	2	25	50	31	117	91	104	117
	6	30	79	29	117	89	102	107
	18	65	112	31	120	89	104	113
678383	0,6	30	67	38	121	91	100	123
	2	33	53	33	118	98	102	121
	6	32	63	32	117	97	105	105
	18	36	68	31	118	99	103	108
678384	0,6	36	63	31	118	98	103	98
	2	32	61	32	119	93	102	114
	6	34	69	34	122	100	100	96
	18	28	54	30	117	98	101	104

Приклад 81: Тривалість дії in vivo олігонуклеотидів, спрямованих на A1AT, що містять кластер GalNAc₃

10 Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 72, випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Лікування

15 Шоститижневим самцям мишей C57BL/6 ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, згаданого у Таблиці 72, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Зразки крові брали за день до введення дози для визначення вихідного значення, а також на 5, 12, 19 і 25 день після введення дози. Рівні білка A1AT у плазмі виміряли за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу (див. Приклад 80). Результати, показані

20 нижче, представлені як середній відсоток рівнів білка A1AT у плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, були більш ефективними і мали більш тривалу дію, ніж вихідна сполука без кон'югату GalNAc (ISIS 476366). Крім того, олігонуклеотиди, що містять 5'-GalNAc кон'югат (ISIS 678381, 678382, 678383 і 678384), були, в цілому, ще більш ефективними зі ще більш тривалою дією, ніж олігонуклеотид, який містить 3'-GalNAc кон'югат (ISIS 656326).

Рівні білка A1AT у плазмі мишей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення доз)	A1AT (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	СМ
PBS	н.д.	5	93	н.д.	н.д.
		12	93		
		19	90		
		25	97		
476366	100	5	38	н.д.	н.д.
		12	46		
		19	62		
		25	77		
656326	18	5	33	GalNAc ₃ -1a	A _d
		12	36		
		19	51		
		25	72		
678381	18	5	21	GalNAc ₃ -3a	A _d
		12	21		
		19	35		
		25	48		
678382	18	5	21	GalNAc ₃ -7a	A _d
		12	21		
		19	39		
		25	60		
678383	18	5	24	GalNAc ₃ -10a	A _d
		12	21		
		19	45		
		25	73		
678384	18	5	29	GalNAc ₃ -13a	A _d
		12	34		
		19	57		
		25	76		

Приклад 82: Антисмислове інгібування in vitro під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, що містять кон'югат GalNAc₃

- 5 Первинні гепатоцити печінки мишей висівали у 96-лункові планшети при 15000 клітин на лунку за 2 години до обробки. Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 76, додали в концентрації 2, 10, 50 або 250 нМ в середовищі Вільяма Е, і клітини інкубували протягом ночі при 37 °C 5 % CO₂. Клітини лізували через 16 годин після додавання олігонуклеотиду, а загальну РНК
- 10 очистили за допомогою RNease 3000 BioRobot (Qiagen). Рівні мРНК SRB-1 визначили за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Значення IC₅₀ визначили за допомогою програми Prism 4 (GraphPad). Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять безліч різних груп кон'югату GalNAc і безліч різних фрагментів, що розщеплюються, є значно більш ефективними в in vitro експерименті вільного поглинання, ніж
- 15 вихідні олігонуклеотиди, які не містять групу кон'югату GalNAc (ISIS 353382 і 666841).

Таблиця 76

Інгібування експресії SRB-1 in vitro

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Зв'язки	Кластер GalNAc	CM	IC ₅₀ (нМ)	SEQ ID NO
353382	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	н.д.	н.д.	250	829
655861	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{eo} A ^m _{do} -GalNAc ₃ -1 _a	PS	GalNAc ₃ - 1 _a	A _d	40	830
661161	GalNAc ₃ -3 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 3 _a	A _d	40	831
661162	GalNAc ₃ -3 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 3 _a	A _d	8	831
664078	G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{eo} A ^m _{do} -GalNAc ₃ -9 _a	PS	GalNAc ₃ - 9 _a	A _d	20	830
665001	GalNAc ₃ -8 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 8 _a	A _d	70	831
666224	GalNAc ₃ -5 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 5 _a	A _d	80	831
666841	G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} mC ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	н.д.	н.д.	>250	829
666881	GalNAc ₃ -10 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 10 _a	A _d	30	831
666904	GalNAc ₃ -3 _a - o'G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 3 _a	PO	9	829
666924	GalNAc ₃ -3 _a -o'T ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 3 _a	T _d	15	834
666961	GalNAc ₃ -6 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 6 _a	A _d	150	831
666981	GalNAc ₃ -7 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 7 _a	A _d	20	831
670061	GalNAc ₃ -13 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 13 _a	A _d	30	831
670699	GalNAc ₃ -3 _a -o'T ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 3 _a	T _d	15	834
670700	GalNAc ₃ -3 _a -o'A ^m _{eo} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 3 _a	A _e	30	831
670701	GalNAc ₃ -3 _a -o'T ^m _{eo} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 3 _a	T _e	25	834
671144	GalNAc ₃ -12 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 12 _a	A _d	40	831
671165	GalNAc ₃ -13 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} C ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 13 _a	A _d	8	831
671261	GalNAc ₃ -14 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 14 _a	A _d	>250	831
671262	GalNAc ₃ -15 _a - o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PS	GalNAc ₃ - 15 _a	A _d	>250	831
673501	GalNAc ₃ -7 _a -o'A ^m _{do} G ^m _{es} C ^m _{eo} T ^m _{eo} T ^m _{eo} C ^m _{eo} A ^m _{ds} G ^m _{ds} T ^m _{ds} mC ^m _{ds} A ^m _{ds} T ^m _{ds} G ^m _{ds} A ^m _{ds} C ^m _{ds} T ^m _{ds} T ^m _{eo} C ^m _{eo} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _e	PO/PS	GalNAc ₃ - 7 _a	A _d	30	831
673502	GalNAc ₃ -10 _a -	PO/PS	GalNAc ₃ -	A _d	8	831

Таблиця 76

Інгібування експресії SRB-1 in vitro

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Зв'язки	Кластер GalNac	CM	IC ₅₀ (нМ)	SEQ ID NO
	o'A _{do} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e		10 _a			
675441	GalNac ₃ -17 _a - o'A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNac ₃ -17 _a	A _d	30	831
675442	GalNac ₃ -18 _a - o'A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNac ₃ -18 _a	A _d	20	831
677841	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} -GalNac ₃ -19 _a	PS	GalNac ₃ -19 _a	A _d	40	830
677842	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} -GalNac ₃ -20 _a	PS	GalNac ₃ -20 _a	A _d	30	830
677843	GalNac ₃ -23 _a - o'A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	PS	GalNac ₃ -23 _a	A _d	40	831

Структура GalNac₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNac₃-3_a показана у Прикладі 39, GalNac₃-5_a показана у Прикладі 49, GalNac₃-6_a показана у Прикладі 51, GalNac₃-7_a показана у Прикладі 48, GalNac₃-8_a показана у Прикладі 47, GalNac₃-9_a показана у Прикладі 52, GalNac₃-10_a показана у Прикладі 46, GalNac₃-12_a показана у Прикладі 61, GalNac₃-13_a показана у Прикладі 62, GalNac₃-14_a показана у Прикладі 63, GalNac₃-15_a показана у Прикладі 64, GalNac₃-17_a показана у Прикладі 68, GalNac₃-18_a показана у Прикладі 69, GalNac₃-19_a показана у Прикладі 70, GalNac₃-20_a показана у Прикладі 71 і GalNac₃-23_a показана у Прикладі 76.

Приклад 83: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на фактор XI, що містять кластер GalNac₃

Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 77, випробували в дослідженні дозозалежного інгібування фактора XI у мишей.

Таблиця 77

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на фактор XI

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNac	CM	SEQ ID NO
404071	T _{es} G _{es} G _{es} T _{es} A _{es} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{es} G _{es} A _{es} G _{es} G _e	н.д.	н.д.	832
656173	T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} -GalNac ₃ -1 _a	GalNac ₃ -1 _a	A _d	833
663086	GalNac ₃ -3 _a -o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -3 _a	A _d	841
678347	GalNac ₃ -7 _a -o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -7 _a	A _d	841
678348	GalNac ₃ -10 _a -o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -10 _a	A _d	841
678349	GalNac ₃ -13 _a -o'A _{do} T _{es} G _{eo} G _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{eo} G _{eo} A _{es} G _{es} G _e	GalNac ₃ -13 _a	A _d	841

Структура GalNac₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNac₃-3_a показана у Прикладі 39, GalNac₃-7_a показана у Прикладі 48, GalNac₃-10_a показана у Прикладі 46 і GalNac₃-13_a показана у Прикладі 62.

Лікування

Шости-восьмитижневим мишам один раз на тиждень вводили підшкірну ін'єкцію дози, представлені нижче, в цілому три дози олігонуклеотиду, наведеного нижче, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після

останньої дози. Рівні мРНК фактора XI в печінці виміряли за допомогою ПЛР у реальному часі і нормалізували до циклофіліну за стандартними протоколами. Виміряли також рівні трансамінази печінки, АМК і білірубину. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток для кожної експериментальної групи, нормалізований до контролю з PBS.

- 5 Як показано в Таблиці 78, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК фактора XI в печінці дозозалежним чином. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, були більш ефективними, ніж вихідна сполука без кон'югату GalNAc (ISIS 404071). Крім того, олігонуклеотиди, що містять 5'-GalNAc кон'югат (ISIS 663086, 678347, 678348 і 678349), були ще більш ефективними, ніж олігонуклеотид, який містить 3'-GalNAc кон'югат (ISIS 656173).

Таблиця 78

Рівні мРНК фактора XI в печінці, трансамінази печінки, АМК та білірубину

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК фактора XI (% від PBS)	ALT (од./л)	AST (од./л)	АМК (мг/дл)	Білірубін (мг/дл)	Кластер GalNAc ₃	SEQ ID NO
PBS	н.д.	100	63	70	21	0,18	н.д.	н.д.
404071	3	65	41	58	21	0,15	н.д.	832
	10	33	49	53	23	0,15		
	30	17	43	57	22	0,14		
656173	0,7	43	90	89	21	0,16	GalNAc ₃ -1a	833
	2	9	36	58	26	0,17		
	6	3	50	63	25	0,15		
663086	0,7	33	91	169	25	0,16	GalNAc ₃ -3a	841
	2	7	38	55	21	0,16		
	6	1	34	40	23	0,14		
678347	0,7	35	28	49	20	0,14	GalNAc ₃ -7a	841
	2	10	180	149	21	0,18		
	6	1	44	76	19	0,15		
678348	0,7	39	43	54	21	0,16	GalNAc ₃ -10a	841
	2	5	38	55	22	0,17		
	6	2	25	38	20	0,14		
678349	0,7	34	39	46	20	0,16	GalNAc ₃ -13a	841
	2	8	43	63	21	0,14		
	6	2	28	41	20	0,14		

Приклад 84: Тривалість дії in vivo олігонуклеотидів, спрямованих на фактор XI, що містять кон'югат GalNAc₃

- 15 Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 77, випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Лікування

- 20 Шости-восьмитижневим мишам ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного у Таблиці 77, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Зразки крові брали з хвостової вени за день до введення дози для визначення вихідного значення, а також на 3, 10 і 17 день після введення дози. Рівні білка фактора XI в плазмі визначали твердофазним імуноферментним аналізом, використовуючи іммобілізовані і біотинілізовані детекторні антитіла для фактора XI виробництва R & D Systems, Міннеаполіс, штат Міннесота (кат. № AF2460 і № BAF2460, відповідно), а також реагент OptEIA, набір В (кат. № 550534, BD Biosciences, Сан-Хосе, штат Каліфорнія). Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів білка фактора XI в плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізовані до вихідних рівнів. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, були більш ефективними і мали більш тривалу дію, ніж вихідна сполука без кон'югату GalNAc (ISIS 404071). Крім того, олігонуклеотиди, що містять 5'-GalNAc кон'югат (ISIS 663086, 678347, 678348 і 678349), були ще більш ефективними
- 30 з ще більш тривалою дією, ніж олігонуклеотид, містить 3'-GalNAc кон'югат (ISIS 656173).

Таблиця 79

Рівні білка фактора XI в плазмі мишей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення дози)	Фактор XI (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
PBS	н.д.	3	123	н.д.	н.д.	н.д.
		10	56			
		17	100			
404071	30	3	11	н.д.	н.д.	832
		10	47			
		17	52			
656173	6	3	1	GalNAc ₃ -1a	A _d	833
		10	3			
		17	21			
663086	6	3	1	GalNAc ₃ -3a	A _d	841
		10	2			
		17	9			
678347	6	3	1	GalNAc ₃ -7a	A _d	841
		10	1			
		17	8			
678348	6	3	1	GalNAc ₃ -10a	A _d	841
		10	1			
		17	6			
678349	6	3	1	GalNAc ₃ -13a	A _d	841
		10	1			
		17	5			

Приклад 85: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, що містять кон'югат GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 76, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Лікування

10 Шости-восьмитижневим мишей C57BL/6 один раз на тиждень вводили підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, в цілому три дози олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 76, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 48 годин після останнього введення для визначення рівнів мРНК SRB-1 за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 у печінці для кожної експериментальної

15 групи, нормалізованих до контрольного зразка, обробленого сольовим розчином. Як показано в Табляцях 80 і 81, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином.

Таблиця 80

Таблиця мРНК SRB-1 у печінці

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	CM
Сольовий розчин	н.д.	100	н.д.	н.д.
655861	0,1	94	GalNAc ₃ -1a	A _d
	0,3	119		
	1	68		
	3	32		

Таблиця 80

Таблиця мРНК SRB-1 у печінці

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	CM
661161	0,1	120	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0,3	107		
	1	68		
	3	26		
666881	0,1	107	GalNAc ₃ -10a	A _d
	0,3	107		
	1	69		
	3	27		
666981	0,1	120	GalNAc ₃ -7a	A _d
	0,3	103		
	1	54		
	3	21		
670061	0,1	118	GalNAc ₃ -13a	A _d
	0,3	89		
	1	52		
	3	18		
677842	0,1	119	GalNAc ₃ -20a	A _d
	0,3	96		
	1	65		
	3	23		

Таблиця 81

мРНК SRB-1 у печінці

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% від сольового розчину)	Кластер GalNAc ₃	CM
661161	0,1	107	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0,3	95		
	1	53		
	3	18		
677841	0,1	110	GalNAc ₃ -19a	A _d
	0,3	88		
	1	52		
	3	25		

5 Виміряли також рівні трансамінази печінки, загального білірубину, АМК і маси тіла за стандартними протоколами. Середні значення для кожної експериментальної групи представлені нижче в Таблиці 82.

Таблиця 82

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Маса тіла (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM
Сольовий розчин	н.д.	19	39	0,17	26	118	н.д.	н.д.
655861	0,1	25	47	0,17	27	114	GalNAc ₃ -1a	A _d
	0,3	29	56	0,15	27	118		
	1	20	32	0,14	24	112		
	3	27	54	0,14	24	115		

Таблиця 82

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)	Маса тіла (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM
661161	0,1	35	83	0,13	24	113	GalNAc ₃ -3a	A _d
	0,3	42	61	0,15	23	117		
	1	34	60	0,18	22	116		
	3	29	52	0,13	25	117		
666881	0,1	30	51	0,15	23	118	GalNAc ₃ -10a	A _d
	0,3	49	82	0,16	25	119		
	1	23	45	0,14	24	117		
	3	20	38	0,15	21	112		
666981	0,1	21	41	0,14	22	113	GalNAc ₃ -7a	A _d
	0,3	29	49	0,16	24	112		
	1	19	34	0,15	22	111		
	3	77	78	0,18	25	115		
670061	0,1	20	63	0,18	24	111	GalNAc ₃ -13a	A _d
	0,3	20	57	0,15	21	115		
	1	20	35	0,14	20	115		
	3	27	42	0,12	20	116		
677842	0,1	20	38	0,17	24	114	GalNAc ₃ -20a	A _d
	0,3	31	46	0,17	21	117		
	1	22	34	0,15	21	119		
	3	41	57	0,14	23	118		

Приклад 86: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на TTR, що містять кластер GalNAc₃

- 5 Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 83, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування людського транстиретину (TTR) у трансгенних мишей, що експресують людський ген TTR.

Лікування

- 10 Восьмитижневим TTR трансгенним мишам один раз на тиждень протягом трьох тижнів, в цілому три дози, вводили підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду та дози, наведених у поданих нижче таблицях, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення. Протягом експерименту в різних часових точках брали зразки крові з хвостової вени і вимірювали рівні білка TTR у плазмі, ALT та AST, які представлені в Таблицях 85-87. Після усиплення тварин виміряли рівні ALT, AST та людського TTR у плазмі, а також маси тіла, маси органів і рівні мРНК людського TTR у печінці.
- 15 Рівні білка TTR виміряли за допомогою клінічного аналізатора (AU480, Beckman Coulter, штат Каліфорнія). ПЛР у реальному часі і реагент для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) використовували за стандартними протоколами для визначення рівнів мРНК людського TTR у печінці. Результати, показані в Таблицях 84-87, являють собою середні значення для кожної експериментальної групи. Рівні мРНК являють собою середні значення щодо середнього значення для PBS групи. Рівні білка в плазмі являють собою середні значення щодо середнього значення для PBS групи у вихідному стані. Маса тіла являють собою середню процентну зміну маси від початкового значення до умертвіння для кожної окремої експериментальної групи. Представлені маси органів нормалізовані до маси тіла тварини, а потім представлена середня нормалізована маса органів для кожної експериментальної групи щодо середньої нормалізованої маси органів PBS групи.
- 25

- У Таблицях 84-87 "BL" означає початкове значення вимірювань, виконаних безпосередньо перед введенням першої дози. Як показано в Таблицях 84 і 85, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні експресії TTR дозозалежним чином. Олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, були більш ефективними, ніж вихідна сполука без кон'югату GalNAc (ISIS 420915). Крім того, олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc і змішані PS/PO міжнуклеозидні линкери, були ще більш ефективними, ніж олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc і тільки PS линкери.
- 30

Таблиця 83

Олігонуклеотиди, спрямовані на людський TTR

Isis №	Послідовність від 5' до 3'	Зв'язки	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
420915	T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es}	PS	н.д.	н.д.	842
660261	T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} do'- GalNAc ₃ -1 _a	PS	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	843
682883	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es}	PS/PO	GalNAc ₃ -3 _a	PO	842
682884	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es}	PS/PO	GalNAc ₃ -7 _a	PO	842
682885	GalNAc ₃ -10 _a -o'-T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es}	PS/PO	GalNAc ₃ -10 _a	PO	842
682886	GalNAc ₃ -13 _a -o'-T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es}	PS/PO	GalNAc ₃ -13 _a	PO	842
684057	T ^m _{es} C ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} G ^m _{es} T ^m _{es} T ^m _{es} A ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} G ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} A ^m _{es} T ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} C ^m _{es} A ^m _{es} do'- GalNAc ₃ -19 _a	PS/PO	GalNAc ₃ -19 _a	A _d	843

Легенда для Таблиці 85 представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-1 показана у Прикладі 9. Структура GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39. Структура GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48. Структура GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46. Структура GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62. Структура GalNAc₃-19_a показана у Прикладі 70.

Таблиця 84

Антисмислове інгібування людського TTR in vivo

Isis №	Доза (мг/кг)	МРНК TTR (% PBS)	Білок TTR у плазмі (% PBS)	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
PBS	н.д.	100	100	н.д.	н.д.	
420915	6	99	95	н.д.	н.д.	842
	20	48	65			
	60	18	28			
	0,6	113	87			
660261	2	40	56	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	843
	6	20	27			
	20	9	11			

Таблиця 85

Антисмислове інгібування людського TTR in vivo

Isis №	Доза (мг/кг)	МРНК TTR (% PBS)	Білок TTR у плазмі (% PBS при BL)				Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
			BL	3 день	10 день	17 день (після усиплення)			
PBS	н.д.	100	100	96	90	114	н.д.	н.д.	
420915	6	74	106	86	76	83	н.д.	н.д.	842
	20	43	102	66	61	58			
	60	24	92	43	29	32			
682883	0,6	60	88	73	63	68	GalNAc ₃ -3 _a	PO	842
	2	18	75	38	23	23			
	6	10	80	35	11	9			
682884	0,6	56	88	78	63	67	GalNAc ₃ -7 _a	PO	842
	2	19	76	44	25	23			

Таблиця 85

Антисмислове інгібування людського TTR in vivo

Isis №	Доза (мг/кг)	мРНК TTR (% PBS)	Білок TTR у плазмі (% PBS при BL)				Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
			BL	3 день	10 день	17 день (після усиплення)			
682885	6	15	82	35	21	24	GalNAc ₃ -10a	PO	842
	0,6	60	92	77	68	76			
	2	22	93	58	32	32			
	6	17	85	37	25	20			
682886	0,6	57	91	70	64	69	GalNAc ₃ -13a	PO	842
	2	21	89	50	31	30			
	6	18	102	41	24	27			
	0,6	53	80	69	56	62			
684057	2	21	92	55	34	30	GalNAc ₃ -19a	A _d	843
	6	11	82	50	18	13			

Таблиця 86

Рівні трансамінази, зміна маси тіла і відносні маси органів

Isis №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)				AST (од./л)				Маса тіла (% BL)	Печінка (% PBS)	Селезінка (% PBS)	Нирки (% PBS)	SEQ ID NO
		BL	3 день	10 день	17 день	BL	3 день	10 день	17 день					
PBS	н.д.	33	34	33	24	58	62	67	52	105	100	100	100	н.д.
420915	6	34	33	27	21	64	59	73	47	115	99	89	91	842
	20	34	30	28	19	64	54	56	42	111	97	83	89	
	60	34	35	31	24	61	58	71	58	113	102	98	95	
	0,6	33	38	28	26	70	71	63	59	111	96	99	92	
660261	2	29	32	31	34	61	60	68	61	118	100	92	90	843
	6	29	29	28	34	58	59	70	90	114	99	97	95	
	20	33	32	28	33	64	54	68	95	114	101	106	92	

Таблиця 87

Рівні трансамінази, зміна маси тіла і відносні маси органів

Isis №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)				AST (од./л)				Маса тіла (% BL)	Печінка (% PBS)	Селезінка (% PBS)	Нирки (% PBS)	SEQ ID NO
		BL	3 день	10 день	17 день	BL	3 день	10 день	17 день					
PBS	н.д.	32	34	37	41	62	78	76	77	104	100	100	100	н.д.
420915	6	32	30	34	34	61	71	72	66	102	103	102	105	842
	20	41	34	37	33	80	76	63	54	106	107	135	101	
	60	36	30	32	34	58	81	57	60	106	105	104	99	
	0,6	32	35	38	40	53	81	74	76	104	101	112	95	
682883	2	38	39	42	43	71	84	70	77	107	98	116	99	842
	6	35	35	41	38	62	79	103	65	105	103	143	97	
	0,6	33	32	35	34	70	74	75	67	101	100	130	99	
682884	2	31	32	38	38	63	77	66	55	104	103	122	100	842
	6	38	32	36	34	65	85	80	62	99	105	129	95	
	0,6	39	26	37	35	63	63	77	59	100	109	109	112	
682885	2	30	26	38	40	54	56	71	72	102	98	111	102	842
	6	27	27	34	35	46	52	56	64	102	98	113	96	
	0,6	30	40	34	36	58	87	54	61	104	99	120	101	
682886	2	27	26	34	36	51	55	55	69	103	91	105	92	842
	6	40	28	34	37	107	54	61	69	109	100	102	99	

Таблиця 87

Рівні трансамінази, зміна маси тіла і відносні маси органів

Isis №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)				AST (од./л)				Маса тіла (% BL)	Печінка (% PBS)	Селезінка (% PBS)	Нирки (% PBS)	SEQ ID NO
		BL	3 день	10 день	17 день	BL	3 день	10 день	17 день					
684057	0,6	35	26	33	39	56	51	51	69	104	99	110	102	843
	2	33	32	31	40	54	57	56	87	103	100	112	97	
	6	39	33	35	40	67	52	55	92	98	104	121	108	

Приклад 87: Тривалість дії in vivo однократних доз олігонуклеотидів, спрямованих на TTR, що містять кластер GalNAc₃

- 5 ISIS № 420915 і 660261 (див. Таблицю 83), випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей. ISIS № 420915, 682883 і 682885 (див. Таблицю 83) також випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Лікування

- 10 Восьмитижневим самцям трансгенних мишей, які експресують людський TTR, ввели одноразову підшкірну ін'єкцію 100 мг/кг ISIS № 420915 або 13,5 мг/кг ISIS № 660261. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Зразки крові з хвостової вени брали до введення дози для визначення вихідних показників і на 3, 7, 10, 17, 24 і 39 день після введення дози. Рівні білка TTR у плазмі виміряли так, як описано в Прикладі 86. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів TTR у плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів.

Таблиця 88

Рівні білка в плазмі TTR

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення дози)	TTR (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
420915	100	3	30	н.д.	н.д.	842
		7	23			
		10	35			
		17	53			
		24	75			
		39	100			
660261	13,5	3	27	GalNAc ₃ -1a	A _d	843
		7	21			
		10	22			
		17	36			
		24	48			
		39	69			

Лікування

- 20 Восьмитижневим самкам трансгенних мишей, які експресують людський TTR, ввели одноразову підшкірну ін'єкцію 100 мг/кг ISIS № 420915, 10,0 мг/кг ISIS № 682883 або 10,0 мг/кг 682885. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Зразки крові з хвостової вени брали до введення дози для визначення вихідних показників і на 3, 7, 10, 17, 24 і 39 день після введення дози. Рівні білка TTR у плазмі виміряли так, як описано в Прикладі 86. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів TTR у плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів.

Таблиця 89

Рівні білка в плазмі TTR

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення дози)	TTR (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
420915	100	3	48	н.д.	н.д.	842
		7	48			
		10	48			
		17	66			
		31	80			
682883	10,0	3	45	GalNAc ₃ -3a	PO	842
		7	37			
		10	38			
		17	42			
		31	65			
682885	10,0	3	40	GalNAc ₃ -10a	PO	842
		7	33			
		10	34			
		17	40			
		31	64			

Результати в Таблицях 88 і 89 демонструють, що олігонуклеотиди, які містять кон'югат GalNAc, є більш ефективними та мають більш тривалу дію, ніж вихідний олігонуклеотид без кон'югату (ISIS 420915).

Приклад 88: Сплайсинг-модулювання in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SMN, що містять кон'югат GalNAc₃

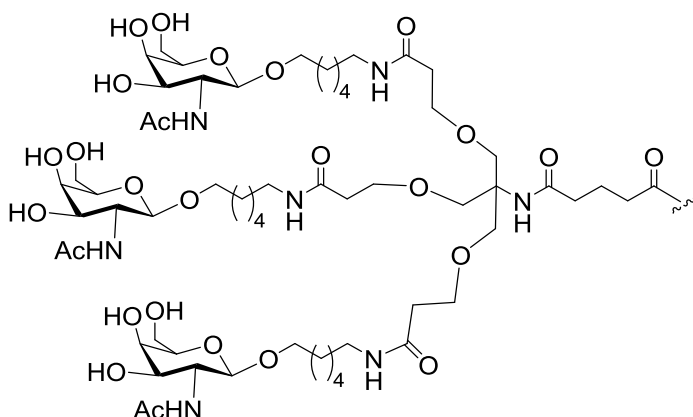
Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 90, випробували на сплайсинг-модулювання людських генів виживаності мотонейронів (SMN) у мишей.

Таблиця 90

Модифіковані ASO, спрямовані на SMN

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
387954	A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	н.д.	н.д.	844
699819	GalNAc ₃ -7 _a -o'-A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -7a	PO	844
699821	GalNAc ₃ -7 _a -o'-A _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{eo} T _{eo} A _{eo} A _{eo} T _{eo} G _{eo} ^m C _{eo} T _{es} G _{es} G _e	GalNAc ₃ -7a	PO	844
700000	A _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{es} A _{es} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} G _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1a	A _d	845
703421	X-ATT ^m CA ^m CTTT ^m CATAATG ^m CTGG	н.д.	н.д.	844
703422	GalNAc ₃ -7 _b -X-ATT ^m CA ^m CTTT ^m CATAATG ^m CTGG	GalNAc ₃ -7b	н.д.	844

Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48. "X" означає 5'-первинний амін, отриманий компанією Gene Tools (Филомат, штат Орегон), а GalNAc₃-7_b означає структуру GalNAc₃-7_a, яка не містить частину –NH-C₆-O лінкера, як показано нижче:



ISIS № 703421 і 703422 являють собою морфоліно-олігонуклеотиди, при цьому кожен нуклеотид з двох олігонуклеотидів являє собою морфоліно-нуклеотид.

Лікування

- 5 Шоститижневим трансгенним мишам, які експресують людський SMN, ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 91, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 2 самців і 2 самок. Мишей приспали через 3 дні після введення дози для визначення рівнів мРНК людського SMN у печінці з ексоном 7 та без нього, використовуючи ПЛР у реальному часі за стандартними протоколами. Загальну РНК виміряли за допомогою реагенту Ribogreen. Рівні мРНК SMN нормалізували до загальної мРНК, а потім нормалізували до середніх значень у групі, обробленої сольовим розчином. Отримані середні відносини мРНК SMN, що містить екзон 7, до мРНК SMN, що не містить екзон 7, представлені в Таблиці 91. Результати демонструють, що повністю модифіковані олігонуклеотиди, які модулюють сплайсинг і містять кон'югат GalNAc, є значно більш ефективними для зміни сплайсингу в печінці, ніж вихідні олігонуклеотиди, що не містять кон'югат GalNAc. Крім того, ця тенденція зберігається для хімізму багаторазових модифікацій, включаючи 2'-MOE і морфоліно-модифіковані олігонуклеотиди.

Таблиця 91

Дія олігонуклеотидів, спрямованих на людський SMN, in vivo

ISIS №	Доза (мг/кг)	+екзон 7 / -екзон 7	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
Сольовий розчин	н.д.	1,00	н.д.	н.д.	н.д.
387954	32	1,65	н.д.	н.д.	844
387954	288	5,00	н.д.	н.д.	844
699819	32	7,84	GalNAc ₃ -7a	PO	844
699821	32	7,22	GalNAc ₃ -7a	PO	844
700000	32	6,91	GalNAc ₃ -1a	A _d	845
703421	32	1,27	н.д.	н.д.	844
703422	32	4,12	GalNAc ₃ -7b	н.д.	844

- 20 Приклад 89: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на аполіпопротеїн А (Apo(a)), що містять кон'югат GalNAc₃

Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 92, випробували в дослідженні дозозалежного інгібування Apo(a) у трансгенних мишей.

Таблиця 92

Модифіковані ASO, спрямовані на Aро(a)

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} ^m C _e	н.д.	н.д.	847
681257	GalNAc ₃ -7 _a -o ₁ -T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	847

Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

Лікування

- 5 Восьмитижневим самкам мишей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) один раз на тиждень вводили підшкірну ін'єкцію дози, представленої нижче, в цілому шість доз олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 92, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 3-4 тварин. Зразки крові з хвостової вени брали за день до введення першої дози і щотижня після введення кожної дози для визначення рівнів білка Aро(a) у плазмі. Мишей приспали через
- 10 два дні після останнього введення. Рівні мРНК Aро(a) у печінці визначили за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc., Юджин, штат Орегон) за стандартними протоколами. Рівні білка Aро(a) у плазмі визначили за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу, і визначили рівні трансамінази печінки.
- 15 Результати аналізу мРНК та білка в плазмі в Таблиці 93 представлені як середнє процентне значення для експериментальної групи щодо групи, обробленої PBS. Рівні білка в плазмі додатково нормалізували до вихідного значення (BL) для групи з PBS. Середні абсолютні рівні трансамінази та маси тіла (% щодо середнього вихідного значення) представлені в Таблиці 94.
- 20 Як показано в Таблиці 93, лікування олігонуклеотидами знижує рівні мРНК Aро(a) у печінці і рівні білка в плазмі дозозалежним чином. Крім того, олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, був значно ефективнішим з більш тривалою дією, ніж вихідний олігонуклеотид, що не містить кон'югат GalNAc. Як показано в Таблиці 94, представлені олігонуклеотиди не впливають на рівні трансамінази та маси тіла, що вказує на хорошу переносимість олігонуклеотидів.

Таблиця 93

Рівні мРНК Aро(a) у печінці і білка в плазмі

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК Aро(a) (% PBS)	Білок Aро(a) у плазмі (% PBS)						
			BL	Тиждень 1	Тиждень 2	Тиждень 3	Тиждень 4	Тиждень 5	Тиждень 6
PBS	н.д.	100	100	120	119	113	88	121	97
494372	3	80	84	89	91	98	87	87	79
	10	30	87	72	76	71	57	59	46
	30	5	92	54	28	10	7	9	7
681257	0,3	75	79	76	89	98	71	94	78
	1	19	79	88	66	60	54	32	24
	3	2	82	52	17	7	4	6	5
	10	2	79	17	6	3	2	4	5

Таблиця 94

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Маса тіла (% від вихідного значення)
PBS	н.д.	37	54	103
494372	3	28	68	106
	10	22	55	102
	30	19	48	103

Таблиця 94

ISIS №	Доза (мг/кг)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Маса тіла (% від вихідного значення)
681257	0,3	30	80	104
	1	26	47	105
	3	29	62	102
	10	21	52	107

Приклад 90: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на TTR, що містять кластер GalNAc₃

- 5 Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 95, випробували у дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування людського транстиретину (TTR) у трансгенних мишей, що експресують людський ген TTR.

Лікування

- 10 TTR трансгенним мишам один раз на тиждень протягом трьох тижнів, в цілому три дози, вводили підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду і дози, наведених в Таблиці 96, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Перед введенням першої дози взяли зразок крові з хвостової вени для визначення рівнів білка TTR у плазмі у вихідному стані (BL). Мишей приспали через 72 години після останнього введення. Рівні білка TTR виміряли за допомогою клінічного аналізатора (AU480, Beckman Coulter, штат Каліфорнія). За допомогою ПЛР у
- 15 реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc. Юджин, штат Орегон) використовували за стандартними протоколами для визначення рівнів мРНК людського TTR у печінці. Результати, показані в Таблиці 96, являють собою середні значення для кожної експериментальної групи. Рівні мРНК являють собою середні значення щодо середнього значення для PBS групи. Рівні білка в плазмі являють собою середні значення
- 20 щодо середнього значення для PBS групи у вихідному стані. "BL" означає початкове значення вимірювань, виконаних безпосередньо перед введенням першої дози. Як показано в Таблиці 96, лікування антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні експресії TTR дозозалежним чином. Олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, був більш ефективним, ніж вихідна сполука без кон'югату GalNAc (ISIS 420915), а олігонуклеотиди, що містять фосфодіестерний або
- 25 дезоксиаденозиновий фрагмент, що розщеплюється, демонстрували значне посилення ефективності, порівняно з вихідною сполукою, що не містить кон'югат (див. ISIS № 682883 і 666943 порівняно з 420915, а також див. Приклади 86 і 87).

Таблиця 95

Олігонуклеотиди, спрямовані на людський TTR

Isis №	Послідовність від 5' до 3'	Зв'язки	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
420915	T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS	н.д.	н.д.	842
682883	GalNAc ₃ -3 _a - o' T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS/PO	GalNAc ₃ -3a	PO	842
666943	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} A _{do} T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS/PO	GalNAc ₃ -3a	A _d	846
682887	GalNAc ₃ -7 _{a-o'} A _{do} T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS/PO	GalNAc ₃ -7a	A _d	846
682888	GalNAc ₃ -10 _{a-o'} A _{do} T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS/PO	GalNAc ₃ -10a	A _d	846
682889	GalNAc ₃ -13 _{a-o'} A _{do} T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	PS/PO	GalNAc ₃ -13a	A _d	846

- 30 Легенда для Таблиці 95 представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39. Структура GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48. Структура GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46. Структура GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62.

Антисмислове інгібування людського TTR in vivo

Isis №	Доза (мг/кг)	мРНК TTR (% PBS)	Білок TTR (% BL)	Кластер GalNAc	CM
PBS	н.д.	100	124	н.д.	н.д.
420915	6	69	114	н.д.	н.д.
	20	71	86		
	60	21	36		
682883	0,6	61	73	GalNAc ₃ -3a	PO
	2	23	36		
	6	18	23		
666943	0,6	74	93	GalNAc ₃ -3a	A _d
	2	33	57		
	6	17	22		
682887	0,6	60	97	GalNAc ₃ -7a	A _d
	2	36	49		
	6	12	19		
682888	0,6	65	92	GalNAc ₃ -10a	A _d
	2	32	46		
	6	17	22		
682889	0,6	72	74	GalNAc ₃ -13a	A _d
	2	38	45		
	6	16	18		

Приклад 91: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на фактор VII, що містять кон'югат GalNAc₃, у приматів, які не є людиною.

5 Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 97, випробували в нетермінальному дослідженні підвищення дози на антисмислове інгібування фактора VII у мавп.

Лікування

10 Мавпам, раніше не схильним до експериментів, на 0, 15 та 29 день вводили підшкірні ін'єкції підвищених доз олігонуклеотидів, наведених у Таблиці 97, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 самців і 1 самки. Перед введенням першої дози та в різні тимчасові точки після неї брали зразки крові для визначення рівнів білка фактора VII в плазмі. Рівні білка фактора VII визначали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу. Результати, показані в Таблиці 98, являють собою середні значення для кожної експериментальної групи щодо середнього значення для групи PBS у вихідному стані (BL), вимірювання виконані безпосередньо перед введенням першої дози. Як показано в Таблиці 98, лікування 15 антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні експресії фактора VII дозозалежним чином, і олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, був значно ефективнішим у мавп, ніж олігонуклеотид, що не містить кон'югату GalNAc.

Таблиця 97

Олігонуклеотиди, спрямовані на фактор VII

Isis №	Послідовність від 5' до 3'	Зв'язки	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
407935	A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _e	PS	н.д.	н.д.	848
686892	GalNAc ₃ -10 _{a-o'} A _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} A _{es} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} T _{es} G _{es} A _e	PS	GalNAc ₃ -10a	PO	848

20 Легенда для Таблиці 97 представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46.

Таблиця 98

Рівні білка фактора VII в плазмі

ISIS №	День	Доза (мг/кг)	Фактор VII (% BL)
407935	0	н.д.	100
	15	10	87
	22	н.д.	92
	29	30	77
	36	н.д.	46
	43	н.д.	43
686892	0	3	100
	15	10	56
	22	н.д.	29
	29	30	19
	36	н.д.	15
	43	н.д.	11

Приклад 92: Антисмислове інгібування в первинних гепатоцитах під дією олігонуклеотидів, спрямованих на АроС-III, що містять кон'югат GalNAc₃

- 5 Первинні мишачі гепатоцити висівали у 96-лункові планшети при 15000 клітин на лунку і додавали олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 99, спрямовані на мишачий АроС-III в концентрації 0,46, 1,37, 4,12 або 12,35, 37,04, 111,11, або 333,33 нМ, або 1,00 мкМ. Після інкубації з олігонуклеотидами протягом 24 годин клітини лізували та очистили загальну РНК за допомогою RNeasy (Qiagen). Рівні мРНК АроС-III визначили за допомогою ПЛР у реальному часі і реагенту для кількісного визначення РНК RIBOGREEN® (Molecular Probes, Inc.) за стандартними протоколами. Значення IC₅₀ визначили за допомогою програми Prism 4 (GraphPad). Результати демонструють, що незалежно від наявності, фрагменту, що розщеплюється фосфодіестером або фосфодіестер-зв'язаним дезоксиаденозином, олігонуклеотиди, що містять кон'югат GalNAc, були значно ефективнішими, ніж вихідний олігонуклеотид, що не містить кон'югату.

Таблиця 99

Інгібування експресії мишачого АРОС-III в первинних гепатоцитах мишей

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	СМ	IC ₅₀ (нМ)	SEQ ID NO
440670	^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	н.д.	13,20	849
661180	^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -1 _a	A _d	1,40	850
680771	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	0,70	849
680772	GalNAc ₃ -7 _{a-o'} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	1,70	849
680773	GalNAc ₃ -10 _{a-o'} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	2,00	849
680774	GalNAc ₃ -13 _{a-o'} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	1,50	849
681272	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} ^m C _{es} A _{eo} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{eo} A _{eo} G _{es} ^m C _{es} A _e	PO	< 0,46	849
681273	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} A _{do} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _e	A _d	1,10	851
683733	^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{ds} T _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} G _{ds} G _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _{es} A _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -19 _a	A _d	2,50	850

Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39, GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48, GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46, GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62 і GalNAc₃-19_a показана у Прикладі 70.

5 Приклад 93: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, які містять змішані крила і 5'-GalNAc₃ та кон'югат

Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 100, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Таблиця 100

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
449093	T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	н.д.	н.д.	852
699806	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3a	PO	852
699807	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	852
699809	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	852
699811	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	852
699813	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{ks} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ds} ^m C _k	GalNAc ₃ -7a	PO	852
699815	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _{ks} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	852

10 Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39, а структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48. Нижні індекси: "e" означає 2'-МОЕ модифікований нуклеозид; "d" означає β-D-2'-дезоксирибонуклеозид; "k" означає 6'-(S)-CH₃ біциклічний нуклеозид (сEt); "s" означає тіофосфатні міжнуклеозидні лінкери (PS); "o" означає фосфодіестерні міжнуклеозидні лінкери (PO). Верхній індекс "m" означає 5-метилцитозини.

Лікування

10 Шости-восьмитижневим мишам C57bl6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію дози, представленого нижче, олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 100, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин.

20 Мишей приспали через 72 години після останнього введення. Рівні мРНК SRB-1 у печінці виміряли за допомогою ПЛР у реальному часі. Рівні мРНК SRB-1 нормалізували до рівнів мРНК циклофіліну за стандартними протоколами. Результати, показані нижче, представлені як середній відсоток рівнів мРНК SRB-1 для кожної експериментальної групи, порівняно з контрольною групою, обробленою сольовим розчином. Як показано в Таблиці 101, лікування

25 антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином, а гепмерні олігонуклеотиди, що містять кон'югат GalNAc і мають крила, які являють собою або повністю сEt, або змішані цукрові модифікації, були істотно більш ефективними, ніж вихідний олігонуклеотид, що не містить кон'югату і містить повністю сEt модифіковані крила.

30 Виміряли також маси тіла, рівні трансамінази печінки, загальний білірубін і АМК, а середні значення для кожної експериментальної групи представлені в Таблиці 101. Маса тіла показана як середній відсоток маси тіла відносно вихідної маси тіла (% BL), виміряний безпосередньо перед введенням дози олігонуклеотиду.

Таблиця 101

Рівні мРНК SRB-1, ALT, AST, АМК та загального білірубину, а також маси тіла

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (%) PBS)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Білірубін	АМК	Маса тіла (% BL)
PBS	н.д.	100	31	84	0,15	28	102
449093	1	111	18	48	0,17	31	104
	3	94	20	43	0,15	26	103
	10	36	19	50	0,12	29	104
	0,1	114	23	58	0,13	26	107
699806	0,3	59	21	45	0,12	27	108
	1	25	30	61	0,12	30	104
	0,1	121	19	41	0,14	25	100
699807	0,3	73	23	56	0,13	26	105
	1	24	22	69	0,14	25	102
	0,1	125	23	57	0,14	26	104
699809	0,3	70	20	49	0,10	25	105
	1	33	34	62	0,17	25	107
	0,1	123	48	77	0,14	24	106
699811	0,3	94	20	45	0,13	25	101
	1	66	57	104	0,14	24	107
	0,1	95	20	58	0,13	28	104
699813	0,3	98	22	61	0,17	28	105
	1	49	19	47	0,11	27	106
	0,1	93	30	79	0,17	25	105
699815	0,3	64	30	61	0,12	26	105
	1	24	18	41	0,14	25	106

Приклад 94: Антисмислове інгібування in vivo під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, що містять 2'-цукрові модифікації та 5'-GalNAc₃ кон'югат

Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 102, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Таблиця 102

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
353382	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	н.д.	н.д.	829
700989	G _{ms} C _{ms} U _{ms} U _{ms} C _{ms} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} U _{ms} C _{ms} C _{ms} U _{ms} U _m	н.д.	н.д.	853
666904	GalNAc ₃ -3 _a -O ^m G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	PO	829
700991	GalNAc ₃ -7 _a -O ^m G _{ms} C _{ms} U _{ms} U _{ms} C _{ms} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} U _{ms} C _{ms} C _{ms} U _{ms} U _m	GalNAc ₃ -7a	PO	853

Верхній індекс "m" означає 2'-О-метил-модифікований нуклеозид. Повна легенда до таблиці представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Примере 39, а структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Примере 48.

Лікування

Дослідження проводили за протоколом, описаним у Прикладі 93. Результати представлені нижче в Таблиці 103 і демонструють, що і 2'-МОЕ, і 2'-ОМЕ-модифіковані олігонуклеотиди, що містять кон'югат GalNAc, були значно ефективнішими, ніж відповідні вихідні олігонуклеотиди, що не містять кон'югату. Результати вимірювань маси тіла, трансамінази печінки, загального білірубину та АМК демонструють, що ці сполуки добре переносяться.

мРНК SRB-1

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% PBS)
PBS	н.д.	100
353382	5	116
	15	58
	45	27
700989	5	120
	15	92
	45	46
666904	1	98
	3	45
	10	17
700991	1	118
	3	63
	10	14

Приклад 95: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на SRB-1, які містять біциклічні нуклеозиди і 5'-GalNAc₃ кон'югат

5 Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 104, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Таблиця 104

Модифіковані ASO, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	СМ	SEQ ID No
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	н.д.	н.д.	823
666905	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -3 _a	PO	823
699782	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -7 _a	PO	823
699783	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T _{ls} ^m C _{ls} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ls} ^m C _l	GalNAc ₃ -3 _a	PO	823
653621	T _{ls} ^m C _{ls} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ls} ^m C _l -GalNAc ₃ -1 _a	GalNAc ₃ -1 _a	A _d	824
439879	T _{qs} ^m C _{qs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _d G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{qs} ^m C _q	н.д.	н.д.	823
699789	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T _{qs} ^m C _{qs} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _d G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{qs} ^m C _q	GalNAc ₃ -3 _a	PO	823

10 Нижній індекс "g" означає фтор-ГНК нуклеозид, нижній індекс "l" означає закритий нуклеозид, що містить місток 2'-O-CH₂-4'. Інші скорочення представлені в легенді таблиці Прикладу 74. Структура GalNAc₃-1_a показана раніше у Прикладі 9, структура GalNAc₃-3_a показана раніше у Прикладі 39, а структура GalNAc₃-7_a показана раніше у Прикладі 48.

Лікування

15 Дослідження проводили за протоколом, описаним у Прикладі 93. Результати представлені нижче в Таблиці 105 і демонструють, що олігонуклеотиди, що містять кон'югат GalNAc і різні біциклічні нуклеозидні модифікації, були значно ефективнішими, ніж вихідний олігонуклеотид, що не містить кон'югату і містить біциклічні нуклеозидні модифікації. Крім того, олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc і фтор-ГНК модифікації, був істотно більш ефективним, ніж вихідна сполука, що не містить кон'югату і містить фтор-ГНК модифікації. Результати вимірювань маси тіла, трансамінази печінки, загального білірубину та АМК демонструють, що ці сполуки добре переносяться.

20

Таблиця 105

Рівні мРНК SRB-1, ALT, AST, АМК та загального білірубину, а також маси тіла

ISIS №	Доза (мг/кг)	мРНК SRB-1 (% PBS)
PBS	н.д.	100
440762	1	104
	3	65
	10	35
666905	0,1	105
	0,3	56
	1	18
699782	0,1	93
	0,3	63
	1	15
699783	0,1	105
	0,3	53
	1	12
653621	0,1	109
	0,3	82
	1	27
439879	1	96
	3	77
	10	37
699789	0,1	82
	0,3	69
	1	26

Приклад 96: Зв'язування білка плазми антисмисловими олігонуклеотидами, що містять групу кон'югату GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 70, спрямовані на ApoC-III, і олігонуклеотиди в Таблиці 106, спрямовані на Apo(a), випробували в аналізі ультрафільтрації для оцінки зв'язування білка в плазмі.

Таблиця 106

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на Apo(a)

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID No
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} T _{es} ^m C _e	н.д.	н.д.	847
693401	T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	н.д.	н.д.	847
681251	GalNAc ₃ -7 _a ⁻ o' _{es} T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7 _a	PO	847
681257	GalNAc ₃ -7 _a ⁻ o' _{es} T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7 _a	PO	847

10 Легенда таблиці представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

15 Елементи для ультрафільтрації Ultrafree-MC (номінальна обмеження молекулярної маси 30000, слабкозв'язуюча регенована целюлозна мембрана, Millipore, Бедфорд, штат Массачусетс) попередньо кондиціювали з 300 мкл 0,5 % Tween 80 і центрифугували при 2000 g протягом 10 хвилин, потім з 300 мкл 300 мкг/мл розчину контрольного олігонуклеотиду в H₂O і центрифугували при 2000 g протягом 16 хвилин. Для оцінки неспецифічного зв'язування з

фільтрами кожного досліджуваного олігонуклеотиду з Таблиць 70 і 106, що використовуються у випробуваннях, 300 мкл 250 нг/мл розчину олігонуклеотиду в H₂O при pH 7,4 помістили в попередньо кондиціоновані фільтри і центрифугували при 2000 g протягом 16 хвилин. Нефільтровані і фільтровані зразки аналізували твердофазним імуноферментним аналізом для визначення концентрацій олігонуклеотидів. Для отримання середньої концентрації для кожного зразка використовували три примірники. Середню концентрацію фільтрованого зразка щодо нефільтрованого зразка використовували для визначення відсотка олігонуклеотиду, що пройшов через фільтр без плазми (% виділення).

Заморожені зразки цільної плазми, зібрані в КЗ-ЕДТК і отримані від здорових, які не приймають ліки людей-добровольців, яванських макак і мишей CD-1, придбали у компанії Bioreclamation LLC (Вестбері, штат Нью-Йорк). Досліджувані олігонуклеотиди додавали до 1,2 мл ал і квот плазми в двох концентраціях (5 і 150 мкг/мл). Аліквоту (300 мкл) кожного маркованого зразка плазми помістили на попередньо кондиційований фільтрувальний елемент і інкубували при 37°C протягом 30 хвилин, потім відразу виконали центрифугування при 2000 g протягом 16 хвилин. Аліквоти фільтрованих і нефільтрованих маркованих зразків плазми аналізували твердофазним імуноферментним аналізом для визначення концентрації олігонуклеотиду у кожному зразку. Використовували три примірники кожної концентрації для визначення середнього відсотка зв'язаного і незв'язаного олігонуклеотиду у кожному зразку. Середню концентрацію фільтрованого зразка щодо концентрації нефільтрованого зразка використовували для визначення відсотка олігонуклеотиду в плазмі, не зв'язаного з білками плазми (% незв'язаного). Остаточні значення незв'язаного олігонуклеотиду коригували на неспецифічне зв'язування шляхом ділення % незв'язаного на % виділення для кожного олігонуклеотиду. Остаточні значення % зв'язаного олігонуклеотиду визначили відніманням остаточних значень % незв'язаного з 100. Результати показані в Таблиці 107 для двох концентрацій випробуваного олігонуклеотиду (5 і 150 мкг/мл) у плазмі кожного виду. Результати демонструють, що групи кон'югату GalNAc не роблять істотного впливу на зв'язування білка плазми. Крім того, олігонуклеотиди, що містять тільки PS міжнуклеозидні лінкери і змішані PO/PS лінкери, - обидва варіанти зв'язують білки плазми, при цьому олігонуклеотиди, що містять тільки PS лінкери, зв'язують білки плазми в дещо більшій мірі, ніж олігонуклеотиди, які містять змішані PO/PS лінкери.

Таблиця 107

Відсоток модифікованого олігонуклеотиду, зв'язаного з білками плазми

ISIS №	Плазма людини		Плазма мавп		Плазма мишей	
	5 мкг/мл	150 мкг/мл	5 мкг/мл	150 мкг/мл	5 мкг/мл	150 мкг/мл
304801	99,2	98,0	99,8	99,5	98,1	97,2
663083	97,8	90,9	99,3	99,3	96,5	93,0
674450	96,2	97,0	98,6	94,4	94,6	89,3
494372	94,1	89,3	98,9	97,5	97,2	93,6
693401	93,6	89,9	96,7	92,0	94,6	90,2
681251	95,4	93,9	99,1	98,2	97,8	96,1
681257	93,4	90,5	97,6	93,7	95,6	92,7

Приклад 97: Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на TTR, що містять групу кон'югату GalNAc₃

Олігонуклеотиди, представлені в Таблиці 108, що містять кон'югат GalNAc, призначені для впливу на TTR.

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на TTR

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID No
666941	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} -A _{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -3	A _d	846
666942	T _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} G _{eo} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{eo} T _{eo} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -3 _a	GalNAc ₃ -1	A _d	843
682876	GalNAc ₃ -3 _{a-o'} -T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -3	PO	842
682877	GalNAc ₃ -7 _{a-o'} -T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7	PO	842
682878	GalNAc ₃ -10 _{a-o'} -T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -10	PO	842
682879	GalNAc ₃ -13 _{a-o'} -T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -13	PO	842
682880	GalNAc ₃ -7 _{a-o'} -A _{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7	A _d	846
682881	GalNAc ₃ -10 _{a-o'} -A _{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -10	A _d	846
682882	GalNAc ₃ -13 _{a-o'} -A _{do} T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -13	A _d	846
684056	T _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} G _{es} G _{ds} T _{ds} T _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} A _{ds} A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -19 _a	GalNAc ₃ -19	A _d	846

Легенда для Таблиці 108 представлена в Прикладі 74. Структура GalNAc₃-1 показана у Прикладі 9. Структура GalNAc₃-3_a показана у Прикладі 39. Структура GalNAc₃-7_a показана у Прикладі 48. Структура GalNAc₃-10_a показана у Прикладі 46. Структура GalNAc₃-13_a показана у Прикладі 62. Структура GalNAc₃-19_a показана у Прикладі 70.

Приклад 98: Оцінка прозапальної дії олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc, в аналізі hPMBC

Олігонуклеотиди наведені в Таблиці 109, досліджували на прозапальну дію в аналізі hPMBC, описаному в Прикладах 23 і 24. (Див. Таблиці 30, 83, 95 і 108, де представлено опис олігонуклеотидів). ISIS 353512 має високу відповідь, і його використовували в якості позитивного контролю, а інші олігонуклеотиди описані в Таблицях 83, 95 і 108. Результати, представлені в Таблиці 109, отримані з використанням крові, отриманої від одного донора-добровольця. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять змішані PO/PS міжнуклеозидні лінкери, викликають значно слабші прозапальні реакції, порівняно з тими-саме олігонуклеотиди, що містять тільки PS лінкери. Крім того, в цьому аналізі група кон'югату GalNAc не має істотного впливу.

Таблиця 109

ISIS №	E _{max} /EC ₅₀	Кластер GalNAc ₃	Зв'язки	CM
353512	3630	н.д.	PS	н.д.
420915	802	н.д.	PS	н.д.
682881	1311	GalNAc ₃ -10	PS	A _d
682888	0,26	GalNAc ₃ -10	PO/PS	A _d
684057	1,03	GalNAc ₃ -19	PO/PS	A _d

Приклад 99: Зв'язуючі афінності олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc, щодо асіалоглікопротеїнового рецептору

Зв'язують афінності олігонуклеотидів, наведених в Таблиці 110 (див. Таблицю 76, в якій представлено опис олігонуклеотидів), щодо асіалоглікопротеїнового рецептору випробували в аналізі конкурентного зв'язування рецепторів. Конкуруючий ліганд, α1-кислий глікопротеїн (AGP), інкубували в 50 мМ ацетатно-натрієвому буфері (pH 5) з 1 од. нейрамінідази-агарози протягом 16 годин при 37 °C, а > 90 % дезалілювання підтвердили аналізом з сialовою

кислотою або ексклюзивною хроматографією (SEC). Для йодування АГФ використовували монохлорид йоду способом, описаним авторами Atsma et al. (J Lipid Res. January 1991; 32(1):173-81.) У цьому способі дезалілірований α 1-кислий глікопротеїн (de-AGP) додавали до 10 мМ хлориду йоду, Na^{125}I і 1 М гліцину в 0,25 М NaOH. Після інкубації протягом 10 хвилин при кімнатній температурі, ^{125}I -мічений de-AGP відокремили від вільного ^{125}I дворазовим концентруванням суміші з використанням спін-колонки з номінальним відсіканням по молекулярній масі 3 кДа. Білок випробували на ефективність мічення і чистоту на системі ВЕРХ, оснащений колонкою Agilent SEC-3 (7,8 × 300 мм) і лічильником β -RAM. Конкуруючі дослідження з використанням ^{125}I -міченого de-AGP і ASO, які містять різні GalNAc-кластери, виконали наступним чином. Людські клітини HepG2 (10^6 клітин/мл) помістили на 6-лункові планшети в 2 мл відповідної живильного середовища. Використовували середовище MEM з додаванням 10 % фетальної бичачої сироватки (ФБС), 2 мМ L-глутаміну і 10 мМ HEPES. Клітини вирощували протягом 16-20 годин при 37 °C з 5 % і 10 % CO_2 , відповідно. Перед експериментом клітини промили середовищем без ФБС. Клітини вирощували протягом 30 хвилин при 37 °C з 1 мл конкурентної суміші, що містить відповідне живильне середовище з 2 % ФБС, 10^{-8} М ^{125}I -міченим de-AGP і ASO, що містить GalNAc-кластер в концентраціях в діапазоні від 10^{-11} до 10^{-5} М. Неспецифічне зв'язування визначили в присутності 10^{-2} М GalNAc цукру. Клітини двічі промили середовищем без ФБС для видалення незв'язаного ^{125}I -міченого de-AGP і конкуруючого GalNAc ASO. Клітини лізували з використанням буфера RLT виробництва компанії Qiagen, що містить 1 % β -меркаптоетанол. Лізати перенесли в круглодонні аналітичні пробірки після швидкого 10-хвилинного циклу заморожування/відтавання, і аналізували на γ -лічильнику. Неспецифічне зв'язування відняли, а потім розділили імпульси білка ^{125}I на значення імпульсів при самій низькій концентрації GalNAc-ASO. Криві інгібування побудували за рівнянням моносайтового конкурентного зв'язування, використовуючи алгоритм нелінійної регресії для розрахунку зв'язуючої афінності (K_D).

Результати в Таблиці 110 були отримані в експериментах, виконаних у п'ять різних днів. Результати для олігонуклеотидів, зазначених верхнім індексом "а", являють собою середні значення експериментів, виконаних у два різних дні. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, що містять групу кон'югату GalNAc у 5'-кінця, зв'язують асіалоглікопротеїновий рецептор людських клітин HepG2 з афінністю, яка в 1,5-16 разів більша, ніж для олігонуклеотидів, що містять групу кон'югату GalNAc у 3'-кінця.

Таблиця 110

Результати аналізу зв'язування рецептору асіалоглікопротеїнового рецептору

ISIS №	Кон'югат GalNAc	Кінець олігонуклеотиду, до якого приєднаний кон'югат GalNAc	K_D (нМ)
661161 ^а	GalNAc ₃ -3	5'	3,7
666881 ^а	GalNAc ₃ -10	5'	7,6
666981	GalNAc ₃ -7	5'	6,0
670061	GalNAc ₃ -13	5'	7,4
655861 ^а	GalNAc ₃ -1	3'	11,6
677841 ^а	GalNAc ₃ -19	3'	60,8

Приклад 100: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, що містять групу кон'югату GalNAc, спрямованих на Apo(a), *in vivo*

Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 111а, випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Таблиця 111a

Модифіковані ASO, спрямовані на Apo(a)

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
681251	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	847
681257	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} ^m C _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	847

Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

Лікування

- 5 Кожній самці трансгенних мишей, що експресують людський Apo(a), один раз на тиждень, в цілому 6 доз, вводили підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду і дози, наведеної у Таблиці 111b, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 3 тварин. Зразки крові брали за день до введення дози для визначення вихідних рівнів білка Apo(a) у плазмі, а також через 72 години, 1 тиждень 2 тижні після введення першої дози. Додаткові проби крові брали через 3 тижні 4 тижні, 10 5 тижнів і 6 тижнів після введення першої дози. Рівні білка Apo(a) у плазмі вимірювали за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу. Результати в Таблиці 111b представлені як середній відсоток від рівнів білка Apo(a) у плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів (% BL). Результати показують, що олігонуклеотиди, що містять групу кон'югату GalNAc, демонструють ефективне зниження експресії Apo(a). Цей 15 потужний ефект спостерігали для олігонуклеотиду, містить тільки PS міжнуклеозидні лінкери, і для олігонуклеотиду, що містить змішані PO і PS лінкери.

Таблиця 111b

Рівні білка Apo(a) у плазмі

ISIS №	Доза (мг/кг)	Apo(a) через 72 години (% BL)	Apo(a) через 1 тиждень (% BL)	Apo(a) через 3 тижні (% BL)
PBS	н.д.	116	104	107
681251	0,3	97	108	93
	1,0	85	77	57
	3,0	54	49	11
	10,0	23	15	4
	0,3	114	138	104
681257	1,0	91	98	54
	3,0	69	40	6
	10,0	30	21	4

- 20 Приклад 101: Антисмислове інгібування олігонуклеотидами, що містять кластер GalNAc, зв'язаний через стабільний фрагмент

- Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 112, випробували на інгібування експресії мишачого APOC-III in vivo. Мишам C57Bl/6 ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 112, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Кожній миші, обробленій ISIS 440670, вводили дозу 2, 6, 20 або 60 мг/кг. Кожній миші, обробленій 680772 або 696847, вводили 0,6, 2, 6 або 20 мг/кг. Група кон'югату GalNAc в ISIS 696847 зв'язана через стабільний фрагмент, тіофосфатний зв'язок, замість зв'язку (який легко розщеплюється), що містить фосфодіестер. Тварин приспали через 72 години після введення дози. Рівні мРНК APOC-III в печінці виміряли за допомогою ПЛР у реальному часі. Рівні мРНК APOC-III нормалізували до рівнів мРНК циклофіліном за стандартними протоколами. 30 Результати представлені в Таблиці 112 як середній відсоток рівнів мРНК APOC-III для кожної експериментальної групи, порівняно з контрольною групою, обробленою сольовим розчином. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, які містять групу кон'югату GalNAc, були істотно більш ефективними, ніж олігонуклеотид, що не містить групи кон'югату. Крім того, олігонуклеотид, що містить групу кон'югату GalNAc, зв'язану з олігонуклеотидом через

фрагмент, що розщеплюється (ISIS 680772), був ще більш ефективним, ніж олігонуклеотид, що містить групу кон'югату GalNAc, зв'язану з олігонуклеотидом через стабільний фрагмент (ISIS 696847).

Таблиця 112

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на мишачий АРОС-III

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	СМ	Доза (мг/кг)	МРНК АРОС-III (% PBS)	SEQ ID NO
440670	${}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_e$	н.д.	2	92	849
			6	86	
			20	59	
			60	37	
680772	$GalNAc_3-7_{a-o}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}$ $T_{ds}T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_e$	РО	0,6	79	849
			2	58	
			6	31	
			20	13	
696847	$GalNAc_3-7_{a-s}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}T_{es}T_{ds}T_{ds}A_{ds}T_{ds}$ $T_{ds}A_{ds}G_{ds}G_{ds}G_{ds}A_{ds}{}^mC_{es}A_{es}G_{es}{}^mC_{es}A_e$	н.д. (PS)	0,6	83	849
			2	73	
			6	40	
			20	28	

5 Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

Приклад 102: Розподіл у печінці антисмислових олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc

Оцінили розподіл у печінці ISIS 353382 (див. Таблицю 36), який не містить кон'югату GalNAc, і ISIS 655861 (див. Таблицю 36), який містить кон'югат GalNAc. Самцям мишей balb/c ввели одноразову підшкірну ін'єкцію ISIS 353382 або 655861 у дозі, наведеній у Таблиці 113. Кожна експериментальна група складалася з 3 тварин, за винятком групи з дозою 18 мг/кг для ISIS 655861, яка складалася з 2-х тварин. Тварин приспали через 48 годин після введення дози для визначення розподілу олігонуклеотидів у печінці. Для вимірювання кількості молекул антисмислового олігонуклеотиду на клітину, мітку трис-біпіридину рутенію (II) (MSD TAG, Meso Scale Discovery) кон'юговані з олігонуклеотидним зразком, використовуваним для виявлення антисмислових олігонуклеотидів. Результати, представлені в Таблиці 113, являють собою середні концентрації олігонуклеотиду для кожної експериментальної групи в одиницях виміру мільйонів молекул олігонуклеотиду на клітку. Результати демонструють, що при рівних дозах олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, містився в більш високих концентраціях в цілому в печінці і гепатоцитах, ніж олігонуклеотид, не містить кон'югату GalNAc. Крім того, олігонуклеотид, що містить кон'югат GalNAc, містився в більш низьких концентраціях у непаренхіматозних клітинах печінки, ніж олігонуклеотид, що не містить кон'югату GalNAc. І тоді як концентрації ISIS 655861 у гепатоцитах і непаренхіматозних клітинах печінки були однаковими в розрахунку на одну клітину, вміст гепатоцитів у печінці становить близько 80 % за обсягом. Отже, основна частина олігонуклеотиду ISIS 655861, що міститься в печінці, перебувала в гепатоцитах, тоді як основна частина олігонуклеотиду ISIS 353382, що міститься в печінці, перебувала в непаренхіматозних клітинах печінки.

Таблиця 113

ISIS №	Доза (мг/кг)	Концентрація в печінці в цілому (молекул*10 ⁶ на клітину)	Концентрація в гепатоцитах (молекул*10 ⁶ на клітину)	Концентрація в непаренхіматозних клітинах печінки (молекул*10 ⁶ на клітину)
353382	3	9,7	1,2	37,2
	10	17,3	4,5	34,0
	20	23,6	6,6	65,6
	30	29,1	11,7	80,0
	60	73,4	14,8	98,0
	90	89,6	18,5	119,9

Таблиця 113

ISIS №	Доза (мг/кг)	Концентрація в печінці в цілому (молекул*10 ⁶⁰ на клітину)	Концентрація в гепатоцитах (молекул*10 ⁶⁰ на клітину)	Концентрація в непаренхіматозних клітинах печінки (молекул*10 ⁶⁰ на клітину)
655861	0,5	2,6	2,9	3,2
	1	6,2	7,0	8,8
	3	19,1	25,1	28,5
	6	44,1	48,7	55,0
	18	76,6	82,3	77,1

Приклад 103: Тривалість дії in vivo олігонуклеотидів, спрямованих на АРОС-III, що містять кон'югат GalNAc₃

5 Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 114, випробували у дослідженні одноразової дози на тривалість дії у мишей.

Таблиця 114

Модифіковані ASO, спрямовані на АРОС-III

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
304801	A _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{es} T _{es} T _{es} A _{es} T _e	н.д.	н.д.	821
663084	GalNAc ₃ -3 _a -o'-A _{do} A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _e	GalNAc ₃ -3a	A _d	837
679241	A _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{eo} T _{eo} T _{es} A _{es} T _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -19 _a	GalNAc ₃ -19a	A _d	822

Структура GalNAc₃-3_a показана у прикладі 39, а GalNAc₃-19_a показана у Прикладі 70.

Лікування

10 Самкам трансгенних мишей, які експресують людський АРОС-III, ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 114, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 3 тварин. Зразки крові брали до введення дози для визначення вихідних показників і на 3, 7, 14, 21, 28, 35 і 42 день після введення дози. Рівні тригліцеридів і білка АРОС-III в плазмі вимірювали так, як описано в Прикладі 20. Результати в

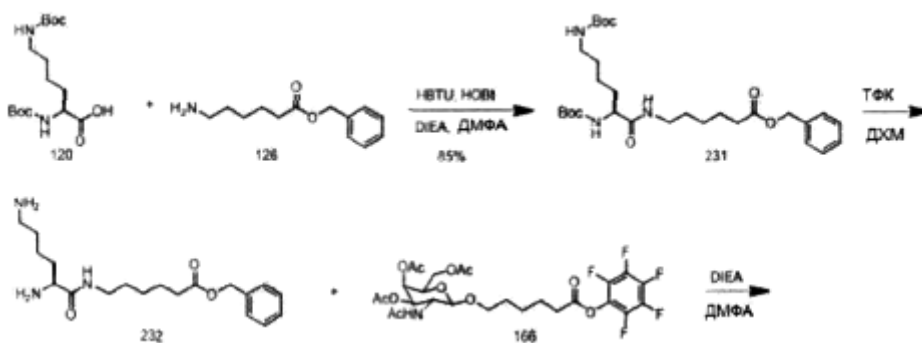
15 Таблиці 115 представлені як середній відсоток рівнів тригліцеридів та АРОС-III в плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів. Порівняння результатів у Таблиці 71 прикладу 79 із результатами, представленими нижче в таблиці 115, демонструє, що олігонуклеотиди, що містять суміш фосфодіестерних і тіофосфатних міжнуклеозидних лінкерів, мають збільшену тривалість дії, ніж еквівалентні олігонуклеотиди, які містять тільки

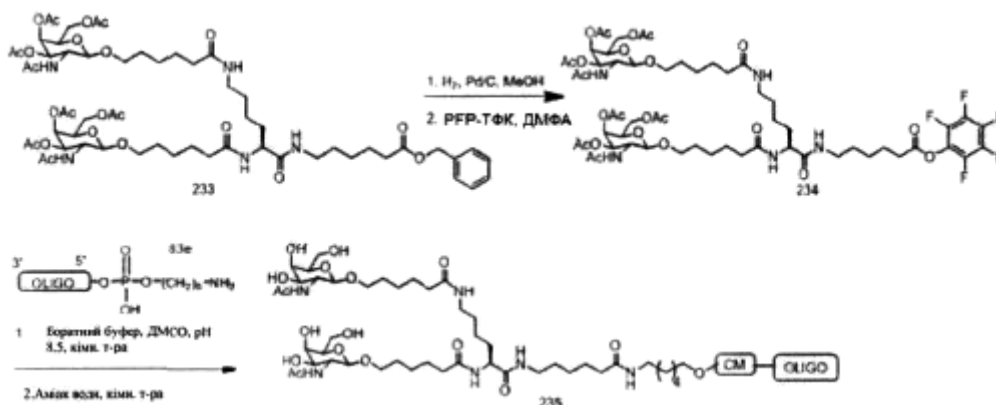
20 тіофосфатні міжнуклеозидні лінкери.

Таблица 115

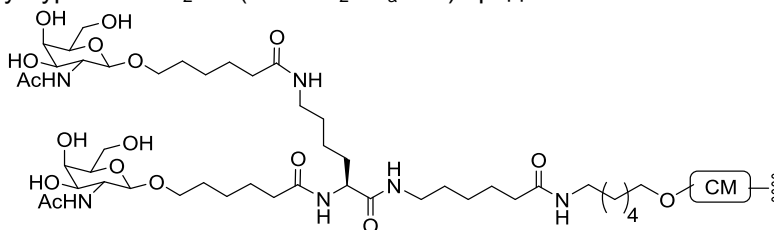
Рівні тригліцеридів і білка АРОС-III в плазмі трансгенних мишей

ISIS №	Доза (мг/кг)	Часові точки (дні після введення доз)	Тригліцериди (% від вихідного значення)	Білок АРОС-III (% від вихідного значення)	Кластер GalNAc ₃	СМ
PBS	н.д.	3	96	101	н.д.	н.д.
		7	88	98		
		14	91	103		
		21	69	92		
		28	83	81		
		35	65	86		
		42	72	88		
304801	30	3	42	46	н.д.	н.д.
		7	42	51		
		14	59	69		
		21	67	81		
		28	79	76		
		35	72	95		
		42	82	92		
663084	10	3	35	28	GalNAc ₃ -3a	A _d
		7	23	24		
		14	23	26		
		21	23	29		
		28	30	22		
		35	32	36		
		42	37	47		
679241	10	3	38	30	GalNAc ₃ -19a	A _d
		7	31	28		
		14	30	22		
		21	36	34		
		28	48	34		
		35	50	45		
		42	72	64		

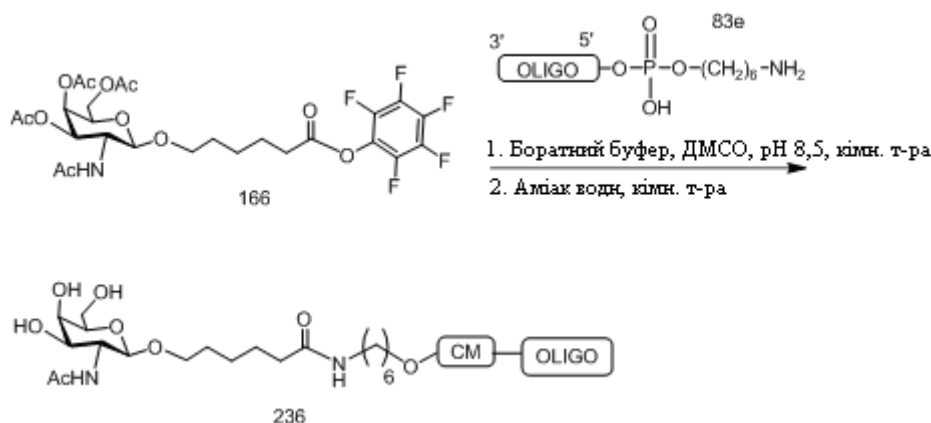
Приклад 104: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат 5'-GalNAc₂



Сполука 120 є у продажу, а синтез сполуки 126 описаний у Прикладі 49. Сполуку 120 (1 г, 2,89 ммоль), HBTU (0,39 г, 2,89 ммоль) і HOBT (1,64 м, 4,33 ммоль) розчинили в ДМФА (10 мл) і додали N, N-діізопропілетиламін (1,75 мл, 10,1 ммоль). Приблизно через 5 хвилин в реакційну суміш додали бензиловий ефір аміногексанової кислоти (1,36 г, 3,46 ммоль). Через 3 години реакційну суміш вилили в 100 мл 1 М розчину $NaHSO_4$ та екстрагували 2×50 мл етилацетату. Органічні шари об'єднали і промили 3×40 мл насиченого розчину $NaHCO_3$ 2 х насиченим сольовим розчином, висушили за допомогою Na_2SO_4 , відфільтрували і концентрували. Продукт очистили сілікагелевою колонковою хроматографією (ДХМ:ЕА:гексани, 1:1:1) з отриманням сполуки 231. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Сполуку 231 (1,34 г, 2,438 ммоль) розчинили в дихлорметані (10 мл) і додали трифтороцтову кислоту (10 мл). Після перемішування при кімнатній температурі протягом 2 годин, реакційну суміш концентрували при зниженому тиску і випарували разом з толуолом (3×10 мл). Залишок висушили при зниженому тиску з отриманням сполуки 232 у вигляді трифторацетатної солі. Синтез сполуки 166 описаний у Прикладі 54. Сполуку 166 (3,39 м, 5,40 ммоль) розчинили в ДМФА (3 мл). Розчин сполуки 232 (1,3 м, 2,25 ммоль) розчинили в ДМФА (3 мл) і додали N, N-ізопропілетиламін (1,55 мл). Реакційну суміш перемішували при кімнатній температурі протягом 30 хвилин, потім вилили у воду (80 мл), а водний шар екстрагували $EtOAc$ (2×100 мл). Органічну фазу відокремили і промили насиченим водним розчином $NaHCO_3$ (3×80 мл), 1 М $NaHSO_4$ (3×80 мл) і насиченим сольовим розчином (2×80 мл), потім висушили (Na_2SO_4), відфільтрували і концентрували. Залишок очистили сілікагелевою колонковою хроматографією з отриманням сполуки 233. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Сполуку 233 (0,59 г, 0,48 ммоль) розчинили в метанолі (2,2 мл) та етилацетаті (2,2 мл). Додали паладій на вуглеці (10 мас. % Pd/C, вологий, 0,07 г) і реакційну суміш перемішували в атмосфері водню протягом 3 годин. Реакційну суміш відфільтрували через шар целіту і концентрували з отриманням карбонової кислоти. Карбонову кислоту (1,32 г, 1,15 ммоль, яка не містить кластера) розчинили в ДМФА (3,2 мл). До неї додали N, N-діізопропілетиламін (0,3 мл, 1,73 ммоль) і PFP-TfK (0,30 мл, 1,73 ммоль). Через 30 хвилин перемішування при кімнатній температурі реакційну суміш вилили у воду (40 мл) і екстрагували $EtOAc$ (2×50 мл). Виконали стандартну процедуру виділення продукту, як описано вище, з отриманням сполуки 234. Дані РХМС і ЯМР узгоджувалися із зазначеною структурою. Олігонуклеотид 235 отримали загальним способом, описаним у Прикладі 46. Кластерна частина $GalNAc_2$ ($GalNAc_{2-24a}$) групи кон'югату $GalNAc_{2-24}$ може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється з отриманням різних груп кон'югату. Структура $GalNAc_{2-24}$ ($GalNAc_{2-24a}$ -CM) представлена нижче:

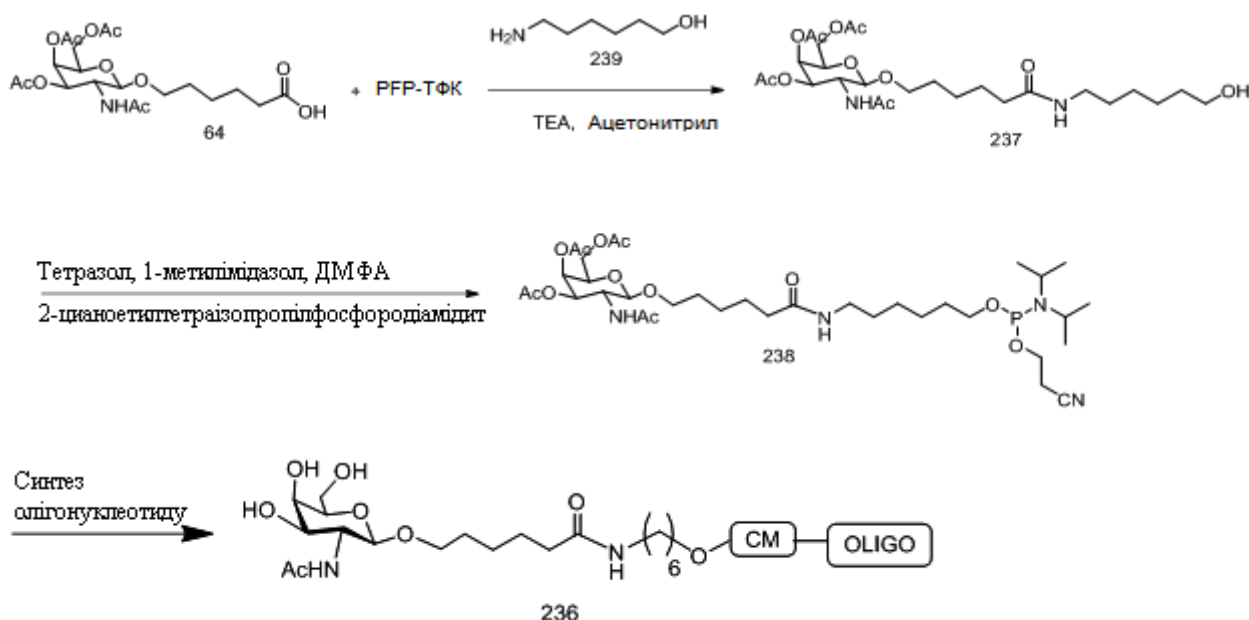


Приклад 105: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат $GalNAc_{1-25}$

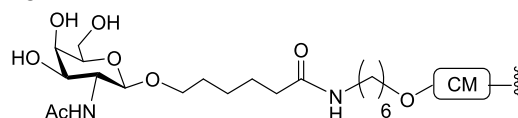


Синтез сполуки 166 описаний у Прикладі 54. Олігонуклеотид 236 отримали загальним способом, описаним у Прикладі 46.

- Альтернативно, олігонуклеотид 236 синтезували за схемою, зображеною нижче, а сполуку 238 використовували для отримання олігонуклеотиду 236 щодо способів, описаних у Прикладі 10.



- 10 Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-25_a) групи кон'югату GalNAc₁-25 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, присутнім в олігонуклеотиди, з отриманням різних груп кон'югату. Структура GalNAc₁-25 (GalNAc₁-25_a-CM) представлена нижче:



- 15 Приклад 106: Антисмислове інгібування in vivo олігонуклеотиди, спрямованими на SRB-1, що містять кон'югат 5'-GalNAc₂ або 5'-GalNAc₃

Олігонуклеотиди, наведені в Таблицях 116 і 117, випробували в дозозалежних дослідженнях антисмислового інгібування SRB-1 у мишей.

Лікування

- 20 Шоститижневим самцям мишей C57BL/6 (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен) ввели одноразову підшкірну ін'єкцію 2, 7 або 20 мг/кг ISIS № 440762; або 0,2, 0,6, 2, 6 або 20 мг/кг ISIS № 686221, 686222 або 708561; або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 72 години після останнього введення. Рівні мРНК SRB-1 у печінці виміряли за допомогою ПЛР у реальному часі. Рівні мРНК SRB-1 нормалізували до рівнів мРНК циклофіліну за стандартними протоколами. Антисмислові олігонуклеотиди, знижують рівні мРНК SRB-1 дозозалежним чином, а також результати ED₅₀

- представлені в Таблицях 116 і 117. Хоча у попередніх дослідженнях показано, що тривалентні GalNAc-сполучені олігонуклеотиди істотно більш ефективні, ніж двовалентні GalNAc-получені олігонуклеотиди, які в свою чергу суттєво ефективні, ніж одновалентні GalNAc-сполучені олігонуклеотиди (, наприклад, Khorev et al., Bioorg. & Med. Chem., т. 16, 5216-5231 (2008)),
- 5 обробка антисмисловими олігонуклеотидами, що містять одновалентні, двовалентні і тривалентні кластери GalNAc, призводить до зниження рівнів мРНК SRB-1 з однаковою ефективністю, як показано в Таблицях 116 і 117.

Таблиця 116

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc	ЕД ₅₀ (мг/кг)	SEQ ID No
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	н.д.	4,7	823
686221	GalNAc ₂ -24 _a -o ₁ A _{do} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₂ -24 _a	0,39	827
686222	GalNAc ₃ -13 _a -o ₁ A _{do} T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₃ -13 _a	0,41	827

- 10 Легенда до таблиці представлена в Прикладі 93. Структура GalNAc₃-13a показана у Прикладі 62, а структура GalNAc₂-24 показана у Прикладі 104.

Таблиця 117

Модифіковані олігонуклеотиди, спрямовані на SRB-1

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc	ЕД ₅₀ (мг/кг)	SEQ ID No
440762	T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	н.д.	5	823
708561	GalNAc ₁ -25 _a -o ₁ T _{ks} ^m C _{ks} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{ks} ^m C _k	GalNAc ₁ -25 _a	0,4	823

- 15 Легенда до таблиці представлена в Прикладі 93. Структура GalNAc₁-25a показана у Прикладі 105.

- Оцінили також концентрації олігонуклеотидів, представлених у Таблицях 116 і 117, печінки, використовуючи методи, описані в Прикладі 75. Результати, показані нижче в Таблицях 117a і 117b, являють собою середні значення загального вмісту антисмислових олігонуклеотидів у тканинах для кожної експериментальної групи, виміряні по УФ, в одиницях виміру мкг олігонуклеотиду на грам тканини печінки. Результати демонструють, що олігонуклеотиди, що містять групу кон'югата GalNAc, накопичуються в печінці в істотно більш високих кількостях, ніж при тій самій дозі олігонуклеотиду, що не містить групу кон'югату GalNAc. Крім того, антисмислові олігонуклеотиди, що містять один, два або три ліганду GalNAc у своїх відповідних групах кон'югату, накопичуються в печінці в рівних кількостях. Цей результат є несподіваним з урахуванням даних, представлених вище в літературному джерелі Khorev et al., і він узгоджується з даними активності, представленими вище в Таблицях 116 і 117.

Таблиця 117a

Концентрації в печінці олігонуклеотидів, що містять групу кон'югатаGalNAc₂ або GalNAc₃

ISIS №	Доза (мг/кг)	[Антисмисловий олігонуклеотид] (мкг/г)	Кластер GalNAc	СМ
440762	2	2,1	н.д.	н.д.
	7	13,1		
	20	31,1		

Таблиця 117a

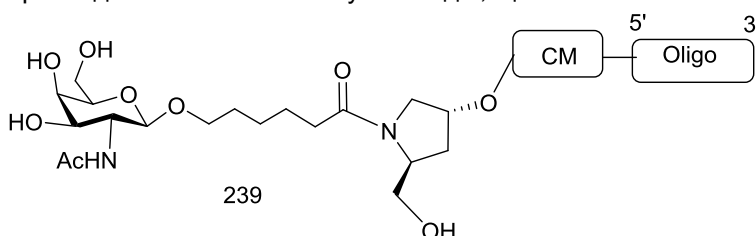
Концентрації в печінці олігонуклеотидів, що містять групу кон'югатаGalNAc₂ або GalNAc₃

ISIS №	Доза (мг/кг)	[Антисмисловий олігонуклеотид] (мкг/г)	Кластер GalNAc	CM
686221	0,2	0,9	GalNAc ₂ -24 _a	A _d
	0,6	2,7		
	2	12,0		
	6	26,5		
686222	0,2	0,5	GalNAc ₃ -13 _a	A _d
	0,6	1,6		
	2	11,6		
	6	19,8		

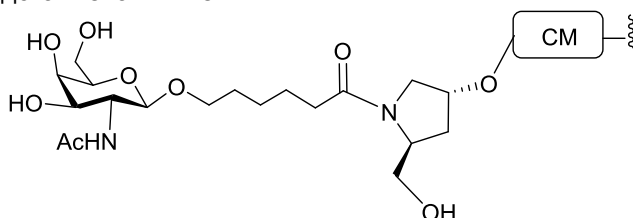
Таблиця 117b

Концентрації в печінці олігонуклеотидів, що містять групу кон'югату GalNAc₁

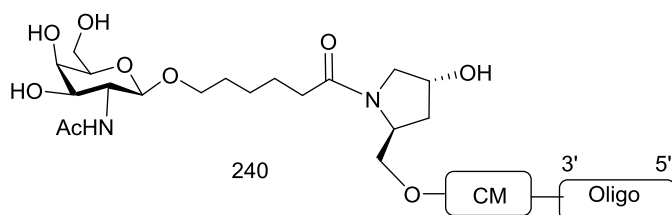
ISIS №	Доза (мг/кг)	[Антисмисловий олігонуклеотид] (мкг/г)	Кластер GalNAc	CM
440762	2	2,3	н.д.	н.д.
	7	8,9		
	20	23,7		
708561	0,2	0,4	GalNAc ₁ -25 _a	PO
	0,6	1,1		
	2	5,9		
	6	23,7		
	20	53,9		

Приклад 107: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc₁-26 або GalNAc₁-27

Олігонуклеотид 239 синтезували шляхом зв'язування сполуки 47 (див. Приклад 15) з кислотою 64 (див. Приклад 32), використовуючи HBTU і DIEA в ДМФА. Отриману сполуку, що містить амід фосфітилювали, потім приєднали до 5'-кінця олігонуклеотиду способами, описаними у Прикладі 10. Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-26_a) групи кон'югату GalNAc₁-26 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який міститься в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. Структура GalNAc₁-26 (GalNAc₁-26_a-CM) представлена нижче:

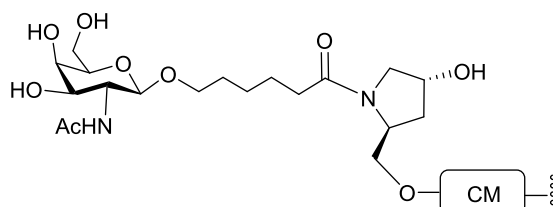


Для приєднання групи кон'югату GalNAc₁ до 3'-кінця олігонуклеотиду амід, утворений з реакції сполук 47 та 64, приєднали до твердої підкладки способами, описаними у Прикладі 7. Потім виконали синтез олігонуклеотиду способами, описаними у Прикладі 9, з отриманням олігонуклеотиду 240.



Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-27_a) групи кон'югату GalNAc₁-27 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. Структура GalNAc₁-27 (GalNAc₁-27_a-CM) представлена

5



Приклад 108: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, що містять групу кон'югату GalNAc, спрямованих на Apo(a), *in vivo*

Олігонуклеотиди, наведені нижче в Таблиці 118, випробували у дослідженні одноразової

10

Таблиця 118

Модифіковані ASO, спрямовані на Apo(a)

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
494372	T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} T _{es} ^m C _e	н.д.	н.д.	847
681251	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{es} ^m C _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} G _{es} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	847
681255	GalNAc ₃ -3 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -3a	PO	847
681256	GalNAc ₃ -10 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -10a	PO	847
681257	GalNAc ₃ -7 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	847
681258	GalNAc ₃ -13 _a -o'-T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -13a	PO	847
681260	T _{es} G _{eo} ^m C _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{ds} G _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} G _{ds} T _{ds} G _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} G _{eo} T _{es} T _{es} ^m C _{eo} A _{do} '-GalNAc ₃ -19	GalNAc ₃ -19a	A _d	854

Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

Лікування

15

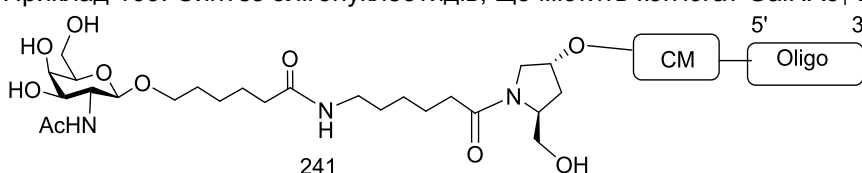
Самцям трансгенних мишей, які експресують людський Apo(a), ввели одноразову підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду і дози, наведеної в Таблиці 119, або PBS. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Зразки крові брали за день до введення дози для визначення вихідних рівнів білка Apo(a) у плазмі, а також через 1 тиждень після введення першої дози. Зразки крові брали додатково щотижня протягом близько 8 тижнів. Рівні білка Apo(a) у плазмі вимірювали за допомогою твердофазного імуоферментного аналізу. Результати в Таблиці 119 представлені як середній відсоток від рівнів білка Apo(a) в плазмі для кожної експериментальної групи, нормалізованих до вихідних рівнів (% BL). Результати показують, що антисмислові олігонуклеотиди знижують експресію білка Apo(a). Крім того, олігонуклеотиди, що містять групу кон'югату GalNAc, демонструють ще більш ефективне зниження експресії Apo(a), ніж олігонуклеотид, що не містить групи кон'югату.

25

Рівні білка Аро(а) в плазмі

ISIS №	Доза (мг/кг)	Аро(а) через 1 тиждень (% BL)
PBS	н.д.	143
494372	50	58
681251	10	15
681255	10	14
681256	10	17
681257	10	24
681258	10	22
681260	10	26

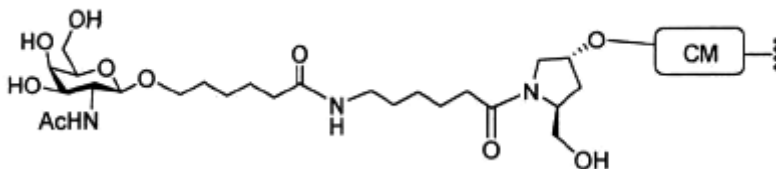
Приклад 109: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc₁-28 або GalNAc₁-29



5

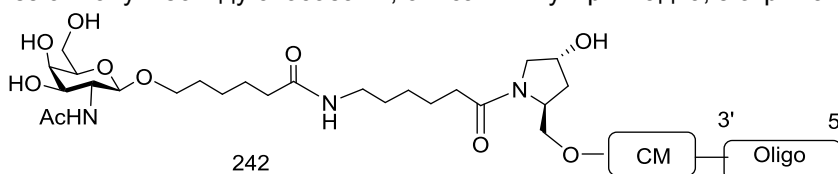
Олігонуклеотид 241 синтезували такими-саме способами, як описано в Прикладі 71, з отриманням фосфорамідитної проміжної сполуки, після чого виконали прийоми, описані в Прикладі 10, для синтезу олігонуклеотиду. Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-28_a) групи кон'югату GalNAc₁-28 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. Структура GalNAc₁-28 (GalNAc₁-28_a-CM) представлена нижче:

10



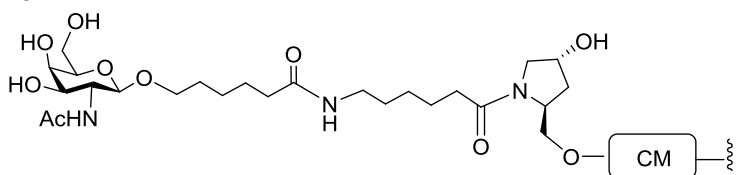
Для приєднання групи кон'югату GalNAc₁ до 3'-кінця олігонуклеотиду використовували такі-саме способи, як описано в Прикладі 71, з отриманням гідроксильної проміжної сполуки, яку потім приєднали до твердої підкладки способами, описаними у Прикладі 7. Потім виконали синтез олігонуклеотиду способами, описаними у Прикладі 9, з отриманням олігонуклеотиду 242.

15

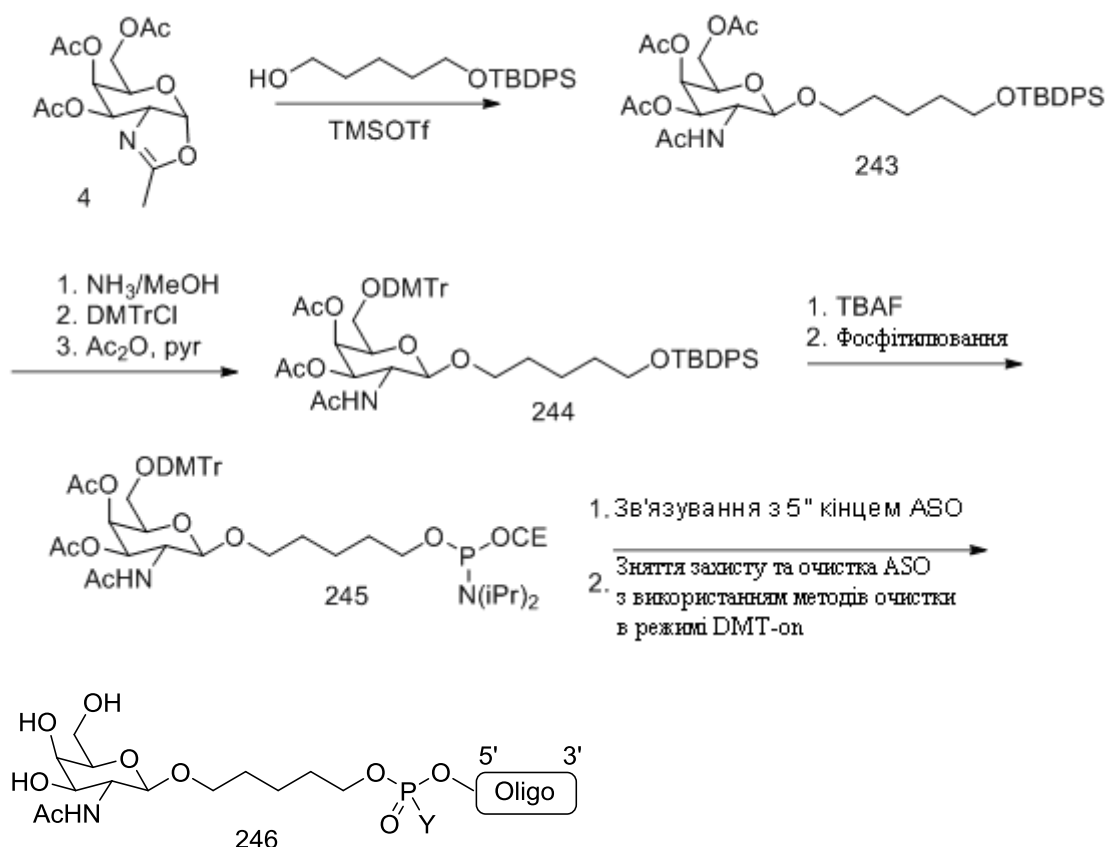


Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-29_a) групи кон'югату GalNAc₁-29 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. Структура GalNAc₁-29 (GalNAc₁-29_a-CM) представлена нижче:

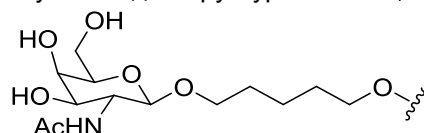
20



Приклад 110: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc₁-30

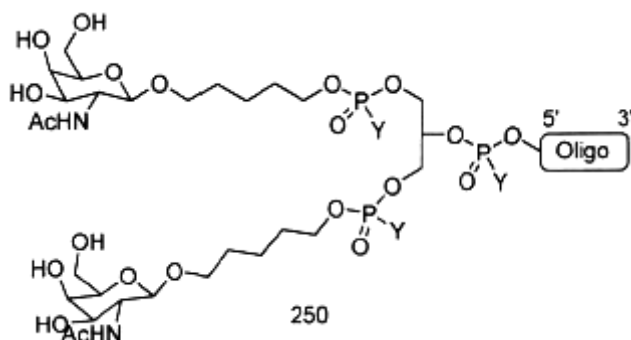


Олігонуклеотид 246, який містить групу кон'югату GalNAc₁-30, де Y обраний з O, S, заміщеного або незаміщеного C₁-C₁₀ алкілу, аміно, заміщеного аміно, азидо, алкенілу або алкінілу, синтезували так, як показано вище. Кластерна частина GalNAc₁ (GalNAc₁-30_a) групи кон'югату GalNAc₁-30 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації Y являє собою частину фрагмента, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації Y являє собою частину стабільного фрагмента, а фрагмент, що розщеплюється знаходиться в олігонуклеотиді. Структура GalNAc₁-30_a представлена нижче:

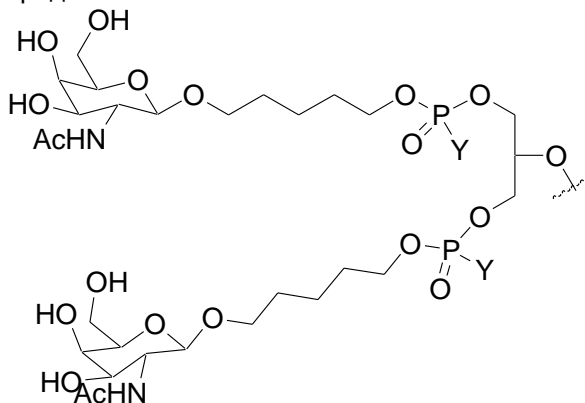


Приклад 111: Синтез олігонуклеотидів, що містять кон'югат GalNAc₂-31 або GalNAc₂-32

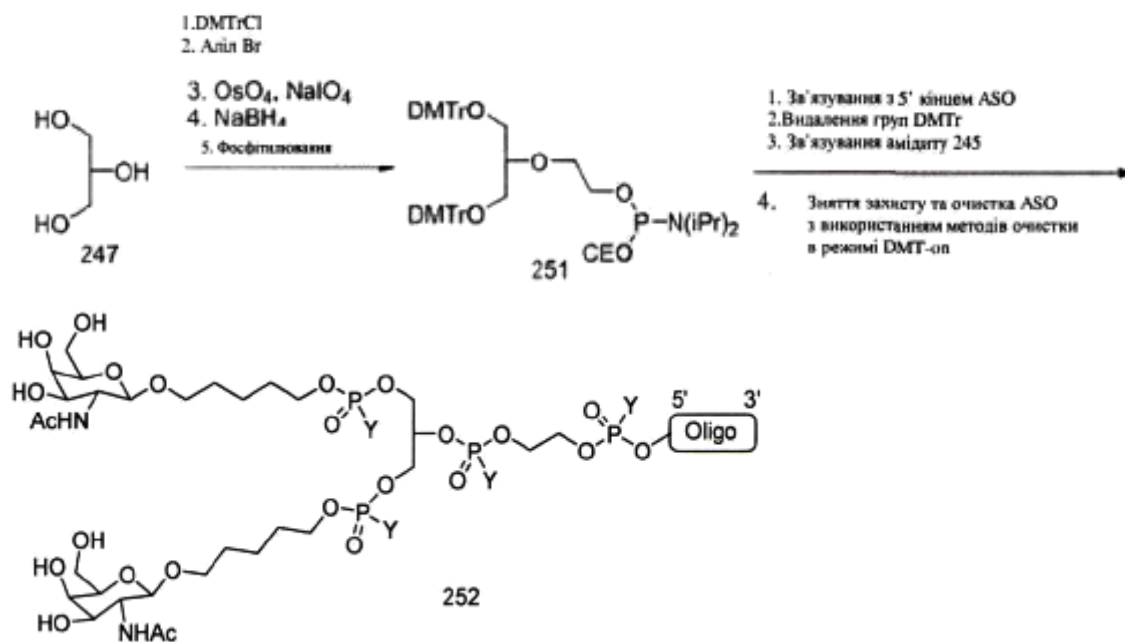




Олігонуклеотид 250, який містить групу кон'югату GalNAc₂-31, де Y обраний з O, S, заміщеного або незаміщеного C₁-C₁₀ алкілу, аміно, заміщеного аміно, азидо, алкенілу або алкінілу, синтезували так, як показано вище. Кластерна частина GalNAc₂ (GalNAc₂-31_a) групи кон'югату GalNAc₂-31 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації група, яка містить Y, і знаходиться безпосередньо біля 5'-кінця олігонуклеотиду, являє собою частину фрагмента, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації група, яка містить Y, і знаходиться безпосередньо біля 5'-кінця олігонуклеотиду, являє собою частину стабільного фрагмента, а фрагмент, що розщеплюється знаходиться в олігонуклеотиді. Структура GalNAc₂-31_a представлена нижче:

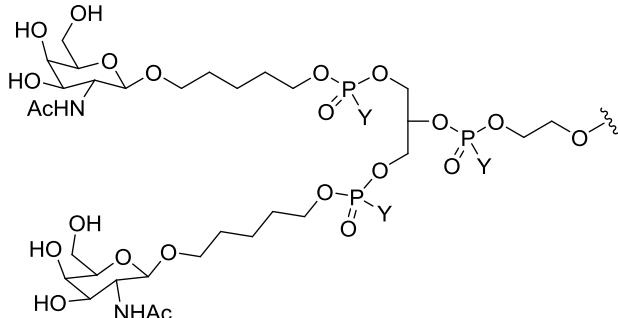


Синтез олігонуклеотиду, що містить кон'югат GalNAc₂-32, представлений нижче.



Олігонуклеотид 252, який містить групу кон'югату GalNAc₂-32, де Y обраний з O, S, заміщеного або незаміщеного C₁-C₁₀ алкілу, аміно, заміщеного аміно, азидо, алкенілу або

- алкінілу, синтезували так, як показано вище. Кластерна частина GalNAc₂ (GalNAc₂-32_a) групи кон'югату GalNAc₂-32 може бути комбінована з будь-яким фрагментом, що розщеплюється, який містяться в олігонуклеотиді, з отриманням різних груп кон'югату. У деяких варіантах реалізації група, яка містить Y, і знаходиться безпосередньо біля 5'-кінця олігонуклеотиду, являє собою частину фрагмента, що розщеплюється. У деяких варіантах реалізації група, яка містить Y, і знаходиться безпосередньо біля 5'-кінця олігонуклеотиду, являє собою частину стабільного фрагмента, а фрагмент, що розщеплюється знаходиться в олігонуклеотиді. Структура GalNAc₂-32_a представлена нижче:



- Приклад 112: Модифіковані олігонуклеотиди, що містять кон'югат GalNAc₁
Олігонуклеотиди в Таблиці 120, спрямовані на SRB-1, були синтезовані з групою кон'югату GalNAc₁ для додаткової перевірки ефективності олігонуклеотидів, що містять групи кон'югату, які містять один ліганд GalNAc.

Таблица 120

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc	CM	SEQ ID NO
711461	GalNAc ₁ -25 _{a-o} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	A _d	831
711462	GalNAc ₁ -25 _{a-o} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	PO	829
711463	GalNAc ₁ -25 _{a-o} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -25 _a	PO	829
711465	GalNAc ₁ -26 _{a-o} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	A _d	831
711466	GalNAc ₁ -26 _{a-o} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	PO	829
711467	GalNAc ₁ -26 _{a-o} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -26 _a	PO	829
711468	GalNAc ₁ -28 _{a-o} A _{do} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	A _d	831
711469	GalNAc ₁ -28 _{a-o} G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	PO	829
711470	GalNAc ₁ -28 _{a-o} G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _e	GalNAc ₁ -28 _a	PO	829
713844	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} '.GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	PO	829
713845	G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} '.GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	PO	829
713846	G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} '.GalNAc ₁ -27 _a	GalNAc ₁ -27 _a	A _d	830
713847	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} '.GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	PO	829
713848	G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} '.GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	PO	829
713849	G _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{es} ^m C _{es} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} '.GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	A _d	830
713850	G _{es} ^m C _{eo} T _{eo} T _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{ds} A _{ds} T _{ds} G _{ds} A _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} T _{es} T _{eo} A _{do} '.GalNAc ₁ -29 _a	GalNAc ₁ -29 _a	A _d	830

Приклад 113: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на CFB

Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 121, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у мишей.

Таблиця 121

Модифіковані ASO, спрямовані на CFB

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	SEQ ID NO
588540	AesTes ^m Ces ^m Ces ^m CesAds ^m CdsGds ^m Cds ^m Cds ^m Cds ^m CdsT _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m Ces ^m Ces ^m AesGes ^m Ce	н.д.	н.д.	440
687301	GalNAc ₃ -3 _a -o-AesTes ^m Ces ^m Ces ^m CesAds ^m CdsGds ^m Cds ^m Cds ^m Cds ^m CdsT _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m Ces ^m Ces ^m AesGes ^m Ce	GalNAc ₃ -3a	PO	440

Структура GalNAc₃-3_a показана раніше в Прикладі 39.

Лікування

Кожній трансгенній миші, яка експресує людський CFB (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен), один раз на тиждень протягом 3 тижнів (загалом 4 дози) вводили підшкірну ін'єкцію олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 122, або сольового розчину. Чотирьом експериментальним групам, яким вводили ISIS № 588540, вводили 6, 12, 25 або 50 мг/кг на дозу. Чотирьом експериментальним групам, яким вводили ISIS № 687301, вводили 0,25, 0,5, 2 або 6 мг/кг на дозу. Кожна експериментальна група складалася з 4 тварин. Мишей приспали через 2 дні після останнього введення дози для визначення рівнів людського CFB і мРНК циклофіліном в печінці і нирках, використовуючи ПЛР у реальному часі за стандартними протоколами. Рівні мРНК CFB нормалізували до рівнів циклофіліном, а середні значення для кожної експериментальної групи використовували для визначення дози, яка забезпечує досягнення 50 % інгібування експресії транскрипту людського CFB (ED₅₀). Результати являють собою середини значення для чотирьох експериментів, проведених з двома різними наборами праймерних зондів, і представлені в Таблиці 122.

Таблиця 122

Ефективність олігонуклеотидів, спрямованих на людський CFB, *in vivo*

ISIS №	ED ₅₀ в печінці (мг/кг)	ED ₅₀ в нирках (мг/кг)	Кластер GalNAc ₃	CM
588540	7,9	11,7	н.д.	н.д.
687301	0,49	0,35	GalNAc ₃ -3a	PO

Рівні трансамінази печінки, аланін-амінотрансферази (ALT) та аспартат-амінотрансферази (AST) у сироватці вимірювали щодо мишей, ін'єкованих сольовим розчином, використовуючи стандартні протоколи. Оцінили також загальний білірубін, азот сечовини крові (АМК) і масу тіла. Результати демонструють, що експериментальні групи не мають істотних відмінностей від групи, обробленої сольовим розчином (дані не показані), що вказує на хорошу переносимість обох олігонуклеотидів.

Приклад 114: Антисмислове інгібування *in vivo* під дією олігонуклеотидів, спрямованих на CFB

Олігонуклеотиди, наведені в Таблиці 123, випробували в дозозалежному дослідженні антисмислового інгібування CFB у мишей.

Лікування

Кожній трансгенній миші, яка експресує людський CFB (Jackson Laboratory, Бар-Харбор, штат Мен), ввели одноразову підшкірну ін'єкцію 0,6, 1, 6 або 18 мг/кг олігонуклеотиду, наведеного в Таблиці 123, або сольового розчину. Кожна експериментальна група складалася з 4 або 5 тварин. Мишей приспали через 72 години після введення дози для визначення рівнів людського CFB і мРНК циклофіліном в печінці, використовуючи ПЛР у реальному часі за стандартними протоколами. Рівні мРНК CFB нормалізували до рівнів циклофіліном, а середні значення для кожної експериментальної групи використовували для визначення дози, яка

забезпечує досягнення 50 % інгібування експресії транскрипту людського CFB (ED₅₀).
Результати представлені в Таблиці 123.

Таблиця 123

Модифіковані ASO, спрямовані на CFB

ISIS №	Послідовність (від 5' до 3')	Кластер GalNAc ₃	CM	ED ₅₀ в печінці (мг/кг)	SEQ ID NO
696844	GalNAc ₃ -7 _a -o ^m A _{es} T _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{ds} ^m C _{ds} G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{es} ^m C _{es} A _{es} G _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	0,86	440
696845	GalNAc ₃ -7 _a -o ^m A _{es} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} ^m C _{ds} G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{es} G _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	0,71	440
698969	GalNAc ₃ -7 _a -o ^m A _{es} T _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{es} A _{ds} ^m C _{ds} G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{es} G _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	0,51	440
698970	GalNAc ₃ -7 _a -o ^m A _{es} T _{es} ^m C _{eo} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{ds} ^m C _{ds} G _{ds} ^m ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} ^m C _{ds} T _{ds} G _{ds} T _{ds} ^m C _{eo} ^m C _{eo} A _{es} G _{es} ^m C _e	GalNAc ₃ -7a	PO	0,55	440

5 Структура GalNAc₃-7_a показана раніше в Прикладі 48.

Приклад 115: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у HepG2 клітинах МОЕ гепмерами

Були сконструйовані антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB.

10 Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів, які мали аналогічні умови культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Культивовані клітини HepG2 з щільністю 20000 клітин на лунку трансфецирували з використанням електропорації з 4500 нМ антисмислового олігонуклеотиду. Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерних зондів RTS3459 (пряма послідовність AGTCTCTGTGGCATGGTTTGG, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 810; зворотна послідовність GGGCGAATGACTGAGATCTTG, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 811; послідовність зонда TACCGATTACCACAAGCAACCATGGCA, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 812) був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

25 Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди, зазначені у поданих нижче таблицях, були сконструйовані як 5-10-5 МОЕ гепмери. Гепмери 5-10-5 МОЕ мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів та оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-МОЕ модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини. "Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Таблиця 124

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532608	20	39	Екзон 1	GCTGAGCTGCC AGTCAAGGA	36	1741	1760	6
532609	26	45	Екзон 1	GGCCCCGCTGA GCTGCCAGT	16	1747	1766	7
532610	45	64	Екзон 1	CGGAACATCCA AGCGGGAGG	11	1766	1785	8
532611	51	70	Екзон 1	CTTTCCCGGAAC ATCCAAGC	26	1772	1791	9
532612	100	119	Екзон 1	ATCTGTGTTCTG GCACCTGC	25	1821	1840	10
532613	148	167	Екзон 1	GTCACATTCCCT TCCCCTGC	39	1869	1888	11
532614	154	173	Екзон 1	GACCTGGTCAC ATTCCCTTC	71	1875	1894	12
532615	160	179	Екзон 1	GACCTAGACCT GGTCACATT	35	1881	1900	13
532616	166	185	Екзон 1	ACTCCAGACCTA GACCTGGT	39	1887	1906	14
532617	172	191	Екзон 1	GCTGAAACTCCA GACCTAGA	27	1893	1912	15
532618	178	197	Екзон 1	GTCCAAGCTGA AACTCCAGA	29	1899	1918	16
532619	184	203	Екзон 1	CTCAGTGTCCAA GCTGAAAC	21	1905	1924	17
532620	246	265	Екзон 1	AGGAGAGAAGC TGGGCCTGG	31	1967	1986	18
532621	252	271	Екзон 1	GAAGGCAGGAG AGAAGCTGG	25	1973	1992	19
532622	336	355	Зчленування екзонів 1-2	GTGGTGGTCAC ACCTCCAGA	28	н.д.	н.д.	20
532623	381	400	Екзон 2	CCCTCCAGAGA GCAGGATCC	22	2189	2208	21
532624	387	406	Екзон 2	TCTACCCCCTCC AGAGAGCA	37	2195	2214	22
532625	393	412	Екзон 2	TTGATCTCTACC CCCTCCAG	30	2201	2220	23
532626	417	436	Екзон 2	TGGAGAAGTCG GAAGGAGCC	35	2225	2244	24
532627	423	442	Екзон 2	CCCTCTTGGAG AAGTCGGAA	37	2231	2250	25
532628	429	448	Екзон 2	GCCTGGCCCTC TTGGAGAAG	0	2237	2256	26
532629	435	454	Екзон 2	TCCAGTGCCTG GCCCTCTTG	26	2243	2262	27
532630	458	477	Екзон 2	AGAAGCCAGAA GGACACACG	30	2266	2285	28
532631	464	483	Екзон 2	ACGGGTAGAAG	43	2272	2291	29

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				CCAGAAGGA				
532632	480	499	Екзон 2	CGTGTCTGCAC AGGGTACGG	57	2288	2307	30
532633	513	532	Екзон 2	AGGGTGCTCCA GGACCCCGT	27	2321	2340	31
532634	560	579	Зчленування екзонів 2-3	TTGCTCTGCACT CTGCCTTC	41	н.д.	н.д.	32
532635	600	619	Екзон 3	TATCCCCGTTT TCGAAGTC	67	2808	2827	33
532636	626	645	Екзон 3	CATTGTAGTAGG GAGACCGG	24	2834	2853	34
532637	632	651	Екзон 3	CACTCACATTGT AGTAGGGA	49	2840	2859	35
532638	638	657	Екзон 3	TCTCATCACTCA CATTGTAG	50	2846	2865	36
532639	644	663	Екзон 3	AAGAGATCTCAT CACTCACA	52	2852	2871	37
532640	650	669	Екзон 3	AGTGGAAGAG ATCTCATCA	34	2858	2877	38
532641	656	675	Екзон 3	CATAGCAGTGG AAAGAGATC	32	2864	2883	39
532642	662	681	Екзон 3	AACCGTCATAGC AGTGGAAG	45	2870	2889	40
532643	668	687	Екзон 3	GAGTGTAACCG TCATAGCAG	36	2876	2895	41
532644	674	693	Екзон 3	CCCGGAGAGTG TAACCGTCA	30	2882	2901	42
532645	680	699	Екзон 3	CAGAGCCCCGG AGAGTGTA	27	2888	2907	43
532646	686	705	Екзон 3	GATTGGCAGAG CCCCGGAGA	20	2894	2913	44
532647	692	711	Екзон 3	AGGTGCGATTG GCAGAGCCC	28	2900	2919	45
532648	698	717	Екзон 3	CTTGGCAGGTG CGATTGGCA	24	2906	2925	46
532649	704	723	Екзон 3	CATTCACTTGGC AGGTGCGA	28	2912	2931	47
532650	729	748	Екзон 3	ATCGCTGTCTGC CCTCTCCA	44	2937	2956	48
532651	735	754	Екзон 3	TCACAGATCGCT GTCTGCCC	44	2943	2962	49
532652	741	760	Екзон 3	CCGTTGTCACA GATCGCTGT	27	2949	2968	50
532653	747	766	Зчленування екзонів 3-4	CCCGCTCCGTT GTCACAGAT	28	н.д.	н.д.	51
532654	753	772		CAGTACCCCGC	13	н.д.	н.д.	52

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
			Зчленування екзонів 3-4	TCCGTTGTC				
532655	759	778	Зчленування екзонів 3-4	TTGGAGCAGTACCCCGCTCC	8	н.д.	н.д.	53
532656	789	808	Екзон 4	ACCTTCCTTGTGCCAATGGG	40	3152	3171	54
532657	795	814	Екзон 4	CTGCCACCTTCTTGTC	41	3158	3177	55
532658	818	837	Екзон 4	CGCTGTCTTCAAGGCGGTAC	33	3181	3200	56
532659	835	854	Екзон 4	GCTGCAGTGGTAGGTGACGC	32	3198	3217	57
532660	841	860	Екзон 4	CCCCGGCTGCAGTGGTAGG	17	3204	3223	58
532661	847	866	Екзон 4	GGTAAGCCCCGGCTGCAGT	28	3210	3229	59
532662	853	872	Екзон 4	ACGCAGGGTAA GCCCCCGGC	13	3216	3235	60
532663	859	878	Екзон 4	GGAGCCACGCA GGGTAAGCC	33	3222	3241	61
532664	866	885	Екзон 4	GCCGCTGGGAGCCACGCAGG	10	3229	3248	62
532665	891	910	Екзон 4	CAAGAGCCACCTTCCTGACA	17	3254	3273	63
532666	897	916	Екзон 4	CCGCTCCAAGAGCCACCTTC	25	3260	3279	64
532667	903	922	Екзон 4	TCCGTCCCGCTCCAAGAGCC	29	3266	3285	65
532668	909	928	Екзон 4	GAAGGCTCCGTCCCGCTCCA	14	3272	3291	66
532669	915	934	Екзон 4	TGGCAGGAAGGCTCCGTCCC	18	3278	3297	67
532670	921	940	Зчленування екзонів 4-5	GAGTCTTGGCAGGAAGGCTC	20	н.д.	н.д.	68
532671	927	946	Зчленування екзонів 4-5	ATGAAGGAGTCTTGGCAGGA	14	н.д.	н.д.	69
532672	956	975	Екзон 5	CTTCGGCCACCTCTTGAGGG	45	3539	3558	70
532673	962	981	Екзон 5	GGAAGCTTCGGCCACCTCT	37	3545	3564	71
532674	968	987	Екзон 5	AAGACAGGAAAGCTTCGGCC	28	3551	3570	72
532675	974	993	Екзон 5	TCAGGGAAGAC	16	3557	3576	73

Таблиця 124

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				AGGAAAGCT				
532676	996	1015	Екзон 5	TCGACTCCTTCT ATGGTCTC	31	3579	3598	74
532677	1033	1052	Зчленування екзонів 5-6	CTTCTGTTGTTCC CCCTGGGC	36	н.д.	н.д.	75
532678	1068	1087	Екзон 6	TTCATGGAGCCT GAAGGGTC	19	3752	3771	76
532679	1074	1093	Екзон 6	TAGATGTTTCATG GAGCCTGA	24	3758	3777	77
532680	1080	1099	Екзон 6	ACCAGGTAGAT GTTTCATGGA	13	3764	3783	78
532681	1086	1105	Екзон 6	TCTAGCACCAG GTAGATGTT	20	3770	3789	79
532682	1092	1111	Екзон 6	GATCCATCTAGC ACCAGGTA	33	3776	3795	80
532683	1098	1117	Екзон 6	CTGTCTGATCCA TCTAGCAC	44	3782	3801	81
532684	1104	1123	Екзон 6	CCAATGCTGTCT GATCCATC	29	3788	3807	82
532685	1129	1148	Екзон 6	TTTGGCTCCTGT GAAGTTGC	40	3813	3832	83

Таблиця 125

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532686	1135	1154	Екзон 6	ACACTTTTTGGCTCCTGT GA	91	3819	3838	84
532687	1141	1160	Екзон 6	GACTAGACACTTTTTGGC TC	77	3825	3844	85
532688	1147	1166	Екзон 6	TAAGTTGACTAGACACTT TT	70	3831	3850	86
532689	1153	1172	Екзон 6	CTCAATTAAGTTGACTAG AC	61	3837	3856	87
532690	1159	1178	Зчленування екзонів 6-7	CACCTTCTCAATTAAGTT GA	57	3843	3862	88
532691	1165	1184	Зчленування екзонів 6-7	ACTTGCCACCTTCTCAAT TA	56	н.д.	н.д.	89
532692	1171	1190	Зчленування екзонів 6-7	ACCATAACTTGCCACCTT CT	56	н.д.	н.д.	90

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532693	1177	1196	Екзон 7	CTTCACACCATAACTTGC CA	56	4153	4172	91
532694	1183	1202	Екзон 7	TCTTGGCTTCACACCATA AC	55	4159	4178	92
532695	1208	1227	Екзон 7	ATGTGGCATATGTCACTA GA	55	4184	4203	93
532696	1235	1254	Екзон 7	CAGACACTTTGACCCAAA TT	55	4211	4230	94
532697	1298	1317	Зчленування екзонів 7-8	GGTCTTCATAATTGATTT CA	53	н.д.	н.д.	95
532698	1304	1323	Зчленування екзонів 7-8	ACTTGTGGTCTTCATAAT TG	53	н.д.	н.д.	96
532699	1310	1329	Зчленування екзонів 7-8	ACTTCAACTTGTGGTCTT CA	52	н.д.	н.д.	97
532700	1316	1335	Екзон 8	TCCCTGACTTCAACTTGT GG	52	4609	4628	98
532701	1322	1341	Екзон 8	TGTTAGTCCCTGACTTCA AC	52	4615	4634	99
532702	1328	1347	Екзон 8	TCTTGGTGTAGTCCCTG AC	51	4621	4640	100
532703	1349	1368	Екзон 8	TGTACACTGCCTGGAGG GCC	51	4642	4661	101
532704	1355	1374	Екзон 8	TCATGCTGTACACTGCCT GG	51	4648	4667	102
532705	1393	1412	Екзон 8	GTTCCAGCCTTCAGGAG GGA	50	4686	4705	103
532706	1399	1418	Екзон 8	GGTGCGGTTCAGCCTT CAG	50	4692	4711	104
532707	1405	1424	Екзон 8	ATGGCGGGTGCGGTTCC AGC	50	4698	4717	105
532708	1411	1430	Екзон 8	GATGACATGGCGGGTGC GGT	49	4704	4723	106
532709	1417	1436	Екзон 8	GAGGATGATGACATGGC GGG	49	4710	4729	107
532710	1443	1462	Зчленування екзонів 8-9	CCCATGTTGTGCAATCCA TC	48	н.д.	н.д.	108
532711	1449	1468	Екзон 9	TCCCCGCCCATGTTGTG CAA	48	5023	5042	109
532712	1455	1474	Екзон 9	ATTGGGTCCCCGCCCAT GTT	48	5029	5048	110
532713	1461	1480	Екзон 9	ACAGTAATTGGGTCCCC GCC	48	5035	5054	111
532714	1467	1486	Екзон 9	TCAATGACAGTAATTGGG TC	47	5041	5060	112
532715	1473	1492	Екзон 9	ATCTCATCAATGACAGTA AT	47	5047	5066	113

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532716	1479	1498	Екзон 9	TCCCGGATCTCATCAATGAC	46	5053	5072	114
532717	1533	1552	Зчленування екзонів 9-10	ACATCCAGATAATCCTCCCT	46	н.д.	н.д.	115
532718	1539	1558	Зчленування екзонів 9-10	ACATAGACATCCAGATAATC	46	н.д.	н.д.	116
532719	1545	1564	Зчленування екзонів 9-10	CCAAACACATAGACATCCAG	46	н.д.	н.д.	117
532720	1582	1601	Екзон 10	AGCATTGATGTTCACTTGGT	46	5231	5250	118
532721	1588	1607	Екзон 10	AGCCAAAGCATTGATGTTCA	45	5237	5256	119
532722	1594	1613	Екзон 10	CTTGGAAGCCAAAGCAT TGA	45	5243	5262	120
532723	1600	1619	Екзон 10	GTCTTTCTTGGAAGCCAAAG	45	5249	5268	121
532724	1606	1625	Екзон 10	CTCATTGTCTTTCTTGGAAG	44	5255	5274	122
532725	1612	1631	Екзон 10	ATGTTGCTCATTGTCTTTCT	44	5261	5280	123
532726	1618	1637	Екзон 10	GAACACATGTTGCTCATTGT	44	5267	5286	124
532727	1624	1643	Екзон 10	GACTTTGAACACATGTTGCT	43	5273	5292	125
532728	1630	1649	Екзон 10	ATCCTTGACTTTGAACACAT	43	5279	5298	126
532729	1636	1655	Екзон 10	TTCCATATCCTTGACTTTGA	43	5285	5304	127
532730	1642	1661	Екзон 10	CAGGTTTTCCATATCCTTGA	42	5291	5310	128
532731	1686	1705	Екзон 11	CTCAGAGACTGGCTTTCATC	42	5827	5846	129
532732	1692	1711	Екзон 11	CAGAGACTCAGAGACTGGCT	42	5833	5852	130
516252	1698	1717	Екзон 11	ATGCCACAGAGACTCAGAGA	42	5839	5858	131
532733	1704	1723	Екзон 11	CAAACCATGCCACAGAGACT	41	5845	5864	132
532734	1710	1729	Екзон 11	TGTTCCCAAACCATGCCACA	41	5851	5870	133
532735	1734	1753	Екзон 11	TTGTGGTAATCGGTACCTT	41	5875	5894	134
532736	1740	1759	Екзон 11	GGTTGCTTGTGGTAATC GGT	40	5881	5900	135

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532737	1746	1765	Екзон 11	TGCCATGGTTGCTTGTG GTA	40	5887	5906	136
532738	1752	1771	Екзон 11	TTGGCCTGCCATGGTTG CTT	40	5893	5912	137
532739	1758	1777	Екзон 11	GAGATCTTGGCCTGCCA TGG	38	5899	5918	138
532740	1803	1822	Екзон 12	ACAGCCCCCATAACAGCT CTC	38	6082	6101	139
532741	1809	1828	Екзон 12	GACACCACAGCCCCCAT ACA	38	6088	6107	140
532742	1815	1834	Екзон 12	TACTCAGACACCACAGC CCC	38	6094	6113	141
532743	1821	1840	Екзон 12	ACAAAGTACTCAGACAC CAC	37	6100	6119	142
532744	1827	1846	Екзон 12	GTCAGCACAAAGTACTC AGA	37	6106	6125	143
532745	1872	1891	Екзон 12	TTGATTGAGTGTTCTTG TC	36	6151	6170	144
532746	1878	1897	Екзон 12	CTGACCTTGATTGAGTGT TC	35	6157	6176	145
532747	1909	1928	Екзон 13	TATCTCCAGGTCCCGCTT CT	35	6403	6422	146
532748	1967	1986	Екзон 13	GAATTCCTGCTTCTTTT TC	32	6461	6480	147
532749	1973	1992	Екзон 13	ATTCAGGAATTCCTGCTT CT	32	6467	6486	148
532750	1979	1998	Екзон 13	CATAAAATTCAGGAATTC CT	32	6473	6492	149
532751	1985	2004	Екзон 13	CATAGTCATAAAATTCAG GA	31	6479	6498	150
532752	2006	2025	Екзон 13	TGAGCTTGATCAGGGCA ACG	30	6500	6519	151
532753	2012	2031	Екзон 13	TATTCTTGAGCTTGATCA GG	30	6506	6525	152
532754	2048	2067	Зчлену- вання екзонів 13- 14	GACAAATGGGCCTGATA GTC	30	н.д.	н.д.	153
532755	2070	2089	Екзон 14	GTTGTTCCCTCGGTGCA GGG	29	6659	6678	154
532756	2076	2095	Екзон 14	GCTCGAGTTGTTCCCTC GGT	28	6665	6684	155
532757	2082	2101	Екзон 14	CTCAAAGCTCGAGTTGTT CC	28	6671	6690	156
532758	2088	2107	Екзон 14	GGAAGCCTCAAAGCTCG AGT	25	6677	6696	157
532759	2094	2113	Екзон 14	GTTGGAGGAAGCCTCAA AGC	23	6683	6702	158
532760	2100	2119	Екзон 14	GTGGTAGTTGGAGGAAG CCT	23	6689	6708	159

Таблиця 125

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532761	2106	2125	Екзон 14	TGGCAAGTGGTAGTTGG AGG	18	6695	6714	160
532762	2112	2131	Екзон 14	TGTTGCTGGCAAGTGGT AGT	14	6701	6720	161

Таблиця 126

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532812	н.д.	н.д.	Екзон 1	TCCAGCTCACTCCCCTGTTG	19	1593	1612	162
532813	н.д.	н.д.	Екзон 1	TAAGGATCCAGCTCACTCC C	40	1599	1618	163
532814	н.д.	н.д.	Екзон 1	CAGAAATAAGGATCCAGCT C	39	1605	1624	164
532815	н.д.	н.д.	Екзон 1	AGGGACCAGAAATAAGGAT C	0	1611	1630	165
532816	н.д.	н.д.	Екзон 1	CCACTTAGGGACCAGAAAT A	27	1617	1636	166
532817	н.д.	н.д.	Екзон 1	TCCAGGACTCTCCCCTTCA G	39	1682	1701	167
532818	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAGTCCCACCCTTTGCTGC C	15	1707	1726	168
532819	н.д.	н.д.	Екзон 1	CTGCAGAAGTCCCACCCTTT	26	1713	1732	169
532820	н.д.	н.д.	Екзон 1	CAGAAACTGCAGAAGTCCC A	8	1719	1738	170
532821	н.д.	н.д.	Екзон 2 - інтрон 2	AACCTCTGCACTCTGCCTTC	39	2368	2387	171
532822	н.д.	н.д.	Екзон 2 - інтрон 2	CCCTCAAACCTCTGCACTCT	3	2374	2393	172
532823	н.д.	н.д.	Екзон 2 - інтрон 2	TCATTGCCCTCAAACCTCTG	19	2380	2399	173
532824	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CCACACTCATTGCCCTCAAA	37	2386	2405	174
532825	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CACTGCCCACACTCATTGC C	23	2392	2411	175
532826	н.д.	н.д.	Інтрон 2	TTAGGCCACTGCCCACACT C	15	2398	2417	176
532827	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CTAGTCCTGACCTTGCTGC C	28	2436	2455	177
532828	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CTCATCCTAGTCCTGACCTT	25	2442	2461	178
532829	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CCTAGTCTCATCCTAGTCCT	23	2448	2467	179
532830	н.д.	н.д.	Інтрон 2	ACCCTGCCTAGTCTCATCCT	30	2454	2473	180
532831	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CTTGTCACCCTGCCTAGTCT	34	2460	2479	181
532832	н.д.	н.д.	Інтрон 2	GCCCACCTTGTCACCCTGC C	36	2466	2485	182
532833	н.д.	н.д.	Інтрон 2	CCTAAAACTGCTCCTACTCC	9	2492	2511	183

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532834	н.д.	н.д.	Інtron 4	GAGTCAGAAATGAGGTCAA A	19	3494	3513	184
532835	н.д.	н.д.	Інtron 11	CCCTACTCCCATTTCACCTT	16	5971	5990	185
532836	н.д.	н.д.	Інtron 8 - екзон 9	TGTTGTGCAATCCTGCAGAA	25	5013	5032	186
532837	н.д.	н.д.	Інtron 1	AAAGGCTGATGAAGCCTGG C	18	2123	2142	187
532838	н.д.	н.д.	Інtron 7	CCTTTGACCACAAAGTGCC C	21	4461	4480	188
532839	н.д.	н.д.	Інtron 12	AGGTACCACCTCTTTGTGG G	29	6362	6381	189
532840	н.д.	н.д.	Інtron 1 - екзон 2	TGGTGGTCACACCTGAAGA G	34	2143	2162	190
532763	2133	2152	Зчленування екзонів 14-15	GCAGGGAGCAGCTCTTCCT T	40	н.д.	н.д.	191
532764	2139	2158	Екзон 15	TCCTGTGCAGGGAGCAGCT C	28	6927	6946	192
532765	2145	2164	Екзон 15	TTGATATCCTGTGCAGGGA G	41	6933	6952	193
532766	2151	2170	Екзон 15	AGAGCTTTGATATCCTGTGC	36	6939	6958	194
532767	2157	2176	Екзон 15	ACAAACAGAGCTTTGATATC	33	6945	6964	195
532768	2163	2182	Екзон 15	TCAGACACAAACAGAGCTTT	41	6951	6970	196
532769	2169	2188	Екзон 15	TCCTCCTCAGACACAAACAG	49	6957	6976	197
532770	2193	2212	Екзон 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	61	6981	7000	198
532771	2199	2218	Екзон 15	ATGTAGACCTCCTTCCGAGT	39	6987	7006	199
532772	2205	2224	Екзон 15	TTCTTGATGTAGACCTCCTT	30	6993	7012	200
532773	2211	2230	Екзон 15	TCCCCATTCTTGATGTAGAC	31	6999	7018	201
532774	2217	2236	Зчленування екзонів 15-16	TTCTTATCCCCATTCTTGAT	36	н.д.	н.д.	202
532775	2223	2242	Зчленування екзонів 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCCATT	56	н.д.	н.д.	203
532776	2229	2248	Зчленування екзонів 15-16	TCACAGCTGCCTTTCTTATC	33	н.д.	н.д.	204
532777	2235	2254	Екзон 16	TCTCTCTCACAGCTGCCTTT	38	7119	7138	205
532778	2241	2260	Екзон 16	TGAGCATCTCTCTCACAGCT	51	7125	7144	206
532779	2247	2266	Екзон 16	GCATATTGAGCATCTCTCTC	39	7131	7150	207
532780	2267	2286	Екзон 16	TGACTTTGTATAGCCTGGG	56	7151	7170	208
532781	2273	2292	Екзон 16	TGTCCTTGACTTTGTATAG	36	7157	7176	209
532782	2309	2328	Екзон 16	CAGTACAAAGGAACCGAGG G	30	7193	7212	210
532783	2315	2334	Екзон 16	CTCCTCCAGTACAAAGGAA C	21	7199	7218	211

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532784	2321	2340	Екзон 16	GACTCACTCCTCCAGTACAA	31	7205	7224	212
532785	2327	2346	Екзон 16	CATAGGGACTCACTCCTCC A	30	7211	7230	213
532786	2333	2352	Екзон 16	GGTCAGCATAGGGACTCAC T	31	7217	7236	214
532787	2352	2371	Зчленування екзонів 16-17	TCACCTCTGCAAGTATTGGG	42	7236	7255	215
532788	2358	2377	Зчленування екзонів 16-17	CCAGAATCACCTCTGCAAGT	32	н.д.	н.д.	216
532789	2364	2383	Зчленування екзонів 16-17	GGCCCGCCAGAATCACCTC T	35	н.д.	н.д.	217
532790	2382	2401	Екзон 17	CTCTTGTGAAGTATCAAGGG	33	7347	7366	218
532791	2388	2407	Екзон 17	CGACTTCTCTTGTGAAGTAT	52	7353	7372	219
532792	2394	2413	Екзон 17	ATGAAACGACTTCTCTTGTG	16	7359	7378	220
532793	2400	2419	Зчленування екзонів 17-18	ACTTGAATGAAACGACTTCT	45	7365	7384	221
532794	2406	2425	Зчленування екзонів 17-18	ACACCAACTTGAATGAAACG	18	н.д.	н.д.	222
532795	2427	2446	Екзон 18	TCCACTACTCCCCAGCTGAT	30	7662	7681	223
532796	2433	2452	Екзон 18	CAGACATCCACTACTCCCCA	38	7668	7687	224
532797	2439	2458	Екзон 18	TTTTTGCAGACATCCACTAC	35	7674	7693	225
532798	2445	2464	Екзон 18	TTCTGGTTTTTGCAGACATC	45	7680	7699	226
532799	2451	2470	Екзон 18	TGCCGCTTCTGGTTTTTGCA	47	7686	7705	227
532800	2457	2476	Екзон 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	61	7692	7711	228
532801	2463	2482	Екзон 18	GGTACCTGCTTTTGCCGCTT	47	7698	7717	229
532802	2469	2488	Екзон 18	TGAGCAGGTACCTGCTTTTG	31	7704	7723	230
532803	2517	2536	Екзон 18	TTCAGCCAGGGCAGCACTT G	41	7752	7771	231
532804	2523	2542	Екзон 18	TTCTCCTTCAGCCAGGGCA G	44	7758	7777	232
532805	2529	2548	Екзон 18	TGGAGTTTCTCCTTCAGCCA	46	7764	7783	233
532806	2535	2554	Екзон 18	TCATCTTGGAGTTTCTCCTT	49	7770	7789	234
532807	2541	2560	Екзон 18	AAATCCTCATCTTGGAGTTT	30	7776	7795	235
532808	2547	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCATCTTG	20	7782	7801	236
532809	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTT A	65	7806	7825	237
532810	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAA C	74	7812	7831	238
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	96	7834	7853	239

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 на сайті ініціації	SEQ ID NO: 2 на сайті термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532841	н.д.	н.д.	Інtron 6 - екзон 7	AACTTGCCACCTGTGGGTGA	4142	4161	11	240
532842	н.д.	н.д.	Екзон 15 - Інtron 15	TCACCTTATCCCCATTCTTG	7007	7026	16	241
532843	н.д.	н.д.	Інtron 11	TCAACTTTCACAAACCACCA	6015	6034	19	242
532844	н.д.	н.д.	Інtron 16 - екзон 17	CCGCCAGAATCACCTGC AAG	7326	7345	33	243
532845	н.д.	н.д.	Інtron 10	AGGAGGAATGAAGAAGGCTT	5431	5450	29	244
532846	н.д.	н.д.	Інtron 13	GCCTTTCCTCAGGGATCTGG	6561	6580	26	245
532847	н.д.	н.д.	Інtron 4	AAATGTCTGGGAGTGTCA GG	3477	3496	18	246
532848	н.д.	н.д.	Інtron 15	GCCTAGAGTGCCTCCTTAGG	7038	7057	20	247
532849	н.д.	н.д.	Інtron 17	GGCATCTCCCCAGATAG GAA	7396	7415	16	248
532850	н.д.	н.д.	Інtron 6	AGGGAGCTAGTCCTGGAAGA	3906	3925	14	249
532851	н.д.	н.д.	Інtron 1 - екзон 2	ACACCTGAAGAGAAAGGCTG	2135	2154	6	250
532852	н.д.	н.д.	Інtron 7	CCCTTTGACCACAAAGTGGC	4462	4481	25	251
532853	н.д.	н.д.	Інtron 7	GCCCTCAAGGTAGTCTCATG	4354	4373	26	252
532854	н.д.	н.д.	Інtron 6	AAGGGAAGGAGGACAGATA	3977	3996	18	253
532855	н.д.	н.д.	Інtron 1	AAAGGCCAAGGAGGGATGCT	2099	2118	9	254
532856	н.д.	н.д.	Екзон 8 - інtron 8	AGAGGTCCCTTCTGACCACTC	4736	4755	4	255
532857	н.д.	н.д.	Інtron 8	GCTGGGACAGGAGAGAGGTC	4749	4768	0	256
532858	н.д.	н.д.	Інtron 4	TCAAATGTCTGGGAGTGTCA	3479	3498	13	257
532859	н.д.	н.д.	Інtron 10	AGAAGGAGAATGTGCTGAAA	5801	5820	20	258
532860	н.д.	н.д.	Інtron 17	TGCTGACCACTTGGCATCTC	7408	7427	20	259
532861	н.д.	н.д.	Інtron 11	CAACTTTCACAAACCACCAT	6014	6033	18	260
532862	н.д.	н.д.	Інtron 10	AGCTCTGTGATTCTAAGGTT	5497	5516	15	261
532863	н.д.	н.д.	Інtron 6 - екзон 7	CCACCTGTGGGTGAGGA GAA	4136	4155	16	262
532864	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інtron 17	GAGGACTCACTTGAATGAAA	7373	7392	21	263

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 на сайті ініціації	SEQ ID NO: 2 на сайті термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532865	н.д.	н.д.	Інтрон 6	TGGAATGATCAGGGAGC TAG	3916	3935	30	264
532866	н.д.	н.д.	Інтрон 5	GTCCCTTCTCCATTTTCC CC	3659	3678	26	265
532867	н.д.	н.д.	Інтрон 7	TCAACTTTTTAAGTTAATC A	4497	4516	14	266
532868	н.д.	н.д.	Інтрон 6	GGGTGAGGAGAACAAGG CGC	4128	4147	21	267
532869	н.д.	н.д.	Інтрон 7	CTTCCAAGCCATCTTTTA AC	4553	4572	5	268
532870	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інтрон 17	AGGACTCACTTGAATGAA AC	7372	7391	18	269
532871	н.д.	н.д.	Інтрон 10	TTCCAGGCAACTAGAGCT TC	5412	5431	15	270
532872	н.д.	н.д.	Екзон 1	CAGAGTCCAGCCACTGTT TG	1557	1576	13	271
532873	н.д.	н.д.	Інтрон 17 - екзон 18	CCAACCTGCAGAGGCAG TGG	7638	7657	23	272
532874	н.д.	н.д.	Інтрон 16	TGCAAGGAGAGGAGAAG CTG	7312	7331	10	273
532875	н.д.	н.д.	Екзон 9 - інтрон 9	CTAGGCAGGTTACTCACC CA	5120	5139	21	274
532876	н.д.	н.д.	Інтрон 6 - екзон 7	CACCATAACTTGCCACCT GT	4148	4167	41	275
532877	н.д.	н.д.	Інтрон 12	TAGGTACCACCTCTTTGT GG	6363	6382	27	276
532878	н.д.	н.д.	Інтрон 11	CTTGACCTCACCTCCCCC AA	5954	5973	13	277
532879	н.д.	н.д.	Інтрон 12	CCACCTCTTTGTGGGCA GCT	6357	6376	33	278
532880	н.д.	н.д.	Інтрон 11	TTCACAAACCACCATCTC TT	6009	6028	8	279
532881	н.д.	н.д.	Екзон 3 - інтрон 3	TTCTCACCTCCGTTGTCA CA	2958	2977	17	280
532882	н.д.	н.д.	Інтрон 12	GAAAGTGGGAGGTGTTG CCT	6225	6244	19	281
532883	н.д.	н.д.	Інтрон 1	ACAGCAGGAAGGGAAGG TTA	2075	2094	34	282
532884	н.д.	н.д.	Інтрон 17	CATGCTGACCACTTGGCA TC	7410	7429	18	283
532885	н.д.	н.д.	Екзон 4 - інтрон 4	GGTCACCTTGGCAGGAA GGC	3286	3305	0	284
532886	н.д.	н.д.	Інтрон 8	GTATAGTGTTACAAGTGG AC	4804	4823	13	285
532887	н.д.	н.д.	Інтрон 7	GGACTTCCCTTTGACCAC AA	4468	4487	18	286
532888	н.д.	н.д.	Інтрон 11	TCACCTTGACCTCACCTC CC	5958	5977	20	287
532889	н.д.	н.д.	Інтрон 15	TAGAGTGCCTCCTTAGGA	7035	7054	27	288

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 на сайті ініціації	SEQ ID NO: 2 на сайті термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
				TG				
532890	н.д.	н.д.	Інtron 7	TGACTTCAACTTGTGGTC TG	4605	4624	16	289
532891	н.д.	н.д.	Інtron 10	CAGAGAAGGAGAATGTG CTG	5804	5823	25	290
532892	н.д.	н.д.	Інtron 14 - екзон 15	AGGGAGCAGCTCTTCCT CTG	6919	6938	47	291
532893	н.д.	н.д.	Інtron 5 - екзон 6	TGTTCCCCTGGGTGCCA GGA	3710	3729	24	292
532894	н.д.	н.д.	Інtron 10	GGCCTGGCTGTTTTCAAG CC	5612	5631	15	293
532895	н.д.	н.д.	Інtron 10 - екзон 11	GACTGGCTTTCATCTGGC AG	5821	5840	25	294
532896	н.д.	н.д.	Інtron 10	GAAGGCTTTCAGGCAA CTA	5419	5438	19	295
532897	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інtron 17	TCACTTGAATGAAACGAC TT	7367	7386	11	296
532898	н.д.	н.д.	Інtron 1	GGCCCCAAAAGGCCAAG GAG	2106	2125	5	297
532899	н.д.	н.д.	Інtron 16 - екзон 17	AATCACCTGCAAGGAGA GGA	7319	7338	19	298
532900	н.д.	н.д.	Інtron 12	GACCTTCAGTTGCATCCT TA	6183	6202	25	299
532901	н.д.	н.д.	Інtron 1	TGATGAAGCCTGGCCCC AAA	2117	2136	0	300
532902	н.д.	н.д.	Інtron 12	TAGAAAGTGGGAGGTGT TGC	6227	6246	0	301
532903	н.д.	н.д.	Інtron 12	CCCATCCCTGACTGGTCT GG	6295	6314	14	302
532904	н.д.	н.д.	Інtron 8	CCATGGGTATAGTGTTAC AA	4810	4829	13	303
532905	н.д.	н.д.	Інtron 2	GTGTTCTCTTGACTTCCA GG	2586	2605	23	304
532906	н.д.	н.д.	Інtron 13	GGCCTGCTCCTCACCCC AGT	6597	6616	27	305
532907	н.д.	н.д.	Інtron 10	GAGGCCTGGCTGTTTTCA AG	5614	5633	32	306
532908	н.д.	н.д.	Екзон 1	GACTCTCCCCTTCAGTAC CT	1677	1696	16	307
532909	н.д.	н.д.	Інtron 8	CATGGGTATAGTGTTACA AG	4809	4828	10	308
532910	н.д.	н.д.	Інtron 10	GAAGGAGAATGTGCTGA AAA	5800	5819	0	309
532911	н.д.	н.д.	Інtron 7	TCACCTGGTCTTCCAAGC CA	4562	4581	0	310
532912	н.д.	н.д.	Інtron 17	CTCCCCAGATAGGAAAG GGA	7391	7410	0	311
532913	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інtron	GGACTCACTTGAATGAAA CG	7371	7390	0	312

Таблиця 127

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 на сайті ініціації	SEQ ID NO: 2 на сайті термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
			17					
532914	н.д.	н.д.	Інtron 16 - екзон 17	GGCCGCCAGAATCACCTGCA	7328	7347	30	313
532915	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інtron 17	CTCACTTGAATGAAACGACT	7368	7387	22	314
532916	н.д.	н.д.	Інtron 13	CTTTCCCAGCCTTTCTCTCAG	6569	6588	28	315
532918	н.д.	н.д.	Інtron 12	AGAAAGTGGGAGGTGTTGCC	6226	6245	3	316
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTCAC	7839	7858	90	317

Таблиця 128

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532919	н.д.	н.д.	Екзон 1	CCAGGACTCTCCCTTCAGT	1681	1700	4	318
532920	н.д.	н.д.	Інtron 6	AGGGAAGGAGGACAGATAG	3976	3995	25	319
532921	н.д.	н.д.	Інtron 4	GAAATGAGGTCAAATGTCTG	3488	3507	30	320
532922	н.д.	н.д.	Інtron 4	GGAGAGTCAGAAATGAGGTC	3497	3516	25	321
532923	н.д.	н.д.	Інtron 12	GTAGAAAGTGGGAGGTGTTG	6228	6247	26	322
532924	н.д.	н.д.	Інtron 10	TAGAAAGATCTCTGAAGTGTC	5521	5540	24	323
532925	н.д.	н.д.	Інtron 13	CTGCTCCTCACCCAGTCCT	6594	6613	26	324
532926	н.д.	н.д.	Інtron 11	CTACTGGGATTCTGTGCTTA	5927	5946	30	325
532927	н.д.	н.д.	Інtron 1	CCCAAAAGGCCAAGGAGGGA	2103	2122	13	326
532928	н.д.	н.д.	Інtron 17	TGACCACTTGGCATCTCCCC	7405	7424	27	327
532929	н.д.	н.д.	Інtron 16 - екзон 17	CCTGCAAGGAGAGGAGAAGC	7314	7333	29	328
532930	н.д.	н.д.	Екзон 16 - інtron 16	CTCTCACCTCTGCAAGTATT	7239	7258	44	329
532931	н.д.	н.д.	Інtron 1	CCCCAAAAGGCCAAGGAGGG	2104	2123	21	330

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532932	н.д.	н.д.	Інtron 7	GTCTTCCAAGCCATCTTTA	4555	4574	20	331
532933	н.д.	н.д.	Інtron 8	GTTACAAGTGGACTTAA GGG	4797	4816	30	332
532934	н.д.	н.д.	Інtron 8 - екзон 9	CCCATGTTGTGCAATC CTGC	5017	5036	30	333
532935	н.д.	н.д.	Інtron 15	GAGGTGGGAAGCATGG AGAA	7091	7110	17	334
532936	н.д.	н.д.	Інtron 14	TGCTCCCACCACTGTC ATCT	6874	6893	21	335
532937	н.д.	н.д.	Екзон 9 - інtron 9	AGGCAGGTTACTCACCCAGA	5118	5137	18	336
532938	н.д.	н.д.	Інtron 11	TACTGGGATTCTGTGCTTAC	5926	5945	15	337
532939	н.д.	н.д.	Інtron 13	GCCTTTCCCAGCCTTT CCTC	6571	6590	27	338
532940	н.д.	н.д.	Інtron 8 - екзон 9	GTGCAATCCTGCAGAA GAGA	5009	5028	21	339
532941	н.д.	н.д.	Інtron 8	ACAGGAGAGAGGTCCCC TTCT	4743	4762	20	340
532942	н.д.	н.д.	Інtron 10	CCCAAAAGGAGAAAGG GAAA	5717	5736	14	341
532943	н.д.	н.д.	Інtron 2	AAGCCCAGGGTAAATG CTTA	2557	2576	32	342
532944	н.д.	н.д.	Інtron 1	GATGAAGCCTGGCCCC AAAA	2116	2135	22	343
532945	н.д.	н.д.	Інtron 10	TGGCAGAGAAGGAGAA TGTG	5807	5826	22	344
532946	н.д.	н.д.	Інtron 13	TTCCCAGCCTTTCCTCAGGG	6567	6586	35	345
532947	н.д.	н.д.	Інtron 10	GGCAGAGAAGGAGAAT GTGC	5806	5825	30	346
532948	н.д.	н.д.	Інtron 10	ACAGTGCCAGGAAACA AGAA	5471	5490	25	347
532949	н.д.	н.д.	Екзон 9 - інtron 9	TAGGCAGGTTACTCAC CCAG	5119	5138	22	348
532950	н.д.	н.д.	Інtron 2	TTCTCTTGACTTCCAGG GCT	2583	2602	22	349
532951	н.д.	н.д.	Інtron 13	CCTGCTCCTCACCCCA GTCC	6595	6614	16	350
532953	н.д.	н.д.	Інtron 7	TCCCACTAACCTCCATT GCC	4422	4441	14	351
532954	н.д.	н.д.	Інtron 7	TTCCCTTTGACCACAAA GTG	4464	4483	16	352
532955	н.д.	н.д.	Інtron 9	CTGGGTCCTAGGCAGG TTAC	5127	5146	30	353
532956	н.д.	н.д.	Інtron 10	TCCAGGCAACTAGAGC TTCA	5411	5430	20	354
532957	н.д.	н.д.	Інtron 8 - екзон 9	GCCCATGTTGTGCAAT CCTG	5018	5037	45	355

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532958	н.д.	н.д.	Інtron 7	GGTTCCCACTAACCTC CATT	4425	4444	18	356
532959	н.д.	н.д.	Інtron 3	AGGTAGAGAGCAAGAG TTAC	3052	3071	26	357
532960	н.д.	н.д.	Інtron 7	CCACTAACCTCCATTG CCCA	4420	4439	10	358
532961	н.д.	н.д.	Інtron 11	TCACAAACCACCATCTC TTA	6008	6027	40	359
532962	н.д.	н.д.	Екзон 9 - інtron 9	TACTCACCCAGATAATC CTC	5110	5129	27	360
532963	н.д.	н.д.	Інtron 13	TGCTCCTCACCCAGT CCTC	6593	6612	24	361
532964	н.д.	н.д.	Інtron 15 - екзон 16	TCTCACAGCTGCCTTTC TGT	7115	7134	25	362
532965	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інtron 17	GAAAGGGAGGACTCAC TTGA	7379	7398	11	363
532966	н.д.	н.д.	Інtron 7	CCATCTTTTAACCCAG AGA	4545	4564	18	364
532967	н.д.	н.д.	Інtron 13	TCCTACCCAGTCCT CCAG	6590	6609	27	365
532968	н.д.	н.д.	Інtron 10	CTGGCAGAGAAGGAGA ATGT	5808	5827	15	366
532969	н.д.	н.д.	Інtron 17	TCTCCCCAGATAGGAA AGGG	7392	7411	23	367
532970	н.д.	н.д.	Інtron 14	ACTTCAGCTGCTCCCA CCAC	6882	6901	18	368
532971	н.д.	н.д.	Інtron 1	GACAGCAGGAAGGGAA GGTT	2076	2095	13	369
532972	н.д.	н.д.	Інtron 13- екзон 14	GGAGACAAATGGGCCT ATAA	6640	6659	33	370
532973	н.д.	н.д.	Інtron 14	CTGCTCCCACCACTGT CATC	6875	6894	11	371
532974	н.д.	н.д.	Інtron 10	AGGAATGAAGAAGGCT TTCC	5428	5447	21	372
532975	н.д.	н.д.	Інtron 14	GGGATCTCATCCTTATC CTC	6741	6760	31	373
532976	н.д.	н.д.	Інtron 9	GTGCTGGGTCCTAGGC AGGT	5130	5149	16	374
532977	н.д.	н.д.	Інtron 1	CAAAAGGCCAAGGAGG GATG	2101	2120	14	375
532978	н.д.	н.д.	Інtron 17	CCATGCTGACCACTTG GCAT	7411	7430	20	376
532979	н.д.	н.д.	Інtron 8	GGAGGCTGGGACAGG AGAGA	4753	4772	25	377
532980	н.д.	н.д.	Інtron 14 - екзон 15	GGAGCAGCTCTTCCTC TGGA	6917	6936	36	378

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	% інгібування	SEQ ID NO:
532981	н.д.	н.д.	Екзон 3 - інтрон 3	TCTCACCTCCGTTGTCA CAG	2957	2976	20	379
532982	н.д.	н.д.	Інтрон 13	CAGTCCTCCAGCCTTT CCCA	6581	6600	21	380
532983	н.д.	н.д.	Інтрон 13	AGTCCTCCAGCCTTTC CCAG	6580	6599	22	381
532984	н.д.	н.д.	Інтрон 4 - екзон 5	TGAAGGAGTCTGGGAG AGTC	3509	3528	12	382
532985	н.д.	н.д.	Інтрон 16 - екзон 17	CAGAATCACCTGCAAG GAGA	7322	7341	20	383
532986	н.д.	н.д.	Екзон 17 - інтрон 17	TAGGAAAGGGAGGACT CACT	7382	7401	3	384
532987	н.д.	н.д.	Екзон 4 - інтрон 4	ACCTTGGCAGGAAGGC TCCG	3282	3301	12	385
532988	н.д.	н.д.	Інтрон 13- екзон 14	GAGACAAATGGGCCTA TAAA	6639	6658	15	386
532989	н.д.	н.д.	Інтрон 1	CTGAAGAGAAAGGCTG ATGA	2131	2150	17	387
532990	н.д.	н.д.	Інтрон 6	AATGATCAGGGAGCTA GTCC	3913	3932	30	388
532991	н.д.	н.д.	Інтрон 17	CTTAGCTGACCTAAAG GAAT	7557	7576	22	389
532992	н.д.	н.д.	Інтрон 8	TGGGTATAGTGTTACAA GTG	4807	4826	17	390
532993	н.д.	н.д.	Інтрон 1	TGAAGAGAAAGGCTGA TGAA	2130	2149	19	391
532994	н.д.	н.д.	Інтрон 8	GTGTTACAAGTGGACT TAAG	4799	4818	25	392
532995	н.д.	н.д.	Інтрон 6	ACCTGTGGGTGAGGAG AACA	4134	4153	24	393
532996	н.д.	н.д.	Екзон 9 - інтрон 9	TCACCCAGATAATCCTC CCT	5107	5126	36	394
532952	2608	2627	Екзон 18	TGTTGTGCGCAGCTGTTT TAA	7843	7862	90	395

Приклад 116: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у HepG2 клітинах МОЕ гепмерами

- Були сконструйовані додаткові антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Культивовані клітини HepG2 з щільністю 20000 клітин на лунку трансфецирували з використанням електропорації з 4500 нМ антисмислового олігонуклеотиду. Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерних зондів RTS3460_MGB (пряма послідовність CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 813; зворотна послідовність TGCCTGGAGGGCCTTCTT, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 814; послідовність зонда AGACCACAAGTTGAAGTC, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 815) був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати

представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди, зазначені у поданих нижче таблицях, були сконструйовані як 5-10-5 MOE гепмери. Гепмери 5-10-5 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-MOE модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини. "Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Таблиця 129

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532686	1135	1154	Екзон 6	ACACTTTTTGGCTCC TGTGA	48	3819	3838	84
532687	1141	1160	Екзон 6	GACTAGACACTTTTT GGCTC	63	3825	3844	85
532688	1147	1166	Екзон 6	TAAGTTGACTAGACA CTTTT	47	3831	3850	86
532689	1153	1172	Екзон 6	CTCAATTAAGTTGAC TAGAC	57	3837	3856	87
532690	1159	1178	Зчленування екзонів 6-7	CACCTTCTCAATTAA GTTGA	49	3843	3862	88
532691	1165	1184	Зчленування екзонів 6-7	ACTTGCCACCTTCTC AATTA	33	н.д.	н.д.	89
532692	1171	1190	Зчленування екзонів 6-7	ACCATAACTTGCCAC CTTCT	67	н.д.	н.д.	90
532693	1177	1196	Екзон 7	CTTCACACCATAACT TGCCA	56	4153	4172	91
532694	1183	1202	Екзон 7	TCTTGGCTTCACACC ATAAC	50	4159	4178	92
532695	1208	1227	Екзон 7	ATGTGGCATATGTCA CTAGA	53	4184	4203	93
532696	1235	1254	Екзон 7	CAGACACTTTGACCC AAATT	52	4211	4230	94
532697	1298	1317	Зчленування екзонів 7-8	GGTCTTCATAATTGA TTTCA	59	н.д.	н.д.	95
532698	1304	1323	Зчленування екзонів 7-8	ACTTGTGGTCTTCAT AATTG	52	н.д.	н.д.	96
532699	1310	1329	Зчленування екзонів 7-8	ACTTCAACTTGTGGT CTTCA	85	н.д.	н.д.	97
532700	1316	1335	Екзон 8	TCCCTGACTTCAACT TGTGG	96	4609	4628	98
532701	1322	1341	Екзон 8	TGTTAGTCCCTGACT TCAAC	56	4615	4634	99
532702	1328	1347	Екзон 8	TCTTGGTGTAGTCC CTGAC	86	4621	4640	100

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO:1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532703	1349	1368	Екзон 8	TGTACACTGCCTGGA GGGCC	35	4642	4661	101
532704	1355	1374	Екзон 8	TCATGCTGTACACTG CCTGG	12	4648	4667	102
532705	1393	1412	Екзон 8	GTTCCAGCCTTCAG GAGGGA	27	4686	4705	103
532706	1399	1418	Екзон 8	GGTGCGGTTCCAGC CTTCAG	67	4692	4711	104
532707	1405	1424	Екзон 8	ATGGCGGGTGCGGT TCCAGC	26	4698	4717	105
532708	1411	1430	Екзон 8	GATGACATGGCGGG TGCGGT	28	4704	4723	106
532709	1417	1436	Екзон 8	GAGGATGATGACAT GGCGGG	6	4710	4729	107
532710	1443	1462	Зчленування екзонів 8-9	CCCATGTTGTGCAAT CCATC	35	н.д.	н.д.	108
532711	1449	1468	Екзон 9	TCCCCGCCCATGTT GTGCAA	28	5023	5042	109
532712	1455	1474	Екзон 9	ATTGGGTCCCCGCC CATGTT	19	5029	5048	110
532713	1461	1480	Екзон 9	ACAGTAATTGGGTCC CCGCC	29	5035	5054	111
532714	1467	1486	Екзон 9	TCAATGACAGTAATT GGGTC	49	5041	5060	112
532715	1473	1492	Екзон 9	ATCTCATCAATGACA GTAAT	45	5047	5066	113
532716	1479	1498	Екзон 9	TCCCGGATCTCATCA ATGAC	54	5053	5072	114
532717	1533	1552	Зчленування екзонів 9-10	ACATCCAGATAATCC TCCCT	22	н.д.	н.д.	115
532718	1539	1558	Зчленування екзонів 9-10	ACATAGACATCCAGA TAATC	8	н.д.	н.д.	116
532719	1545	1564	Зчленування екзонів 9-10	CCAAACACATAGACA TCCAG	30	н.д.	н.д.	117
532720	1582	1601	Екзон 10	AGCATTGATGTTTCA TTGGT	62	5231	5250	118
532721	1588	1607	Екзон 10	AGCCAAAGCATTGAT GTTCA	46	5237	5256	119
532722	1594	1613	Екзон 10	CTTGGAAGCCAAAG CATTGA	35	5243	5262	120
532723	1600	1619	Екзон 10	GTCTTTCTTGGAAGC CAAAG	43	5249	5268	121
532724	1606	1625	Екзон 10	CTCATTGTCTTTCTT GGAAG	40	5255	5274	122
532725	1612	1631	Екзон 10	ATGTTGCTCATTGTC TTTCT	49	5261	5280	123
532726	1618	1637	Екзон 10	GAACACATGTTGCTC ATTGT	68	5267	5286	124
532727	1624	1643	Екзон 10	GACTTTGAACACATG TTGCT	54	5273	5292	125

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO:1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532728	1630	1649	Екзон 10	ATCCTTGACTTTGAA CACAT	61	5279	5298	126
532729	1636	1655	Екзон 10	TTCCATATCCTTGAC TTTGA	55	5285	5304	127
532730	1642	1661	Екзон 10	CAGGTTTTCCATATC CTTGA	51	5291	5310	440
532731	1686	1705	Зчленування екзонів 10-11	CTCAGAGACTGGCTT TCATC	41	5827	5846	129
532732	1692	1711	Екзон 11	CAGAGACTCAGAGA CTGGCT	59	5833	5852	130
516252	1698	1717	Екзон 11	ATGCCACAGAGACT CAGAGA	57	5839	5858	131
532733	1704	1723	Екзон 11	CAAACCATGCCACA GAGACT	34	5845	5864	132
532734	1710	1729	Екзон 11	TGTTCCCAAACCATG CCACA	51	5851	5870	133
532735	1734	1753	Екзон 11	TTGTGGTAATCGGTA CCCTT	50	5875	5894	134
532736	1740	1759	Екзон 11	GGTTGCTTGTGGTAA TCGGT	64	5881	5900	135
532737	1746	1765	Екзон 11	TGCCATGGTTGCTTG TGTA	40	5887	5906	136
532738	1752	1771	Екзон 11	TTGGCCTGCCATGG TTGCTT	49	5893	5912	137
532739	1758	1777	Екзон 11	GAGATCTTGGCCTG CCATGG	47	5899	5918	138
532740	1803	1822	Екзон 12	ACAGCCCCCATACA GCTCTC	48	6082	6101	139
532741	1809	1828	Екзон 12	GACACCACAGCCCC CATACA	40	6088	6107	140
532742	1815	1834	Екзон 12	TACTCAGACACCACA GCCCC	33	6094	6113	141
532743	1821	1840	Екзон 12	ACAAAGTACTCAGAC ACCAC	39	6100	6119	142
532744	1827	1846	Екзон 12	GTCAGCACAAAGTAC TCAGA	45	6106	6125	143
532745	1872	1891	Екзон 12	TTGATTGAGTGTTCC TTGTC	42	6151	6170	144
532746	1878	1897	Екзон 12	CTGACCTTGATTGAG TGTTT	53	6157	6176	145
532747	1909	1928	Екзон 13	TATCTCCAGGTCCCG CTTCT	31	6403	6422	146
532748	1967	1986	Екзон 13	GAATTCCTGCTTCTT TTTTT	30	6461	6480	147
532749	1973	1992	Екзон 13	ATTCAGGAATTCCTG CTTCT	40	6467	6486	148
532750	1979	1998	Екзон 13	CATAAAATTCAGGAA TTCTT	45	6473	6492	149
532751	1985	2004	Екзон 13	CATAGTCATAAAATT CAGGA	43	6479	6498	150

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 і 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO:1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
532752	2006	2025	Екзон 13	TGAGCTTGATCAGG GCAACG	61	6500	6519	151
532753	2012	2031	Екзон 13	TATTCTTGAGCTTGA TCAGG	47	6506	6525	152
532754	2048	2067	Зчленування екзонів 13-14	GACAAATGGGCCTG ATAGTC	35	н.д.	н.д.	153
532755	2070	2089	Екзон 14	GTTGTTCCCTCGGTG CAGGG	43	6659	6678	154
532756	2076	2095	Екзон 14	GCTCGAGTTGTTCCC TCGGT	51	6665	6684	155
532757	2082	2101	Екзон 14	CTCAAAGCTCGAGTT GTTCC	36	6671	6690	156
532758	2088	2107	Екзон 14	GGAAGCCTCAAAGC TCGAGT	54	6677	6696	157
532759	2094	2113	Екзон 14	GTTGGAGGAAGCCT CAAAGC	52	6683	6702	158
532760	2100	2119	Екзон 14	GTGGTAGTTGGAGG AAGCCT	22	6689	6708	159
532761	2106	2125	Екзон 14	TGGCAAGTGGTAGTT GGAGG	34	6695	6714	160
532762	2112	2131	Екзон 14	TGTTGCTGGCAAGT GGTAGT	52	6701	6720	161

Приклад 117: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у HepG2 клітинах МОЕ гепмерами

- Були сконструйовані додаткові антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів, які мали аналогічні умови культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Культивовані клітини HepG2 з щільністю 20000 клітин на лунку були трансфецирували з використанням електропорації з 5000 нМ антисмислового олігонуклеотиду.
- Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.
- Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди, зазначені у поданих нижче таблицях, були сконструйовані як 5-10-5 МОЕ гепмери. Гепмери мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів та оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-МОЕ модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини. "Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю. Якщо в певній таблиці не показано вирівнювання послідовності до

гена-мішені, то слід розуміти, що жоден з олігонуклеотидів, представлених у зазначеній таблиці, не вирівнюється з 100 % комплементарністю із зазначеним геном-мішенню.

Таблиця 130

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO:
588570	150	169	Екзон 1	TGGTCACATTCCCTTCCCCT	54	396
588571	152	171	Екзон 1	CCTGGTCACATTCCCTTCCC	63	397
532614	154	173	Екзон 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	64	12
588572	156	175	Екзон 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	62	398
588573	158	177	Екзон 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	53	399
588566	2189	2208	Екзон 15	CCTTCCGAGTCAGCTTTTTC	60	400
588567	2191	2210	Екзон 15	CTCCTTCCGAGTCAGCTTTT	61	401
532770	2193	2212	Екзон 15	ACCTCCTTCCGAGTCAGCTT	77	198
588568	2195	2214	Екзон 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	72	402
588569	2197	2216	Екзон 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	46	403
588574	2453	2472	Екзон 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTG	46	404
588575	2455	2474	Екзон 18	CTTTTGCCGCTTCTGGTTTT	41	405
532800	2457	2476	Екзон 18	TGCTTTTGCCGCTTCTGGTT	69	228
588576	2459	2478	Екзон 18	CCTGCTTTTGCCGCTTCTGG	61	406
588577	2461	2480	Екзон 18	TACCTGCTTTTGCCGCTTCT	51	407
516350	2550	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCTCATC	71	408
588509	2551	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTCAT	58	409
588510	2552	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	57	410
588511	2553	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	57	411
588512	2554	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	44	412
588513	2555	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	37	413
588514	2556	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	50	414
588515	2557	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	45	415
588516	2558	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	60	416
588517	2559	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	67	417
588518	2560	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	57	418
588519	2561	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	61	419
588520	2562	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	27	420
588521	2563	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	25	421
588522	2564	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	36	422
588523	2565	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	36	423
588524	2566	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	46	424
588525	2567	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	38	425
588526	2568	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	47	426
588527	2569	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	68	427
588528	2570	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	63	428
532809	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	85	237
588529	2572	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	76	429
588530	2573	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	74	430
588531	2574	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCC	75	431
588532	2575	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCCC	73	432
588533	2576	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACC	82	433
532810	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	88	238
588534	2578	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	86	434
588535	2579	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	86	435
588536	2580	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGA	93	436
588537	2581	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	92	437
588538	2582	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	94	438

Таблиця 130

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO:
588539	2583	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGCA	96	439
588540	2584	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGC	88	440
588541	2585	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCTGTCCAG	79	441
588542	2586	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCTGTCCA	83	442
588543	2587	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCTGTCC	86	443
588544	2588	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCTGTC	90	444
588545	2589	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCCTGT	92	445
588546	2590	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCCTG	92	446
588547	2591	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCCT	88	447
588548	2592	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	93	448
588549	2593	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCCC	88	449
588550	2594	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	89	450
588551	2595	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCACGC	94	451
588552	2596	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCCACG	93	452
588553	2597	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCCCAC	96	453
588554	2598	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATCCCA	98	454
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	97	239
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATCCC	95	239
588555	2600	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAATCC	93	455
588556	2601	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCAATC	96	456
588557	2602	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAAT	98	457
588558	2603	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCAA	95	458
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTCA	97	317
588559	2605	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATTC	95	459
588560	2606	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTTAATT	92	460
588561	2607	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTTTAAT	93	461
532952	2608	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTTAA	88	395
588562	2609	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTTTA	90	462
588563	2610	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTGTTTT	89	463
588564	2611	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTGTTT	92	464
588565	2612	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTTGTCGCAGCTGTT	88	465

Таблиця 131

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO 2: сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588685	н.д.	н.д.	Екзон 1	GGATCCAGCTCACTCCCCTG	48	1596	1615	466
588686	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAATAAGGATCCAGCTCACT	29	1602	н.д.	467
588688	н.д.	н.д.	Екзон 1	GACCAGAAATAAGGATCCAG	58	1608	1627	468
588690	н.д.	н.д.	Екзон 1	CTTAGGGACCAGAA	45	1614	1633	469

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO:1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO 2: сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				ATAAGG				
588692	н.д.	н.д.	Екзон 1	CACCCACTTAGGGA CCAGAA	36	1620	1639	470
588694	н.д.	н.д.	Екзон 1	ACCACCCACTTAGG GACCAG	47	1622	1641	471
588696	н.д.	н.д.	Екзон 1	AGGTCCAGGACTCT CCCCTT	96	1685	1704	472
588698	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAGGTCCAGGACTC TCCCCT	96	1686	1705	473
588700	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAACTGCAGAAGTC CCACCC	2	1716	1735	474
588586	30	49	Екзон 1	GGAGGGCCCCGCT GAGCTGC	59	1751	1770	475
588587	48	67	Екзон 1	TCCCGGAACATCCA AGCGGG	45	1769	1788	476
588588	56	75	Екзон 1	CATCACTTTCCCGG AACATC	39	1777	н.д.	477
588589	151	170	Екзон 1	CTGGTCACATTCCC TTCCCC	29	1872	1891	478
588590	157	176	Екзон 1	CTAGACCTGGTCAC ATTCCC	47	1878	1897	479
588591	339	358	Зчленування екзонів 1-2	GGAGTGGTGGTCA CACCTCC	44	н.д.	н.д.	480
588592	384	403	Екзон 2	ACCCCTCCAGAGA GCAGGA	43	2192	2211	481
588593	390	409	Екзон 2	ATCTCTACCCCTC CAGAGA	34	2198	2217	482
588594	467	486	Екзон 2	GGTACGGGTAGAA GCCAGAA	17	2275	2294	483
588595	671	690	Екзон 3	GGAGAGTGTAACC GTCATAG	37	2879	2898	484
588596	689	708	Екзон 3	TGCGATTGGCAGA GCCCCGG	18	2897	2916	485
588597	695	714	Екзон 3	GGCAGGTGCGATT GGCAGAG	32	2903	2922	486
588598	707	726	Екзон 3	GGCCATTCACTTGG CAGGTG	45	2915	2934	487
588599	738	757	Екзон 3	TTGTACAGATCGC TGTCTG	52	2946	2965	488
588600	924	943	Зчленування екзонів 4-5	AAGGAGTCTTGGCA GGAAGG	39	н.д.	н.д.	489
588601	931	950	Зчленування екзонів 4-5	GTACATGAAGGAGT CTTGCC	37	н.д.	н.д.	490
588602	959	978	Екзон 5	AAGCTTCGGCCACC	21	3542	3561	491

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO:1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO 2: сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				TCTTGA				
588603	1089	1108	Екзон 6	CCATCTAGCACCAGTAGAT	22	3773	3792	492
588604	1108	1127	Екзон 6	GGCCCCAATGCTGTCTGATC	21	3792	3811	493
588606	1150	1169	Екзон 6	AATTAAGTTGACTAGACACT	56	3834	3853	494
588608	1162	1181	Зчленування екзонів 6-7	TGCCACCTTCTCAATTAAGT	50		19	495
588578	1167	1186	Зчленування екзонів 6-7	TAACCTGCCACCTTCTCAAT	23	н.д.	н.д.	496
588579	1169	1188	Зчленування екзонів 6-7	CATAACTTGCCACCTTCTCA	23	н.д.	н.д.	497
532692	1171	1190	Зчленування екзонів 6-7	ACCATAACTTGCCACCTTCT	15	н.д.	н.д.	90
588580	1173	1192	Зчленування екзонів 6-7	ACACCATAACTTGCCACCTT	16	н.д.	н.д.	498
588581	1175	1194	Зчленування екзонів 6-7	TCACACCATAACTTGCCACC	14	4151	4170	499
588610	1319	1338	Екзон 8	TAGTCCCTGACTTCAACTTG	50	4612	4631	500
588612	1325	1344	Екзон 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
588614	1396	1415	Екзон 8	GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG	47	4689	4708	502
588616	1421	1440	Екзон 8	TCATGAGGATGATGACATGG	51	4714	4733	503
588618	1446	1465	Екзон 9	CCGCCCCATGTTGTGCAATCC	18	5020	5039	504
588620	1458	1477	Екзон 9	GTAATTGGGTCCCCGCCAT	40	5032	5051	505
588623	1482	1501	Екзон 9	AAGTCCCGGATCTCATCAAT	40	5056	5075	506
588624	1542	1561	Зчленування екзонів 9-10	AACACATAGACATCAGATA	45	н.д.	н.д.	507
588626	1585	1604	Екзон 10	CAAAGCATTGATGT	43	5234	5253	508

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO:1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO 2: сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				TCACTT				
588628	1621	1640	Екзон 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	45	5270	5289	509
588631	1646	1665	Екзон 10	CTTCCAGGTTTTCCATATCC	53	5295	5314	510
588632	1647	1666	Екзон 10	TCTTCCAGGTTTTCCATATC	56	5296	5315	511
588634	1689	1708	Екзон 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	35	5830	5849	512
588636	1749	1768	Екзон 11	GCCTGCCATGGTTGCTTG	55	5890	5909	513
588638	1763	1782	Екзон 11	TGACTGAGATCTTG	78	5904	5923	514
588640	1912	1931	Екзон 13	TTCTATCTCCAGGTCCCGCT	95	6406	6425	515
588642	1982	2001	Екзон 13	AGTCATAAAATTCA	44	6476	6495	516
588645	2073	2092	Екзон 14	CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA	40	6662	6681	517
588646	2085	2104	Екзон 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT	57	6674	6693	518
588648	2091	2110	Екзон 14	GGAGGAAGCCTCA	48	6680	6699	519
588651	2097	2116	Екзон 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	40	6686	6705	520
588652	2103	2122	Екзон 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	43	6692	6711	521
588654	2166	2185	Екзон 15	TCCTCAGACACAAA	13	6954	6973	522
588656	2172	2191	Екзон 15	TTCTCCTCCTCAGACACAAA	55	6960	6979	523
588658	2196	2215	Екзон 15	TAGACCTCCTTCCGAGTCAG	44	6984	7003	524
588660	2202	2221	Екзон 15	TTGATGTAGACCTCCTTCCG	50	6990	7009	525
588582	2219	2238	Зчленування екзонів 15-16	CTTTCTTATCCCCATTCTTG	19	н.д.	н.д.	526
588583	2221	2240	Зчленування екзонів 15-16	GCCTTTCTTATCCCATTCT	14	н.д.	н.д.	527
532775	2223	2242	Зчленування екзонів 15-16	CTGCCTTTCTTATCCCATT	3	н.д.	н.д.	203
588584	2225	2244	Зчленування екзонів	AGCTGCCTTTCTTATCCCCA	18	н.д.	н.д.	528

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO:1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO 2: сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
			15-16					
588662	2226	2245	Зчленування екзонів 15-16	CAGCTGCCTTTCTTATCCCC	27	н.д.	н.д.	529
588585	2227	2246	Зчленування екзонів 15-16	ACAGCTGCCTTTCTTATCCC	59	н.д.	н.д.	530
588664	2238	2257	Екзон 16	GCATCTCTCTCACA GCTGCC	49	7122	7141	531
588666	2276	2295	Екзон 16	AGATGTCCTTGACT TTGTCA	41	7160	7179	532
588668	2330	2349	Екзон 16	CAGCATAGGGACTC ACTCCT	41	7214	7233	533
588670	2361	2380	Зчленування екзонів 16-17	CCGCCAGAATCACC TCTGCA	43	н.д.	н.д.	534
588672	2397	2416	Екзон 17	TGAATGAAACGACT TCTCTT	52	7362	7381	535
588674	2430	2449	Екзон 18	ACATCCCACTACTCC CCAGCT	39	7665	7684	536
588676	2448	2467	Екзон 18	CGCTTCTGGTTTTT GCAGAC	69	7683	7702	537
588678	2454	2473	Екзон 18	TTTTGCCGCTTCTG GTTTTT	46	7689	7708	538
588680	2466	2485	Екзон 18	GCAGGTACCTGCTT TTGCCG	47	7701	7720	539
588682	2532	2551	Екзон 18	TCTTGGAGTTTCTC CTTCAG	58	7767	7786	540
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTC AATCCC	10	7834	7853	239
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AATTCA	11	7839	7858	317

Приклад 118: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у НерG2 клітинах MOE гепмерами

- Були сконструйовані антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів, які мали аналогічні умови культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Культивовані клітини НерG2 з щільністю 20000 клітин на лунку були трансфектували з використанням електропорації з 3000 нМ антисмислового олігонуклеотиду.
- Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.
- Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди у поданих нижче таблицях були сконструйовані як 4-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 3-10-4 MOE, 3-10-7 MOE, 6-7-6-MOE,

6-8-6 MOE або 5-7-5 MOE гепмери, або як дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди.

Гепмери 4-8-5 MOE мають 17 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять чотири і п'ять нуклеозидів відповідно. Гепмери 5-9-5 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з дев'яти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-10-5 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-7-5 MOE мають 17 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з семи 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 3-10-4 MOE мають 17 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, містять три і чотири нуклеозиди відповідно. Гепмери 3-10-7 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, містять три і сім нуклеозидів відповідно. Гепмери 6-7-6 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з семи 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Гепмери 6-8-6 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини.

Дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди мають 16 нуклеозидів у довжину, причому нуклеозид містить або модифікацію цукру MOE, або модифікацію цукру (S)-cEt, або дезокси модифікацію. У колонці "Хімізм" описані модифікації цукру для кожного олігонуклеотиду. "k" означає (S)-cEt модифікацію цукру; "d" означає дезоксирибозу; і "e" означає модифікацію MOE.

"Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Таблиця 132

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 Сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTC AATCCC	10	7834	7853	eeeeedddd ddddeeeee	239
588884	48	63	Екзон 1	GGAACATCCAAGC GGG	79	1769	1784	eekeeeee dddkke	541
588872	154	169	Екзон 1	TGGTCACATTCCC TTC	91	1875	1890	eekeeeee dddkke	542
588873	156	171	Екзон 1	CCTGGTCACATTC CCT	91	1877	1892	eekeeeee dddkke	543
588874	158	173	Екзон 1	GACCTGGTCACAT TCC	91	1879	1894	eekeeeee dddkke	544
588878	1171	1186	Зчленування екзонів 6-7	TAACCTGCCACCT TCT	92	н.д.	н.д.	eekeeeee dddkke	545

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 Сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
588879	1173	1188	Зчленування екзонів 6-7	CATAACTTGCCACCTT	94	н.д.	н.д.	eekddddddd dddkke	546
588880	1175	1190	Зчленування екзонів 6-7	ACCATAACTTGCCACC	89	4151	4166	eekddddddd dddkke	547
588869	2193	2208	Екзон 15	CCTTCCGAGTCAGCTT	17	6981	6996	eekddddddd dddkke	548
588870	2195	2210	Екзон 15	CTCCTTCCGAGTCAGC	78	6983	6998	eekddddddd dddkke	549
588871	2197	2212	Екзон 15	ACCTCCTTCCGAGTCA	80	6985	7000	eekddddddd dddkke	550
588881	2223	2238	Зчленування екзонів 15-16	CTTTCTTATCCCCATT	93	н.д.	н.д.	eekddddddd dddkke	551
588882	2225	2240	Зчленування екзонів 15-16	GCCTTTCTTATCCCA	88	н.д.	н.д.	eekddddddd dddkke	552
588883	2227	2242	Зчленування екзонів 15-16	CTGCCTTTCTTATCC	90	н.д.	н.д.	eekddddddd dddkke	553
588875	2457	2472	Екзон 18	TTTGCCGCTTCTGTGTT	81	7692	7707	eekddddddd dddkke	554
588876	2459	2474	Екзон 18	CTTTTGCCGCTTC TGG	95	7694	7709	eekddddddd dddkke	555
588877	2461	2476	Екзон 18	TGCTTTTGCCGCTTCT	91	7696	7711	eekddddddd dddkke	556
588807	2551	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCAT	82	7786	7801	eekddddddd dddkke	557
588808	2553	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCTC	69	7788	7803	eekddddddd dddkke	558
588809	2555	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCC	51	7790	7805	eekddddddd dddkke	559
588810	2556	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATC	23	7791	7806	eekddddddd dddkke	560
588811	2559	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCA	13	7794	7809	eekddddddd dddkke	561
588812	2560	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCA	29	7795	7810	eekddddddd dddkke	562
588813	2561	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCC	53	7796	7811	eekddddddd dddkke	563
588814	2562	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAA	86	7797	7812	eekddddddd	564

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 Сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				ACC				dddkke	
588815	2563	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAA AAC	76	7798	7813	eekdddddd dddkke	565
588816	2564	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGA AAA	33	7799	7814	eekdddddd dddkke	566
588817	2565	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAG AAA	48	7800	7815	eekdddddd dddkke	567
588818	2566	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATA GAA	44	7801	7816	eekdddddd dddkke	568
588819	2567	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTAT AGA	74	7802	7817	eekdddddd dddkke	569
588820	2568	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTA TAG	68	7803	7818	eekdddddd dddkke	570
588821	2569	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTT ATA	45	7804	7819	eekdddddd dddkke	571
588822	2570	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCT TAT	50	7805	7820	eekdddddd dddkke	572
588823	2571	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCC TTA	54	7806	7821	eekdddddd dddkke	573
588824	2572	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCC CTT	35	7807	7822	eekdddddd dddkke	574
588825	2573	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACC CCT	11	7808	7823	eekdddddd dddkke	575
588826	2574	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAAC CCC	19	7809	7824	eekdddddd dddkke	576
588827	2575	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAA CCC	42	7810	7825	eekdddddd dddkke	577
588828	2576	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAA ACC	0	7811	7826	eekdddddd dddkke	578
588829	2577	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGA AAC	49	7812	7827	eekdddddd dddkke	579
588830	2578	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGG AAA	11	7813	7828	eekdddddd dddkke	580
588831	2579	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAG GAA	20	7814	7829	eekdddddd dddkke	581
588832	2580	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCA GGA	19	7815	7830	eekdddddd dddkke	582
588833	2581	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGC AGG	12	7816	7831	eekdddddd dddkke	583
588834	2582	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAG CAG	10	7817	7832	eekdddddd dddkke	584
588835	2583	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCA GCA	13	7818	7833	eekdddddd dddkke	585
588836	2584	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCC AGC	13	7819	7834	eekdddddd dddkke	586
588837	2585	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTC CAG	39	7820	7835	eekdddddd dddkke	587

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 Сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
588838	2586	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCA	54	7821	7836	eekddddddd dddkke	588
588839	2587	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCC	51	7822	7837	eekddddddd dddkke	589
588840	2588	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTC	65	7823	7838	eekddddddd dddkke	590
588841	2589	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCC TGT	59	7824	7839	eekddddddd dddkke	591
588842	2590	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCC CTG	70	7825	7840	eekddddddd dddkke	592
588843	2591	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCC CCT	0	7826	7841	eekddddddd dddkke	593
588844	2592	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCC CC	48	7827	7842	eekddddddd dddkke	594
588845	2593	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCC	46	7828	7843	eekddddddd dddkke	595
588846	2594	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCC	67	7829	7844	eekddddddd dddkke	596
588847	2595	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCA CGC	75	7830	7845	eekddddddd dddkke	597
588848	2596	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCA CG	76	7831	7846	eekddddddd dddkke	598
588849	2597	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCC AC	94	7832	7847	eekddddddd dddkke	599
588850	2598	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCC CA	91	7833	7848	eekddddddd dddkke	600
588851	2599	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATC CC	91	7834	7849	eekddddddd dddkke	601
588852	2600	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAAT CC	78	7835	7850	eekddddddd dddkke	602
588853	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAA TC	81	7836	7851	eekddddddd dddkke	603
588854	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCA AT	63	7837	7852	eekddddddd dddkke	604
588855	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTC AA	65	7838	7853	eekddddddd dddkke	605
588856	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATT CA	76	7839	7854	eekddddddd dddkke	606
588857	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAA TTC	89	7840	7855	eekddddddd dddkke	607
588858	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTA ATT	89	7841	7856	eekddddddd dddkke	608
588859	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTT AAT	89	7842	7857	eekddddddd dddkke	609
588860	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTT TAA	76	7843	7858	eekddddddd dddkke	610
588861	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTT	87	7844	7859	eekddddddd	611

Таблиця 132

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 Сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 Сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				TTA				dddkke	
588862	2610	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGT TTT	85	7845	7860	eekdddddd dddkke	612
588863	2611	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTG TTT	87	7846	7861	eekdddddd dddkke	613
588864	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCT GTT	67	7847	7862	eekdddddd dddkke	614
588865	2613	2628	Екзон 18	TTGTTGTCGCAGC TGT	51	н.д.	н.д.	eekdddddd dddkke	615
588866	2614	2629	Екзон 18	TTTGTGTCGCAG CTG	95	н.д.	н.д.	eekdddddd dddkke	616
588867	2615	2630	Екзон 18	TTTTGTTGTCGCA GCT	92	н.д.	н.д.	eekdddddd dddkke	617
588868	2616	2631	Екзон 18	TTTTTGTGTCGCA GC	66	н.д.	н.д.	eekdddddd dddkke	618

Таблиця 133

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588685	н.д.	н.д.	Екзон 1	GGATCCAGCTCACT CCCCTG	14	1596	1615	466
588686	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAATAAGGATCCAG CTCACT	2	1602	1621	467
588688	н.д.	н.д.	Екзон 1	GACCAGAAATAAGG ATCCAG	3	1608	1627	468
588690	н.д.	н.д.	Екзон 1	CTTAGGGACCAGAA ATAAGG	10	1614	1633	469
588692	н.д.	н.д.	Екзон 1	CACCCACTTAGGGA CCAGAA	23	1620	1639	470
588694	н.д.	н.д.	Екзон 1	ACCACCCACTTAGG GACCAG	23	1622	1641	471
588696	н.д.	н.д.	Екзон 1	AGGTCCAGGACTCT CCCCTT	15	1685	1704	472
588698	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAGGTCCAGGACTC TCCCCT	19	1686	1705	473
588700	н.д.	н.д.	Екзон 1	AAACTGCAGAAGTC CCACCC	16	1716	1735	474
588586	30	49	Екзон 1	GGAGGGCCCCGCT GAGCTGC	11	1751	1770	475
588587	48	67	Екзон 1	TCCCGGAACATCCA AGCGGG	14	1769	1788	476

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588588	56	75	Екзон 1	CATCACTTTCCCGG AACATC	18	1777	1796	477
588589	151	170	Екзон 1	CTGGTCACATTCCC TTCCCC	59	1872	1891	478
588590	157	176	Екзон 1	CTAGACCTGGTCAC ATTCCC	59	1878	1897	479
588591	339	358	Зчленування екзонів 1-2	GGAGTGGTGGTCAC ACCTCC	45	н.д.	н.д.	480
588592	384	403	Екзон 2	ACCCCTCCAGAGA GCAGGA	39	2192	2211	481
588593	390	409	Екзон 2	ATCTCTACCCCTC CAGAGA	29	2198	2217	482
588594	467	486	Екзон 2	GGTACGGGTAGAAG CCAGAA	47	2275	2294	483
588595	671	690	Екзон 3	GGAGAGTGTAAACG TCATAG	44	2879	2898	484
588596	689	708	Екзон 3	TGCGATTGGCAGAG CCCC GG	43	2897	2916	638
588597	695	714	Екзон 3	GGCAGGTGCGATTG GCAGAG	34	2903	2922	486
588598	707	726	Екзон 3	GGCCATTCACTTGG CAGGTG	17	2915	2934	487
588599	738	757	Екзон 3	TTGTCACAGATCGC TGTCTG	37	2946	2965	488
588600	924	943	Зчленування екзонів 3-4	AAGGAGTCTTGGCA GGAAGG	18	н.д.	н.д.	489
588601	931	950	Зчленування екзонів 3-4	GTACATGAAGGAGT CTTGGC	32	н.д.	н.д.	490
588602	959	978	Екзон 5	AAGCTTCGGCCACC TCTTGA	45	3542	3561	491
588603	1089	1108	Екзон 6	CCATCTAGCACCAG GTAGAT	52	3773	3792	492
588604	1108	1127	Екзон 6	GGCCCCAATGCTGT CTGATC	39	3792	3811	493
588606	1150	1169	Екзон 6	AATTAAGTTGACTAG ACACT	37	3834	3853	494
588608	1162	1181	Зчленування екзонів 6-7	TGCCACCTTCTCAA TTAAGT	21	н.д.	н.д.	648
588578	1167	1186	Зчленування екзонів 6-7	TAACCTTGCCACCTT CTCAAT	22	н.д.	н.д.	496
588579	1169	1188	Зчленування екзонів 6-7	CATAACTTGCCACC TTCTCA	21	н.д.	н.д.	497
532692	1171	1190	Зчленування екзонів 6-7	ACCATAACTTGCCA CCTTCT	56	н.д.	н.д.	90
588580	1173	1192	Зчленування екзонів 6-7	ACACCATAACTTGC CACCTT	50	н.д.	н.д.	498
588581	1175	1194	Екзон 7	TCACACCATAACTT GCCACC	50	4151	4170	499
588610	1319	1338	Екзон 8	TAGTCCCTGACTTC AACTTG	47	4612	4631	500

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588612	1325	1344	Екзон 8	TGGTGTAGTCCCTGACTTC	47	4618	4637	501
588614	1396	1415	Екзон 8	GCGGTTCCAGCCTTCAGGAG	51	4689	4708	502
588616	1421	1440	Екзон 8	TCATGAGGATGATGACATGG	18	4714	4733	503
588618	1446	1465	Екзон 9	CCGCCCATGTTGTGCAATCC	40	5020	5039	504
588620	1458	1477	Екзон 9	GTAATTGGGTCCCCGCCCAT	40	5032	5051	505
588623	1482	1501	Екзон 9	AAGTCCCGGATCTCATCAAT	45	5056	5075	506
588624	1542	1561	Зчленування екзонів 9-10	AACACATAGACATCAGATA	43	н.д.	н.д.	507
588626	1585	1604	Екзон 10	CAAAGCATTGATGTTCACTT	45	5234	5253	508
588628	1621	1640	Екзон 10	TTTGAACACATGTTGCTCAT	53	5270	5289	509
588631	1646	1665	Екзон 10	CTTCCAGGTTTTCCATATCC	56	5295	5314	510
588632	1647	1666	Екзон 10	TCTTCCAGGTTTTCCATATC	35	5296	5315	511
588634	1689	1708	Екзон 11	AGACTCAGAGACTGGCTTTC	55	5830	5849	512
588636	1749	1768	Екзон 11	GCCTGCCATGGTTGCTTG	78	5890	5909	513
588638	1763	1782	Екзон 11	TGACTGAGATCTTGGCCTGC	95	5904	5923	514
588640	1912	1931	Екзон 13	TTCTATCTCCAGGTCCCGCT	44	6406	6425	515
588642	1982	2001	Екзон 13	AGTCATAAAATTCAGGAATT	40	6476	6495	516
588645	2073	2092	Екзон 14	CGAGTTGTTCCCTCGGTGCA	57	6662	6681	517
588646	2085	2104	Екзон 14	AGCCTCAAAGCTCGAGTTGT	48	6674	6693	518
588648	2091	2110	Екзон 14	GGAGGAAGCCTCAAAGCTCG	40	6680	6699	519
588651	2097	2116	Екзон 14	GTAGTTGGAGGAAGCCTCAA	43	6686	6705	520
588652	2103	2122	Екзон 14	CAAGTGGTAGTTGGAGGAAG	13	6692	6711	521
588654	2166	2185	Екзон 15	TCCTCAGACACAAAAGAGC	55	6954	6973	522
588656	2172	2191	Екзон 15	TTCTCCTCCTCAGACACAAA	44	6960	6979	523
588658	2196	2215	Екзон 15	TAGACCTCCTCCGAGTCAG	50	6984	7003	524
588660	2202	2221	Екзон 15	TTGATGTAGACCTCCTCCG	27	6990	7009	525

Таблиця 133

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588582	2219	2238	Зчленування екзонів 15-16	CTTTCTTATCCCCAT TCTTG	49	н.д.	н.д.	526
588583	2221	2240	Зчленування екзонів 15-16	GCSTTTCTTATCCC CATCT	41	н.д.	н.д.	527
532775	2223	2242	Зчленування екзонів 15-16	CTGCSTTTCTTATCC CAT	41	н.д.	н.д.	203
588584	2225	2244	Зчленування екзонів 15-16	AGCTGCSTTTCTTAT CCCCCA	43	н.д.	н.д.	528
588662	2226	2245	Зчленування екзонів 15-16	CAGCTGCSTTTCTT ATCCCC	52	н.д.	н.д.	529
588585	2227	2246	Зчленування екзонів 15-16	ACAGCTGCSTTTCT TATCCC	39	н.д.	н.д.	530
588664	2238	2257	Екзон 16	GCATCTCTCTCACA GCTGCC	69	7122	7141	531
588666	2276	2295	Екзон 16	AGATGTCCTTGACT TTGTCA	46	7160	7179	532
588668	2330	2349	Екзон 16	CAGCATAGGGACTC ACTCCT	47	7214	7233	533
588670	2361	2380	Зчленування екзонів 16-17	CCGCCAGAATCACC TCTGCA	58	н.д.	н.д.	534
588672	2397	2416	Екзон 17	TGAATGAAACGACT TCTCTT	48	7362	7381	535
588674	2430	2449	Екзон 18	ACATCCACTACTCC CCAGCT	29	7665	7684	536
588676	2448	2467	Екзон 18	CGCTTCTGGTTTTT GCAGAC	58	7683	7702	537
588678	2454	2473	Екзон 18	TTTTGCCGCTTCTG GTTTTT	45	7689	7708	538
588680	2466	2485	Екзон 18	GCAGGTACCTGCTT TTGCCG	36	7701	7720	539
588682	2532	2551	Екзон 18	TCTTGGAGTTTCTC CTTCA	47	7767	7786	540
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCA ATCCC	96	7834	7853	239
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AATTCA	96	7839	7858	317

Таблиця 134

Інгібування мРНК CFB MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
598973	2552	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTCA	40	7787	7803	3-10-4	619
599036	2552	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTCA	18	7787	7803	5-7-5	619
598974	2553	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCTC	28	7788	7804	3-10-4	620
599037	2553	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCTC	19	7788	7804	5-7-5	620

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
598975	2554	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCT	15	7789	7805	3-10-4	621
599038	2554	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCT	32	7789	7805	5-7-5	621
598976	2555	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCC	12	7790	7806	3-10-4	622
599039	2555	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCC	7	7790	7806	5-7-5	622
598977	2557	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	3-10-4	623
599040	2557	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAAT	13	7792	7808	5-7-5	623
598978	2558	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	3-10-4	624
599041	2558	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7809	5-7-5	624
598979	2559	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7810	3-10-4	625
599042	2559	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAA	19	7794	7810	5-7-5	625
598980	2560	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCA	42	7795	7811	3-10-4	626
599043	2560	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCA	10	7795	7811	5-7-5	626
598981	2561	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7812	3-10-4	627
599044	2561	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCC	12	7796	7812	5-7-5	627
598982	2562	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACC	10	7797	7813	3-10-4	628
599045	2562	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACC	3	7797	7813	5-7-5	628
598983	2563	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7814	3-10-4	629
599046	2563	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAAC	18	7798	7814	5-7-5	629
598984	2564	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAA	0	7799	7815	3-10-4	630
599047	2564	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAA	7	7799	7815	5-7-5	630
598985	2565	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7816	3-10-4	631
599048	2565	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAA	9	7800	7816	5-7-5	631
598986	2566	2582	Екзон 18	GGAACCCCTTATAGAA	0	7801	7817	3-10-4	632
599049	2566	2582	Екзон 18	GGAACCCCTTATAGAA	18	7801	7817	5-7-5	632
598988	2567	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7818	3-10-4	633
599050	2567	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGA	8	7802	7818	5-7-5	633
598989	2568	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7819	3-10-4	634
598990	2569	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATA	8	7804	7820	3-10-4	635
598991	2570	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTAT	25	7805	7821	3-10-4	636
598992	2571	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTA	12	7806	7822	3-10-4	637
598993	2572	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTT	37	7807	7823	3-10-4	638
598994	2573	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCT	29	7808	7824	3-10-4	639
598995	2574	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCC	42	7809	7825	3-10-4	640
598996	2575	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	36	7810	7826	3-10-4	641
598997	2576	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	18	7811	7827	3-10-4	642
598998	2577	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	27	7812	7828	3-10-4	643
598999	2578	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	61	7813	7829	3-10-4	644
599000	2580	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGA	71	7815	7831	3-10-4	645
599001	2581	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGG	80	7816	7832	3-10-4	646
599002	2582	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCAGCAG	68	7817	7833	3-10-4	647
599003	2583	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCA	71	7818	7834	3-10-4	648
599004	2584	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGC	76	7819	7835	3-10-4	649
599005	2585	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAG	70	7820	7836	3-10-4	650
599006	2586	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCCA	65	7821	7837	3-10-4	651
599007	2587	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCC	60	7822	7838	3-10-4	652
599008	2588	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCC	72	7823	7839	3-10-4	653
599009	2589	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGT	79	7824	7840	3-10-4	654
599010	2590	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTGT	73	7825	7841	3-10-4	655
599011	2591	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCT	79	7826	7842	3-10-4	656

Таблиця 134

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599012	2592	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCC	67	7827	7843	3-10-4	657
599013	2593	2609	Екзон 18	AATTCATCCCACGCCC	65	7828	7844	3-10-4	658
599014	2594	2610	Екзон 18	TAATTCATCCCACGCC	74	7829	7845	3-10-4	659
599015	2595	2611	Екзон 18	TTAATTCATCCCACGC	71	7830	7846	3-10-4	660
599016	2596	2612	Екзон 18	TTTAATTCATCCCACG	48	7831	7847	3-10-4	661
599017	2597	2613	Екзон 18	TTTTAATTCATCCCAC	34	7832	7848	3-10-4	662
599018	2598	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCATCCCA	56	7833	7849	3-10-4	663
599019	2599	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCATCCC	60	7834	7850	3-10-4	664
599020	2600	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCATCC	0	7835	7851	3-10-4	665
599021	2601	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCATC	33	7836	7852	3-10-4	666
599022	2602	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAT	17	7837	7853	3-10-4	667
599023	2603	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	52	7838	7854	3-10-4	668
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	86	7839	7858	5-10-5	317
599024	2604	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC A	88	7839	7855	3-10-4	669
599025	2605	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	85	7840	7856	3-10-4	670
599026	2606	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	69	7841	7857	3-10-4	671
599027	2607	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	77	7842	7858	3-10-4	672
599028	2608	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA	73	7843	7859	3-10-4	673
599029	2609	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTTA	78	7844	7860	3-10-4	674
599030	2610	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTTT	75	7845	7861	3-10-4	675
599031	2611	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTT	77	7846	7862	3-10-4	676
599032	2612	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTT	79	н.д.	н.д.	3-10-4	677
599033	2613	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTGT	80	н.д.	н.д.	3-10-4	678
599034	2614	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTG	78	н.д.	н.д.	3-10-4	679
599035	2615	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTTGTCGCAGCT	63	н.д.	н.д.	3-10-4	680

Таблиця 135

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599098	2552	2568	Екзон 18	GAAAACCCAA ATCCTCA	57	7787	7803	4-8-5	619
599099	2553	2569	Екзон 18	AGAAAACCCA AATCCTC	33	7788	7804	4-8-5	620
599100	2554	2570	Екзон 18	TAGAAAACCC AAATCCT	32	7789	7805	4-8-5	621
599101	2555	2571	Екзон 18	ATAGAAAACC CAAATCC	47	7790	7806	4-8-5	622
599102	2557	2573	Екзон 18	TTATAGAAAA CCCAAAT	59	7792	7808	4-8-5	623

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599103	2558	2574	Екзон 18	СТТАТАGAAA ACCCAAA	10	7793	7809	4-8-5	624
599104	2559	2575	Екзон 18	ССТТАТАGAA AACCCAA	3	7794	7810	4-8-5	625
599105	2560	2576	Екзон 18	CCCTТАТАGA AAACCCA	45	7795	7811	4-8-5	626
599106	2561	2577	Екзон 18	CCCCTТАТАG AAAACCC	49	7796	7812	4-8-5	627
599107	2562	2578	Екзон 18	ACCCCTТАТА GAAAACC	35	7797	7813	4-8-5	628
599108	2563	2579	Екзон 18	AACCCCTТАТ AGAAAAC	17	7798	7814	4-8-5	629
599109	2564	2580	Екзон 18	AAACCCCTТА TAGAAAA	36	7799	7815	4-8-5	630
599110	2565	2581	Екзон 18	GAAACCCCTТ АТАGAAA	20	7800	7816	4-8-5	631
599111	2566	2582	Екзон 18	GGAAACCCCT ТАТАGAA	20	7801	7817	4-8-5	632
599112	2567	2583	Екзон 18	AGGAAACCCC ТТАТАGA	15	7802	7818	4-8-5	633
599113	2568	2584	Екзон 18	CAGGAAACCC CTТАТАG	19	7803	7819	4-8-5	634
599051	2568	2584	Екзон 18	CAGGAAACCC CTТАТАG	26	7803	7819	5-7-5	634
599114	2569	2585	Екзон 18	GCAGGAAACC CCTТАТА	18	7804	7820	4-8-5	635
599052	2569	2585	Екзон 18	GCAGGAAACC CCTТАТА	21	7804	7820	5-7-5	635
599115	2570	2586	Екзон 18	AGCAGGAAAC CCCTТАТ	31	7805	7821	4-8-5	636
599053	2570	2586	Екзон 18	AGCAGGAAAC CCCTТАТ	25	7805	7821	5-7-5	636
599116	2571	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAA CCCCTТА	39	7806	7822	4-8-5	637
599054	2571	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAA CCCCTТА	36	7806	7822	5-7-5	637
599117	2572	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAA ACCCCTТ	46	7807	7823	4-8-5	638
599055	2572	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAA ACCCCTТ	22	7807	7823	5-7-5	638
599118	2573	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGA AACCCCT	40	7808	7824	4-8-5	639
599056	2573	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGA AACCCCT	32	7808	7824	5-7-5	639
599119	2574	2590	Екзон 18	GTCCAGCAG GAAACCCC	50	7809	7825	4-8-5	640
599057	2574	2590	Екзон 18	GTCCAGCAG GAAACCCC	46	7809	7825	5-7-5	640
599120	2575	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAG GAAACCCC	30	7810	7826	4-8-5	641

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599058	2575	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCC	52	7810	7826	5-7-5	641
599121	2576	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	31	7811	7827	4-8-5	642
599059	2576	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACC	24	7811	7827	5-7-5	642
599122	2577	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	23	7812	7828	4-8-5	643
599060	2577	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAAC	37	7812	7828	5-7-5	643
599123	2578	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	51	7813	7829	4-8-5	644
599061	2578	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAA	34	7813	7829	5-7-5	644
599124	2580	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGA	56	7815	7831	4-8-5	645
599062	2580	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGA	51	7815	7831	5-7-5	645
599125	2581	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGG	70	7816	7832	4-8-5	646
599063	2581	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGG	56	7816	7832	5-7-5	646
599126	2582	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCAG	76	7817	7833	4-8-5	647
599064	2582	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCAG	61	7817	7833	5-7-5	647
599127	2583	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCA	67	7818	7834	4-8-5	648
599065	2583	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCA	64	7818	7834	5-7-5	648
599066	2584	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGC	40	7819	7835	5-7-5	649
599067	2585	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAG	37	7820	7836	5-7-5	650
599068	2586	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCCA	31	7821	7837	5-7-5	651
599069	2587	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCC	39	7822	7838	5-7-5	652
599070	2588	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCC	59	7823	7839	5-7-5	653
599071	2589	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGT	63	7824	7840	5-7-5	657
599072	2590	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTG	74	7825	7841	5-7-5	655
599073	2591	2607	Екзон 18	TTCATCCCA CGCCCT	53	7826	7842	5-7-5	656
599074	2592	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCT	56	7827	7843	5-7-5	657
599075	2593	2609	Екзон 18	AATTCATCCACGCCCT	49	7828	7844	5-7-5	658

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599076	2594	2610	Екзон 18	TAATTC AATC CCACGCC	54	7829	7845	5-7-5	659
599077	2595	2611	Екзон 18	TTAATTC AATC CCACGC	79	7830	7846	5-7-5	660
599078	2596	2612	Екзон 18	TTTAATTC AAT CCCACG	67	7831	7847	5-7-5	661
599079	2597	2613	Екзон 18	TTTTAATTC AA TCCAC	69	7832	7848	5-7-5	662
599080	2598	2614	Екзон 18	GTTTTAATTC A ATCCCA	79	7833	7849	5-7-5	663
599081	2599	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTC AATCCC	57	7834	7850	5-7-5	664
599082	2600	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATT CAATCC	50	7835	7851	5-7-5	665
599083	2601	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAA TTCAATC	67	7836	7852	5-7-5	666
599084	2602	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTA ATTCAAT	60	7837	7853	5-7-5	667
599085	2603	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTT AATTC AA	71	7838	7854	5-7-5	668
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTG TTTTAATTCA	82	7839	7858	5-10-5	317
599086	2604	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTT TAATTCA	81	7839	7855	5-7-5	669
599087	2605	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTT TTAATTC	88	7840	7856	5-7-5	670
599088	2606	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGT TTTAATT	84	7841	7857	5-7-5	671
599089	2607	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTG TTTTAAT	81	7842	7858	5-7-5	672
599090	2608	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCT GTTTTAA	77	7843	7859	5-7-5	673
599091	2609	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGC TGTTTTA	74	7844	7860	5-7-5	674
599092	2610	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAG CTGTTTT	66	7845	7861	5-7-5	675
599093	2611	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCA GCTGTTT	89	7846	7862	5-7-5	676
599094	2612	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGC AGCTGTT	82	н.д.	н.д.	5-7-5	677
599095	2613	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCG CAGCTGT	87	н.д.	н.д.	5-7-5	678
599096	2614	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTC GCAGCTG	85	н.д.	н.д.	5-7-5	679
599097	2615	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTTGTC GCAGCT	78	н.д.	н.д.	5-7-5	680

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599510	2552	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	45	7787	7805	5-9-5	681
599331	2553	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAA TCCTC	46	7788	7806	5-9-5	682
599332	2554	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	38	7789	7807	5-9-5	683
599333	2556	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	1	7791	7809	5-9-5	684
599334	2557	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7810	5-9-5	685
599335	2558	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAA	34	7793	7811	5-9-5	686
599336	2559	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	40	7794	7812	5-9-5	687
599337	2560	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCA	39	7795	7813	5-9-5	688
599338	2561	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	57	7796	7814	5-9-5	689
599339	2562	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	26	7797	7815	5-9-5	690
599281	2562	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7815	6-7-6	690
599340	2563	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	17	7798	7816	5-9-5	691
599282	2563	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAAC	12	7798	7816	6-7-6	691
599341	2564	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	23	7799	7817	5-9-5	692
599283	2564	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAAA	18	7799	7817	6-7-6	692
599342	2565	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	10	7800	7818	5-9-5	693
599284	2565	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAA	14	7800	7818	6-7-6	693
599343	2566	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	10	7801	7819	5-9-5	694
599285	2566	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAA	13	7801	7819	6-7-6	694
599344	2567	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	22	7802	7820	5-9-5	695
599286	2567	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGA	31	7802	7820	6-7-6	695
599345	2568	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	19	7803	7821	5-9-5	696
599287	2568	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATAG	12	7803	7821	6-7-6	696
599346	2569	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	30	7804	7822	5-9-5	697
599288	2569	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTATA	28	7804	7822	6-7-6	697

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				СТТАТА					
599347	2570	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACC CCTTAT	46	7805	7823	5-9-5	698
599289	2570	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACC CCTTAT	32	7805	7823	6-7-6	698
599348	2571	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACC CCTTA	44	7806	7824	5-9-5	699
599290	2571	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACC CCTTA	24	7806	7824	6-7-6	699
599349	2572	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAA CCCCTT	60	7807	7825	5-9-5	700
599291	2572	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAA CCCCTT	38	7807	7825	6-7-6	700
599350	2573	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAA CCCCT	49	7808	7826	5-9-5	701
599292	2573	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAA CCCCT	35	7808	7826	6-7-6	701
599351	2575	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGG AAACCC	46	7810	7828	5-9-5	702
599293	2575	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGG AAACCC	12	7810	7828	6-7-6	702
599352	2576	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAG GAAACC	49	7811	7829	5-9-5	703
599294	2576	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAG GAAACC	38	7811	7829	6-7-6	703
599353	2577	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCA GAAAC	64	7812	7830	5-9-5	704
599295	2577	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCA GAAAC	33	7812	7830	6-7-6	704
599354	2578	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGC AGGAAA	56	7813	7831	5-9-5	705
599296	2578	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGC AGGAAA	13	7813	7831	6-7-6	705
599355	2580	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCA GCAGGA	81	7815	7833	5-9-5	706
599297	2580	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCA GCAGGA	57	7815	7833	6-7-6	706
599356	2581	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCA GCAGG	64	7816	7834	5-9-5	707
599298	2581	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCA GCAGG	39	7816	7834	6-7-6	707
599299	2582	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTC CAGCAG	55	7817	7835	6-7-6	708
599300	2583	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGT CCAGCA	45	7818	7836	6-7-6	709
599301	2584	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGT CCAGC	39	7819	7837	6-7-6	710
599302	2585	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTG TCCAG	27	7820	7838	6-7-6	711
599303	2586	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCT	35	7821	7839	6-7-6	712

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				GTCCA					
599304	2587	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCC TGTCC	16	7822	7840	6-7-6	713
599305	2588	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCC CTGTC	41	7823	7841	6-7-6	714
599306	2589	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCC CCTGT	70	7824	7842	6-7-6	715
599307	2590	2608	Екзон 18	ATTC AATCCCACGC CCTG	66	7825	7843	6-7-6	716
599308	2591	2609	Екзон 18	AATTC AATCCCACG CCCCT	68	7826	7844	6-7-6	717
599309	2592	2610	Екзон 18	TAATTC AATCCCAC GCCCC	52	7827	7845	6-7-6	718
599310	2593	2611	Екзон 18	TTAATTC AATCCCA CGCCC	39	7828	7846	6-7-6	719
599311	2594	2612	Екзон 18	TTTAATTC AATCCCA CGCC	83	7829	7847	6-7-6	720
599312	2595	2613	Екзон 18	TTTTAATTC AATCCC ACGC	72	7830	7848	6-7-6	721
599313	2596	2614	Екзон 18	GTTTTAATTC AATCC CACG	86	7831	7849	6-7-6	722
599314	2597	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTC AATCC ACAC	91	7832	7850	6-7-6	723
599315	2598	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTC AATCC CA	71	7833	7851	6-7-6	724
599316	2599	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTC AATCCC	89	7834	7852	6-7-6	725
599317	2600	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTC AATCC	87	7835	7853	6-7-6	726
599318	2601	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTC AATC	81	7836	7854	6-7-6	727
599319	2602	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC AAT	75	7837	7855	6-7-6	728
599320	2603	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTC AA	84	7838	7856	6-7-6	729
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AATTC A	92	7839	7858	5-10-5	317
599321	2604	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTA AATTC A	90	7839	7857	6-7-6	730
599322	2605	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AATTC	89	7840	7858	6-7-6	731
599323	2606	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTT TAATTC	81	7841	7859	6-7-6	732
599324	2607	2625	Екзон 18	TTGTGCAGCTGTTT TAATTC	68	7842	7860	6-7-6	733
599325	2608	2626	Екзон 18	GTTGTGCAGCTGTTT TAA	71	7843	7861	6-7-6	734
599326	2609	2627	Екзон 18	TGTTGTGCAGCTGTTT TAA	52	7844	7862	6-7-6	735
599327	2610	2628	Екзон 18 /	TTGTTGTGCAGCT	88	н.д.	н.д.	6-7-6	736

Таблиця 136

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
			повтор	GTTTT					
599328	2611	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTCGTCGAGC TGTTT	87	н.д.	н.д.	6-7-6	737
599329	2612	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGAGC CTGTT	84	н.д.	н.д.	6-7-6	738
599330	2613	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCA GCTGT	87	н.д.	н.д.	6-7-6	739

Таблиця 137

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599512	2552	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCT CA	74	7787	7806	3-10-7	410
599449	2553	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCC TC	43	7788	7807	3-10-7	411
599450	2554	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATC CT	51	7789	7808	3-10-7	412
599451	2555	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAAT CC	35	7790	7809	3-10-7	413
599452	2556	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAA TC	34	7791	7810	3-10-7	414
599453	2557	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAA AT	44	7792	7811	3-10-7	415
599454	2558	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCA AA	54	7793	7812	3-10-7	416
599455	2559	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCC AA	53	7794	7813	3-10-7	417
599456	2560	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACC CA	69	7795	7814	3-10-7	418
599457	2561	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAAC CC	46	7796	7815	3-10-7	419
599458	2562	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAA CC	0	7797	7816	3-10-7	420
599459	2563	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAA AC	12	7798	7817	3-10-7	421
599460	2564	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAA AA	17	7799	7818	3-10-7	422
599461	2565	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGA AA	24	7800	7819	3-10-7	423
599462	2566	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAG AA	33	7801	7820	3-10-7	424
599463	2567	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATA GA	38	7802	7821	3-10-7	425
599464	2568	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT AG	33	7803	7822	3-10-7	426
599465	2569	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA TA	49	7804	7823	3-10-7	427
599466	2570	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT AT	45	7805	7824	3-10-7	428

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599467	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTA	60	7806	7825	3-10-7	237
599468	2572	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	61	7807	7826	3-10-7	429
599469	2573	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	52	7808	7827	3-10-7	430
599470	2574	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC	45	7809	7828	3-10-7	431
599471	2575	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	67	7810	7829	3-10-7	432
599472	2576	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACCC	79	7811	7830	3-10-7	433
599473	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAC	72	7812	7831	3-10-7	238
599474	2578	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAAA	87	7813	7832	3-10-7	434
599475	2579	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCAGCAGGAA	76	7814	7833	3-10-7	435
599476	2580	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCAGGAA	81	7815	7834	3-10-7	436
599477	2581	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGCAGG	83	7816	7835	3-10-7	437
599478	2582	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAGCAG	72	7817	7836	3-10-7	438
599479	2583	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCCAGCA	81	7818	7837	3-10-7	439
599480	2584	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCCAGC	77	7819	7838	3-10-7	440
599481	2585	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	83	7820	7839	3-10-7	441
599482	2586	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	87	7821	7840	3-10-7	442
599483	2587	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	90	7822	7841	3-10-7	443
599484	2588	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCTGTCC	72	7823	7842	3-10-7	444
599485	2589	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	82	7824	7843	3-10-7	445
599486	2590	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCTGT	84	7825	7844	3-10-7	446
599487	2591	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	84	7826	7845	3-10-7	447
599488	2592	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCCT	87	7827	7846	3-10-7	448
599489	2593	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	87	7828	7847	3-10-7	449
599490	2594	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	86	7829	7848	3-10-7	450
599491	2595	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCACGCC	87	7830	7849	3-10-7	451
599492	2596	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCCACGCC	88	7831	7850	3-10-7	452
599493	2597	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCCCACGCC	75	7832	7851	3-10-7	453
599433	2597	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCCCACGCC	89	7832	7851	6-8-6	453

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599494	2598	2617	Екзон 18	GCTGTTTAAATTCATCCCA	90	7833	7852	3-10-7	454
599434	2598	2617	Екзон 18	GCTGTTTAAATTCATCCCA	89	7833	7852	6-8-6	454
599495	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTCATCC	88	7834	7853	3-10-7	239
599435	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTCATCC	91	7834	7853	6-8-6	239
599496	2600	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTAAATTCATC	89	7835	7854	3-10-7	455
599436	2600	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTAAATTCATC	89	7835	7854	6-8-6	455
599497	2601	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTAAATTCAT	89	7836	7855	3-10-7	456
599437	2601	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTAAATTCAT	91	7836	7855	6-8-6	456
599498	2602	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTAAATTCAT	88	7837	7856	3-10-7	457
599438	2602	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTAAATTCAT	90	7837	7856	6-8-6	457
599499	2603	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAATTC	81	7838	7857	3-10-7	458
599439	2603	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAATTC	88	7838	7857	6-8-6	458
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT	90	7839	7858	5-10-5	317
599500	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT	88	7839	7858	3-10-7	317
599440	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAAT	88	7839	7858	6-8-6	317
599501	2605	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAAAT	78	7840	7859	3-10-7	459
599441	2605	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAAAT	90	7840	7859	6-8-6	459
599502	2606	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTAA	87	7841	7860	3-10-7	460
599442	2606	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTAA	76	7841	7860	6-8-6	460
599503	2607	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTTAA	83	7842	7861	3-10-7	461
599443	2607	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTTAA	77	7842	7861	6-8-6	461
599504	2608	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	89	7843	7862	3-10-7	395
599444	2608	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTT	69	7843	7862	6-8-6	395
599505	2609	2628	Екзон 19 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	83	н.д.	н.д.	3-10-7	462
599445	2609	2628	Екзон 19 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	85	н.д.	н.д.	6-8-6	462
599506	2610	2629	Екзон 19 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTGTT	89	н.д.	н.д.	3-10-7	463
599446	2610	2629	Екзон 19 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTGTT	85	н.д.	н.д.	6-8-6	463
599507	2611	2630	Екзон 19 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	82	н.д.	н.д.	3-10-7	464

Інгібування мРНК CFB MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599447	2611	2630	Екзон 19 / повтор	TTTTGTTGTCTGCAGCTGT TT	83	н.д.	н.д.	6-8-6	464
599508	2612	2631	Екзон 19 / повтор	TTTTGTTGTCTGCAGCTG TT	90	н.д.	н.д.	3-10-7	465
599448	2612	2631	Екзон 19 / повтор	TTTTGTTGTCTGCAGCTG TT	87	н.д.	н.д.	6-8-6	465

Приклад 119: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у НерG2 клітинах MOE гепмерами

Були сконструйовані додаткові антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів, які мали аналогічні умови культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Культивовані клітини НерG2 з щільністю 20000 клітин на лунку були трансфецирували з використанням електропорації з 2000 нМ антисмислового олігонуклеотиду. Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди у поданих нижче таблицях були сконструйовані як 4-8-5 MOE, 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6-MOE, 3-10-5 MOE або 6-8-6 MOE гепмери.

Гепмери 4-8-5 MOE мають 17 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять чотири і п'ять нуклеозидів відповідно. Гепмери 5-8-5 MOE мають 18 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-9-5 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з дев'яти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-10-5 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 3-10-5 MOE мають 18 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, містять три і п'ять нуклеозидів відповідно. Гепмери 6-7-6 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з семи 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Гепмери 6-8-6 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-МОЕ модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини.

"Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область -мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599160	2560	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCA	26	7795	7812	5-8-5	740
599161	2561	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	20	7796	7813	5-8-5	741
599162	2562	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACC	12	7797	7814	5-8-5	742
599163	2563	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAAC	11	7798	7815	5-8-5	743
599164	2564	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAA	11	7799	7816	5-8-5	744
599165	2566	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7818	5-8-5	745
599166	2567	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGA	12	7802	7819	5-8-5	746
599167	2568	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7820	5-8-5	747
599168	2569	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	16	7804	7821	5-8-5	748
599169	2570	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTAT	24	7805	7822	5-8-5	749
599170	2571	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTTA	37	7806	7823	5-8-5	750
599171	2572	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCTT	30	7807	7824	5-8-5	751
599172	2573	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCT	43	7808	7825	5-8-5	752
599173	2574	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCCC	47	7809	7826	5-8-5	753
599174	2575	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACCC	27	7810	7827	5-8-5	754
599175	2576	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAACC	30	7811	7828	5-8-5	755
599176	2577	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAAC	34	7812	7829	5-8-5	756
599177	2578	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAA	41	7813	7830	5-8-5	757
599178	2580	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGA	67	7815	7832	5-8-5	758
599179	2581	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGG	61	7816	7833	5-8-5	759
599180	2582	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGCAG	62	7817	7834	5-8-5	760
599181	2583	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGCA	63	7818	7835	5-8-5	761
599182	2584	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAGC	55	7819	7835	4-8-5	649
599182	2584	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAGC	58	7819	7836	5-8-5	762
599129	2585	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCAG	41	7820	7836	4-8-5	650
599183	2585	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCCAG	43	7820	7837	5-8-5	763
599130	2586	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCCA	46	7821	7837	4-8-5	651
599184	2586	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCCA	32	7821	7838	5-8-5	764
599131	2587	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCC	30	7822	7838	4-8-5	652
599185	2587	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCC	35	7822	7839	5-8-5	765
599132	2588	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCC	52	7823	7839	4-8-5	653
599186	2588	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGTCC	55	7823	7840	5-8-5	766
599133	2589	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGT	66	7824	7840	4-8-5	654
599187	2589	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTGT	72	7824	7841	5-8-5	767
599134	2590	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTG	80	7825	7841	4-8-5	655
599188	2590	2607	Екзон 18	TTCATCCCACGCCCTG	92	7825	7842	5-8-5	768
599135	2591	2607	Екзон 18	TTCATCCCACGCCCT	61	7826	7842	4-8-5	656
599189	2591	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCT	52	7826	7843	5-8-5	769
599136	2592	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCC	68	7827	7843	4-8-5	657
599190	2592	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCC	62	7827	7844	5-8-5	770
599137	2593	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCC	51	7828	7844	4-8-5	658
599191	2593	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCC	54	7828	7845	5-8-5	771
599138	2594	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCC	71	7829	7845	4-8-5	659
599192	2594	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCC	66	7829	7846	5-8-5	772
599139	2595	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGC	80	7830	7846	4-8-5	660
599193	2595	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGC	74	7830	7847	5-8-5	773
599140	2596	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7847	4-8-5	786

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область -мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599194	2596	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACG	66	7831	7848	5-8-5	774
599141	2597	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7848	4-8-5	662
599195	2597	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCAC	86	7832	7849	5-8-5	775
599142	2598	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCA	69	7833	7849	4-8-5	663
599196	2598	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCCA	82	7833	7850	5-8-5	776
599143	2599	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCC	59	7834	7850	4-8-5	664
599197	2599	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7851	5-8-5	777
599144	2600	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCC	52	7835	7851	4-8-5	665
599198	2600	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATCC	86	7835	7852	5-8-5	778
599145	2601	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATC	53	7836	7852	4-8-5	666
599199	2601	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATC	72	7836	7853	5-8-5	779
599146	2602	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAAT	42	7837	7853	4-8-5	667
599200	2602	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAAT	76	7837	7854	5-8-5	780
599147	2603	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAA	55	7838	7854	4-8-5	668
599201	2603	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCAA	87	7838	7855	5-8-5	781
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	93	7839	7858	5-10-5	317
599148	2604	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCA	84	7839	7855	4-8-5	669
599202	2604	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTCA	89	7839	7856	5-8-5	782
599149	2605	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTC	92	7840	7856	4-8-5	670
599203	2605	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	90	7840	7857	5-8-5	783
599150	2606	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATT	75	7841	7857	4-8-5	671
599151	2607	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT	80	7842	7858	4-8-5	672
599152	2608	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA	76	7843	7859	4-8-5	673
599153	2609	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTA	56	7844	7860	4-8-5	674
599154	2610	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTT	85	7845	7861	4-8-5	675
599155	2611	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTT	89	7846	7862	4-8-5	676
599156	2612	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTTCGCAGCTGTT	83	н.д.	н.д.	4-8-5	813
599157	2613	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTTGTTCGCAGCTGT	78	н.д.	н.д.	4-8-5	678
599158	2614	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTGTTGTTCGCAGCTG	83	н.д.	н.д.	4-8-5	679
599159	2615	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTGTTGTTCGCAGCT	65	н.д.	н.д.	4-8-5	680
599204	2606	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	83	7841	7858	5-8-5	784

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599509	2552	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	45	7787	7805	6-7-6	681
599213	2553	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	89	7788	7805	3-10-5	785
599273	2553	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	85	7788	7806	6-7-6	682
599214	2554	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	79	7789	7806	3-10-5	786
599274	2554	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	75	7789	7807	6-7-6	683
599215	2555	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	81	7790	7807	3-10-5	787
599216	2556	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATCCTC	87	7791	7808	3-10-5	788
599275	2556	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATCCTC	84	7791	7809	6-7-6	684
599217	2557	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATCT	84	7792	7809	3-10-5	789
599276	2557	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAATCT	68	7792	7810	6-7-6	685
599218	2558	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAATCA	82	7793	7810	3-10-5	790
599277	2558	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAATCA	82	7793	7811	6-7-6	686
599219	2559	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAATCA	81	7794	7811	3-10-5	791
599278	2559	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	84	7794	7812	6-7-6	687
599220	2560	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	92	7795	7812	3-10-5	740
599279	2560	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	92	7795	7813	6-7-6	688
599221	2561	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	93	7796	7813	3-10-5	741
599280	2561	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	90	7796	7814	6-7-6	689
599222	2562	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	95	7797	7814	3-10-5	742
599223	2563	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	93	7798	7815	3-10-5	743
599224	2564	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	90	7799	7816	3-10-5	744
599225	2566	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	93	7801	7818	3-10-5	745
599226	2567	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	95	7802	7819	3-10-5	746
599227	2568	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAAAACCCAAATCA	94	7803	7820	3-10-5	747

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599228	2569	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTA TA	96	7804	7821	3-10-5	748
599229	2570	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTT AT	92	7805	7822	3-10-5	749
599230	2571	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCT TA	88	7806	7823	3-10-5	750
599231	2572	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCC TT	83	7807	7824	3-10-5	751
599232	2573	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCC CT	89	7808	7825	3-10-5	752
599233	2574	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACC CC	83	7809	7826	3-10-5	753
599234	2575	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAAC CC	88	7810	7827	3-10-5	754
599235	2576	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAA CC	91	7811	7828	3-10-5	755
599236	2577	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAA AC	90	7812	7829	3-10-5	756
599237	2578	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGA AA	34	7813	7830	3-10-5	757
599238	2580	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAG GA	14	7815	7832	3-10-5	758
599239	2581	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCA GG	10	7816	7833	3-10-5	759
599240	2582	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCCAGC AG	26	7817	7834	3-10-5	760
599241	2583	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTCCAG CA	11	7818	7835	3-10-5	761
599242	2584	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCA GC	24	7819	7836	3-10-5	762
599243	2585	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCC AG	23	7820	7837	3-10-5	763
599244	2586	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTC CA	29	7821	7838	3-10-5	764
599245	2587	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCTGT CC	11	7822	7839	3-10-5	765
599246	2588	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCTG TC	0	7823	7840	3-10-5	766
599247	2589	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCT GT	21	7824	7841	3-10-5	767
599248	2590	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCC TG	0	7825	7842	3-10-5	768
599249	2591	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCC CT	9	7826	7843	3-10-5	769
599250	2592	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCC CC	4	7827	7844	3-10-5	770
599251	2593	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGC CC	12	7828	7845	3-10-5	771
599252	2594	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGC	2	7829	7846	3-10-5	772

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				C					
599253	2595	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACG C	28	7830	7847	3-10-5	773
599254	2596	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCAC G	27	7831	7848	3-10-5	774
599255	2597	2614	Екзон 18	GTTTAAATTCAATCCCA C	38	7832	7849	3-10-5	775
599256	2598	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCC A	36	7833	7850	3-10-5	776
599257	2599	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCC C	48	7834	7851	3-10-5	777
599258	2600	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATC C	19	7835	7852	3-10-5	778
599259	2601	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAAT C	36	7836	7853	3-10-5	779
599260	2602	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAA T	58	7837	7854	3-10-5	780
599261	2603	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCA A	35	7838	7855	3-10-5	781
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT TCA	96	7839	7858	5-10-5	317
599262	2604	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTC A	52	7839	7856	3-10-5	782
599263	2605	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATT C	66	7840	7857	3-10-5	783
599264	2606	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT T	48	7841	7858	3-10-5	784
599265	2607	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA T	46	7842	7859	3-10-5	792
599205	2607	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAA T	83	7842	7859	5-8-5	792
599266	2608	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTGTTT A	76	7843	7860	3-10-5	793
599206	2608	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTGTTT A	90	7843	7860	5-8-5	793
599267	2609	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCTGTTT A	53	7844	7861	3-10-5	794
599207	2609	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCTGTTT A	82	7844	7861	5-8-5	794
599268	2610	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGCTGTT T	58	7845	7862	3-10-5	795
599208	2610	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGCTGTT T	70	7845	7862	5-8-5	795
599269	2611	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTTCGCAGCTGTT T	38	н.д.	н.д.	3-10-5	796
599209	2611	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTTCGCAGCTGTT T	50	н.д.	н.д.	5-8-5	796
599270	2612	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTCGCAGCTGT T	46	н.д.	н.д.	3-10-5	797

Таблиця 139

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область -мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599210	2612	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTCGTCGAGCTGT	76	н.д.	н.д.	5-8-5	797
599271	2613	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTCGTCGAGCTGT	64	н.д.	н.д.	3-10-5	798
599211	2613	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTCGTCGAGCTGT	78	н.д.	н.д.	5-8-5	798
599272	2614	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTCGTCGAGCTG	89	н.д.	н.д.	3-10-5	799
599212	2614	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTCGTCGAGCTG	84	н.д.	н.д.	5-8-5	799

Таблиця 140

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область -мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599511	2552	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	38	7787	7806	6-8-6	410
599389	2553	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	80	7788	7807	6-8-6	411
599390	2554	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	92	7789	7808	6-8-6	412
599391	2555	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATCCT	90	7790	7809	6-8-6	413
599392	2556	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	87	7791	7810	6-8-6	414
599393	2557	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	87	7792	7811	6-8-6	415
599394	2558	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	74	7793	7812	6-8-6	416
599395	2559	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	78	7794	7813	6-8-6	417
599396	2560	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCCCA	77	7795	7814	6-8-6	418
599397	2561	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	89	7796	7815	6-8-6	419
599398	2562	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAACCC	90	7797	7816	6-8-6	420
599399	2563	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	91	7798	7817	6-8-6	421
599400	2564	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAAC	88	7799	7818	6-8-6	422
599401	2565	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAAAC	85	7800	7819	6-8-6	423

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599402	2566	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	77	7801	7820	6-8-6	424
599403	2567	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	85	7802	7821	6-8-6	425
599404	2568	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	90	7803	7822	6-8-6	426
599405	2569	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	89	7804	7823	6-8-6	427
599406	2570	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	72	7805	7824	6-8-6	428
599407	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	87	7806	7825	6-8-6	237
599408	2572	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	87	7807	7826	6-8-6	429
599409	2573	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	83	7808	7827	6-8-6	430
599410	2574	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCCCT	88	7809	7828	6-8-6	431
599411	2575	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACCC	45	7810	7829	6-8-6	432
599412	2576	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAACCC	66	7811	7830	6-8-6	433
599413	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAAC	92	7812	7831	6-8-6	238
599414	2578	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAA	92	7813	7832	6-8-6	434
599415	2579	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGGAA	87	7814	7833	6-8-6	435
599416	2580	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCCAGCAGGA	91	7815	7834	6-8-6	436
599417	2581	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAGG	84	7816	7835	6-8-6	437
599357	2582	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAGG	88	7817	7835	5-9-5	708
599418	2582	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCAG	85	7817	7836	6-8-6	438
599358	2583	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCA	86	7818	7836	5-9-5	709
599419	2583	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGCA	91	7818	7837	6-8-6	833
599359	2584	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGC	85	7819	7837	5-9-5	834
599420	2584	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGC	91	7819	7838	6-8-6	440
599360	2585	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGG	89	7820	7838	5-9-5	711
599421	2585	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCTGTCCAG	87	7820	7839	6-8-6	441
599361	2586	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCTGTCCAG	89	7821	7839	5-9-5	712

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
			18	A					
599422	2586	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCTGTC	90	7821	7840	6-8-6	442
599362	2587	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCTGTC	94	7822	7840	5-9-5	713
599423	2587	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCTGT	85	7822	7841	6-8-6	841
599363	2588	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCTGT	88	7823	7841	5-9-5	714
599424	2588	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCTG	88	7823	7842	6-8-6	444
599364	2589	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCTG	88	7824	7842	5-9-5	715
599425	2589	2608	Екзон 18	ATTCATCCCACGCCCCT	68	7824	7843	6-8-6	445
599365	2590	2608	Екзон 18	ATTCATCCCACGCCCCT	48	7825	7843	5-9-5	716
599426	2590	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCC	55	7825	7844	6-8-6	446
599366	2591	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCC	28	7826	7844	5-9-5	717
599427	2591	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCC	13	7826	7845	6-8-6	849
599367	2592	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCC	21	7827	7845	5-9-5	718
599428	2592	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCC	39	7827	7846	6-8-6	448
599368	2593	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCC	20	7828	7846	5-9-5	719
599429	2593	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	18	7828	7847	6-8-6	449
599369	2594	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	78	7829	7847	5-9-5	720
599430	2594	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	24	7829	7848	6-8-6	450
599370	2595	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	25	7830	7848	5-9-5	721
599431	2595	2614	Екзон 18	GTTTCAATTCAATCCCACG	30	7830	7849	6-8-6	451
599371	2596	2614	Екзон 18	GTTTCAATTCAATCCCACG	84	7831	7849	5-9-5	722
599432	2596	2615	Екзон 18	TGTTTCAATTCAATCCCAC	29	7831	7850	6-8-6	452
599372	2597	2615	Екзон 18	TGTTTCAATTCAATCCCAC	83	7832	7850	5-9-5	723
599373	2598	2616	Екзон 18	CTGTTTCAATTCAATCCCA	81	7833	7851	5-9-5	724
599374	2599	2617	Екзон 18	GCTGTTTCAATTCAATCCC	26	7834	7852	5-9-5	725

Інгібування мРНК CFB MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599375	2600	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	26	7835	7853	5-9-5	726
599376	2601	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	62	7836	7854	5-9-5	727
599377	2602	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCAAT	21	7837	7855	5-9-5	728
599378	2603	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAA	90	7838	7856	5-9-5	729
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	95	7839	7858	5-10-5	867
599379	2604	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATTCA	88	7839	7857	5-9-5	730
599380	2605	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC	37	7840	7858	5-9-5	869
599381	2606	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAATT	33	7841	7859	5-9-5	732
599382	2607	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTGTTTTAAT	81	7842	7860	5-9-5	733
599383	2608	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTTA A	54	7843	7861	5-9-5	734
599384	2609	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTTA	85	7844	7862	5-9-5	873
599385	2610	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTTCGCAGCTGTTTT	59	н.д.	н.д.	5-9-5	736
599386	2611	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTCGCAGCTGTTTT	81	н.д.	н.д.	5-9-5	737
599387	2612	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTGTCGCAGCTGTT	80	н.д.	н.д.	5-9-5	738
599388	2613	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTGTCGCAGCTGT	84	н.д.	н.д.	5-9-5	739

Приклад 120: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у HepG2 клітинах MOE гепмерами

- Були сконструйовані додаткові антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Культивовані клітини HepG2 з щільністю 20000 клітин на лунку були трансфецирували з використанням електропорації з 1000 нМ антисмислового олігонуклеотиду. Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

- Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди у поданих нижче таблицях були сконструйовані як дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди. Дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди мають 16 нуклеозидів у довжину, причому нуклеозид містить або модифікацію цукру MOE, або модифікацію цукру (S)-cEt, або дезокси модифікацію. У колонці "Хімізм" описані

модифікації цукру для кожного олігонуклеотиду. "k" означає (S)-cEt модифікацію цукру; "d" означає дезоксирибозу; і "e" означає модифікацію MOE.

"Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Таблиця 141

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599513	2551	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCAT	11	7786	7801	ekkeekkddddd ddkk	557
599514	2553	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTC	13	7788	7803	ekkeekkddddd ddkk	801
599515	2555	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCC	54	7790	7805	ekkeekkddddd ddkk	559
599516	2559	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAA	16	7794	7809	ekkeekkddddd ddkk	561
599517	2560	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCCA	29	7795	7810	ekkeekkddddd ddkk	562
599518	2561	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCC	55	7796	7811	ekkeekkddddd ddkk	563
599519	2562	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCC	31	7797	7812	ekkeekkddddd ddkk	564
599520	2563	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkeekkddddd ddkk	565
599521	2564	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAA	9	7799	7814	ekkeekkddddd ddkk	566
599522	2565	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAA	8	7800	7815	ekkeekkddddd ddkk	567
599523	2566	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAA	6	7801	7816	ekkeekkddddd ddkk	568
599524	2567	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAA	14	7802	7817	ekkeekkddddd ddkk	569
599525	2568	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAG	6	7803	7818	ekkeekkddddd ddkk	570
599526	2569	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATATA	16	7804	7819	ekkeekkddddd ddkk	571
599527	2570	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAT	0	7805	7820	ekkeekkddddd ddkk	572
599528	2571	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATA	6	7806	7821	ekkeekkddddd ddkk	573
599529	2572	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTT	6	7807	7822	ekkeekkddddd ddkk	574
599530	2574	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCC	29	7809	7824	ekkeekkddddd ddkk	576

Таблиця 141

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
59953 1	2575	259 0	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAA CCC	64	7810	7825	ekkeekkdddd ddkk	577
59953 2	2576	259 1	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAA CC	43	7811	7826	ekkeekkdddd ddkk	578
59953 3	2577	259 2	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAA AC	25	7812	7827	ekkeekkdddd ddkk	820
59953 4	2578	259 3	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGG AAA	12	7813	7828	ekkeekkdddd ddkk	580
59953 5	2580	259 5	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCA GGA	16	7815	7830	ekkeekkdddd ddkk	582
59953 6	2582	259 7	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAG CAG	27	7817	7832	ekkeekkdddd ddkk	584
59953 7	2583	259 8	Екзон 18	ACGCCCTGTCCA GCA	35	7818	7833	ekkeekkdddd ddkk	585
59953 8	2584	259 9	Екзон 18	CACGCCCTGTCCA GC	26	7819	7834	ekkeekkdddd ddkk	586
59953 9	2585	260 0	Екзон 18	CCACGCCCTGTC CAG	33	7820	7835	ekkeekkdddd ddkk	587
59954 0	2586	260 1	Екзон 18	CCCACGCCCTGT CCA	27	7821	7836	ekkeekkdddd ddkk	588
59954 1	2587	260 2	Екзон 18	TCCCACGCCCTGT CC	52	7822	7837	ekkeekkdddd ddkk	589
59954 2	2588	260 3	Екзон 18	ATCCCACGCCCTG TC	16	7823	7838	ekkeekkdddd ddkk	590
59954 3	2589	260 4	Екзон 18	AATCCCACGCCCT GT	19	7824	7839	ekkeekkdddd ddkk	591
59954 4	2590	260 5	Екзон 18	CAATCCCACGCCCC TG	33	7825	7840	ekkeekkdddd ddkk	831
59954 5	2591	260 6	Екзон 18	TCAATCCCACGCCC CT	24	7826	7841	ekkeekkdddd ddkk	593
59954 6	2592	260 7	Екзон 18	TTCAATCCCACGCC CC	54	7827	7842	ekkeekkdddd ddkk	594
59954 7	2593	260 8	Екзон 18	ATTCAATCCCACGC CC	87	7828	7843	ekkeekkdddd ddkk	595
59954 8	2594	260 9	Екзон 18	AATTCAATCCCACG CC	79	7829	7844	ekkeekkdddd ddkk	596
59954 9	2595	261 0	Екзон 18	TAATTCAATCCCAC GC	62	7830	7845	ekkeekkdddd ddkk	597
59955 0	2596	261 1	Екзон 18	TTAATTCAATCCCA CG	52	7831	7846	ekkeekkdddd ddkk	598
59955 1	2597	261 2	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCA C	27	7832	7847	ekkeekkdddd ddkk	599
59957 7	2597	261 3	Екзон 18	TTTAATTCAATCCC AC	90	7832	7848	eeekkdddddd kkeee	662
59955 2	2598	261 3	Екзон 18	TTTAATTCAATCCC A	92	7833	7848	ekkeekkdddd ddkk	600

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599578	2598	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCA	88	7833	7849	eeekkkddddd kkee	663
599553	2599	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCC	91	7834	7849	ekkeekkkddddd ddkk	601
599579	2599	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCC	79	7834	7850	eeekkkddddd kkee	664
599554	2600	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATC	90	7835	7850	ekkeekkkddddd ddkk	602
599580	2600	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCC	79	7835	7851	eeekkkddddd kkee	665
599555	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATC	79	7836	7851	ekkeekkkddddd ddkk	846
599581	2601	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATC	90	7836	7852	eeekkkddddd kkee	666
599556	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAAT	47	7837	7852	ekkeekkkddddd ddkk	604
599582	2602	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTC AAT	89	7837	7853	eeekkkddddd kkee	849
599557	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTC AA	67	7838	7853	ekkeekkkddddd ddkk	850
599583	2603	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTC AA	49	7838	7854	eeekkkddddd kkee	668
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AATTC A	78	7839	7858	eeeeedddddd dddeeee	317
599558	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTC A	80	7839	7854	ekkeekkkddddd ddkk	606
599584	2604	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC A	66	7839	7855	eeekkkddddd kkee	669
599559	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC	38	7840	7855	ekkeekkkddddd ddkk	607
599585	2605	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAA TTC	80	7840	7856	eeekkkddddd kkee	670
599560	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAA TT	16	7841	7856	ekkeekkkddddd ddkk	608
599586	2606	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTA ATT	78	7841	7857	eeekkkddddd kkee	671
599561	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTA AT	58	7842	7857	ekkeekkkddddd ddkk	609
599587	2607	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AAT	81	7842	7858	eeekkkddddd kkee	672
588860	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AA	92	7843	7858	eeekkkddddd dkke	610
599562	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTT AA	78	7843	7858	ekkeekkkddddd ddkk	610
599588	2608	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTT AA	81	7843	7859	eeekkkddddd kkee	673

Таблиця 141

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599563	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTA	86	7844	7859	ekkeekkkddddd ddkk	611
599589	2609	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTA	75	7844	7860	eeekkkddddd kkeee	674
599564	2610	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTT	75	7845	7860	ekkeekkkddddd ddkk	612
599590	2610	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	88	7845	7861	eeekkkddddd kkeee	675
599565	2611	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTT	65	7846	7861	ekkeekkkddddd ddkk	613
599591	2611	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTT	94	7846	7862	eeekkkddddd kkeee	676
599566	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	72	7847	7862	ekkeekkkddddd ddkk	614
599592	2612	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTT	90	н.д.	н.д.	eeekkkddddd kkeee	677
599567	2613	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGT	82	н.д.	н.д.	ekkeekkkddddd ddkk	615
599593	2613	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTCGCAGCTGT	95	н.д.	н.д.	eeekkkddddd kkeee	678
599568	2614	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTCGCAGCTG	92	н.д.	н.д.	ekkeekkkddddd ddkk	616
599594	2614	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTG	86	н.д.	н.д.	eeekkkddddd kkeee	679
599569	2615	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCT	89	н.д.	н.д.	ekkeekkkddddd ddkk	617
599595	2615	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCT	76	н.д.	н.д.	eeekkkddddd kkeee	680
599570	2616	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTC	95	н.д.	н.д.	ekkeekkkddddd ddkk	618

Приклад 121: Антисмислове інгібування людського фактора комплементу В (CFB) у HepG2 клітинах MOE гепмерами

- Були сконструйовані додаткові антисмислові олігонуклеотиди, спрямовані на нуклеїнову кислоту людського фактора комплементу В (CFB), і був протестований їх вплив *in vitro* на мРНК CFB. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів, які мали аналогічні умови культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Культивовані клітини HepG2 з щільністю 20000 клітин на лунку трансфецирували з використанням електропорації з 500 нМ антисмислового олігонуклеотиду. Після періоду обробки і протягом 24 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР в реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.
- Вперше сконструйовані химерні антисмислові олігонуклеотиди у поданих нижче таблицях були сконструйовані як дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди або як 5-8-5 MOE, 5-9-5 MOE, 5-10-5 MOE, 6-7-6-MOE, 3-10-5 MOE або 6-8-6 MOE гепмери.

Дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиди мають 16 нуклеозидів у довжину, причому нуклеозид містить або модифікацію цукру MOE, або модифікацію цукру (S)-cEt, або дезокси модифікацію. У колонці "Хімізм" описані модифікації цукру для кожного олігонуклеотиду. "k" означає (S)-cEt модифікацію цукру; "d" означає дезоксирибозу; і "e" означає модифікацію MOE.

Гепмери 5-8-5 MOE мають 18 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-9-5 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з дев'яти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 5-10-5 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по п'ять нуклеозидів кожне. Гепмери 3-10-5 MOE мають 18 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з десяти 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, містять три і п'ять нуклеозидів відповідно. Гепмери 6-7-6 MOE мають 19 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з семи 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Гепмери 6-8-6 MOE мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з восьми 2'-дезоксинуклеозидів і оточений крилами з 5' кінця і в 3' кінця, що містять по шість нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-MOE модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини.

"Сайт ініціації" позначає крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер к послідовності гена людини. "Сайт термінації" позначає крайній 3' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена людини. Кожен гепмер, наведений у поданих нижче таблицях, спрямований на мРНК CFB людини, зазначену в цьому описі як SEQ ID NO: 1 (з номером доступу GENBANK NM_001710.5) чи на геномну послідовність CFB людини, зазначену в цьому документі як SEQ ID NO: 2 (з номером доступу GENBANK NT_007592.15, усічену з нуклеотиду 31852000 до 31861000), або на обидві послідовності. "н/д" означає, що антисмисловий олігонуклеотид не спрямований на зазначену конкретну послідовність гена з 100 % комплементарністю.

Таблиця 142

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO :
601152	2551	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCAT	22	7786	7801	eekkkkkkkkkke	557
601218	2551	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCAT	21	7786	7801	ekkkkkkkkkkee	557
601153	2552	2567	Екзон 18	AAAACCCAAATCCTCA	27	7787	7802	eekkkkkkkkkke	800
601219	2552	2567	Екзон 18	AAAACCCAAATCCTCA	19	7787	7802	ekkkkkkkkkkee	800
601154	2553	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTC	23	7788	7803	eekkkkkkkkkke	558
601220	2553	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTC	24	7788	7803	ekkkkkkkkkkee	558
601155	2554	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCT	20	7789	7804	eekkkkkkkkkke	801
601221	2554	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7804	ekkkkkkkkkkee	801
601156	2555	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCC	11	7790	7805	eekkkkkkkkkke	559
601222	2555	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCC	23	7790	7805	ekkkkkkkkkkee	559
601157	2556	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATC	9	7791	7806	eekkkkkkkkkke	560

Таблиця 142

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO :
601223	2556	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATC	0	7791	7806	ekkkdddddddkke e	560
601158	2557	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	eekkkdddddddkke e	802
601224	2557	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAAT	0	7792	7807	ekkkdddddddkke e	802
601159	2558	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAA	2	7793	7808	eekkkdddddddkke e	803
601225	2558	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAA	0	7793	7808	ekkkdddddddkke e	803
601160	2559	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	eekkkdddddddkke e	561
601226	2559	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7809	ekkkdddddddkke e	561
601161	2560	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCA	1	7795	7810	eekkkdddddddkke e	562
601227	2560	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCA	14	7795	7810	ekkkdddddddkke e	562
601162	2561	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	eekkkdddddddkke e	563
601228	2561	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCC	9	7796	7811	ekkkdddddddkke e	563
601163	2562	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACC	0	7797	7812	eekkkdddddddkke e	564
601164	2563	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAAC	3	7798	7813	eekkkdddddddkke e	565
601165	2564	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAA	0	7799	7814	eekkkdddddddkke e	566
601166	2565	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAA	0	7800	7815	eekkkdddddddkke e	567
601167	2566	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	eekkkdddddddkke e	568
601168	2567	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	eekkkdddddddkke e	569
601169	2568	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAG	0	7803	7818	eekkkdddddddkke e	570
601170	2569	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATA	10	7804	7819	eekkkdddddddkke e	571
601171	2570	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTAT	9	7805	7820	eekkkdddddddkke e	572
601172	2571	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTA	15	7806	7821	eekkkdddddddkke e	573
601173	2572	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTT	29	7807	7822	eekkkdddddddkke e	574
601174	2573	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCT	25	7808	7823	eekkkdddddddkke e	575
601175	2574	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCC	15	7809	7824	eekkkdddddddkke e	576
601176	2575	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCC	18	7810	7825	eekkkdddddddkke e	577
601177	2576	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	eekkkdddddddkke e	578
601178	2577	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	11	7812	7827	eekkkdddddddkke	579

Таблиця 142

Інгібування мРНК CFV дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO :
								e	
601179	2578	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	19	7813	7828	eekkkkkkkkkke	580
601180	2579	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	7	7814	7829	eekkkkkkkkkke	581
601181	2580	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	3	7815	7830	eekkkkkkkkkke	582
601182	2581	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	0	7816	7831	eekkkkkkkkkke	583
601183	2582	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	4	7817	7832	eekkkkkkkkkke	584
601184	2583	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCA	14	7818	7833	eekkkkkkkkkke	585
601185	2584	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCCAGC	26	7819	7834	eekkkkkkkkkke	586
601186	2585	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTCCAG	8	7820	7835	eekkkkkkkkkke	587
601187	2586	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCA	18	7821	7836	eekkkkkkkkkke	588
601188	2587	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCC	20	7822	7837	eekkkkkkkkkke	589
601189	2588	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTC	12	7823	7838	eekkkkkkkkkke	590
601190	2589	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCTGT	33	7824	7839	eekkkkkkkkkke	591
601191	2590	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCTG	52	7825	7840	eekkkkkkkkkke	592
601192	2591	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCT	46	7826	7841	eekkkkkkkkkke	593
601193	2592	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCC	30	7827	7842	eekkkkkkkkkke	594
601194	2593	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCC	41	7828	7843	eekkkkkkkkkke	595
601195	2594	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCC	40	7829	7844	eekkkkkkkkkke	596
601196	2595	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGC	71	7830	7845	eekkkkkkkkkke	597
601197	2596	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACG	42	7831	7846	eekkkkkkkkkke	598
601198	2597	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCAC	63	7832	7847	eekkkkkkkkkke	599
601199	2598	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCA	51	7833	7848	eekkkkkkkkkke	600
601200	2599	2614	Екзон 18	GTTTAAATTCAATCCC	65	7834	7849	eekkkkkkkkkke	601
601201	2600	2615	Екзон 18	TGTTTAAATTCAATCC	49	7835	7850	eekkkkkkkkkke	602
601202	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTAAATTCAATC	33	7836	7851	eekkkkkkkkkke	603
601203	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTAAATTCAAT	63	7837	7852	eekkkkkkkkkke	604
601204	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTCAA	69	7838	7853	eekkkkkkkkkke	605

Таблиця 142

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAATCA	73	7839	7858	eeeeedddddddddd eeee	317
601205	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTAAATCA	51	7839	7854	eekkkdddddddkke e	606
601206	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTAAATTC	43	7840	7855	eekkkdddddddkke e	607
601207	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTAAAT	52	7841	7856	eekkkdddddddkke e	608
601208	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAAT	61	7842	7857	eekkkdddddddkke e	609
588860	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA	75	7843	7858	eekkkdddddddkk e	610
601209	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA	73	7843	7858	eekkkdddddddkke e	610
601210	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	80	7844	7859	eekkkdddddddkke e	611
601211	2610	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	64	7845	7860	eekkkdddddddkke e	612
601212	2611	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	86	7846	7861	eekkkdddddddkke e	613
601213	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	87	7847	7862	eekkkdddddddkke e	614
601214	2613	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGT	84	н.д.	н.д.	eekkkdddddddkke e	615
601215	2614	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTG	78	н.д.	н.д.	eekkkdddddddkke e	616
601216	2615	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCT	73	н.д.	н.д.	eekkkdddddddkke e	617
601217	2616	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTTGTCGCAGC	66	н.д.	н.д.	eekkkdddddddkke e	618

Таблиця 143

Інгібування мРНК CFB дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
601284	2551	2566	Екзон 18	AAACCCAAATCCTCAT	8	7786	7801	ekkkdddddddkkeee	557
601285	2552	2567	Екзон 18	AAAACCCAAATCCTCA	15	7787	7802	ekkkdddddddkkeee	800
601286	2553	2568	Екзон 18	GAAAACCCAAATCCTC	21	7788	7803	ekkkdddddddkkeee	558
601287	2554	2569	Екзон 18	AGAAAACCCAAATCCT	9	7789	7804	ekkkdddddddkkeee	801
601288	2555	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCC	0	7790	7805	ekkkdddddddkkeee	559
601289	2556	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATC	40	7791	7806	ekkkdddddddkkeee	560
601290	2557	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAAT	16	7792	7807	ekkkdddddddkkeee	802
601291	2558	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAA	15	7793	7808	ekkkdddddddkkeee	803
601292	2559	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAA	5	7794	7809	ekkkdddddddkkeee	561
601293	2560	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCA	15	7795	7810	ekkkdddddddkkeee	562
601294	2561	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCC	3	7796	7811	ekkkdddddddkkeee	563

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
601229	2562	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACC	15	7797	7812	ekkkdddddddkkee	564
601295	2562	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACC	5	7797	7812	ekkkdddddddkkee	564
601230	2563	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAAC	14	7798	7813	ekkkdddddddkkee	565
601296	2563	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAAC	0	7798	7813	ekkkdddddddkkee	565
601231	2564	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkdddddddkkee	566
601297	2564	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAA	14	7799	7814	ekkkdddddddkkee	566
601232	2565	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAA	15	7800	7815	ekkkdddddddkkee	567
601298	2565	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAA	7	7800	7815	ekkkdddddddkkee	567
601233	2566	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkdddddddkkee	568
601299	2566	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAA	0	7801	7816	ekkkdddddddkkee	568
601234	2567	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGA	0	7802	7817	ekkkdddddddkkee	569
601300	2567	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGA	9	7802	7817	ekkkdddddddkkee	569
601235	2568	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAG	3	7803	7818	ekkkdddddddkkee	570
601301	2568	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAG	14	7803	7818	ekkkdddddddkkee	570
601236	2569	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkdddddddkkee	571
601302	2569	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATA	0	7804	7819	ekkkdddddddkkee	571
601237	2570	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkdddddddkkee	572
601303	2570	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTAT	16	7805	7820	ekkkdddddddkkee	572
601238	2571	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTA	11	7806	7821	ekkkdddddddkkee	573
601304	2571	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTA	10	7806	7821	ekkkdddddddkkee	573
601239	2572	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTT	21	7807	7822	ekkkdddddddkkee	574
601305	2572	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTT	7	7807	7822	ekkkdddddddkkee	574
601240	2573	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCT	6	7808	7823	ekkkdddddddkkee	575
601241	2574	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCC	10	7809	7824	ekkkdddddddkkee	576
601242	2575	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCC	19	7810	7825	ekkkdddddddkkee	577
601243	2576	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACC	10	7811	7826	ekkkdddddddkkee	578
601244	2577	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAAC	28	7812	7827	ekkkdddddddkkee	579
601245	2578	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAA	5	7813	7828	ekkkdddddddkkee	580
601246	2579	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAA	18	7814	7829	ekkkdddddddkkee	581
601247	2580	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGA	4	7815	7830	ekkkdddddddkkee	582
601248	2581	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGG	6	7816	7831	ekkkdddddddkkee	583
601249	2582	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAG	18	7817	7832	ekkkdddddddkkee	584
601250	2583	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCAGCA	26	7818	7833	ekkkdddddddkkee	585
601251	2584	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCCAGC	27	7819	7834	ekkkdddddddkkee	586
601252	2585	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCCAG	21	7820	7835	ekkkdddddddkkee	587
601253	2586	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGTCCA	0	7821	7836	ekkkdddddddkkee	588
601254	2587	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGTCC	31	7822	7837	ekkkdddddddkkee	589
601255	2588	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCTGTCC	3	7823	7838	ekkkdddddddkkee	590
601256	2589	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGT	21	7824	7839	ekkkdddddddkkee	591
601257	2590	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTG	47	7825	7840	ekkkdddddddkkee	592
601258	2591	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCT	48	7826	7841	ekkkdddddddkkee	593
601259	2592	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCC	38	7827	7842	ekkkdddddddkkee	594
601260	2593	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCC	33	7828	7843	ekkkdddddddkkee	595
601261	2594	2609	Екзон 18	AATTCATCCCACGCC	17	7829	7844	ekkkdddddddkkee	596
601262	2595	2610	Екзон 18	TAATTCATCCCACGC	40	7830	7845	ekkkdddddddkkee	597
601263	2596	2611	Екзон 18	TTAATTCATCCCACG	31	7831	7846	ekkkdddddddkkee	598
601264	2597	2612	Екзон 18	TTTAATTCATCCCAC	72	7832	7847	ekkkdddddddkkee	599
601265	2598	2613	Екзон 18	TTTTAATTCATCCCA	48	7833	7848	ekkkdddddddkkee	600
601266	2599	2614	Екзон 18	GTTTAAATTCATCCC	64	7834	7849	ekkkdddddddkkee	601
601267	2600	2615	Екзон 18	TGTTTAAATTCATCC	43	7835	7850	ekkkdddddddkkee	602
601268	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTAAATTCATC	44	7836	7851	ekkkdddddddkkee	603
601269	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTAAATTCAT	66	7837	7852	ekkkdddddddkkee	604
601270	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAAATTC	47	7838	7853	ekkkdddddddkkee	605

Таблиця 143

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAAT TCA	3	7839	7858	eeeeedddddddde eeee	317
601271	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCA	26	7839	7854	ekkkdddddddkkee	606
601272	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC	33	7840	7855	ekkkdddddddkkee	607
601273	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATT	34	7841	7856	ekkkdddddddkkee	608
601274	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAAT	39	7842	7857	ekkkdddddddkkee	609
588860	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	72	7843	7858	eekdddddddddkke	610
601275	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAA	65	7843	7858	ekkkdddddddkkee	610
601276	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTA	65	7844	7859	ekkkdddddddkkee	611
601277	2610	2625	Екзон 18	TTGTGCAGCTGTTTT	51	7845	7860	ekkkdddddddkkee	612
601278	2611	2626	Екзон 18	GTTGTGCAGCTGTTT	78	7846	7861	ekkkdddddddkkee	613
601279	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTGCAGCTGTT	79	7847	7862	ekkkdddddddkkee	614
601280	2613	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTGCAGCTGT	70	н.д.	н.д.	ekkkdddddddkkee	615
601281	2614	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTGCAGCTG	78	н.д.	н.д.	ekkkdddddddkkee	616
601282	2615	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTGCAGCT	68	н.д.	н.д.	ekkkdddddddkkee	617
601283	2616	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTGTGCAGC	61	н.д.	н.д.	ekkkdddddddkkee	618

Таблиця 144

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
601306	2573	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCC T	22	7808	7823	ekkkdddddddkkee	575
601307	2574	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCC C	22	7809	7824	ekkkdddddddkkee	576
601308	2575	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACC C	33	7810	7825	ekkkdddddddkkee	577
601309	2576	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAAC C	33	7811	7826	ekkkdddddddkkee	578
601310	2577	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAA C	28	7812	7827	ekkkdddddddkkee	579
601311	2578	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAA A	33	7813	7828	ekkkdddddddkkee	580
601312	2579	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGA A	13	7814	7829	ekkkdddddddkkee	581
601313	2580	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGG A	32	7815	7830	ekkkdddddddkkee	582
601314	2581	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAG G	0	7816	7831	ekkkdddddddkkee	583
601315	2582	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCA G	36	7817	7832	ekkkdddddddkkee	584
601316	2583	2598	Екзон 18	ACGCCCTGTCCAGC A	39	7818	7833	ekkkdddddddkkee	585

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	Мотив	SEQ ID NO:
601317	2584	2599	Екзон 18	CACGCCCCCTGTCCAGC	33	7819	7834	ekkdddddddkkeee	586
601356	2584	2599	Екзон 18	CACGCCCCCTGTCCAGC	27	7819	7834	kkkdddddddkkeee	586
601318	2585	2600	Екзон 18	CCACGCCCCCTGTCCAG	35	7820	7835	ekkdddddddkkeee	587
601357	2585	2600	Екзон 18	CCACGCCCCCTGTCCAG	26	7820	7835	kkkdddddddkkeee	587
601319	2586	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCCTGTCCA	33	7821	7836	ekkdddddddkkeee	588
601358	2586	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCCTGTCCA	26	7821	7836	kkkdddddddkkeee	588
601320	2587	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCCTGTCC	25	7822	7837	ekkdddddddkkeee	589
601359	2587	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCCTGTCC	23	7822	7837	kkkdddddddkkeee	589
601321	2588	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCCTGTCC	50	7823	7838	ekkdddddddkkeee	590
601360	2588	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCCTGTCC	33	7823	7838	kkkdddddddkkeee	590
601322	2589	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCCTGTCC	52	7824	7839	ekkdddddddkkeee	591
601361	2589	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCCTGTCC	48	7824	7839	kkkdddddddkkeee	591
601323	2590	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCCTGT	67	7825	7840	ekkdddddddkkeee	592
601362	2590	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCCTGT	51	7825	7840	kkkdddddddkkeee	592
601324	2591	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCCTGT	42	7826	7841	ekkdddddddkkeee	593
601363	2591	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCCTGT	42	7826	7841	kkkdddddddkkeee	593
601325	2592	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCCT	52	7827	7842	ekkdddddddkkeee	594
601364	2592	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCCT	48	7827	7842	kkkdddddddkkeee	594
601326	2593	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCCCT	27	7828	7843	ekkdddddddkkeee	595
601365	2593	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCCCT	36	7828	7843	kkkdddddddkkeee	595
601327	2594	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCCCT	66	7829	7844	ekkdddddddkkeee	596
601366	2594	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCCCT	49	7829	7844	kkkdddddddkkeee	596
601328	2595	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCCCT	55	7830	7845	ekkdddddddkkeee	597
601367	2595	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCCCT	57	7830	7845	kkkdddddddkkeee	597
601329	2596	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCCCCT	69	7831	7846	ekkdddddddkkeee	598
601368	2596	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCCCCT	68	7831	7846	kkkdddddddkkeee	598
601330	2597	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCCCCCT	58	7832	7847	ekkdddddddkkeee	599
601369	2597	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCCCCCT	65	7832	7847	kkkdddddddkkeee	599

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	Мотив	SEQ ID NO:
			18						
601331	2598	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCA	45	7833	7848	ekkdddddddkkeee	600
601370	2598	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCA	42	7833	7848	kkkdddddddkkeee	600
601332	2599	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCC	84	7834	7849	ekkdddddddkkeee	601
601371	2599	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCC	79	7834	7849	kkkdddddddkkeee	601
601333	2600	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCC	61	7835	7850	ekkdddddddkkeee	602
601372	2600	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCC	71	7835	7850	kkkdddddddkkeee	602
601334	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTAATTCAATC	61	7836	7851	ekkdddddddkkeee	603
601373	2601	2616	Екзон 18	CTGTTTAATTCAATC	57	7836	7851	kkkdddddddkkeee	603
601335	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTAATTCAAT	73	7837	7852	ekkdddddddkkeee	604
601374	2602	2617	Екзон 18	GCTGTTTAATTCAAT	66	7837	7852	kkkdddddddkkeee	604
601336	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAATTCAA	64	7838	7853	ekkdddddddkkeee	605
601375	2603	2618	Екзон 18	AGCTGTTTAATTCAA	61	7838	7853	kkkdddddddkkeee	605
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA TTCA	66	7839	7858	eeeeedddddddde eeee	317
601337	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTAATTCA	53	7839	7854	ekkdddddddkkeee	606
601376	2604	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTAATTCA	39	7839	7854	kkkdddddddkkeee	606
601338	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTAATTC	67	7840	7855	ekkdddddddkkeee	607
601377	2605	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTAATTC	67	7840	7855	kkkdddddddkkeee	607
601339	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTAATT	63	7841	7856	ekkdddddddkkeee	608
601378	2606	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTAATT	60	7841	7856	kkkdddddddkkeee	608
601340	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAT	40	7842	7857	ekkdddddddkkeee	609
601379	2607	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAT	36	7842	7857	kkkdddddddkkeee	609
588860	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA	84	7843	7858	eeekdddddddkke	610
601341	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA	74	7843	7858	ekkdddddddkkeee	610
601380	2608	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAA	78	7843	7858	kkkdddddddkkeee	610
601342	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	68	7844	7859	ekkdddddddkkeee	611
601381	2609	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAA	66	7844	7859	kkkdddddddkkeee	611
601343	2610	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTT	71	7845	7860	ekkdddddddkkeee	612

Таблиця 144

Інгібування мРНК CFB дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
601382	2610	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTT	84	7845	7860	kkkdddddddkkeee	612
601344	2611	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	87	7846	7861	ekkdddddddkkeee	613
601383	2611	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTT	85	7846	7861	kkkdddddddkkeee	613
601345	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	82	7847	7862	ekkdddddddkkeee	614
601384	2612	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTT	79	7847	7862	kkkdddddddkkeee	614
601346	2613	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGT	73	н.д.	н.д.	ekkdddddddkkeee	615
601385	2613	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGT	84	н.д.	н.д.	kkkdddddddkkeee	615
601347	2614	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTG	70	н.д.	н.д.	ekkdddddddkkeee	616
601386	2614	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTG	71	н.д.	н.д.	kkkdddddddkkeee	616
601348	2615	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCT	71	н.д.	н.д.	ekkdddddddkkeee	617
601387	2615	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCT	76	н.д.	н.д.	kkkdddddddkkeee	617
601349	2616	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGC	71	н.д.	н.д.	ekkdddddddkkeee	618
601388	2616	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGC	67	н.д.	н.д.	kkkdddddddkkeee	618

Таблиця 145

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599357	2582	2600	Екзон 18	CCACGCCCCCTGTCCAGCAG	26	7817	7835	5-9-5	708
599358	2583	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCCTGTCCAGCA	22	7818	7836	5-9-5	709
599359	2584	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCCTGTCCAGC	13	7819	7837	5-9-5	710
599360	2585	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCCTGTCCAG	7	7820	7838	5-9-5	711
599361	2586	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCCTGTCCA	11	7821	7839	5-9-5	712
599362	2587	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCCCTGTCC	14	7822	7840	5-9-5	713
599363	2588	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCCCTGTC	17	7823	7841	5-9-5	714
599364	2589	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCCCTGT	20	7824	7842	5-9-5	715
599365	2590	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCCCTG	22	7825	7843	5-9-5	716
599366	2591	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCCCT	13	7826	7844	5-9-5	717

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599367	2592	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCC	11	7827	7845	5-9-5	718
599368	2593	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCC	10	7828	7846	5-9-5	719
599369	2594	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	19	7829	7847	5-9-5	720
599370	2595	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGC	23	7830	7848	5-9-5	721
599371	2596	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAATCCCACG	4	7831	7849	5-9-5	722
599372	2597	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAATCCCAC	16	7832	7850	5-9-5	723
599373	2598	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCAATCCCA	3	7833	7851	5-9-5	724
599374	2599	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTCAATCCC	10	7834	7852	5-9-5	725
599375	2600	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTCAATCC	17	7835	7853	5-9-5	726
599376	2601	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTCAATC	18	7836	7854	5-9-5	727
599377	2602	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTCAAT	22	7837	7855	5-9-5	728
599378	2603	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTCAA	11	7838	7856	5-9-5	729
599511	2552	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCTCA	7	7787	7806	6-8-6	410
599389	2553	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCTC	22	7788	7807	6-8-6	411
599390	2554	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATCCT	21	7789	7808	6-8-6	412
599391	2555	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATCC	27	7790	7809	6-8-6	413
599392	2556	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAATC	30	7791	7810	6-8-6	414
599393	2557	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAAAT	30	7792	7811	6-8-6	415
599394	2558	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAAA	28	7793	7812	6-8-6	416
599395	2559	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	23	7794	7813	6-8-6	417
599396	2560	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCCA	53	7795	7814	6-8-6	418
599397	2561	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATAGAAAACCC	33	7796	7815	6-8-6	419
599398	2562	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTATAGAAAACC	58	7797	7816	6-8-6	420
599399	2563	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTATAGAAAAC	23	7798	7817	6-8-6	421
599400	2564	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTTATAGAAAA	54	7799	7818	6-8-6	422
599401	2565	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCTTATAGAAA	30	7800	7819	6-8-6	423
599402	2566	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCTTATAGAA	25	7801	7820	6-8-6	424
599403	2567	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCCCTTATAGA	17	7802	7821	6-8-6	425
599404	2568	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCCCTTATAG	20	7803	7822	6-8-6	426
599405	2569	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACCCCTTATA	12	7804	7823	6-8-6	427
599406	2570	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAACCCCTTAT	51	7805	7824	6-8-6	428
599407	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAACCCCTTA	39	7806	7825	6-8-6	237
599408	2572	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAACCCCTT	53	7807	7826	6-8-6	429
599409	2573	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGAAACCCCT	65	7808	7827	6-8-6	430
599410	2574	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGGAAACCC C	56	7809	7828	6-8-6	431
599411	2575	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAGGAAACC C	60	7810	7829	6-8-6	432
599412	2576	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCAGGAAAC C	61	7811	7830	6-8-6	433
599413	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAGCAGGAAA C	40	7812	7831	6-8-6	238
599414	2578	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAGCAGGAA A	41	7813	7832	6-8-6	434
599415	2579	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCAGCAGGA A	37	7814	7833	6-8-6	435
599416	2580	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCCAGCAGG A	54	7815	7834	6-8-6	436
599417	2581	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTCCAGCAG G	36	7816	7835	6-8-6	437
599418	2582	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGTCCAGCA G	53	7817	7836	6-8-6	438
599419	2583	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGTCCAGCA	54	7818	7837	6-8-6	439
599420	2584	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCTGTCCAGC	50	7819	7838	6-8-6	440

Таблиця 145

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599421	2585	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCTGTCCAG	48	7820	7839	6-8-6	441
599422	2586	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCCTGTCCA	55	7821	7840	6-8-6	442
599423	2587	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCCTGTCC	75	7822	7841	6-8-6	443
599424	2588	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCCCTGTG	69	7823	7842	6-8-6	444
599425	2589	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGCCCTGT	77	7824	7843	6-8-6	445
599426	2590	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACGCCCTG	60	7825	7844	6-8-6	446
599427	2591	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCACGCCCT	72	7826	7845	6-8-6	447
599428	2592	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCCACGCCCC	81	7827	7846	6-8-6	448
599429	2593	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCCCACGCC	68	7828	7847	6-8-6	449
599430	2594	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATCCCACGCC	58	7829	7848	6-8-6	450
599431	2595	2614	Екзон 18	GTTTAAATTCAATCCCACGC	70	7830	7849	6-8-6	451
599432	2596	2615	Екзон 18	TGTTTAAATTCAATCCCACG	85	7831	7850	6-8-6	452
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTCA	85	7839	7858	5-10-5	317
599379	2604	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTAAATTCA	73	7839	7857	5-9-5	730
599380	2605	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTAAATTC	77	7840	7858	5-9-5	731
599381	2606	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAAATT	69	7841	7859	5-9-5	732
599382	2607	2625	Екзон 18	TTGTCGCAGCTGTTTAAAT	58	7842	7860	5-9-5	733
599383	2608	2626	Екзон 18	GTTGTCGCAGCTGTTTAA	52	7843	7861	5-9-5	734
599384	2609	2627	Екзон 18	TGTTGTCGCAGCTGTTTAA	63	7844	7862	5-9-5	735
599385	2610	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTTT	53	н.д.	н.д.	5-9-5	736
599386	2611	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTGTCGCAGCTGTTTT	63	н.д.	н.д.	5-9-5	737
599387	2612	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTGTT	64	н.д.	н.д.	5-9-5	438
599388	2613	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTTGTCGCAGCTGT	66	н.д.	н.д.	5-9-5	739

Таблиця 146

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599213	2553	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTC	0	7788	7805	3-10-5	785
599214	2554	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCT	0	7789	7806	3-10-5	786
599215	2555	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCC	36	7790	7807	3-10-5	787
599216	2556	2573	Екзон 18	TTATAGAAAACCCAAATC	8	7791	7808	3-10-5	788
599217	2557	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAAT	5	7792	7809	3-10-5	789
599218	2558	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	0	7793	7810	3-10-5	790
599219	2559	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	8	7794	7811	3-10-5	791
599220	2560	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	0	7795	7812	3-10-5	740
599221	2561	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCC	54	7796	7813	3-10-5	741

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599222	2562	2579	Екзон 18	AACCCCTTAGAA AACC	3	7797	7814	3-10-5	742
599223	2563	2580	Екзон 18	AAACCCCTTAGA AAAC	0	7798	7815	3-10-5	743
599224	2564	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTAG AAAA	0	7799	7816	3-10-5	744
599225	2566	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTT AGAA	60	7801	7818	3-10-5	745
599226	2567	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCT TAGA	0	7802	7819	3-10-5	746
599227	2568	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCCT ATAG	37	7803	7820	3-10-5	747
599228	2569	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCC TTATA	0	7804	7821	3-10-5	748
599229	2570	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACCC CTTAT	39	7805	7822	3-10-5	749
599230	2571	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAACC CCTTA	10	7806	7823	3-10-5	750
599231	2572	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAAC CCCTT	16	7807	7824	3-10-5	751
599232	2573	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAAA CCCCT	9	7808	7825	3-10-5	752
599233	2574	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGAAA CCCC	44	7809	7826	3-10-5	753
599234	2575	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGGA AACCC	14	7810	7827	3-10-5	754
599235	2576	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAGG AAACC	0	7811	7828	3-10-5	755
599236	2577	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCAG GAAAC	43	7812	7829	3-10-5	756
599237	2578	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGCA GAAA	0	7813	7830	3-10-5	757
599238	2580	2597	Екзон 18	CGCCCCTGTCCAG CAGGA	9	7815	7832	3-10-5	758
599239	2581	2598	Екзон 18	ACGCCCCTGTCCA GCAGG	36	7816	7833	3-10-5	759
599240	2582	2599	Екзон 18	CACGCCCCTGTCC AGCAG	11	7817	7834	3-10-5	760
599241	2583	2600	Екзон 18	CCACGCCCCTGTC CAGCA	51	7818	7835	3-10-5	761
599242	2584	2601	Екзон 18	CCCACGCCCCTGT CCAGC	7	7819	7836	3-10-5	762
599243	2585	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCCTGT CCAG	47	7820	7837	3-10-5	763
599244	2586	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCCT GTCCA	37	7821	7838	3-10-5	764
599245	2587	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCCT GTCC	35	7822	7839	3-10-5	765
599246	2588	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCCC CTGTC	21	7823	7840	3-10-5	766
599247	2589	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGCCC CTGT	61	7824	7841	3-10-5	767
599248	2590	2607	Екзон 18	TTCAATCCCACGCC CCTG	51	7825	7842	3-10-5	768
599249	2591	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCACGC CCCT	58	7826	7843	3-10-5	769
599250	2592	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCACG	49	7827	7844	3-10-5	770

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
				CCCC					
599251	2593	2610	Екзон 18	TAATTC AATCCCCACGCC	46	7828	7845	3-10-5	771
599252	2594	2611	Екзон 18	TTAATTC AATCCCCACGCC	32	7829	7846	3-10-5	772
599253	2595	2612	Екзон 18	TTTAATTC AATCCCCACGC	23	7830	7847	3-10-5	773
599254	2596	2613	Екзон 18	TTTTAATTC AATCCCCACG	0	7831	7848	3-10-5	774
599255	2597	2614	Екзон 18	GTTTTAATTC AATCCAC	61	7832	7849	3-10-5	775
599256	2598	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTC AATCCCA	64	7833	7850	3-10-5	776
599257	2599	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTC AATCCC	66	7834	7851	3-10-5	777
599258	2600	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTC AATCC	59	7835	7852	3-10-5	778
599259	2601	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATTC AATC	40	7836	7853	3-10-5	779
599260	2602	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAATTC AAT	38	7837	7854	3-10-5	780
599261	2603	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTAATTC AA	54	7838	7855	3-10-5	781
599509	2552	2570	Екзон 18	TAGAAAACCCAAATCCTCA	54	7787	7805	6-7-6	681
599273	2553	2571	Екзон 18	ATAGAAAACCCAAATCCTC	0	7788	7806	6-7-6	682
599274	2554	2572	Екзон 18	TATAGAAAACCCAAATCCT	57	7789	7807	6-7-6	683
599275	2556	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAACCCAAATC	0	7791	7809	6-7-6	684
599276	2557	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAACCCAAAT	44	7792	7810	6-7-6	685
599277	2558	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAAACCCAA	0	7793	7811	6-7-6	686
599278	2559	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAAAACCCAA	0	7794	7812	6-7-6	687
599279	2560	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGAAAACCCAA	20	7795	7813	6-7-6	688
599280	2561	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAGAAAACCC	70	7796	7814	6-7-6	689
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATTC A	85	7839	7858	5-10-5	317
599262	2604	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTTAATTC A	49	7839	7856	3-10-5	782
599263	2605	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTTTAATTC	49	7840	7857	3-10-5	783
599264	2606	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTTTTAATT	62	7841	7858	3-10-5	784
599265	2607	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTTAAT	63	7842	7859	3-10-5	792
599266	2608	2625	Екзон 18	TTGTGCAGCTGTTTTAA	41	7843	7860	3-10-5	793
599267	2609	2626	Екзон 18	GTTGTGCAGCTGTTTTAA	52	7844	7861	3-10-5	794
599268	2610	2627	Екзон 18	TGTTGTGCAGCTGTTTT	51	7845	7862	3-10-5	795

Таблиця 146

Інгібування мРНК CFB МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	Мотив	SEQ ID NO:
599269	2611	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	58	н.д.	н.д.	3-10-5	796
599270	2612	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTCGCAGCTGTT	69	н.д.	н.д.	3-10-5	797
599271	2613	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	69	н.д.	н.д.	3-10-5	798
599272	2614	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTGTCGCAGCTG	72	н.д.	н.д.	3-10-5	799
599205	2607	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGTTTAAAT	54	7842	7859	5-8-5	792
599206	2608	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTGTTTAA	62	7843	7860	5-8-5	793
599207	2609	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCTGTTTAA	62	7844	7861	5-8-5	794
599208	2610	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGCTGTTTT	66	7845	7862	5-8-5	795
599209	2611	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTCGCAGCTGTTT	60	н.д.	н.д.	5-8-5	796
599210	2612	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTGTCGCAGCTGTTT	62	н.д.	н.д.	5-8-5	797
599211	2613	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTCGCAGCTGT	65	н.д.	н.д.	5-8-5	798
599212	2614	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTTGTGTCGCAGCTG	67	н.д.	н.д.	5-8-5	799

Таблиця 147

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
588570	150	169	Екзон 1	TGGTCACATTCCCTTCCCCT	72	1871	1890	396
588571	152	171	Екзон 1	CCTGGTCACATTCCCTCCC	80	1873	1892	397
532614	154	173	Екзон 1	GACCTGGTCACATTCCCTTC	65	1875	1894	12
588572	156	175	Екзон 1	TAGACCTGGTCACATTCCCT	74	1877	1896	398
588573	158	177	Екзон 1	CCTAGACCTGGTCACATTCC	72	1879	1898	399
588566	2189	2208	Екзон 15	CCTCCGAGTCACTTTTTT	66	6977	6996	400
588567	2191	2210	Екзон 15	CTCCTTCCGAGTCACTTTTT	66	6979	6998	401
532770	2193	2212	Екзон 15	ACCTCCTTCCGAGTCACTTT	64	6981	7000	198
588568	2195	2214	Екзон 15	AGACCTCCTTCCGAGTCAGC	78	6983	7002	402
588569	2197	2216	Екзон 15	GTAGACCTCCTTCCGAGTCA	74	6985	7004	403
588574	2453	2472	Екзон 18	TTTGCCGCTTCTGGTTTTTG	71	7688	7707	404
588575	2455	2474	Екзон 18	CTTTTGCCGCTT	72	7690	7709	405

Таблиця 147

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область- мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				CTGGTTTT				
532800	2457	2476	Екзон 18	TGCTTTTGCCGC TTCTGGTT	71	7692	7711	228
588576	2459	2478	Екзон 18	CCTGCTTTTGCC GCTTCTGG	59	7694	7713	406
588577	2461	2480	Екзон 18	TACCTGCTTTTG CCGCTTCT	76	7696	7715	407
516350	2550	2569	Екзон 18	AGAAAAACCCAAA TCCTCATC	58	7785	7804	408
588509	2551	2570	Екзон 18	TAGAAAAACCCAA ATCCTCAT	6	7786	7805	409
588510	2552	2571	Екзон 18	ATAGAAAAACCCA AATCCTCA	10	7787	7806	410
588511	2553	2572	Екзон 18	TATAGAAAAACCC AAATCCTC	9	7788	7807	411
588512	2554	2573	Екзон 18	TTATAGAAAAACC CAAATCCT	80	7789	7808	412
588513	2555	2574	Екзон 18	CTTATAGAAAAAC CCAAATCC	70	7790	7809	413
588514	2556	2575	Екзон 18	CCTTATAGAAAA CCCAAATC	71	7791	7810	414
588515	2557	2576	Екзон 18	CCCTTATAGAAA ACCCAAAT	78	7792	7811	415
588516	2558	2577	Екзон 18	CCCCTTATAGAA AACCCAAA	72	7793	7812	416
588517	2559	2578	Екзон 18	ACCCCTTATAGA AAACCCAA	80	7794	7813	417
588518	2560	2579	Екзон 18	AACCCCTTATAG AAAACCCA	80	7795	7814	418
588519	2561	2580	Екзон 18	AAACCCCTTATA GAAAACCC	62	7796	7815	419
588520	2562	2581	Екзон 18	GAAACCCCTTAT AGAAAACC	59	7797	7816	420
588521	2563	2582	Екзон 18	GGAAACCCCTTA TAGAAAAC	40	7798	7817	421
588522	2564	2583	Екзон 18	AGGAAACCCCTT ATAGAAAA	66	7799	7818	422
588523	2565	2584	Екзон 18	CAGGAAACCCCT TATAGAAA	63	7800	7819	423
588524	2566	2585	Екзон 18	GCAGGAAACCCC TTATAGAA	70	7801	7820	424
588525	2567	2586	Екзон 18	AGCAGGAAACCC CTTATAGA	67	7802	7821	425
588526	2568	2587	Екзон 18	CAGCAGGAAACC CCTTATAG	0	7803	7822	426
588527	2569	2588	Екзон 18	CCAGCAGGAAAC CCCTTATA	11	7804	7823	427
588528	2570	2589	Екзон 18	TCCAGCAGGAAA CCCCTTAT	15	7805	7824	428
532809	2571	2590	Екзон 18	GTCCAGCAGGAA ACCCCTTA	75	7806	7825	237
588529	2572	2591	Екзон 18	TGTCCAGCAGGA AACCCCTT	16	7807	7826	429
588530	2573	2592	Екзон 18	CTGTCCAGCAGG AAACCCCT	16	7808	7827	430
588531	2574	2593	Екзон 18	CCTGTCCAGCAG	19	7809	7828	431

Таблиця 147

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 МОЕ гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область- мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				GAAACCCC				
588532	2575	2594	Екзон 18	CCCTGTCCAGCA GGAAACCC	15	7810	7829	432
588533	2576	2595	Екзон 18	CCCCTGTCCAGC AGGAAACC	29	7811	7830	433
532810	2577	2596	Екзон 18	GCCCCTGTCCAG CAGGAAAC	74	7812	7831	238
588534	2578	2597	Екзон 18	CGCCCCCTGTCCA GCAGGAAA	21	7813	7832	434
588535	2579	2598	Екзон 18	ACGCCCCCTGTCC AGCAGGAA	16	7814	7833	435
588536	2580	2599	Екзон 18	CACGCCCTGTCTC CAGCAGGA	0	7815	7834	436
588537	2581	2600	Екзон 18	CCACGCCCTGTCT CAGCAGG	8	7816	7835	437
588538	2582	2601	Екзон 18	CCCACGCCCTGT TCCAGCAG	10	7817	7836	438
588539	2583	2602	Екзон 18	TCCCACGCCCTGT TCCAGCA	23	7818	7837	439
588540	2584	2603	Екзон 18	ATCCCACGCCCC TGTCCAGC	16	7819	7838	440
588541	2585	2604	Екзон 18	AATCCCACGCCCC CTGTCCAG	16	7820	7839	441
588542	2586	2605	Екзон 18	CAATCCCACGCC CCTGTCCA	12	7821	7840	442
588543	2587	2606	Екзон 18	TCAATCCCACGC CCCTGTCC	26	7822	7841	443
588544	2588	2607	Екзон 18	TTCATCCCACG CCCCTGTC	26	7823	7842	444
588545	2589	2608	Екзон 18	ATTCAATCCCAC GCCCTGT	31	7824	7843	445
588546	2590	2609	Екзон 18	AATTCAATCCCA CGCCCCCTG	22	7825	7844	446
588547	2591	2610	Екзон 18	TAATTCAATCCCA CGCCCCCT	12	7826	7845	447
588548	2592	2611	Екзон 18	TTAATTCAATCCC ACGCCCC	20	7827	7846	448
588549	2593	2612	Екзон 18	TTTAATTCAATCC CACGCC	26	7828	7847	449
588550	2594	2613	Екзон 18	TTTTAATTCAATC CCACGCC	32	7829	7848	450
588551	2595	2614	Екзон 18	GTTTTAATTCAAT CCCACGC	48	7830	7849	451
588552	2596	2615	Екзон 18	TGTTTTAATTCAA TCCCACG	57	7831	7850	452
588553	2597	2616	Екзон 18	CTGTTTTAATTCA ATCCCAC	49	7832	7851	453
588554	2598	2617	Екзон 18	GCTGTTTTAATTC AATCCCA	64	7833	7852	454
532811	2599	2618	Екзон 18	AGCTGTTTTAATT CAATCCC	78	7834	7853	239
588555	2600	2619	Екзон 18	CAGCTGTTTTAAT TCAATCC	48	7835	7854	455
588556	2601	2620	Екзон 18	GCAGCTGTTTTA ATTCAATC	55	7836	7855	456
588557	2602	2621	Екзон 18	CGCAGCTGTTTT	51	7837	7856	457

Таблиця 147

Інгібування мРНК CFB 5-10-5 MOE гепмерами, спрямованими на SEQ ID NO: 1 або SEQ ID NO: 2

ISIS №	SEQ ID NO: 1 сайт ініціації	SEQ ID NO: 1 сайт термінації	Область-мішень	Послідовність	% інгібування	SEQ ID NO: 2 сайт ініціації	SEQ ID NO: 2 сайт термінації	SEQ ID NO:
				AATTCAAT				
588558	2603	2622	Екзон 18	TCGCAGCTGTTT TAATTCAA	51	7838	7857	458
532917	2604	2623	Екзон 18	GTCGCAGCTGTT TTAATTC	82	7839	7858	317
588559	2605	2624	Екзон 18	TGTCGCAGCTGT TTTAATTC	58	7840	7859	459
588560	2606	2625	Екзон 18	TTGTTCGCAGCTG TTTTAATT	72	7841	7860	460
588561	2607	2626	Екзон 18	GTTGTTCGCAGCT GTTTTAAT	75	7842	7861	461
532952	2608	2627	Екзон 18	TGTTGTTCGCAGC TGTTTTAA	39	7843	7862	395
588562	2609	2628	Екзон 18 / повтор	TTGTTGTTCGCAG CTGTTTTA	53	н.д.	н.д.	462
588563	2610	2629	Екзон 18 / повтор	TTTGTTCGCAG GCTGTTTT	62	н.д.	н.д.	463
588564	2611	2630	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTTCGC AGCTGTTT	63	н.д.	н.д.	464
588565	2612	2631	Екзон 18 / повтор	TTTTGTTGTTCGC AGCTGTT	64	н.д.	н.д.	465

Приклад 122: Дозозалежне антисмислове інгібування людського CFB у клітинах HepG2 5-10-5 MOE гепмерами

- Гепмери з досліджень, описаних вище, які демонструють значне *in vitro* інгібування мРНК CFB, були обрані і випробувані в різних дозах в клітинах HepG2. Клітиниз щільністю 20000 клітин на лунку були трансфецирували з використанням електропорації з концентраціями антисмислового олігонуклеотиду, рівними 0,313 мкМ, 0,625 мкМ, 1,25 мкМ, 2,50 мкМ, 5,00 мкМ або 10,00 мкМ, як зазначено в наведеній нижче таблиці. Після періоду обробки і протягом 16 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР у реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

- Вказана також полумаксимальна інгібуюча концентрація (IC_{50}) кожного олігонуклеотиду. Обробка антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК CFB у клітинах дозозалежним чином.

Таблиця 148

ISIS №	0,313 мкМ	0,625 мкМ	1,25 мкМ	2,50 мкМ	5,00 мкМ	10,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532614	7	13	43	72	65	71	2,2
532635	12	0	3	28	0	0	>10
532692	26	0	12	52	55	74	3,7
532770	21	18	32	73	64	88	1,8
532775	8	0	26	35	47	59	6,2
532800	0	5	30	65	50	75	3,1
532809	12	30	28	40	46	66	4,6
532810	28	44	32	69	84	95	1,2
532811	66	83	90	94	97	99	<0,3
532917	64	85	88	96	97	99	<0,3
532952	50	53	68	80	91	94	0,4

Приклад 123: Дозозалежне антисмислове інгібування людського CFB у клітинах НерG2

Гепмери з досліджень, описаних вище, які демонструють значне *in vitro* інгібування мРНК CFB, були обрані і випробувані в різних дозах в клітинах НерG2. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів з аналогічними умовами культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Клітини були висіяні з щільністю 20000 клітин на лунку і трансфектовані з використанням електропорації з концентраціями антисмислового олігонуклеотиду, рівними 0,08 мкМ, 0,25 мкМ, 0,74 мкМ, 2,22 мкМ, 6,67 мкМ і 20,00 мкМ, як зазначено в наведеній нижче таблиці. Після періоду обробки і протягом 16 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР у реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані у відповідності зі змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

Вказана також полумаксимальна інгібуюча концентрація (IC_{50}) кожного олігонуклеотиду. Обробка антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК CFB у клітинах дозозалежним чином.

Таблиця 149

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532811	19	53	81	87	96	97	0,2
588834	7	42	64	92	98	98	0,5
588835	11	30	66	89	97	97	0,5
588836	14	40	61	91	97	97	0,5
588837	6	39	67	89	96	97	0,5
588838	0	27	41	81	87	97	1,0
588842	17	51	68	86	93	95	0,3
588843	21	38	72	90	95	96	0,4
588870	9	31	56	88	95	97	0,6
588871	14	25	47	79	93	97	0,7
588872	18	28	59	84	92	97	0,6

Таблиця 150

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532811	31	70	89	94	97	97	0,1
588844	31	60	77	91	95	96	0,1
588846	32	52	78	89	95	97	0,2
588847	22	52	77	91	95	97	0,2
588848	20	40	73	91	96	98	0,3
588851	40	52	82	94	97	97	0,1
588854	17	55	59	84	94	96	0,4
588855	10	32	56	82	93	96	0,6
588856	13	46	75	90	96	97	0,3
588857	11	52	73	94	96	97	0,3
588858	19	48	75	94	97	98	0,3

Таблиця 151

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532811	42	66	88	96	97	98	0,1
588859	18	46	66	90	96	97	0,4
588860	55	80	94	97	97	97	<0,1
588861	24	61	86	93	96	97	0,2
588862	25	64	85	94	96	98	0,1
588863	50	73	89	96	96	98	<0,1
588864	52	80	92	96	98	98	<0,1
588865	46	72	91	96	96	99	<0,1
588866	47	76	88	96	97	98	<0,1

Таблиця 151

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
588867	43	69	83	92	96	99	0,1
588868	43	56	65	84	93	97	0,1

Таблиця 152

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532810	0	14	38	72	89	96	1,2
532811	18	54	79	93	96	97	0,3
532952	19	34	73	87	94	96	0,4
588534	17	13	44	77	93	97	0,9
588544	12	43	69	86	89	93	0,4
588545	17	55	67	86	91	93	0,3
588546	10	32	67	85	91	93	0,6
588552	27	54	76	90	94	97	0,2
588553	32	68	87	93	95	97	0,1
588560	16	54	76	90	94	96	0,3
588561	18	45	68	85	93	96	0,4

Таблиця 153

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532811	22	60	82	94	97	98	0,2
588536	2	38	65	90	96	97	0,6
588537	12	38	63	87	94	97	0,5
588547	19	35	61	86	93	97	0,5
588548	19	36	75	88	95	96	0,4
588554	0	76	92	95	97	97	<0,1
588555	31	61	89	96	97	98	0,1
588556	33	56	82	95	94	97	0,1
588562	12	39	71	87	94	97	0,4
588563	25	48	72	86	94	96	0,3
588564	15	33	63	89	91	97	0,5

Таблиця 154

ISIS №	0,08 мкМ	0,25 мкМ	0,74 мкМ	2,22 мкМ	6,67 мкМ	20,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532811	39	68	86	96	98	98	0,1
588538	0	40	82	94	97	98	0,3
588539	34	65	88	95	98	98	0,1
588540	30	51	81	91	97	98	0,2
588549	31	57	82	95	96	98	0,1
588550	34	65	88	96	98	98	0,1
588551	47	66	87	96	98	99	<0,1
588557	40	84	95	98	98	98	<0,1
588558	45	73	93	97	98	99	<0,1
588559	51	69	83	96	98	99	<0,1
588565	19	56	81	92	96	98	0,2

5 Приклад 124: Дозозалежне антисмислове інгібування людського CFB у клітинах НерG2

Гепмери з досліджень, описаних вище, які демонструють значне *in vitro* інгібування мРНК CFB, були обрані і випробувані в різних дозах в клітинах НерG2. Антисмислові олігонуклеотиди були протестовані в серії експериментів з аналогічними умовами культивування. Результати для кожного експерименту представлені в окремих таблицях, показаних нижче. Клітини були висіяні з щільністю 20000 клітин на лунку і трансфековані з використанням електропорації з концентраціями антисмислового олігонуклеотиду, івними 0,06 мкМ, 0,25 мкМ, 1,00мкМ та 4,00 мкМ, як зазначено в наведеній нижче таблиці. Після періоду обробки і протягом 16 годин, РНК

10

виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР у реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

Вказана також полумаксимальна інгібуюча концентрація (IC_{50}) кожного олігонуклеотиду. Обробка антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК CFB у клітинах дозозалежним чином.

Таблиця 155

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532917	31	58	87	92	0,2
588860	18	50	79	93	0,3
599001	16	28	69	90	0,5
599024	14	32	74	90	0,4
599025	0	31	56	92	0,7
599032	28	44	62	88	0,3
599033	28	46	80	92	0,2
599077	8	20	59	80	0,8
599080	9	33	48	76	0,9
599086	7	22	53	83	0,8
599087	21	31	74	87	0,4
599088	13	37	69	82	0,5
599089	3	36	55	79	0,7
599093	25	59	79	88	0,2
599094	19	29	75	89	0,4
599095	29	43	67	87	0,3
599096	23	51	70	88	0,3
599149	20	53	82	92	0,3
599188	0	21	62	85	0,8

Таблиця 156

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC_{50} (мкМ)
532917	0	42	81	91	0,4
588860	17	49	74	92	0,3
599155	29	52	67	87	0,3
599198	3	25	64	89	0,6
599201	13	26	67	91	0,5
599202	0	44	72	87	0,5
599203	22	41	75	88	0,3
599314	12	34	71	84	0,5
599316	7	37	66	88	0,5
599317	8	1	54	83	1,0
599321	8	33	70	85	0,5
599322	24	38	66	87	0,4
599327	22	32	66	89	0,4
599328	0	31	59	88	0,7
599330	5	43	67	84	0,5
599374	23	42	80	91	0,3
599378	21	57	80	93	0,2
599380	23	56	82	93	0,2
599432	17	37	73	93	0,4

Таблица 157

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532917	23	65	76	93	0,2
588860	17	60	76	90	0,3
601282	48	68	81	88	0,1
601269	18	59	80	94	0,2
601276	34	64	81	91	0,1
601275	14	39	78	90	0,4
601344	52	84	92	94	<0,06
601383	53	81	86	94	<0,06
601382	41	76	88	94	0,1
601385	52	74	89	91	<0,06
601332	41	69	86	94	0,1
601345	36	75	86	95	0,1
601371	34	72	91	93	0,1
601384	50	78	91	95	<0,06
601380	28	57	83	92	0,2
601387	48	61	82	88	0,1
601341	28	65	83	91	0,2
601346	31	69	82	93	0,1
601335	24	56	85	92	0,2

Таблица 158

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532917	31	66	86	93	0,1
588860	28	62	85	94	0,2
599208	24	50	71	89	0,3
599261	31	49	81	94	0,2
599267	41	48	80	88	0,2
599268	28	56	75	92	0,2
599313	14	24	71	92	0,5
599441	24	57	80	87	0,2
599494	13	55	86	94	0,3
599552	30	69	93	95	0,1
599553	34	71	93	96	0,1
599554	30	74	93	96	0,1
599568	40	77	90	97	0,1
599570	61	82	93	96	<0,06
599577	18	62	81	93	0,2
599581	27	60	80	94	0,2
599591	49	74	93	96	<0,06
599592	46	76	90	94	0,1
599593	44	72	91	95	0,1

Таблица 159

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
532917	25	56	84	92	0,2
588860	11	51	80	92	0,3
599547	23	60	82	90	0,2
599569	42	73	85	88	0,1
599578	29	49	82	89	0,2
599582	21	56	78	91	0,2
599590	24	62	80	90	0,2
601209	21	49	85	88	0,3

Таблиця 159

ISIS №	0,06 мкМ	0,25 мкМ	1,00 мкМ	4,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
601210	34	64	86	92	0,1
601212	46	68	88	90	0,1
601213	54	80	90	92	<0,06
601214	38	77	88	95	0,1
601215	42	64	85	92	0,1
601216	45	57	76	89	0,1
601264	29	58	86	95	0,2
601278	51	82	83	93	<0,06
601279	44	80	92	96	0,1
601280	44	73	87	94	0,1
601281	51	80	91	94	<0,06

Приклад 125: Дозозалежне антисмислове інгібування людського CFB у клітинах HepG2

Гепмери з досліджень, описаних вище, які демонструють значне *in vitro* інгібування мРНК CFB, були обрані і випробувані в різних дозах в клітинах HepG2. Додатково був сконструйований дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотид, ISIS 594430, що має таку ж послідовність (CTCCTTCCGAGTCAGC, SEQ ID NO: 549) і область-мішень (цільовий сайт ініціації 2195 в SEQ ID NO: 1 і цільової сайт ініціації 6983 в SED ID NO: 2), як ISIS 588870, інший дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотид. ISIS 594430 являє собою 3-10-3 (S)-cEt гепмер.

Клітини були висіяні з щільністю 20000 клітин на лунку і трансфековані з використанням електропорації з концентраціями антисмислового олігонуклеотиду, рівними 0,01 мкМ, 0,04 мкМ, 0,12 мкМ, 0,37 мкМ, 1,11 мкМ, 3,33 мкМ і 10,00 мкМ, як зазначено в наведеній нижче таблиці. Після періоду обробки і протягом 16 годин, РНК виділяли з клітин і рівні мРНК CFB вимірювали методом кількісної ПЛР у реальному часі. Набір людських праймерів RTS3459 був використаний для вимірювання рівнів мРНК. Рівні мРНК CFB були скоректовані в відповідності з змістом сумарної РНК, виміряних за допомогою RIBOGREEN®. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо необроблених контрольних клітин.

Вказана також полумаксимальна інгібуюча концентрація (IC₅₀) кожного олігонуклеотиду. Обробка антисмисловими олігонуклеотидами знижує рівні мРНК CFB у клітинах дозозалежним чином.

Таблиця 160

ISIS №	0,01 мкМ	0,04 мкМ	0,12 мкМ	0,37 мкМ	1,11 мкМ	3,33 мкМ	10,00 мкМ	IC ₅₀ (мкМ)
588536	0	0	0	5	45	73	94	1,4
588548	0	0	0	19	52	78	90	1,2
588553	0	0	9	42	76	85	94	0,6
588555	0	52	23	58	78	83	95	0,3
588847	4	1	18	45	67	84	96	0,5
588848	0	3	13	38	67	83	95	0,6
594430	0	0	10	34	50	55	84	1,4

Приклад 126: Переносимість MOE гепмерів, спрямованих на людський CFB, у мишей CD1

Миші CD1® (Чарльз Рівер, штат Массачусетс) являють собою багатоцільову мишачу модель, часто використовувану для випробувань безпеки і ефективності. Мишей лікували антисмисловими олігонуклеотидами ISIS, обраними з описаних вище досліджень, і оцінювали зміни рівнів різних хімічних маркерів у плазмі.

Випробування 1 (з 5-10-5 MOE гепмерами)

Групам семитижневих мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг олігонуклеотиду ISIS. Одній групі самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Одній групі мишей один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 (CCTTCCCTGAAGGTTCTCTCC, у цьому документі позначений як SEQ ID NO: 809, 5-10-5 MOE гепмер, не має відомої мишачої мішені). Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

Хімічні маркери в плазмі

- Для оцінки впливу олігонуклеотиду ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ і АМК у плазмі з використанням автоматичного клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиду ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

Таблиця 161

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 40 день

	ALT (од./л)	AST (од./л)	АМК (мг/дл)
PBS	25	46	20
ISIS 532614	513	407	22
ISIS 532692	131	130	24
ISIS 532770	36	53	25
ISIS 532775	193	158	23
ISIS 532800	127	110	25
ISIS 532809	36	42	22
ISIS 532810	229	286	26
ISIS 532811	197	183	21
ISIS 532917	207	204	27
ISIS 532952	246	207	25
ISIS 141923	39	67	23

Маса

- 10 Перед приспанням мишей на 40 день виміряли також масу тіла мишей. Після усипляння мишей виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиду ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 162

Маса (г) мишей CD1 на 40 день

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	44	0,8	2,0	0,1
ISIS 532614	43	0,7	4,3	0,2
ISIS 532692	42	0,7	2,6	0,2
ISIS 532770	42	0,6	2,3	0,2
ISIS 532775	42	0,7	2,5	0,2
ISIS 532800	43	0,6	2,8	0,3
ISIS 532809	42	0,6	2,2	0,1
ISIS 532810	43	0,6	2,3	0,2
ISIS 532811	41	0,7	2,4	0,2
ISIS 532917	42	0,7	3,0	0,2
ISIS 532952	44	0,8	2,5	0,3
ISIS 141923	41	0,6	2,0	0,1

15

Випробування 2 (з 5-10-5 МОЕ гепмерами)

- Групам шости-восьмитижневих самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг олігонуклеотиду ISIS. Двом групам самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Одній групі мишей один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

Хімічні маркери в плазмі

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну та АМК у плазмі, використовували автоматизований клінічний

25

аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

5

Таблица 163

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 45 день

	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	39	53	2,9	29
PBS	50	97	2,9	30
ISIS 141923	163	174	4,1	25
ISIS 532810	321	297	2,5	26
ISIS 532952	182	199	2,7	27
ISIS 588534	276	248	2,6	29
ISIS 588536	48	60	2,9	31
ISIS 588537	72	79	4,0	25
ISIS 588538	63	67	4,5	29
ISIS 588539	238	177	3,9	28
ISIS 588545	496	256	4,4	24
ISIS 588547	323	210	4,4	25
ISIS 588548	61	63	4,2	27
ISIS 588549	127	132	4,1	23
ISIS 588551	302	282	4,2	22
ISIS 588552	76	98	4,0	30
ISIS 588558	1066	521	3,9	27
ISIS 588559	76	94	4,1	26
ISIS 588561	502	500	4,4	26
ISIS 588563	50	99	4,4	28

Маса

Масу тіла мишей виміряли на 42 день. Після усипляння мишей на 45 день виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

10

Таблица 164

Маса (г) мишей CD1 на 40 день

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	44	0,7	2,4	0,1
PBS	43	0,7	2,4	0,2
ISIS 141923	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 532810	41	0,6	1,9	0,1
ISIS 532952	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 588534	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588536	43	0,7	2,7	0,2
ISIS 588537	43	0,7	2,4	0,2
ISIS 588538	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588539	44	0,6	2,7	0,2
ISIS 588545	44	0,8	3,3	0,3
ISIS 588547	42	0,6	3,3	0,3
ISIS 588548	43	0,6	2,8	0,2
ISIS 588549	42	0,6	2,8	0,3
ISIS 588551	39	0,6	2,2	0,2
ISIS 588552	41	0,6	2,2	0,2
ISIS 588558	44	0,7	3,3	0,3

Таблиця 164

Маса (г) мишей CD1 на 40 день

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
ISIS 588559	43	0,6	2,7	0,3
ISIS 588561	40	0,7	2,4	0,3
ISIS 588563	41	0,7	2,4	0,2

Випробування 3 (з 5-10-5 МОЕ гепмерами)

- 5 Групам шости-восьмитижневих самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг олігонуклеотиду ISIS. Двом групам самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

Хімічні маркери в плазмі

- 10 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну та АМК у плазмі, використовували автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

Таблиця 165

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 42 день

	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	37	108	3,1	30
PBS	45	51	3,0	27
ISIS 588544	209	168	2,9	26
ISIS 588546	526	279	3,0	22
ISIS 588550	82	136	2,7	25
ISIS 588553	79	105	3,0	24
ISIS 588554	112	220	3,2	19
ISIS 588555	95	162	2,8	25
ISIS 588556	345	236	3,0	26
ISIS 588557	393	420	2,8	24
ISIS 588560	109	148	2,7	27
ISIS 588562	279	284	2,8	22
ISIS 588564	152	188	3,0	23
ISIS 588565	247	271	2,8	28

15

Маса

- 20 Масу тіла мишей виміряли на 42 день. Після усиплення мишей на 42 день виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 166

Маса (г) мишей CD1 на 40 день

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	42	0,7	2,4	0,1
PBS	41	0,7	2,4	0,2
ISIS 588544	44	0,6	1,9	0,1
ISIS 588546	43	0,6	2,4	0,2
ISIS 588550	41	0,7	2,8	0,2
ISIS 588553	44	0,7	2,7	0,2

Маса (г) мишей CD1 на 40 день

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
ISIS 588554	40	0,7	2,4	0,2
ISIS 588555	44	0,7	2,8	0,2
ISIS 588556	39	0,6	2,7	0,2
ISIS 588557	41	0,8	3,3	0,3
ISIS 588560	38	0,6	3,2	0,3
ISIS 588562	41	0,6	2,8	0,2
ISIS 588564	40	0,6	2,8	0,3
ISIS 588565	39	0,6	2,2	0,2

Випробування 4 (з (S)-cEt гепмерами і дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами)

- Групам десятиденних самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 50 мг/кг олігонуклеотиду ISIS з досліджень, описаних вище. Крім того, були сконструйовані два олігонуклеотиди, ISIS 594431 і ISIS 594432, сконструйовані як 3-10-3 (S)-cEt гепмери, і вони також були випробувані в цьому дослідженні. ISIS 594431(ACCTCCTTCCGAGTCA, SEQ ID NO: 550) спрямований на ту саму область, що і ISIS 588871, дезокси, MOE та (S)-cEt гепмер (цільовий сайт ініціації 2197 в SEQ ID NO: 1 і цільової сайт ініціації 6985 в SEQ ID NO: 2). ISIS 594432 (TGGTCACATTCCCTTC, SEQ ID NO: 542) спрямований на ту саму область, що і ISIS 588872, дезокси, MOE та (S)-cEt гепмер (цільовий сайт ініціації 154 в SEQ ID NO: 1 і цільової сайт ініціації 1875 в SEQ ID NO: 2).

- Двом групам самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

- Хімічні маркери в плазмі

- Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну, креатиніну та АМК в плазмі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

Таблиця 167

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 42 день

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	-	71	77	2,7	0,2	29
PBS	-	30	36	2,7	0,2	26
ISIS 588834	Дезокси, MOE та (S)-cEt	436	510	2,8	0,2	25
ISIS 588835	Дезокси, MOE та (S)-cEt	70	98	3,0	0,2	27
ISIS 588836	Дезокси, MOE та (S)-cEt	442	312	2,7	0,2	27
ISIS 588846	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	75	2,5	0,1	28
ISIS 588847	Дезокси, MOE та (S)-cEt	44	71	2,6	0,1	24
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	47	70	2,4	0,1	27
ISIS 588857	Дезокси, MOE та (S)-cEt	1287	655	2,7	0,2	26
ISIS 588858	Дезокси, MOE та (S)-cEt	1169	676	2,5	0,2	26
ISIS 588859	Дезокси, MOE та (S)-cEt	1036	1300	3,2	0,2	25
ISIS 588861	Дезокси, MOE та (S)-cEt	749	466	3,1	0,1	24
ISIS 588862	Дезокси, MOE та (S)-cEt	1564	1283	2,9	0,2	22
ISIS 588863	Дезокси, MOE та (S)-cEt	477	362	2,8	0,1	23
ISIS 588864	Дезокси, MOE та (S)-cEt	118	165	2,9	0,2	27
ISIS 588866	Дезокси, MOE та (S)-cEt	843	784	3,2	0,2	25
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	89	99	2,4	0,1	28
ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	590	433	3,0	0,2	24

Таблиця 167

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 42 день

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	2595	2865	2,4	0,1	25

Маса

- На 39 день виміряли масу тіла мишей. Після усипляння мишей на 42 день виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці.
- 5 Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 168

Маса (г) мишей CD1

	Хімізм	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	-	37	0,6	2,1	0,1
PBS	-	45	0,7	2,5	0,2
ISIS 588834	Дезокси, MOE та (S)-cEt	40	0,6	3,2	0,2
ISIS 588835	Дезокси, MOE та (S)-cEt	38	0,7	2,8	0,3
ISIS 588836	Дезокси, MOE і (S)-cEt	41	0,7	2,3	0,2
ISIS 588837	Дезокси, MOE та (S)-cEt	38	0,6	2,4	0,3
ISIS 588846	Дезокси, MOE та (S)-cEt	39	0,6	2,3	0,2
ISIS 588847	Дезокси, MOE та (S)-cEt	40	0,7	2,5	0,2
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	43	0,7	2,6	0,3
ISIS 588857	Дезокси, MOE та (S)-cEt	39	0,6	3,3	0,2
ISIS 588858	Дезокси, MOE та (S)-cEt	37	0,6	3,4	0,2
ISIS 588859	Дезокси, MOE та (S)-cEt	41	0,7	2,5	0,3
ISIS 588861	Дезокси, MOE та (S)-cEt	39	0,6	2,6	0,4
ISIS 588862	Дезокси, MOE та (S)-cEt	34	0,6	2,5	0,4
ISIS 588863	Дезокси, MOE та (S)-cEt	40	0,6	2,7	0,3
ISIS 588864	Дезокси, MOE та (S)-cEt	40	0,7	2,3	0,2
ISIS 588866	Дезокси, MOE та (S)-cEt	45	0,7	3,0	0,2
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	39	0,6	2,2	0,2
ISIS 594431	3-10-3 (S)-cEt	36	0,6	3,2	0,2
ISIS 594432	3-10-3 (S)-cEt	31	0,4	1,9	0,1

- 10 Випробування 5 (з MOE гепмерами, (S)-cEt гепмерами і дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами)

Групам восьми-дев'яти тижневих самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 50 мг/кг олігонуклеотиду ISIS. Двом групам самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

- 15 Хімічні маркери в плазмі

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну, креатиніну та АМК в плазмі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 42 день

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	-	33	84	2,9	0,2	28
PBS	-	32	65	2,5	0,1	27
ISIS 532692	5-10-5 MOE	363	281	3,0	0,2	30
ISIS 532770	5-10-5 MOE	69	100	2,9	0,1	28
ISIS 532775	5-10-5 MOE	371	333	2,6	0,1	29
ISIS 532800	5-10-5 MOE	104	106	2,7	0,1	31
ISIS 532809	5-10-5 MOE	69	127	2,8	0,1	26
ISIS 588540	5-10-5 MOE	66	110	2,8	0,1	26
ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	391	330	2,9	0,1	25
ISIS 588842	Дезокси, MOE та (S)-cEt	224	264	2,6	0,1	26
ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	185	160	2,8	0,1	24
ISIS 588844	Дезокси, MOE та (S)-cEt	304	204	2,7	0,1	25
ISIS 588851	Дезокси, MOE і (S)-cEt	186	123	2,7	0,1	31
ISIS 588854	Дезокси, MOE та (S)-cEt	1232	925	2,7	0,1	25
ISIS 588855	Дезокси, MOE та (S)-cEt	425	321	2,7	0,1	28
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	78	101	2,4	0,1	31
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	126	145	2,5	0,1	23
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	108	112	2,5	0,1	32
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	61	124	2,5	0,1	28
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	48	69	2,4	0,1	31
ISIS 588871	Дезокси, MOE та (S)-cEt	723	881	2,5	0,1	24
ISIS 588872	Дезокси, MOE та (S)-cEt	649	654	2,7	0,1	26

Маса

- 5 На 40 день виміряли масу тіла мишей. Після усипляння мишей на 42 день виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 170

Маса (г) мишей CD1

	Хімізм	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	-	46	0,7	2,3	0,2
PBS	-	44	0,7	2,3	0,2
ISIS 532692	5-10-5 MOE	44	0,6	2,8	0,2
ISIS 532770	5-10-5 MOE	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 532775	5-10-5 MOE	43	0,6	2,8	0,2
ISIS 532800	5-10-5 MOE	47	0,7	2,9	0,2
ISIS 532809	5-10-5 MOE	44	0,7	2,6	0,2
ISIS 588540	5-10-5 MOE	44	0,7	2,5	0,2
ISIS 588838	3-10-3 (S)-cEt	45	0,7	3,1	0,2
ISIS 588842	Дезокси, MOE та (S)-cEt	41	0,6	2,6	0,2
ISIS 588843	3-10-3 (S)-cEt	43	0,7	2,9	0,2
ISIS 588844	Дезокси, MOE та (S)-cEt	43	0,7	2,8	0,2
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	46	0,6	2,6	0,2
ISIS 588854	Дезокси, MOE та (S)-cEt	45	0,7	4,1	0,2
ISIS 588855	Дезокси, MOE та (S)-cEt	44	0,7	2,9	0,3
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	44	0,7	3,2	0,2
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	45	0,7	2,6	0,3

Маса (г) мишей CD1

	Хімізм	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	46	0,7	3,2	0,3
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	42	0,7	2,9	0,3
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 588871	Дезокси, MOE та (S)-cEt	41	0,7	3,1	0,2
ISIS 588872	Дезокси, MOE та (S)-cEt	39	0,6	3,2	0,3

Випробування 6 (з дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами)

- 5 Групам восьми-дев'ятитижневих самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 50 мг/кг дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидів. Двом групам самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

Хімічні маркери в плазмі

- 10 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну, креатиніну, білірубину та АМК в плазмі, використовуючи автоматичний клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

15

Таблиця 171

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 45 день

	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	Білірубін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	39	78	3,4	0,2	0,2	31
PBS	37	59	2,9	0,1	0,2	27
ISIS 599552	167	208	3,0	0,1	0,2	32
ISIS 599553	43	86	2,9	0,1	0,2	28
ISIS 599554	57	101	2,2	0,2	0,2	31
ISIS 599569	469	530	3,5	0,2	0,3	27
ISIS 599577	37	84	2,9	0,1	0,1	31
ISIS 599578	45	104	2,8	0,1	0,2	30
ISIS 599581	54	88	3,1	0,1	0,2	31
ISIS 599590	1741	1466	3,1	0,1	0,3	25
ISIS 599591	2230	1183	3,2	0,1	0,3	27
ISIS 601209	68	104	2,9	0,1	0,2	30
ISIS 601212	1795	968	3,2	0,1	0,3	22
ISIS 601215	424	385	3,1	0,1	0,4	25
ISIS 601216	90	125	2,9	0,1	0,2	29
ISIS 601276	946	366	2,9	0,1	0,5	31
ISIS 601282	831	540	3,3	0,2	0,2	32

Маса

- 20 На 40 день виміряли масу тіла мишей. Після усиплення мишей на 45 день виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 172

Маса (г) мишей CD1

	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	40	0,7	2,1	0,2
PBS	42	0,8	2,3	0,2
ISIS 599552	38	0,6	2,3	0,2
ISIS 599553	39	0,7	2,2	0,2
ISIS 599554	39	0,7	2,4	0,2
ISIS 599569	39	0,7	2,2	0,2
ISIS 599577	41	0,7	2,5	0,2
ISIS 599578	37	0,6	2,0	0,2
ISIS 599581	40	0,6	2,5	0,2
ISIS 599590	34	0,6	3,5	0,2
ISIS 599591	38	0,8	2,7	0,2
ISIS 601209	42	0,7	2,6	0,3
ISIS 601212	38	0,6	2,9	0,2
ISIS 601215	36	0,7	2,6	0,2
ISIS 601216	42	0,6	2,7	0,2
ISIS 601276	42	0,7	3,2	0,2
ISIS 601282	38	0,7	3,2	0,2

Випробування 7 (з МОЕ гепмерами і дезокси, МОЕ та (S)-cEt олігонуклеотидами)

- 5 Групами восьми-дев'ятитижневих самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг олігонуклеотидів ISIS. Одній групі самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

Хімічні маркери в плазмі

- 10 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну, креатиніну та АМК в плазмі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції печінки або нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували для подальших досліджень.

15

Таблиця 173

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 45 день

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	-	120	102	2,7	0,2	26
ISIS 588842	Дезокси, МОЕ та (S)-cEt	177	164	2,7	0,1	23
ISIS 588843	Дезокси, МОЕ та (S)-cEt	98	194	2,7	0,1	24
ISIS 588851	Дезокси, МОЕ та (S)-cEt	91	142	2,6	0,1	23
ISIS 588856	Дезокси, МОЕ та (S)-cEt	78	110	2,7	0,1	23
ISIS 599024	3-10-4 МОЕ	91	108	2,7	0,1	23
ISIS 599087	5-7-5 МОЕ	198	183	2,6	0,2	28
ISIS 599093	5-7-5 МОЕ	3285	2518	2,6	0,2	24
ISIS 599149	4-8-5 МОЕ	30	64	2,9	0,2	25
ISIS 599155	4-8-5 МОЕ	145	189	2,6	0,2	25
ISIS 599202	5-8-5 МОЕ	150	128	2,8	0,2	23
ISIS 599203	5-8-5 МОЕ	111	127	2,8	0,2	24
ISIS 599208	5-8-5 МОЕ	146	178	2,9	0,2	22
ISIS 599261	3-10-5 МОЕ	144	165	2,8	0,2	26
ISIS 599267	3-10-5 МОЕ	96	132	2,6	0,2	27
ISIS 599268	3-10-5 МОЕ	87	115	2,6	0,1	23

Таблиця 173

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 45 день

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
ISIS 599322	6-7-6 MOE	115	138	2,7	0,1	22
ISIS 599374	5-9-5 MOE	375	271	2,6	0,1	21
ISIS 599378	5-9-5 MOE	77	99	2,7	0,1	23
ISIS 599441	6-8-6 MOE	150	250	2,9	0,1	23

Маса

- На 44 день виміряли масу тіла мишей. На 49 день після усилення мишей, виміряли також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати представлені нижче в таблиці.
- 5 Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 174

Маса (г) мишей CD1

	Хімізм	Тіло	Нирки	Печінка	Селезінка
PBS	-	39	0,6	1,9	0,1
ISIS 588842	Дезокси, MOE та (S)-cEt	38	0,5	2,1	0,1
ISIS 588843	Дезокси, MOE та (S)-cEt	41	0,6	2,4	0,2
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	42	0,6	2,2	0,2
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	42	0,7	2,6	0,2
ISIS 599024	3-10-4 MOE	41	0,6	4,0	0,2
ISIS 599087	5-7-5 MOE	44	0,8	2,6	0,3
ISIS 599093	5-7-5 MOE	39	0,6	2,3	0,2
ISIS 599149	4-8-5 MOE	42	0,7	2,8	0,2
ISIS 599155	4-8-5 MOE	41	0,7	2,1	0,2
ISIS 599202	5-8-5 MOE	43	0,6	2,6	0,2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	42	0,6	2,6	0,2
ISIS 599208	5-8-5 MOE	40	0,6	2,1	0,2
ISIS 599261	3-10-5 MOE	39	0,7	3,4	0,3
ISIS 599267	3-10-5 MOE	42	0,8	2,5	0,3
ISIS 599268	3-10-5 MOE	41	0,7	2,1	0,2
ISIS 599322	6-7-6 MOE	43	0,6	2,2	0,2
ISIS 599374	5-9-5 MOE	37	0,6	2,2	0,2
ISIS 599378	5-9-5 MOE	43	0,7	2,7	0,2
ISIS 599441	6-8-6 MOE	42	0,6	2,5	0,3

- 10 Випробування 8 (з MOE гепмерами, дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами та (S)-cEt гепмерами)

- Групам восьми-дев'ятиденних самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг MOE гепмерів або 50 мг/кг дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидів, або (S)-cEt гепмерів. Одній групі самців мишей CD1 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Мишей присипляли через 48 годин після введення останньої дози і збирали органи і плазму для подальших аналізів.

- 15 Хімічні маркери в плазмі

- Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки і нирок вимірювали рівні трансаміназ, альбуміну, креатиніну та АМК в плазмі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в таблиці.
- 20

Таблиця 175

Хімічні маркери в плазмі мишей CD1 на 43 день

	Хімізм	Доза (мг/кг/тиждень)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)	Креатинін (мг/дл)	АМК (мг/дл)
PBS	-	-	37	57	2,5	0,08	26
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	73	2,5	0,07	24
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	74	126	2,8	0,10	26
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	83	73	2,5	0,07	23
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	106	102	2,7	0,09	27
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	66	62	2,6	0,10	24
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	48	67	2,6	0,08	23
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	65	106	2,5	0,10	25
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	78	90	2,6	0,09	25
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	94	89	2,5	0,08	23
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	38	54	2,3	0,07	25
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	63	72	2,5	0,10	27

Маса

- 5 Масу тіла мишей вимірювали на 36 день. Після усиплення мишей, на 43 день вимірювали також масу органів, печінки, нирок та селезінки. Результати вимірювань маси органів виражені як співвідношення маси тіла і нормалізовані до співвідношення контрольної групи з PBS.

Таблиця 176

Маса органів/маса тіла (MT) мишей CD1

	Хімізм	Доза (мг/кг/тиждень)	Нирки/MT	Печінка/MT	Селезінка/MT
PBS	-	-	1,0	1,0	1,0
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	1,4	1,1	1,0
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	1,5	1,1	0,9
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	1,3	1,2	0,9
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	1,3	1,2	1,0
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	1,6	1,1	1,0
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	1,7	1,2	1,0
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	1,5	1,2	1,0
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	1,5	1,0	0,8
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1,8	1,2	1,0
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	1,3	1,0	0,9
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1,4	1,1	0,9

Аналіз цитокінів

- 10 Кров, зібрану в усіх групах мишей, направили в компанію Antech Diagnostics для вимірювання рівнів різних цитокінів, таких як IL-6, MDC, MIP1 β , IP-10, MCP1, MIP-1 α і RANTES. Результати представлені в Таблиці 54.

Таблица 177

Рівні цитокінів (пг/мл) в плазмі мишей CD1

	Хімізм	IL-6	MDC	MIP1 β	IP-10	MCP1	MIP-1 α	RANTES
PBS	-	70	16	23	20	17	6	2
ISIS 532770	5-10-5 MOE	101	18	146	116	101	24	6
ISIS 532800	5-10-5 MOE	78	17	83	53	105	1	3
ISIS 532809	5-10-5 MOE	66	19	60	32	55	20	4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	51	18	126	70	75	4	3
ISIS 588544	5-10-5 MOE	157	14	94	34	102	1	3
ISIS 588548	5-10-5 MOE	164	12	90	66	84	10	4
ISIS 588550	5-10-5 MOE	58	21	222	124	157	3	5
ISIS 588553	5-10-5 MOE	62	14	183	60	103	9	4
ISIS 588555	5-10-5 MOE	70	19	172	171	178	16	9
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	59	13	61	27	63	12	4
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	48	14	56	38	85	10	3

Гематологічний аналіз

- 5 Кров, зібрану в усіх групах мишей, направили в компанію Antech Diagnostics для вимірювання гематокриту (HCT), а також різних кров'яних клітин, таких як білі кров'яні тільця, червоні кров'яні тільця і тромбоцити, а також загального змісту гемоглобіну (Hb). Результати представлені в Таблиці 55.

Таблица 178

Гематологічні маркери в плазмі мишей CD1

	Хімізм	HCT (%)	Hb (г/дл)	Білі кров'яні тільця (10 ³ /мкл)	Червоні кров'яні тільця (10 ⁶ /мкл)	Тромбоцити (10 ³ /мкл)
PBS	-	46	15	7	9	960
ISIS 532770	5-10-5 MOE	45	14	5	9	879
ISIS 532800	5-10-5 MOE	45	14	5	9	690
ISIS 532809	5-10-5 MOE	46	14	6	9	1005
ISIS 588540	5-10-5 MOE	49	15	6	10	790
ISIS 588544	5-10-5 MOE	36	11	7	7	899
ISIS 588548	5-10-5 MOE	46	14	6	9	883
ISIS 588550	5-10-5 MOE	42	13	8	8	721
ISIS 588553	5-10-5 MOE	45	14	6	9	719
ISIS 588555	5-10-5 MOE	43	13	8	9	838
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	40	15	8	10	840
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	45	14	8	9	993

- 10 Приклад 127: Переносимість антисмислових олігонуклеотидів, спрямованих на людський CFB, у щурів Спрег-Доулі

Щури Спрег-Доулі являють собою багатоцільову модель, використовувану для оцінки безпеки та ефективності. Щурів лікували антисмисловими олігонуклеотидами ISIS з досліджень, описаних вище в Прикладі, і оцінювали на зміни рівнів різних хімічних маркерів у крові.

- 15 Випробування 1 (з 5-10-5 MOE гепмерами)

Самців щурів Спрег-Доулі віком від семи до восьми тижнів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. Групам по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг 5-10-5 MOE гепмерів. Одній контрольній групі з 6 щурів один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через сорок вісім годин після

20

введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

Функція печінки

Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази) і представили результати в наступній Таблиці, виражені в МЕ/л. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали в печінці зміни будь-яких маркерів функції печінки за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 179

Маркери функції печінки у щурів Спрег-Доулі

	ALT (од./л)	AST (од./л)
PBS	66	134
ISIS 588544	101	329
ISIS 588550	69	157
ISIS 588553	88	304
ISIS 588554	202	243
ISIS 588555	94	113
ISIS 588556	102	117
ISIS 588560	206	317
ISIS 588564	292	594

Функція нирок

Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні азоту сечовини крові (АМК) і креатиніну за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 180

Маркери функції печінки (мг/дл) у щурів Спрег-Доулі

	АМК	Креатинін
PBS	18	3,5
ISIS 588544	21	3,1
ISIS 588550	21	3,0
ISIS 588553	22	2,8
ISIS 588554	23	3,0
ISIS 588555	22	3,5
ISIS 588556	21	3,2
ISIS 588560	26	2,4
ISIS 588564	24	2,7

Маса

На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси органів за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 181

Маса (г)

	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
PBS	422	16	1,2	3,9
ISIS 588544	353	15	1,7	2,9
ISIS 588550	321	14	2,1	3,2
ISIS 588553	313	15	2,3	3,2
ISIS 588554	265	11	1,6	2,7
ISIS 588555	345	14	1,4	3,3
ISIS 588556	328	13	1,7	3,1
ISIS 588560	270	13	2,4	3,0
ISIS 588564	253	12	2,9	3,0

Випробування 2 (з дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами)

- 5 Самців щурів Спрег-Доулі віком від дев'яти до десяти тижнів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. Групам по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидів. Двом контрольним групам по 3 щури один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через сорок вісім годин після введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для
- 10 подальших аналізів.

Функція печінки

- 15 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі на 42 день, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази), і альбуміну в сироватці, і результати представлені нижче в Таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали в печінці зміни будь-яких маркерів функції печінки за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 182

Маркери функції печінки у щурів Спрег-Доулі

	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)
PBS	55	150	3,4
PBS	64	91	3,5
ISIS 588554	52	92	3,2
ISIS 588835	971	844	4,1
ISIS 588842	317	359	3,8
ISIS 588843	327	753	2,9
ISIS 588846	70	111	3,2
ISIS 588847	65	100	3,0
ISIS 588864	91	109	3,0
ISIS 594430	85	106	3,7

20

Функція нирок

- 25 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні азоту сечовини крові (АМК) і креатиніну за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 183

Маркери функції печінки (мг/дл) у щурів Спрег-Доулі

	АМК	Креатинін
PBS	17	0,4
PBS	21	0,4
ISIS 588554	20	0,4
ISIS 588835	23	0,5
ISIS 588842	22	0,4
ISIS 588843	51	0,4
ISIS 588846	25	0,5
ISIS 588847	23	0,5
ISIS 588864	23	0,4
ISIS 594430	22	0,5

Маса

- 5 На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси органів за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 184

Маса (г)

	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
PBS	466	16	0,9	3,8
PBS	485	16	0,9	3,6
ISIS 588554	393	15	2,3	2,6
ISIS 588835	387	16	1,0	3,3
ISIS 588842	414	22	1,5	3,7
ISIS 588843	427	20	2,5	4,2
ISIS 588846	366	16	2,1	3,3
ISIS 588847	402	15	1,6	3,1
ISIS 588864	364	15	2,1	3,8
ISIS 594430	420	16	1,2	3,6

- 10 Випробування 3 (з МОЕ гепмерами)

- 15 Самців щурів Спрег-Доулі віком від дев'яти до десяти тижнів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. Групам по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг МОЕ гепмерів. Одній контрольній групі з 6 щурів один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через сорок вісім годин після введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

Функція печінки

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі на 43 день, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази) і представили результати в наступній Таблиці, виражені в МЕ/л. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали в печінці зміни будь-яких маркерів функції печінки за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

25

Таблиця 185

Маркери функції печінки у щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)
PBS	-	52	110	3,7
ISIS 588563	5-10-5 MOE	175	291	2,9
ISIS 599024	3-10-4 MOE	139	173	1,4
ISIS 599093	5-7-5 MOE	116	238	2,6
ISIS 599149	4-8-5 MOE	232	190	3,4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	108	215	2,5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	65	86	3,5
ISIS 599203	5-8-5 MOE	71	97	3,1
ISIS 599208	5-8-5 MOE	257	467	1,9
ISIS 599261	3-10-5 MOE	387	475	1,5
ISIS 599267	3-10-5 MOE	201	337	2,7

Функція нирок

- 5 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні азоту сечовини крові (АМК) і креатиніну за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

10

Таблиця 186

Маркери функції печінки (мг/дл) у щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	АМК	Креатинін
PBS	-	16	0,3
ISIS 588563	5-10-5 MOE	26	0,4
ISIS 599024	3-10-4 MOE	135	1,2
ISIS 599093	5-7-5 MOE	29	0,4
ISIS 599149	4-8-5 MOE	23	0,4
ISIS 599155	4-8-5 MOE	29	0,4
ISIS 599202	5-8-5 MOE	19	0,4
ISIS 599203	5-8-5 MOE	22	0,4
ISIS 599208	5-8-5 MOE	26	0,3
ISIS 599261	3-10-5 MOE	228	1,6
ISIS 599267	3-10-5 MOE	24	0,4

Маса

- 15 На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси органів за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 187

Маса (г)

	Хімізм	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
PBS	-	471	16	1,0	4,1
ISIS 588563	5-10-5 MOE	311	16	3,4	4,1
ISIS 599024	3-10-4 MOE	297	11	1,0	3,5
ISIS 599093	5-7-5 MOE	332	18	4,1	5,0
ISIS 599149	4-8-5 MOE	388	16	2,3	3,7

Таблиця 187

Маса (г)

	Хімізм	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
ISIS 599155	4-8-5 MOE	290	15	2,9	4,5
ISIS 599202	5-8-5 MOE	359	13	1,3	3,2
ISIS 599203	5-8-5 MOE	334	14	1,8	3,3
ISIS 599208	5-8-5 MOE	353	29	4,7	4,6
ISIS 599261	3-10-5 MOE	277	10	0,9	3,2
ISIS 599267	3-10-5 MOE	344	21	3,9	4,7

Випробування 4 (з MOE гепмерами)

- 5 Самців щурів Спрег-Доулі віком від дев'яти до десяти тижнів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. Групам по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг MOE гепмерів. Одній контрольній групі з 6 щурів один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через сорок вісім годин після введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

Функція печінки

- 10 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі на 42 день, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази) і представили результати в наступній Таблиці, виражені в МЕ/л.
- 15 Олігонуклеотиди ISIS, які викликали в печінці зміни будь-яких маркерів функції печінки за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 188

Маркери функції печінки у щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)
PBS	-	48	77	3,9
ISIS 532800	5-10-5 MOE	72	111	3,4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	59	89	3,8
ISIS 588540	5-10-5 MOE	146	259	3,8
ISIS 599268	3-10-5 MOE	175	206	2,7
ISIS 599322	6-7-6 MOE	523	567	3,3
ISIS 599374	5-9-5 MOE	114	176	3,0
ISIS 599378	5-9-5 MOE	124	116	3,2
ISIS 599380	5-9-5 MOE	148	210	3,4
ISIS 599441	6-8-6 MOE	51	91	2,6

Функція нирок

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні азоту сечовини крові (АМК) і креатиніну за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.
- 25

Таблиця 189

Маркери функції печінки (мг/дл) у щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	АМК	Креатинін
PBS	-	15	0,4
ISIS 532800	5-10-5 MOE	26	0,5
ISIS 532809	5-10-5 MOE	18	0,5
ISIS 588540	5-10-5 MOE	22	0,5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	28	0,5
ISIS 599322	6-7-6 MOE	24	0,5
ISIS 599374	5-9-5 MOE	29	0,5
ISIS 599378	5-9-5 MOE	22	0,4
ISIS 599380	5-9-5 MOE	26	0,5
ISIS 599441	6-8-6 MOE	24	0,4

Маса

- 5 На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси органів за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 190

Маса (г)

	Хімізм	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
PBS	-	502	16	0,9	3,7
ISIS 532800	5-10-5 MOE	376	16	2,0	3,4
ISIS 532809	5-10-5 MOE	430	16	1,4	3,4
ISIS 588540	5-10-5 MOE	391	16	1,8	3,5
ISIS 599268	3-10-5 MOE	332	16	3,6	3,6
ISIS 599322	6-7-6 MOE	348	13	2,1	3,4
ISIS 599374	5-9-5 MOE	302	12	2,0	3,3
ISIS 599378	5-9-5 MOE	332	11	1,1	2,8
ISIS 599380	5-9-5 MOE	350	11	1,5	3,3
ISIS 599441	6-8-6 MOE	368	16	2,5	3,3

- 10 Випробування 5 (з MOE гепмерами і дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами)

- 15 Самців щурів Спрег-Доулі віком від дев'яти до десяти тижнів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. рупам по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг MOE гепмеру або 50 мг/кг дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидів. Одній контрольній групі з 4 щурів один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через сорок вісім годин після введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

Функція печінки

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі на 42 день, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази) і представили результати в наступній Таблиці, виражені в МЕ/л. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали в печінці зміни будь-яких маркерів функції печінки за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в
- 25 подальших дослідженнях.

Таблиця 191

Маркери функції печінки у щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)
PBS	-	49	74	3,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	95	132	3,3
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	47	72	3,1
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	56	75	3,0
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	62	84	2,9
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	73	214	2,9
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	59	83	3,1
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	144	144	3,4

Функція нирок

- 5 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні азоту сечовини крові (АМК) і креатиніну у плазмі і сечі за допомогою автоматизованого клінічного аналізатора хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати, виражені в мг/дл, представлені нижче в Таблицях. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

10

Таблиця 192

Маркери функції нирок (мг/дл) у плазмі щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	АМК	Креатинін
PBS	-	18	0,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	20	0,4
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	20	0,4
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	22	0,4
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	24	0,5
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	22	0,4
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	19	0,4
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	20	0,5

Таблиця 193

Маркери функції нирок (мг/дл) в сечі щурів Спрег-Доулі

	Хімізм	Загальний білок	Креатинін
PBS	-	80	92
ISIS 532770	5-10-5 MOE	466	69
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	273	64
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	259	68
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	277	67
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	337	68
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	326	75
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	388	82

Маса

- 15 На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни маси органів за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.

Таблиця 194

Маса (г)

	Хімізм	Тіло	Печінка	Селезінка	Нирки
PBS	-	489	16	0,9	3,5
ISIS 532770	5-10-5 MOE	372	15	1,7	3,1
ISIS 588851	Дезокси, MOE та (S)-cEt	285	14	1,4	3,2
ISIS 588856	Дезокси, MOE та (S)-cEt	415	15	1,1	3,3
ISIS 588865	Дезокси, MOE та (S)-cEt	362	14	2,0	3,3
ISIS 588867	Дезокси, MOE та (S)-cEt	406	15	2,4	3,4
ISIS 588868	Дезокси, MOE та (S)-cEt	399	15	1,5	3,4
ISIS 588870	Дезокси, MOE та (S)-cEt	446	14	1,4	3,3

Випробування 6 (MOE гепмерами, дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотидами та (S)-cEt гепмерами)

- 5 Самців щурів витримували при 12-годинному циклі освітлення/темряви і забезпечували вільний доступ до нормального корму для щурів Purina, раціон 5001. Групами по 4 щури Спрег-Доулі один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції 100 мг/кг MOE гепмерів або 50 мг/кг дезокси, MOE та (S)-cEt олігонуклеотиду, або (S)-cEt гепмеру. Одній контрольній групі з 4 щурів один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили підшкірні ін'єкції PBS. Через
- 10 сорок вісім годин після введення останньої дози щурів приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

Функція печінки

- 15 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки вимірювали рівні трансаміназ у плазмі на 42 день, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Виміряли рівні ALT (аланінтрансамінази) і AST (аспартаттрансамінази) і представили результати в наступній Таблиці, виражені в МЕ/л.

Таблиця 195

Маркери функції печінки

	Хімізм	Доза (мг/кг/тиждень)	ALT (од./л)	AST (од./л)	Альбумін (г/дл)
PBS	-	-	54	73	4,3
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	57	114	4,4
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	176	180	4,3
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	71	132	4,1
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	89	202	4,4
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	75	152	3,9
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	50	71	4,1
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	80	133	3,6
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	59	112	3,9
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	97	142	3,8
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	53	82	3,9
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	198	172	4,4

Функція нирок

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок вимірювали рівні загального білка та креатиніну сечі, використовуючи автоматизований клінічний аналізатор хімічного складу (Hitachi Olympus AU400e, Мелвілл, штат Нью-Йорк). Результати представлені нижче в Таблиці. Олігонуклеотиди ISIS, які викликали зміни будь-яких рівнів маркерів функції нирок за межами очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів, не використовували в подальших дослідженнях.
- 25

Таблиця 196

Співвідношення загального білка/креатиніну в сечі щурів

	Хімізм	Доза (мг/кг/тиждень)	Співвідношення Р/С
PBS	-	-	1,1
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	8,3
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	6,5
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	6,1
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	10,1
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	7,9
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	6,6
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	7,6
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	7,0
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	6,2
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	5,2
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	5,3

Маса

- 5 На 39 день вимірювали масу тіла. Масу печінки, серця, селезінки і нирок вимірювали після закінчення дослідження на 42 день, і результати представлені в наступній таблиці. Результати вимірювань маси органів виражені як співвідношення маси тіла і нормалізовані до співвідношення контрольної групи з PBS.

Таблиця 197

Співвідношення маси органу/маси тіла (MT)

	Хімізм	Доза (мг/кг/тиждень)	Селезінка/М Т	Печінка/MT	Нирки/MT
PBS	-	-	1,0	1,0	1,0
ISIS 532770	5-10-5 MOE	100	2,0	1,2	1,0
ISIS 532800	5-10-5 MOE	100	2,8	1,3	1,0
ISIS 532809	5-10-5 MOE	100	2,2	1,1	1,0
ISIS 588540	5-10-5 MOE	100	2,2	1,4	1,0
ISIS 588544	5-10-5 MOE	100	2,5	1,3	1,1
ISIS 588548	5-10-5 MOE	100	2,1	1,3	1,1
ISIS 588550	5-10-5 MOE	100	3,9	1,4	1,1
ISIS 588553	5-10-5 MOE	100	4,1	1,4	1,4
ISIS 588555	5-10-5 MOE	100	1,8	1,3	1,0
ISIS 588848	Дезокси, MOE та (S)-cEt	50	3,1	1,3	1,1
ISIS 594430	3-10-3 (S)-cEt	50	1,7	1,0	1,1

- 10 Приклад 128: Ефективність антисмислових олігонуклеотидів проти мРНК CFB у мишей hCFB
- Вибрані сполуки були протестовані на ефективність у трансгенних мишей з людським CFB, лінія-засновник №6. Ген людського CFB розташований на хромосомі 6: положення 31913721-31919861. Вибрали фосмиду (ABC14-50933200C23), яка містить послідовність CFB, для отримання трансгенних мишей, що експресують ген людського CFB. Використовували рестрикційні ферменти Cla I (31926612) і Age I (31926815) для отримання фрагмента розміром 22127 п. о., що містить ген CFB, для пронуклеарної ін'єкції. ДНК підтвердили аналізом рестрикційного ферменту, використовуючи Pvu I. Фрагмент ДНК розміром 22127 п. о. ін'єктували в ембріони C57BL/6NTac. Вивели 6 позитивних засновників. Засновник №6 експресували в мРНК CFB печінки людини і схрестили з 3^{im} поколінням. Потомство 3 покоління мишей використовували для оцінки впливу ASO людського CFB на відновлення мРНК людського CFB.
- 20

Лікування

Групам по 3 щури два рази на тиждень протягом першого тижня вводили підшкірні ін'єкції 50 мг/кг олігонуклеотидів ISIS, потім один раз на тиждень дозу 50 мг/кг олігонуклеотидів ISIS ще

протягом трьох тижнів. Одній контрольній групі з 4 мишей два рази на тиждень протягом першого тижня вводили підшкірні ін'єкції PBS, потім один раз на тиждень протягом додаткових трьох тижнів. Через сорок вісім годин після введення останньої дози мишей приспали і зібрали органи і плазму для подальших аналізів.

5 Аналіз РНК

По закінченні періоду введення доз виділили РНК з печінки і нирок для аналізу ПЛР у реальному часі для визначення рівнів мРНК CFB. Рівні мРНК людського CFB вимірювали за допомогою набору людських праймерних зондів RTS3459. Рівні мРНК CFB нормалізували до RIBOGREEN®, а також до конститутивного гену, циклофіліну. Результати розраховували як відсоток інгібування експресії мРНК CFB порівняно з контролем. Всі антисмислові олігонуклеотиди викликали інгібування рівнів мРНК людського CFB у печінці.

Таблиця 198

Процентне зменшення рівнів мРНК CFB у мишей hCFB

ISIS №	Нормалізовано до RIBOGREEN	Нормалізовано до циклофіліну
532770	86	87
532800	88	87
532809	69	69
588540	95	94
588544	91	91
588548	78	77
588550	89	88
588553	94	94
588555	94	94
588848	83	82
594430	78	76

Приклад 129: In vivo антисмислове інгібування мишачого CFB

15 Сконструювали кілька антисмислових олігонуклеотидів, спрямованих на мРНК мишачого CFB (GENBANK номер доступу NM_008198.2, включена в справжній документ як SEQ ID NO: 5). Цільові сайти ініціації і послідовності кожного олігонуклеотиду описані у поданих нижче таблицях. Химерні антисмислові олігонуклеотиди у поданій нижче таблиці сконструйовані як 5-10-5 MOE гепмери. Гепмери мають 20 нуклеозидів у довжину, причому центральний геп складається з 10 2'-дезоксинуклеозидів і з обох сторін (у напрямках 5' 3') оточений крилами, містять по 5 нуклеозидів кожне. Кожен нуклеозид 5' крила і нуклеозид 3' крила має 2'-MOE модифікації. Міжнуклеозидні зв'язки в кожному гепмері являють собою тіофосфатні (P=S) зв'язки. Всі залишки цитозина в кожному гепмері являють собою 5-метилцитозини.

Таблиця 199

Гепмери, спрямовані на мишачий CFB

ISIS №	Послідовність	Цільовий сайт ініціації в SEQ ID NO: 5	SEQ ID NO
516269	GCATAAGAGGGTACCAGCTG	2593	804
516272	GTCCTTTAGCCAGGGCAGCA	2642	805
516323	TCCACCCATGTTGTGCAAGC	1568	806
516330	CCACACCATGCCACAGAGAC	1826	807
516341	TTCCGAGTCAGGCTCTTCCC	2308	808

25 Лікування

Групам по чотири миші C57BL/6 вводили підшкірні ін'єкції 50 мг/кг ISIS 516269, ISIS 516272, ISIS 516323, ISIS 516330 або ISIS 516341, один раз на тиждень протягом 3 тижнів. Контрольній групі мишей вводили ін'єкцію з фосфатно-сольовим буферним розчином (PBS) один раз на тиждень протягом 3 тижнів.

30 Аналіз РНК CFB

Після закінчення дослідження з печінкової тканини виділили РНК для аналізу CFB за

- допомогою ПЛР у реальному часі, використовуючи набір праймерних зондів RTS3430 (пряма послідовність GGGCAAACAGCAATTTGTGA, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 816; зворотна послідовність TGGCTACCCACCTTCCTTGT, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 817; послідовність зонда CTGGATACTGTCCCAATCCCGGTATTCCX, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 818). Рівні мРНК нормалізували за допомогою RIBOGREEN®. Як показано в наведеній нижче таблиці, деякі антисмислові олігонуклеотиди забезпечували зниження мишачого CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 200

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB у мишей C57BL/6

ISIS №	%
516269	29
516272	72
516323	77
516330	62
516341	72

10

Аналіз білка

- Рівні білка CFB вимірювали в нирках, печінці, плазмі та очах за допомогою вестерн-блот, використовуючи козяче анти-CFB антитіло (Sigma-Aldrich). Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка з PBS. "н. д." означає, що для вказаного зразка вимірювання не проводили. Як показано в наведеній нижче таблиці, антисмислове інгібування CFB олігонуклеотидами ISIS призводить до зниження білка CFB у різних тканинах. Як показано в наведеній нижче таблиці, системне введення олігонуклеотидів ISIS ефективно для зниження рівнів CFB в очах.

15

Таблиця 201

Процентне інгібування білка мишачого CFB у мишей C57BL/6

ISIS №	Нирки	Печінка	Плазма	Очі
516269	20	58	н.д.	70
516272	48	74	н.д.	99
516323	73	85	90	93
516330	77	80	н.д.	н.д.
516341	80	88	68	н.д.

20

Приклад 130: Дозозалежне антисмислове інгібування мишачого CFB

- Групами по чотири щури C57BL/6 один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили ін'єкції 25 мг/кг, 50 мг/кг або 100 мг/кг ISIS 516272 і ISIS 516323. Іншим двом групам мишей один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили ін'єкції 100 мг/кг ISIS 516330 або ISIS 516341. Двом контрольним групам мишей один раз на тиждень протягом 6 тижнів вводили ін'єкції фосфатно-сольового буферного розчину (PBS).

25

Аналіз РНК CFB

- Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Рівні мРНК нормалізували за допомогою RIBOGREEN®. Як показано в наведеній нижче таблиці, антисмислові олігонуклеотиди забезпечували дозозалежне зниження мишачого CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

30

Таблиця 202

Процентне інгібування мРНК кишачого CFB у мишей C57BL/6

ISIS №	Доза (мг/кг/тиждень)	Печінка	Нирки
516272	25	39	32
	50	73	36
	100	87	42
516323	25	36	41
	50	65	47
	100	79	71
516330	100	85	45
516341	200	89	65

Аналіз білка

Рівні білка CFB вимірювали в плазмі за допомогою вестерн-блот, використовуючи козяче анти-CFB антитіло (Sigma-Aldrich). Як показано в наведеній нижче таблиці, антисмислове інгібування CFB олігонуклеотидами ISIS призводить до зниження білка CFB. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка з PBS. "н. д." означає, що для вказаного зразка вимірювання не проводили.

Рівні білка CFB в очах також вимірювали за допомогою вестерн-блот. Всі експериментальні групи демонстрували інгібування CFB на 95 %, при цьому значення деяких зразків були нижче межі виявлення аналізу.

Таблиця 203

Процентне інгібування білка кишачого CFB у мишей C57BL/6

ISIS №	Доза (мг/кг/тиждень)	Печінка
516272	25	32
	50	70
	100	83
516323	25	43
	50	80
	100	90
516330	100	н.д.
516341	200	н.д.

Приклад 131: Вплив антисмислового інгібування CFB у мишачій моделі NZB/W F1

NZB/W F1 являє собою найстарішу класичну модель вовчака, в якій у мишей розвивається важкий вовчаковий фенотип, порівняний з фенотипом пацієнтів з аутоімунними захворюваннями (Theofilopoulos, A. N. и Dixon, F.J. Advances in Immunology, т. 37, сс. 269–390, 1985). Такий вовчаковий фенотип включає лімфаденопатії, спленомегалію, підвищений вміст антинуклеарних аутоантитіл в сироватці (ANA), включаючи анти-дцДНК IgG, більшість з яких являють собою IgG2a і IgG3, і імунокомплексний гломерулонефрит (ГН), який стає очевидним у віці 5-6 місяців, що призводить до ниркової недостатності і загибелі у віці 10-12 місяців.

Випробування 1

Випробування проводили для демонстрації того, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, полегшує ниркову патологію в мишачій моделі. Самок мишей NZB/W F1 віком 17 тижнів придбали у компанії Jackson Laboratories. Групам з 16 мишей вводили дози 100 мкг/кг/тиждень ISIS 516272 або ISIS 516323 протягом 20 тижнів. Іншій групі з 16 мишей вводили дози 100 мкг/кг/тиждень контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 протягом 20 тижнів. Іншій групі з 10 мишей вводили дози PBS протягом 20 тижнів і використовували в якості контрольної групи, з якою порівнювали всі інші групи. Кінцеві значення отримали через 48 годин після введення останньої дози.

Аналіз РНК CFB

Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Рівні мРНК нормалізували за допомогою RIBOGREEN®. Як показано в наведеній нижче таблиці, деякі антисмислові

олігонуклеотиди забезпечували зниження мишачого CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 204

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB у мишей NZB/W F1

ISIS №	Печінка	Нирки
516272	55	25
516323	63	43
141923	0	0

5 Протеїнурія

Протеїнурія очікується у 60 % тварин у зазначеній мишачій моделі. Кумулятивну частоту випадків виникнення тяжкої протеїнурії вимірювали розрахунком співвідношення загального білка до креатиніну, використовуючи клінічний аналізатор. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, забезпечує зниження протеїнурії у мишей, порівняно з контрольною групою з PBS і мишами, обробленими контрольним олігонуклеотидом.

10

Таблиця 205

Процентна кумулятивна частота випадків тяжкої протеїнурії у мишей NZB/W F1

	%
PBS	40
ISIS 516272	6
ISIS 516323	0
ISIS 141923	25

Вживаність

15

Вживаність мишей контролювали, підраховуючи кількість мишей на початку лікування, потім на 20 тижні. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, збільшує виживаність мишей, порівняно з контрольною групою з PBS і мишами, обробленими контрольним олігонуклеотидом.

Таблиця 206

Кількість мишей, що вижили і % виживаності

	Тиждень 1	Тиждень 20	% виживання на 20 тижні
PBS	10	6	60
ISIS 516272	16	15	94
ISIS 516323	16	16	100
ISIS 141923	16	12	75

20

Гломерулярне відкладення

Кількість відкладення C3, а також відкладення IgG у гломерулі вимірювали за допомогою імуногістохімії з анти-C3 антитілом. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, забезпечує зниження відкладень C3 і IgG у гломерулі, порівняно з контрольним зразком з PBS і мишами, обробленими контрольним олігонуклеотидом.

25

Таблиця 207

Процентне інгібування відкладень в гломерулі у мишей NZB/W F1

ISIS №	C3	IgG
516272	45	20
516323	48	2
141923	0	0

Випробування 2

Самок мишей NZB/W F1 віком 16 тижнів придбали у компанії Jackson Laboratories. Групі з 10 мишей вводили дози 100 мкг/кг/тиждень ISIS 516323 протягом 12 тижнів. Іншій групі з 10 мишей вводили дози 100 мкг/кг/тиждень контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 протягом 12 тижнів. Іншій групі з 10 мишей вводили дози PBS протягом 12 тижнів і використовували в якості контрольної групи, з якою порівнювали всі інші групи. Кінцеві значення отримали через 48 годин після введення останньої дози.

Аналіз РНК CFB

Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Як показано в наведеній нижче таблиці, лікування з ISIS 516323 забезпечує зниження мишачого CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 208

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB у мишей NZB/W F1

ISIS №	Печінка	Нирки
516323	75	46
141923	0	6

Протеїнурія

Кумулятивну частоту виникнення тяжкої протеїнурії оцінювали шляхом вимірювання співвідношення загального білка в сечі до креатиніну, а також шляхом вимірювання загального рівня мікроальбуміну. Результати представлені в наступних таблицях і демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, знижує протеїнурії у мишей, порівняно з контрольним зразком з PBS і мишами, обробленими контрольним олігонуклеотидом.

Таблиця 209

Протеїнурію у мишей NZB/W F1 вимірювали рівні мікроальбуміну в сечі (мг/дл)

ISIS №	Тиждень 0	Тиждень 6	Тиждень 8	Тиждень 10
516323	0	0	5,4	0,4
141923	0	8,28	8,6	5,6

Таблиця 210

Протеїнурію у мишей NZB/W F1 вимірювали як співвідношення загального білка до креатиніну

ISIS №	Тиждень 0	Тиждень 6	Тиждень 8	Тиждень 10
516323	5,5	7,8	8,6	7,2
141923	6,9	10,0	13,5	7,2

Вживаність

Вживаність мишей контролювали шляхом підрахунку кількості мишей на початку лікування, а потім на 12 тижні. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, збільшує виживаність мишей,

порівняно з контрольною групою з PBS і мишами, обробленими контрольним олігонуклеотидом.

Таблиця 211

Кількість мишей, що вижили

	Тиждень 1	Тиждень 12
PBS	10	9
ISIS 516323	10	10
ISIS 141923	10	9

Приклад 132: Вплив антисмислового інгібування CFB у мишачій моделі MRL

У мишачій моделі вовчакового нефриту MRL/lpr розвивається вовчаковий фенотип, який характеризується лімфаденопатією в результаті накопичення подвійних негативних (CD4⁺CD8⁻) і B220⁺T-клітин. Зазначені миші демонструють прискорену смертність. Крім того, миші мають більш високі концентрації циркулюючих імуноглобулінів, включаючи підвищені рівні аутоантитіл, таких як ANA, анти-олДНК, анти-дцДНК, антиі-Sm і ревматоїдні фактори, що призводить до великої кількості імунних комплексів (Andrews, B. et al., J. Exp. Med. 148: 1198-1215, 1978).

Лікування

Проводили випробування для вивчення того, чи викликає лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, регрес ниркової патології в мишачій моделі. Самок мишей MRL/lpr віком 14 тижнів придбали у компанії Jackson Laboratories. Групі з 10 мишей вводили дози 50 мкг/кг/тиждень ISIS 516323 протягом 7 тижнів. Іншій групі з 10 мишей вводили дози 50 мкг/кг/тиждень контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 протягом 7 тижнів. Іншій групі з 10 мишей вводили дози PBS протягом 7 тижнів і використовували в якості контрольної групи, з якою порівнювали всі інші групи. Кінцеві значення отримали через 48 годин після введення останньої дози.

Аналіз РНК CFB

Виділили РНК з тканин печінки для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Як показано в наведеній нижче таблиці, ISIS 516323 забезпечує зниження CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 212

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB у мишей MRL/lpr

ISIS №	%
516323	68
141923	4

Ниркова патологія

Ниркову патологію оцінювали двома способами. Гістологічні зрізи нирок фарбували гематоксилином та еозином. Контрольний зразок з PBS демонстрував наявність мультигломерулярних серповидних трубчастих циліндрів, що є симптомом гломерулосклерозу. Навпаки, зрізи від мишей, оброблених ISIS 516323, демонстрували відсутність серповидних трубчастих циліндрів з мінімальними фібротическими змінами боуменової капсули, від помірного до сильного розширення сегментарних мезангіальних клітин і потовщення гломерулярної базальної мембрани.

Накопичення C3 в нирках також оцінювали з допомогою імуногістохімії з анти-C3 антитілами. Імуногістохімічну оцінку інтенсивності C3 в цілій нирці розраховували за бальною системою інтенсивності, яку розраховували відбором 10 гломерул на нирку і підрахунком інтенсивності позитивного фарбування C3. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування з ISIS 516323 знижує накопичення C3 в нирках, порівняно з контрольними групами.

Таблиця 213

Накопичення C3 в нирках мишей MRL/lpr

	Оцінка інтенсивності C3 в цілій нирці	Кількісне визначення C3 (площа/загальна площа), % від середнього PBS
PBS	2,5	100
ISIS 516323	1,6	68
ISIS 141923	2,2	99

Рівні в плазмі C3

- 5 Зниження CFB інгібує активацію альтернативного шляху комплементу, перешкоджаючи поглинання C3 і приводячи до помітного підвищення рівнів C3 в плазмі. Рівні C3 в плазмі термінальної крові вимірювали за допомогою клінічного аналізатора. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування з ISIS 516323 підвищує рівні C3 ($p < 0,001$) в плазмі порівняно з контрольними групами.

Таблиця 214

Рівні C3 в плазмі (мг/дл) мишей MRL/lpr

ISIS №	C3
516323	28
141923	16

10

Результати демонструють, що лікування антисмисловими олігонуклеотидами, спрямованими на CFB, реверсують ниркову патологію в мишачій моделі вовчака.

Приклад 133: Вплив антисмислового інгібування CFB в мишачій моделі CFH Het

- 15 CFH гетерозиготна (CFH Het, CFH^{+/-}) мишача модель експресує мутантний білок фактора H в комбінації з мишачим білком повної довжини (Pickering, M. C. et al., J. Exp. Med. 2007. 204: 1249-56). Ниркова гістологія у цих мишей залишається нормальною до шестимісячного віку.

Випробування 1

- 20 Групами по 8 мишей CFH^{+/-} віком 6 тижнів вводили дози 75 мг/кг/тиждень ISIS 516323 або ISIS 516341 протягом 6 тижнів. Іншій групі з 8 мишей вводили дози 75 мг/кг/тиждень контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 протягом 6 тижнів. Іншій групі з 8 мишей вводили дози PBS протягом 6 тижнів і використовували в якості контрольної групи, з якою порівнювали всі інші групи. Кінцеві значення отримали через 48 годин після введення останньої дози.

Аналіз РНК CFB

- 25 Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Як показано в наведеній нижче таблиці, антисмислові олігонуклеотиди забезпечують зниження CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 215

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB у мишей CFH^{+/-}

ISIS №	Печінка	Нирки
516323	80	38
516341	90	44
141923	0	17

- 30 Рівні в плазмі C3

- 35 Зниження CFB інгібує активацію альтернативного шляху комплементу, перешкоджаючи поглинання C3 і приводячи до помітного підвищення рівнів C3 в плазмі. Рівні C3 в плазмі термінальної крові вимірювали за допомогою клінічного аналізатора. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування з ISIS 516323 підвищує рівні C3 в плазмі до нормальних рівнів.

Таблиця 216

Рівні C3 в плазмі (мг/дл) мишей CFH^{+/-}

ISIS №	C3
516323	15
516341	17
141923	8

Випробування 2

Групам по 5 мишей CFH^{+/-} вводили дози 12,5 мг/кг/тиждень, 25 мг/кг/тиждень, 50 мг/кг/тиждень, 75 мг/кг/тиждень або 100 мг/кг/тиждень ISIS 516323 або ISIS 516341 протягом 6 тижнів. Іншій групі з 5 мишей вводили дози 75 мкг/кг/тиждень контрольного олігонуклеотиду ISIS 141923 протягом 6 тижнів. Іншій групі з 5 мишей вводили дози PBS протягом 6 тижнів і використовували в якості контрольної групи, з якою порівнювали всі інші групи. Кінцеві значення отримали через 48 годин після введення останньої дози.

Аналіз РНК CFB

Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу CFB за допомогою ПЛР у реальному часі з використанням набору праймерних зондів RTS3430. Як показано в наведеній нижче таблиці, антисмислові олігонуклеотиди забезпечують зниження CFB порівняно з контрольним зразком з PBS дозозалежним чином. Результати представлені як відсоток інгібування CFB щодо контрольного зразка.

Таблиця 217

Процентне інгібування мРНК мишачого CFB в печінці мишей CFH^{+/-}

ISIS №	Доза (мг/кг/тиждень)	%
516323	12,5	34
	25	51
	50	72
	75	79
	100	92
516341	12,5	38
	25	57
	50	89
	75	92
	100	90
141923	75	13

Рівні в плазмі C3

Зниження CFB інгібує активацію альтернативного шляху комплементу, перешкоджаючи поглинання C3 і приводячи до помітного підвищення рівнів C3 в плазмі. Рівні C3 в плазмі термінальної крові вимірювали за допомогою клінічного аналізатора. Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що лікування олігонуклеотидами ISIS, спрямованими на CFB, підвищує рівні C3 в плазмі.

Таблиця 218

Рівні C3 в плазмі (мг/дл) мишей CFH^{+/-}

	Доза (мг/кг/тиждень)	C3
PBS	-	10,1
516323	12,5	11,4
	25	15,5
	50	17,0
	75	18,3
	100	18,8

Рівні СЗ в плазмі (мг/дл) мишей CFH^{+/+}

	Доза (мг/кг/тиждень)	СЗ
516341	12,5	12,1
	25	16,3
	50	18,6
	75	22,1
	100	19,1
141923	75	8,9

Приклад 134: Вплив антисмислових олігонуклеотидів ISIS, спрямованих на CFB людини, у яванських макаків

5 Яванських макаків лікували антисмисловими олігонуклеотидами ISIS, відібраними у дослідженнях, описаних у поданих вище прикладах. Оцінювали ефективність і переносимість антисмислових олігонуклеотидів, а також їх фармакокінетичний профіль у печінці та нирках.

10 Під час проведення випробувань геномна послідовність яванських макаків була відсутня у базі даних Національного центру біотехнологічної інформації (NCBI); тому перехресна реактивність з послідовністю гена яванських макаків не може бути підтверджена. Замість цього послідовності антисмислової олігонуклеотидів ISIS, використані на яванських макаках, порівнювали з послідовністю резус-макак на предмет гомології. Передбачається, що олігонуклеотиди ISIS з гомологією до послідовності резус-макаків, є також повністю перехресно реактивними з послідовністю яванських макаків. Випробувані людські антисмислові олігонуклеотиди є перехресно реактивними з геномної послідовності резусу (GENBANK номер 15 доступу NW_001116486.1, усиченої за нуклеотидам з 536000 за 545000, зазначений в цьому документі як SEQ ID NO: 3). Чим вище комплементарність між людським олігонуклеотидом і послідовністю макаки резус, тим імовірніше, що людський олігонуклеотид може перехресно реагувати з послідовністю макак резус. Сайти ініціації і термінації кожного олігонуклеотиду, спрямованого на SEQ ID NO: 3, представлені в наступній таблиці. "Сайт ініціації" позначає 20 крайній 5' нуклеозид, на який спрямований гепмер у послідовності гена резус-макака. "Неузгодженість" вказує на кількість азотистих основ у людському олігонуклеотиді, які не відповідають геномної послідовності резусу.

Таблиця 219

Антисмислові олігонуклеотиди, комплементарні до геномної послідовності CFB резусу (SEQ ID NO: 3)

ISIS №	Цільовий сайт ініціації	Розузгодження	Хімізм	SEQ ID NO
532770	6788	0	5-10-5 MOE	198
532800	7500	0	5-10-5 MOE	228
532809	7614	0	5-10-5 MOE	237
588540	7627	1	5-10-5 MOE	440
588544	7631	1	5-10-5 MOE	444
588548	7635	1	5-10-5 MOE	448
588550	7637	1	5-10-5 MOE	450
588553	7640	1	5-10-5 MOE	453
588555	7643	0	5-10-5 MOE	455
588848	7639	1	Дезокси, MOE і cEt	598
594430	6790	0	3-10-3 cEt	549

25 Лікування

Перед початком дослідження мавп витримували на карантині протягом щонайменше 30 днів, протягом яких щодня стежили за загальним станом здоров'я тварин. Вік мавп становив 2-4 роки, а маса від 2 до 4 кг. Одинадцять груп по 4-6 випадковим чином розподілених самців яванських макаків вводили підшкірні ін'єкції олігонуклеотиду ISIS або PBS у чотирьох місцях: на 30 спині за годинниковою стрілкою (тобто зліва, зверху, справа і знизу), за одним місцем на дозу.

Мавпам вводили чотири насичують дози PBS або 40 мг/кг ISIS 532800, ISIS 532809, ISIS 588540, ISIS 588544, ISIS 588548, ISIS 588550, ISIS 588553, ISIS 588555, ISIS 588848 або ISIS 594430 протягом першого тижня (1, 3, 5 і 7 день), а потім вводили дози один раз на тиждень протягом 12 тижнів (14, 21, 28, 35, 42, 49, 56, 63, 70, 77 і 84 день) PBS або 40 мг/кг олігонуклеотидів ISIS. ISIS 532770 випробували в окремому дослідженні з аналогічними умовами на двох самцях і двох самках яванських макаків в одній групі.

Зниження печінкової мішені

Аналіз РНК

На 86 день зібрали зразки печінки і нирок у двох примірниках (приблизно по 250 мг кожен) для аналізу мРНК CFB. Після розтину зразки швидко заморозили в рідкому азоті протягом близько 10 хвилин після приспання.

Виділили РНК з тканин печінки та нирок для аналізу експресії мРНК CFB за допомогою ПЛР у реальному часі. Результати представлені як відсоткова зміна мРНК щодо контрольного зразка з PBS, нормалізоване по RIBOGREEN®. Рівні РНК нормалізували також за конститутивному гену, циклофіліну А. Рівні РНК вимірювали за допомогою наборів праймерних зондів RTS3459, описаних вище, або RTS4445_MGB (пряма послідовність CGAAGAAGCTCAGTGAAATCAA, позначена в цьому документі як SEQ ID NO: 819; зворотна послідовність TGCCTGGAGGGCCCTCTT, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 820; послідовність зонда AGACCACAAGTTGAAGTC, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 815).

Як показано у поданих нижче таблицях, лікування антисмисловими олігонуклеотидами ISIS призводить до зниження мРНК CFB порівняно з контрольним зразком з PBS. Аналіз рівнів мРНК CFB показав, що деякі олігонуклеотиди ISIS знижують рівні CFB в печінці та/або нирках. "0" означає, що рівні експресії не були інгібовані. «*» означає, що олігонуклеотид відчували в окремому дослідженні з аналогічними умовами.

Таблиця 220

Процентне інгібування мРНК CFB в печінці яванського макака щодо контрольного зразка з PBS

ISIS №	RTS3459/ циклофілін А	RTS3459/ RIBOGREEN	RTS445_MGB/ циклофілін А	RTS445_MGB / RIBOGREEN
532770*	12	37	24	45
532800	54	45	56	46
588540	31	27	28	24
588548	68	67	68	67
588550	53	39	51	37
588553	74	59	74	59
588555	73	71	71	69
588848	9	0	6	0
594430	24	26	23	25

Таблиця 221

Відсоткове інгібування мРНК CFB в нирках яванського макака щодо контрольного зразка з PBS

ISIS №	RTS3459/ циклофілін А	RTS3459/ RIBOGREEN	RTS445_MGB/ циклофілін А	RTS445_MGB / RIBOGREEN
532770*	34	56	2	31
532800	36	30	43	37
588540	70	71	67	69
588548	83	84	82	83
588550	81	77	78	74
588553	86	84	86	85
588555	32	34	48	50
588848	89	91	87	90
594430	33	37	19	23

Аналіз білка

Близько 1 мл крові взяли у всіх доступних тварин на 85 день і помістили у пробірки, що містять калієву сіль ЕДТА. Зразки крові відразу помістили на вологий лід або Kryogask і центрифугували (3000 об./мін. протягом 10 хвилин при 4 °C) з отриманням плазми (0,4 мл) протягом 60 хвилин після збору. Рівні CFB в плазмі вимірювали в плазмі за допомогою радіальної іммунодифузії (RID), використовуючи поліклональне антитіло анти-фактор В. Результати представлені нижче в таблиці. ISIS 532770 випробували в окремому дослідженні, і в цій групі рівні білка в плазмі вимірювали на 91 або 92 день.

Аналіз CFB у плазмі показав, що деякі олігонуклеотиди ISIS стійко знижують рівні білка. ISIS 532770, який випробовували в окремому дослідженні, забезпечив зниження білка CFB на 91/92 день на 50 % відносно вихідних значень. Зниження рівнів білка CFB у плазмі добре корелює зі зниженням рівнів мРНК CFB у печінці у відповідних групах тварин.

Таблиця 222

Рівні білка в плазмі (% від вихідного значення) у яванських макаків

	День 1	День 30	День 58	День 72	День 86
PBS	113	115	95	83	86
ISIS 532800	117	68	52	39	34
ISIS 532809	104	121	100	80	71
ISIS 588540	108	72	61	40	38
ISIS 588544	118	74	53	33	29
ISIS 588548	110	41	28	20	16
ISIS 588550	104	64	54	38	37
ISIS 588553	97	42	35	18	16
ISIS 588555	107	35	37	18	18
ISIS 588848	116	95	92	69	71
ISIS 594430	104	64	59	45	46

Дослідження переносимості

Вимірювання маси тіла

Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на загальний стан здоров'я тварин вимірювали масу тіла та органів, і результати представлені в наступній таблиці. «*» означає, що олігонуклеотид відчували в окремому дослідженні з аналогічними умовами, і значення є середнім для вимірювань у самців і самок мавп. Результати демонструють, що вплив лікування антисмисловими олігонуклеотидами на масу тіла та органів знаходиться в межах очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів.

Таблиця 223

Кінцева маса тіла (г) яванських макаків

	День 1	День 14	День 28	День 42	День 56	День 70	День 84
PBS	2887	2953	3028	3094	3125	3143	3193
ISIS 532770*	2963	2947	2966	3050	3097	3138	3160
ISIS 532800	2886	2976	3072	3149	3220	3269	3265
ISIS 532809	2755	2836	2927	2983	3019	3071	3098
ISIS 588540	2779	2834	2907	2934	2981	3034	3057
ISIS 588544	2837	2896	3009	3064	3132	3163	3199
ISIS 588548	2694	2816	2882	2990	3073	3149	3161
ISIS 588550	2855	2988	3062	3188	3219	3282	3323
ISIS 588553	3033	3156	3256	3335	3379	3372	3442
ISIS 588555	2757	2863	2965	3022	3075	3088	3158
ISIS 588848	2850	3018	3032	3187	3230	3212	3291
ISIS 594430	2884	2963	2953	3149	3187	3204	3256

Таблиця 224

Кінцева маса органів (г) яванських макаків

	Селезінка	Серце	Нирки	Печінка
PBS	2,8	11,6	11,9	55,8
ISIS 532770*	5,0	11,3	20,6	77,9
ISIS 532800	6,2	11,9	18,6	94,4
ISIS 588540	4,0	11,4	13,5	67,1
ISIS 588548	4,1	11,7	17,3	72,0
ISIS 588550	5,8	10,9	18,5	81,8
ISIS 588553	5,0	12,7	17,2	85,9
ISIS 588555	4,7	11,8	15,9	88,3
ISIS 588848	5,0	12,7	14,4	75,7
ISIS 594430	3,9	11,9	14,8	69,9

Функція печінки

- 5 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію печінки з усіх експериментальних груп взяли зразки крові. Зразки крові брали з головного, підшкірної або стегнової вени через 48 годин після введення дози. Мавпи не приймали їжу протягом ночі до збору крові. Кров (1,5 мл) збирали в пробірки без антикоагулянту для відділення сироватки. Пробірки витримували при кімнатній температурі протягом не менше 90 хвилин, а потім центрифугували (3000 об./мін. протягом 10 хвилин) для отримання сироватки. Рівні різних маркерів функції печінки
- 10 вимірювали за допомогою аналізатора хімічного складу Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Японія).

- 15 Вимірювали рівні ALT та AST у плазмі, і результати, виражені в МЕ/л, представлені в наступній таблиці. Таким-саме чином вимірювали білірубін, маркер функції печінки, і результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. «*» означає, що олігонуклеотид відчували в окремому дослідженні з аналогічними умовами, і значення є середнім для вимірювань у самців і самок мавп. Результати демонструють, що більшість антисмислових олігонуклеотидів не мають впливу на функцію печінки, що виходить за межі очікуваного діапазону для антисмислових олігонуклеотидів.

Таблиця 225

Рівні хімічних маркерів печінки в плазмі яванських макаків на день 86

	ALT (од./л)	AST (од./л)	Білірубін (мг/дл)
PBS	71	57	0,3
ISIS 532770*	59	58	0,1
ISIS 532800	65	86	0,1
ISIS 532809	35	58	0,1
ISIS 588540	70	88	0,2
ISIS 588544	55	97	0,2
ISIS 588548	61	85	0,2
ISIS 588550	94	84	0,2
ISIS 588553	44	65	0,2
ISIS 588555	63	84	0,2
ISIS 588848	69	65	0,2
ISIS 594430	86	53	0,2

Функція нирок

- 20 Для оцінки впливу олігонуклеотидів ISIS на функцію нирок з усіх експериментальних груп взяли зразки крові. Зразки крові брали з головного, підшкірної або стегнової вени через 48 годин після введення дози. Мавпи не приймали їжу протягом ночі до збору крові. Кров збирали в пробірки без антикоагулянту для відділення сироватки. Пробірки витримували при кімнатній температурі протягом не менше 90 хвилин, а потім центрифугували (3000 об./мін. протягом 10 хвилин) для отримання сироватки. Рівні АМК і креатиніну вимірювали за допомогою аналізатора
- 25

хімічного складу Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Японія). Результати, виражені в мг/дл, представлені в наступній таблиці. «*» означає, що олігонуклеотид відчували в окремому дослідженні з аналогічними умовами, і значення є середнім для вимірювань у самців і самок мавп.

- 5 Для аналізу сечі свіжу сечу всіх тварин збирали вранці, використовуючи чистий лоток для клітки на мокрому льоду. За день до збору сечі тваринам протягом ночі не давали їжу, залишивши тільки воду. Зразки сечі (близько 1 мл) аналізували на співвідношення білка до креатиніну (P/C) за допомогою автоматизованого аналізатора хімічного складу Toshiba 200FR NEO (Toshiba Co., Японія). "н. д.» означає, що рівень білка в сечі нижче межі виявлення аналізатора.

- 10 Дані хімічного аналізу плазми і сечі показують, що більшість олігонуклеотидів ISIS не робило якого-небудь впливу на ниркову функцію за межами очікуваного для антисмислових олігонуклеотидів діапазону.

Таблиця 226

Рівні хімічних маркерів нирок (мг/дл) у плазмі яванських макаків на день 86

	АМК	Креатинін	Загальний білок
PBS	28	0,9	8,0
ISIS 532770*	20	0,9	6,9
ISIS 532800	25	0,9	7,5
ISIS 532809	23	0,8	7,4
ISIS 588540	30	0,8	7,5
ISIS 588544	26	0,9	7,4
ISIS 588548	25	0,9	7,6
ISIS 588550	24	0,9	7,2
ISIS 588553	25	0,8	7,2
ISIS 588555	25	0,8	7,6
ISIS 588848	24	0,9	7,5
ISIS 594430	25	0,8	7,2

15

Таблиця 227

Рівні хімічних маркерів нирок в сечі яванських макаків на 44 день і день 86

	День 44	День 86
PBS	0,03	н.д.
ISIS 532800	0,01	н.д.
ISIS 532809	0,01	н.д.
ISIS 588540	0,03	н.д.
ISIS 588544	0,01	0,09
ISIS 588548	0,01	0,01
ISIS 588550	0,04	0,01
ISIS 588553	0,05	н.д.
ISIS 588555	0,03	0,03
ISIS 588848	0,09	н.д.
ISIS 594430	0,03	н.д.

Гематологія

- 20 Щоб оцінити вплив олігонуклеотидів ISIS на гематологічні параметри яванських макаків, зразки крові об'ємом близько 0,5 мл крові відбирали у кожного з доступних експериментальних тварин у пробірки, що містять K₂-ЕДТА. Зразки аналізували на вміст червоних кров'яних тілець (ККТ), вміст білих кров'яних тілець (БКТ), кількість окремих білих кров'яних тілець, таких як моноцити, нейтрофіли, лімфоцити, а також на кількість тромбоцитів, вміст гемоглобіну і гематокриту, використовуючи аналізатор гематології ADVIA120 (Bayer, США). Дані представлені в наступних таблицях. «*» означає, що олігонуклеотид відчували в окремому дослідженні з аналогічними умовами, і значення є середнім для вимірювань у самців і самок мавп.
- 25

Дані показують, що олігонуклеотиди не викликали будь-яких змін гематологічних параметрів за межами очікуваного для антисмислових олігонуклеотидів діапазону.

Таблица 228

Кількість кров'яних клітин у яванських макаків

	ККТ ($\times 10^6/\text{мкл}$)	Тромбоцити ($\times 10^3/\text{мкл}$)	БКТ ($\times 10^3/\text{мкл}$)	Нейтрофіли (% БКК)	Лімфоцити (загальний %)	Моноцити (загальний %)
PBS	5,8	347	9,4	42,7	53,1	3,0
ISIS 532770*	5,4	386	10,8	22,3	71,7	3,3
ISIS 532800	5,6	360	13,1	29,5	61,1	6,5
ISIS 532809	5,2	400	11,5	56,6	38,2	2,5
ISIS 588540	5,5	367	11,7	50,9	42,7	2,1
ISIS 588544	5,2	373	14,3	56,6	37,6	4,3
ISIS 588548	5,1	373	9,7	40,4	54,3	3,9
ISIS 588550	6,1	343	9,9	32,1	61,7	4,6
ISIS 588553	5,2	424	9,3	41,7	53,2	3,6
ISIS 588555	5,1	411	9,6	45,1	49,7	3,5
ISIS 588848	5,7	370	10,0	39,8	55,8	3,1
ISIS 594430	5,7	477	10,6	47,3	47,8	3,6

5

Таблица 229

Гематологічні параметри у яванських макаків

	Гемоглобін (г/дл)	HCT (%)
PBS	14,1	46,6
ISIS 532770*	12,4	40,9
ISIS 532800	12,3	40,5
ISIS 532809	12,2	40,4
ISIS 588540	12,5	41,5
ISIS 588544	11,9	38,1
ISIS 588548	12,3	39,6
ISIS 588550	13,4	45,0
ISIS 588553	12,6	39,8
ISIS 588555	11,6	38,1
ISIS 588848	13,2	42,7
ISIS 594430	13,4	43,1

Вимірювання концентрації олігонуклеотиду

Концентрацію олігонуклеотиду повної довжини вимірювали в тканинах нирок та печінки. Використані способи являють собою модифікацію раніше опублікованих способів (Leeds et al., 1996; Geary et al., 1999), які складаються з екстракції фенолом-хлороформом (рідина-рідина) з подальшою твердофазною екстракцією. Концентрації у зразку тканини розраховували за допомогою калібрувальних кривих, де нижня межа кількісного виявлення (LLOQ) становить близько 1,14 мкг/р. Результати, виражені в мкг/г тканини печінки або нирок, представлені в наступній таблиці.

10

15

Таблиця 230

Розподіл антисмислових олігонуклеотидів

	Нирки (мкг/г)	Печінка (мкг/г)	Співвідношення нирки/печінка
ISIS 532800	3881	1633	2,4
ISIS 588540	3074	1410	2,2
ISIS 588548	3703	1233	3,0
ISIS 588550	4242	860	4,9
ISIS 588553	3096	736	4,2
ISIS 588555	4147	1860	2,2
ISIS 588848	2235	738	3,0
ISIS 594430	1548	752	2,1

Приклад 135: 6-Тижневе випробування ефективності несполучених та 5'-THA-GalNAc3 сполучених антисмислових олігонуклеотидів, спрямованих на людський CFB, у трансгенних мишей

Два антисмислових олігонуклеотида, що мають однакову послідовність азотистих основ: несполучений антисмисловий олігонуклеотид ISIS 588540 і 5'-THA-GalNAc3-сполучений антисмисловий олігонуклеотид ISIS 696844, відчували у трансгенних мишей з людським CFB (hCFB-Tg миші).

Мишам підшкірно вводили ISIS 696844 в дозах 0,1, 1,25, 0,5, 2,0, або 12,0 6,0 мг/кг/тиждень або ISIS 588540 в дозах 2, 6, 12, 25 або 50 мг/кг/тиждень, протягом 6 тижнів. Контрольній групі мишей підшкірно вводили PBS протягом 6 тижнів. Мишей приспали через 48 годин після введення останньої дози. Рівні мРНК у печінці аналізували за допомогою кількісної ПЛР у реальному часі.

Випробування 1

Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що 5'-THA-GalNAc3-сполучений антисмисловий олігонуклеотид, спрямований на CFB, є більш ефективним, ніж несполучений антисмисловий олігонуклеотид з такою-самою послідовністю.

Таблиця 231

Ефективність антисмислових олігонуклеотидів, спрямованих на CFB

	ЕД ₅₀ (мг/кг)	ЕД ₇₅ (мг/кг)
ISIS 588540	4,52	9,26
ISIS 696844	0,52	1,12

Випробування 2

Рівні мРНК в печінці вимірювали з двома різними наборами праймерних зондів, спрямованими на різні області мРНК, і нормалізували за RIBOGREEN® (RGB) або циклофіліну. Набори праймерних зондів являли собою RTS3459, описаний вище, і RTS3460 (пряма послідовність CGAAGCAGCTCAATGAAATCAA, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 813; зворотна послідовність TGCCTGGAGGGCCTTCTT, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 814; послідовність зонда AGACCACAAGTTGAAGTC, зазначена в цьому документі як SEQ ID NO: 815). Результати представлені в наступній таблиці демонструють, що 5'-THA-GalNAc3-сполучений антисмисловий олігонуклеотид, спрямований на CFB, є більш ефективним, ніж несполучений антисмисловий олігонуклеотид з такою-самою послідовністю, незалежно від використовуюваного набору праймерних зондів.

Ефективність антисмислових олігонуклеотидів, спрямованих на CFB

	ЕД ₅₀ RTS3459 (RGB)	ЕД ₅₀ RTS3460 (RGB)	ЕД ₅₀ RTS3459 (циклофіл ин)	ЕД ₅₀ RTS3460 (циклофіл ин)	ЕД ₇₅ RTS3459 (RGB)	ЕД ₇₅ RTS3460 (RGB)	ЕД ₇₅ RTS3459 (циклофіл ин)	ЕД ₇₅ RTS3460 (циклофіл ин)
ISIS 588540	4,5	4,1	5,2	5,4	9,3	10,0	10,0	9,3
ISIS 696844	0,5	0,5	0,6	0,5	1,1	1,3	1,2	0,9

ПЕРЕЛІК ПОСЛІДОВНОСТЕЙ

- 5 <110> Isis Pharmaceuticals
- <120> КОМПОЗИЦІЇ ТА СПОСОБИ МОДУЛЮВАННЯ ЕКСПРЕСІЇ ФАКТОРА КОМПЛЕМЕНТУ В
- <130> BIOL0251WO
- 10 <150> 62/076273
<151> 2014-11-06
- <150> 61/987471
- 15 <151> 2014-05-01
- <160> 854
- <170> PatentIn версії 3.5
- 20 <210> 1
<211> 2646
<212> ДНК
<213> Homo sapiens
- 25 <400> 1
gacttctgca gtttctgttt ccttgactgg cagctcagcg gggccctccc gcttgatgt 60
tccgggaaag tgatgtgggt aggacaggcg gggcgagccg caggtgccag aacacagatt 120
30 gtataaaagg ctgggggctg gtggggagca ggggaaggga atgtgaccag gtctaggtct 180
ggagtttcag cttggacact gagccaagca gacaagcaaa gcaagccagg acacaccatc 240
35 ctgccccagg ccagcttct ctcctgcctt ccaacgccat ggggagcaat ctgagcccc 300
aactctgcct gatgcccttt atcttgggcc tctgtctgg aggtgtgacc accactccat 360
ggcttttggc ccggccccag ggatcctgct ctctggaggg ggtagagatc aaaggcggct 420
40 ccttccgact tctccaagag ggccaggcac tggagtacgt gtgtccttct ggcttctacc 480

cgtaccctgt gcagacacgt acctgcagat ctacggggtc ctggagcacc ctgaagactc 540
 aagacaaaa gactgtcagg aaggcagagt gcagagcaat cactgtcca agaccacacg 600
 5 acttcgagaa cggggaatac tggccccgt ctcctacta caatgtgagt gatgagatct 660
 cttccactg ctatgacggt tacactctcc ggggctctgc caatcgacc tgccaagtga 720
 atggccgatg gactgggcag acagcgatct gtgacaacgg agcggggtag tgctccaacc 780
 10 cgggcatccc cattggcaca aggaaggtgg gcagccagta ccgccttgaa gacagcgtca 840
 cctaccactg cagccggggg cttaccctgc gtggctcca gcggcgaacg tgcaggaag 900
 15 gtggctcttg gagcgggacg gagccttct gccaaagactc cttcatgtac gacaccctc 960
 aagaggtggc cgaagctttc ctgtcttccc tgacagagac catagaagga gtcgatgtg 1020
 aggatgggca cggcccaggg gaacaacaga agcggaagat cgtctggac cttcaggct 1080
 20 ccatgaacat ctacctggtg ttagatggat cagacagcat tggggccagc aactcacag 1140
 gagcaaaaa gtgtctagtc aacttaattg agaaggtggc aagttatggt gtgaagccaa 1200
 25 gatatggtct agtgacatat gccacatacc caaaatttg ggtcaaagt tctgaagcag 1260
 acagcagtaa tgcagactgg gtcacgaagc agtcaatga aatcaattat gaagaccaca 1320
 agttgaagtc agggactaac accaagaagg ccctccaggc agtgtacagc atgatgagct 1380
 30 ggccagatga cgtccctcct gaaggctgga accgcaccg ccatgtcatc atcctcatga 1440
 ctgatggatt gcacaacatg ggcggggacc caattactgt cattgatgag atccgggact 1500
 35 tgctatacat tggcaaggat cgcaaaaacc caagggagga ttatctggat gtctatgtgt 1560
 ttggggtcgg gcctttggtg aaccaagtga acatcaatgc ttggcttcc aagaaagaca 1620
 atgagcaaca tgtttcaaa gtcaaggata tggaaaacct ggaagatgtt ttctacaaa 1680
 40 tgatcgatga aagccagtct ctgagtctct gtggcatggt ttgggaacac aggaagggtg 1740
 ccgattacca caagcaacca tggcaggcca agatctcagt cattcgcct tcaaaggac 1800
 45 acgagagctg tatgggggct gtggtgtctg agtactttgt gctgacagca gcacattgtt 1860
 tcactgtgga tgacaaggaa cactcaatca aggtcagcgt aggaggggag aagcgggacc 1920
 tggagataga agtagtcta tttacccca actacaacat taatgggaaa aaagaagcag 1980
 50 gaattcctga atttatgac tatgacgttg ccctgatcaa gctcaagaat aagctgaaat 2040

atggccagac tatcaggccc attgtctcc cctgcaccga gggaacaact cgagctttga 2100
 ggcttcctcc aactaccact tgccagcaac aaaaggaaga gctgctcct gcacaggata 2160
 5 tcaaagctct gtttgtgtct gaggaggaga aaaagctgac tcggaaggag gtctacatca 2220
 agaatgggga taagaaaggc agctgtgaga gagatgctca atatgcccc ggctatgaca 2280
 aagtcaagga catctcagag gtggtcacc ctcggttcct ttgtactgga ggagtgagtc 2340
 10 cctatgctga cccaataact tgcagagggtg attctggcgg ccccttgata gttcacaaga 2400
 gaagtctgtt cattcaagtt ggtgtaatca gctggggagt agtgatgct tgcaaaaacc 2460
 15 agaagcggca aaagcaggta cctgctcag cccgagactt tcacatcaac ctctttcaag 2520
 tgctgccctg gctgaaggag aaactccaag atgaggattt gggttttcta taagggttt 2580
 cctgctggac aggggcgtgg gattgaatta aaacagctgc gacaacaaaa aaaaaaaaaa 2640
 20 aaaaaa 2646
 <210> 2
 <211> 9001
 25 <212> ДНК
 <213> Homo sapiens
 <400> 2
 ggaggtgagg gtctcaggtt ggggatgctg ggatccccct gtgacagctc ccagaatgtc 60
 30 tctcttcctt ctccaggtct ggctgcttc tctctctgac gcgggtcacc cctctccca 120
 agcctcacia acctgctagg tgtccctggg tctgcttatt cttttttgt tgtattgag 180
 35 atggagtctt gctctgtctc ccaggctgga gtgcagtggc acgacctcag ctactgcaa 240
 cttctgcctc ctgggttcaa gcgattctcc tacttcagcc tcccagtag ctgagattac 300
 aggtgccac caccacacca gctaatttt gtatttttag tagagacggg atttcgcat 360
 40 gttggccagg atggtcttga actcctgacc tcaagtgatc tgctgcctc aacctccaa 420
 agtgctgaga ttacaggcgt gagccactgc acccaccgg gtctgcttat tctaccctc 480
 45 tctctggtc caccctgct gcagtggaca agctgtgccg aggtgtctc ccaagaaaaa 540
 accatgttcc ccaactgac agatgtcagg gagtggtga cagaccagtt cctatgcagt 600
 gggaccagg aggatgagag tcctgcaag ggtgagtc taccatgcc tggattcca 660
 50 aggggaaggc cacctgtgtc tctgtggcca gcatgcatgc cagaacacca gtccactgcc 720

ctagatgaca ctgtctcctg tcaccctttg ctggcaggag aatctggggg agcagttttc 780

cttgagcgga gattcaggtt ttttcaggtg agaaggtaga agcttgagg acccaggggt 840

5 tacaggatct cagccttgtt ggggggatga gggaggcctt tgagggatct agggaggttg 900

gggcttacag ttggggctgt ggcagcctcc cagccagttc tctcctttc tccaggtggg 960

tctggtgagc tggggctttt acaaccctg ccttggctct gctgacaaaa actcccga 1020

10 aagggccctt ctagcaagg tcccgccgc acgagacttt cacatcaatc tcttccgcat 1080

gcagccctgg ctgaggcagc acctggggga tgcctgaat ttttaccct ttagccatg 1140

15 gccactgagc cctctgctgc cctgccagaa tctgccgcc ctccatcttc taccttgaa 1200

tggccacct tagacctgt gatccatct ctctctagc tgagtaaac cggtctcta 1260

ggatgccaga ggcagcgac acaagctggg aaatcctcag ggctcctacc agcaggactg 1320

20 cctcgtgcc ccacctccg ctcttggcc tgtcccaga ttccttcct ggttgacttg 1380

actcatgctt gtttacttt cacatggaat tcccagttg tgaattaat aaaaatcaat 1440

25 ggtttccaca tctctcagtg cctctatctg gaggccaggt agggctggcc ttgggggagg 1500

gggaggccag aatgactcca agagctacag gaaggcaggt cagagacccc actggacaaa 1560

cagtggctgg actctgcacc ataacacaca atcaacaggg gagttagctg gatccttatt 1620

30 tctggtcctt aagtgggtgg tttgggctta ctggggagga gctaaggccg gagaggaggt 1680

actgaagggg agagtcctgg accttggca gcaaagggtg ggacttctgc agtttctgtt 1740

35 tccttgactg gcagctcagc ggggccctcc cgcttggatg ttccgggaaa gtgatgtggg 1800

taggacaggc ggggcgagcc gcaggtgcca gaacacagat tgtataaaag gctgggggct 1860

ggtaggggagc aggggaaggg aatgtgacca ggtctaggct tggagtttca gcttgacac 1920

40 tgagccaagc agacaagca agcaagccag gacacacat cctgccccag gccagcttc 1980

tctctgcct tccaacgcca tggggagcaa tctcagcccc caactctgcc tgatgccctt 2040

45 tatcttgggc ctctgtctg gaggtagcg agggtaacct tcccttctg ctgtctccag 2100

catccctct tggcctttt gggccaggct tcatcagcct ttctctcag gtgtgaccac 2160

cactccatgg tctttggccc ggccccagg atctgtctct ctggaggggg tagagatcaa 2220

50 aggcggctcc ttccgacttc tccaagagg ccaggcactg gactacgtgt gtccttctgg 2280

ctctacccg tacctgtgc agacacgtac ctgcagatct acggggctct ggagcaccct 2340
 gaagactcaa gacaaaaga ctgtcaggaa ggagagtgac agaggtttga gggcaatgag 2400
 5 tgtgggcagt ggcctaaggc agaaacaggg caggcggcag caaggtcagg actaggatga 2460
 gactaggcag ggtgacaagg tgggctgacc gggagtagga gcagttttag ggtggcaggc 2520
 ggaaaggggg caagaaaaag cggagttaac cttactaag cattaccct gggcttcag 2580
 10 gcagccctgg aagtcaagag aacactcaga aatggggagg gagaagcagt ggaaatccat 2640
 atgggttag gagtaggtaa gatgctgctt ctgcgggact gggaatgcgc tgtttctcag 2700
 15 tgacatggtc tccgagacca ggagggatac acctaaggca gcctttccct cttgatgact 2760
 tctactgtc ccccttctc aaagcaatcc actgtccaag accacacgac ttcgagaacg 2820
 gggaatactg gccccggtct cctactaca atgtgagtga tgagatctct ttccactgct 2880
 20 atgacgggta cactctccgg ggctctgcca atcgcacctg ccaagtgaat ggccgatgga 2940
 gtgggcagac agcgatctgt gacaacggag gtgagaagca tcccctccc ctacattgct 3000
 25 gtctccctga cggcgcccag cccgaggagt gggcactcgg ctccggacac tgtaactctt 3060
 gctctctacc ttgctcacgg ggctcaggc ttcaagtctt acctgatgt ctcatcctc 3120
 tgcagcgggg tactgtcca acccgggcat cccattggc acaaggaagg tgggcagcca 3180
 30 gtaccgcctt gaagacagcg tcacctacca ctgcagccgg gggcttacc tgcgtggctc 3240
 ccagcggcga acgtgtcagg aaggtggctc ttggagcggg acggagcctt cctgccaagg 3300
 35 tgacctttga cctgtacccc caggtcagat cctggtctc catcctactg tcttctctcc 3360
 ccacctcaac cctgctctt cctcatttg tttaaaccct cctgtacaac tatctcactt 3420
 ctgagcctt tataccctgg aaacctatga tccccgtct ctttggtcac tgtatccctg 3480
 40 acactcccag acatttgacc tcatttctga ctctcccaga ctcttcatg tacgacccc 3540
 ctcaagaggt ggccgaagct ttctgtctt cctgacaga gaccatagaa ggagtcgatg 3600
 45 ctgaggatgg gcacggccca ggtttgaaga cagagaaggg aggcagggca gggaactggg 3660
 ggaaaatgga gaaggacag aactgttaat gctggagcct gagccactct cctggcacc 3720
 aggggaacaa cagaagcggg agatcgtctt ggacccttca ggctccatga acatctacct 3780
 50 ggtgctagat ggatcagaca gcattggggc cagcaacttc acaggagcca aaaagtgtct 3840

agtcaactta attgagaagg tggaatcctc ctatccctga actcggggga atggaatctc 3900
 gctgatcttc caggactagc tccctgatca ttccagcccc tctgaacaac agggccccag 3960
 5 gaaaatctcc aggtcctatt ctgtcctcct tcccttttac ttgaagcagt ttcttgactg 4020
 gtaattcctc catgaacctc agcccttgag cctcttactg agagcctccc tgtcccagca 4080
 aagtcgctga aatctcccaa tcacagtatt ctattttcaa tgccatggcg cttgtttctc 4140
 10 ctcaccacaa ggtggcaagt tatggtgtga agccaagata tggctagtac acatatgcca 4200
 catacccaaa aatttgggtc aaagtgtctg aagcagacag cagtaatgca gactgggtca 4260
 15 cgaagcagct caatgaaatc aattatgaag gtcagagggt agggaatggt gggagggtca 4320
 ctttggggtc aggagggtca ggtgggaggg ggtcatgaga ctaccttgag ggcgacaggg 4380
 aggaccactt tgtagtcaaa agttgaacag caggatcgtt gggcaatgga ggttagtggg 4440
 20 aacctgttgg gggctggaag ggccactttg tggtaaagg gaagtccgtg taatgatgat 4500
 taacttaaaa agttgaaaga tgtgggattt cagttgcaga ttggtctctg gggtaaaaag 4560
 25 atggcttggg agaccagggt aggtgatggt ctctccctc tccacagacc acaagttgaa 4620
 gtcaggggact aacaccaaga aggcctcca ggcagtgtac agcatgatga gctggccaga 4680
 tgacgtccct cctgaaggct ggaaccgcac ccgcatgtc atcatcctca tgactgatgg 4740
 30 tcagaaggga cctctctcct gtccagcct cccaccttc tcagaccagc atgtggcctc 4800
 taagtccact tgtaacacta taccatggt tggggccctg aatgtgactc atagctggct 4860
 35 gttcatctct cctgtgacct ttcataagga attcttcta agccctgtga tcaactatct 4920
 ctaacccttc ctcaactgc tcaccctgcc atgtgtatcc ctgccttag ccagtttatc 4980
 ttccttatct cctaccctca tggctctgtc tctctgcag gattgcacaa catgggcggg 5040
 40 gaccaatta ctgtcattga tgagatccgg gacttgctat acattggcaa ggatcgcaaa 5100
 aaccaaggg aggattatct gggtagtaa cctgcctagg acccagcacc ccacttcctc 5160
 45 agggcttggg ccctcatcct tctttttat ccctcagatg tctatgtgtt tggggtcggg 5220
 ccttgggtga accaagtga catcaatgct ttggcttcca agaaagacaa tgagcaacat 5280
 gtgttcaaag tcaaggatat ggaaaacctg gaagatgttt tctaccaa at gatcggtagg 5340
 50 gagatacaag ggaataaaga acacaactct cctcaggttc ccctgaagta attcattctt 5400

cctctacacc tgaagctcta gttgcctgga aagccttctt cattcctcct tctctacctc 5460

agtgtcacta ttcttgtttc ctggcactgt tcaacttaacc ttagaatcac agagctctga 5520

5 gcacttcaga gatctttcta tagtcctaca ttgacacgt ggaaacagaa gccaaaggag 5580

gtcaaggac agcaagttag caacaagggt gggcttgaac acagccaggc ctctgacagc 5640

ttgatccaa gttctttccc tttcagtc accatagcag tttctccta acacaggaa 5700

10 acaaatcccc gtggtctttc cttttctct tttgggcctt tgctcccat agactcctac 5760

ccaaaaggct gctgccattt gggaatgaag tgtccgagt tttcagcaca ttctccttct 5820

15 ctgccagatg aaagccagtc tctgagtc tgtggcatgg ttgggaaca caggaagggt 5880

accgattacc acaagcaacc atggcaggcc aagatctcag tcattgtaag cacagaatcc 5940

cagtagtggg gacttggggg aggtgagtc aagtgaaat gggagtaggg gaaggaaaaa 6000

20 atggcataa gagatggtgg ttgtgaaag ttgagcttc cctcttact gttgtgtccc 6060

cagcgcctt caaaggaca cgagagctgt atggggctg tgggtctga gtacttttg 6120

25 ctgacagcag cacattgtt cactgtgat gacaaggaac actcaatca ggtcagcgt 6180

ggtaaggatg caactgaagg tcctgggctg cacctatgct ctccaggca cacctccac 6240

ttctacaga tcctacact caccatct caatgcagcc ccattcctg caccacagac 6300

30 cagttaggga tgggggaaga cgtgaagta ggaatgacac ggggccagag gcaggaagct 6360

gcccacaaag aggtgttacc tactctcta cttcaggagg ggagaagcgg gacctggaga 6420

35 tagaagtagt cctatttcac cccaactaca acattaatgg gaaaaagaa gcaggaattc 6480

ctgaatttta tgactatgac gttgccctga tcaagctcaa gaataagctg aaatatggcc 6540

agactatcag gtgagagcgt ccagatccct gaggaaggc tgggaaaggc tggaggactg 6600

40 gggtaggag caggcctggt ttgctgttct cttgtcctt tataggcca tttgtctccc 6660

ctgcaccgag ggaacaactc gagcttgag gcttctcca actaccact gccagcaaca 6720

45 aagtaagaca tacttgcaa gaggataagg atgagatccc aagagacaag tggggcatga 6780

gaggaggtg caataggaag agatgatgcc tggccagaa ctagctcta gaaggctta 6840

ggggacatct actgagtac aaaggcaatg gggagatgac agtggtgga gcagctgaag 6900

50 tgacgcagtc tattcgtcca gaggaagagc tgctcctgc acaggatatc aaagctctgt 6960

ttgtgtctga ggaggagaaa aagctgactc ggaaggaggt ctacatcaag aatggggata 7020
 aggtgagaaa cgggcatcct aaggaggcac tctaggcccc aatccttct aagccacttc 7080
 5 tgttcattac ttctcatgc ttccacctc cctacagaa aggcagctgt gagagagatg 7140
 ctcaatatgc cccaggctat gacaaagtca aggacatctc agaggtagtc acccctcggt 7200
 tcctttgtac tggaggagtg agtcctatg ctgaccccaa tacttgacaga ggtgagagaa 7260
 10 tgctctttgg ttgtgctaca agtgcccaag gcccaacagt ctttttctt acagtttctc 7320
 ctctccttgc aggtgattct ggcggcccct tgatagtta caagagaagt cgtttcattc 7380
 15 aagtgagtcc tcccttctct atctggggag atgccaagt gtcagcatgg gcccacaaagc 7440
 aggaaagctc aatgcatgtg gctagtaatt cgaggtaggc agagcctgcc tcacctagg 7500
 accgcatgtc ttgcctgcgt gtgtcaagaa cgaggctgag ctgggtccct agtctgattc 7560
 20 ctttaggtca gctaagacac aagcaggaac agccatgctt ccaggattag gaattctact 7620
 gaatgatcca tggcacccca ctgcctctgc aggttggtgt aatcagctgg ggagtagtgg 7680
 25 atgtctgcaa aaaccagaag cggcaaaagc aggtacctgc tcacgcccga gactttcaca 7740
 tcaacctctt tcaagtgtg ccctggctga aggagaaact ccaagatgag gatttgggtt 7800
 ttctataagg ggtttctgc tggacagggg cgtgggattg aattaaaaca gctgcgacaa 7860
 30 cacctgtgtt ccagatcctt ttggggcaag ggagtgggga acaggcactg gccatgttgt 7920
 taaactgaga tcaaacctga cagccgtttt taaagttta accccaatcc caagtgtga 7980
 35 aaaaccagag gctgaggag atgtgtaagc ttccacctca gtgttttact gagaccagca 8040
 ttggggcata tgaggacaaa ggaatccagc tctgttcct agaagccatc cacaaggttt 8100
 tcctttaga cgtcatcact gtagacaatc tgggtcctt tgtcccggtg gcaaccctta 8160
 40 gggctgttct ggacagctag ggaggagga gaggaacagt taaggtctaa aggagatcat 8220
 agaacagacc ctgaggctga ctctgacca cctcactcct ggccactggc ccctggaagc 8280
 45 ccagtttcca cgctgccctc tggtagccag gatggcctgt cttccttagc tcctttgtgc 8340
 caacccatgg ccaagaaaag tataagtga cattttgatg aatgtttgt tcttagaaaa 8400
 atcccaaatg tcattgtga gacacgtgaa tgatattaac ccactactta cagtcatg 8460
 50 gtcagaagct aaaaactaga aaacctctgt agccctttt tgacatgctg gtcaattcta 8520

gttcctttct ttgcctgaa gggccactgt agctgagccc ttctttctgc tcaactcctt 8580

cccaggaaaa tctactttca gggaaaatgg attattcaca ctaagaaatg ctactagctc 8640

5 caccagaact cattcagggt gtagctttgg ccctcacat tctctctcaa gcctctagct 8700

gtttcttccc ctctctctt cctccctcca ccagacatgt tactctcttc acccatcca 8760

atggttccat cccaccacc ctgagctac agagaatctc tctcaccac tccatcctg 8820

10 tgatctctgt gcctcaacac tgctggctac tccctcttc tcaaagtggtg tgccttttg 8880

cttcagtggc ccaggccct gcggtgctgc tccagccct ccgaccctc ctctgtctc 8940

15 ctttgctaac gttaggctca acgttagcct aacatgtcag gacagctggg gacatgtggg 9000

g 9001

<210> 3

20 <211> 9001

<212> ДНК

<213> Macaca mulatta

<400> 3

25 gatggaatct tgctctgtct cccacactgg agtgacgtgg cacgatcttg gctcactgcg 60

acttctgcct cccagattta agtgattctc ctacctggc ctccaagta gctgggatta 120

taggtgcttg ccaccacatg cagctaattt ttgtatttt agtagagaca ggattccgcc 180

30 atgttgcca ggatgtctt gaactcctga cctcaagtga ttgcccacc tcagcctccc 240

aaactgctgg gattacaggc gtgagccatt gcaccagtc aggtctgctt attcttcct 300

35 tctctctggt tccacccta cggcagtga caagctgtgc cgaggtcgtc tccaagaaa 360

aaacatggt cccaacttg acagatgtca gggaggtggt gacagaccag ttctatgca 420

gtgggacca ggagatgag agtcctgca aggtgagtc cctaccatg cctggattcc 480

40 caaaggggaa ggccacctgt gtctctgtgg ccagggtgca tgccagaaca ccagtccact 540

gccctgtatg acgtgtctc ctgtaccct ttgtggcag gagaatctgg gggagcagtt 600

45 ttcttgagc ggagattcag gtttttcag gtgagaaggt ggaagcttgc aggaccagg 660

ggttacagga tgcagcctt gttgggggga tgaggaggc cttgagga tctaggagg 720

ttggggctta cagctggagc tgtggcagc tccagccag ttctctctt ttctccaggt 780

50 gggctggtg agctggggtc ttacaacc ctgcctggc tctgtgaca aaaactccc 840

caaaagggcc cctcgtagca aggtcccgcc gccacgagac ttccacatca atctcttccg 900

catgcagccc tggctgaggc agcacctggg ggatgtcctg aattttttac cccttttagtc 960

5 atggccactg agccctctgc tgcctgtta gaatccgccc cccctccatc ttctacctct 1020

gaatgcccac ccttagactc tgtgacccat gctgtctcct agttgagtaa atctgggtct 1080

ctaggatgcc aggggcagcg cacacaagct gggaaatcct cagggtcctc accagcggga 1140

10 ctgcctcgct gcccacctc ccgctcctg gcctgtcccc aaattcctcc cctggttgac 1200

ttgactcatg ctcatctcac ttcatatgg aatttcccag ttatgaaatt aataaaaatc 1260

15 agtggtttcc acatctgtct gtgactctat ctggaggcca ggtagggctg gcctgggggg 1320

aaggggaggc cagaatgact ccaagagcca caggaaggca ggtcagagac ccactggac 1380

aaacagtggc tggactctgt accataacac acaagcaaca ggggagttag ctggatcctt 1440

20 atttctggtc cctaagtggg tggctgggc ttgctgggga ggagctgagg ccagaaggag 1500

gtactgaagg ggagagtcct ggacctggg cagcaaaggg tgggacttct gcagtttctg 1560

25 cttccttgac tggcagctca gcggggccct cccgcttga tgttccggga aagtgatgag 1620

ggtaggacag gcggggcaag ctgcaggtgc cagaacacag attgcataaa aggccgggag 1680

ctggtggggg gcaggggaag ggaatgtgac caggtctagg tctggagttt cagcttgac 1740

30 actgagctaa gtagacaagc aaaacaagcc aggacacgcc atcctgcccc aggccagct 1800

tctctctgc cttctaagc catggggagc agtctcagcc cccagctcta cctgatgccc 1860

35 ttcatcttgg gcctcttacc tggaggtgag tgagggtaac cttccttcc tgctgtcccc 1920

agcatccctc cttggccttt tggggccagg cttcatcagc ctttcttcc aggtgtgacc 1980

accactccat tgtcttcggc ccagcctcaa ggtacctgct ctctggaggg ggtagagatc 2040

40 aaaggtggct cttccgact tctcaagag ggccaggcac tggaatacgt gtgtccttct 2100

ggcttctacc cgtaccctgt gcagacacgt acctgcagat ccacggggtc ctggagcacc 2160

45 ctgcagactc aagatcgaag aactgtcaag aaggcagagt gcagaggtt gagggcaatg 2220

agtgtgggca gtggcctaag ggagaaacag ggcatatggc agcaaggtca ggactaggat 2280

gagactaggc aggggtgaca ggtgggctga ccaggagtag gagcagttt agggttgtag 2340

50 agggaaagga agggaaaaaa aaaggggagt taaccttag taagcattta ccctgggctt 2400

ccacgcagcc ctggaagtca agagaacact cagcaatggg gagggaggag cagcggaaac 2460

ccctatgggt tgaagggtag gtaagatgca gcttctgcag gactgggaat gctctgtttc 2520

5 tcagtgaacct ggtctctgag accaggaggg aaacaccta ggcagccttt ccctcttaat 2580

gacttctact tctccctct tctcaaagca atccgctgtc cagcaccaca ggacttcgag 2640

aacggggaat accggccccg gtctccctac tacaatgtga gtgatgagat ctctttccac 2700

10 tgctatgacg gttacactct ccggggctct gccaatcgca cctgccaagt gaatggccgg 2760

tggagtgggc agacagcgat ctgtgacaac ggaggtgaga agcatcctct cccccacat 2820

15 tgctgtctcc ctgacagcgc ctgacctgag gagtgggcat ttgccccgg aactgtaac 2880

tctgtctctc taccttgccc tcggggcctc aggcttcagc gcttacctcc atgtctcatg 2940

cctctgcagc ggggtactgc tccaaccag gcaccccat tggcacaagg aaggtgggca 3000

20 gccggtaccg ccttgaagac agcgtcacct accactgcag ccgggggctt accctgcgtg 3060

gctcccagcg gcgaacatgt caggaagggt gctcttgag cgggacggag ccttctgcc 3120

25 aaggtgacct ttgacctgta ccccaggctc agatcctgat ctgcatcct actgtctct 3180

ctccccact caacctgct ctttctcac ttctttaaa ctttctcta gaactgtctc 3240

acttctgagc ctttctacc ctggaaccc acaatcccct gtctctttgg tcaactgtctc 3300

30 cctgacactc ccagacattt gacctattt ctgactctcc cagactcctt catgtacgac 3360

acccctcaag aggtggccga agctttctg tcttcctga cggagaccat agaaggagtc 3420

35 gatgccgagg atgggcacag ccaggtttg aaggcagaga ggggaggcaa ggcaggaac 3480

tgggggaaaa tggagaaggg acaagataat cgttcatgct ggagcctgag tcaactctct 3540

ggcaccagg ggaacaacag aagcggagga tcatcctaga cccttcaggc tccatgaaca 3600

40 tctacctggt gctagatgga tcagacagca ttggggccgg caacttaca ggagccaaaa 3660

agtgtctagt caacttaatt gagaagggtg agtctctcta tccctgaact tgggggaatg 3720

45 gaatcttgct gatcttcag gactagctcc ctgatcattc cagcccctct gaaccgcagg 3780

gccccaggaa agtctccagg tcctattctg tctccttcc cttgtacttg attctccat 3840

gaacctgtgc ttgacctct tcctaagagc ctccctgtcc cagcaacgtt gctgaagtct 3900

50 cccaatcaca gtattctact ttcaatgcca tggcgccttg ttctctcac ccacaggtgg 3960

caagttatgg tgtgaagcca agatatgctc tagtgacata tgccacatac cccagaattt 4020

gggtcaaagt gtctgaccaa gagagcagca atgcagactg ggtcacgaag aagctcagtg 4080

5 aaatcaatta tgaaggtcag aggttaggga atggtgggag gttcactttg gggtcaggag 4140

gttcaggagt gttgtgtgga gggggtcatg agactacctt gagggcaaca gggggaccac 4200

ttttagtca aaggttgaac agcaggatca ttgggcaatg gaggttagtg ggaacctgct 4260

10 gagggctgga agggccactt tgtgtgcaaa gggaagtcca tatgatgatt aacttaaaaa 4320

gttgaagatg tgagatttca gttgcagatt ggtctctggg gttaaaagat ggcttgaag 4380

15 accaggtgag gcgatgctct cttccctccc cacagaccac aagtgaagt cagggactaa 4440

caccaagagg gccctccagg cagtgtacag catgatgagt tggccagagg acatccctcc 4500

tgaaggctgg aaccgcaccc gccatgtcat catctcatg accgatggtc agaagggacc 4560

20 tctctctgt cccagcctcc ccaccttctc agaccagcat gtggccctta agtcacttg 4620

taacactata cccatggtg gggccctgaa tgtgactcgt aactggctgt tcatctctcc 4680

25 tgtgaccctt cataaagaat tattcctaaa gccctgtgat caactacctc taacccttcc 4740

tcaacttact caccctgcca cgtgtatcac tgcctctagc caatttatct tatctctac 4800

cctcatggtc ccgtctcttc tgcaggattg cacaacatgg gcggggaccc aattactgtc 4860

30 attgatgaga tccgggactt gttatacatc ggcaaggatc gtaaaaaccc gagggaggat 4920

tatctgggtg agtaacctgc ctaggacca gcacctact tcctcagggc ttggaccgtc 4980

35 atccttcctt tttctccctc agatgtctat gtgtttgggg ttggacctt ggtggaccaa 5040

gtgaacatca atgctttggc ttccaagaaa gacaatgagc aacatgtgtt caaagtcaag 5100

gatatggaaa acctggaaga cgttttcttc caaatgattg gtaggcagac acaagggaat 5160

40 caagaacgca actctctca gttccctcg aaataattca ttctctct acccctgaag 5220

ctctagttgc ctggaaagcc ttcttcattc ctcttctct acctcagtat cactattctt 5280

45 gtttctggc actgtttgct tcttaacctt agaatcacag agctctaggc acttcagaga 5340

tctttctatt gtctacatt tgacacatgt ggaaacaaag gccaaaggag gtcaaggggc 5400

agcaagctag caacagggtt gggcttgaaa acagccaggc ctctgatagc ttgatccaa 5460

50 gttctttccc ttttactcc accacagcag ttttctcta acacaggaa acaataacct 5520

gtggcctttc cttttctcct tttgggcctc tgccccccac agacttctac ccaaaggctg 5580

ctgccgtttg ggaatgaagt gttccaagtt ttcagcacat tctccttctc tgccagatga 5640

5 aagccagtct ctgagtctct gtggcatggt ttgggaacac agcaagggtg ccgattacca 5700

caagcaacca tggcaggcca agatctcagt cactgtaagc acagaatccc agtagtgagg 5760

acttggggga ggtgaggtca aggtgaaatg ggagtagggg aaggggcaaaa tggccgtaag 5820

10 agatgggtgt ttgtgaaagt tgagttttcc ctttctactg ttctgttccc agcgccttc 5880

gaaggacat gagagctgta tgggggctgt ggtgtctgag tactttgtgc tgacagcagc 5940

15 acattgtttt actgtggacg acaaggaaca ctcaatcaag gtcagcgtgg gtaaggatgc 6000

aactgaaggt cccgggctgc acctacgcc tccaggcaac acctcccact ttctacagat 6060

cccacactcc actcatctgc aatgcagccc catcccttgc acccagacc agtcagggat 6120

20 ggggaagact tgaagttagg aatgacatgg ggccagaggc aagaagctgc ccacaaagag 6180

gtgtaccta ttctcctact tcaagggaag aagcgggacc tggagataga aaaagtccta 6240

25 tttcaccccg actacaacat tagcgagaaa aaagaagcag gaattcctga atttatgac 6300

tatgacgttg ccctgatcaa gctcaagaat aagttgaatt atgacccgac taccaggtga 6360

gagcatccag atccctgagg aaaggctggg aaaggctgga ggactggggg gaggagcagg 6420

30 cctagtttgc tgttctttct ccattcctta taggcccatt tgtctcccct gcaccgaggg 6480

aacaactcga gctttgaggc ttctccaac taccacttgc cagcaacaga gtaagacata 6540

35 ctagggggga ggataaggat gagatcccga gacaagtgag gcatgagagg gagatgcaat 6600

aggaagagac gatgcctggc ccagaaccta gcactaggaa gggcttaggg gacatctgct 6660

gagtgacaaa gtcaataggg agatgacagt ggtgggagca gctgaagtga tgcagtctat 6720

40 ttgtccagag gaagagctgc tcctgcaca ggatatcaaa gctctgtttg tgtctgagga 6780

ggagaagaag ctgactcgga aggaggtcta catcaagaat ggggataagg tgagaaatgg 6840

45 gcatcctaag gaggcactct aggcctaata cttcctaag ccacctctgt tcattacctt 6900

tctccatgct tcccacctcc cctacagaaa ggcagctgtg agagagatgc tcaatatgcc 6960

ccaggctatg acaaagtcaa ggacatctcg gaggtggtca cccctcggtt ctttgtact 7020

50 ggaggagtga gtcctatgc tgacccaat acttcagag gtgagagaac gctctctggt 7080

tgtgtctcaa gtgcccagg gccaaagatc cttttcccta cagcttctcc tctccttgca 7140
 ggtgattctg gcggcccctt gatagttcac aagagaagtc gtttcattca agtgagtcct 7200
 5 ccccttccta tctggggaga tgccaagtgg tcagcatggg ccccaaagca ggaaagcaca 7260
 atgcatgtgg ctagtaattc gaggtgggca gagcctgcct cactttagga ctgcatgtct 7320
 ggctgtgtg tgtcaagaat gaggtgagc tgggtcccta gcctgattcc tttaggtcag 7380
 10 ctaagacaca atcaggaaca gtcattgctc caggattagg aattctatga atgatccatg 7440
 gcacccact gcctctgcag gttggtgtca tcagctgggg agtagtgat gtctgcaaaa 7500
 15 accagaagcg gcaaaagcag gtacctgctc acgcccagaga cttcacgct aacctcttcc 7560
 aagtgtgcc ctggctgaag gagaaactcc aagatgagga tttgggtttt ctctaagggg 7620
 tttctgctg gacaggggcg cgggattgaa ttaaaacagc tgcgacaaca cttgtgttcc 7680
 20 agatcctttt ggggcaaggg agtggggaac gggcactggc catgttgta cactgagatc 7740
 aaacctgaca cccattttta aaggcttaac cccaatcca agtgctgaaa aaccagaggc 7800
 25 tgaggagat atgtaagctt ccacctcagt gttttactga gaccagcatt ggggcatttg 7860
 aggcacaagg aatccagctc tgttccttag aagccatcca caaggttttc cttgtagacg 7920
 tcatcactgt agacaatctg ggtcctcttg tcccgggtggc aacccttagg gctgttctgg 7980
 30 acagctaggg agggaggaga ggaacagtta aggtctaaag gagatcatag atcagaccct 8040
 gaggtgact cctgaccacc tcagtcttg ctgctggccc ctggaaaccc agtttcacg 8100
 35 ctgccctctg gtggccagga tggcctgtct tccttagctc ctttgtcca acccatggcc 8160
 aaggagagtg taagtggaca tttgatgaa tgtttgttc ttagaaaaat cccaaatgct 8220
 attgttgaga tatatgaatg atattaaccc actactata gtcagtatgt cagaagctaa 8280
 40 aaactagaaa acctctgtag cctttattg acatgctggt caactctagt tcctttcttt 8340
 tgcctgaaag gccactgttg ctctgagtc ttctttctgc tcactccttt ccaggaaaa 8400
 45 tctactttca ggtaaattgg ttactcatc taaggaatgc tactagctcc accagaactc 8460
 atccagcatg tagctttggc cctcaccatt ctctctcaag cctctagctg tttcttcccc 8520
 ttctctttt cctccctcca ccagacatgt tactctcttc acccatcca aagattccat 8580
 50 cccaccacc cttgacctag agagaatctc tcccaccac ttctatcct gtgatctctg 8640

taccttgaca ctgctggcta ctccctcttt ctcaaagcat gtgtccttc gcttcagtgg 8700

cccaggcccc tctgggtctg ctccagccc tctgaccct cctcctgtct cctttgctaa 8760

5 cgttaggctc aacgttagcc taacgtgtca ggagagctgg agacacgtgg ggcgtaaggt 8820

ggacagtctt gtttctaac atagtcctg agtattcctc aagtctagtc ctgggtcgtt 8880

tttttctcc gaaatcagtc tccctcatga tcggggagcc accctgtgat gcagatgact 8940

10 taatctatgt ttctattct tacctcacac ctgagttcca gaccctaata ttcaataact 9000

t 9001

15 <210> 4
<211> 4086
<212> ДНК
<213> Macaca mulatta

20 <400> 4
atagatat tagcatcagg gagacagggc aaaggttcca ccctcagct cagtccccag 60

tccctgctta ttatttcct aacagaagac catccccctt gccactcctt gggttttctt 120

25 ctctggcagc aatgaagcag ctgctgagcc agctctgggt ttcgggaagt cagatgacct 180

tttccctccc gcggctctct gcctctcgt gtccttaggg aggacacat ggaccactg 240

atggttcttt ttgctgct gttctgtac ccaggtccgg cagactcggc tacctctgc 300

30 cctcagaacg tgaatatctc tgggtgcacc ttaccctca gccatggctg ggcccctggg 360

agccttctca tctactctg tcccagggc ctgtacccat cccagcgtc acggctgtgc 420

35 aagagcagcg gacagtggca gacccaaga gccaccggt ctctgactaa ggcggtctgc 480

aaacctggcc actgcccac ccccgccatt tcgctgggcg cgggtcggac aggtcccg 540

tttggcatg gggacaaggt ccgctatcgc tgctcctcga atcttgctg caggggtct 600

40 gcggagcggg agtgccaggg caacggggtc tggagtggaa cggagccat ctgccgccag 660

ccctactctt atgacttccc tgaggacgtg gccctgccc tgggcacctc ctctccac 720

45 atgcttgggg ccaccaatcc caccagagg acaaaggatc atgaaaatgg aactgggact 780

aacacctatg cagccctaaa cagtgtctat ctcatgatga acaatcaat gcaactcctt 840

ggcatgaaaa cgatggcctg gcaggaaatc cgacatgcca tcatccttct gacagatgga 900

50 aagtccaata tgggtggctc tccaaaaca gctgttgacc aatcagaga gatcttgaat 960

atcaaccaga agaggaatga ctatctggac atctatgcca tcgggggtggg caagctggat 1020
gtggactgga gagaactgaa tgagctgggg tccaagaagg atggcgagag gcatgccttc 1080
5 attctgcagg acacaaaggc tctgcaccag gtctttgaac atatgctgga tgtctccaag 1140
ctcacagaca ccatctgcgg ggtggggaac atgtcagcaa acgcctctga ccaagagagg 1200
acaccctggc atgtcactat taagcccaag agccaagaga cctgccgggg agccctcatc 1260
10 tccgaccaat gggctctgac agcggctcac tgcttccgcg atggcaacga ccactcccta 1320
tggaggggtca atgtgggaga ccccaaattcc cagtggggca aagaattcct tattgagaag 1380
15 gcagtgattt ccccaggatt tgatgtcttt gccaaaaaga accagggaat cctggagttc 1440
tatggtgatg acatcgccct gctgaagctg gccagaaag taaagatgtc cacccatgcc 1500
aggcccatct gccttcctg caccatggag gccaatctgg ctctcggag acctcaaggc 1560
20 agcacctgta gggaccatga gaatgaactg ctgaacaaac agagtgttcc tgctcattt 1620
gtcgcttga atgggagcaa actgaacatt aaccttaaga tgggagtgga gtggacaagc 1680
25 tgtgccgagg tcgtctccca agaaaaaacc atgttccca acttgacaga tgcagggag 1740
gtggtgacag accagtttct atgcagtggg acccaggagg atgagagtcc ctgcaagggt 1800
gtgaccacca ctccattgtc ttcggcccag cctcaaggat cctgctctct ggagggggta 1860
30 gagatcaaag gtggctcctt ccgacttctc caagagggcc aggcactgga atacgtgtgt 1920
ccttctggct tctaccgta ccctgtgcag acacgtacct gcagatccac ggggtcctgg 1980
35 agcacctgc agactcaaga tcgaaaaact gtcaagaagg cagagtgcag agcaatccgc 2040
tgtccacgac cacaggactt cgagaacggg gaataccggc cccggtctcc ctactacaat 2100
gtgagtgatg agatctcttt cactgctat gacggttaca ctctcgggg ctctgccaat 2160
40 cgcacctgcc aagtgaatgg ccggtggagt gggcagacag cgatctgtga caacggagcg 2220
gggtactgct ccaaccagg catccccatt ggcacaagga aggtgggcag ccggtaccgc 2280
45 cttgaagaca gcgtcaccta cactgcagc cgggggctta ccctgcgtgg ctccagcgg 2340
cgaacatgtc aggaagggtg ctcttgagc gggacggagc cttctgcca agactccttc 2400
atgtacgaca ccctcaaga ggtggccgaa gctttcctgt cttcctgac ggagaccata 2460
50 gaaggagtgc atgccgagga tgggcacagc ccagggaac aacagaagcg gaggatcatc 2520

ctagaccctt caggctccat gaacatctac ctggtgctag atggatcaga cagcattggg 2580

gccggcaact tcacaggagc caaaaagtgt ctagtcaact taattgagaa ggtggcaagt 2640

5 tatggtgtga agccaagata tgctctagt acatatgcca cataccccag aatttgggtc 2700

aaagtgtctg accaagagag cagcaatgca gactgggtca cgaagaagct cagtgaatc 2760

aattatgaag accacaagtt gaagtcaggg actaacacca agagggccct ccaggcagtg 2820

10 tacagcatga tgagttggcc agaggacatc cctctgaag gctggaaccg caccgccat 2880

gtcatcatcc tcatgaccga tggattgcac aacatgggcg gggaccaat tactgtcatt 2940

15 gatgagatcc gggacttgtt atacatcggc aaggatcgta aaaacccgag ggaggattat 3000

ctggatgtct atgtgttgg ggttgacatc ttggtggacc aagtgaacat caatgcttg 3060

gcttccaaga aagacaatga gcaacatgtg ttcaaagtca aggatatgga aaacctggaa 3120

20 gacgttttct tcaaagtat tgatgaaagc cagtctctga gtctctgtg catggttgg 3180

gaacacagca aggtaccga ttaccacaag caacatggc agccaagat ctactcact 3240

25 cgcccttcga agggacatga gagctgtatg ggggctgtgg tgtctgagta cttgtgctg 3300

acagcagcac attgttttac tgggacgac aaggaacact caatcaaggt cagcgtggga 3360

gggaagaagc gggacctgga gatagaaaaa gtcctattc acccgacta caacattagc 3420

30 gagaaaaaag aagcaggaat tcctgaattt tatgactatg acgttgcct gatcaagctc 3480

aagaataagt tgaattatga cccgactatc agggccattt gtctcccctg caccgaggga 3540

35 acaactcgag cttttaggct tcctcaact accacttgc agcaacagaa ggaagagctg 3600

ctccctgcac aggatatcaa agctctgtt gtgtctgagg aggagaagaa gctgactcgg 3660

aaggaggtct acatcaagaa tggggataag aaaggcagct gtgagagaga tgctcaatat 3720

40 gccccaggct atgacaaagt caaggacatc tcggaggtgg tcaccctcg gttccttgt 3780

actggaggag tgagtccta tgctgacccc aatactgca gaggtgattc tggcgcccc 3840

45 ttgatagttc acaagagaag tcgtttcatt caagttggtg tcacagctg gggagtagtg 3900

gatgtctgca aaaaccagaa gcggcaaaag caggtaactg ctacgcccc agactttcac 3960

gtcaacctct tcaaagtgt gccctggctg aaggagaaac tccaagatga ggatttgggt 4020

50 tttcttaag gggtttctg ctggacagg gcgcgggatt gaattaaaac agctgcgaca 4080

acactt 4086

<210> 5

<211> 2767

5 <212> ДНК

<213> Mus musculus

<400> 5

gctccatcac acagtccatg gaaagactga tcttttaa at tggggtagt ggagggtgtg 60
10 gtctgtgctt gttaggaggg gtctgggggc taagaggag cttgaaagg gaagtcttg 120
cccttggtca gtcaagggtg gggctcacat agtttctgt tcctcagttg gcagttcagc 180
15 tggggccctc cttcatgaat gttccgggaa gcagtggctg cgtgcgcagg gtaggctggc 240
caggctgcag atgccagagc agattgcata aaaggtagg ggacagtggg aaaggggtgt 300
agccagatcc agcatttggg tttagtttg gacaggaggt caaataggca cccagagtga 360
20 cctggagagg gctttgggcc actggactct ctggtgctt ccatgacaat ggagagcccc 420
cagctctgcc tcgtcctctt ggtcttaggc ttctccttg gaggtgtgag cgcaactcca 480
25 gtgcttgagg cccggcccca agtctcctgc tctctggagg gagtagagat caaaggcggc 540
tcctttcaac ttctcaagg cggtcaggcc ctggagtacc tatgtccctc tggcttctac 600
ccataccccg tgcagactcg aacctgcaga tccacaggct cctggagcga cctgcagacc 660
30 cgagaccaa agattgtcca gaaggcggaa tgcagagcaa tacgtgccc acgaccgcag 720
gacttgaaa atggggaatt ctggccccgg tcccccttct acaacctgag tgaccagatt 780
35 tcttttcaat gctatgatg ttacgttctc cggggctctg ctaatgcac ctgccaagag 840
aatggccggt gggatgggca aacagcaatt tgtgatgatg gagctggata ctgtccaat 900
cccgtattc ctattgggac aaggaagggt gtagccaat accgccttga agacattgtt 960
40 acttaccact gcagccgggg acttgtctg cgtggctccc agaagcgaag gtgtcaagaa 1020
ggtaggctcat ggagtgggac agagccttcc tgccaagatt cttcatgta tgacagcct 1080
45 caagaagtgg ccgaagcatt cctatcctcc ctgacagaga ccatcgaagg agccgatgct 1140
gaggatgggc acagcccagg agaacagcag aagaggaaga ttgtcctaga cccctcgggc 1200
tccatgaata tctacctggt gctagatgga tcagacagca tcggaagcag caacttcaca 1260
50 ggggctaagc ggtgcctcac caactgatt gagaaggtgg cgagttacgg ggtgaggcca 1320

cgatatggtc tcctgacata tgctacagtc cccaaagtgt tggcagagt gtctgatgag 1380

aggagtagcg atgccgactg ggtcacagag aagctcaacc aaatcagtta tgaagaccac 1440

5 aagctgaagt cagggaacaa caccaagagg gctctccagg ctgtgtatag catgatgagc 1500

tgggcagggg atgccccgcc tgaaggctgg aatagaaccc gccatgtcat catcattatg 1560

actgatggct tgcacaacat gggcggaaac cctgtcactg tcattcagga catccgagcc 1620

10 ttgctggaca tcggcaggga tccccaaaat cccaggaggg attacctgga tgtgtatgtg 1680

tttggggtcg ggcctctggt ggactccgtg aacatcaatg ccttagcttc caaaaaggac 1740

15 aatgagcatc atgtgtttaa agtcaaggat atggaagacc tggagaatgt tttctacaa 1800

atgattgatg aaaccaaac tctgagtctc tgtggcatgg tgtgggagca taaaaaggc 1860

aacgattatc ataagcaacc atggcaagcc aagatctcag tcactcgccc tctgaaagga 1920

20 catgagacct gtatgggggc cgtggtgtct gactacttcg tgctgacagc agcgactgc 1980

ttcatggtgg atgatcagaa acattccatc aaggtcagcg tgggggtca gaggcgggac 2040

25 ctggagattg aagaggtcct gttccacccc aaatacaata ttaatgggaa aaaggcagaa 2100

gggatccctg agttctatga ttatgatgtg gccctagtca agctcaagaa caagctcaag 2160

tatggccaga ctctcaggcc catctgtctc cctgcacgg agggaaccac acgagccttg 2220

30 aggccttctc agacagccac ctgcaagcag cacaaggaac agttgctccc tgtgaaggat 2280

gtcaaagctc tgtttgtatc tgagcaaggg aagagcctga ctcggaagga ggtgtacatc 2340

35 aagaatgggg acaagaaagc cagttgtgag agagatgcta caaaggccca aggctatgag 2400

aaggtcaaag atgcctctga ggtggtcact ccacggttc tctgcacagg aggggtggat 2460

ccctatgctg accccaacac atgcaaagga gattccgggg gccctctcat tgttcacaag 2520

40 agaagccgct tcattcaagt tgggtgtgatt agctggggag tagtagatgt ctgcagagac 2580

cagaggcggc aacagctggt accctcttat gcccgggact tccacatcaa cctcttcag 2640

45 gtgctgcctt ggctaaagga caagctcaaa gatgaggatt tgggttttct ataaagagct 2700

tcctgcaggg agagtgtgag gacagattaa agcagttaca ataacaaaaa aaaaaaaaaa 2760

aaaaaaa 2767

50 <210> 6
<211> 20

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 6	
	gctgagctgc cagtcaagga	20
10	<210> 7	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 7	
20	ggcccgctg agctgccagt	20
	<210> 8	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 8	
30	cggaacatcc aagcgggagg	20
	<210> 9	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 9	
	ctttccgga acatccaagc	20
	<210> 10	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 10	
	atctgtgttc tggcacctgc	20

	<210> 11	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 11	
	gtcacattcc cttcccctgc	20
	<210> 12	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 12	
	gacctggtca cattcccttc	20
	<210> 13	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 13	
	gacctagacc tggtcacatt	20
35	<210> 14	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 14	
	actccagacc tagacctggt	20
45	<210> 15	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 15 gctgaaactc cagacctaga	20
5	<210> 16 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 16 gtccaagctg aaactccaga	20
15	<210> 17 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 17 ctcagtgctcc aagctgaaac	20
25	<210> 18 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 18 aggagagaag ctgggcctgg	20
35	<210> 19 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 19 gaaggcagga gagaagctgg	20
45	<210> 20 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 20		
	gtggtggtca cacctccaga	20	
	<210> 21		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 21		
	ccctccagag agcaggatcc	20	
	<210> 22		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 22		
	tctaccccct ccagagagca	20	
30	<210> 23		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 23		
	ttgatctcta cccctccag	20	
40	<210> 24		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 24		
50	tggagaagtc ggaaggagcc	20	
	<210> 25		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 25	
10	ccctcttgga gaagtcgga	20
	<210> 26	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 26	
20	gcctggccct cttggagaag	20
	<210> 27	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 27	
	tccagtcct ggcctcttg	20
	<210> 28	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 28	
	agaagccaga aggacacag	20
	<210> 29	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 29	

	acgggtagaa gccagaagga	20
	<210> 30	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 30	
	cgtgtctgca cagggtacgg	20
	<210> 31	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 31	
	agggtgctcc aggaccccg	20
25	<210> 32	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 32	
	ttgctctgca ctctgccttc	20
35	<210> 33	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 33	
45	tattccccgt tctcgaagtc	20
	<210> 34	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 34	
5	cattgtagta gggagaccgg	20
	<210> 35	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 35	
15	cactcacatt gtagtaggga	20
	<210> 36	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 36	
	tctcatcact cacattgtag	20
	<210> 37	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 37	
	aagagatctc atcactcaca	20
	<210> 38	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 38	
	agtggaaaga gatctcatca	20
50	<210> 39	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 39 catagcagtg gaaagagatc	20
	<210> 40	
10	<211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 40 aaccgtcata gcagtggaаа	20
	<210> 41	
20	<211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 41 gagtgtaacc gtcatagcag	20
30	<210> 42 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 42 cccgagagt gtaaccgtca	20
40	<210> 43 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 43 cagagcccg gagagtgtaa	20

	<210> 44	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 44	
10	gattggcaga gccccggaga	20
	<210> 45	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 45	
20	aggtgcgatt ggcagagccc	20
	<210> 46	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 46	
	cttggcaggt gcgattggca	20
	<210> 47	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 47	
	cattcacttg gcaggtgcga	20
	<210> 48	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 48 atcgctgtct gccactcca	20
5	<210> 49 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 49 tcacagatcg ctgtctgcc	20
15	<210> 50 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 50 ccgttggtcac agatcgctgt	20
30	<210> 51 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 51 cccgctccgt tgtcacagat	20
40	<210> 52 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 52 cagtaccccg ctccgttgct	20
50	<210> 53 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 53		
5	ttggagcagt accccgctcc	20	
	<210> 54		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 54		
	accttccttg tgccaatggg	20	
	<210> 55		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 55		
	ctgcccacct tccttggcc	20	
	<210> 56		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 56		
	cgctgtcttc aaggcggtac	20	
40	<210> 57		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 57		
	gctgcagtgg taggtgacgc	20	
50	<210> 58		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 58	
	cccccgctg cagtggtagg	20
10	<210> 59	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 59	
20	ggtaagcccc cggctgcagt	20
	<210> 60	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 60	
30	acgcagggta agcccccggc	20
	<210> 61	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 61	
	ggagccacgc agggtaagcc	20
	<210> 62	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 62	
	gccgctggga gccacgcagg	20

	<210> 63	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 63	
	caagagccac cttcctgaca	20
	<210> 64	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 64	
	ccgctccaag agccaccttc	20
	<210> 65	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 65	
	tccgtcccgcc tccaagagcc	20
35	<210> 66	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 66	
	gaaggctccg tcccgctcca	20
45	<210> 67	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 67 tggcaggaag gctccgtccc	20
5	<210> 68 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 68 gagtcttggc aggaaggctc	20
15	<210> 69 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 69 atgaaggagt ctggcagga	20
	<210> 70 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 70 cttcggccac ctcttgaggg	20
	<210> 71 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 71 ggaaagcttc ggccacctct	20
	<210> 72 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 72		
	aagacaggaa agcttcggcc	20	
	<210> 73		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 73		
	tcaggaaga caggaaagct	20	
	<210> 74		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 74		
	tcgactcctt ctatgtctc	20	
30	<210> 75		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 75		
	cttctgtgtg tccctgggc	20	
40	<210> 76		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 76		
50	ttcattggagc ctgaagggtc	20	
	<210> 77		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 77	
	tagatgttca tggagcctga	20
10	<210> 78	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 78	
20	accaggtaga tggtcatgga	20
	<210> 79	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 79	
	tctagcacca ggtagatggt	20
	<210> 80	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 80	
	gatccatcta gcaccaggta	20
	<210> 81	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 81	

	ctgtctgac catctagcac	20
	<210> 82	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 82	
	ccaatgctgt ctgatccac	20
	<210> 83	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 83	
	tttggtcct gtgaagttgc	20
25	<210> 84	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 84	
	acactttttg gctcctgtga	20
35	<210> 85	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 85	
45	gactagacac ttttggctc	20
	<210> 86	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 86	
5	taagttgact agacactttt	20
	<210> 87	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 87	
15	ctcaattaag tgactagac	20
	<210> 88	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 88	
	caccttctca attaagttga	20
	<210> 89	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 89	
	acttgccacc ttctcaatta	20
	<210> 90	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 90	
	accataactt gccaccttct	20
50	<210> 91	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 91 cttcacacca taacttgcca	20
	<210> 92	
10	<211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 92 tcttggcttc acaccataac	20
20	<210> 93 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 93 atgtggcata tgtcactaga	20
30	<210> 94 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 94 cagacacttt gaccsaaatt	20
40	<210> 95 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 95 ggtcttcata attgatttca	20

	<210> 96	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 96	
10	acttggtggtc ttcataattg	20
	<210> 97	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 97	
20	acttcaactt gtggtcttca	20
	<210> 98	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 98	
	tccctgactt caacttgtgg	20
	<210> 99	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 99	
	tgtagtccc tgacttcaac	20
	<210> 100	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 100	
	tcttggtgtt agtcctgac	20
	<210> 101	
5	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
10	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 101	
	tgtacactgc ctggagggcc	20
15	<210> 102	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
20	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 102	
25	tcatgctgta cactgcctgg	20
	<210> 103	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 103	
35	gttccagcct tcaggaggga	20
	<210> 104	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
40	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 104	
	ggtgcggttc cagccttcag	20
	<210> 105	
	<211> 20	
50	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 105	
5	atggcgggtg cggttccagc	20
	<210> 106	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
15	<400> 106	
	gatgacatgg cgggtgcggt	20
	<210> 107	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 107	
	gaggatgatg acatggcggg	20
	<210> 108	
30	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 108	
	cccatgttgt gcaatccatc	20
40	<210> 109	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 109	
	tccccgccca tgttgtgcaa	20
50	<210> 110	
	<211> 20	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 110	
	attgggtccc cgcccatgtt	20
10	<210> 111	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 111	
	acagtaattg ggtccccgcc	20
20	<210> 112	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 112	
30	tcaatgacag taattgggtc	20
	<210> 113	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 113	
	atctcatcaa tgacagtaat	20
	<210> 114	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 114	
	tcccggatct catcaatgac	20

	<210> 115	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 115	
	acatccagat aatcctccct	20
	<210> 116	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 116	
	acatagacat ccagataatc	20
	<210> 117	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 117	
	ссааасат агатскаг	20
35	<210> 118	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 118	
45	agcattgatg ttcacttgtt	20
	<210> 119	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 119 agccaaagca ttgatgttca	20
5	<210> 120 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 120 cttgggaagcc aaagcattga	20
15	<210> 121 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 121 gtctttcttg gaagccaaag	20
	<210> 122 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 122 ctcattgtct ttcttgaag	20
	<210> 123 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 123 atgttgctca ttgtctttct	20
	<210> 124 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 124		
	gaacacatgt tgctcattgt	20	
	<210> 125		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 125		
	gactttgaac acatgttgct	20	
	<210> 126		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 126		
	atccttgact ttgaacacat	20	
	<210> 127		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 127		
	ttccatatcc ttgacttga	20	
40	<210> 128		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 128		
50	caggttttcc ataccttga	20	
	<210> 129		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 129	
	ctcagagact ggctttcatc	20
10	<210> 130	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 130	
20	cagagactca gagactggct	20
	<210> 131	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 131	
	atgccacaga gactcagaga	20
	<210> 132	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 132	
	caaaccatgc cacagagact	20
	<210> 133	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 133	

	tggtcccaaa ccatgccaca	20
	<210> 134	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 134	
	ttgtggtaat cggtagccctt	20
	<210> 135	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 135	
	ggttgcttgt ggtaatcggt	20
25	<210> 136	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 136	
	tgccatgggt gcttggtgta	20
35		
	<210> 137	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 137	
45	ttggcctgcc atggttgctt	20
	<210> 138	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 138	
5	gagatcttgg cctgccatgg	20
	<210> 139	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 139	
15	acagcccccacacagctctc	20
	<210> 140	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 140	
	gacaccacag ccccatata	20
	<210> 141	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 141	
	tactcagaca ccacagcccc	20
	<210> 142	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 142	
	acaaagtact cagacaccac	20
50	<210> 143	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 143	
	gtcagcacaа agtactcaga	20
	<210> 144	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 144	
	ttgattgagt gttccttgtc	20
20	<210> 145	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 145	
30	ctgaccttga ttgagtgttc	20
	<210> 146	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 146	
40	tatctccagg tcccgttct	20
	<210> 147	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 147	
	gaattcctgc ttcttttttc	20

	<210> 148	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 148	
10	attcaggaat tcctgcttct	20
	<210> 149	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 149	
20	cataaaattc aggaattcct	20
	<210> 150	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 150	
	catagtcata aaattcagga	20
	<210> 151	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 151	
	tgagcttgat cagggaacg	20
	<210> 152	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 152 tattcttgag ctgatcagg	20
5	<210> 153 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 153 gacaaatggg cctgatagtc	20
15	<210> 154 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 154 gttggtccct cggtcaggg	20
30	<210> 155 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 155 gctcgagttg ttcctcggg	20
40	<210> 156 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 156 ctcaaagctc gagttgttcc	20
50	<210> 157 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 157		
5	ggaagcctca aagctcgagt	20	
	<210> 158		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 158		
	gttgaggagaa gcctcaaagc	20	
	<210> 159		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 159		
	gtggtagttg gaggaagcct	20	
	<210> 160		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 160		
	tggcaagtgg tagttggagg	20	
40	<210> 161		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 161		
	tgttgctggc aagtggtagt	20	
50	<210> 162		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 162	
	tccagctcac tcccctgttg	20
10	<210> 163	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 163	
	taaggatcca gctcactccc	20
20	<210> 164	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 164	
30	cagaaataag gatccagctc	20
	<210> 165	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 165	
	agggaccaga aataaggatc	20
	<210> 166	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 166	
	ccacttaggg accagaaata	20

	<210> 167	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 167	
	tccaggactc tccccttcag	20
	<210> 168	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 168	
	aagtccacc ctttgctgcc	20
	<210> 169	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 169	
	ctgcagaagt cccacccttt	20
35	<210> 170	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 170	
	caaaaactgc agaagtccca	20
45	<210> 171	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 171 aacctctgca ctctgccttc	20
5	<210> 172 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 172 ccctcaaac tctgcactct	20
15	<210> 173 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 173 tcattgcctt caaacctctg	20
	<210> 174 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 174 ccacactcat tgccctcaaa	20
	<210> 175 <211> 20	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 175 cactgcccac actcattgcc	20
	<210> 176 <211> 20	
50	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 176		
	ttaggccact gccacactc	20	
	<210> 177		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 177		
	ctagtcctga ccttgctgcc	20	
	<210> 178		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 178		
	ctcatcctag tcctgacctt	20	
	<210> 179		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 179		
	cctagtctca tcctagtcct	20	
40	<210> 180		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 180		
50	accctgccta gtctcatcct	20	
	<210> 181		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 181	
	ctgtgcaccc tgcctagtct	20
10	<210> 182	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 182	
20	gcccaccttg tcaccctgcc	20
	<210> 183	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 183	
	cctaaaactg ctctactcc	20
	<210> 184	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 184	
	gagtcagaaa tgaggtcaaa	20
	<210> 185	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 185	

	ccctactccc atttcacctt	20
	<210> 186	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 186	
	tggtgtgcaa tcctgcagaa	20
	<210> 187	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 187	
	aaaggctgat gaagcctggc	20
25	<210> 188	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 188	
	cctttgacca saaagtggcc	20
35		
	<210> 189	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 189	
45	aggtaccacc tctttgtggg	20
	<210> 190	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 190	
5	tggtggtcac acctgaagag	20
	<210> 191	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 191	
15	gcagggagca gctcttcctt	20
	<210> 192	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 192	
	tcctgtgcag ggagcagctc	20
	<210> 193	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 193	
	ttgatatcct gtgcaggag	20
	<210> 194	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 194	
	agagctttga tatcctgtgc	20
50	<210> 195	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 195 асааасаgag ctttgatatc	20
	<210> 196	
10	<211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 196 tcagacасаа асаgagcttt	20
20	<210> 197 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 197 tcctcctcag асаасааасag	20
30	<210> 198 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 198 acctccttcc gagtcagctt	20
40	<210> 199 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 199 atgtagacct ccttccgagt	20

	<210> 200	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 200	
10	ttcttgatgt agacctcctt	20
	<210> 201	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 201	
20	tccccattct tgatgtagac	20
	<210> 202	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 202	
	ttcttatccc cattcttgat	20
	<210> 203	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 203	
	ctgcctttct tatccccatt	20
	<210> 204	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 204 tcacagctgc ctttcttatc	20
5	<210> 205 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 205 tctctctcac agctgccttt	20
15	<210> 206 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 206 tgagcatctc tctcacagct	20
30	<210> 207 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 207 gcatattgag catctctctc	20
40	<210> 208 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
45	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 208 tgactttgtc atagcctggg	20
50	<210> 209 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 209		
5	tgtccttgac ttgtcatag	20	
	<210> 210		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 210		
	cagtacaaag gaaccgaggg	20	
	<210> 211		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 211		
	ctcctccagt acaaaggaac	20	
	<210> 212		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 212		
	gactcactcc tccagtacaa	20	
40	<210> 213		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 213		
	catagggact cactcctcca	20	
50	<210> 214		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 214	
	ggtcagcata gggactcact	20
10	<210> 215	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 215	
20	tcacctctgc aagtattggg	20
	<210> 216	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 216	
30	ссagaatcac ctctgcaagt	20
	<210> 217	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 217	
	gggccgссag aatcacctct	20
	<210> 218	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 218	
	ctcttgtgaa ctatcaaggg	20

	<210> 219	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 219	
	cgacttctct tgtgaactat	20
	<210> 220	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 220	
	atgaaacgac ttctcttg	20
	<210> 221	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 221	
	acttgaatga aacgacttct	20
35	<210> 222	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 222	
	acaccaactt gaatgaaacg	20
45	<210> 223	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 223 tccactactc cccagctgat	20
5	<210> 224 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 224 cagacatcca ctactcccca	20
15	<210> 225 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 225 tttttgcaga catccactac	20
	<210> 226 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 226 ttctggtttt tgcagacatc	20
	<210> 227 <211> 20	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 227 tgccgcttct gggttttgca	20
	<210> 228 <211> 20	
50	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 228		
	tgcttttgcc gcttctggtt	20	
	<210> 229		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 229		
	ggtacctgct ttgcccgtt	20	
	<210> 230		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 230		
	tgagcaggta cctgcttttg	20	
	<210> 231		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 231		
	ttcagccagg gcagcacttg	20	
40	<210> 232		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 232		
50	ttctccttca gccagggcag	20	
	<210> 233		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 233	
	tgaggtttct cttcagcca	20
10	<210> 234	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 234	
20	tcatcttgga gtttctcctt	20
	<210> 235	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 235	
	aaatcctcat ctggagttt	20
	<210> 236	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 236	
	aaaccsaaat cctcatcttg	20
	<210> 237	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 237	

	gtccagcagg aaacccctta	20
	<210> 238	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 238	
	gcccctgtcc agcaggaaac	20
	<210> 239	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 239	
	agctgtttta attcaatccc	20
25	<210> 240	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 240	
	aacttgccac ctgtgggtga	20
35	<210> 241	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 241	
45	tcaccttatc cccattcttg	20
	<210> 242	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 242	
5	tcaactttca caaaccacca	20
	<210> 243	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 243	
15	ccgccagaat cacctgcaag	20
	<210> 244	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 244	
	aggaggaatg aagaaggctt	20
	<210> 245	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 245	
	gcctttcctc agggatctgg	20
	<210> 246	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 246	
	aaatgtctgg gagtgtcagg	20
50	<210> 247	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 247	
	gcctagagtg cctccttagg	20
	<210> 248	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 248	
	ggcatctccc sagatagga	20
	<210> 249	
20	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 249	
	agggagctag tcctggaaga	20
30	<210> 250	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 250	
40	асасctgaag agaaaggctg	20
	<210> 251	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 251	
50	ccctttgacc асааagtggc	20

	<210> 252	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 252	
10	gcctcaagg tagtctcatg	20
	<210> 253	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 253	
20	aagggaagga ggacagaata	20
	<210> 254	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 254	
	aaaggccaag gagggatgct	20
	<210> 255	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 255	
	agaggtcctt tctgaccatc	20
45	<210> 256	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 256 gctgggacag gagagaggtc	20
5	<210> 257 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 257 tcaaattgtct gggagtgtca	20
15	<210> 258 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 258 agaaggagaa tgtgtgaaa	20
30	<210> 259 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 259 tgctgaccac ttggcatctc	20
40	<210> 260 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 260 caactttcac aaaccaccat	20
50	<210> 261 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 261		
5	agctctgtga ttctaagggtt	20	
	<210> 262		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 262		
	ccacctgtgg gtgaggagaa	20	
	<210> 263		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 263		
	gaggactcac ttgaatgaaa	20	
	<210> 264		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 264		
	tggaatgatc agggagctag	20	
40	<210> 265		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 265		
50	gtcccttctc cattttcccc	20	
	<210> 266		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 266	
	tcaacttttt aagttaatca	20
10	<210> 267	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 267	
	gggtgaggag aacaaggcgc	20
20	<210> 268	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 268	
30	ctccaagcc atctttaac	20
	<210> 269	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 269	
	aggactcact tgaatgaaac	20
	<210> 270	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 270	
	ttccaggcaa ctagagcttc	20

	<210> 271	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 271	
	cagagtcag ccactgttg	20
	<210> 272	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 272	
	ccaacctgca gaggcagtgg	20
	<210> 273	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 273	
	tgcaaggaga ggagaagctg	20
35	<210> 274	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 274	
	ctaggcaggt tactcaccca	20
45	<210> 275	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 275 caccataact tgccacctgt	20
5	<210> 276 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 276 taggtaccac ctcttgtgg	20
15	<210> 277 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 277 cttgacctca cctcccca	20
25	<210> 278 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 278 ccacctctt gtgggcagct	20
	<210> 279 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 279 ttcacaacc accatctctt	20
	<210> 280 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 280		
	ttctcacctc cgtgtgcaca	20	
	<210> 281		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 281		
	gaaagtggga ggtgtgcct	20	
	<210> 282		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 282		
	acagcaggaa gggaaggta	20	
	<210> 283		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 283		
	catgctgacc acttgcatc	20	
40	<210> 284		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 284		
50	ggtcaccttg gcaggaaggc	20	
	<210> 285		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 285	
10	gtatagtgtt acaagtggac	20
	<210> 286	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 286	
20	ggacttcctt ttgaccacaa	20
	<210> 287	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 287	
	tcaccttgac ctcacctccc	20
	<210> 288	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 288	
	tagagtcct ccttaggatg	20
	<210> 289	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 289	

	tgacttcaac ttgtggtctg	20
	<210> 290	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 290	
	cagagaagga gaatgtgctg	20
	<210> 291	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 291	
	agggagcagc tcttcctctg	20
25	<210> 292	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 292	
35	tgttcccctg ggtgccagga	20
	<210> 293	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 293	
45	ggcctggctg ttttcaagcc	20
	<210> 294	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 294	
5	gactggcttt catctggcag	20
	<210> 295	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 295	
15	gaaggctttc caggcaacta	20
	<210> 296	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 296	
	tcacttgaat gaaacgactt	20
	<210> 297	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 297	
	ggccssaaaa ggcsaaggag	20
	<210> 298	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 298	
	aatcacctgc aaggagagga	20
50	<210> 299	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 299	
	gaccttcagt tgcacacctta	20
	<210> 300	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 300	
	tgatgaagcc tggcccca	20
20	<210> 301	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 301	
30	tagaaagtgg gaggtgttg	20
	<210> 302	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 302	
40	cccatccctg actggtctgg	20
	<210> 303	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 303	
	ccatgggtat agtgttaca	20

	<210> 304	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 304	
10	gtgttctctt gacttcagg	20
	<210> 305	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 305	
20	ggcctgctcc tcacccagt	20
	<210> 306	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 306	
	gaggcctggc tgtttcaag	20
	<210> 307	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 307	
	gactctccc ttcagtacct	20
45	<210> 308	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 308 catgggtata gtgttacaag	20
5	<210> 309 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 309 gaaggagaat gtgctgaaaa	20
15	<210> 310 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 310 tcacctggtc ttccaagcca	20
30	<210> 311 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 311 ctccccagat aggaaggga	20
40	<210> 312 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 312 ggactcactt gaatgaaacg	20
50	<210> 313 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 313		
5	ggccgccaga atcacctgca	20	
	<210> 314		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 314		
	ctcacttgaa tgaaacgact	20	
	<210> 315		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 315		
	ctttcccagc ctttcctcag	20	
	<210> 316		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 316		
	agaaagtggg aggtgttgcc	20	
40	<210> 317		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 317		
	gtcgcagctg ttttaattca	20	
50	<210> 318		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 318	
	ccaggactct ccccttcagt	20
10	<210> 319	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 319	
	agggaaggag gacagaatag	20
20	<210> 320	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 320	
30	gaaatgaggt caaatgtctg	20
	<210> 321	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 321	
	ggagagtcag aaatgaggtc	20
	<210> 322	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 322	
	gtagaaagtg ggaggtgttg	20

	<210> 323	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 323	
	tagaaagatc tctgaagtgc	20
	<210> 324	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 324	
	ctgctcctca ccccagtcct	20
	<210> 325	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 325	
	ctactgggat tctgtgctta	20
35	<210> 326	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 326	
45	сссаааaggс саaggaggga	20
	<210> 327	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 327 tgaccacttg gcatctcccc	20
5	<210> 328 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 328 cctgcaagga gaggagaagc	20
15	<210> 329 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 329 ctctcacctc tgcaagtatt	20
	<210> 330 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 330 ccssaaaagg csaaggaggg	20
	<210> 331 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 331 gtcttccaag ccatcttta	20
	<210> 332 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 332		
	gttacaagtg gacttaaggg	20	
	<210> 333		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 333		
	cccatgttgt gcaatcctgc	20	
	<210> 334		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 334		
	gaggtgggaa gcatggagaa	20	
	<210> 335		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 335		
	tgctcccacc actgtcatct	20	
40	<210> 336		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 336		
50	aggcaggta ctacccaga	20	
	<210> 337		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 337	
	tactgggatt ctgtgcttac	20
10	<210> 338	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 338	
20	gcctttccca gcctttcctc	20
	<210> 339	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 339	
	gtgcaatcct gcagaagaga	20
	<210> 340	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 340	
	acaggagaga ggtcccttct	20
	<210> 341	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 341	

	сссааааaggа gаааgggааа	20
	<210> 342	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 342	
	aagcccaggг taaatgctta	20
	<210> 343	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 343	
	gatgaagcct ggccccaааа	20
25	<210> 344	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 344	
	tggcagagaа ggagaatgtg	20
35		
	<210> 345	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 345	
45	ttccagcct ttctcaggг	20
	<210> 346	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 346	
5	ggcagagaag gagaatgtgc	20
	<210> 347	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 347	
15	acagtgccag gaаасаагаа	20
	<210> 348	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 348	
	taggcagggtt actcaccсag	20
	<210> 349	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 349	
	ttctcttgac ttccagggt	20
	<210> 350	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 350	
	cctgctcctc accсcagtcс	20
50	<210> 351	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 351	
	tcccactaac ctccattgcc	20
	<210> 352	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 352	
	ttcccttgga ccacaagtg	20
20	<210> 353	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 353	
30	ctgggtccta ggcaggttac	20
	<210> 354	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 354	
40	tccaggcaac tagagcttca	20
	<210> 355	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 355	
	gcccattgtg tgcaatcctg	20

	<210> 356	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 356	
10	ggttccact aacctccatt	20
	<210> 357	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 357	
20	aggtagagag caagagttac	20
	<210> 358	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 358	
	ссастаасст ссатгссса	20
	<210> 359	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 359	
	тсасааасса ссатсстта	20
45	<210> 360	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 360 tactcaccca gataatcctc	20
5	<210> 361 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 361 tgctcctcac cccagtcctc	20
15	<210> 362 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 362 tctcacagct gcctttctgt	20
30	<210> 363 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 363 gaaagggagg actcacttga	20
40	<210> 364 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 364 ccatctttta accccagaga	20
50	<210> 365 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 365		
5	tcctcacccc agtcctccag	20	
	<210> 366		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 366		
	ctggcagaga aggagaatgt	20	
	<210> 367		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 367		
	tctccccaga taggaaaggg	20	
	<210> 368		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 368		
	acttcagctg ctcccaccac	20	
40	<210> 369		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 369		
	gacagcagga agggaagggt	20	
50	<210> 370		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 370	
	ggagacaaat gggcctataa	20
10	<210> 371	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 371	
	ctgctccac cactgtcatc	20
20	<210> 372	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 372	
30	aggaatgaag aaggctttcc	20
	<210> 373	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 373	
	gggatctcat cctatcctc	20
	<210> 374	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 374	
	gtgctgggtc ctaggcaggt	20

	<210> 375	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 375	
	caaaaggcca aggagggatg	20
	<210> 376	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 376	
	ccatgctgac cacttgcat	20
	<210> 377	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 377	
	ggaggctggg acaggagaga	20
35	<210> 378	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 378	
45	ggagcagctc ttcctctgga	20
	<210> 379	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 379 tctcacctcc gttgtcacag	20
5	<210> 380 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 380 cagtcctcca gcctttccca	20
15	<210> 381 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 381 agtcctccag cctttccag	20
	<210> 382 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 382 tgaaggagtc tgggagagtc	20
	<210> 383 <211> 20	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 383 cagaatcacc tgcaaggaga	20
	<210> 384 <211> 20 <212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 384		
	taggaaaggg aggactcact	20	
	<210> 385		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 385		
	accttggcag gaaggctccg	20	
	<210> 386		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 386		
	gagacaaatg ggcctataaa	20	
30	<210> 387		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 387		
	ctgaagagaa aggctgatga	20	
40	<210> 388		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 388		
50	aatgatcagg gagctagtcc	20	
	<210> 389		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 389	
	cttagctgac ctaaaggaat	20
10	<210> 390	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 390	
20	tgggtatagt gtacaagtg	20
	<210> 391	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 391	
	tgaagagaaa ggctgatgaa	20
	<210> 392	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 392	
	gtgttacaag tggacttaag	20
	<210> 393	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 393	

	acctgtgggt gaggagaaca	20
	<210> 394	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 394	
	tcaccagat aatcctccct	20
	<210> 395	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 395	
	tgtgtcgca gctgtttaa	20
25	<210> 396	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 396	
	tggtcacatt ccctccct	20
35		
	<210> 397	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 397	
45	cctggtcaca ttccctccc	20
	<210> 398	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 398	
5	tagacctggt cacattccct	20
	<210> 399	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 399	
15	cctagacctg gtcacattcc	20
	<210> 400	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 400	
	ccttccgagt cagcttttc	20
	<210> 401	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 401	
	ctccttccga gtcagctttt	20
	<210> 402	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 402	
	agacctcctt ccgagtcagc	20
50	<210> 403	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 403	
	gtagacctcc ttccgagtca	20
	<210> 404	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 404	
	tttgccgctt ctggtttttg	20
20	<210> 405	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 405	
30	cttttgccgc ttctggtttt	20
	<210> 406	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 406	
40	cctgcttttg ccgcttctgg	20
	<210> 407	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 407	
	tacctgcttt tgccgcttct	20

	<210> 408	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 408	
10	agaaaaccsa aatcctcatc	20
	<210> 409	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 409	
20	tagaaaaccs aaatcctcat	20
	<210> 410	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 410	
	atagaaaacc saaatcctca	20
	<210> 411	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 411	
	tatagaaaac csaatcctc	20
45	<210> 412	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 412	
	ttatagaaaa cccaatcct	20
	<210> 413	
5	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
10	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 413	
	cttatagaaa acccaatcc	20
	<210> 414	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 414	
	ccttatagaa aaccsaatc	20
25	<210> 415	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 415	
35	cccttataga aaaccsaat	20
	<210> 416	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
40	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 416	
45	ccccttatag aaaaccsaat	20
	<210> 417	
	<211> 20	
50	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 417	
5	acccttata gaaaaccsa	20
	<210> 418	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
15	<400> 418	
	aacccttat agaaaaccsa	20
	<210> 419	
	<211> 20	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 419	
	aaaccctta tagaaaaccs	20
	<210> 420	
30	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 420	
	gaaccctt atagaaaacc	20
40	<210> 421	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 421	
	ggaaccctt tatagaaaac	20
50	<210> 422	
	<211> 20	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 422	
	aggaaacccc ttatagaaaa	20
10	<210> 423	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 423	
	caggaaacccc cttatagaaa	20
20	<210> 424	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 424	
30	gcaggaaaccc cttatagaa	20
	<210> 425	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 425	
	agcaggaaac cccttataga	20
	<210> 426	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 426	
	cagcaggaaaa ccccttatag	20

	<210> 427	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 427	
	ccagcagga accccttata	20
	<210> 428	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 428	
	tccagcagga aacccttat	20
	<210> 429	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 429	
	tgtccagcag gaaaccctt	20
35	<210> 430	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 430	
	ctgtccagca ggaaccct	20
45	<210> 431	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 431 cctgtccagc aggaaacccc	20
5	<210> 432 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 432 ccctgtccag caggaaaccc	20
15	<210> 433 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 433 cccctgtcca gcaggaaac	20
	<210> 434 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 434 cgcccctgtc cagcaggaaa	20
	<210> 435 <211> 20	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 435 acgcccctgt ccagcagga	20
	<210> 436 <211> 20 <212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 436		
	cacgcccctg tccagcagga	20	
	<210> 437		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 437		
	ссacgcccct gtccagcagg	20	
	<210> 438		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 438		
	ссacgcccc tgtccagcag	20	
	<210> 439		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 439		
	tcccacgccc ctgtccagca	20	
40	<210> 440		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 440		
50	atcccacgcc cctgtccagc	20	
	<210> 441		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 441	
	aatccacgc ccctgtccag	20
10	<210> 442	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 442	
20	caatccacg cccctgtcca	20
	<210> 443	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 443	
	tcaatccac gccctgtcc	20
	<210> 444	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 444	
	ttcaatccca cgcccctgtc	20
	<210> 445	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 445	

	attcaatccc acgcccctgt	20
	<210> 446	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 446	
	aattcaatcc cacgcccctg	20
	<210> 447	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 447	
	taattcaatc ccacgcccct	20
25	<210> 448	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 448	
	ttaattcaat cccacgcccc	20
35	<210> 449	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 449	
45	tttaattcaa tccacgcccc	20
	<210> 450	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 450	
5	ttttaattca atcccacgcc	20
	<210> 451	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 451	
15	gttttaattc aatcccacgc	20
	<210> 452	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 452	
	tgttttaatt caatcccacg	20
	<210> 453	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 453	
	ctgttttaat tcaatcccac	20
	<210> 454	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 454	
	gctgttttaa ttcaatccca	20
50	<210> 455	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 455	
	cagctgtttt aattcaatcc	20
	<210> 456	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 456	
	gcagctgttt taattcaatc	20
	<210> 457	
20	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 457	
	cgcagctggt ttaattcaat	20
30	<210> 458	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 458	
40	tcgcagctgt tttaattcaa	20
	<210> 459	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 459	
50	tgtcgcagct gtttaattc	20

	<210> 460	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 460	
10	ttgtcgcagc tgtttaatt	20
	<210> 461	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 461	
20	gttgcgcag ctgtttaat	20
	<210> 462	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 462	
	ttgtgtcgc agctgttta	20
	<210> 463	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 463	
	ttgtgtcgc cagctgtttt	20
	<210> 464	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 464 ttttgtgtgc gcagctgttt	20
5	<210> 465 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 465 ttttgtgtgc gcagctgttt	20
15	<210> 466 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 466 ggatccagct cactcccctg	20
30	<210> 467 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 467 aaataaggat ccagctcact	20
40	<210> 468 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 468 gaccagaaat aaggatccag	20
50	<210> 469 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 469		
5	cttagggacc agaaataagg	20	
	<210> 470		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 470		
	cacccactta gggaccagaa	20	
	<210> 471		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 471		
	accacccact tagggaccag	20	
	<210> 472		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 472		
	aggtccagga ctctcccctt	20	
40	<210> 473		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 473		
	aaggtccagg actctcccct	20	
50	<210> 474		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 474	
	aaactgcaga agtccacccc	20
10	<210> 475	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 475	
	ggagggcccc gctgagctgc	20
20	<210> 476	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 476	
30	tcccggaaca tccaagcggg	20
	<210> 477	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 477	
	catcactttc ccggaacatc	20
	<210> 478	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 478	
	ctggtcacat tcccttcccc	20

	<210> 479	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 479	
	ctagacctgg tcacattccc	20
	<210> 480	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 480	
	ggagtgggtgg tcacacctcc	20
	<210> 481	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 481	
	accccctcca gagagcagga	20
35	<210> 482	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 482	
	atctctaccc cctccagaga	20
45	<210> 483	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 483 ggtacgggta gaagccagaa	20
5	<210> 484 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 484 ggagagtgtg accgtcatag	20
15	<210> 485 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 485 tgcgattggc agagccccgg	20
	<210> 486 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 486 ggcaggtgcg attggcagag	20
	<210> 487 <211> 20	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 487 ggccattcac ttggcaggtg	20
	<210> 488 <211> 20 <212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 488		
	ttgtcacaga tcgctgtctg	20	
	<210> 489		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 489		
	aaggagtctt ggcaggaagg	20	
	<210> 490		
20	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 490		
	gtacatgaag gagtcttggc	20	
30	<210> 491		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 491		
	aagcttcggc cacctcttga	20	
40	<210> 492		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 492		
50	ccatctagca ccaggtagat	20	
	<210> 493		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 493	
10	ggccccaatg ctgtctgatc	20
	<210> 494	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 494	
20	aattaagttg actagacact	20
	<210> 495	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 495	
	tgccaccttc tcaattaagt	20
	<210> 496	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 496	
	taacttgcca cttctcaat	20
	<210> 497	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 497	

	cataacttgc caccttctca	20
	<210> 498	
	<211> 20	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 498	
	acaccataac ttgccacctt	20
	<210> 499	
15	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 499	
	tcacaccata acttgccacc	20
25	<210> 500	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 500	
35	tagtccctga cttcaacttg	20
	<210> 501	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 501	
45	tggtgtagt ccctgacttc	20
	<210> 502	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 502	
5	gcggttcag ccttcaggag	20
	<210> 503	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 503	
15	tcatgaggat gatgacatgg	20
	<210> 504	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 504	
	ccgcccattgt tgtgcaatcc	20
	<210> 505	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 505	
	gtaattgggt ccccgcccat	20
	<210> 506	
40	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 506	
	aagtcccgga tctcatcaat	20
50	<210> 507	
	<211> 20	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 507	
	aacacataga catccagata	20
	<210> 508	
10	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 508	
	caaagcattg atgttcactt	20
	<210> 509	
20	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 509	
	tttgaacaca tgttgctcat	20
30	<210> 510	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 510	
40	cttccaggtt ttccatatcc	20
	<210> 511	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 511	
50	tcttccaggt ttccatatc	20

	<210> 512	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 512	
10	agactcagag actggctttc	20
	<210> 513	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 513	
20	gcctgccatg gttgcttg	20
	<210> 514	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 514	
	tgactgagat cttggcctgc	20
	<210> 515	
35	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 515	
	ttctatctcc aggtcccgt	20
	<210> 516	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 516 agtcataaaa ttcaggaatt	20
5	<210> 517 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 517 cgagttgttc cctcgggtgca	20
15	<210> 518 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 518 agcctcaaag ctcgagttgt	20
30	<210> 519 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 519 ggaggaagcc tcaaagctcg	20
40	<210> 520 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 520 gtagttggag gaagcctcaa	20
50	<210> 521 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 521		
5	caagtggtag ttggaggaag	20	
	<210> 522		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 522		
	tcctcagaca caaacagagc	20	
	<210> 523		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 523		
	ttctcctcct cagacasaaa	20	
	<210> 524		
30	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 524		
	tagacctcct tccgagtcag	20	
40	<210> 525		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 525		
50	ttgatgtaga cctcctccg	20	
	<210> 526		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 526	
	ctttcttatc cccattcttg	20
10	<210> 527	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 527	
	gcctttctta tccccattct	20
20	<210> 528	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 528	
30	agctgccttt cttatcccca	20
	<210> 529	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 529	
	cagctgcctt tcttatcccc	20
	<210> 530	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 530	
	acagctgcct ttcttatccc	20

	<210> 531	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 531	
	gcatctctct cacagctgcc	20
	<210> 532	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 532	
	agatgtcctt gactttgtca	20
	<210> 533	
25	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 533	
	cagcataggg actcactcct	20
35	<210> 534	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 534	
	csgccagaat cacctctgca	20
45	<210> 535	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 535 tgaatgaaac gacttctctt	20
5	<210> 536 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 536 acatccacta ctccccagct	20
15	<210> 537 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 537 cgcttctggt ttttgcagac	20
	<210> 538 <211> 20 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 538 ttttgccgct tctggttttt	20
	<210> 539 <211> 20 <212> ДНК	
40	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 539 gcaggtaacct gcttttgccg	20
	<210> 540 <211> 20 <212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 540		
	tcttgagatt tctccttcag	20	
	<210> 541		
	<211> 16		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 541		
	ggaacatcca agcggg	16	
	<210> 542		
20	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 542		
	tggtcacatt cccttc	16	
30	<210> 543		
	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 543		
	cctggtcaca ttcctt	16	
40	<210> 544		
	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 544		
50	gacctggtca cattcc	16	
	<210> 545		

	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 545	
	taacttgcca cttct	16
10	<210> 546	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 546	
20	cataacttgс cacctt	16
	<210> 547	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 547	
	accataactt gccacc	16
	<210> 548	
	<211> 16	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 548	
	ccttccgagt cagctt	16
	<210> 549	
45	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 549	

	ctccttccga gtcagc	16
	<210> 550	
	<211> 16	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 550	
	acctccttcc gagtca	16
	<210> 551	
15	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 551	
	ctttcttatc cccatt	16
25	<210> 552	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 552	
	gcctttctta tcccca	16
35		
	<210> 553	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 553	
45	ctgcctttct tatccc	16
	<210> 554	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 554	
5	tttgccgctt ctggtt	16
	<210> 555	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 555	
15	cttttgccgc ttctgg	16
	<210> 556	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 556	
	tgcttttgcc gcttct	16
	<210> 557	
	<211> 16	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 557	
	aaaccsaaat cctcat	16
	<210> 558	
40	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 558	
	gaaaaccsaa atcctc	16
50	<210> 559	
	<211> 16	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 559	
	tagaaaaacc aaatcc	16
	<210> 560	
10	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 560	
	atagaaaaacc aaatc	16
	<210> 561	
20	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 561	
	cttatagaaa accsa	16
30	<210> 562	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 562	
40	ccttatagaa aaccsa	16
	<210> 563	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 563	
	cccttataga aaacc	16

	<210> 564	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 564	
10	ccccttatag aaaacc	16
	<210> 565	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 565	
20	acccttata gaaaac	16
	<210> 566	
	<211> 16	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 566	
	aacccttat agaaaa	16
	<210> 567	
35	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 567	
	aaaccctta tagaaa	16
45	<210> 568	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 568 gaaaccctt atagaa	16
5	<210> 569 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 569 ggaaccctt tataga	16
15	<210> 570 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 570 aggaacccc ttatag	16
30	<210> 571 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 571 caggaacccc cttata	16
40	<210> 572 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 572 gcaggaacc cttat	16
50	<210> 573 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 573	
5	agcaggaаас ccctta	16
	<210> 574	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 574	
15	cagcaggaаа cccctt	16
	<210> 575	
	<211> 16	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 575	
	ссagcaggaа acccct	16
	<210> 576	
30	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 576	
	tccagcagga ааccccc	16
40	<210> 577	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 577	
	gtccagcagg ааccccc	16
50	<210> 578	
	<211> 16	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 578	
	tgtccagcag gaaacc	16
10	<210> 579	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 579	
	ctgtccagca ggaaac	16
20	<210> 580	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 580	
30	cctgtccagc aggaaa	16
	<210> 581	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 581	
	ccctgtccag caggaa	16
	<210> 582	
	<211> 16	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 582	
	cccctgtcca gcagga	16

	<210> 583	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 583	
	gcccctgtcc agcagg	16
	<210> 584	
	<211> 16	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 584	
	cgcccctgtc sagcag	16
	<210> 585	
25	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 585	
	acgcccctgt ccagca	16
35	<210> 586	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 586	
	cacgcccctg tccagc	16
45	<210> 587	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 587 ccacgcccct gtccag	16
5	<210> 588 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 588 ccacgcccc tgtcca	16
15	<210> 589 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 589 tcccacgccc ctgtcc	16
	<210> 590 <211> 16 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 590 atcccacgcc cctgtc	16
	<210> 591 <211> 16	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 591 aatcccacgc ccctgt	16
	<210> 592 <211> 16	
50	<212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 592 caatccacg cccctg	16	
	<210> 593		
	<211> 16		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 593 tcaatccac gccct	16	
	<210> 594		
20	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 594 ttcaatccca cgcsc	16	
	<210> 595		
30	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 595 attcaatccc acgccc	16	
40	<210> 596		
	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 596 aattcaatcc cagccc	16	
50	<210> 597		

	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 597	
	taattcaatc ccacgc	16
10	<210> 598	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 598	
20	ttaattcaat cccacg	16
	<210> 599	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 599	
	tttaattcaa tccsac	16
	<210> 600	
	<211> 16	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 600	
	ttttaattca atccsa	16
	<210> 601	
45	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 601	

	gttttaattc aatccc	16
	<210> 602	
	<211> 16	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10		
	<400> 602	
	tgttttaatt caatcc	16
	<210> 603	
15	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 603	
	ctgttttaat tcaatc	16
25	<210> 604	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 604	
	gctgttttaa ttcaat	16
35		
	<210> 605	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 605	
45	agctgtttta attcaa	16
	<210> 606	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 606	
5	cagctgtttt aattca	16
	<210> 607	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 607	
15	gcagctgttt taattc	16
	<210> 608	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 608	
	cgcagctggt ttaatt	16
	<210> 609	
	<211> 16	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 609	
	tcgcagctgt tttaat	16
	<210> 610	
40	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 610	
	gtcgcagctg ttttaa	16
50	<210> 611	
	<211> 16	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 611	
	tgtcgcagct gtttta	16
	<210> 612	
10	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 612	
	ttgtcgcagc tgtttt	16
	<210> 613	
20	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 613	
	gttgtcgcag ctgttt	16
30	<210> 614	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 614	
40	tggtgtcgca gctgtt	16
	<210> 615	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 615	
	ttgttgcgc agctgt	16

	<210> 616	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 616	
10	ttgtgtgcg cagctg	16
	<210> 617	
	<211> 16	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 617	
20	tttgtgtgc gcagct	16
	<210> 618	
	<211> 16	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 618	
	ttttgtgtgc cgcagc	16
	<210> 619	
35	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 619	
	gaaaaccsaa atcctca	17
45	<210> 620	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 620	
	agaaaaccca aatcctc	17
	<210> 621	
5	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
10	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 621	
	tagaaaaccc aaatcct	17
	<210> 622	
15	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 622	
	atagaaaacc saaatcc	17
25	<210> 623	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 623	
35	ttatagaaaa cccaat	17
	<210> 624	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
40	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 624	
45	cttatagaaa accsaat	17
	<210> 625	
	<211> 17	
50	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 625	
5	ccttatagaa aaccsa	17
	<210> 626	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 626	
15	cccttataga aaaccca	17
	<210> 627	
	<211> 17	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 627	
	ccccttatag aaaaccc	17
	<210> 628	
30	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 628	
	accccttata gaaaacc	17
40	<210> 629	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 629	
	aaccccttat agaaaac	17
50	<210> 630	
	<211> 17	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 630	
	aaaccctta tagaaaa	17
10	<210> 631	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 631	
	gaaacccctt atagaaa	17
20	<210> 632	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 632	
30	ggaaacccct tatagaa	17
	<210> 633	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 633	
	aggaaacccc ttataga	17
	<210> 634	
	<211> 17	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 634	
	caggaaacccc cttatag	17

	<210> 635	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 635	
	gcaggaacc cctata	17
	<210> 636	
	<211> 17	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 636	
	agcaggaac cccttat	17
	<210> 637	
25	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 637	
	cagcaggaac cccctta	17
35	<210> 638	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 638	
	ccagcagga acccctt	17
45	<210> 639	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 639 tccagcagga aaccct	17
5	<210> 640 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 640 gtccagcagg aaaccc	17
15	<210> 641 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 641 tgtccagcag gaaaccc	17
25	<210> 642 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 642 ctgtccagca ggaaccc	17
	<210> 643 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 643 cctgtccagc aggaac	17
	<210> 644 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 644 ccctgtccag caggaaa	17
	<210> 645	
	<211> 17	
10	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
15	<400> 645 gcccctgtcc agcagga	17
	<210> 646	
20	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 646 cgcccctgtc cagcagg	17
30	<210> 647	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 647 acgcccctgt ccagcag	17
40	<210> 648	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 648 cacgcccctg tccagca	17
50	<210> 649	

	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 649	
	ссасгсссct gtccagc	17
10	<210> 650	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 650	
20	сссасгссccc tgtccag	17
	<210> 651	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 651	
	tсссасгссccc ctgtcca	17
	<210> 652	
	<211> 17	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 652	
	atсссасгсс cctgtcc	17
	<210> 653	
45	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 653	

	aatccccacgc ccctgtc	17
	<210> 654	
	<211> 17	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 654	
	caatccccacg cccctgt	17
	<210> 655	
15	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 655	
	tcaatcccac gccctg	17
25	<210> 656	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 656	
	ttcaatccca cggccct	17
35	<210> 657	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 657	
45	attcaatccc acgcccc	17
	<210> 658	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 658	
5	aattcaatcc cacgccc	17
	<210> 659	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 659	
15	taattcaatc ccacgcc	17
	<210> 660	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 660	
	ttaattcaat cccacgc	17
	<210> 661	
	<211> 17	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 661	
	tttaattcaa tccacgc	17
	<210> 662	
40	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 662	
	ttttaattca atccac	17
50	<210> 663	
	<211> 17	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 663	
	gttttaattc aatccca	17
	<210> 664	
10	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 664	
	tgttttaatt caatccc	17
	<210> 665	
20	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 665	
	ctgttttaat tcaatcc	17
30	<210> 666	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 666	
40	gctgttttaa ttcaatc	17
	<210> 667	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 667	
	agctgtttta attcaat	17

	<210> 668	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 668	
10	cagctgtttt aattcaa	17
	<210> 669	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 669	
20	gcagctgttt taattca	17
	<210> 670	
	<211> 17	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 670	
	cgcagctgtt ttaattc	17
	<210> 671	
35	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 671	
	tcgcagctgt ttaatt	17
	<210> 672	
45	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 672 gtcgcagctg ttttaat	17
5	<210> 673 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 673 tgtcgcagct gttttaa	17
15	<210> 674 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 674 ttgtcgcagc tgtttta	17
30	<210> 675 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 675 gttgtcgcag ctgtttt	17
40	<210> 676 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 676 tgttgtcgca gctgttt	17
50	<210> 677 <211> 17 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 677	
5	ttgtgtcgc agctgtt	17
	<210> 678	
	<211> 17	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 678	
15	ttgtgtcgc cagctgt	17
	<210> 679	
	<211> 17	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 679	
	tttgtgtgc gcagctg	17
	<210> 680	
30	<211> 17	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 680	
	tttgtgtgt cgcagct	17
40	<210> 681	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 681	
50	tagaaaaacc aaatcctca	19
	<210> 682	
	<211> 19	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 682	
	atagaaaacc caaatcctc	19
10	<210> 683	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 683	
	tatagaaaac ccaaatcct	19
20	<210> 684	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 684	
30	cttatagaaa accsaaatc	19
	<210> 685	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 685	
	ccttatagaa aaccsaaat	19
	<210> 686	
	<211> 19	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 686	
	cccttataga aaaccsaaa	19

	<210> 687	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 687	
	ccccttatag aaaaccсаа	19
	<210> 688	
	<211> 19	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 688	
	acccttata gaaaaccса	19
	<210> 689	
25	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 689	
	aaccccttat agaaaaccс	19
35	<210> 690	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 690	
	aaaccctta tagaaaaccс	19
45	<210> 691	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 691 gaaaccctt atagaaaac	19
5	<210> 692 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 692 ggaaacccct tatagaaaa	19
15	<210> 693 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 693 aggaaacccc ttatagaaa	19
25	<210> 694 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 694 caggaaaccc cttatagaa	19
	<210> 695 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 695 gcaggaacc cttataga	19
	<210> 696 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 696 agcaggaaac cccttatag	19
	<210> 697	
	<211> 19	
10	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
15	<400> 697 cagcaggaaa ccccttata	19
	<210> 698	
20	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 698 ccagcagga accccttat	19
30	<210> 699	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 699 tccagcagga aaccctta	19
40	<210> 700	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 700 gtccagcagg aaaccctt	19
50	<210> 701	

	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 701	
	tgtccagcag gaaaccct	19
10	<210> 702	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 702	
20	cctgtccagc aggaaccs	19
	<210> 703	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 703	
	ccctgtccag caggaacc	19
	<210> 704	
	<211> 19	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 704	
	cccctgtcca gcaggaac	19
	<210> 705	
45	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 705	

	gcccctgtcc agcaggaaa	19
	<210> 706	
	<211> 19	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 706	
	acgcccctgt ccagcagga	19
	<210> 707	
15	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 707	
	cacgcccctg tccagcagg	19
25	<210> 708	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 708	
	ccacgcccct gtccagcag	19
35	<210> 709	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 709	
45	cccacgcccc tgtccagca	19
	<210> 710	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 710	
5	tcccacgccc ctgtccagc	19
	<210> 711	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 711	
15	atcccacgcc cctgtccag	19
	<210> 712	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 712	
	aatcccacgc ccctgtcca	19
	<210> 713	
	<211> 19	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 713	
	caatcccacg cccctgtcc	19
	<210> 714	
40	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 714	
	tcaatcccac gccctgtc	19
50	<210> 715	
	<211> 19	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 715	
	ttcaatccca cgcccctgt	19
	<210> 716	
10	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 716	
	attcaatccc acgcccctg	19
	<210> 717	
20	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 717	
	aattcaatcc cacgcccct	19
30	<210> 718	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 718	
40	taattcaatc ccacgcccc	19
	<210> 719	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 719	
50	ttaattcaat cccacgccc	19

	<210> 720	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 720	
10	tttaattcaa tcccacgcc	19
	<210> 721	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 721	
20	ttttaattca atcccacgc	19
	<210> 722	
	<211> 19	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 722	
	gttttaattc aatcccacg	19
	<210> 723	
35	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 723	
	tgttttaatt caatcccac	19
45	<210> 724	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 724 ctgttttaat tcaatccca	19
5	<210> 725 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 725 gctgttttaa ttcaatccc	19
15	<210> 726 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 726 agctgtttta attcaatcc	19
30	<210> 727 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 727 cagctgtttt aattcaatc	19
40	<210> 728 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 728 gcagctgttt taattcaat	19
50	<210> 729 <211> 19 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 729	
5	cgcagctgtt ttaattcaa	19
	<210> 730	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 730	
15	tcgcagctgt ttaattca	19
	<210> 731	
	<211> 19	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 731	
	gtcgcagctg ttttaattc	19
	<210> 732	
30	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 732	
	tgtcgcagct gttttaatt	19
40	<210> 733	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 733	
	ttgtcgcagc tgtttaat	19
50	<210> 734	
	<211> 19	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 734	
	gttgtcgag ctgttttaa	19
10	<210> 735	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 735	
	tgtgtcgca gctgttta	19
20	<210> 736	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 736	
30	ttgtgtcgag agctgttt	19
	<210> 737	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 737	
	ttgtgtcgag cagctgttt	19
	<210> 738	
	<211> 19	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 738	
	tttgtgtc gcagctgtt	19

	<210> 739	
	<211> 19	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 739	
	tttttgttgt cgcagctgt	19
	<210> 740	
	<211> 18	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 740	
	ccccttatag aaaaccsa	18
	<210> 741	
25	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 741	
	acccttata gaaaaccs	18
35	<210> 742	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 742	
	aacccttat agaааacc	18
45	<210> 743	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 743 aaaccctta tagaaaac	18
5	<210> 744 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 744 gaaaccctt atagaaaa	18
15	<210> 745 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 745 aggaaacccc ttataga	18
	<210> 746 <211> 18 <212> ДНК	
30	<213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 746 caggaaaccc cttataga	18
	<210> 747 <211> 18	
40	<212> ДНК <213> Штучна послідовність <220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 747 gcaggaacc cttatag	18
	<210> 748 <211> 18 <212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 748 agcaggaaac cccttata	18
	<210> 749	
	<211> 18	
10	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
15	<400> 749 cagcaggaaa ccccttat	18
	<210> 750	
20	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 750 ccagcagga acccctta	18
	<210> 751	
30	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 751 tccagcagga aaccctt	18
40	<210> 752	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 752 gtccagcagg aaaccct	18
50	<210> 753	

	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 753	
	tgtccagcag gaaacccc	18
10	<210> 754	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 754	
20	ctgtccagca ggaacccc	18
	<210> 755	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 755	
	cctgtccagc aggaaccc	18
	<210> 756	
	<211> 18	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 756	
	ccctgtccag caggaac	18
	<210> 757	
45	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 757	

	cccctgtcca gcaggaaa	18
	<210> 758	
	<211> 18	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 758	
	cgcccctgtc cagcagga	18
	<210> 759	
15	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 759	
	acgcccctgt ccagcagg	18
25	<210> 760	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 760	
	cacgcccctg tccagcag	18
35	<210> 761	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 761	
45	ccacgcccct gtccagca	18
	<210> 762	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 762	
5	cccacgcccc tgtccagc	18
	<210> 763	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 763	
15	tcccacgccc ctgtccag	18
	<210> 764	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 764	
	atcccacgcc cctgtcca	18
	<210> 765	
	<211> 18	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 765	
	aatcccacgc ccctgtcc	18
	<210> 766	
40	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 766	
	caatcccacg cccctgtc	18
50	<210> 767	
	<211> 18	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 767	
	tcaatcccac gccctgt	18
	<210> 768	
10	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 768	
	ttcaatccca cgccctg	18
20	<210> 769	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 769	
	attcaatccc acgcccct	18
30	<210> 770	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 770	
40	aattcaatcc cacgcccc	18
	<210> 771	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 771	
	taattcaatc ccacgccc	18

	<210> 772	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 772	
10	ttaattcaat cccacgcc	18
	<210> 773	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 773	
20	tttaattcaa tcccacgc	18
	<210> 774	
	<211> 18	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 774	
	ttttaattca atcccacg	18
	<210> 775	
35	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 775	
	gttttaattc aatcccac	18
45	<210> 776	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 776 tgttttaatt caatccca	18
5	<210> 777 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 777 ctgtttaat tcaatccc	18
15	<210> 778 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 778 gctgtttaa ttcaatcc	18
30	<210> 779 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
35	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 779 agctgttta attcaatc	18
40	<210> 780 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 780 cagctgtttt aattcaat	18
50	<210> 781 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 781	
5	gcagctgttt taattcaa	18
	<210> 782	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 782	
15	cgcagctggt ttaattca	18
	<210> 783	
	<211> 18	
20	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 783	
	tcgcagctgt tttaattc	18
	<210> 784	
30	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 784	
	gtcgcagctg tttaatt	18
40	<210> 785	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
45	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 785	
	tagaaaacc aaatcctc	18
50	<210> 786	
	<211> 18	

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 786	
	atagaaaacc caaatcct	18
10	<210> 787	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 787	
	tatagaaaac ccaaatcc	18
20	<210> 788	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 788	
30	ttatagaaaa cccaatc	18
	<210> 789	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 789	
	cttatagaaa accsaat	18
	<210> 790	
	<211> 18	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 790	
	ccttatagaa aaccsaat	18

	<210> 791	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 791	
	cccttataga aaaccsaa	18
	<210> 792	
	<211> 18	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 792	
	tgtcgcagct gttttaat	18
	<210> 793	
25	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 793	
	ttgtcgcagc tgttttaa	18
35	<210> 794	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 794	
45	gttgtcgcag ctgtttta	18
	<210> 795	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 795 tgtgtgcga gctgtttt	18
5	<210> 796 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 796 ttgtgtcgc agctgttt	18
15	<210> 797 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 797 ttgtgtcgc cagctgtt	18
25	<210> 798 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 798 tttgtgtgc gcagctgt	18
	<210> 799 <211> 18 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 799 tttgtgtgt cgcagctg	18
	<210> 800 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 800 aaaaccsaaa tcctca	16	
	<210> 801		
	<211> 16		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 801 agaaaaccsa aatcct	16	
	<210> 802		
20	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
25	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 802 tatagaaaac csaat	16	
30	<210> 803		
	<211> 16		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
35	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 803 ttatagaaaa ccsaaa	16	
40	<210> 804		
	<211> 20		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 804 gcataagagg gtaccagctg	20	
50	<210> 805		

	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 805	
10	gtcctttagc cagggcagca	20
	<210> 806	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 806	
20	tccacccatg ttgtgcaagc	20
	<210> 807	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
25	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 807	
	ссасaccatg ссасagagac	20
	<210> 808	
	<211> 20	
35	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 808	
	ttccgagtca ggctcttccc	20
	<210> 809	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 809	

	ccttcctga aggttcctcc	20
	<210> 810	
	<211> 21	
5	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Primer	
10	<400> 810	
	agtctctgtg gcatggtttg g	21
	<210> 811	
15	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
20	<223> primer	
	<400> 811	
	gggcgaatga ctgagatctt g	21
25	<210> 812	
	<211> 27	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
30	<220>	
	<223> Probe	
	<400> 812	
	taccgattac cacaagcaac catggca	27
35	<210> 813	
	<211> 22	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Primer	
	<400> 813	
45	cgaagcagct caatgaaatc aa	22
	<210> 814	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
50	<213> Штучна послідовність	
	<220>	

	<223> Primer	
	<400> 814	
5	tgcttgagg gccttctt	18
	<210> 815	
	<211> 18	
	<212> ДНК	
10	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Probe	
	<400> 815	
15	agaccacaag ttgaagtc	18
	<210> 816	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
20	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Primer	
25	<400> 816	
	gggcaaacag caatttgtga	20
	<210> 817	
	<211> 20	
30	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Primer	
35	<400> 817	
	tggctaccca ccttccttgt	20
	<210> 818	
40	<211> 28	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
45	<223> Probe	
	<400> 818	
	ctggatactg tcccaatccc ggtattcc	28
50	<210> 819	
	<211> 22	
	<212> ДНК	

	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
5	<400> 819	
	cgaagaagct cagtgaatc aa	22
	<210> 820	
10	<211> 18	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
15	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 820	
	tgccctggagg gccctctt	18
20	<210> 821	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 821	
	agcttcttgt ccagctttat	20
30	<210> 822	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
35	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 822	
40	agcttcttgt ccagctttat a	21
	<210> 823	
	<211> 14	
	<212> ДНК	
45	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 823	
	tcagtcatga cttc	14

	<210> 824	
	<211> 15	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
5	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 824	
10	tcagtcatga cttca	15
	<210> 825	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
15	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 825	
20	gctgattaga gagaggtccc	20
	<210> 826	
	<211> 20	
25	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
30	<400> 826	
	tcccatttca ggagacctgg	20
	<210> 827	
35	<211> 15	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
40	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 827	
	atcagtcatg acttc	15
	<210> 828	
45	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
50	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 828 cggtgcaagg ctaggaatt	20
5	<210> 829 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 829 gcttcagtca tgacttcctt	20
15	<210> 830 <211> 21 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 830 gcttcagtca tgacttcctt a	21
30	<210> 831 <211> 21 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 831 agcttcagtc atgacttcct t	21
40	<210> 832 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 832 tggtaatcca ctttcagagg	20
50	<210> 833 <211> 21 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 833		
5	tggtaatcca ctttcagagg a	21	
	<210> 834		
	<211> 21		
	<212> ДНК		
10	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<400> 834		
	tgcttcagtc atgacttcct t	21	
	<210> 835		
	<211> 20		
20	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
25	<400> 835		
	cactgatttt tgcccaggat	20	
	<210> 836		
30	<211> 21		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 836		
	cactgatttt tgcccaggat a	21	
40	<210> 837		
	<211> 21		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
45	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 837		
50	aagcttcttg tccagcttta t	21	
	<210> 838		
	<211> 20		

	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
5	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 838	
	accsaattca gaaggaagga	20
10	<210> 839	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
15	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 839	
	accsaattca gaaggaagga a	21
20	<210> 840	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
25	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 840	
30	aaccsaattc agaaggaagg a	21
	<210> 841	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
35	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
40	<400> 841	
	atggtaatcc actttcagag g	21
	<210> 842	
	<211> 20	
45	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
50	<400> 842	
	tcttggttac atgaaatccc	20

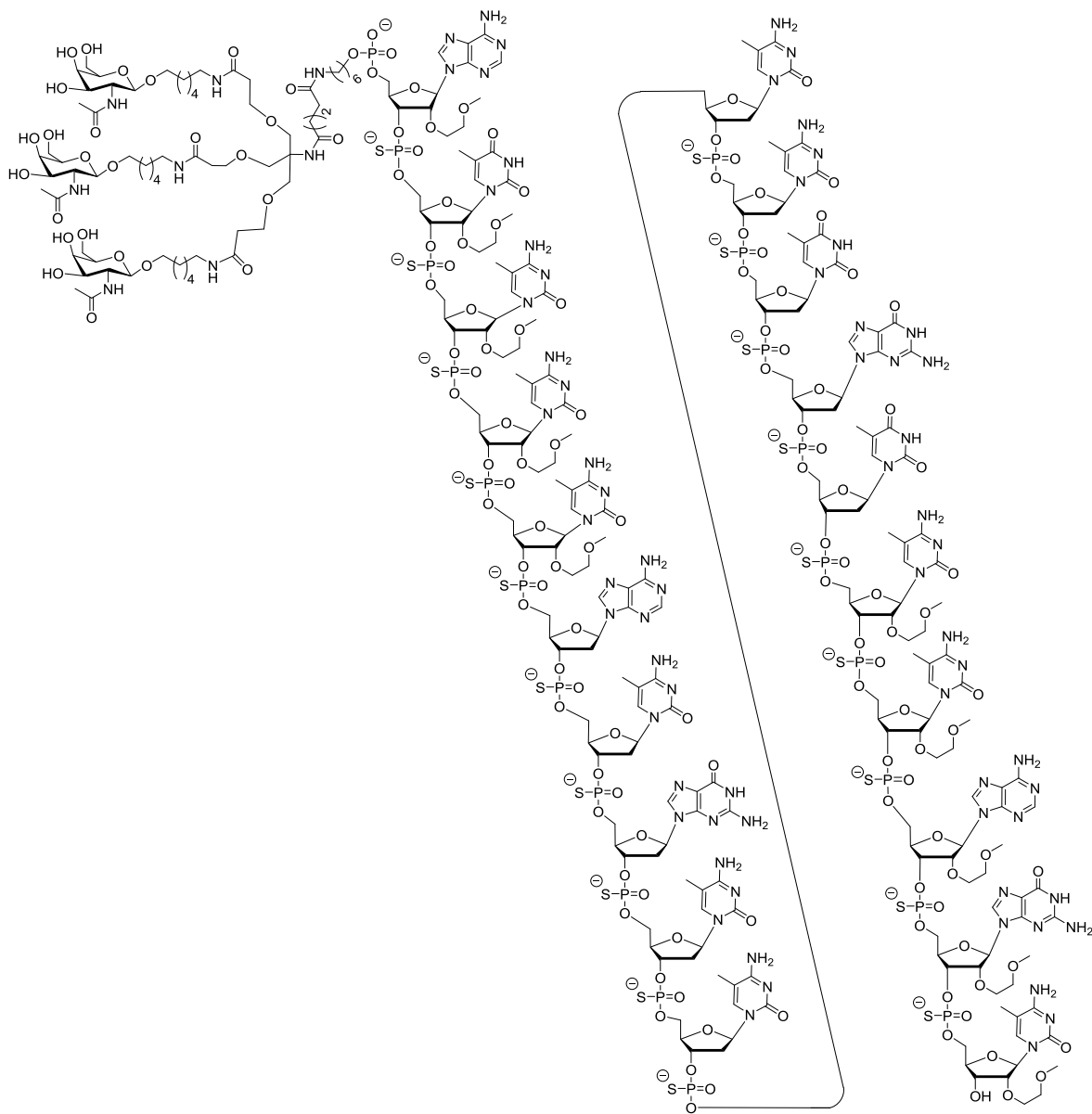
	<210> 843	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
5	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
10	<400> 843	
	tcttggttac atgaaatccc a	21
	<210> 844	
	<211> 20	
15	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
20	<400> 844	
	attcactttc ataatgctgg	20
	<210> 845	
25	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
	<220>	
30	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 845	
	attcactttc ataatgctgg a	21
35	<210> 846	
	<211> 21	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
40	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 846	
	atcttggtta catgaaatcc c	21
45	<210> 847	
	<211> 20	
	<212> ДНК	
	<213> Штучна послідовність	
50	<220>	
	<223> Синтетичний олігонуклеотид	

	<400> 847 tgctccgttg gtgcttggtc	20
5	<210> 848 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
10	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
	<400> 848 atgcatgggtg atgcttctga	20
15	<210> 849 <211> 20 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
20	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
25	<400> 849 cagctttatt agggacagca	20
	<210> 850 <211> 21 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
30	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
35	<400> 850 cagctttatt agggacagca a	21
	<210> 851 <211> 21 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
40	<220> <223> Синтетичний олігонуклеотид	
45	<400> 851 acagctttat tagggacagc a	21
	<210> 852 <211> 16 <212> ДНК <213> Штучна послідовність	
50		

	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
5	<400> 852		
	ttcagtcatg acttcc	16	
	<210> 853		
	<211> 20		
10	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
15	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> (1)..(5)		
	<223> Основи у цих позиціях являють собою РНК		
20	<220>		
	<221> misc_feature		
	<222> (16)..(20)		
	<223> Основи у цих позиціях являють собою РНК		
25	<400> 853		
	gcuucagtcg tgactucuu	20	
	<210> 854		
30	<211> 21		
	<212> ДНК		
	<213> Штучна послідовність		
	<220>		
35	<223> Синтетичний олігонуклеотид		
	<400> 854		
	tgctccgttg gtgcttgctc a	21	
40			

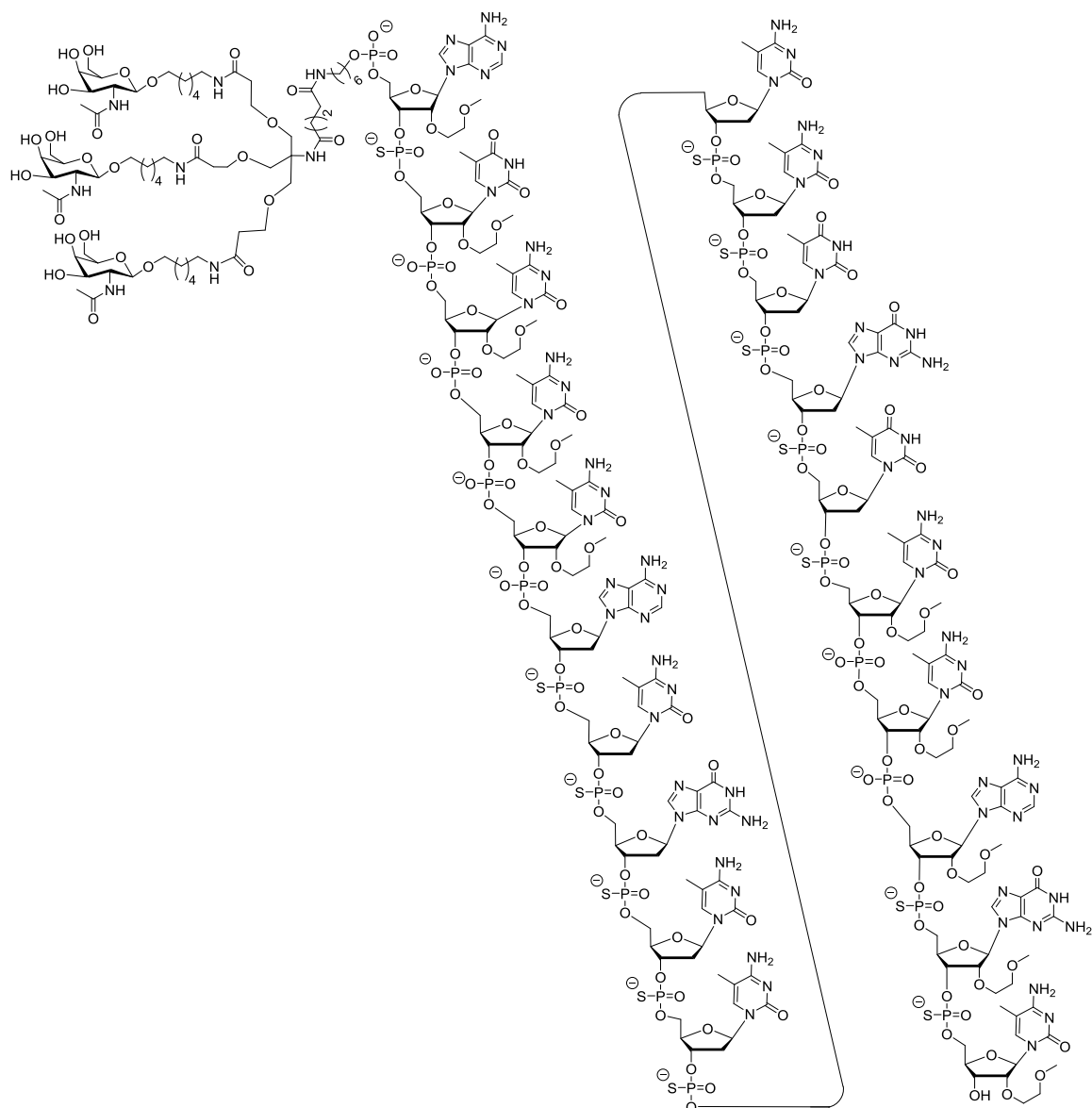
ФОРМУЛА ВИНАХОДУ

1. Олігомерна сполука, в якій аніонна форма олігомерної сполуки має наступну хімічну структуру:

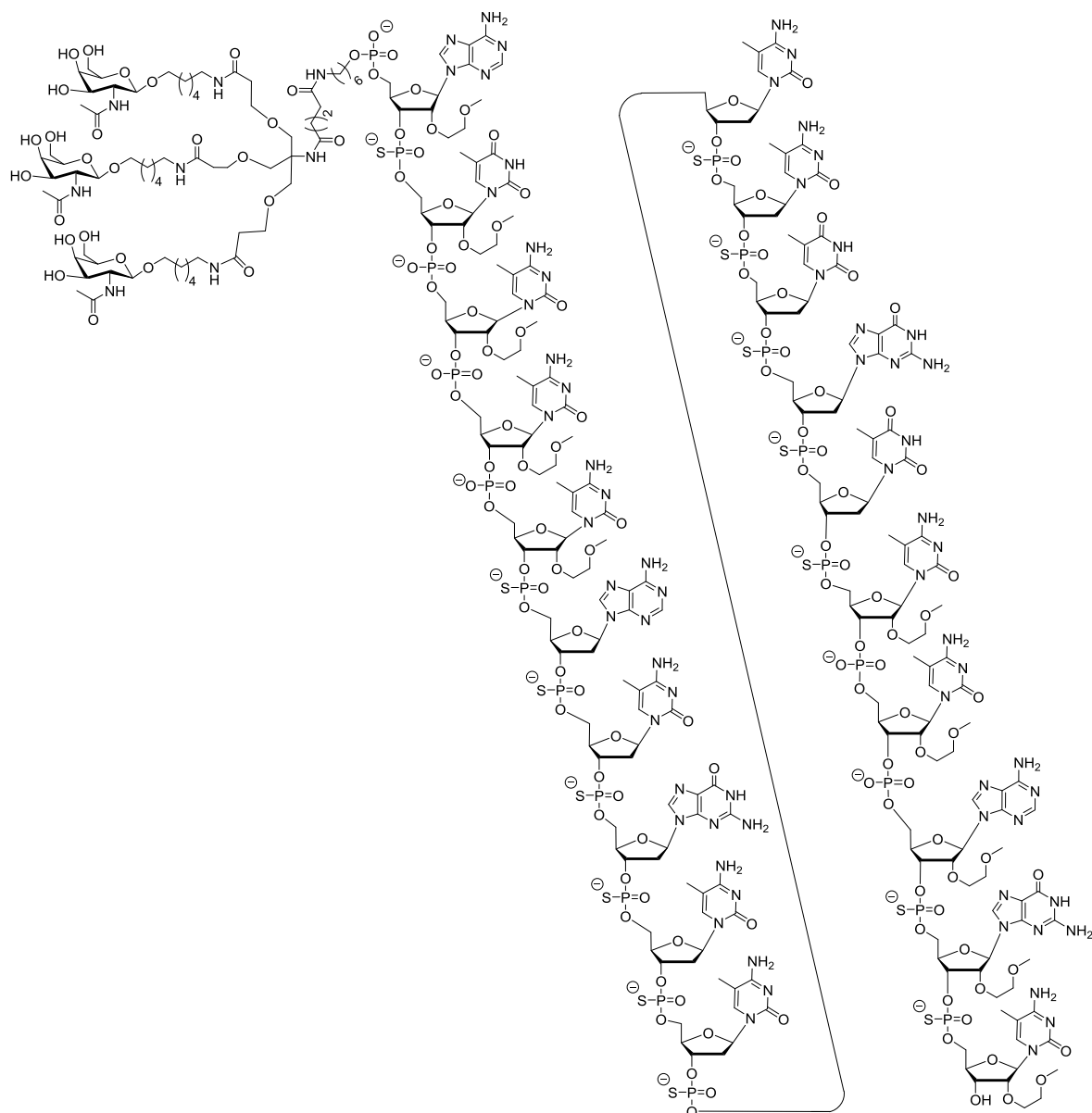


5

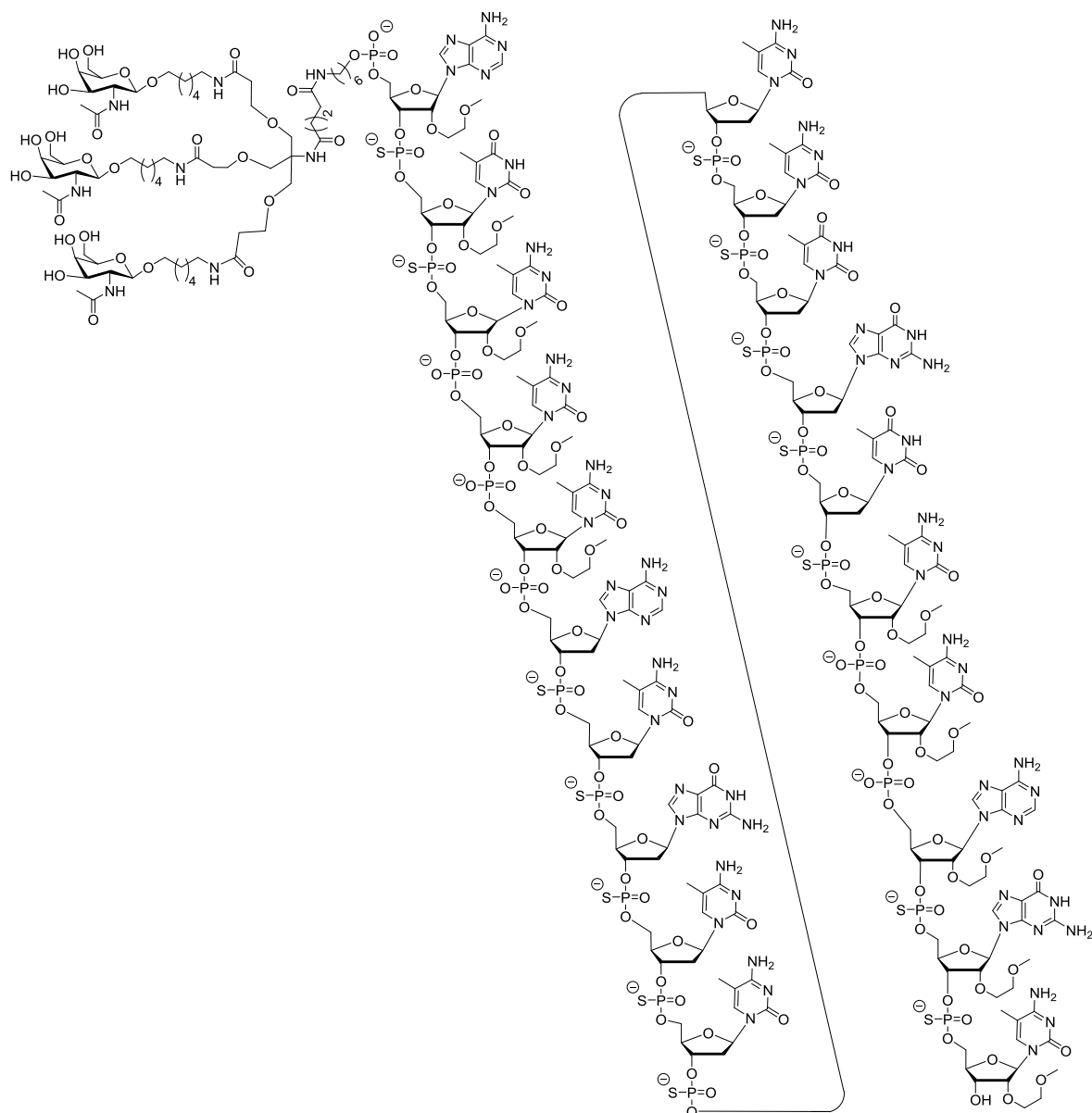
2. Олігомерна сполука, в якій аніонна форма олігомерної сполуки має наступну хімічну структуру:



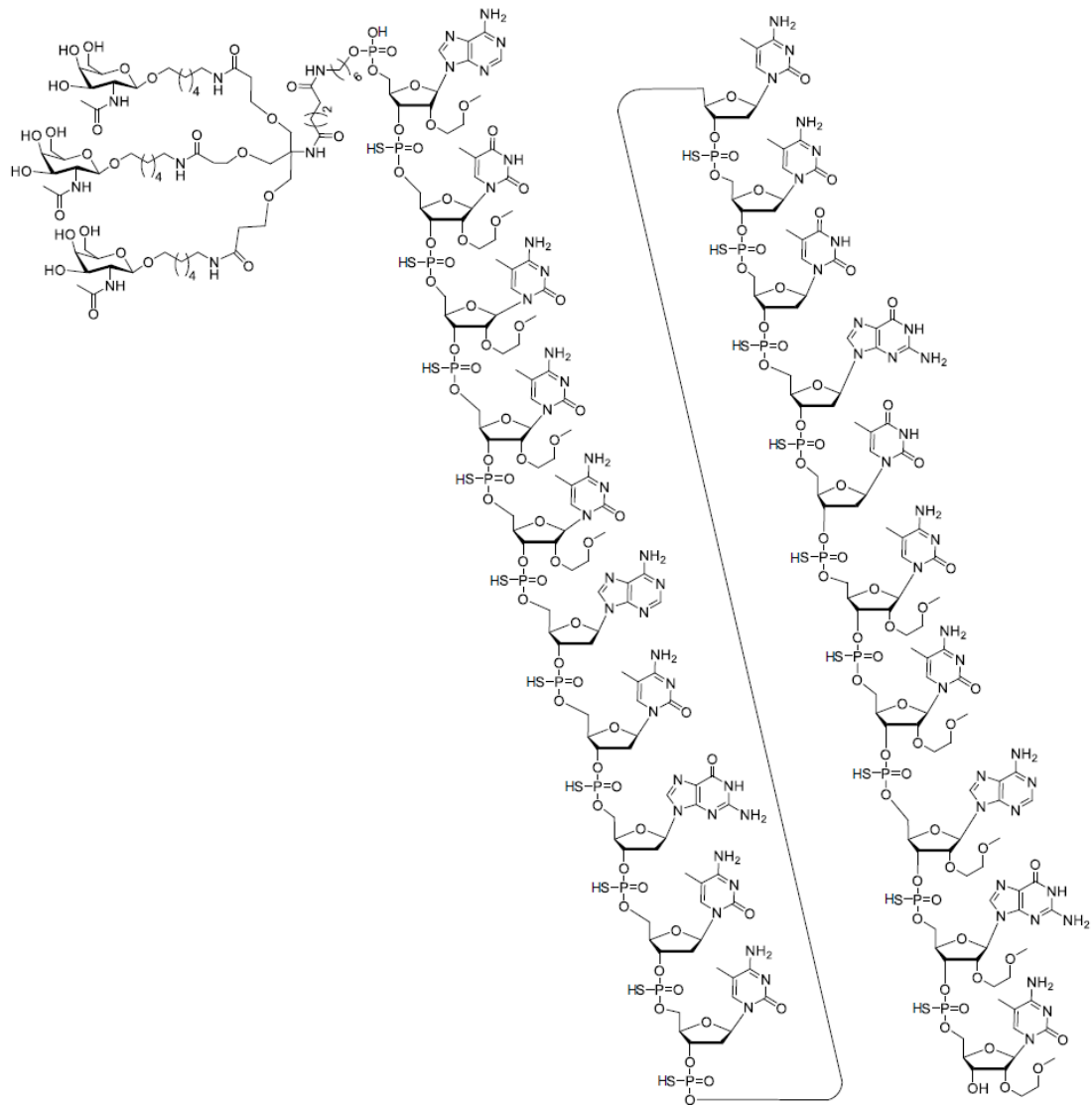
3. Олігомерна сполука, в якій аніонна форма олігомерної сполуки має наступну хімічну структуру:



4. Олігомерна сполука, в якій аніонна форма олігомерної сполуки має наступну хімічну структуру:

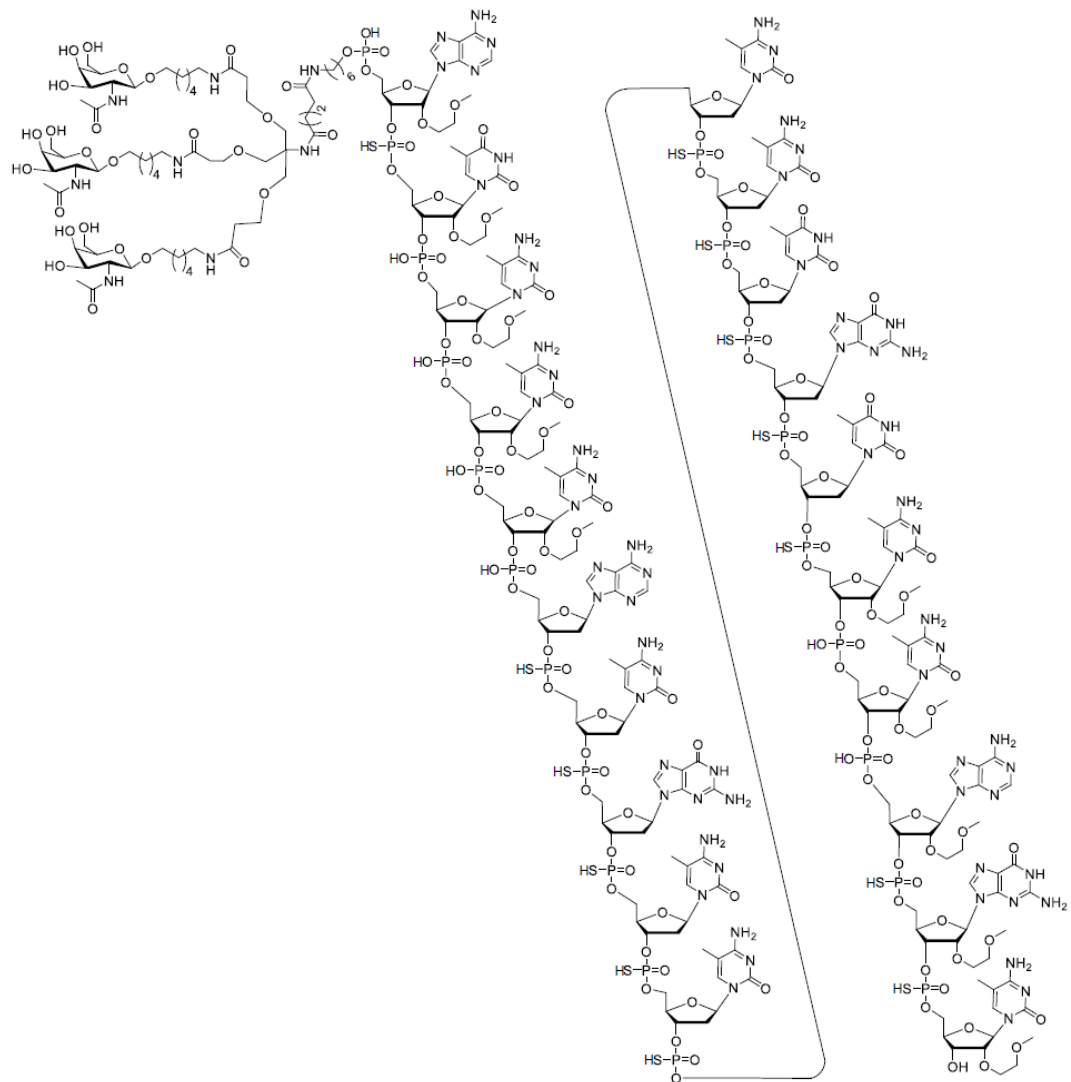


5. Олігомерна сполука за будь-яким із пп. 1-4, в якій олігомерна сполука являє собою фармацевтично прийнятну сіль, і в якій катіон фармацевтично прийнятної солі являє собою натрій.
- 5 6. Олігомерна сполука, що відповідає наступній хімічній структурі:



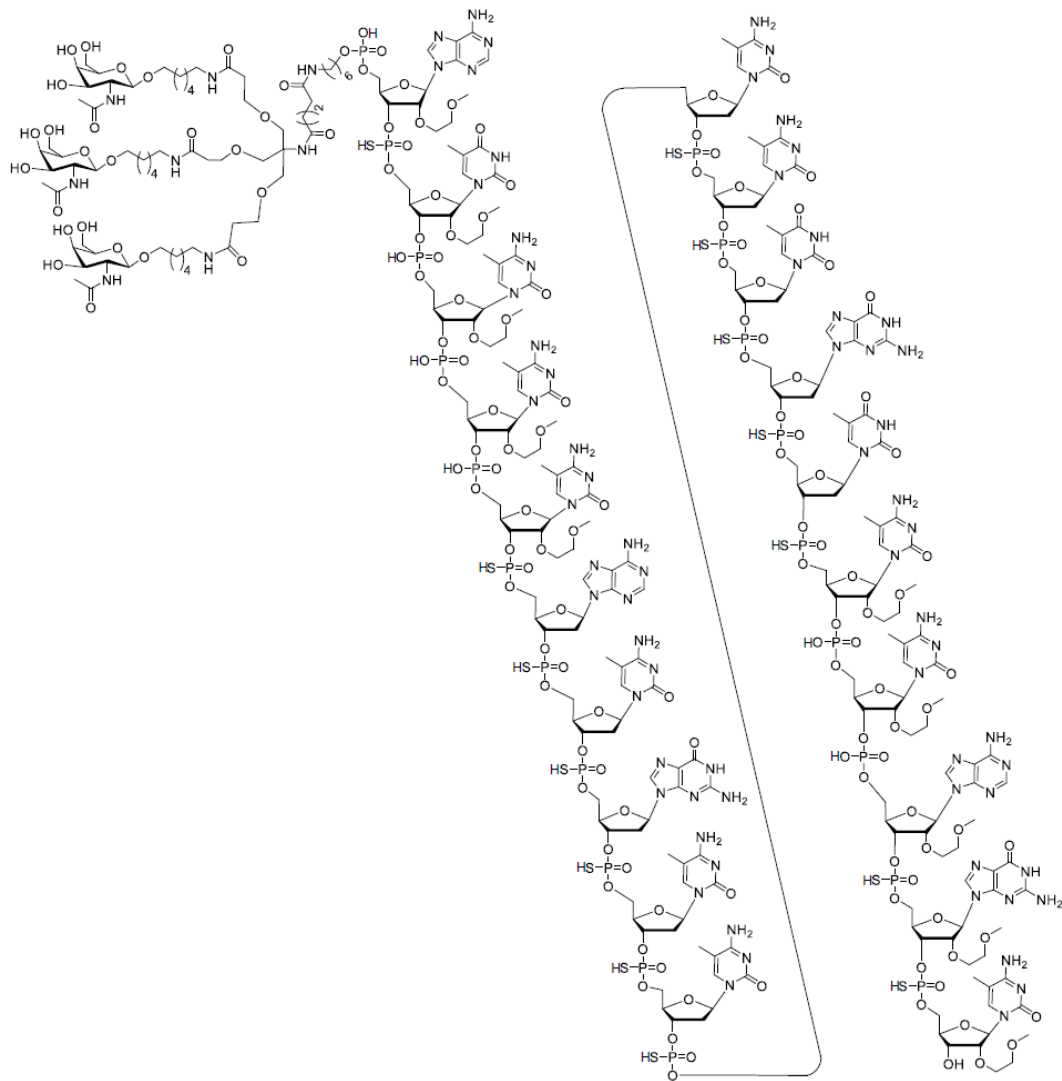
або її фармацевтично прийнятна сіль.

7. Олігомерна сполука, що відповідає наступній хімічній структурі:



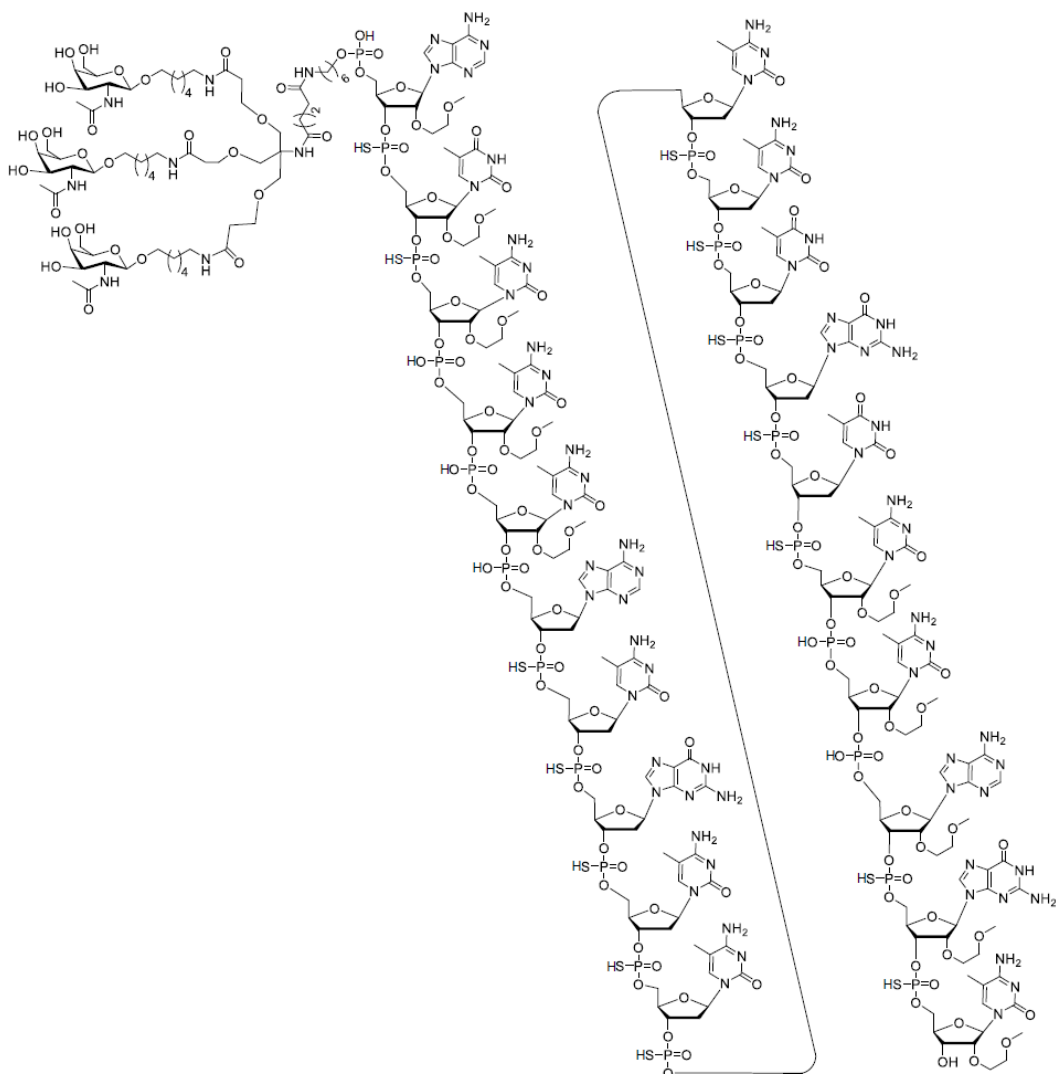
або її фармацевтично прийнятна сіль.

8. Олігомерна сполука, що відповідає наступній хімічній структурі:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

9. Олігомерна сполука, що відповідає наступній хімічній структурі:



або її фармацевтично прийнятна сіль.

10. Олігомерна сполука за будь-яким із пп. 6-9, яка являє собою сіль натрію або сіль калію.

11. Композиція, здатна інгібувати експресію фактора комплементу В (CFB), яка містить
 5 олігомерну сполуку за будь-яким з пп. 1-10 або її фармацевтично прийнятну сіль та щонайменше один фармацевтично прийнятний носій або розріджувач.

12. Спосіб лікування захворювання, пов'язаного з порушенням регуляції альтернативного шляху комплементу, у суб'єкта, який включає введення суб'єкту олігомерної сполуки за будь-яким з пп. 1-10 або композиції за п. 11, тим самим забезпечуючи лікування захворювання.

10 13. Спосіб за п. 12, в якому захворювання являє собою дегенерацію жовтої плями, вікову дегенерацію жовтої плями (ВДМ), вологу ВДМ, суху ВДМ або географічну атрофію.

14. Спосіб за п. 12, в якому захворювання являє собою хворобу нирок.

15. Спосіб за п. 14, в якому хвороба нирок являє собою вовчаковий нефрит, системний червоний вовчак (СЧВ), хворобу густого осаду (DDD), С3 гломерулонефрит (С3GN), CFHR5 нефропатію або атиповий гемолітико-уремічний синдром (aHUS).

16. Застосування олігомерної сполуки за будь-яким з пп. 1-10 або композиції за п. 11 для лікування захворювання, пов'язаного з порушенням регуляції альтернативного шляху комплементу.
17. Застосування за п. 16, де захворювання являє собою дегенерацію жовтої плями, вікову дегенерацію жовтої плями (ВДМ), вологу ВДМ, суху ВДМ або географічну атрофію.
18. Застосування за п. 16, де захворювання являє собою хворобу нирок.
19. Застосування за п. 18, де хвороба нирок являє собою вовчаковий нефрит, хворобу густого осаду (DDD), C3 гломерулонефрит (C3GN), CFHR5 нефропатію або атипічний гемолітико-уремічний синдром (aHUS).
20. Олігомерна сполука за будь-яким з пп. 1-10 або композиція за п. 11 для застосування у способі лікування захворювання, пов'язаного з порушенням регуляції альтернативного шляху комплементу.
21. Олігомерна сполука або композиція для застосування за п. 20, де захворювання являє собою дегенерацію жовтої плями, вікову дегенерацію жовтої плями (ВДМ), вологу ВДМ, суху ВДМ або географічну атрофію.
22. Олігомерна сполука або композиція для застосування за п. 20, де захворювання являє собою хворобу нирок.
23. Олігомерна сполука або композиція для застосування за п. 22, де хвороба нирок являє собою вовчаковий нефрит, хворобу густого осаду (DDD), C3 гломерулонефрит (C3GN), CFHR5 нефропатію або атипічний гемолітико-уремічний синдром (aHUS).
24. Застосування олігомерної сполуки за будь-яким з пп. 1-10 або композиції за п. 11 при виготовленні лікарського засобу для лікування захворювання, пов'язаного з порушенням регуляції альтернативного шляху комплементу.
25. Застосування олігомерної сполуки або композиції при виготовленні лікарського засобу за п. 24, де захворювання являє собою дегенерацію жовтої плями, вікову дегенерацію жовтої плями (ВДМ), вологу ВДМ, суху ВДМ або географічну атрофію.
26. Застосування олігомерної сполуки або композиції при виготовленні лікарського засобу за п. 24, де захворювання являє собою хворобу нирок.
27. Застосування олігомерної сполуки або композиції при виготовленні лікарського засобу за п. 26, де хвороба нирок являє собою вовчаковий нефрит, хворобу густого осаду (DDD), C3 гломерулонефрит (C3GN), CFHR5 нефропатію або атипічний гемолітико-уремічний синдром (aHUS).

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601