

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490059 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.05.15

(51) Int. Cl. C12N 15/113 (2010.01)
A61K 31/7088 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2022.07.21

(54) АНТИСМЫСЛОВЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ, НАЦЕЛЕННЫЕ НА UNC13A

(31) 63/203,409; 63/364,830

(32) 2021.07.21; 2022.05.17

(33) US

(86) PCT/US2022/037888

(87) WO 2023/004049 2023.01.26

(71) Заявитель:

АкьюраСтем ИНКОРПОРЕЙТЕД
(US)

(72) Изобретатель:

Чан Вэнь-Сюань, Ичида Джастин К.
(US)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

(57) Настоящее изобретение относится к антисмысловым олигонуклеотидам (ASO), нацеленным на криптический экзон UNC13A, фармацевтическим композициям, содержащим их, а также к способам лечения, ингибирования, подавления и предупреждения неврологических заболеваний с применением указанных олигонуклеотидов.

A1

202490059

202490059

A1

АНТИСМЫСЛОВЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДЫ, НАЦЕЛЕННЫЕ НА UNC13A

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[0001] Настоящая заявка испрашивает приоритет предварительной заявки на патент США № 63/203409, поданной 21 июля 2021 г., и предварительной заявки на патент США № 63/364830, поданной 17 мая 2022 г., каждая из которых включена в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0002] Настоящее изобретение относится к антисмысловым олигонуклеотидам (ASO), нацеленным на криптический экзон UNC13A, фармацевтическим композициям, содержащим их, а также к способам лечения, ингибирования, подавления и предупреждения неврологических или нейродегенеративных заболеваний с их помощью.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0003] Многие нейродегенеративные заболевания у пациентов трудно поддаются эффективному лечению, особенно если патология нейродегенеративного нарушения у конкретного пациента до конца не изучена.

[0004] UNC13A принадлежит к семейству генов, первоначально открытых у *C. elegans*, и получил свое название из-за некоординированных (unc) движений, которые демонстрируют животные с мутациями в этих генах из-за дефицита высвобождения нейротрансмиттеров. UNC13A кодирует крупный многодоменный белок, экспрессируемый в нервной системе, где он локализуется в нервно-мышечных соединениях и играет важную роль на этапе прайминга везикул, предшествующем слиянию синаптических везикул. Варианты в гене UNC13A повышают риск развития амиотрофического латерального склероза (ALS) и фронтотемпоральной деменции (FTD) - двух родственных нейродегенеративных заболеваний, определяемых неправильной локализацией РНК-связывающего белка TDP-43. Rosa Ma *et al.*, <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438213>, *bioRxiv*, April 4, 2021.

[0005] Амиотрофический латеральный склероз (ALS) и фронтотемпоральная деменция (FTD) являются сложными заболеваниями, которые являются результатом множества различных генетических этиологий. Хотя терапевтические стратегии, направленные на конкретные причинные мутации (например, антисмысловые олигонуклеотиды (ASO), нацеленные на C9ORF72), могут оказаться эффективными в отношении отдельных форм ALS или FTD, эти подходы не могут решить проблему подавляющего большинства случаев, генетическая этиология которых неизвестна. Более того, учитывая большое количество различных генов, которые, вероятно, способствуют развитию ALS и FTD, и тот факт, что каждая генетическая форма встречается относительно редко, эту стратегию может быть трудно реализовать для всех случаев. Таким образом, существует настоятельная

потребность в новых терапевтических стратегиях, позволяющих избавляться от множества форм ALS и FTD, особенно тех, генетическая этиология которых неизвестна.

[0006] Недавний анализ 205 пациентов из банка клиники Майо, страдающих FTD с патологией TDP-43, стратифицировал случаи на основе генотипа UNC13A и показал зависимое от дозы снижение времени выживания у индивидуумов, несущих аллели риска UNC13A (Rosa Ma *et al.*, *Nature*, 603:124-130, 2022). У пациентов с двумя аллелями риска медиана времени выживания была на 3 года меньше, чем у тех, кто имел нормальный транскрипт. Подобным образом, варианты UNC13A повышают риск развития ALS (Brown *et al.*, *Nature*, 603:131-137, 2022). Истощение TDP-43 индуцирует надежное включение криптического экзона в UNC13A, что приводит к нонсенс-опосредованному распаду и потере белка UNC13A (*id.*).

[0007] В международной публикации № WO 2022/122872 описаны конкретные антисмысловые олигонуклеотиды, которые, как утверждается, способны модулировать сплайсинг, предотвращая включение криптического экзона UNC13A в зрелую мРНК UNC13A.

[0008] По-прежнему существует потребность в эффективных видах лечения многих нейродегенеративных нарушений, таких как амиотрофический латеральный склероз (ALS).

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0009] Настоящее изобретение относится к антисмысловым олигонуклеотидам, нацеленным на криптический экзон UNC13A (ASO или UNC13A ASO), фармацевтическим композициям, содержащим их, и их применению в лечении нейродегенеративных нарушений. В частности, ASO, описанные в данном документе, нацелены на криптический экзон между каноническими экзонами 20 и 21 UNC13A и приводят к исключению криптического экзона из транскрипта UNC13A и повышению экспрессии белка UNC13A.

[0010] Один вариант осуществления представляет собой односторонний ASO, подавляющий экспрессию UNC13A, при этом ASO имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая содержит по меньшей мере 12 или 15 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 1-1282. ASO также может представлять собой любой из SEQ ID NO: 1-1282. В предпочтительном варианте осуществления односторонний ASO имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая содержит по меньшей мере 12 или 15 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 4-6, 9-11, 22-25, 53, 55, 359 или 360. В другом предпочтительном варианте осуществления односторонний ASO имеет последовательность нуклеиновых оснований, содержащую

последовательные нуклеиновые основания любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 4-6, 9-11, 22-25, 53, 55, 359 или 360. В еще одном предпочтительном варианте осуществления ASO представляет собой любой из SEQ ID NO: 645-647, 650-652, 663-666, 694, 696, 1000 и 1001.

[0011] Другой вариант осуществления представляет собой олигонуклеотид, состоящий из 12-30 связанных нуклеозидов и имеющий последовательность нуклеиновых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 1-1282.

[0012] В определенных вариантах осуществления по меньшей мере одна межнуклеозидная связь в ASO или олигонуклеотиде представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь, и модифицированная межнуклеозидная связь может представлять собой фосфоротиоатную межнуклеозидную связь или фосфодифирную межнуклеозидную связь. По меньшей мере один из нуклеозидов также может представлять собой модифицированное нуклеиновое основание.

[0013] В других вариантах осуществления по меньшей мере один нуклеозид ASO может представлять собой модифицированный сахарный фрагмент, при этом этот модифицированный сахарный фрагмент может представлять собой бициклический сахарный фрагмент, или модифицированный сахарный фрагмент может включать 2'-О-метоксиэтильную группу. В некоторых аспектах бициклический сахарный фрагмент содержит мостик 4'-CH(R)-O-2', где группа R независимо представляет собой H, C₁₋₁₂алкил или защитную группу.

[0014] В предпочтительном варианте осуществления ASO представляет собой стерический блокирующий ASO. Стерический блокирующий ASO связывается с целевой РНК и стерически лишает другие молекулы доступа для спаривания оснований с РНК. В одном варианте осуществления каждый нуклеозид в ASO имеет 2'-модифицированный сахарный фрагмент, такой как сахарный фрагмент с 2'-О-метоксиэтильной группой, и каждая межнуклеозидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь.

[0015] В некоторых других вариантах осуществления последовательность нуклеиновых оснований олигонуклеотида на по меньшей мере 80%, по меньшей мере 81%, по меньшей мере 82%, по меньшей мере 83%, по меньшей мере 84%, по меньшей мере 85%, по меньшей мере 86%, по меньшей мере 87%, по меньшей мере 88%, по меньшей мере 89%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 91%, по меньшей мере 92%, по меньшей мере 93%, по меньшей мере

мере 94%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 96%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100% комплементарна любой из SEQ ID NO: 1-1282.

[0016] В других вариантах осуществления олигонуклеотид состоит из 12-30 связанных нуклеозидов и имеет последовательность нуклеиновых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 1-1282.

[0017] В одном варианте осуществления ASO или олигонуклеотид на 100% комплементарен SEQ ID NO: 1207 (chr19: 17641557-17642844).

[0018] Другой вариант осуществления представляет собой фармацевтическую композицию, содержащую ASO, нацеленный на UNC13A, по настоящему изобретению и один или более фармацевтически приемлемых носителей, разбавителей и/или вспомогательных веществ. В одном варианте осуществления фармацевтическая композиция подходит для парентерального введения, такого как интрацеребровентрикулярная инъекция или интратекальное введение.

[0019] Еще одним вариантом осуществления является способ лечения субъекта, имеющего неврологическое или нейродегенеративное заболевание, с помощью введения терапевтически эффективного количества ASO, нацеленного на UNC13A, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе. Один вариант осуществления представляет собой способ лечения амиотрофического латерального склероза (ALS) у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ASO, нацеленного на UNC13A, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе. Другой вариант осуществления представляет собой способ лечения фронтотемпоральной деменции (FTD) у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту терапевтически эффективного количества ASO, нацеленного на UNC13A, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[0020] Еще одним вариантом осуществления является способ лечения субъекта, имеющего связанное с UNC13A заболевание или нарушение, с помощью введения субъекту терапевтически эффективного количества ASO, нацеленного на UNC13A, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[0021] Еще одним вариантом осуществления является способ повышения экспрессии белка UNC13A у субъекта, нуждающегося в этом, путем введения субъекту эффективного

количества ASO, нацеленного на UNC13A, или фармацевтической композиции, описанной в данном документе.

[0022] В одном варианте осуществления любого из описанных в данном документе способов субъект обладает вариантом SNP, связанным с rs12973192 (C>G), rs12608932 (A>C) или обоими. Субъекты, имеющие аллели с мутацией по обоим SNP, могут демонстрировать более сильный ответ на лечение.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0023] Более полное представление о настоящем изобретении и многих сопутствующих ему преимуществах можно легко получить, ознакомившись со следующим подробным описанием в сочетании с сопроводительными графическими материалами.

[0024] На фиг. 1 показана диаграмма, демонстрирующая уровни мРНК криптоического экзона UNC13A (CE) после обработки ASO в здоровой контрольной линии с миРНК TDP-43. Для скрининга 14-дневные Ngn2-индуцированные нейроны (Ngn2-iN) обрабатывали миРНК TDP-43 (siTDP-43) в течение 7 дней. qRT-PCR проводили с n = 4 биологическими повторностями. Среднее значение +/- s.e.m. Для статистического анализа использовали однофакторный ANOVA. p-значение * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001. «NCASO» означает ASO отрицательного контроля.

[0025] На фиг. 2 показаны расположения ASO относительно криптоического экзона, сайта связывания TDP-43 и относительно SNP, rs12608932 и rs12973192.

[0026] На фиг. 3A представлена диаграмма, демонстрирующая уровни мРНК UNC13A CE после обработки ASO в линии пациента со спорадическим ALS, несущей гаплотип риска по одному аллелю (аннотирован как +/-). qRT-PCR проводили с n = 4 биологическими повторностями. Среднее значение +/- s.e.m. Для статистического анализа использовали однофакторный ANOVA. p-значение * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.

[0027] На фиг. 3B представлена диаграмма, демонстрирующая уровни мРНК UNC13A после обработки ASO в линии пациента со спорадическим ALS, несущей гаплотип риска по одному аллелю (аннотирован как +/-). qRT-PCR проводили с n = 4 биологическими повторностями. Среднее значение +/- s.e.m. Для статистического анализа использовали однофакторный ANOVA. p-значение * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.

[0028] На фиг. 3C представлена диаграмма, демонстрирующая уровни мРНК UNC13A CE после обработки ASO в одной линии пациента C9ALS, которая не несет SNP UNC13A (C9ALS-SNP/-). qRT-PCR проводили с n = 4 биологическими повторностями. Среднее значение +/- s.e.m. Для статистического анализа использовали однофакторный ANOVA. p-значение * < 0,05, ** < 0,01, *** < 0,001, **** < 0,0001.

[0029] На фиг. 3D представлена диаграмма, демонстрирующая уровни мРНК UNC13A после обработки ASO в одной линии пациента C9ALS, которая не несет SNP UNC13A (C9ALS-SNP-/-). qRT-PCR проводили с $n = 4$ биологическими повторностями. Среднее значение \pm s.e.m. Для статистического анализа использовали однофакторный ANOVA. р-значение $* < 0,05$, $** < 0,01$, $*** < 0,001$, $**** < 0,0001$.

[0030] На фиг. 3E представлен вестернблоттинг, на котором экспрессия белка UNC13A была снижена с помощью миРНК TDP-43 по сравнению с миРНК отрицательного контроля, где эффект может быть восстановлен с помощью ASO, нацеленных на UNC13A.

[0031] На фиг. 3F представлена диаграмма, демонстрирующая, что уровень белка TDP-43 был значительно снижен с помощью миРНК TDP-43 (siTDP-43) по сравнению с миРНК отрицательного контроля. Для определения статистической значимости проводили однофакторный ANOVA.

[0032] На фиг. 3G представлена диаграмма, демонстрирующая, что уровень белка UNC13A был значительно снижен с помощью TDP-43 KD и восстановлен обработкой ASO по сравнению с миРНК отрицательного контроля. Для определения статистической значимости проводили однофакторный ANOVA.

[0033] На фиг. 4A представлена диаграмма, демонстрирующая, что эффективность нацеливания на криптоический экзон UNC 13A сильно зависит от последовательности и не демонстрирует последовательного паттерна. Ngn2-индуцированные возбуждающие нейроны коры обрабатывали 10 мкМ ASO в течение семи дней до сбора РНК. Все ASO имеют модифицированные 2МОЕ основания и фосфоротиоатные связи. Кратность изменения измерена относительно группы обработки миРНК TDP-43 + NCASO, которая не показана на графике.

[0034] На фиг. 4B представлена другая диаграмма, демонстрирующая, что эффективность нацеливания на криптоический экзон UNC13A сильно зависит от последовательности и не демонстрирует последовательного паттерна, даже среди вариаций одного и того же ASO (ASO 55). Ngn2-индуцированные возбуждающие нейроны коры обрабатывали 10 мкМ ASO в течение семи дней до сбора РНК. Все представленные ASO имеют модифицированные 2МОЕ основания и фосфотиоатные связи.

[0035] На фиг. 4C представлена диаграмма, демонстрирующая однофакторный анализ ANOVA с использованием критерия множественного сравнения Даннетта для сравнения всех тестовых групп с группой siTDP43 + NCASO. Все результаты имеют р-значение $< 0,0001$. Диаграмма показывает, что эффективность нацеливания на криптоический экзон UNC13A сильно зависит от последовательности и не демонстрирует последовательный паттерн среди вариаций ASO 55.

[0036] На фиг. 4D представлена диаграмма, демонстрирующая однофакторный анализ ANOVA с использованием критерия множественного сравнения Даннетта для сравнения всех тестовых групп с группой siTDP43 + NCASO. Только группа ASO 55_12-9 показала значительную разницу ($p < 0,0001$). Однако, если исключить группы ASO 55_12-9 и 55_12-8, то ASO 37, 55, 55_12-1, 55_12-2, 55_12-4 и siNC + NCASO показали значительные различия по сравнению с эталонной группой.

[0037] На фиг. 4E представлена диаграмма, демонстрирующая однофакторный анализ ANOVA с использованием критерия множественного сравнения Даннетта для сравнения всех тестовых групп с группой siTDP43 + NCASO, демонстрирующего, что эффективность нацеливания на криптический экзон UNC13A сильно зависит от последовательности и не демонстрирует последовательного паттерна среди вариаций ASO 55.

[0038] На фиг. 4F представлена диаграмма, демонстрирующая, что эффективность нацеливания на криптический экзон UNC13A сильно зависит от последовательности и не демонстрирует последовательного паттерна среди вариаций ASO 55. Как видно из таблицы, последовательности, выделенные синим цветом, идентичны в 6 ASO, а последовательности, выделенные красным цветом, идентичны в 3 ASO, которые тестировали. Для 12-мерной версии ASO-55 композиция последовательностей очень похожа, но способность пропуска UNC13A CE существенно отличается. Ngn2-индуцированные возбуждающие нейроны коры обрабатывали 10 мкМ ASO в течение семи дней до сбора РНК. Все ASO имеют модифицированные 2MOE основания и фосфонотиоатные связи.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[0039] Если не определено иное, все технические и научные термины, используемые в данном документе, имеют то же значение, которое обычно понятно специалисту в данной области. В случае противоречия, данный документ, включая определения, будет иметь преимущественную силу. Ниже описаны предпочтительные способы и материалы, хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные тем, которые описаны в данном документе, могут быть использованы на практике или при проверке настоящего изобретения. Все публикации, заявки на патенты, патенты и другие ссылочные материалы, упомянутые в данном документе, включены в данный документ посредством ссылки во всей своей полноте. Описанные в данном документе материалы, способы и примеры являются исключительно иллюстративными и не подразумевают ограничения. Используемая в данном документе терминология применяется только для описания конкретных вариантов и не подразумевает ограничения.

[0040] Определения

[0041] В контексте данного документа термины «содержать(ит)», «включать(ет)», «имеющий», «имеет», «может», «содержать(ит) в себе» и их варианты являются открытыми переходными фразами, терминами или словами, которые не исключают возможности наличия дополнительных действий или структур.

[0042] Формы единственного числа включают отсылки к множественному числу, если иное четко не следует из контекста.

[0043] В настоящем изобретении также предусмотрены другие варианты осуществления, «содержащие», «состоящие из» и «состоящие по сути из» представленных в данном документе вариантов осуществления или элементов, приведенных явным образом или нет.

[0044] В контексте данного документа термин «2'-дезоксинуклеозид» означает нуклеозид, содержащий 2'-Н(Н) фуранозильный сахарный фрагмент, обнаруженный во встречающихся в природе дезоксирибонуклеиновых кислотах (ДНК), и нуклеиновое основание. В определенных вариантах осуществления 2'-дезоксинуклеозид может содержать модифицированное нуклеиновое основание и фуранозильный сахарный фрагмент или может содержать фуранозильный сахарный фрагмент нуклеинового основания РНК (урацила).

[0045] В контексте данного документа «2'-замещенный нуклеозид» нуклеозид, содержащий 2'-замещенный сахарный фрагмент. В контексте данного документа термин «2'-замещенный» по отношению к сахарному фрагменту означает сахарный фрагмент, содержащий по меньшей мере одну 2'-замещающую группу, отличную от Н или ОН.

[0046] В контексте данного документа «антисмысловая молекула» означает олигомерную нуклеиновую кислоту или олигомерный дуплекс, способные обеспечить по меньшей мере одну антисмысловую активность.

[0047] Модификатор «около», используемый в связи с величиной, включает в себя указанное значение и имеет значение, продиктованное контекстом (например, он включает в себя по меньшей мере степень погрешности, связанную с измерением конкретной величины). Модификатор «около» также следует рассматривать как раскрывающий диапазон, определяемый абсолютными значениями двух конечных точек. Например, выражение «от около 2 до около 4» также раскрывает диапазон «от 2 до 4». Термин «около» может относиться к плюс или минус 10% от указанного числа. Например, «около 10%» может означать диапазон от 9% до 11%, а «около 1» может означать от 0,9 до 1,1. Другие значения «около» могут быть очевидны из контекста, например, округление, поэтому, например, «около 1» может также означать от 0,5 до 1,4.

[0048] В случае перечисления в данном документе числовых диапазонов явным образом

и с той же степенью точности подразумевается и каждое промежуточное число. Например, в случае диапазона 6–9, кроме чисел 6 и 9 подразумеваются числа 7 и 8, а в случае диапазона 6,0–7,0, явным образом подразумеваются числа 6,0, 6,1, 6,2, 6,3, 6,4, 6,5, 6,6, 6,7, 6,8, 6,9 и 7,0.

[0049] Используемый в данном документе термин «бициклический сахар» или «бициклический сахарный фрагмент» означает модифицированный сахарный фрагмент, содержащий два кольца, причем второе кольцо образовано через мостик, соединяющий два атома в первом кольце, тем самым образуя бициклическую структуру. В определенных вариантах осуществления первое кольцо бициклического сахарного фрагмента представляет собой фуранозильный фрагмент. В определенных вариантах осуществления бициклический сахарный фрагмент не содержит фуранозильный фрагмент. В контексте данного документа «бициклический нуклеозид» или «BNA» означает нуклеозид, содержащий бициклический сахарный фрагмент.

[0050] В контексте данного документа «хирально обогащенная популяция» означает множество молекул с идентичной молекулярной формулой, в котором количество или процентное содержание молекул в популяции, которые имеют конкретную стереохимическую конфигурацию в конкретном хиральном центре, превышает количество или процент ожидаемых молекул, которые имеют ту же конкретную стереохимическую конфигурацию в том же конкретном хиральном центре в популяции, если конкретный хиральный центр был стереослучайным. Хирально обогащенные популяции молекул, имеющие несколько хиральных центров внутри каждой молекулы, могут содержать один или более стереослучайных хиральных центров. В определенных вариантах осуществления молекулы представляют собой модифицированные олигонуклеотиды. В определенных вариантах осуществления молекулы представляют собой соединения, содержащие модифицированные олигонуклеотиды.

[0051] В контексте данного документа «комплементарный» по отношению к олигонуклеотиду означает, что по меньшей мере 70% нуклеиновых оснований олигонуклеотида или одной или нескольких его областей и нуклеиновых оснований другой нуклеиновой кислоты или одной или нескольких ее областей способны образовывать водородные связи друг с другом, когда последовательность нуклеиновых оснований олигонуклеотида и другой нуклеиновой кислоты выровнены в противоположных направлениях. Комплементарные нуклеиновые основания означают нуклеиновые основания, которые способны образовывать водородные связи друг с другом. Комплементарные пары нуклеиновых оснований включают аденин (A) и тимин (T), аденин (A) и урацил (U), цитозин (C) и гуанин (G), 5-метилцитозин (mC) и гуанин (G).

Комплементарные олигонуклеотиды и/или нуклеиновые кислоты не должны иметь комплементарные нуклеиновые основания при каждом нуклеозиде. Скорее допускаются некоторые ошибочные спаривания. В контексте данного документа термин «полностью комплементарные» или «на 100% комплементарные» в отношении олигонуклеотидов означает, что олигонуклеотиды комплементарны другим олигонуклеотиду или нуклеиновой кислоте по каждому нуклеозиду олигонуклеотида.

[0052] В определенных вариантах осуществления изобретения олигонуклеотиды содержат один или более типов модифицированных сахарных фрагментов и/или немодифицированных сахарных фрагментов, расположенных вдоль олигонуклеотида или его области определенным образом или в виде сахарного мотива. В определенных случаях такие сахарные мотивы могут содержать без ограничения любые из сахарных модификаций, рассмотренные в данном документе.

[0053] В определенных вариантах осуществления модифицированные олигонуклеотиды содержат или состоят из области, имеющей полностью модифицированный сахарный фрагмент. В таких вариантах осуществления каждый нуклеозид полностью модифицированной области модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахарный фрагмент. В определенных вариантах осуществления каждый нуклеозид всего модифицированного олигонуклеотида содержит модифицированный сахарный фрагмент. В определенных вариантах осуществления модифицированные олигонуклеотиды содержат или состоят из области, имеющей полностью модифицированный сахарный фрагмент, где каждый нуклеозид в полностью модифицированной области содержит один и тот же модифицированный сахарный фрагмент, называемый в данном документе однородно модифицированным сахарным фрагментом. В определенных вариантах осуществления полностью модифицированный олигонуклеотид представляет собой однородно модифицированный олигонуклеотид. В определенных вариантах осуществления каждый нуклеозид однородно модифицированного олигонуклеотида содержит одну и ту же 2'-модификацию.

[0054] «Ингибирование», как используется в данном документе, означает способность существенно антагонизировать, делать невозможными, предотвращать, подавлять, сдерживать, замедлять, нарушать, изменять, устранять, останавливать или обращать прогрессирование или тяжесть активности конкретного агента (например, инфекционного агента) или заболевания.

[0055] В контексте данного документа термин «межнуклеозидная связь» представляет собой ковалентную связь между смежными нуклеозидами в олигонуклеотиде. В контексте данного документа термин «модифицированная межнуклеозидная связь» означает любую

межнуклеозидную связь, отличную от фосфодиэфирной межнуклеозидной связи. «Фосфоротиоатная связь» представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь, в которой один из не являющихся мостиковыми атомов кислорода фосфодиэфирной межнуклеозидной связи замещается атомом серы.

[0056] В определенных вариантах осуществления нуклеозиды модифицированных олигонуклеотидов могут быть связаны вместе с использованием любой межнуклеозидной связи. Два основных класса межнуклеозидных связывающих групп определяют по наличию или отсутствию атома фосфора. Типичные фосфорсодержащие межнуклеозидные связи включают без ограничения фосфаты, которые содержат фосфодиэфирную связь (также называемые немодифицированными или встречающимися в природе связями), фосфотриэфиры, метилфосфонаты или другие алкилфосфонаты, фосфорамидаты и фосфоротиоаты, а также фосфородитиоаты. Типичные нефосфорсодержащие межнуклеозидные связывающие группы включают без ограничения метиленметилямино ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{O}-\text{CH}_2-$), сложный тиодифир, тионокарбамат ($-\text{O}-\text{C}(=\text{O})(\text{NH})-\text{S}-$); силоксан ($-\text{O}-\text{SiH}_2-\text{O}-$) и N,N'-диметилгидразин ($-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{N}(\text{CH}_3)-$). Модифицированные межнуклеозидные связи по сравнению со встречающимися в природе фосфатными связями можно использовать для изменения, как правило, повышения, устойчивости олигонуклеотида к нуклеазам. Способы получения содержащих фосфор и не содержащих фосфор межнуклеозидных связей хорошо известны специалистам в данной области техники.

[0057] Типичные межнуклеозидные связи, имеющие хиральный центр, включают без ограничения алкилфосфонаты и фосфоротиоаты. Модифицированные олигонуклеотиды, содержащие межнуклеозидные связи, имеющие хиральный центр, могут быть получены в виде популяций модифицированных олигонуклеотидов, содержащих стереослучайные межнуклеозидные связи, или в виде популяций модифицированных олигонуклеотидов, содержащих фосфоротиоатные связи в конкретных стереохимических конфигурациях. В определенных вариантах осуществления популяции модифицированных олигонуклеотидов содержат фосфоротиоатные межнуклеозидные связи, где все фосфоротиоатные межнуклеозидные связи являются стереослучайными. Такие модифицированные олигонуклеотиды могут быть созданы с использованием способов синтеза, которые приводят к случайному отбору стереохимической конфигурации каждой фосфоротиоатной связи. Тем не менее, как хорошо известно специалистам в данной области техники, каждый отдельный фосфоротиоат каждой отдельной молекулы олигонуклеотида имеет определенную стереоконфигурацию. В определенных вариантах осуществления популяции модифицированных олигонуклеотидов обогащены модифицированными

олигонуклеотидами, содержащими одну или более определенных фосфоротиоатных межнуклеозидных связей в определенной, независимо выбранной стереохимической конфигурации. В определенных вариантах осуществления определенная конфигурация определенной фосфоротиоатной связи присутствует в по меньшей мере 65% молекул в популяции. В определенных вариантах осуществления определенная конфигурация определенной фосфоротиоатной связи присутствует в по меньшей мере 70% молекул в популяции. В определенных вариантах осуществления определенная конфигурация определенной фосфоротиоатной связи присутствует в по меньшей мере 80% молекул в популяции. В определенных вариантах осуществления определенная конфигурация определенной фосфоротиоатной связи присутствует в по меньшей мере 90% молекул в популяции. В определенных вариантах осуществления определенная конфигурация определенной фосфоротиоатной связи присутствует в по меньшей мере 99% молекул в популяции. Такие хирально обогащенные популяции модифицированных олигонуклеотидов могут быть получены с использованием способов синтеза, известных из уровня техники, например, способов, описанных в Oka *et al.*, *JACS* 125, 8307 (2003); Wan *et al.*, *Nuc. Acid. Res.* 42, 13456 (2014); Chapter 10 of *Locked Nucleic Acid Aptamers in Nucleic Acid and Peptide Aptamers: Methods and Protocols* v 535, 2009 by Barciszewski *et al.*, editor Gunter Mayerand; и WO 2017/015555. В определенных вариантах осуществления популяция модифицированных олигонуклеотидов обогащена модифицированными олигонуклеотидами, имеющими по меньшей мере один указанный фосфоротиоат в (Sp)-конфигурации. В другом варианте осуществления популяция модифицированных олигонуклеотидов обогащена модифицированными олигонуклеотидами, имеющими по меньшей мере один указанный фосфоротиоат в (Rp)-конфигурации.

[0058] В контексте данного документа «МОЕ» означает метоксиэтил. «2'-МОЕ» означает группу -OCH₂CH₂OCH₃ в 2' положении фуранозильного кольца.

[0059] «Неврологическое заболевание» представляет собой любое заболевание, которое вызывает электрические, биохимические или структурные аномалии в головном мозге, позвоночнике или нейронах. Например, неврологическое заболевание может представлять собой нейродегенеративное заболевание. Нейродегенеративное заболевание может привести, например, к дегенерации двигательных нейронов. Неврологическое заболевание может представлять собой, например, амиотрофический латеральный склероз (ALS), болезнь Хантингтона, болезнь Альцгеймера или фронтотемпоральную деменцию. Другие примеры неврологического заболевания включают без ограничения болезнь Паркинсона, хроническую травматическую энцефалопатию, рассеянный склероз, периферическую миопатию, энцефалит Расмуссена, расстройство дефицита внимания с гиперактивностью,

аутизм, центральные болевые синдромы, тревожность и/или депрессию, например. В одном варианте осуществления пациент страдает неврологическим заболеванием, при котором происходит истощение TDP-43.

[0060] Неврологическое заболевание может быть связано с абберантным эндосомальным транспортом. Например, эндосомальные пути и эндосомы являются необходимыми компонентами для рециркуляции или разрушения связанных с мембраной белков, транспорта белков, связанных с аппаратом Гольджи, и внеклеточного высвобождения белков в экзосомах. Эти процессы способствуют нейротрансмиссии и обеспечивают баланс между рециркуляцией и разрушением синаптических везикул или рецепторов нейротрансмиттеров, например.

[0061] Неврологическое заболевание может быть связано с абберантной лизосомальной деградации. Изменения в лизосомальной деградации могут присутствовать при неврологическом заболевании, таком как нейродегенеративное заболевание. Дисбаланс катепсинов при старении и возрастных заболеваниях может вызывать пагубные эффекты для нейронов центральной нервной системы (ЦНС), а лизосомы могут быть участками разворачивания и частичной деградации мембранных белков или их предшественников, которые впоследствии выводятся из клетки или высвобождаются из мертвых клеток и накапливаются в виде патологических образований.

[0062] Медицинский работник может диагностировать у субъекта заболевание, связанное с дегенерацией двигательных нейронов, путем оценки одного или нескольких симптомов дегенерации двигательных нейронов. Чтобы диагностировать неврологическое заболевание, за физическим осмотром может последовать тщательное неврологическое обследование. В ходе неврологического обследования могут оцениваться двигательные и сенсорные навыки, функция нервов, слух и речь, зрение, координация и равновесие, психическое состояние, а также изменения настроения и поведения. Неограниченные симптомы заболевания, связанного с неврологическим заболеванием, могут представлять собой слабость в руках, ногах, стопах или лодыжках; невнятную речь; затруднение при подъеме передней части стопы и пальцев ног; слабость или неуклюжесть рук; паралич мышц; ригидность мышц; непроизвольные подергивания или писчие движения (хорею); непроизвольные, продолжительные сокращения мышц (дистонию); брадикинезию; потерю автоматических движений; нарушение осанки и равновесия; отсутствие гибкости; покалывание в частях тела; ощущения электрического удара, возникающие при движении головы; подергивание рук, плеч и языка; затрудненное глотание; затрудненное дыхание; затрудненное жевание; частичную или полную потерю зрения; двоение в глазах; замедленные или аномальные движения глаз; тремор; неустойчивую походку; усталость;

потерю памяти; головокружение; трудность с мышлением или концентрацией внимания; трудность с чтением или письмом; неправильную интерпретацию пространственных отношений; дезориентацию; депрессию; тревожность; трудности в принятии решений и суждений; потерю контроля импульсивности; трудность в планировании и выполнении привычных задач; агрессивность; раздражительность; социальную замкнутость; перепады настроения; деменцию; изменение привычек сна; блуждание и изменение аппетита.

[0063] Тесты можно проводить для выявления заболеваний и нарушений, которые могут иметь симптомы, сходные с симптомами неврологических заболеваний, измерения поражения мышц, оценки дегенерации нейронов. Неограничивающими примерами тестов являются электромиография (EMG); исследование скорости нервной проводимости; лабораторные анализы крови, мочи или других веществ; магнитно-резонансная томография (MRI); магнитно-резонансная спектроскопия; биопсия мышц или нервов; транскраниальная магнитная стимуляция; генетический скрининг; рентген; флюороскопия; ангиография; компьютерная томография (СТ); позитронно-эмиссионная томография; анализ спинномозговой жидкости; интратекальная СТ с контрастным усилением; электроэнцефалография; электронистагмография; вызванный ответ; полисомнограмма; термография и ультразвуковое исследование. Медицинский работник также может оценить семейный анамнез пациента по заболеваниям, связанным с дегенерацией двигательных нейронов, и поставить диагноз, частично основываясь на семейном анамнезе неврологических заболеваний. Медицинский работник может диагностировать заболевание, связанное с неврологическим заболеванием, у субъекта после появления одного или нескольких симптомов.

[0064] Нейродегенеративные заболевания приводят к прогрессирующему разрушению нейронов, что влияет на нейронную передачу сигнала. Например, нейродегенерация может представлять собой амиотрофический латеральный склероз, болезнь Альцгеймера, болезнь Хантингтона, атаксию Фридрейха, болезнь телец Леви, болезнь Паркинсона, атрофию спинальных мышц, первичный латеральный склероз, прогрессирующую мышечную атрофию, прогрессирующий бульбарный паралич и псевдобульбарный паралич.

[0065] Заболевания, ассоциированные с дегенерацией двигательных нейронов, могут представлять собой состояние, которое приводит к прогрессирующему разрушению двигательных нейронов, что мешает передаче сигналов нейронов мышцам, что приводит к мышечной слабости и истощению. У здоровых индивидуумов верхние двигательные нейроны передают сигналы от головного мозга к нижним двигательным нейронам ствола головного мозга и спинного мозга, которые затем передают сигнал мышцам, что приводит к произвольной мышечной активности. Разрушение верхних и нижних двигательных

нейронов влияет на такую активность, как дыхание, разговор, глотание и ходьба, и со временем эти функции могут быть утрачены. Примеры заболеваний двигательных нейронов включают без ограничения боковой амиотрофический склероз, первичный боковой склероз, прогрессирующую мышечную атрофию, прогрессирующий бульбарный паралич и псевдобульбарный паралич.

[0066] Гипервозбудимость нейронов может возникнуть, когда рецепторы возбуждающего нейромедиатора глутамата (глутаматные рецепторы), такие как рецептор NMDA и рецептор AMPA, чрезмерно активируются избытком глутамата или другими соединениями или нейромедиаторами, действующими на глутаматные рецепторы. Эксайтотоксичность может быть результатом гипервозбудимости нейронов. Эксайтотоксичность представляет собой патологический процесс, при котором нервные клетки повреждаются или погибают в результате избыточной стимуляции. Чрезмерная стимуляция позволяет высоким уровням ионов кальция (Ca^{2+}) проникнуть в клетку. Приток Ca^{2+} в клетки активирует ряд ферментов, включая фосфолипазы, эндонуклеазы и протеазы, такие как кальпаин. Эти ферменты могут повреждать клеточные структуры, такие как компоненты цитоскелета, мембраны и ДНК.

[0067] Гипервозбудимость нейронов может быть связана с повреждением спинного мозга, инсультом, травматическим повреждением головного мозга, потерей слуха (вследствие избыточного воздействия шума или ототоксичности), эпилепсией, болезненными нейропатиями, расстройством дефицита внимания с гиперактивностью, аутизмом, центральными болевыми синдромами, нейродегенеративными заболеваниями, рассеянным склерозом, болезнью Альцгеймера, амиотрофическим латеральным склерозом (ALS), болезнью Паркинсона, лобно-височной деменцией, шизофренией, энцефалитом Расмуссена, болезнью Хантингтона, алкоголизмом или алкогольной абстиненцией и особенно сверхбыстрой бензодиазепиновой абстиненцией, а также болезнью Хантингтона. Другими распространенными состояниями, которые вызывают избыточную концентрацию глутамата вокруг нейронов, являются гипогликемия. Уровни сахара в крови являются основным способом удаления глутамата из межсинаптических пространств в участках рецепторов NMDA и AMPA.

[0068] В контексте данного документа «небициклический модифицированный сахарный фрагмент» означает модифицированный сахарный фрагмент, который содержит модификацию, такую как заместитель, который не образует мостик между двумя атомами сахара с образованием второго кольца.

[0069] В контексте данного документа «нуклеиновое основание» означает немодифицированное нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание. В контексте данного документа «немодифицированное нуклеиновое

основание» представляет собой аденин (А), тимин (Т), цитозин (С), урацил (U) или гуанин (G). В контексте данного документа «модифицированное нуклеиновое основание» представляет собой группу атомов, отличных от немодифицированных А, Т, С, U или G, способных образовывать пары с по меньшей мере одним немодифицированным нуклеиновым основанием или модифицированным нуклеиновым основанием. «5-Метилцитозин» или «mC» представляет собой модифицированное нуклеиновое основание. Универсальное основание представляет собой модифицированное нуклеиновое основание, которое может образовывать пары с любым из пяти немодифицированных нуклеиновых оснований. В контексте данного документа «последовательность нуклеиновых оснований» означает порядок смежных нуклеиновых оснований в нуклеиновой кислоте или олигонуклеотиде независимо от какой-либо модификации сахара или межнуклеозидной связи.

[0070] В определенных вариантах осуществления модифицированные олигонуклеотиды содержат один или более нуклеозидов, содержащих немодифицированное нуклеиновое основание. В определенных вариантах осуществления модифицированные олигонуклеотиды содержат один или более нуклеозидов, содержащих модифицированное нуклеиновое основание. В определенных вариантах осуществления модифицированные олигонуклеотиды содержат один или более нуклеозидов, которые не содержат нуклеиновое основание, называемые нуклеозидом с удаленным нуклеиновым основанием.

[0071] В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания выбраны из 5-замещенных пиримидинов, 6-азапиримидинов, алкил- или алкинилзамещенных пиримидинов, алкилзамещенных пуринов и N-2, N-6 и O-6 замещенных пуринов. В определенных вариантах осуществления модифицированные нуклеиновые основания выбраны из 2-аминопропиладенина, 5-гидроксиметилцитозина, ксантина, гипоксантина, 2-аминоаденина, 6-N-метилгуанина, 6-N-метиладенина, 2-пропиладенина, 2-тиоурацила, 2-тиотимина и 2-тиоцитозина, 5-пропинил (-C≡C-CH₃)урацила, 5-пропинилцитозина, 6-азоурацила, 6-азоцитозина, 6-азотимина, 5-рибозилурацила (псевдоурацила), 4-тиоурацила, 8-галогена, 8-амино, 8-тиола, 8-тиоалкила, 8-гидроксила, 8-аза и других 8-замещенных пуринов, 5-галогена, в частности, 5-брома, 5-трифторметила, 5-галоурацила и 5-галоцитозина, 7-метилгуанина, 7-метиладенина, 2-F-аденина, 2-аминоаденина, 7-дезагуанина, 7-дезааденина, 3-дезагуанина, 3-дезааденина, 6-N-бензоиладенина, 2-N-изобутирилгуанина, 4-N-бензоилцитозина, 4-N-бензоилурацила, 5-метил-4-N-бензоилцитозина, 5-метил-4-N-бензоилурацила, универсальных оснований, гидрофобных оснований, смешанных оснований, увеличенных в размере оснований и фторированных оснований. Дополнительные модифицированные нуклеиновые основания

включают трициклические пиримидины, такие как 1,3-диазафеноксазин-2-он, 1,3-диазафенотиазин-2-он и 9-(2-аминоэтокси)-1,3-диазафеноксазин-2-он (G-фиксирующее основание). Модифицированные нуклеиновые основания также могут включать основания, в которых пуриновое или пиримидиновое основание заменено другими гетероциклами, например, 7-дезааденином, 7-дезагуанозином, 2-аминопиридином и 2-пиридоном. Дополнительные нуклеиновые основания включают раскрытые в патенте США № 3687808, раскрытые в The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, Kroschwitz, J. I., Ed., John Wiley & Sons, 1990, 858-859; Englisch et al., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613; Sanghvi, Y. S., Chapter 15, Antisense Research and Applications, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., CRC Press, 1993, 273-288; и раскрытые в главах 6 и 15 Antisense Drug Technology, Crooke S. T., Ed., CRC Press, 2008, 163-166 and 442-443.

[0072] В контексте данного документа «нуклеозид» означает соединение, содержащее нуклеиновое основание и сахарный фрагмент. Каждые нуклеиновое основание и сахарный фрагмент независимо являются немодифицированными или модифицированными. В контексте данного документа «модифицированный нуклеозид» означает нуклеозид, содержащий модифицированное нуклеиновое основание и/или модифицированный сахарный фрагмент. Модифицированные нуклеозиды включают нуклеозиды, в которых отсутствует нуклеиновое основание. «Связанные нуклеозиды» представляют собой нуклеозиды, которые соединены в непрерывную последовательность (т. е. между связанными нуклеозидами отсутствуют дополнительные нуклеозиды).

[0073] В контексте данного документа «олигомерное соединение» означает олигонуклеотид и необязательно один или более дополнительных элементов, таких как конъюгатная группа или концевая группа. Олигомерное соединение может быть спарено со вторым олигомерным соединением, которое комплементарно первому олигомерному соединению, или может быть не спарено. «Однонитевое олигомерное соединение» представляет собой неспаренное олигомерное соединение. Термин «олигомерный дуплекс» означает дуплекс, образованный двумя олигомерными соединениями, имеющими комплементарные последовательности нуклеиновых оснований. Каждое олигомерное соединение олигомерного дуплекса может называться «дуплексным олигомерным соединением».

[0074] В контексте данного документа «олигонуклеотид» означает нить связанных нуклеозидов, соединенных посредством межнуклеозидных связей, где каждый нуклеозид и межнуклеозидная связь могут быть модифицированными или немодифицированными. Межнуклеозидные связи могут быть любыми, описанными в данном документе. Если не

указано иное, олигонуклеотиды состоят из 8-50 связанных нуклеозидов. В контексте данного документа «модифицированный олигонуклеотид» означает олигонуклеотид, где по меньшей мере один нуклеозид или межнуклеозидная связь модифицированы. В контексте данного документа «немодифицированный олигонуклеотид» означает олигонуклеотид, который не содержит каких-либо модификаций нуклеозидов или модификаций межнуклеозидных связей.

[0075] «*UNC13A*» принадлежит к семейству генов, первоначально открытых у *C. elegans*, и получил свое название из-за некоординированных (*unc*) движений, которые демонстрируют животные с мутациями в этих генах из-за дефицита высвобождения нейротрансмиттеров. *UNC13A* кодирует крупный многодоменный белок, экспрессируемый в нервной системе, где он локализуется в нервно-мышечных соединениях и играет важную роль на этапе прайминга везикул, предшествующем слиянию синаптических везикул. Как известно, варианты в гене *UNC13A* повышают риск развития амиотрофического латерального склероза (ALS) и фронтотемпоральной деменции (FTD) - двух родственных нейродегенеративных заболеваний, определяемых неправильной локализацией РНК-связывающего белка TDP-43.

[0076] В контексте данного документа «сахарный фрагмент» означает немодифицированный сахарный фрагмент или модифицированный сахарный фрагмент. Надстрочный штрих (') используется для описания нумерации сахара в нуклеозиде или нуклеотиде (положения нуклеиновых оснований нумеруются без штриха). При описании только сахара штрих не используется. В контексте данного документа «немодифицированный сахарный фрагмент» означает 2-ОН(Н) фуранозильный фрагмент, обнаруженный в РНК («немодифицированный сахарный фрагмент РНК»), или 2-Н(Н) фрагмент, обнаруженный в ДНК («немодифицированный сахарный фрагмент ДНК»). Немодифицированные сахарные фрагменты содержат по одному водороду в каждом из положений 1, 3 и 4, кислород в положении 3 и два водорода в положении 5. В контексте данного документа «модифицированный сахарный фрагмент» или «модифицированный сахар» означает модифицированный фуранозильный сахарный фрагмент или заместитель сахара. В контексте данного документа модифицированный фуранозильный сахарный фрагмент означает фуранозильный сахар, содержащий неводородный заместитель вместо по меньшей мере одного водорода в немодифицированном сахарном фрагменте. В определенных вариантах осуществления модифицированный фуранозильный сахарный фрагмент представляет собой 2-замещенный сахарный фрагмент. Такие модифицированные фуранозильные сахарные фрагменты включают бициклические сахара и небциклические сахара.

[0077] В определенных вариантах осуществления модифицированные сахарные фрагменты представляют собой небциклические модифицированные сахарные фрагменты, содержащие фуранозильное кольцо с одной или более группами заместителей, ни одна из которых не связывает два атома фуранозильного кольца с образованием бициклической структуры. Такие немостиковые заместители могут находиться в любом положении фуранозила, включая без ограничения заместители в положениях 2, 4 и/или 5. В определенных вариантах осуществления один или более немостиковых заместителей небциклических модифицированных сахарных фрагментов являются разветвленными. Примеры групп 2-заместителей, подходящих для небциклических модифицированных сахарных фрагментов, включают без ограничения 2-F, 2-OCH₃ («ОМе» или «О-метил») и 2-O(CH₂)₂OCH₃ («МОЕ»). В определенных вариантах осуществления группы 2-заместителей выбраны из галогена, аллила, amino, азидо, SH, CN, OCN, CF₃, OCF₃, O-C₁₋₁₀алкокси, O-C₁₋₁₀-замещенного алкокси, O-C₁₋₁₀алкила, O-C₁₋₁₀-замещенного алкила, S-алкила, N(R_m)-алкила, O-алкенила, S-алкенила, N(R_m)-алкенила, O-алкинила, S-алкинила, N(R_m)-алкинила, O-алкиленил-O-алкила, алкинила, алкарила, аралкила, O-алкарила, O-аралкила, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n) или OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n), где каждый R_m и R_n независимо представляет собой H, аминокзащитную группу или замещенный или незамещенный C₁₋₁₀алкил, а группы 2-заместителей могут быть дополнительно замещены одной или более группами заместителей, независимо выбранными из гидроксила, amino, алкокси, карбокси, бензила, фенила, нитро (NO₂), тиола, тиоалкокси, тиоалкила, галогена, алкила, арила, алкенила и алкинила. Примеры 4'-заместителей, подходящих для небциклических модифицированных сахарных фрагментов, включают без ограничения алкокси (например, метокси) и алкил. Примеры групп 5-заместителей, подходящих для небциклических модифицированных сахарных фрагментов, включают без ограничения 5-метил (R или S), 5-винил и 5-метокси. В определенных вариантах осуществления небциклические модифицированные сахарные фрагменты содержат более одного немостикового заместителя сахара, например, 2-F-5-метилсахарные фрагменты и т. п.

[0078] В определенных вариантах осуществления 2'-замещенный небциклический модифицированный нуклеозид содержит сахарный фрагмент, содержащий немостиковую группу 2'-заместителя, выбранную из F, NH₂, N₃, OCF₃, OCH₃, O(CH₂)₃NH₂, CH₂CH=CH₂, OCH₂CH=CH₂, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(R_m)(R_n), O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂ и N-замещенного ацетамида (OCH₂C(=O)-N(R_m)(R_n)), где каждый R_m и R_n независимо представляет собой H, аминокзащитную группу или замещенный или незамещенный C₁₋₁₀алкил.

[0079] В определенных вариантах осуществления 2'-замещенный нуклеозид,

небициклический модифицированный нуклеозид, содержит сахарный фрагмент, содержащий немостиговую группу 2'-заместителя, выбранную из F, OCF₃, OCH₃, OCH₂CH₂OCH₃, O(CH₂)₂SCH₃, O(CH₂)₂ON(CH₃)₂, O(CH₂)₂O(CH₂)₂N(CH₃)₂, and OCH₂C(=O)-N(H)CH₃ («NMA»).

[0080] В определенных вариантах осуществления 2'-замещенный небциклический модифицированный нуклеозид содержит сахарный фрагмент, содержащий немостиговую группу 2'-заместителя, выбранную из F, OCH₃ и OCH₂CH₂OCH₃.

[0081] Определенные модифицированные сахарные фрагменты содержат заместитель, который связывает два атома фуранозильного кольца с образованием второго кольца, что приводит к образованию бициклического сахарного фрагмента. В определенных таких вариантах осуществления бициклический сахарный фрагмент содержит мостик между атомами фуранозного кольца в положении 4 и 2. Примеры таких 4-2 мостиковых заместителей сахара включают без ограничения 4-CH₂-2, 4-(CH₂)₂-2, 4-(CH₂)₃-2, 4-CH₂-O-2 («LNA»), 4-CH₂-S-2, 4-(CH₂)₂-O-2 («ENA»), 4-CH(CH₃)-O-2 (обозначаемый как «затрудненный этил» или «сEt»), 4-CH₂-O-CH₂-2, 4-CH₂-N(R)-2, 4-CH(CH₂OCH₃)-O-2 («затрудненный МОЕ» или «сМОЕ») и их аналоги, 4-C(CH₃)(CH₃)-O-2 и их аналоги, 4-CH₂-N(OCH₃)-2 и их аналоги, 4-CH₂-O-N(CH₃)-2, 4-CH₂-C(H)(CH₃)-2, 4-CH₂-C(=CH₂)-2 и их аналоги, 4-C(R_aR_b)-N(R)-O-2, 4-C(R_aR_b)-O-N(R)-2, 4-CH₂-O-N(R)-2 и 4-CH₂-N(R)-O-2, где каждый R, R_a и R_b независимо представляет собой H, защитную группу или C₁₋₁₂алкил.

[0082] В определенных вариантах осуществления такие 4-2 мостика независимо содержат от 1 до 4 связанных групп, независимо выбранных из -[C(R_a)(R_b)]_n-, -[C(R_a)(R_b)]_n-O-, -C(R_a)=C(R_b)-, -C(R_a)=N-, -C(=NR_a)-, -C(=O)-, -C(=S)-, -O-, -Si(R_a)₂-, -S(=O)_x- и -N(R_a)-; где x равняется 0, 1 или 2; n равняется 1, 2, 3 или 4; каждый R_a и R_b независимо представляет собой H, защитную группу, гидроксил, C₁₋₁₂алкил, замещенный C₁₋₁₂алкил, C₁₋₁₂алкенил, замещенный C₂₋₁₂алкенил, C₂₋₁₂алкинил, замещенный C₂₋₁₂алкинил, C₅₋₂₀арил, замещенный C₅₋₂₀арил, гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, гетероарил, замещенный гетероарил, C₅₋₇алициклический радикал, замещенный C₅₋₇алициклический радикал, галоген, OJ₁, NJ₁J₂, SJ₁, N₃, COOJ₁, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил, CN, сульфонил (S(=O)₂-J₁) или сульфоксил (S(=O)-J₁); и каждый J₁ и J₂ независимо представляет собой H, C₁₋₁₂алкил, замещенный C₁₋₁₂алкил, C₂₋₁₂алкенил, замещенный C₂₋₁₂алкенил, C₂₋₁₂алкинил, замещенный C₂₋₁₂алкинил, C₅₋₂₀арил, замещенный C₅₋₂₀арил, ацил (C(=O)-H), замещенный ацил, гетероциклический радикал, замещенный гетероциклический радикал, C₁₋₁₂аминоалкил, замещенный C₁₋₁₂аминоалкил или защитную группу.

[0083] Дополнительные бициклические сахарные фрагменты известны уз уровня техники,

см., например: Freier *et al.*, *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(22), 4429-4443, Albaek *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2006, 71, 7731-7740, Singh *et al.*, *Chem. Commun.*, 1998, 4, 455-456; Koshkin *et al.*, *Tetrahedron*, 1998, 54, 3607-3630; 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.*, 20017, 129, 8362-8379; Wengel *et al.*, патент США № 7053207; Imanishi *et al.*, патент США № 6268490; Imanishi *et al.*, патент США № 6770748; Imanishi *et al.*, U. S. RE44779; Wengel *et al.*, патент США № 6794499; Wengel *et al.*, патент США № 6670461; Wengel *et al.*, патент США № 7034133; Wengel *et al.*, патент США № 8080644; Wengel *et al.*, патент США № 8034909; Wengel *et al.*, патент США № 8153365; Wengel *et al.*, патент США № 7572582; и Ramasamy *et al.*, патент США № 6525191; Torsten *et al.*, WO 2004/106356; Wengel *et al.*, WO 1999/014226; Seth *et al.*, WO 2007/134181; Seth *et al.*, патент США № 7547684; Seth *et al.*, патент США № 7666854; Seth *et al.*, патент США № 8088746; Seth *et al.*, патент США № 7750131; Seth *et al.*, патент США № 8030467; Seth *et al.*, патент США № 8268980; Seth *et al.*, патент США № 8546556; Seth *et al.*, патент США № 8530640; Migawa *et al.*, патент США № 9012421; Seth *et al.*, патент США № 8501805; и патентные публикации США №№ Allerson *et al.*, US2008/0039618 и Migawa *et al.*, US2015/0191727.

[0084] «Субъект» и «пациент», используемые в данном документе взаимозаменяемо, относятся к любому позвоночному, включая без ограничения млекопитающее (например, корову, свинью, верблюда, ламу, лошадь, козу, кролика, овцу, хомяков, морскую свинку, кошку, собаку, крысу и мышь, отличного от человека примата (например, обезьяну, такую как яванский или резус-макак, шимпанзе и т. д.) и человека). В некоторых вариантах осуществления субъект может представлять собой человека или отличный от человека организм. В предпочтительном варианте осуществления субъект или пациент является человеком. Субъект или пациент может проходить другие формы лечения.

[0085] «Терапевтически эффективное количество», или «эффективная дозировка», или «эффективное количество», используемые в данном документе взаимозаменяемо, если не указано иное, означают дозировку лекарственного средства, эффективную в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого терапевтического результата. Эффективная дозировка может быть определена специалистом в данной области техники и может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние заболевания, возраст, пол и масса индивидуума, а также способность лекарственного средства вызывать требуемый ответ у индивидуума. Этот термин, используемый в данном документе, может также относиться к количеству, эффективному для достижения требуемого эффекта *in vivo* у животного, млекопитающего или человека. Терапевтически эффективное количество может быть введено за одно или более введений (например, средство может вводиться в

качестве профилактического лечения или терапевтически на любой стадии прогрессирования заболевания, до или после появления симптомов и т. п.), применений или дозировок и не предназначено для ограничения конкретным составом, комбинацией или путем введения. В объем настоящего изобретения входит то, что лекарственное средство можно вводить в различные периоды времени в ходе лечения субъекта. Моменты времени введения и используемые дозировки будут зависеть от нескольких факторов, таких как цель лечения (например, лечение или предупреждение), состояние субъекта и т. д. и могут быть легко определены специалистом в данной области техники.

[0086] В контексте данного документа термин «лечить» или «лечение» субъекта относится к введению композиции или средства, описанных в данном документе, субъекту, так что по меньшей мере один симптом заболевания или нарушения излечивается, облегчается, ослабляется, изменяется, исправляется, уменьшается, смягчается или улучшается. Лечение включает введение количества, эффективного для облегчения, ослабления, изменения, устранения, уменьшения, смягчения и/или улучшения одного или более симптомов, связанных с заболеванием или нарушением. Лечение может ингибировать усугубление или ухудшение симптома, связанного с заболеванием или нарушением.

[0087] Отличительной патологической особенностью амиотрофического латерального склероза (ALS) и фронтотемпоральной деменции (FTD) является истощение РНК-связывающего белка TDP-43 из ядра нейронов головного и спинного мозга в цитоплазму, где он агрегирует в нерастворимые тельца включения в более чем 95 % случаев ALS и около 45 % случаев FTD посмертно (Brown, *supra*). Основной функцией TDP-43 является репрессия включения криптоических экзонов (между каноническими экзонами 20 и 21) во время сплайсинга РНК. Однонуклеотидные полиморфизмы (SNP) в UNC13A являются одними из самых сильных совпадений в полногеномном исследовании связей (GWAS), связанных с FTD/ALS у людей (Diekstra *et al.*, *Ann. Neurol.* 76, 120–133, 2014). Имеются данные о том, что TDP-43 подавляет сплайсинг криптоических экзонов в UNC13A. (В отличие от нормальных консервативных экзонов, эти криптоические экзоны скрываются в интронах и обычно исключаются из зрелых мРНК). Утрата TDP-43 из ядра в головном мозге человека, клеточных линиях нейронов и iPSC-производных двигательных нейронов привела к включению криптоического экзона в мРНК UNC13A и снижению экспрессии белка UNC13A. Rosa Ma *et al.*, «TDP-43 represses cryptic exon inclusion in FTD/ALS gene *UNC13A*.», <https://doi.org/10.1101/2021.04.02.438213>, *bioRxiv* (опубликовано 4 апреля 2021 г.). Основные варианты, ассоциированные с риском FTD/ALS у людей, расположены в самом укрывающем криптоический экзон интроне, и показано, что они усиливают сплайсинг

криптического экзона UNC13A в условиях дисфункции TDP-43. Данные показывают, что существует прямая функциональная связь между одним из самых сильных генетических факторов риска развития FTD/ALS (генетические варианты UNC13A) и потерей функции TDP-43.

[0088] Согласно Rosa Ma наиболее значимые генетические варианты, ассоциированные с риском развития заболеваний FTD/ALS, расположены в пределах интрона, несущего сам криптический экзон. В образцах головного мозга пациентов с фронтотемпоральной лобарной дегенерацией (FTLD) с включениями TDP-43 (FTLD-TDP), несущих эти SNP, наблюдалось больше включений криптического экзона UNC13A, чем в образцах головного мозга пациентов с FTLD-TDP, не имеющих аллелей риска. Согласно Rosa Ma этих аллелей риска недостаточно для того, чтобы вызвать включение криптического экзона, поскольку криптический экзон не выявляется в данных последовательности РНК здоровых контрольных образцов (GTEx), а функциональные исследования показывают, что дисфункция TDP-43 необходима для включения криптического экзона UNC13A. Вместо этого аллели риска UNC13A оказывают зависимый от потери функции TDP-43 эффект модификации заболевания. Без ограничения какой-либо конкретной теорией авторы настоящего изобретения предполагают, что усиление экспрессии белка UNC13A является эффективным лечением нейродегенеративных заболеваний, таких как ALS и FTD.

[0089] Криптический экзон встречается в двух формах, различающихся своим размером, между экзонами 20 и 21 после нокдауна TDP-43. Один SNP риска, rs12973192, занимает 16 пар оснований внутри криптического экзона, а другой занимает 534 пары оснований ниже донорного сайта сплайсинга криптического экзона в том же интроне. SNP риска увеличивают количество включений криптических экзонов в коре головного мозга в случаях ALS и FTD независимым и аддитивным образом. Недавний анализ включения UNC13A CE в объемные данные РНК-секвенирования тканей головного и спинного мозга 377 индивидуумов, включая пациентов с ALS, FTD и контроли, показал, что UNC13A CE обнаруживается посмертно в тканях пациентов с ALS или FTD с патологией TDP-43 (Brown *et al.*, *Nature* 603:131–137, 2022), а не носителей SNP риска UNC13A. Экспрессия криптического экзона отражала известное тканевое распределение агрегации и клиренса TDP-43: она была специфична для спинного мозга и моторной коры при ALS, а также лобной и височной коры при FTD, но отсутствовала в мозжечке как при заболевании, так и в контроле.

[0090] Описанные в данном документе способы лечения включают введение нуждающемуся в этом субъекту композиции, содержащей эффективное количество одного или более антисмысловых олигонуклеотидов, которые лечат неврологические заболевания

путем подавления, предупреждения или ингибирования транскрипции криптического экзона UNC13A. Один или более антисмысловых олигонуклеотидов могут уменьшать или ингибировать нейродегенерацию.

[0091] Восстановление уровней UNC13A у пациентов с ALS, имеющих патологию TDP-43, может привести к увеличению выживаемости пациентов с неврологическими и нейродегенеративными заболеваниями, такими как ALS или FTD, например, на несколько лет. Заявленные в данном документе антисмысловые олигонуклеотиды (ASO) могут инъекцироваться непосредственно в спинной мозг и обеспечивать устойчивое воздействие на мишень во всей центральной нервной системе с минимальной периферической токсичностью.

[0092] В настоящем изобретении представлены олигонуклеотиды (модифицированные или немодифицированные), которые можно применять для модуляции экспрессии UNC13A. В таблице 1 представлена общая последовательность оснований (от 5' до 3') для антисмысловых олигонуклеотидов UNC13A человека или ингибирующих нуклеиновых кислот по настоящему изобретению.

[0093] Гаплотип риска UNC13A, связанный с предрасположенностью к ALS/FTD, потенцирует включение криптического экзона при дисфункции TDP-43. SNP, ассоциированные с ALS/FTD в UNC13A, включают rs12608932 и rs12973192. Оба rs12608932 (A>C) и rs12973192 (C>G) расположены в том же интроне, который, как было обнаружено, содержит криптический экзон. На фиг. 2 показаны расположения ASO относительно криптического экзона, сайта связывания TDP-43 и относительно SNP, rs12608932 и rs12973192.

ТАБЛИЦА 1

SEQ ID NO.	Последовательность
1	GAATCTACCCACCAACTCAT
2	AATCTACCCACCAACTCATC
3	ATCTACCCACCAACTCATCC
4	TCTACCCACCAACTCATCCA
5	CTACCCACCAACTCATCCAT
6	TACCCACCAACTCATCCATC
7	ACCCACCAACTCATCCATCT
8	CCCACCAACTCATCCATCTA
9	CCACCAACTCATCCATCTAT
10	CACCAACTCATCCATCTATC

11	ACCAACTCATCCATCTATCC
12	CCAACTCATCCATCTATCCA
13	CAACTCATCCATCTATCCAT
14	AACTCATCCATCTATCCATC
15	ACTCATCCATCTATCCATCC
16	CTCATCCATCTATCCATCCA
17	TCATCCATCTATCCATCCAT
18	CATCCATCTATCCATCCATG
19	ATCCATCTATCCATCCATGT
20	TCCATCTATCCATCCATGTA
21	CCATCTATCCATCCATGTAC
22	CATCTATCCATCCATGTACT
23	ATCTATCCATCCATGTACTC
24	TCTATCCATCCATGTACTCA
25	CTATCCATCCATGTACTCAC
26	TATCCATCCATGTACTCACC
27	ATCCATCCATGTACTCACCC
28	TCCATCCATGTACTCACCCA
29	CCATCCATGTACTCACCCAT
30	CATCCATGTACTCACCCATC
31	ATCCATGTACTCACCCATCT
32	TCCATGTACTCACCCATCTC
33	CCATGTACTCACCCATCTCT
34	CATGTACTCACCCATCTCTC
35	ATGTACTCACCCATCTCTCC
36	TGTACTCACCCATCTCTCCA
37	GTACTCACCCATCTCTCCAT
38	TACTCACCCATCTCTCCATC
39	ACTCACCCATCTCTCCATCC
40	CTCACCCATCTCTCCATCCA
41	TCACCCATCTCTCCATCCAT
42	CACCCATCTCTCCATCCATC
43	ACCCATCTCTCCATCCATCC

44	CCCATCTCTCCATCCATCCT
45	CCATCTCTCCATCCATCCTT
46	CATCTCTCCATCCATCCTTT
47	ATCTCTCCATCCATCCTTTT
48	TCTCTCCATCCATCCTTTTA
49	CTCTCCATCCATCCTTTTAT
50	TCTCCATCCATCCTTTTATC
51	CTCCATCCATCCTTTTATCT
52	CCATCCATCCTTTTATCTAC
53	CTACTCATCACTCATTCATC
54	ACTCATCACTCATTCATCTG
55	CTCATCACTCATTCATCTGT
56	CATCACTCATTCATCTGTTC
57	TCATTCATTCATTCACCAGC
58	CATTCATTCATTCACCAGCA
59	GGATAAGAGTTCTTTCCAGG
60	GATAAGAGTTCTTTCCAGGA
61	TTCCAGGAAACCCAGGCAGC
62	TCCAGGAAACCCAGGCAGCT
63	AGCTGGAAGAGACATACCCA
64	GCTGGAAGAGACATACCCAG
65	CTGGAAGAGACATACCCAGA
66	TGGAAGAGACATACCCAGAC
67	GGAAGAGACATACCCAGACA
68	GAAGAGACATACCCAGACAC
69	AAGAGACATACCCAGACACA
70	AGAGACATACCCAGACACAA
71	GAGACATACCCAGACACAAA
72	AGACATACCCAGACACAAAC
73	GCCCAATCCTGAGTGGTTAG
74	CCCAATCCTGAGTGGTTAGG
75	GGCTGGAATAGAAGGAAGAA
76	GCTGGAATAGAAGGAAGAAC

77	CTGGAATAGAAGGAAGAACC
78	TGGAATAGAAGGAAGAACCT
79	GGAATAGAAGGAAGAACCTG
80	GAATAGAAGGAAGAACCTGA
81	ATAGAAGGAAGAACCTGATG
82	TAGAAGGAAGAACCTGATGA
83	AGAAGGAAGAACCTGATGAT
84	GAAGGAAGAACCTGATGATG
85	AAGGAAGAACCTGATGATGA
86	AGGAAGAACCTGATGATGAG
87	GGAAGAACCTGATGATGAGT
88	GAAGAACCTGATGATGAGTA
89	AAGAACCTGATGATGAGTAG
90	AGAACCTGATGATGAGTAGT
91	GAACCTGATGATGAGTAGTG
92	AACCTGATGATGAGTAGTGA
93	ACCTGATGATGAGTAGTGAG
94	CCTGATGATGAGTAGTGAGA
95	CTGATGATGAGTAGTGAGAG
96	TGATGATGAGTAGTGAGAGT
97	GATGATGAGTAGTGAGAGTC
98	ATGATGAGTAGTGAGAGTCA
99	TGATGAGTAGTGAGAGTCAA
100	GATGAGTAGTGAGAGTCAAC
101	ATGAGTAGTGAGAGTCAACC
102	TGAGTAGTGAGAGTCAACCT
103	GAGTAGTGAGAGTCAACCTG
104	AGTAGTGAGAGTCAACCTGG
105	GTAGTGAGAGTCAACCTGGA
106	TAGTGAGAGTCAACCTGGAG
107	AGTGAGAGTCAACCTGGAGG
108	GTGAGAGTCAACCTGGAGGC
109	TTCCAGAGGAGGTGACCCT

110	CCAGAGGAGGTGACCCTGAA
111	CAGAGGAGGTGACCCTGAAT
112	AGAGGAGGTGACCCTGAATC
113	GAGGAGGTGACCCTGAATCT
114	AGGAGGTGACCCTGAATCTG
115	GGAGGTGACCCTGAATCTGG
116	GAGGTGACCCTGAATCTGGA
117	AGGTGACCCTGAATCTGGAC
118	GGTGACCCTGAATCTGGACT
119	GTGACCCTGAATCTGGACTT
120	TGACCCTGAATCTGGACTTT
121	GACCCTGAATCTGGACTTTG
122	ACCCTGAATCTGGACTTTGA
123	CCCTGAATCTGGACTTTGAT
124	CCTGAATCTGGACTTTGATG
125	CTGAATCTGGACTTTGATGG
126	TGAATCTGGACTTTGATGGA
127	GAATCTGGACTTTGATGGAT
128	ATCTGGACTTTGATGGATAG
129	TCTGGACTTTGATGGATAGG
130	GGAGGAGTTTTCCAGGTAAA
131	GAGGAGTTTTCCAGGTAAAG
132	AGGAGTTTTCCAGGTAAAGG
133	GCCAGGAGAGTGTGGATGGT
134	CCAGGAGAGTGTGGATGGTG
135	CAGGAGAGTGTGGATGGTGT
136	AGGAGAGTGTGGATGGTGTG
137	GGAGAGTGTGGATGGTGTGG
138	GAGAGTGTGGATGGTGTGGC
139	AATTACCCCAAATTCACCC
140	ATTACCCCAAATTCACCCA
141	TTACCCCAAATTCACCCAT
142	TACCCCAAATTCACCCATC

143	ACCCCCAAATTCACCCATCC
144	CCCCCAAATTCACCCATCCA
145	CCCCAAATTCACCCATCCAT
146	CCCAAATTCACCCATCCATA
147	CCAAATTCACCCATCCATAC
148	CAAATTCACCCATCCATACA
149	AATTCACCCATCCATACATC
150	ATTCACCCATCCATACATCT
151	TTCACCCATCCATACATCTA
152	TCACCCATCCATACATCTAT
153	CACCCATCCATACATCTATA
154	ACCCATCCATACATCTATAC
155	CCCATCCATACATCTATACT
156	CATATATCCATCCATCTGTGTC
157	ATATATCCATCCATCTGTGCC
158	TATATCCATCCATCTGTGCCA
159	ATATCCATCCATCTGTGCCAT
160	TATCCATCCATCTGTGCCATC
161	ATCCATCCATCTGTGCCATCC
162	TCCATCCATCTGTGCCATCCA
163	CCATCCATCTGTGCCATCCAT
164	CATCCATCTGTGCCATCCATC
165	ATCCATCTGTGCCATCCATCC
166	TCCATCTGTGCCATCCATCCA
167	CCATCTGTGCCATCCATCCAT
168	CATCTGTGCCATCCATCCATC
169	ATCTGTGCCATCCATCCATCA
170	TCTGTGCCATCCATCCATCAT
171	CTGTGCCATCCATCCATCATC
172	TGTGCCATCCATCCATCATCC
173	GTGCCATCCATCCATCATCCA
174	TCCATCCATCCATCATCCAT
175	CCATCCATCCATCATCCATC

176	CATCCATCCATCATCCATCT
177	ATCCATCCATCATCCATCTA
178	TCCATCCATCATCCATCTAG
179	CCATCCATCATCCATCTAGC
180	CATCCATCATCCATCTAGCC
181	ATCCATCATCCATCTAGCCA
182	TCCATCATCCATCTAGCCAC
183	GGAGAGAAAGTGTCATGGAG
184	GAGAGAAAGTGTCATGGAGA
185	AGAGAAAGTGTCATGGAGAG
186	GAGAAAGTGTCATGGAGAGT
187	AGAAAGTGTCATGGAGAGTG
188	GAAAGTGTCATGGAGAGTGC
189	GGCAGCTTACATCATCCATC
190	GCAGCTTACATCATCCATCT
191	CAGCTTACATCATCCATCTG
192	AGCTTACATCATCCATCTGC
193	GCTTACATCATCCATCTGCC
194	CTTACATCATCCATCTGCCT
195	TTACATCATCCATCTGCCTG
196	TACATCATCCATCTGCCTGT
197	ACATCATCCATCTGCCTGTT
198	CATCATCCATCTGCCTGTTT
199	ATCATCCATCTGCCTGTTTA
200	TCATCCATCTGCCTGTTTAT
201	CATCCATCTGCCTGTTTATT
202	ATCCATCTGCCTGTTTATTC
203	TCCATCTGCCTGTTTATTCA
204	CCATCTGCCTGTTTATTCAT
205	CTACTCTTTTATCCATCCAC
206	ACTCTTTTATCCATCCACAC
207	CTCTTTTATCCATCCACACA
208	TCTTTTATCCATCCACACAC

209	CTTTTATCCATCCACACACC
210	TTTTATCCATCCACACACCC
211	TTTATCCATCCACACACCCA
212	TTATCCATCCACACACCCAC
213	TATCCATCCACACACCCACC
214	ATCCATCCACACACCCACCC
215	TCCATCCACACACCCACCCA
216	CCATCCACACACCCACCCAT
217	CATCCACACACCCACCCATC
218	ATCCACACACCCACCCATCT
219	TCCACACACCCACCCATCTA
220	CCACACACCCACCCATCTAA
221	CACACACCCACCCATCTAAC
222	ACACACCCACCCATCTAACT
223	CACACCCACCCATCTAACTA
224	ACACCCACCCATCTAACTAC
225	CACCCACCCATCTAACTACC
226	ACCCACCCATCTAACTACCC
227	CCCACCCATCTAACTACCCC
228	CCACCCATCTAACTACCCCA
229	CACCCATCTAACTACCCCAA
230	ACCCATCTAACTACCCCAAA
231	CCCATCTAACTACCCCAAAT
232	CCATCTAACTACCCCAAATT
233	AATTTACCCATCCACTCTT
234	ATTTACCCATCCACTCTTC
235	TTTACCCATCCACTCTTCC
236	TTCACCCATCCACTCTTCCA
237	TCACCCATCCACTCTTCCAA
238	CACCCATCCACTCTTCCAAC
239	ACCCATCCACTCTTCCAACC
240	CCCATCCACTCTTCCAACCT
241	CCATCCACTCTTCCAACCTT

242	CATCCACTCTTCCAACCTTT
243	ATCCACTCTTCCAACCTTTC
244	TCCACTCTTCCAACCTTTCA
245	CCACTCTTCCAACCTTTCAG
246	CACTCTTCCAACCTTTCAGT
247	ACTCTTCCAACCTTTCAGTA
248	CTCTTCCAACCTTTCAGTAA
249	CCTTTCAGTAATTCAACCAC
250	CAGTAATTCAACCACACATC
251	AGTAATTCAACCACACATCC
252	GTAATTCAACCACACATCCA
253	AATTCAACCACACATCCATC
254	ATTCAACCACACATCCATCC
255	TCAACCACACATCCATCCA
256	TCAACCACACATCCATCCAT
257	CAACCACACATCCATCCATC
258	AACCACACATCCATCCATCC
259	ACCACACATCCATCCATCCA
260	CCACACATCCATCCATCCAT
261	CACACATCCATCCATCCATC
262	ACACATCCATCCATCCATCC
263	CACATCCATCCATCCATCCA
264	ACATCCATCCATCCATCCAT
265	CATCCATCCATCCATCCATT
266	ATCCATCCATCCATCCATTC
267	TCCATCCATCCATCCATTCA
268	CCATCCATCCATCCATTTCAT
269	CATCCATCCATCCATTTCATC
270	ATCCATCCATCCATTTCATCC
271	TCCATCCATCCATTTCATCCA
272	CCATCCATCCATTTCATCCAT
273	CATCCATCCATTTCATCCATC
274	ATCCATCCATTTCATCCATCC

275	TCCATCCATTCATCCATCCC
276	CCATCCATTCATCCATCCCA
277	CATCCATTCATCCATCCCAT
278	ATCCATTCATCCATCCCATA
279	TCCATTCATCCATCCCATAC
280	CCATTCATCCATCCCATACA
281	CATTCATCCATCCCATACAT
282	TTCATCCATCCCATACATTG
283	TCATCCATCCCATACATTGA
284	CATCCATCCCATACATTGAT
285	ATCCATCCCATACATTGATC
286	TCCATCCCATACATTGATCC
287	GCAACTTAATCCACCTACCC
288	CAACTTAATCCACCTACCCA
289	AACTTAATCCACCTACCCAA
290	ACTTAATCCACCTACCCAAT
291	CTTAATCCACCTACCCAATC
292	TTAATCCACCTACCCAATCA
293	TAATCCACCTACCCAATCAT
294	AATCCACCTACCCAATCATT
295	ATCCACCTACCCAATCATTC
296	TCCACCTACCCAATCATTCA
297	CCACCTACCCAATCATTAT
298	CACCTACCCAATCATTATT
299	ACCTACCCAATCATTATTCT
300	CCTACCCAATCATTATTCT
301	CTTTCATACAACCAACCATC
302	TTTCATACAACCAACCATCC
303	TTCATACAACCAACCATCCA
304	TCATACAACCAACCATCCAT
305	CATACAACCAACCATCCATC
306	ATACAACCAACCATCCATCC
307	TACAACCAACCATCCATCCA

308	ACAACCAACCATCCATCCAC
309	CAACCAACCATCCATCCACC
310	AACCAACCATCCATCCACCC
311	ACCAACCATCCATCCACCCA
312	CCAACCATCCATCCACCCAT
313	CAACCATCCATCCACCCATC
314	AACCATCCATCCACCCATCA
315	ACCATCCATCCACCCATCAA
316	CCATCCATCCACCCATCAAT
317	CATCCATCCACCCATCAATT
318	ATCCATCCACCCATCAATTT
319	TCCATCCACCCATCAATTTA
320	CCATCCACCCATCAATTTAT
321	CATCCACCCATCAATTTATC
322	ATCCACCCATCAATTTATCC
323	TCCACCCATCAATTTATCCA
324	CCACCCATCAATTTATCCAA
325	CACCCATCAATTTATCCAAC
326	ACCCATCAATTTATCCAACC
327	CCCATCAATTTATCCAACCA
328	ATCCAACCATCCATTTTTTCG
329	TCCAACCATCCATTTTTTCGT
330	CCAACCATCCATTTTTTCGTC
331	CAACCATCCATTTTTTCGTCT
332	AACCATCCATTTTTTCGTCTG
333	ACCATCCATTTTTTCGTCTGT
334	CCATCCATTTTTTCGTCTGTC
335	CATCCATTTTTTCGTCTGTCC
336	ATCCATTTTTTCGTCTGTCCA
337	TCCATTTTTTCGTCTGTCCAC
338	CCATTTTTTCGTCTGTCCACC
339	CATTTTTTCGTCTGTCCACCA
340	ATTTTTTCGTCTGTCCACCAG

341	TTTTTCGTCTGTCCACCAGC
342	TTTTTCGTCTGTCCACCAGCC
343	TTTCGTCTGTCCACCAGCCA
344	TTCGTCTGTCCACCAGCCAC
345	TCGTCTGTCCACCAGCCACT
346	GTCTGTCCACCAGCCACTCA
347	TCTGTCCACCAGCCACTCAC
348	CTGTCCACCAGCCACTCACA
349	TGTCCACCAGCCACTCACAA
350	GTCCACCAGCCACTCACAAAC
351	TCCACCAGCCACTCACAAACC
352	CCACCAGCCACTCACAAACCA
353	CACCAGCCACTCACAAACCAT
354	ACCAGCCACTCACAAACCATC
355	CCAGCCACTCACAAACCATCC
356	CAGCCACTCACAAACCATCCA
357	AGCCACTCACAAACCATCCAT
358	GCCACTCACAAACCATCCATC
359	CCACTCACAAACCATCCATCT
360	CACTCACAAACCATCCATCTA
361	ACTCACAAACCATCCATCTAA
362	CTCACAAACCATCCATCTAAA
363	GCAATAGTTCAACCACACAT
364	CAATAGTTCAACCACACATC
365	AATAGTTCAACCACACATCC
366	ATAGTTCAACCACACATCCT
367	TAGTTCAACCACACATCCTT
368	AGTTCAACCACACATCCTTC
369	GTTCAACCACACATCCTTCC
370	TTCAACCACACATCCTTCCA
371	TCAACCACACATCCTTCCAT
372	CAACCACACATCCTTCCATT
373	AACCACACATCCTTCCATTC

374	ACCACACATCCTTCCATTCA
375	CCACACATCCTTCCATTCAT
376	CACACATCCTTCCATTCATC
377	ACACATCCTTCCATTCATCC
378	CACATCCTTCCATTCATCCA
379	ACATCCTTCCATTCATCCAC
380	CATCCTTCCATTCATCCACC
381	ATCCTTCCATTCATCCACCC
382	TCCTTCCATTCATCCACCCA
383	CCTTCCATTCATCCACCCAC
384	CTTCCATTCATCCACCCACC
385	TTCCATTCATCCACCCACCC
386	TCCATTCATCCACCCACCCA
387	CATTCATCCACCCACCCATT
388	ATTCATCCACCCACCCATTC
389	TTCATCCACCCACCCATTCA
390	TCATCCACCCACCCATTCAT
391	CATCCACCCACCCATTCATC
392	ATCCACCCACCCATTCATCC
393	TCCACCCACCCATTCATCCA
394	CCACCCACCCATTCATCCAT
395	CACCCACCCATTCATCCATT
396	ACCCACCCATTCATCCATTT
397	CCCACCCATTCATCCATTTG
398	CCACCCATTCATCCATTTGT
399	CACCCATTCATCCATTTGTC
400	ACCCATTCATCCATTTGTCC
401	CCATTCATCCATTTGTCCAT
402	CATTCATCCATTTGTCCATC
403	TTCATCCATTTGTCCATCTG
404	TCATCCATTTGTCCATCTGC
405	CATCCATTTGTCCATCTGCC
406	ATCCATTTGTCCATCTGCCT

407	TCCATTTGTCCATCTGCCTA
408	CCATTTGTCCATCTGCCTAT
409	CATTTGTCCATCTGCCTATA
410	ATTTGTCCATCTGCCTATAAC
411	TTTGTCCATCTGCCTATAACA
412	TTGTCCATCTGCCTATAACAT
413	TGTCCATCTGCCTATAACATC
414	GTCCATCTGCCTATAACATCC
415	TCCATCTGCCTATAACATCCA
416	CCATCTGCCTATAACATCCAT
417	CATCTGCCTATAACATCCATC
418	ATCTGCCTATAACATCCATCC
419	TCTGCCTATAACATCCATCCA
420	CTGCCTATAACATCCATCCAT
421	TGCCTATAACATCCATCCATC
422	GCCTATAACATCCATCCATCC
423	CCTATAACATCCATCCATCCA
424	CTATAACATCCATCCATCCAT
425	TATAACATCCATCCATCCATC
426	ATAACATCCATCCATCCATCC
427	TAAACATCCATCCATCCATCCA
428	AAACATCCATCCATCCATCCAT
429	CAACATCCATCCATCCATCCATC
430	ATCCATCCATCCATCCATCCATCC
431	TCCATCCATCCATCCATCCATCCA
432	CCATCCATCCATCCATCCATCCAT
433	CATCCATCCATCCATCCATCCATC
434	ATCCATCCATCCATCCATCCATCT
435	TCCATCCATCCATCCATCCATCTA
436	CCATCCATCCATCCATCCATCTAC
437	CATCCATCCATCCATCCATCTACC
438	ATCCATCCATCCATCCATCTACCT
439	TCCATCCATCCATCCATCTACCTA

440	CCATCCATCCATCTACCTAT
441	CATCCATCCATCTACCTATC
442	ATCCATCCATCTACCTATCT
443	TCCATCCATCTACCTATCTA
444	CCATCCATCTACCTATCTAC
445	CATCCATCTACCTATCTACC
446	ATCCATCTACCTATCTACCC
447	TCCATCTACCTATCTACCCA
448	CCATCTACCTATCTACCCAT
449	CATCTACCTATCTACCCATC
450	ATCTACCTATCTACCCATCT
451	TCTACCTATCTACCCATCTG
452	CTACCTATCTACCCATCTGA
453	TACCTATCTACCCATCTGAC
454	ACCTATCTACCCATCTGACT
455	CCTATCTACCCATCTGACTA
456	CTATCTACCCATCTGACTAT
457	TATCTACCCATCTGACTATC
458	ATCTACCCATCTGACTATCA
459	TCTACCCATCTGACTATCAA
460	CTACCCATCTGACTATCAAC
461	TACCCATCTGACTATCAACA
462	ACCCATCTGACTATCAACAA
463	CCCATCTGACTATCAACAAA
464	CACCTATCTACTCAATCTTC
465	ACCTATCTACTCAATCTTCC
466	CCTATCTACTCAATCTTCT
467	CCTTCTAATAACTCAACCAC
468	AATAACTCAACCACACTTCC
469	ATAACTCAACCACACTTCCA
470	TAACTCAACCACACTTCCAT
471	AACTCAACCACACTTCCATC
472	ACTCAACCACACTTCCATCC

473	CTCAACCACACTTCCATCCA
474	TCAACCACACTTCCATCCAT
475	CAACCACACTTCCATCCATC
476	AACCACACTTCCATCCATCC
477	ACCACACTTCCATCCATCCC
478	CCACACTTCCATCCATCCCA
479	CACACTTCCATCCATCCCAT
480	ACACTTCCATCCATCCCATC
481	CACTTCCATCCATCCCATCC
482	ACTTCCATCCATCCCATCCA
483	CTTCCATCCATCCCATCCAA
484	TTCCATCCATCCCATCCAAT
485	TCCATCCATCCCATCCAATA
486	CCATCCATCCCATCCAATAC
487	CATCCATCCCATCCAATACA
488	ATCCATCCCATCCAATACAA
489	TCCATCCCATCCAATACAAC
490	CCATCCCATCCAATACAACT
491	CATCCCATCCAATACAACTT
492	ACAACTTAATCTGCTCATCC
493	CAACTTAATCTGCTCATCCA
494	ACTTAATCTGCTCATCCAAC
495	CTTAATCTGCTCATCCAACA
496	ATCTGCTCATCCAACATTTC
497	TCTGCTCATCCAACATTTC
498	CTGCTCATCCAACATTTCAT
499	TGCTCATCCAACATTTCATC
500	GCTCATCCAACATTTCATCT
501	CCAACATTTCATCTATCCAC
502	CAACATTTCATCTATCCACC
503	AACATTTCATCTATCCACCC
504	ACATTTCATCTATCCACCCA
505	CATTTCATCTATCCACCCAG

506	ATTCATCTATCCACCCAGT
507	TTCATCTATCCACCCAGTC
508	TTCATCTATCCACCCAGTCA
509	TCATCTATCCACCCAGTCAA
510	CATCTATCCACCCAGTCAAT
511	ATCTATCCACCCAGTCAATC
512	TCTATCCACCCAGTCAATCA
513	CTATCCACCCAGTCAATCAT
514	TATCCACCCAGTCAATCATC
515	ATCCACCCAGTCAATCATCT
516	TCCACCCAGTCAATCATCTA
517	CCACCCAGTCAATCATCTAT
518	CACCCAGTCAATCATCTATC
519	ACCCAGTCAATCATCTATCC
520	CCCAGTCAATCATCTATCCA
521	CCAGTCAATCATCTATCCAG
522	CAGTCAATCATCTATCCAGC
523	AGTCAATCATCTATCCAGCA
524	GTCAATCATCTATCCAGCAA
525	CAATCATCTATCCAGCAATC
526	CATCTATCCAGCAATCTATC
527	ATCCAGCAATCTATCTATCC
528	TCCAGCAATCTATCTATCCA
529	CCAGCAATCTATCTATCCAC
530	CAGCAATCTATCTATCCACT
531	AGCAATCTATCTATCCACTC
532	GCAATCTATCTATCCACTCA
533	CTATCTATCCACTCATCAAG
534	ATCCACTCATCAAGTTATCC
535	TCCACTCATCAAGTTATCCA
536	CCACTCATCAAGTTATCCAT
537	CACTCATCAAGTTATCCATC
538	ACTCATCAAGTTATCCATCC

539	CTCATCAAGTTATCCATCCA
540	CATCAAGTTATCCATCCATC
541	CCATCATCTAACAATTACCC
542	CATCATCTAACAATTACCCC
543	ATCATCTAACAATTACCCCC
544	TCATCTAACAATTACCCCCA
545	CATCTAACAATTACCCCCAA
546	ACAATTACCCCCAAATTCAC
547	CAATTACCCCCAAATTCACC
548	CCATCCCATACATTGATCCG
549	CATCCCATACATTGATCCGC
550	ATCCCATACATTGATCCGCA
551	TCCCATACATTGATCCGCAA
552	CCCATACATTGATCCGCAAC
553	CCATACATTGATCCGCAACT
554	CATACATTGATCCGCAACTT
555	CATTGATCCGCAACTTAATC
556	ATTGATCCGCAACTTAATCC
557	TTGATCCGCAACTTAATCCA
558	TGATCCGCAACTTAATCCAC
559	GATCCGCAACTTAATCCACC
560	ATCCGCAACTTAATCCACCT
561	TCCGCAACTTAATCCACCTA
562	CCGCAACTTAATCCACCTAC
563	CGCAACTTAATCCACCTACC
564	CCATTCATCCACCCACCCAT
565	CCCATTCATCCATTTGTCCA
566	CCATCATCCATCTAGCCACG
567	CATCATCCATCTAGCCACGA
568	ATCATCCATCTAGCCACGAA
569	TCATCCATCTAGCCACGAAT
570	CATCCATCTAGCCACGAATC
571	ATCCATCTAGCCACGAATCT

572	TCCATCTAGCCACGAATCTA
573	CCATCTAGCCACGAATCTAC
574	CATCTAGCCACGAATCTACC
575	ATCTAGCCACGAATCTACCC
576	TCTAGCCACGAATCTACCCA
577	CTAGCCACGAATCTACCCAC
578	TAGCCACGAATCTACCCACC
579	AGCCACGAATCTACCCACCA
580	GCCACGAATCTACCCACCAA
581	CCACGAATCTACCCACCAAC
582	CACGAATCTACCCACCAACT
583	ACGAATCTACCCACCAACTC
584	CGAATCTACCCACCAACTCA
585	GACATACCCAGACACAAACG
586	ACATACCCAGACACAAACGG
587	CATACCCAGACACAAACGGC
588	GCCAGAAAGAGGAAGAGCTG
589	CCAGAAAGAGGAAGAGCTGG
590	GGCAGGCAGGAATGGTGAGT
591	GCAGGCAGGAATGGTGAGTG
592	CAGGCAGGAATGGTGAGTGG
593	AGGCAGGAATGGTGAGTGGA
594	GGCAGGAATGGTGAGTGGAA
595	GCAGGAATGGTGAGTGGAAAG
596	CAGGAATGGTGAGTGGAAAGT
597	AGGAATGGTGAGTGGAAAGTG
598	GGAATGGTGAGTGGAAAGTGG
599	GAATGGTGAGTGGAAAGTGGC
600	AATGGTGAGTGGAAAGTGGCA
601	ATGGTGAGTGGAAAGTGGCAT
602	TGGTGAGTGGAAAGTGGCATG
603	GGTGAGTGGAAAGTGGCATGG
604	TCATTCATCTGT

605	CTCATTTCATCTG
606	ACTCATTTCATCT
607	CACTCATTTCATC
608	TCACTCATTTCAT
609	ATCACTCATTCA
610	CATCACTCATTTC
611	TCATCACTCATT
612	CTCATCACTCAT
613	CACTCATTTCATCTGT
614	TCACTCATTTCATCTG
615	ATCACTCATTTCATCT
616	CATCACTCATTTCATC
617	TCATCACTCATTTCAT
618	CTCATCACTCATTCA
619	TCACTCATTTCATCTGT
620	ATCACTCATTTCATCTG
621	CATCACTCATTTCATCT
622	TCATCACTCATTTCATC
623	CTCATCACTCATTTCAT
624	ATCACTCATTTCATCTGT
625	CATCACTCATTTCATCTG
626	TCATCACTCATTTCATCT
627	CTCATCACTCATTTCATC
628	CATCACTCATTTCATCTGT
629	TCATCACTCATTTCATCTG
630	CTCATCACTCATTTCATCT
631	TCATCACTCATTTCATCTGT
632	CTCATCACTCATTTCATCTG
633	CTCATCACTCATTTCATCTGT
634	ACTCATCACTCATTTCATCTGT
635	CTCATCACTCATTTCATCTGTTC
636	ACTCATCACTCATTTCATCTGT
637	TACTCATCACTCATTTCATCTGT

638	CTCATCACTCATTCATCTGTTCA
639	ACTCATCACTCATTCATCTGTTCT
640	TACTCATCACTCATTCATCTGTT
641	CTACTCATCACTCATTCATCTGTT

[0094] Как показано на фиг. 4A-4F, ASO 55 (SEQ ID. NO. 55) вариации, перечисленные выше, альтернативно обозначены ниже, чтобы их можно было более четко идентифицировать как вариации ASO 55:

SEQ ID NO.	Альтернативный идентификатор
604	hUNC13A-ASO55_12-1
605	hUNC13A-ASO55_12-2
606	hUNC13A-ASO55_12-3
607	hUNC13A-ASO55_12-4
608	hUNC13A-ASO55_12-5
609	hUNC13A-ASO55_12-6
610	hUNC13A-ASO55_12-7
611	hUNC13A-ASO55_12-8
612	hUNC13A-ASO55_12-9
613	hUNC13A-ASO55_15-1
614	hUNC13A-ASO55_15-2
615	hUNC13A-ASO55_15-3
616	hUNC13A-ASO55_15-4
617	hUNC13A-ASO55_15-5
618	hUNC13A-ASO55_15-6
619	hUNC13A-ASO55_16-1
620	hUNC13A-ASO55_16-2
621	hUNC13A-ASO55_16-3
622	hUNC13A-ASO55_16-4
623	hUNC13A-ASO55_16-5
624	hUNC13A-ASO55_17-1
625	hUNC13A-ASO55_17-2
626	hUNC13A-ASO55_17-3

627	hUNC13A-ASO55_17-4
628	hUNC13A-ASO55_18-1
629	hUNC13A-ASO55_18-2
630	hUNC13A-ASO55_18-3
631	hUNC13A-ASO55_19-1
632	hUNC13A-ASO55_19-2
633	hUNC13A-ASO55_21-1
634	hUNC13A-ASO55_21-2
635	hUNC13A-ASO55_22-1
636	hUNC13A-ASO55_22-2
637	hUNC13A-ASO55_22-3
638	hUNC13A-ASO55_23-1
639	hUNC13A-ASO55_23-2
640	hUNC13A-ASO55_23-3
641	hUNC13A-ASO55_23-4

[0095] В одном варианте осуществления в настоящем изобретении представлены модифицированные олигонуклеотиды, состоящие из 12-30 связанных нуклеозидов и имеющие последовательность нуклеиновых оснований, содержащую по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 11, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 или по меньшей мере 20 последовательных нуклеотидных оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO:1-641 в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления модифицированный олигонуклеотид является на по меньшей мере от 80% до 100% (т.е. 80%, 82%, 84%, 86%, 88%, 90%, 92%, 94%, 96%, 98% или 100%; или любой числовой диапазон или значение между любыми из вышеуказанных значений), идентичным любой из последовательностей, содержащих или состоящих из SEQ ID NO: 1-641. Последовательности, представленные в таблице 1, можно применять для разработки антисмысловых молекул для ингибирования экспрессии крипточеских экзонов UNC13A.

[0096] В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид является однонитевым. В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид содержит фрагмент или образует комплекс с фрагментом, который нейтрализует заряд олигонуклеотида, способствуя захвату и переносу через клеточную мембрану.

663	C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T
664	A*T*C*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C
665	T*C*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A
666	C*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C
667	T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C
668	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C
669	T*C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A
670	C*C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T
671	C*A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C
672	A*T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T
673	T*C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C
674	C*C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T
675	C*A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C
676	A*T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C
677	T*G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A
678	G*T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T
679	T*A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C
680	A*C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C
681	C*T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A
682	T*C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T
683	C*A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
684	A*C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
685	C*C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T
686	C*C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T
687	C*A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T
688	A*T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T
689	T*C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T*A
690	C*T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T*A*T
691	T*C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T*A*T*C
692	C*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T*A*T*C*T
693	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*T*T*T*T*A*T*C*T*A*C
694	C*T*A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C
695	A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G

696	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
697	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T*C
698	T*C*A*T*T*C*A*T*T*C*A*T*T*C*A*C*C*A*G*C
699	C*A*T*T*C*A*T*T*C*A*T*T*C*A*C*C*A*G*C*A
700	G*G*A*T*A*A*G*A*G*T*T*C*T*T*T*C*C*A*G*G
701	G*A*T*A*A*G*A*G*T*T*C*T*T*T*C*C*A*G*G*A
702	T*T*C*C*A*G*G*A*A*A*C*C*C*A*G*G*C*A*G*C
703	T*C*C*A*G*G*A*A*A*C*C*C*A*G*G*C*A*G*C*T
704	A*G*C*T*G*G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A
705	G*C*T*G*G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G
706	C*T*G*G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A
707	T*G*G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C
708	G*G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A
709	G*A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C
710	A*A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A
711	A*G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A
712	G*A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A*A
713	A*G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A*A*C
714	G*C*C*C*A*A*T*C*C*T*G*A*G*T*G*G*T*T*A*G
715	C*C*C*A*A*T*C*C*T*G*A*G*T*G*G*T*T*A*G*G
716	G*G*C*T*G*G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A
717	G*C*T*G*G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C
718	C*T*G*G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C
719	T*G*G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T
720	G*G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G
721	G*A*A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A
722	A*T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G
723	T*A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A
724	A*G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T
725	G*A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G
726	A*A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A
727	A*G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G
728	G*G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T

729	G*A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A
730	A*A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G
731	A*G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T
732	G*A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G
733	A*A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A
734	A*C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G
735	C*C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A
736	C*T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G
737	T*G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T
738	G*A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C
739	A*T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A
740	T*G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A
741	G*A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C
742	A*T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C
743	T*G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T
744	G*A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G
745	A*G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G*G
746	G*T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G*G*A
747	T*A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G*G*A*G
748	A*G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G*G*A*G*G
749	G*T*G*A*G*A*G*T*C*A*A*C*C*T*G*G*A*G*G*C
750	T*T*C*C*C*A*G*A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T
751	C*C*A*G*A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A
752	C*A*G*A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T
753	A*G*A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C
754	G*A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T
755	A*G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G
756	G*G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G
757	G*A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A
758	A*G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C
759	G*G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T
760	G*T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T
761	T*G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T

762	G*A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G
763	A*C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A
764	C*C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T
765	C*C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G
766	C*T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G*G
767	T*G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G*G*A
768	G*A*A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G*G*A*T
769	A*T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G*G*A*T*A*G
770	T*C*T*G*G*A*C*T*T*T*G*A*T*G*G*A*T*A*G*G
771	G*G*A*G*G*A*G*T*T*T*T*C*C*A*G*G*T*A*A*A
772	G*A*G*G*A*G*T*T*T*T*C*C*A*G*G*T*A*A*A*G
773	A*G*G*A*G*T*T*T*T*C*C*A*G*G*T*A*A*A*G*G
774	G*C*C*A*G*G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T
775	C*C*A*G*G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T*G
776	C*A*G*G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T*G*T
777	A*G*G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T*G*T*G
778	G*G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T*G*T*G*G
779	G*A*G*A*G*T*G*T*G*G*A*T*G*G*T*G*T*G*G*C
780	A*A*T*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C
781	A*T*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A
782	T*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T
783	T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C
784	A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C
785	C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A
786	C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T
787	C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A
788	C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C
789	C*A*A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A
790	A*A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C
791	A*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T
792	T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T*A
793	T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T*A*T
794	C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T*A*T*A

795	A*C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T*A*T*A*C
796	C*C*C*A*T*C*C*A*T*A*C*A*T*C*T*A*T*A*C*T
797	C*A*T*A*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C
798	A*T*A*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C
799	T*A*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A
800	A*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T
801	T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C
802	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C
803	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A
804	C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T
805	C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
806	A*T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
807	T*C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
808	C*C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
809	C*A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
810	A*T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A
811	T*C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T
812	C*T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C
813	T*G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C
814	G*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A
815	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T
816	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C
817	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T
818	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A
819	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G
820	C*C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C
821	C*A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C
822	A*T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A
823	T*C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C
824	G*G*A*G*A*G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G
825	G*A*G*A*G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G*A
826	A*G*A*G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G*A*G
827	G*A*G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G*A*G*T

828	A*G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G*A*G*T*G
829	G*A*A*A*G*T*G*T*C*A*T*G*G*A*G*A*G*T*G*C
830	G*G*C*A*G*C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C
831	G*C*A*G*C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T
832	C*A*G*C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G
833	A*G*C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C
834	G*C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C
835	C*T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T
836	T*T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G
837	T*A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T
838	A*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T
839	C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T
840	A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A
841	T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A*T
842	C*A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A*T*T
843	A*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A*T*T*C
844	T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A*T*T*C*A
845	C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*G*T*T*T*A*T*T*C*A*T
846	C*T*A*C*T*C*T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C
847	A*C*T*C*T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C
848	C*T*C*T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A
849	T*C*T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C
850	C*T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C
851	T*T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C
852	T*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A
853	T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C
854	T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C
855	A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C
856	T*C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A
857	C*C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T
858	C*A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C
859	A*T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T
860	T*C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A

861	C*C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A
862	C*A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C
863	A*C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T
864	C*A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A
865	A*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C
866	C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C
867	A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C
868	C*C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C
869	C*C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C*A
870	C*A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C*A*A
871	A*C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C*A*A*A
872	C*C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T
873	C*C*A*T*C*T*A*A*C*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T
874	A*A*T*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T
875	A*T*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C
876	T*T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C
877	T*T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A
878	T*C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A
879	C*A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C
880	A*C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C
881	C*C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T
882	C*C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T
883	C*A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T
884	A*T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C
885	T*C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C*A
886	C*C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C*A*G
887	C*A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C*A*G*T
888	A*C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C*A*G*T*A
889	C*T*C*T*T*C*C*A*A*C*C*T*T*T*C*A*G*T*A*A
890	C*C*T*T*T*C*A*G*T*A*A*T*T*C*A*A*C*C*A*C
891	C*A*G*T*A*A*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C
892	A*G*T*A*A*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C
893	G*T*A*A*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*A

894	A*A*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C
895	A*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C
896	T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A
897	T*C*A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
898	C*A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
899	A*A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
900	A*C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
901	C*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
902	C*A*C*A*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
903	A*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
904	C*A*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
905	A*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
906	C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*T*T
907	A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C
908	T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A
909	C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A
910	C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T
911	A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C
912	T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A
913	C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A
914	C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T
915	A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C
916	T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C
917	C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*C*A
918	C*A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*C*A*A
919	A*A*T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*C*A*A*T
920	T*C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*A
921	C*C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A
922	C*A*A*T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A
923	T*T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A
924	T*C*A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A
925	C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A*T*T*G*A*T
926	A*A*T*C*C*A*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A*T

927	T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C
928	G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C
929	C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A
930	A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A
931	A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T
932	C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C
933	T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A
934	T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T
935	A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T
936	A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*C
937	T*C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*C*A
938	C*C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*C*A*T
939	C*A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*C*A*T*T
940	A*C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*C*A*T*T*C
941	C*C*T*A*C*C*C*A*A*T*C*A*T*T*T*C*A*T*T*C*T
942	C*T*T*T*C*A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C
943	T*T*T*C*A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C
944	T*T*C*A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A
945	T*C*A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T
946	C*A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C
947	A*T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
948	T*A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
949	A*C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C
950	C*A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C
951	A*A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C
952	A*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A
953	C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T
954	C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C
955	A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A
956	A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A
957	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T
958	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T
959	A*T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T

960	T*C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A
961	C*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T
962	C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C
963	A*T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C
964	T*C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C*A
965	C*C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C*A*A
966	C*A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C*A*A*C
967	A*C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C*A*A*C*C
968	C*C*C*A*T*C*A*A*T*T*T*A*T*C*C*A*A*C*C*A
969	A*T*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G
970	T*C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T
971	C*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C
972	C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T
973	A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G
974	A*C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T
975	C*C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C
976	C*A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C
977	A*T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A
978	T*C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C
979	C*C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C
980	C*A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A
981	A*T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G
982	T*T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C
983	T*T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C
984	T*T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A
985	T*T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C
986	T*C*G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T
987	G*T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A
988	T*C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C
989	C*T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A
990	T*G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A
991	G*T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C
992	T*C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C

993	C*C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A
994	C*A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T
995	A*C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C
996	C*C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C
997	C*A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A
998	A*G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T
999	G*C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1000	C*C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T
1001	C*A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A
1002	A*C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*A
1003	C*T*C*A*C*A*A*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*A*A
1004	G*C*A*A*T*A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T
1005	C*A*A*T*A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C
1006	A*A*T*A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C
1007	A*T*A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T
1008	T*A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T
1009	A*G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C
1010	G*T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C
1011	T*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A
1012	T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T
1013	C*A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T
1014	A*A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C
1015	A*C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A
1016	C*C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T
1017	C*A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C
1018	A*C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C
1019	C*A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A
1020	A*C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C
1021	C*A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C
1022	A*T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C
1023	T*C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A
1024	C*C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C
1025	C*T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C

1026	T*T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C
1027	T*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A
1028	C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T
1029	A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C
1030	T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A
1031	T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T
1032	C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C
1033	A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C
1034	T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A
1035	C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T
1036	C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T
1037	A*C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T
1038	C*C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G
1039	C*C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T
1040	C*A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C
1041	A*C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C
1042	C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T
1043	C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C
1044	T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G
1045	T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C
1046	C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C
1047	A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T
1048	T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A
1049	C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T
1050	C*A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A
1051	A*T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C
1052	T*T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A
1053	T*T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T
1054	T*G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C
1055	G*T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C
1056	T*C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A
1057	C*C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T
1058	C*A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C

1059	A*T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C
1060	T*C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
1061	C*T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
1062	T*G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1063	G*C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
1064	C*C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
1065	C*T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
1066	T*A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1067	A*T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
1068	T*A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
1069	A*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
1070	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1071	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
1072	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A
1073	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T
1074	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1075	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T
1076	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A
1077	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C
1078	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C
1079	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T
1080	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A
1081	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T
1082	C*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C
1083	A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T
1084	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A
1085	C*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C
1086	C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C
1087	A*T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C
1088	T*C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A
1089	C*C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T
1090	C*A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C
1091	A*T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T

1092	T*C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G
1093	C*T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A
1094	T*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C
1095	A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T
1096	C*C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A
1097	C*T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T
1098	T*A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C
1099	A*T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A
1100	T*C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A*A
1101	C*T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A*A*C
1102	T*A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A*A*C*A
1103	A*C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A*A*C*A*A
1104	C*C*C*A*T*C*T*G*A*C*T*A*T*C*A*A*C*A*A*A
1105	C*A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*T*C*A*A*T*C*T*T*C
1106	A*C*C*T*A*T*C*T*A*C*T*C*A*A*T*C*T*T*C*C
1107	C*C*T*A*T*C*T*A*C*T*C*A*A*T*C*T*T*C*C*T
1108	C*C*T*T*C*T*A*A*T*A*A*C*T*C*A*A*C*C*A*C
1109	A*A*T*A*A*C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C
1110	A*T*A*A*C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A
1111	T*A*A*C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T
1112	A*A*C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C
1113	A*C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C
1114	C*T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A
1115	T*C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T
1116	C*A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1117	A*A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C
1118	A*C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C
1119	C*C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A
1120	C*A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T
1121	A*C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C
1122	C*A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C
1123	A*C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A
1124	C*T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A

1125	T*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T
1126	T*C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A
1127	C*C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C
1128	C*A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A
1129	A*T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A
1130	T*C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A*C
1131	C*C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A*C*T
1132	C*A*T*C*C*C*A*T*C*C*A*A*T*A*C*A*A*C*T*T
1133	A*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C
1134	C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A
1135	A*C*T*T*A*A*T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C
1136	C*T*T*A*A*T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A
1137	A*T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A*T*T*T*C
1138	T*C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A*T*T*T*C*A
1139	C*T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A*T*T*T*C*A*T
1140	T*G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A*T*T*T*C*A*T*C
1141	G*C*T*C*A*T*C*C*A*A*C*A*T*T*T*C*A*T*C*T
1142	C*C*A*A*C*A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C
1143	C*A*A*C*A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C
1144	A*A*C*A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C
1145	A*C*A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A
1146	C*A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G
1147	A*T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T
1148	T*T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C
1149	T*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A
1150	T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A
1151	C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T
1152	A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C
1153	T*C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A
1154	C*T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T
1155	T*A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C
1156	A*T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T
1157	T*C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A

1158	C*C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T
1159	C*A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C
1160	A*C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C
1161	C*C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A
1162	C*C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G
1163	C*A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G*C
1164	A*G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G*C*A
1165	G*T*C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G*C*A*A
1166	C*A*A*T*C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G*C*A*A*T*C
1167	C*A*T*C*T*A*T*C*C*A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C
1168	A*T*C*C*A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C
1169	T*C*C*A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A
1170	C*C*A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C
1171	C*A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*T
1172	A*G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*T*C
1173	G*C*A*A*T*C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*T*C*A
1174	C*T*A*T*C*T*A*T*C*C*A*C*T*C*A*T*C*A*A*G
1175	A*T*C*C*A*C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C
1176	T*C*C*A*C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A
1177	C*C*A*C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A*T
1178	C*A*C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A*T*C
1179	A*C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C
1180	C*T*C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A
1181	C*A*T*C*A*A*G*T*T*A*T*C*C*A*T*C*C*A*T*C
1182	C*C*A*T*C*A*T*C*T*A*A*C*A*A*T*T*A*C*C*C
1183	C*A*T*C*A*T*C*T*A*A*C*A*A*T*T*A*C*C*C*C
1184	A*T*C*A*T*C*T*A*A*C*A*A*T*T*A*C*C*C*C*C
1185	T*C*A*T*C*T*A*A*C*A*A*T*T*A*C*C*C*C*C*A
1186	C*A*T*C*T*A*A*C*A*A*T*T*A*C*C*C*C*C*A*A
1187	A*C*A*A*T*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C
1188	C*A*A*T*T*A*C*C*C*C*A*A*A*T*T*C*A*C*C
1189	C*C*A*T*C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G
1190	C*A*T*C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C

1191	A*T*C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A
1192	T*C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A
1193	C*C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C
1194	C*C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T
1195	C*A*T*A*C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T
1196	C*A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C
1197	A*T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C
1198	T*T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A
1199	T*G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C
1200	G*A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C
1201	A*T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T
1202	T*C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A
1203	C*C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C
1204	C*G*C*A*A*C*T*T*A*A*T*C*C*A*C*C*T*A*C*C
1205	C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*C*C*C*A*C*C*C*A*T
1206	C*C*C*A*T*T*C*A*T*C*C*A*T*T*T*G*T*C*C*A
1207	C*C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G
1208	C*A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A
1209	A*T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A
1210	T*C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T
1211	C*A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C
1212	A*T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T
1213	T*C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A
1214	C*C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C
1215	C*A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C
1216	A*T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C
1217	T*C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A
1218	C*T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C
1219	T*A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C
1220	A*G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A
1221	G*C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A*A
1222	C*C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A*A*C
1223	C*A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A*A*C*T

1224	A*C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A*A*C*T*C
1225	C*G*A*A*T*C*T*A*C*C*C*A*C*C*A*A*C*T*C*A
1226	G*A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A*A*C*G
1227	A*C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A*A*C*G*G
1228	C*A*T*A*C*C*C*A*G*A*C*A*C*A*A*A*C*G*G*C
1229	G*C*C*A*G*A*A*A*G*A*G*G*A*A*G*A*G*C*T*G
1230	C*C*A*G*A*A*A*G*A*G*G*A*A*G*A*G*C*T*G*G
1231	G*G*C*A*G*G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T
1232	G*C*A*G*G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G
1233	C*A*G*G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G
1234	A*G*G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A
1235	G*G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A
1236	G*C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G
1237	C*A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T
1238	A*G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G
1239	G*G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G
1240	G*A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G*C
1241	A*A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G*C*A
1242	A*T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G*C*A*T
1243	T*G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G*C*A*T*G
1244	G*G*T*G*A*G*T*G*G*A*A*G*T*G*G*C*A*T*G*G
1245	T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1246	C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1247	A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T
1248	C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C
1249	T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T
1250	A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A
1251	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C
1252	T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T
1253	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T
1254	C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1255	T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1256	A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T

1257	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C
1258	T*C*A*TC*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T
1259	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A
1260	T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1261	A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1262	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T
1263	T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C
1264	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T
1265	A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1266	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1267	T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T
1268	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C
1269	C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1270	T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1271	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T
1272	T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1273	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G
1274	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T
1275	A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1276	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T*C
1277	A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T
1278	T*A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T
1279	C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T*C*A
1280	A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T*C
1281	T*A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T*T
1282	C*T*A*C*T*C*A*T*C*A*C*T*C*A*T*T*C*A*T*C*T*G*T

[0099] Вариации ASO 55 (SEQ ID. NO. 55) с мотивом, где каждое нуклеиновое основание имеет группу 2'-OCH₂CH₂-OCH₃ (т. е. 2'-МОЕ), и каждая межнуклеозидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь, альтернативно обозначены ниже, чтобы их можно было более четко идентифицировать как вариации ASO 55 по упомянутым выше мотиву и межнуклеозидной связи:

SEQ ID NO.	Альтернативный
------------	----------------

	идентификатор
1245	hUNC13A-ASO55_12-1
1246	hUNC13A-ASO55_12-2
1247	hUNC13A-ASO55_12-3
1248	hUNC13A-ASO55_12-4
1249	hUNC13A-ASO55_12-5
1250	hUNC13A-ASO55_12-6
1251	hUNC13A-ASO55_12-7
1252	hUNC13A-ASO55_12-8
1253	hUNC13A-ASO55_12-9
1254	hUNC13A-ASO55_15-1
1255	hUNC13A-ASO55_15-2
1256	hUNC13A-ASO55_15-3
1257	hUNC13A-ASO55_15-4
1258	hUNC13A-ASO55_15-5
1259	hUNC13A-ASO55_15-6
1260	hUNC13A-ASO55_16-1
1261	hUNC13A-ASO55_16-2
1262	hUNC13A-ASO55_16-3
1263	hUNC13A-ASO55_16-4
1264	hUNC13A-ASO55_16-5
1265	hUNC13A-ASO55_17-1
1266	hUNC13A-ASO55_17-2
1267	hUNC13A-ASO55_17-3
1268	hUNC13A-ASO55_17-4
1269	hUNC13A-ASO55_18-1
1270	hUNC13A-ASO55_18-2
1271	hUNC13A-ASO55_18-3
1272	hUNC13A-ASO55_19-1
1273	hUNC13A-ASO55_19-2
1274	hUNC13A-ASO55_21-1
1275	hUNC13A-ASO55_21-2
1276	hUNC13A-ASO55_22-1

1277	hUNC13A-ASO55_22-2
1278	hUNC13A-ASO55_22-3
1279	hUNC13A-ASO55_23-1
1280	hUNC13A-ASO55_23-2
1281	hUNC13A-ASO55_23-3
1282	hUNC13A-ASO55_23-4

[0100] Нацеленные на UNC13A антисмысловые или ингибирующие нуклеиновые кислоты по настоящему изобретению могут ингибировать экспрессию криптического экзона между каноническими экзонами 20 и 21 UNC13A и повышать экспрессию белка UNC13A. Нацеленные на UNC13A антисмысловые или ингибирующие нуклеиновые кислоты могут включать любую комбинацию олигонуклеотидов, представленных в таблице 2, и последовательностей, которые на 98% - 99% идентичны им.

[0101] В одном варианте осуществления ASO или олигонуклеотид на 100% комплементарен SEQ ID NO: 1283 (chr19: 17641557-17642844).

SEQ ID NO: 1283	GUGAGGGUCA UUGCUCGGCC CCUCCCAUGC CACUUCCACU CACCAUCCU GCCUGCCCAG CUCUUCCUCU UUCUGGCCAC ACCAUCCACA CUCUCCUGGC CCUCUGAGAC UGCCCGCCAU GCCAUUCCCU UUACCUGGAA AACUCCUCCC UAUCCAUCA AGUCCAGAUU CAGGGUCACC UCCUCUGGGA AGCCCACCUU GGCCUCCAGG UUGACUCUCA CUACUCAUCA UCAGGUUCUU CCUUCUAUUC CAGCCCUAAC CACUCAGGAU UGGGCCGUUU GUGUCUGGGU AUGUCUCUUC CAGCUGCCUG GGUUCCUGG AAAGAACUCU UAUCCCCAGG AACUAGUUUG UUGAAUAAAU GCUGGUGAAU GAAUGAAUGA UUGAACAGAU GAAUGAGUGA UGAGUAGAU AAAGGAUGGA UGGAGAGAUG GGUGAGUACA UGGAUGGAUA GAUGGAUGAG UUGGUGGGUA GAUUCGUGGC UAGAUGGAUG AUGGAUGGAU GGACAGAUGG AUGGAUAUUAU GAUUGAACUA UUGAAAGUAU AGAUGUAUGG AUGGGUGAAU UUGGGGGUAA UUGUUAGAUG AUGGAUGAGU AUAGAUGAAU GAUGGAUGGA UAACUUGAUG AGUGGAUAGA UAGAUGCUG GAUAGAUGAU UGACUGGGUG GAUAGAUGAA AUGUUGGAUG AGCAGAUUAA GUUGAUUUGG AUGGGAUGGA UGGAAGUGUG GUUGAGUUAU UAGAAGGAAG AUUGAGUAGA UAGGUGAAUU UGUUGAUAGU CAGAUGGGUA GAUAGGUAGA UGGAUGGAUG GAUGGAUGGA UGUUAGGCA GAUGGACAAA UGGAUGAAUG GGUGGGUGGA UGAAUGGAAG GAUGUGUGGU UGAACUAUUG CAAGUAUUGA UAAUUGGGUU CAUAAUUUCU GAAUAUUUAG AUGGAUGGUU GUGAGUGGCU GGUGGACAGA CGAAAAAUGG AUGGUUGGAU AAUUGAUGG GUGGAUGGAU GGUUGGUUGU AUGAAAGAAU GAAUGAUUGG GUAGGUGGAU UAAGUUGCGG AUCAAUGUAU GGGAUGGAUG AAUGGAUGGA UGGAUGGAUG UGUGGUUGAA UUACUGAAAG GUUGGAAGAG UGGAUGGGUG AAUUGGGG UAGUUAGAUG GGUGGGUGUG
----------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

UGGAUGGAUA AAAGAGUAGA UGAAUGAAUU AAUGAAUAAA CAGGCAGAUG GAUGAUGUAA GCUGCCCCAG ACCCUGGGAC CUCUGACCCC CGGCGACCCC UUGCACUCUC CAUGACACUU UCUCUCCCAU GGUGGCAG

[0102] Способы лечения могут включать любое количество способов введения раскрытой композиции. Способы введения могут включать водные, липидные, масляные или другие растворы, растворы в искусственной спинномозговой жидкости, эмульсии, такие как эмульсии масло в воде, липосомы, водные или масляные суспензии и т. п. Обычно ASO по настоящему изобретению будут вводить непосредственно в ЦНС субъекта. Соответственно, состав или композиция будут стерильными и более предпочтительно подходящими для инъекций. Следующие составы и способы являются исключительно иллюстративными и никоим образом не носят ограничивающий характер.

[0103] Составы, подходящие для парентерального введения, включают водные и неводные изотонические стерильные растворы для инъекций, которые могут содержать антиоксиданты, буферы, бактериостатические вещества и растворенные вещества, которые делают состав изотоничным по отношению к крови предполагаемого реципиента, а также водные и неводные стерильные суспензии, которые могут содержать суспендирующие средства, солюбилизаторы, загустители, стабилизаторы и консерванты. Составы могут быть представлены в запечатанных контейнерах для одной дозы или многократной дозы, таких как ампулы и флаконы, и могут храниться в виде жидкостей или в высушенном сублимацией (лиофилизированном) состоянии, требующем только добавления стерильного жидкого вспомогательного вещества, например, воды для инъекций, непосредственно перед применением. Экстемпоральные инъекционные растворы и суспензии могут быть получены из стерильных порошков, гранул и таблеток. Состав может быть представлен в предварительно заполненном шприце.

[0104] Дополнительное(ые) терапевтическое(ие) средство(а) можно вводить одновременно или последовательно с раскрытыми одной или более антисмысловыми или ингибирующими нуклеиновыми кислотами и композициями. Последовательное введение включает введение до или после раскрытых одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот или композиций. В некоторых вариантах осуществления дополнительное терапевтическое средство или средства могут быть введены в той же композиции, что и раскрытые одна или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот. В других вариантах осуществления между введением дополнительного терапевтического средства и раскрытой одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот может быть интервал времени. В некоторых

вариантах осуществления введение дополнительного терапевтического средства с раскрытой одной или более антисмысловыми или ингибирующими нуклеиновыми кислотами может обеспечить более низкие дозы других терапевтических средств и/или введение с менее частыми интервалами. При применении в комбинации с одним или более другими активными ингредиентами одну или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот по настоящему изобретению и другие активные ингредиенты можно использовать в более низких дозах, чем при использовании каждой из них по отдельности. Соответственно, фармацевтические композиции по настоящему изобретению включают те, которые содержат один или более других активных ингредиентов в дополнение к одной или более антисмысловым или ингибирующим нуклеиновым кислотам по настоящему изобретению. Вышеупомянутые комбинации включают комбинации одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот по настоящему изобретению не только с одним другим активным соединением, но также с двумя или более другими активными соединениями. Например, соединение по настоящему изобретению можно комбинировать с различными лекарственными средствами для лечения неврологических заболеваний. Антисмысловой олигонуклеотид может быть ковалентно связан с другим олигонуклеотидом, например, с мишенью, отличной от PIKFYVE. Антисмысловой олигонуклеотид может быть ковалентно связан с антителом.

[0105] Раскрытые одну или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот можно комбинировать со следующими без ограничения антихолинергическими лекарственными средствами, противосудорожными средствами, антидепрессантами, бензодиазепинами, противоотечными средствами, миорелаксантами, обезболивающими препаратами и/или стимуляторами. Дополнительные типы терапии и лечения включают без ограничения устройства цифровой связи, зонды для кормления, искусственную вентиляцию легких, пищевую поддержку, глубокую стимуляцию головного мозга, трудотерапию, физиотерапию и/или логопедию.

[0106] Раскрытая(ые) композиция(ии) может(могут) быть включена(ы) в фармацевтическую композицию, подходящую для введения субъекту (например, пациенту, который может быть человеком или отличным от человека организмом). Фармацевтические композиции могут содержать носитель (например, фармацевтически приемлемый носитель). В контексте настоящего изобретения можно использовать любой подходящий носитель, и такие носители хорошо известны в уровне техники. Выбор носителя будет частично определяться конкретным применением композиции (например, введением животному) и конкретным способом, используемым для введения композиции. Соответственно, существует широкий выбор подходящих составов композиции по

настоящему изобретению.

[0107] Фармацевтические композиции могут содержать терапевтически эффективное количество или профилактически эффективное количество антисмыслового олигонуклеотида. Терапевтически эффективное количество композиции может определяться специалистом в данной области техники и может варьироваться в зависимости от таких факторов, как состояние болезни, возраст, пол и вес индивидуума, а также способность композиции вызывать требуемый ответ у индивидуума. Терапевтически эффективное количество также представляет собой такое количество, в котором любые токсические или вредные эффекты одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот по настоящему изобретению перевешиваются терапевтически полезными эффектами. «Профилактически эффективное количество» относится к количеству, эффективному в дозировках и в течение периодов времени, необходимых для достижения требуемого профилактического результата. Обычно, поскольку профилактическая доза применяется у субъектов до или на более ранней стадии заболевания, профилактически эффективное количество будет меньше, чем терапевтически эффективное количество.

[0108] Фармацевтические композиции могут содержать один или более фармацевтически приемлемых носителей. Термин «фармацевтически приемлемый носитель», используемый в данном документе, означает нетоксичный, инертный твердый, полутвердый или жидкий наполнитель, разбавитель, инкапсулирующий материал или вспомогательное средство для составления любого типа. Некоторыми примерами материалов, которые могут служить фармацевтически приемлемыми носителями, являются сахара, такие как без ограничения лактоза, глюкоза и сахароза; крахмалы, такие как без ограничения кукурузный крахмал и картофельный крахмал; целлюлоза и ее производные, такие как без ограничения натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза и ацетат целлюлозы; порошкообразный трагакант; солод; желатин; тальк; наполнители, такие как без ограничения масло какао и воски для суппозиторий; масла, такие как без ограничения арахисовое масло, хлопковое масло, сафлоровое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и соевое масло; гликоли; такие как пропиленгликоль; сложные эфиры, такие как без ограничения этилолеат и этиллаурат; агар; буферные средства, такие как без ограничения гидроксид магния и гидроксид алюминия; альгиновая кислота; апирогенная вода; изотонический физиологический раствор; раствор Рингера; этиловый спирт и фосфатные буферные растворы, а также другие нетоксичные совместимые смазочные материалы, такие как без ограничения лаурилсульфат натрия и стеарат магния, а также антиадгезивы, покрывающие средства, консерванты и антиоксиданты, с точки зрения составителя.

[0109] Путь введения раскрытых одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот и форма композиции будут определять тип используемого носителя.

[0110] Фармацевтические композиции по настоящему изобретению можно вводить несколькими путями в зависимости от того, требуется ли местное или системное лечение, а также от области, подлежащей лечению. Введение может быть парентеральным, включая внутривенную, внутриартериальную, подкожную, внутрибрюшинную или внутримышечную инъекцию или инфузию; или интракраниальным, например, интратекальное, интрацеребровентрикулярное или интравентрикулярное введение. В одном варианте осуществления антисмысловую или ингибирующую нуклеиновую кислоту вводят внутривенно, внутрибрюшинно или в виде болюсной инъекции или вводят непосредственно в целевой орган. В другом варианте осуществления антисмысловую или ингибирующую нуклеиновую кислоту вводят интратекально или интрацеребровентрикулярно в виде болюсной инъекции.

[0111] Носители для системного введения обычно включают по меньшей мере один из растворителей, разбавителей, смазок, связующих, разрыхлителей, красителей, ароматизаторов, подсластителей, антиоксидантов, консервантов, скользящих веществ, растворителей, суспендирующих средств, смачивающих средств, поверхностно-активных веществ, их комбинаций и других. Все носители не являются обязательными в композициях.

[0112] Подходящие разбавители включают сахара, такие как глюкоза, лактоза, декстроза и сахароза; диолы, такие как пропиленгликоль; карбонат кальция; карбонат натрия; сахарные спирты, такие как глицерин; маннит и сорбит.

[0113] Подходящие смазки включают диоксид кремния, тальк, стеариновую кислоту и ее соли магния и соли кальция, сульфат кальция; жидкие смазки, такие как полиэтиленгликоль, и растительные масла, такие как арахисовое масло, хлопковое масло, кунжутное масло, оливковое масло, кукурузное масло и масло какао-бобов. Количество смазки(смазок) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 5 до около 10%.

[0114] Подходящие связующие включают поливинилпирролидон; алюмосиликат магния; крахмалы, такие как кукурузный крахмал и картофельный крахмал; желатин; трагакант; целлюлоза и ее производные, такие как натрийкарбоксиметилцеллюлоза, этилцеллюлоза, метилцеллюлоза, микрокристаллическая целлюлоза и натрийкарбоксиметилцеллюлоза. Количество связующего(их) в композиции для системного применения обычно составляет от около 5 до около 50%.

[0115] Подходящие разрыхлители включают агар, альгиновую кислоту и ее натриевую

соль, шипучие смеси, кроскармелозу, кросповидон, натрий-карбоксиметилкрахмал, натрий-гликолят крахмала, глины и ионообменные смолы. Количество разрыхлителя(ей) в композиции для системного применения обычно составляет от около 0,1 до около 10%.

[0116] Подходящие красители включают краситель, такой как краситель FD&C. При использовании количество красителя в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0,005 до около 0,1%.

[0117] Подходящие ароматизаторы включают ментоловые, мятные и фруктовые ароматизаторы. Количество ароматизатора(ов) при использовании в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0,1 до около 1,0%.

[0118] Подходящие антиоксиданты включают бутилированный гидроксианизол («ВНА»), бутилированный гидрокситолуол («ВНТ») и витамин Е. Количество антиоксиданта(ов) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0,1 до около 5%.

[0119] Подходящие консерванты включают хлорид бензалкония, метилпарабен и бензоат натрия. Количество консерванта(ов) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0,01 до около 5%.

[0120] Подходящие скользящие вещества включают диоксид кремния. Количество скользящего(их) вещества(веществ) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 1 до около 5%.

[0121] Подходящие растворители включают воду, изотонический солевой раствор, этилолеат, глицерин, гидроксированные касторовые масла, спирты, такие как этанол, и забуференные фосфатом растворы. Количество растворителя(ей) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0 до около 100%.

[0122] Подходящие суспендирующие средства включают AVICEL RC-591 (от FMC Corporation из Филадельфии, Пенсильвания) и альгинат натрия. Количество суспендирующего(их) средства(средств) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 1 до около 8%.

[0123] Подходящие поверхностно-активные вещества включают лецитин, полисорбат 80 и лаурилсульфат натрия, а также TWEENS от Atlas Powder Company из Уилмингтона, Делавэр. Подходящие поверхностно-активные вещества включают поверхностно-активные вещества, раскрытые в C.T.F.A. Cosmetic Ingredient Handbook, 1992, pp.587-592; Remington's Pharmaceutical Sciences, 15th Ed. 1975, pp. 335-337; и McCutcheon's Volume 1, Emulsifiers & Detergents, 1994, North American Edition, pp. 236-239. Количество поверхностно-активного(ых) вещества(веществ) в композиции для системного или местного применения обычно составляет от около 0,1% до около 5%.

[0124] Композиции и составы для парентерального, интратекального, интрацеребровентрикулярного или интравентрикулярного введения могут включать стерильные водные растворы, которые также могут содержать буферы, разбавители и другие подходящие добавки, такие как без ограничения усилители проникновения, соединения-носители и другие фармацевтически приемлемые носители или вспомогательные вещества. Например, для доставки антисмысловых составов по настоящему изобретению можно использовать интратекальный катетер спинномозговой жидкости (CSF). Катетер можно вводить в позвонок L3 или L4. Дистальный конец катетера проходит в интратекальном пространстве до примерно позвонка L1. Антисмысловые олигонуклеотиды растворяют в солевом растворе, стерилизуют фильтрованием и вводят при 0,33 мл/мин в объеме 1,0 мл с последующим промыванием стерильной водой объемом 0,5 мл. Общее время инфузии составляет 4,5 мин.

[0125] Хотя количества компонентов в системных композициях могут варьироваться в зависимости от типа приготовленной системной композиции, в целом системные композиции включают от 0,01% до 50% активного соединения и от 50% до 99,99% одного или более носителей. Композиции для парентерального введения обычно включают от 0,1% до 10% активных веществ и от 90% до 99,9% носителя, включая разбавитель и растворитель.

[0126] Количество носителя, используемого в сочетании с раскрытым соединением, достаточно для обеспечения практического количества композиции для введения на единичную дозу лекарственного препарата. Методики и композиции для изготовления лекарственных форм, пригодных в способах по настоящему изобретению, описаны в следующих ссылках: Modern Pharmaceutics, Chapters 9 and 10, Banker & Rhodes, eds. (1979); Lieberman et al., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981); и Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, 2nd Ed., (1976).

[0127] Тестирование *in vivo* потенциальных антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот можно проводить способами, известными специалистам в данной области техники. Например, одну или более потенциальных антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот можно вводить млекопитающему, такому как мышь или кролик. Млекопитающему можно вводить любым путем, который считается подходящим, дозу потенциальных антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот. Затем можно использовать обычные методы и критерии для мониторинга животных в отношении признаков ослабления или улучшения активности двигательных нейронов и/или экспрессии или активности гена или белка *UNC13A*, соответственно. При необходимости результаты, полученные в присутствии потенциальных антисмысловых или

ингибирующих нуклеиновых кислот, можно сравнить с результатами у контрольных животных, которых не обрабатывали потенциальными антисмысловыми или ингибирующими нуклеиновыми кислотами. Исследования по введению дозы можно проводить с помощью описанных в данном документе способов или в сочетании с ними для идентификации одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот, способных лечить неврологическое заболевание, и/или любого последующего тестирования потенциальных антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот *in vivo*. Специалист в области медицины может определить подходящую дозировку одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот. Дозировка может быть определена с помощью наблюдения субъекта в отношении признаков ингибирования или облегчения заболевания. Дозировка может быть увеличена или уменьшена для достижения требуемой частоты обработки. Токсичность и эффективность одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот можно определить с помощью стандартных фармацевтических процедур на клеточных культурах или экспериментальных животных, например, определение летальной дозы для 50% популяции (LD50) и дозы, терапевтически эффективной для 50% популяции (ED50). Соотношение доз LD50/ED50 является терапевтическим индексом и указывает на соотношение токсического и терапевтического эффектов. Система доставки может быть разработана так, чтобы способствовать предупреждению токсических побочных эффектов с помощью доставки одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот к конкретным мишеням, например, с помощью доставки специфично к двигательным нейронам или нейронам центральной нервной системы. Оптимальная доза одной или более антисмысловых или ингибирующих нуклеиновых кислот может быть определена на основании результатов клинической электрофизиологии или электромиографии, например, для анализа возбудимости периферических нервов.

[0128] Дозировка для применения у людей может быть определена с помощью оценки данных, полученных в ходе исследований на животных и анализов на клеточных культурах. Предпочтительная дозировка будет иметь небольшую токсичность или не иметь ее вообще и включать ED50. Дозировка может варьироваться в зависимости от лекарственной формы и пути введения. Для любой антисмысловой или ингибирующей нуклеиновой кислоты, используемой в способах, описанных в данном документе, дозировка может быть первоначально оценена в культуре клеток. Доза может быть составлена на животных моделях, что включает концентрацию тестируемого соединения, которая обеспечивает половину максимального ингибирования симптомов (LD50), как определено в клеточной культуре. Такая информация, полученная на основании клеточных культур и животных

моделей, может быть использована для более точного определения применимых для людей доз.

[0129] В настоящем изобретении представлены ASO, которые подавляют экспрессию криптоического экзона между каноническими экзонами 20 и 21 UNC13A в клетках человека. Сопровождающие данные позволяют предположить, что эти ASO могут предупреждать нейродегенерацию.

Примеры

[0130] Пример 1

[0131] Чтобы оценить, могут ли нейроны пациента воспроизводить фенотип включения криптоического экзона, изучали данные генетического секвенирования примерно 80 линий пациентов с ALS/FTD, и идентифицировали пациента с ALS, гетерозиготного по аллелю риска UNC13A. Индуцированные возбуждающие нейроны коры (iN) получали из iPSC пациента с использованием способа с индуцируемым доксициклином Ngn2. Ngn2-iN экспрессируют на высоких уровнях теленцефалические маркеры *Brn-2*, *Cux1* и *FoxG1*, которые характерны для возбуждающих нейронов коры слоя 2/3. Они формируют зрелые пре- и постсинаптические специализации и интегрируются в существующие синаптические сети при трансплантации в головной мозг мыши. После получения iN от этого носителя SNP риска UNC13A проводили количественную RT-PCR и подтверждали наличие криптоического экзона. Поскольку известно, что включение криптоического экзона происходит только в ядрах с истощением TDP-43 посмертно, проводили количественную RT-PCR на iN, полученных от трех линий пациентов, в которых экспрессия TDP-43 была снижена с использованием мiРНК. Обнаружили, что истощение TDP-43 привело к увеличению уровней криптоических экзонов в > 1000 раз и значительному снижению уровней обычного транскрипта и белка UNC13A (фиг. 3E-3G). Таким образом, пониженные уровни TDP-43 при заболеваниях ALS и FTD приводят к включению криптоического экзона в мРНК UNC13A, что приводит к снижению уровней белка UNC13A.

[0132] Пример 2. ASO-опосредованное подавление включения криптоического экзона может восстановить уровни UNC13A в нейронах, полученных от пациентов

[0133] Последовательности ASO идентифицировали на основании гена между экзонами 20 и 21, как располагающиеся вокруг криптоического экзона и сайтов связывания TDP-43, и скринировали на предмет уменьшения включения криптоического экзона и усиления экспрессии нормального транскрипта по сравнению с контролем (NCASO) (данные на фиг. 1). Идентифицировали несколько последовательностей ASO, которые эффективно блокировали включение криптоического экзона (фиг. 3A-3G), а также идентифицировали

ряд последовательностей ASO, которые этого не делали.

[0134] На фиг. 1 и 4A-4F представлены диаграммы ASO в экзоне 20-21 UNC13A для блокирования экспрессии криптического экзона в сравнении с контролем (NCASO).

[0135] Вышеизложенное описание и графические материалы следует рассматривать как исключительно иллюстративные принципы настоящего изобретения. Настоящее изобретение не ограничивается предпочтительным вариантом осуществления и может быть реализовано рядом способов, которые будут понятны специалисту в данной области техники. Специалистам в данной области техники будут очевидны многочисленные применения настоящего изобретения. Поэтому нежелательно ограничивать настоящее изобретение конкретными раскрытыми примерами или точной показанной и описанной конструкцией и процессом. Скорее, можно использовать все подходящие модификации и эквиваленты, входящие в объем настоящего изобретения. Все ссылочные материалы, цитированные в данном документе, включены посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Однонитевый антисмысловый олигонуклеотид, который подавляет экспрессию криптического экзона в UNC13A, причем антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая содержит по меньшей мере 12 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 1-641.
2. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 1-1282.
3. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеиновых оснований любой из последовательностей нуклеиновых оснований SEQ ID NO: 4-6, 9-11, 22-25, 53, 55, 359 или 360.
4. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований любой из SEQ ID NO: 1-1282.
5. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований любой из SEQ ID NO: 4-6, 9-11, 22-25, 53, 55, 359 или 360.
6. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет последовательность нуклеиновых оснований любой из SEQ ID NO: 645-647, 650-652, 663-666, 694, 696, 1000 и 1001.
7. Антисмысловый олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что антисмысловый олигонуклеотид имеет от 18 до 20 связанных нуклеозидов.
8. Антисмысловый олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что по меньшей мере одна межнуклеозидная связь представляет собой модифицированную межнуклеозидную связь.
9. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 8, отличающийся тем, что по меньшей мере одна модифицированная межнуклеозидная связь представляет собой фосфоротиоатную межнуклеозидную связь.
10. Антисмысловый олигонуклеотид по п. 8, отличающийся тем, что каждая модифицированная межнуклеозидная связь представляет собой фосфоротиоатную

межнуклеозидную связь.

11. Антисмысловой олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеозид содержит модифицированное нуклеиновое основание.

12. Антисмысловой олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеозид антисмыслового олигонуклеотида содержит модифицированный фрагмент сахара.

13. Антисмысловой олигонуклеотид по п. 12, отличающийся тем, что модифицированный фрагмент сахара содержит 2'-О-метоксиэтильную группу.

14. Антисмысловой олигонуклеотид по п. 1, отличающийся тем, что каждый нуклеозид антисмыслового олигонуклеотида содержит модифицированный фрагмент сахара, имеющий 2'-О-метоксиэтильную группу, и каждая межнуклеозидная связь представляет собой фосфотиоатную межнуклеозидную связь.

15. Антисмысловой олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов, отличающийся тем, что антисмысловой олигонуклеотид содержит от 15 до 50 нуклеозидов.

16. Фармацевтическая композиция, содержащая антисмысловой олигонуклеотид по любому из предыдущих пунктов и фармацевтически приемлемый носитель, разбавитель и/или вспомогательное вещество.

17. Фармацевтическая композиция по п. 16, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция подходит для парентеральной доставки.

18. Фармацевтическая композиция по п. 16, отличающаяся тем, что фармацевтическая композиция подходит для интрацеребровентрикулярного или интратекального введения.

19. Способ лечения нуждающегося в этом субъекта, имеющего неврологическое или нейродегенеративное заболевание, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 16–18.

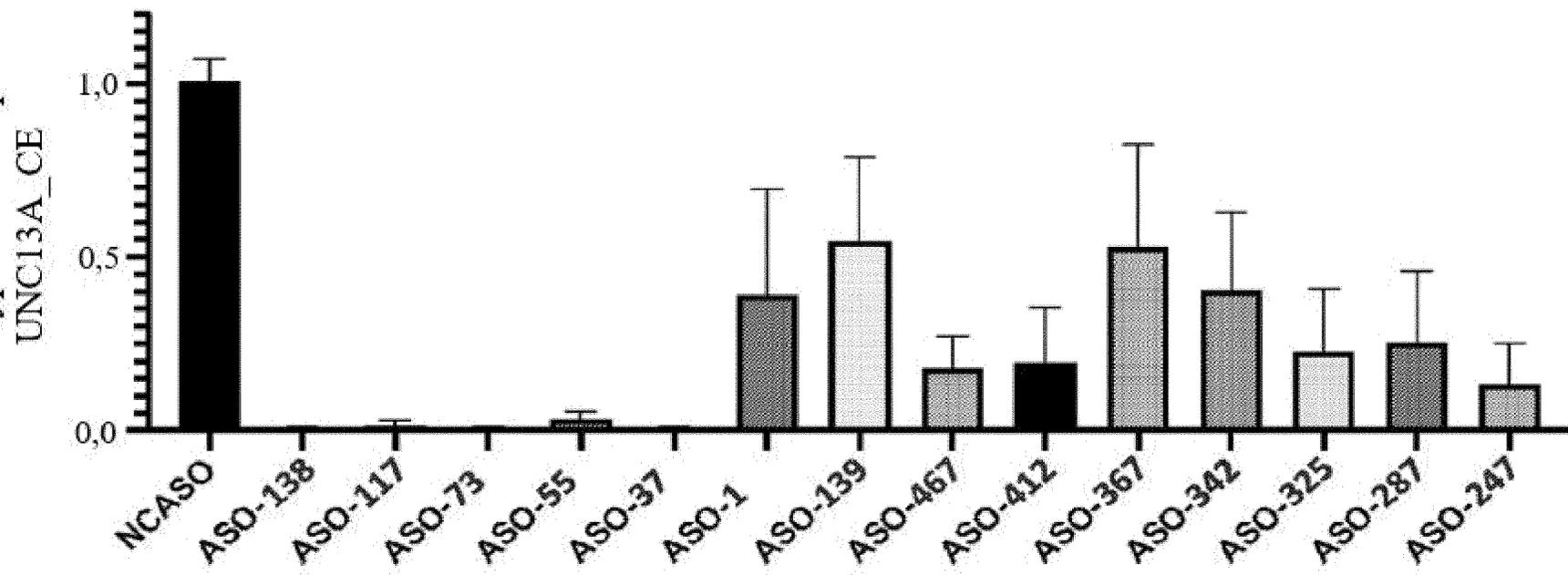
20. Способ по п. 19, отличающийся тем, что неврологическое заболевание выбрано из группы, состоящей из наследственного и спорадического бокового амиотрофического склероза (ALS) и наследственной и спорадической фронтотемпоральной деменции (FTD).

21. Способ повышения экспрессии белка UNC13A у нуждающегося в этом субъекта, включающий введение субъекту терапевтически эффективного количества фармацевтической композиции по любому из пп. 16-18.

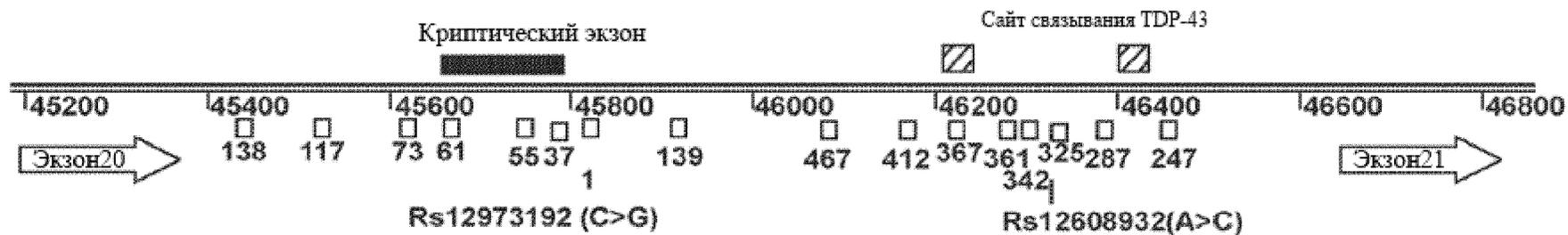
22. Способ по любому из пп. 19-21, отличающийся тем, что фармацевтическую композицию вводят путем интрацеребровентрикулярного или интратекального введения.

23. Способ по любому из пп. 19-21, отличающийся тем, что субъект имеет вариант SNP, связанный с rs12973192 (C>G), rs12608932 (A>C) или обоими.

Относительный уровень экспрессии мРНК

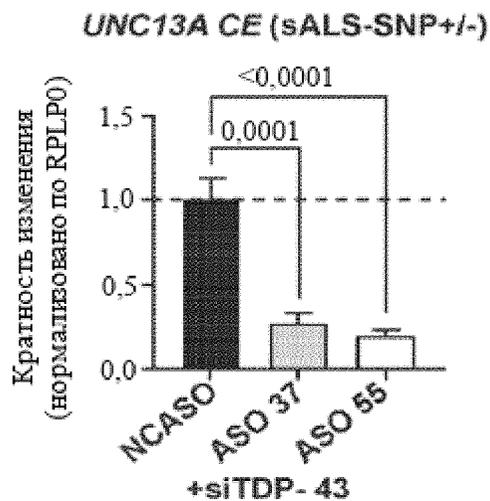


Фиг. 1

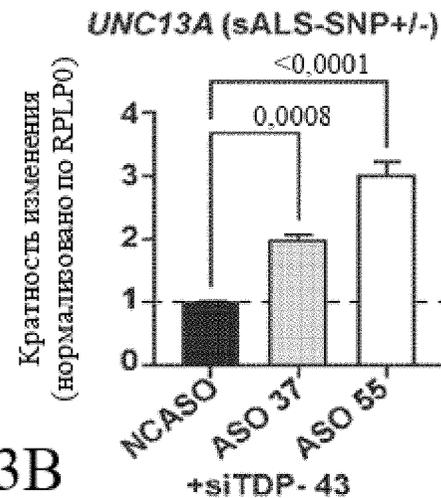


Фиг. 2

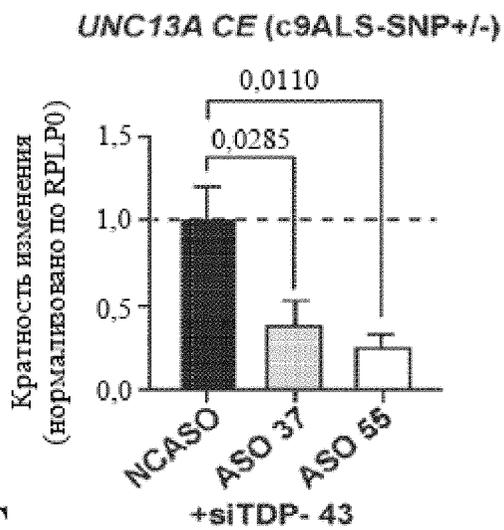
Фиг. 3А



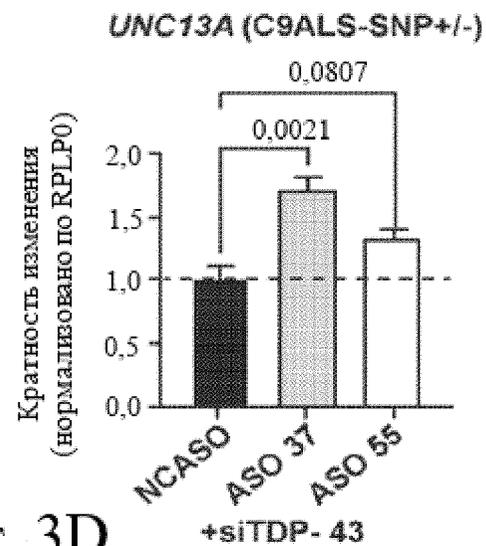
Фиг. 3В

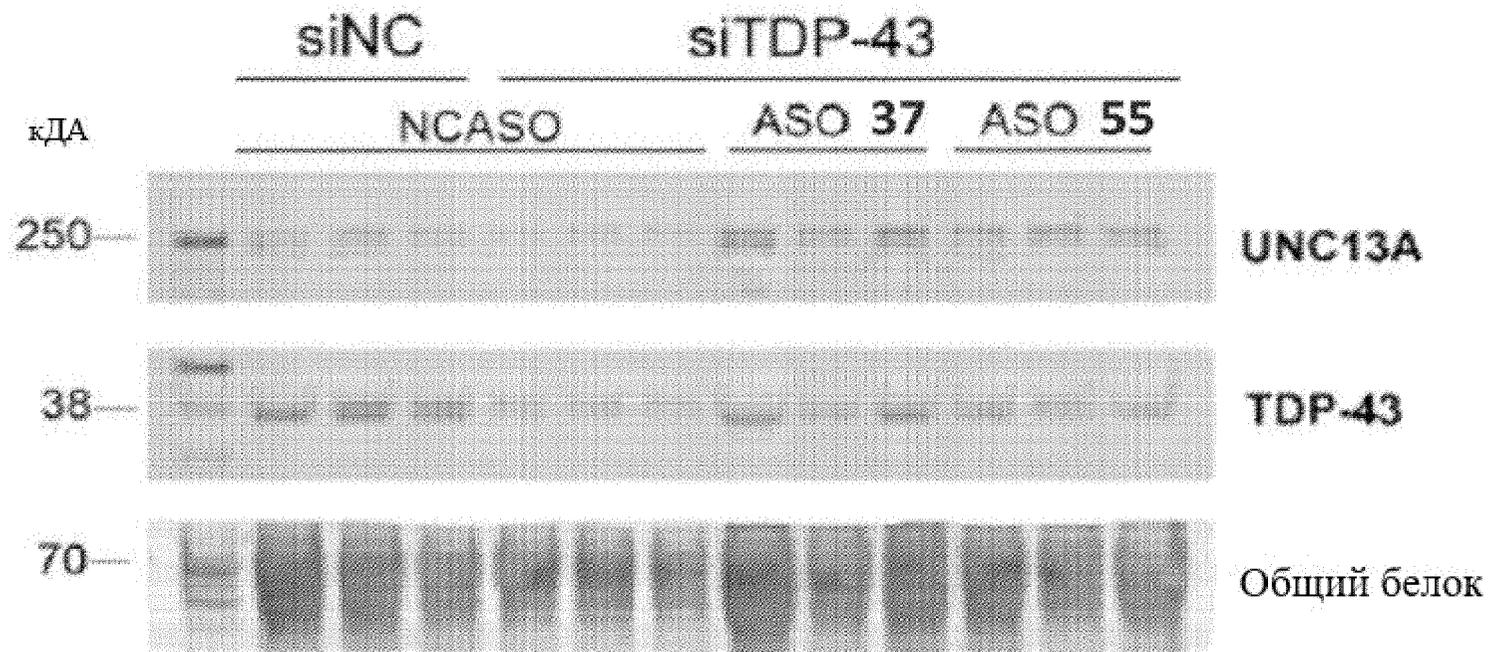


Фиг. 3С

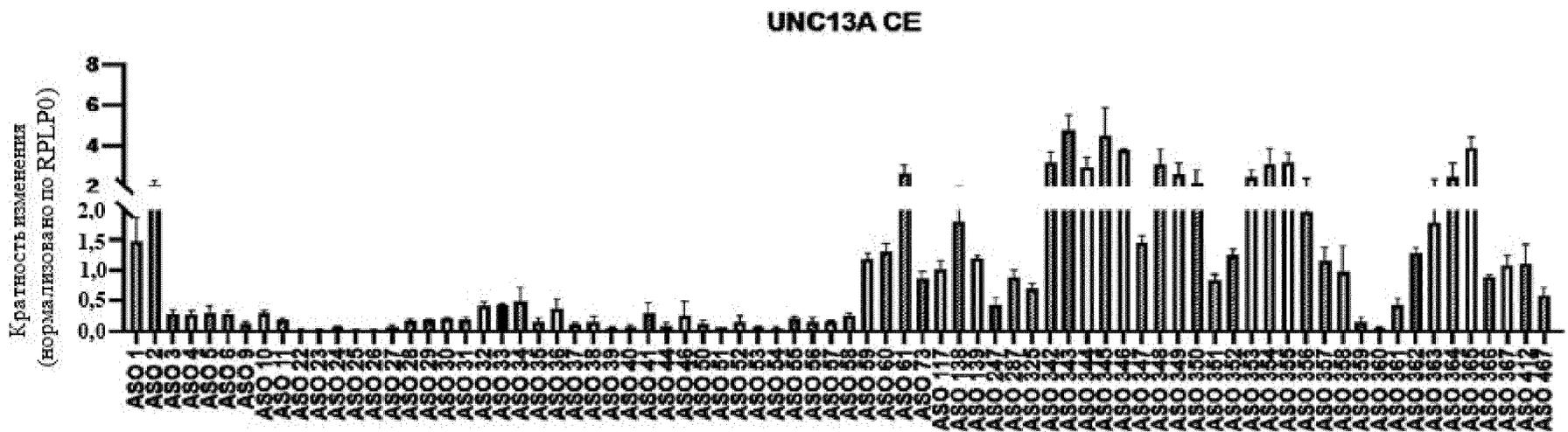


Фиг. 3D

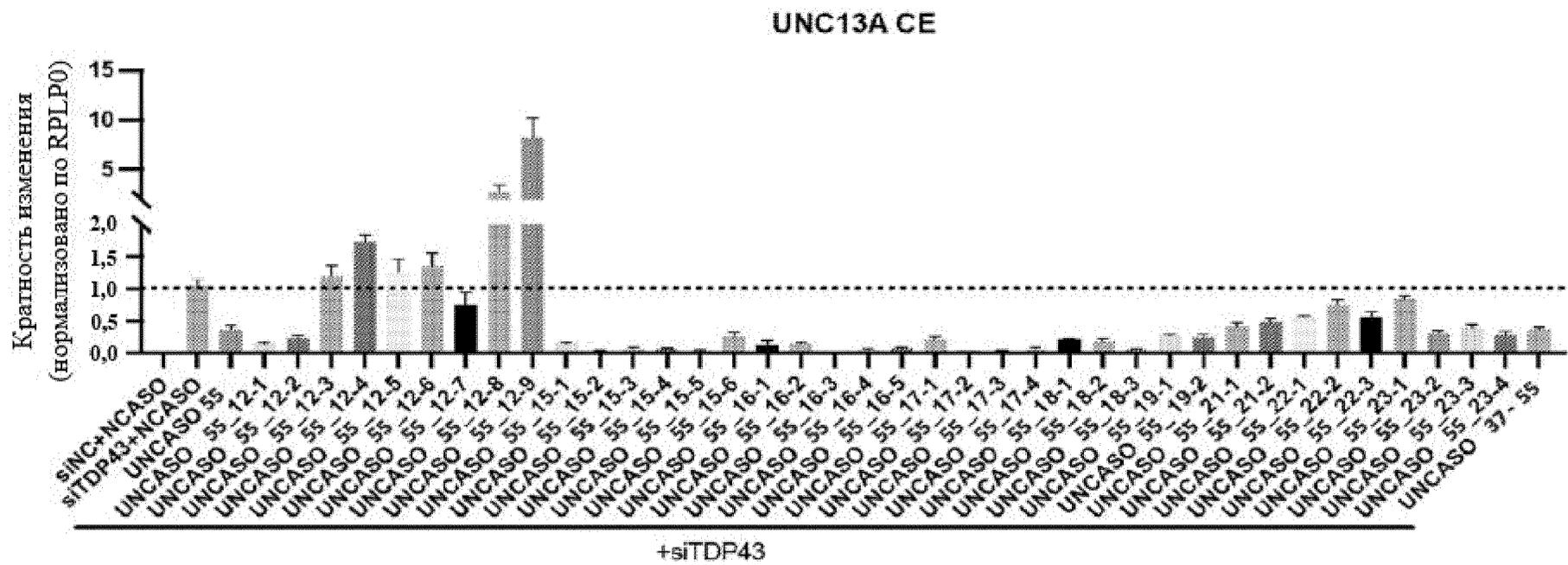




Фиг. 3Е

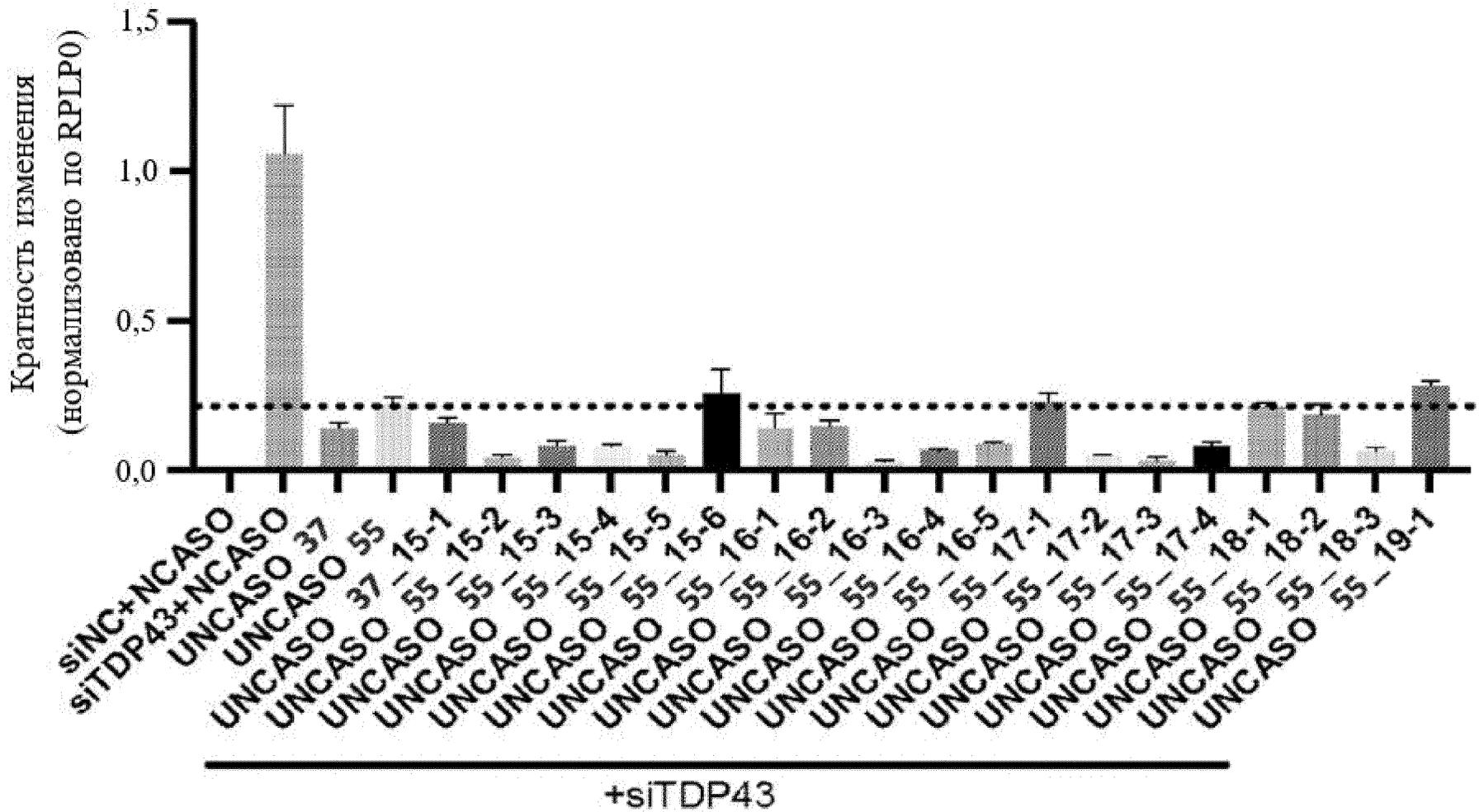


Фиг. 4А



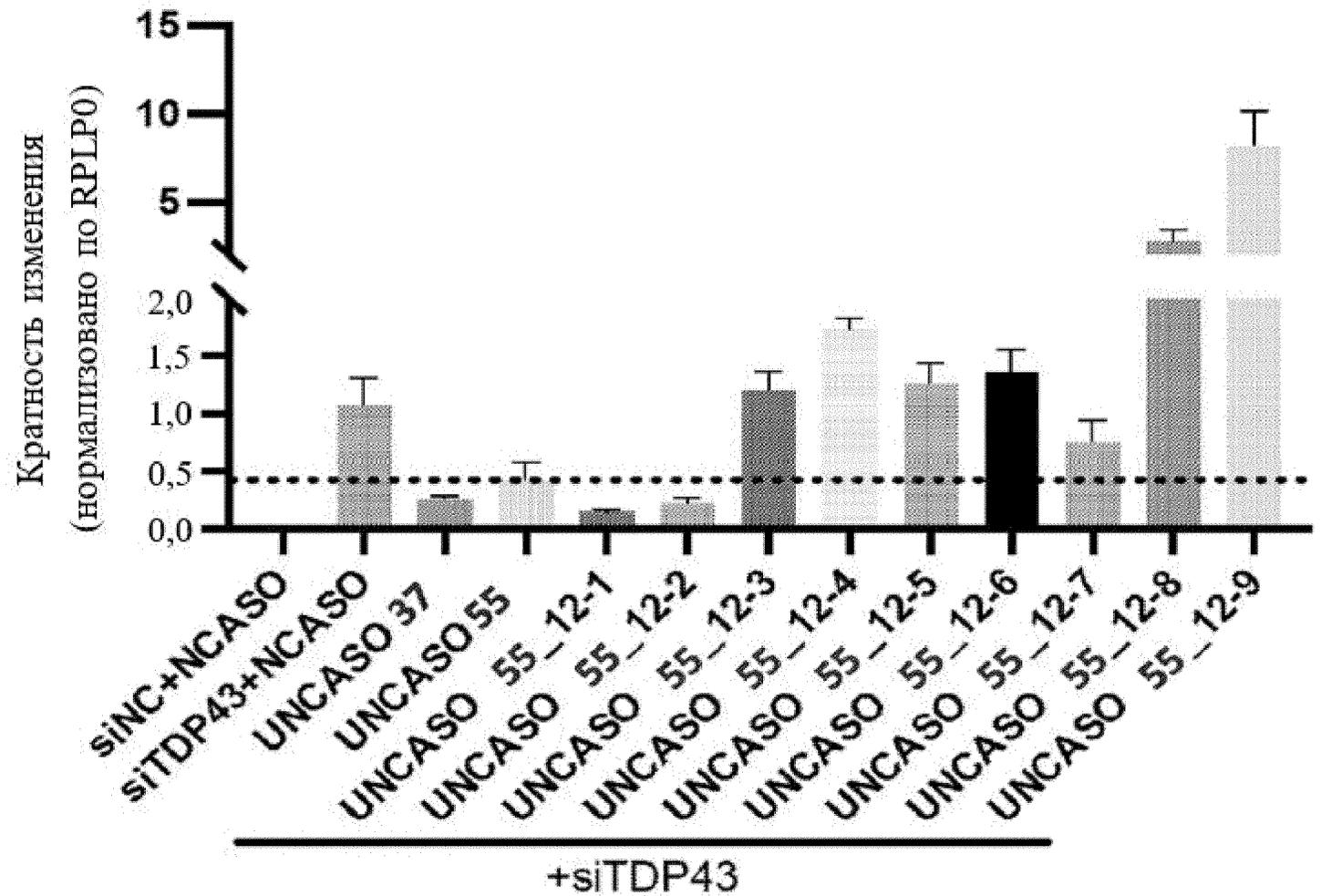
Фиг. 4В

UNC13A CE



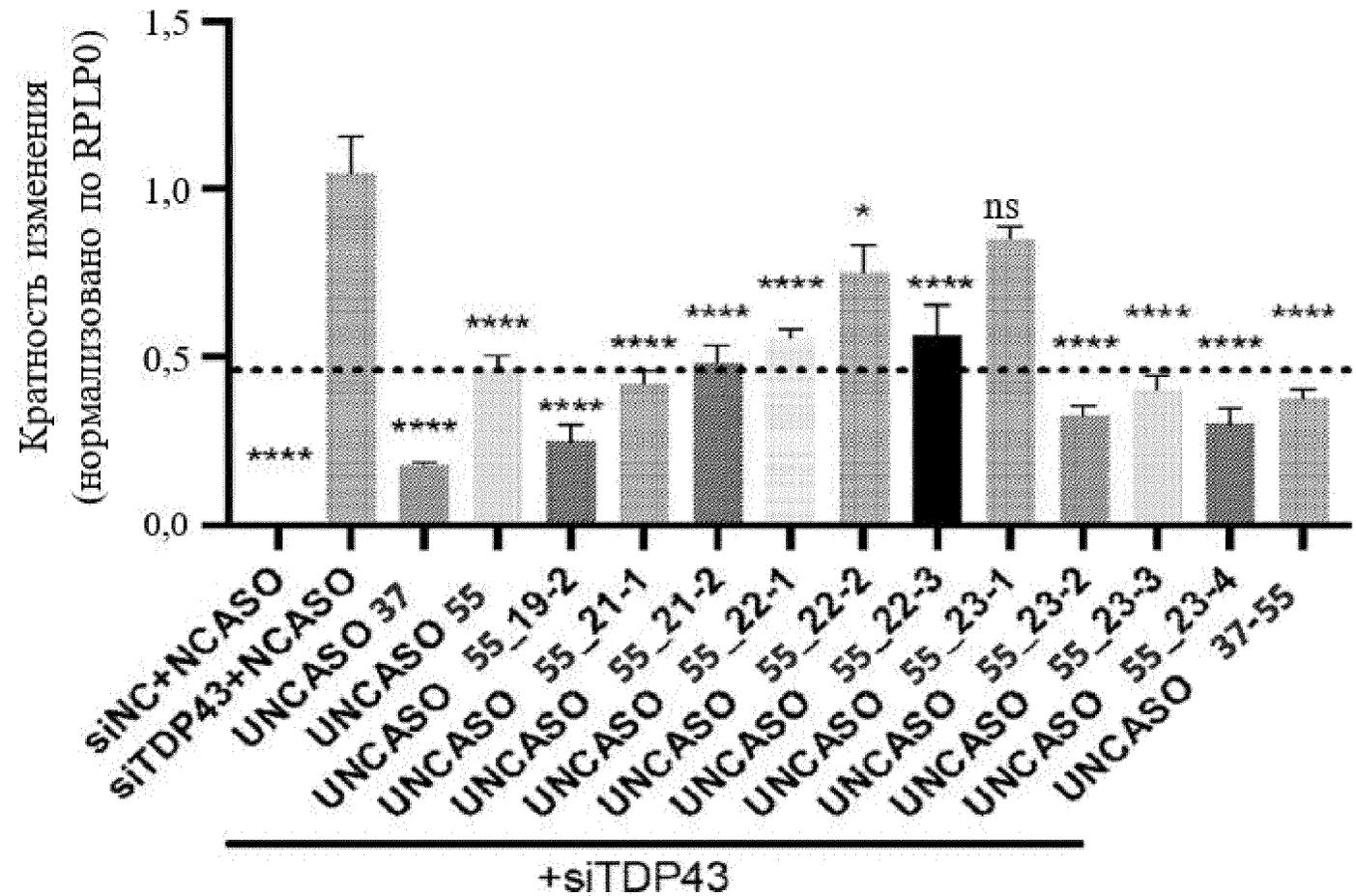
Фиг. 4С

UNC13A CE



Фиг. 4D

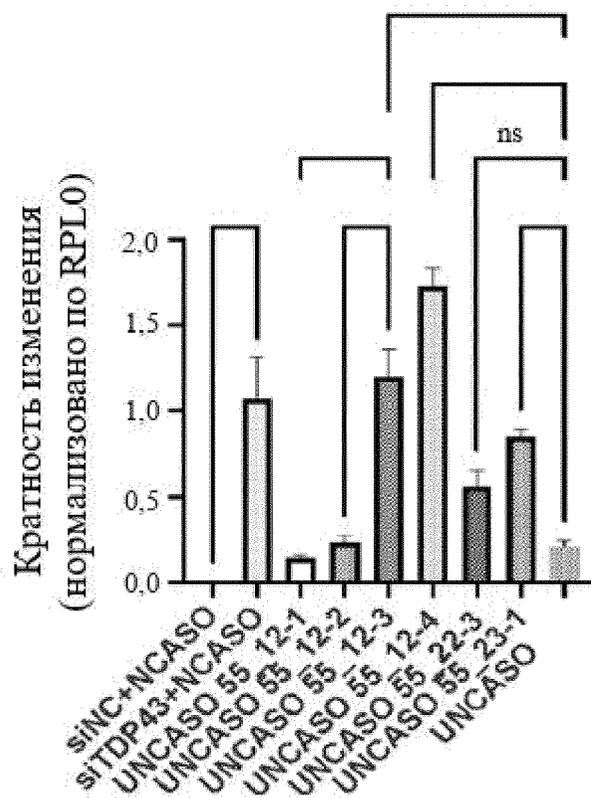
UNC13A CE



****p < 0,0001, *p < 0,05, ns: неспецифический

Фиг. 4E

Вариация ASO 55 UNC13A CE



ID	Последовательность
hUNC13A-ASO55_12-1	TCATTCATCTGT
hUNC13A-ASO55_12-2	CTCATTCATCTG
hUNC13A-ASO55_12-3	ACTCATTCATCT
hUNC13A-ASO55_12-4	CACTCATTCATC
hUNC13A-ASO55	CTCATCACTCATTTCATCTGT
hUNC13A-ASO55_22-3	TACTCATCACTCATTTCATCTGT
hUNC13A-ASO55_23-1	ACTCATCACTCATTTCATCTGTTC

Фиг. 4F