



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202440923 A

(43) 公開日：中華民國 113 (2024) 年 10 月 16 日

(21) 申請案號：112149013

(22) 申請日：中華民國 112 (2023) 年 12 月 15 日

(51) Int. Cl. : C12N15/113 (2010.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P9/00 (2006.01)

(30) 優先權：2022/12/16 美國

63/433,263

(71) 申請人：美商安進公司 (美國) AMGEN INC. (US)

美國

(72) 發明人：儒利芙森 英格德 RULIFSON, INGRID (US) ; 米德 布萊恩 MEADE, BRYAN

(US) ; 龍 傑森 C LONG, JASON C. (US) ; 穆瑞 賈斯汀 K MURRAY,

JUSTIN K. (US)

(74) 代理人：陳長文；張哲倫；姚金梅

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：53 項 圖式數：0 共 175 頁

(54) 名稱

用於抑制 T T R 表現的 R N A I 構建體及其使用方法

(57) 摘要

本揭露關於用於降低 TTR 基因的表現的 RNAi 構建體，如 siRNA。還描述了使用這樣的 RNAi 構建體治療或預防心臟疾病例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病 (ATTR-CM) 之方法。

The disclosure relates to RNAi constructs, such as siRNA, for reducing expression of the TTR gene. Methods of using such RNAi constructs to treat or prevent cardiac disease, such as transthyretin-associated cardiomyopathy (ATTR-CM), are also described.

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於抑制TTR表現的RNAi構建體及其使用方法

【英文發明名稱】 RNAI CONSTRUCTS FOR INHIBITING TTR

EXPRESSION AND METHODS OF USE THEREOF

【中文】

本揭露關於用於降低TTR基因的表現的RNAi構建體，如siRNA。還描述了使用這樣的RNAi構建體治療或預防心臟疾病例如暹甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）之方法。

【英文】

The disclosure relates to RNAi constructs, such as siRNA, for reducing expression of the TTR gene. Methods of using such RNAi constructs to treat or prevent cardiac disease, such as transthyretin-associated cardiomyopathy (ATTR-CM), are also described.

【指定代表圖】 無

【代表圖之符號簡單說明】 無

【特徵化學式】 無

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於抑制TTR表現的RNAi構建體及其使用方法

【英文發明名稱】 RNAI CONSTRUCTS FOR INHIBITING TTR

EXPRESSION AND METHODS OF USE THEREOF

【技術領域】

【0001】 本發明關於用於調節運甲狀腺素蛋白（TTR）的肝臟表現的組成物和方法。特別地，本發明關於經由RNA干擾降低TTR表現的基於核酸的治療劑、以及使用這樣的基於核酸的治療劑來治療或預防心臟疾病，例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）之方法。

【先前技術】

【0002】 運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）係慢性進行性障礙，根據運甲狀腺素蛋白（TTR）基因的序列細分為兩種類型：遺傳性運甲狀腺素蛋白澱粉樣蛋白CM（hATTR-CM）和野生型運甲狀腺素蛋白澱粉樣蛋白CM（wtATTR-CM）。TTR mRNA和TTR蛋白均主要在肝臟中產生；分泌的TTR作為四聚體循環，充當載劑蛋白。據推測，例如基因突變或TTR表現增加或衰老影響等觸發因素可導致分泌的四聚體結構不穩定，從而導致蛋白質錯誤折疊、聚集和澱粉樣蛋白斑塊沈積，從而導致心臟組織功能障礙和心臟衰竭。GalNac軛合的小干擾RNA（siRNA）緘默TTR mRNA，從而敲低TTR蛋白的產生，預計對ATTR-CM患者產生積極的結果，包括降低心血管相關死亡率和心血管相關住院率。

【0003】 澱粉樣變性係以錯誤折疊的先質蛋白為特徵的障礙，該等錯誤折疊的先質蛋白在包括心臟、腎臟、腦、胰臟和肝臟的組織的細胞外空間中形成稱

為澱粉樣蛋白的纖維狀聚集體沈積。心臟澱粉樣變性（CA）係具有高發病率和死亡率的複雜形式的限制性心肌病。CA典型地由錯誤折疊的運甲狀腺素蛋白（TTR）（描述為ATTR澱粉樣變性）或免疫球蛋白輕鏈聚集（描述為AL澱粉樣變性）引起。

【0004】 ATTR-心肌病（CM）係慢性進行性障礙，根據TTR基因的序列細分為：遺傳性運甲狀腺素蛋白澱粉樣蛋白CM（hATTR-CM）（係由存在基因突變驅動且與心肌病和多發性神經病（ATTR-PN）相關的罕見疾病）、和年齡相關性野生型運甲狀腺素蛋白澱粉樣蛋白CM（wtATTR-CM）（主要表現為心肌病）。TTR從肝臟（儘管也在胰臟、脈絡叢和視網膜色素上皮中產生）分泌到血液中，由四個作為四聚體進行循環的 β -折疊單體組成，充當甲狀腺素和全視黃醇結合蛋白（RBP）的載劑蛋白。遺傳性和野生型形式的ATTR-CM均為由分泌的TTR四聚體的動力學不穩定性造成的。TTR錯誤折疊、聚集/沈積和直接心肌毒性導致心臟組織功能障礙和與心臟衰竭相關的臨床表型。在過去的幾年中，越來越多的研究發現wtATTR-CM係射出分率保留的心臟衰竭（HFpEF）的常見原因。保守估計指出，wtATTR-CM在至少8%-13%的HFpEF患者中發揮著顯著的致病作用；僅在美國，這就代表有 > 200,000名患者，比多發性骨髓瘤更普遍。還觀察到wtATTR-CM與腕隧道症候群（CTS）、自發性肱二頭肌肌腱斷裂和腰椎管狹窄、和主動脈瓣狹窄（AS）之間的關聯；後者中，整個AS群體的6%-15%和具有低流量、低梯度模式的子集的 $\leq 30\%$ 可能患有ATTR-CM。

【0005】 從歷史上看，ATTR-CM的診斷不足，但人類遺傳學和成像技術的進步正在改變診斷率和準確性。例如，對於hATTR，V122I係美國最常見的TTR突變，幾乎只在美國黑人中觀察到，其中大約3.4%攜帶變體等位基因的至少一個拷貝。但是ATTR-CM在美國黑人中的患病率尚不清楚，傳統診斷（如心內膜心肌生檢）也不切實際。正使用Tc99-焦磷酸鹽（PYP）成像（用於ATTR-CM檢測

的高精度、非生檢策略) 進行臨床試驗以確定ATTR-CM在美國黑人和西班牙裔老年人中的真實患病率; 使用PYP進行的早期研究表明, 10%-15%的老年心臟衰竭患者患有ATTR-CM。試驗還包括測試血清生物標誌物RBP4的準確性以及與TTR穩定性的關係。研究人員還正在確認ATTR-CM合併症(例如腕隧道症候群)的患病率。克利夫蘭診所(Cleveland Clinic)的研究報導, 10%接受腕管松解手術的患者在腱鞘組織中出現澱粉樣蛋白沈積, 因此同時進行心臟評估可能會提高ATTR-CM的診斷。因此, ATTR-CM曾經因診斷不足而被認為是罕見的, 現在即將被指定為更多、更異質性的患者群體的可行治療靶標。

【0006】 因此, 需要治療受影響個體的心臟障礙例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病(ATTR-CM)的組成物和方法。

【發明內容】

【0007】 本揭露提供了包含有義股和反義股的RNAi構建體, 其中該RNAi構建體抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)mRNA的表現。在某些實施方式中, RNAi構建體包含具有與選自由以下組成之群組的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域: SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、

236、238、240、242、244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、
264、266、268、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、
292、294、296、298、300、302、304、306、308、310、312、314、316、318、
320、322、324、326、328、330、332、334、336、338、340、342、344、346、
348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、
376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、
404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、
432、434、436、438、440、442、444、446、448、450、452、454、456、458、
460、462、464、466、468、470、472、474、476、478、480、482、484、486、
488、490、492、494、496、498、500、502、504、506、508、510、512、514、
516、518、520、522、524、526、528、530、532、534、536、538、540、542、
544、546、548、550、552、554、556、558、560、562、564、566、568、570、
572、574、576、578、580、582、584、586、588、590、592、594、596、598、
600、602、604、606、608、610、612、614、616、618、620、622、624、626、
628、630、632、634、636、638、640、642、644、646、648、650、652、654、
656、658、660、662、664、666、668、670、672、674、676、678、680、682、
684、686、688、690、692、694、696、698、700、702、704、706、708、710、
712、714、716、718、720、722、724、726、728、730、732、734、736、738、
740、742、744、746、748、750、752、754、756、758、760、762、764、766、
768、770、772、774、776、778、780、782、784、786、788、790、792、794、
796、798、800、802、804、806、808、810、812、814、816、818、820、822、
824、826、828、830、832、834、836、838、840、842、844、846、848、850、
852、854、856、858、860、862、864、866、868、870、872、874、876、878、
880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、

908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、1094、1096、1098、1100、1102、1104、1106、1108、1110、1112、1114、1116、1118、1120、1122、1124、1126、1128、1130、和1132，並且其中該RNAi構建體抑制運甲狀腺素蛋白（TTR）mRNA的表現。

【0008】 在一些實施方式中，本文所述之RNAi構建體的有義股包含與反義股的序列充分互補以形成長度為約15至約30個鹼基對的雙股體區的序列。在該等和其他實施方式中，有義股和反義股的長度各自為約15至約30個核苷酸。在一些實施方式中，RNAi構建體包含至少一個鈍端。在其他實施方式中，RNAi構建體包含至少一個核苷酸突出端。這樣的核苷酸突出端可包含至少1至6個未配對核苷酸，且可位於有義股3'端、反義股3'端、或有義股和反義股兩者的3'端。在某些實施方式中，RNAi構建體在有義股3'端和反義股3'端處包含兩個未配對核苷酸的突出端。在其他實施方式中，RNAi構建體在反義股3'端處包含具有兩個未配對核苷酸的突出端，且在有義股3'端/反義股5'端包含鈍端。

【0009】 本發明之RNAi構建體可包含一或多種經修飾的核苷酸，包括對核糖環、核鹼基或磷酸二酯主鏈具有修飾的核苷酸。在一些實施方式中，RNAi構建體包含一或多種經2'-修飾的核苷酸。這樣的經2'-修飾的核苷酸可包括經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-O-烯丙基修飾的核苷酸、雙環核酸（BNA）、乙二醇核酸（GNA）、反向鹼

基（例如反向腺苷）或其組合。在一個特定實施方式中，RNAi構建體包含一或多個經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、或其組合。在一些實施方式中，RNAi構建體的有義股和反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。

【0010】 在一些實施方式中，RNAi構建體包含至少一個主鏈修飾，如經修飾的核苷酸間或核苷間鍵。在某些實施方式中，本文所述之RNAi構建體包含至少一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在特定實施方式中，硫代磷酸酯核苷酸間鍵可位於有義股和/或反義股的3'或5'端。

【0011】 本揭露還提供了組成物，該組成物包含上述RNAi構建體和藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑；以及在有需要的患者中降低TTR表現之方法，該等方法包括向該患者投與上述RNAi構建體或組成物。

【圖式簡單說明】

無

【實施方式】

相關申請的交叉引用

【0012】 本申請要求2022年12月16日提交的美國臨時申請案號63/433,263的優先權權益，將該臨時申請出於所有目的藉由引用以其全文特此併入。

【0013】 本發明部分基於靶向運甲狀腺素蛋白（TTR）基因且降低肝臟細胞中TTR表現的RNAi構建體的設計和產生。TTR表現的抑制可用於治療或預防與TTR表現相關的病症，包括心臟障礙，例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）。

【0014】 本揭露提供了用於調節編碼TTR的基因的表現的組成物和方法。

在一些實施方式中，基因可處於細胞或受試者（如哺乳動物（例如人））內。在一些實施方式中，本發明之組成物包含靶向TTR mRNA並且降低TTR在細胞或哺乳動物中的表現的RNAi構建體。這樣的RNAi構建體可用於治療或預防各種形式的心臟障礙，例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）。

【0015】 RNA干擾（RNAi）為將外源性RNA引入細胞，導致編碼靶向的蛋白質的mRNA特異性降解，從而導致蛋白質表現降低的過程。RNAi技術和肝遞送兩者中的進步及採用其他基於RNAi的療法的不斷增加的積極結果表明RNAi為藉由直接地靶向調節肝臟中的脂質合成的基因（如TTR）而治療性治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病的有效手段。

【0016】 如本文所用，術語「RNAi構建體」係指包含RNA分子的藥劑，當引入細胞中時，該RNA分子能夠經由RNA干擾機制下調靶基因（例如TTR）的表現。「RNA干擾」係核酸分子以序列特異性方式（例如通過RNA誘導緘默複合物（RISC）途徑）誘導靶RNA分子（例如，傳訊RNA或mRNA分子）的切割和降解的過程。在一些實施方式中，RNAi構建體包含雙股RNA（dsRNA）分子，該分子包含兩條反平行的連續核苷酸股，其彼此充分互補以雜交形成雙股體區。雙股RNAi構建體也可以被稱為RNAi「觸發物」。術語「雜交（hybridize或hybridization）」係指互補多核苷酸的配對，典型地經由在兩個多核苷酸中的互補鹼基之間的氫鍵合（例如，Watson-Crick氫鍵合、Hoogsteen氫鍵合或反向Hoogsteen氫鍵合）而配對。包含具有與靶序列（例如靶mRNA）基本上互補的序列的區域的股被稱為「反義股」。「有義股」係指包括與反義股的區域基本上互補的區域的股。在一些實施方式中，有義股可以包含具有與靶序列基本上相同的序列的區域。

【0017】 在某些實施方式中，雙股RNA的有義股和反義股可為兩個單獨的分子，這兩個分子雜交而形成雙股體區，否則是未連接的。由兩條單獨的股形成

的這樣的雙股RNA分子被稱為「小干擾RNA」或「短干擾RNA」(siRNA)。siRNA係一類非編碼雙股RNA分子，通常約有20-27個鹼基對，係RNAi的核心。因此，在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含siRNA。在其他實施方式中，RNAi構建體可為微小RNA（也稱為「miRNA」或「成熟miRNA」）。miRNA係存在於植物、動物和一些病毒中的小的（長度大約18-24個核苷酸）非編碼RNA分子。miRNA類似於siRNA，但miRNA源自髮夾mRNA結構。miRNA藉由與靶mRNA的互補區域進行鹼基配對來調節基因表現。

【0018】 在一些實施方式中，本揭露提供了針對TTR的RNAi構建體。在一些實施方式中，RNAi構建體係包含有義股和反義股的siRNA，其中該反義股包含與TTR mRNA序列互補的區域。RNAi反義股的區域可以與TTR mRNA序列的任何合適的區域互補。例如，反義股可以包含與TTR mRNA序列的編碼區或3'非翻譯區（UTR）互補的區域。

【0019】 雙股RNAi分子可以包括對核糖核苷酸的化學修飾，包括對核糖核苷酸的核糖、鹼基或主鏈組分的修飾，如本文所述或本領域已知的那些。出於本揭露之目的，術語「雙股RNA」涵蓋如在雙股RNA分子（例如siRNA、shRNA等）中所採用的任何這樣的修飾。

【0020】 如本文所用，若包含第一序列的多核苷酸可以在某些條件（如生理條件）下與包含第二序列的多核苷酸雜交形成雙股體區，則該第一序列與該第二序列「互補」。其他這樣的條件可以包括熟悉該項技術者已知的中等或嚴格雜交條件。若在一個或兩個核苷酸序列的整個長度上包含第一序列的多核苷酸與包含第二序列的多核苷酸鹼基配對而無任何錯配，則認為該第一序列與該第二序列完全互補（100%互補）。若序列與靶序列至少約80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%互補，則該序列與靶序列「基本上互補」。互補百分比可以藉由將第一序列中與第二或靶序列中對應位置處的鹼基互補的鹼基

數除以該第一序列的總長度來計算。若在兩個序列雜交時在30個鹼基對的雙股體區上存在不超過5個、4個、3個、2個或1個錯配，則還可說序列與另一個序列基本上互補。通常，若存在如本文所定義的任何核苷酸突出端，則在確定兩個序列之間的互補程度時不考慮這樣的突出端的序列。舉例而言，長度為21個核苷酸的有義股和長度為21個核苷酸的反義股雜交形成在各股3'端處具有2個核苷酸突出端的19個鹼基對雙股體區，這兩條股將被認為是完全互補，如該術語在本文中所示。

【0021】 在一些實施方式中，反義股的區域包含與靶RNA序列（例如TTR mRNA）的區域完全互補的序列。在這樣的實施方式中，有義股可以包含與反義股的序列完全互補的序列。在其他這樣的實施方式中，有義股可以包含與反義股的序列基本上互補的序列，例如在由有義股和反義股形成的雙股體區中有1、2、3、4或5個錯配。在某些實施方式中，較佳的是在末端區域內（例如，在股5'端和/或3'端的6、5、4、3、2或1個核苷酸內）發生任何錯配。在一個實施方式中，由有義股和反義股形成的雙股體區中的任何錯配理想地發生在反義股5'端的6、5、4、3、2或1個核苷酸內。

【0022】 當dsRNA的兩條基本上互補的股由單獨的RNA分子構成時，那些分子不需要但可以共價連接。如果兩條股藉由以除了在一條股的3'端與相應的另一條股的5'端之間的不間斷核苷酸股以外的方式共價連接從而形成雙股體結構，則連接結構被稱為「連接子」。RNA股可具有相同或不同數目的核苷酸。雙股體中鹼基對的最大數目為dsRNA的最短股中的核苷酸數目減去雙股體中存在的任何突出端。除雙股體結構外，RNAi可包含一或多個核苷酸突出端。

【0023】 在其他實施方式中，雜交形成雙股體區的有義股和反義股可為單個RNA分子的一部分，即有義股和反義股為單個RNA分子的自身互補區的一部分。在這樣的情況下，單個RNA分子包含雙股體區（也稱為莖區）和環區。有義

股的3'端藉由將形成環區的連續未配對核苷酸序列與反義股的5'端連接。環區典型地具有足夠的長度以允許RNA分子自身向後折疊，使得反義股可以與有義股鹼基配對以形成雙股體或莖區。環區可以包含約3至約25、約5至約15、或約8至約12個未配對核苷酸。如本文所指出，具有至少部分自我互補區的這樣的RNA分子被稱為「短髮夾RNA」(shRNA)。在一些實施方式中，環區可包含至少1、2、3、4、5、10、20或25個未配對核苷酸。在其他實施方式中，環區可具有10、9、8、7、6、5、4、3、2或更少個未配對核苷酸。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含shRNA。單個的至少部分自我互補的RNA分子的長度可為約35個核苷酸至約100個核苷酸、約45個核苷酸至約85個核苷酸、或約50至約60個核苷酸，並且包含雙股體區和環區，各區具有本文所敘述的長度。

【0024】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股包含具有與TTR傳訊RNA (mRNA) 序列基本上或完全互補的序列的區域。如本文所用，「TTR mRNA序列」係指編碼TTR蛋白（包括來自任何物種（例如小鼠、大鼠、非人靈長類動物、人）的TTR蛋白變體或同種型）的任何傳訊RNA序列，包括剪接變體。TTR在本領域中也被稱為SREBF伴侶。

【0025】 TTR mRNA序列還包括表現為其互補DNA (cDNA) 序列的轉錄物序列。cDNA序列係指表現為DNA鹼基（例如，鳥嘌呤、腺嘌呤、胸腺嘧啶和胞嘧啶）而非RNA鹼基（例如，鳥嘌呤、腺嘌呤、尿嘧啶和胞嘧啶）的mRNA轉錄物的序列。因此，本發明之RNAi構建體的反義股可以包含具有與靶TTR mRNA序列或TTR cDNA序列基本上或完全互補的序列的區域。TTR mRNA或cDNA序列可以包括但不限於任何TTR mRNA或cDNA序列，如可以衍生自NCBI參考序列NM_001320044.2或NM_012235.4。

【0026】 反義股的區域可以與TTR mRNA序列的至少15個連續核苷酸基本上互補或完全互補。在一些實施方式中，反義股包含與之互補區域的TTR

mRNA序列的靶區域的範圍可以為約15至約30個連續核苷酸、約16至約28個連續核苷酸、約18至約26個連續核苷酸、約17至約24個連續核苷酸、約19至約25個連續核苷酸、約19至約23個（例如，19、20、21、22、或23個）連續核苷酸、或約19至約21個連續核苷酸。在某些實施方式中，包含與TTR mRNA序列基本上或完全互補的序列的反義股的區域，在一些實施方式中，可以包含來自在表1中列出的反義序列的至少19個連續核苷酸。在一些實施方式中，有義和/或反義序列包含來自表1中列出的序列且具有不超過1、2或3個核苷酸錯配的至少15個核苷酸。

【0027】 RNAi構建體的有義股典型地包含與反義股的序列充分互補，使得兩條股在生理條件下雜交以形成雙股體區的序列。「雙股體區」係指在兩個互補或基本上互補的多核苷酸中的區域，這兩個多核苷酸藉由Watson-Crick鹼基配對或其他氫鍵合相互作用而相互形成鹼基對，從而在兩個多核苷酸之間產生雙股體。RNAi構建體的雙股體區應具有足夠的長度以允許RNAi構建體例如藉由接合Dicer酶和/或RISC複合物（描述在下面）進入RNA干擾途徑。例如，在一些實施方式中，雙股體區的長度為約15至約30個鹼基對。在該範圍內的雙股體區的其他長度亦為合適的，如約15至約28個鹼基對、約15至約26個鹼基對、約15至約24個鹼基對、約15至約22個鹼基對、約17至約28個鹼基對、約17至約26個鹼基對、約17至約24個鹼基對、約17至約23個鹼基對、約17至約21個鹼基對、約19至約25個鹼基對、約19至約23個鹼基對、或約19至約21個鹼基對。在一個實施方式中，雙股體區的長度為約17至約24個鹼基對。在另一個實施方式中，雙股體區的長度為約19至約21個鹼基對。例如，雙股體區的長度可以為約19個鹼基對。

【0028】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體含有約17至約24個核苷酸的雙股體區，該雙股體區與靶RNA序列（例如TTR靶mRNA序列）相互作用以指導靶RNA的切割。不希望受理論的束縛，引入細胞內的長雙股RNA可藉由稱為Dicer的III型內切核酸酶分解為siRNA（Sharp等人(2001) Genes Dev. [基因與發

育] 15:485)。Dicer為核糖核酸酶-III樣酶，其將dsRNA加工成具有特徵性的兩個鹼基3'突出端的19-23個鹼基對短干擾RNA (Bernstein等人, (2001) Nature [自然] 409:363)。然後將siRNA摻入RNA誘導緘默複合物 (RISC) 中，其中一或多種解旋酶解開siRNA雙股體，使得互補反義股能夠指導靶標識別 (Nykanen等人, (2001) Cell [細胞], 107: 309)。在與適當的靶mRNA結合後，RISC內的一或多種內切核酸酶切割靶標以誘導緘默 (Elbashir等人, (2001) Genes Dev. [基因與發育] 15: 188)。

【0029】 對於其中有義股和反義股為兩個單獨分子(例如siRNA RNAi構建體)的實施方式，有義股和反義股的長度不需要與雙股體區的長度相同。例如，一條或兩條股可能長於雙股體區，且具有側接該雙股體區的一或多個未配對核苷酸或錯配。因此，在一些實施方式中，RNAi構建體包含至少一個核苷酸突出端。如本文所用，「核苷酸突出端」係指延伸超過在股末端處的雙股體區的未配對的一或多個核苷酸。當一條股的3'端延伸超過另一條股的5'端或當一條股的5'端延伸超過另一條股的3'端時，典型地產生核苷酸突出端。核苷酸突出端的長度通常是在1與6個核苷酸之間、1與5個核苷酸之間、1與4個核苷酸之間、1與3個核苷酸之間、2與6個核苷酸之間、2與5個核苷酸之間、或2與4個核苷酸之間。在一些實施方式中，核苷酸突出端包含1、2、3、4、5或6個核苷酸。在一個特定實施方式中，核苷酸突出端包含1至4個核苷酸。在某些實施方式中，核苷酸突出端包含2個核苷酸。突出端中的核苷酸可為如本文所述之核糖核苷酸、去氧核糖核苷酸或經修飾的核苷酸。在一些實施方式中，突出端包含5'-尿苷尿苷-3' (5'-UU-3') 二核苷酸。在這樣的實施方式中，UU二核苷酸可包含核糖核苷酸或經修飾的核苷酸，例如經2'-修飾的核苷酸。在其他實施方式中，突出端包含5'-去氧胸苷-去氧胸苷-3' (5'-dTdT-3') 二核苷酸。

【0030】 核苷酸突出端可以在一條或兩條股的5'端或3'端處。例如，在一

個實施方式中，RNAi構建體在反義股的5'端和3'端處包含核苷酸突出端。在另一個實施方式中，RNAi構建體在有義股的5'端和3'端處包含核苷酸突出端。在一些實施方式中，RNAi構建體在有義股的5'端和反義股的5'端處包含核苷酸突出端。在其他實施方式中，RNAi構建體在有義股的3'端和反義股的3'端處包含核苷酸突出端。

【0031】 RNAi構建體可以在雙股RNA分子的一端處包含單個核苷酸突出端，且在另一個末端處包含鈍端。「鈍端」意指有義股與反義股在分子末端處完全鹼基配對，並且不存在延伸超過雙股體區的未配對核苷酸。在一些實施方式中，RNAi構建體在有義股3'端處包含核苷酸突出端，且在有義股5'端和反義股3'端處包含鈍端。在其他實施方式中，RNAi構建體在反義股3'端處包含核苷酸突出端，且在反義股5'端和有義股3'端處包含鈍端。在某些實施方式中，RNAi構建體在雙股RNA分子兩端處包含鈍端。在這樣的實施方式中，有義股和反義股具有相同長度，且雙股體區的長度與有義股和反義股相同（即，該分子在其整個長度上為雙股）。

【0032】 有義股和反義股可各自獨立地為任何合適的長度，如約15至約30個核苷酸長度、約18至約28個核苷酸長度、約19至約27個核苷酸長度、約19至約25個核苷酸長度、約19至約23個核苷酸長度、約21至約25個核苷酸長度、或約21至約23個核苷酸長度。在某些實施方式中，有義股和反義股的長度各自為約18、約19、約20、約21、約22、約23、約24、或約25個核苷酸。在一些實施方式中，有義股和反義股具有相同的長度，但形成短於該等股從而使得RNAi構建體具有兩個核苷酸突出端的雙股體區。例如，在一個實施方式中，RNAi構建體包含 (i) 長度各自為21個核苷酸的有義股和反義股、(ii) 長度為19個鹼基對的雙股體區、和 (iii) 在有義股3'端和反義股3'端兩者處有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。在另一個實施方式中，RNAi構建體包含 (i) 長度各自為23個核苷酸的有義股和反

義股、(ii) 長度為21個鹼基對的雙股體區、和 (iii) 在有義股3'端和反義股3'端處有2個未配對核苷酸的核苷酸突出端。在其他實施方式中，有義股和反義股具有相同長度且在其整個長度上形成雙股體區，使得在雙股分子的任一端上不存在核苷酸突出端。在一個這樣的實施方式中，RNAi構建體為鈍端的且包含 (i) 其長度各自為21個核苷酸的有義股和反義股和 (ii) 長度為21個鹼基對的雙股體區。在另一個實施方式中，RNAi構建體為鈍端的且包含 (i) 其長度各自為23個核苷酸的有義股和反義股和 (ii) 長度為23個鹼基對的雙股體區。

【0033】 在其他實施方式中，有義股或反義股長於另一條股，且兩條股形成長度等於較短股長度使得RNAi構建體包含至少一個核苷酸突出端的雙股體區。例如，在一個實施方式中，RNAi構建體包含 (i) 長度為19個核苷酸的有義股、(ii) 長度為21個核苷酸的反義股、(iii) 長度為19個鹼基對的雙股體區、和 (iv) 在反義股3'端處有2個未配對核苷酸的單個核苷酸突出端。在另一個實施方式中，RNAi構建體包含 (i) 長度為21個核苷酸的有義股、(ii) 長度為23個核苷酸的反義股、(iii) 長度為21個鹼基對的雙股體區、和 (iv) 在反義股3'端處有2個未配對核苷酸的單個核苷酸突出端。

【0034】 本發明之RNAi構建體的反義股可包含表1中列出的任一反義序列的序列或任何該等反義序列的核苷酸1-21的序列。表1中列出的每個反義序列包含19個連續核苷酸的序列（從5'端計數的前19個核苷酸），該序列與TTR mRNA序列加上兩個核苷酸突出端序列互補。因此，在一些實施方式中，反義股包含SEQ ID NO: 148-294中任一個的核苷酸1-21的序列。

經修飾的核苷酸

【0035】 本發明之RNAi構建體可包含一或多種經修飾的核苷酸。「經修飾的核苷酸」係指具有對核苷、核鹼基、戊糖環、或磷酸酯基團的一或多個化學修飾的核苷酸。如本文所用，經修飾的核苷酸不涵蓋含有腺苷一磷酸、鳥苷一磷酸、

尿苷一磷酸和胞苷一磷酸的核糖核苷酸，以及含有去氧腺苷一磷酸、去氧鳥苷一磷酸、去氧胸苷一磷酸和去氧胞苷一磷酸的去氧核糖核苷酸。然而，RNAi構建體可包含經修飾的核苷酸、核糖核苷酸和去氧核糖核苷酸的組合。將經修飾的核苷酸摻入雙股RNA分子的一條或兩條股中可以例如藉由降低分子對核酸酶和其他降解過程的敏感性來改善RNA分子的體內穩定性。還可藉由摻入經修飾的核苷酸來增強RNAi構建體降低靶基因表現的效力。

【0036】 在某些實施方式中，經修飾的核苷酸具有核糖的修飾。該等糖修飾可包括戊糖環的2'和/或5'位置處的修飾以及雙環糖修飾。經2'-修飾的核苷酸係指具有戊糖環的核苷酸，該戊糖環在2'位置處具有除H或OH以外的取代基。這樣的2'修飾包括但不限於2'-O-烷基（例如O-C1-C10或O-C1-C10取代的烷基）、2'-O-烯丙基（O-CH₂CH=CH²）、2'-C-烯丙基、2'-氟、2'-O-甲基（OCH₃）、2'-O-甲氧基乙基（O-(CH₂)₂OCH₃）、2'-OCF₃、2'-O(CH₂)₂SCH₃、2'-O-胺基烷基、2'-胺基（例如，NH₂）、2'-O-乙胺、和2'-疊氮基。在戊糖環的5'位置處的修飾包括但不限於5'-甲基（R或S）、5'-乙烯基和5'-甲氧基。

【0037】 「雙環糖修飾」係指戊糖環的修飾，其中橋將環的兩個原子連接而形成第二環從而產生雙環糖結構。在一些實施方式中，雙環糖修飾包含在戊糖環的4'與2'碳之間的橋。包含具有雙環糖修飾的糖部分的核苷酸在本文中稱為「雙環核酸」或「BNA」。示例性雙環糖修飾包括但不限於α-L-亞甲基氧基（4'-CH₂-O-2'）雙環核酸（BNA）；β-D-亞甲基氧基（4'-CH₂-O-2'）BNA（也稱為鎖核酸或LNA）；伸乙基氧基（4'-(CH₂)₂-O-2'）BNA；胺基氧基（4'-CH₂-O-N(R)-2'）BNA；氧基胺基（4'-CH₂-N(R)-O-2'）BNA；甲基(亞甲基氧基)（4'-CH(CH₃)-O-2'）BNA（也稱為受限乙基或cEt）；亞甲基-硫代（4'-CH₂-S-2'）BNA；亞甲基-胺基（4'-CH₂-N(R)-2'）BNA；甲基碳環（4'-CH₂-CH(CH₃)-2'）BNA；丙烯碳環（4'-(CH₂)₃-2'）BNA；和甲氧基(伸乙基氧基)（4'-CH(CH₂OMe)-O-2'）BNA

(也稱為受限MOE或cMOE)。可以摻入本發明之RNAi構建體中的該等和其他經糖修飾的核苷酸描述於例如美國專利9,181,551、美國專利公開案號2016/0122761以及Deleavey和Damha, *Chemistry and Biology* [化學和生物學], 19: 937-954 (2012)。

【0038】 在一些實施方式中，RNAi構建體包含一或多個經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-O-烯丙基修飾的核苷酸、雙環核酸（BNA）、或其組合。在某些實施方式中，RNAi構建體包含一或多個經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、或其組合。在一個特定實施方式中，RNAi構建體包含一或多個經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、或其組合。

【0039】 RNAi構建體的有義股和反義股均可包含一或多個經修飾的核苷酸。例如，在一些實施方式中，有義股包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個經修飾的核苷酸。在某些實施方式中，有義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在一些實施方式中，反義股包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10或更多個經修飾的核苷酸。在其他實施方式中，反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在某些其他實施方式中，有義股中的所有核苷酸和反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在該等和其他實施方式中，經修飾的核苷酸可為經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、或其組合。

【0040】 在一些實施方式中，有義股和/或反義股中的腺苷核苷酸之前的所有嘧啶核苷酸均為經修飾的核苷酸。例如，當序列5'-CA-3'或5'-UA-3'出現在任一股中時，胞苷和尿苷核苷酸為經修飾的核苷酸，較佳的是經2'-O-甲基修飾的核苷酸。在某些實施方式中，有義股中的所有嘧啶核苷酸均為經修飾的核苷酸（例如經2'-O-甲基修飾的核苷酸），且在反義股中的序列5'-CA-3'或5'-UA-3'的所有出現中的5'核苷酸為經修飾的核苷酸（例如經2'-O-甲基修飾的核苷酸）。在

其他實施方式中，雙股體區中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。在這樣的實施方式中，經修飾的核苷酸較佳的是經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、或其組合。

【0041】 在RNAi構建體包含核苷酸突出端的實施方式中，突出端中的核苷酸可為核糖核苷酸、去氧核糖核苷酸或經修飾的核苷酸。在一個實施方式中，突出端中的核苷酸為去氧核糖核苷酸，例如去氧胸苷。在另一個實施方式中，突出端中的核苷酸為經修飾的核苷酸。例如，在一些實施方式中，突出端中的核苷酸為經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-甲氧基乙基修飾的核苷酸、或其組合。

【0042】 本揭露的RNAi構建體還可以包含一或多個經修飾的核苷酸間鍵。如本文所用，術語「經修飾的核苷酸間鍵」係指除天然3'至5'磷酸二酯鍵外的核苷酸間鍵。在一些實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵為含磷核苷酸間鍵，如磷酸三酯、胺基烷基磷酸三酯、烷基磷酸酯（例如，磷酸甲酯、3'-仲烷基磷酸酯）、次磷酸酯、胺基磷酸酯（例如，3'-胺基胺基磷酸酯和胺基烷基胺基磷酸酯）、硫代磷酸酯（P=S）、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、硫代胺基磷酸酯、硫代烷基磷酸酯、硫代烷基磷酸三酯、和硼烷磷酸酯。在一個實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵為2'至5'磷酸二酯鍵。在其他實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵為不含磷核苷酸間鍵，且因此可稱為經修飾的核苷酸間鍵。這樣的不含磷的鍵包括但不限於咪啉鍵（部分由核苷的糖部分形成）；矽氧烷鍵（-O-Si(H)₂-O-）；硫化物、亞碲和碲鍵；甲醯基和硫代甲醯基鍵；含烯的主鍵；胺基磺酸酯主鍵；亞甲基甲亞胺基（-CH₂-N(CH₃)-O-CH₂-）和亞甲基胍鍵；磺酸酯和磺醯胺鍵；醯胺鍵；以及具有混合的N、O、S和CH₂組分部分的其他鍵。在一個實施方式中，經修飾的核苷酸間鍵為產生肽核酸或PNA的基於肽的鍵（例如胺基乙基甘胺酸），如美國專利5,539,082、5,714,331和5,719,262中所述的那些。可以在所揭露的RNAi構建

體中使用的其他合適的經修飾的核苷酸間和核苷間鍵描述於美國專利6,693,187和9,181,551、美國專利公開案號2016/0122761以及Deleavey和Damha, 同上中。

【0043】 在某些實施方式中，RNAi構建體包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。硫代磷酸酯核苷酸間鍵可以存在於RNAi構建體的有義股、反義股或兩條股中。例如，在一些實施方式中，有義股包含1、2、3、4、5、6、7、8或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在其他實施方式中，反義股包含1、2、3、4、5、6、7、8或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在仍其他實施方式中，兩條股包含1、2、3、4、5、6、7、8或更多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。RNAi構建體可以在有義股、反義股或兩條股的3'-端、5'-端、或3'-端和5'-端兩者處包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。例如，在某些實施方式中，RNAi構建體在有義股、反義股、或兩條股的3'端處包含約1至約6或更多個（例如約1、2、3、4、5、6或更多個）連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在其他實施方式中，RNAi構建體在有義股、反義股或兩條股的5'端處包含約1至約6或更多個（例如約1、2、3、4、5、6或更多個）連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在一個實施方式中，RNAi構建體包含在有義股3'端處的單個硫代磷酸酯核苷酸間鍵和在反義股3'端處的單個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在另一個實施方式中，RNAi構建體在反義股3'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵（即在反義股3'端處的第一和第二核苷酸間鍵處的硫代磷酸酯核苷酸間鍵）。在另一個實施方式中，RNAi構建體在反義股的3'端和5'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在又另一個實施方式中，RNAi構建體在反義股的3'端和5'端兩者處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在有義股5'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。在仍另一個實施方式中，RNAi構建體在反義股3'端和5'端兩者處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在有義股3'端和5'端兩者處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵（即，在反義股5'端和3'端兩者的第一和第二核苷酸間鍵處的硫代磷酸酯核苷酸間鍵和在有義股5'端和3'端兩者處第

一和第二核苷酸間鍵處的硫代磷酸酯核苷酸間鍵)。在一條或兩條股包含一或多個硫代磷酸酯核苷酸間鍵的任何實施方式中，股內剩餘核苷酸間鍵可為天然3'至5'磷酸二酯鍵。例如，在一些實施方式中，有義股和反義股中的每個核苷酸間鍵選自磷酸二酯和硫代磷酸酯，其中至少一個核苷酸間鍵為硫代磷酸酯。

【0044】 在RNAi構建體包含核苷酸突出端的實施方式中，突出端中的兩個或更多個未配對核苷酸可藉由硫代磷酸酯核苷酸間鍵來連接。在某些實施方式中，反義股和/或有義股的3'端處的核苷酸突出端中的所有未配對核苷酸藉由硫代磷酸酯核苷酸間鍵來連接。在其他實施方式中，反義股和/或有義股的5'端處的核苷酸突出端中的所有未配對核苷酸藉由硫代磷酸酯核苷酸間鍵來連接。在仍其他實施方式中，任何核苷酸突出端中的所有未配對核苷酸藉由硫代磷酸酯核苷酸間鍵來連接。

【0045】 在某些實施方式中，摻入本發明之RNAi構建體的一條或兩條股中的經修飾的核苷酸具有核鹼基（在本文中也稱為「鹼基」）的修飾。「經修飾的核鹼基」或「經修飾的鹼基」係指除天然存在的嘌呤鹼基腺嘌呤（A）和鳥嘌呤（G）以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶（T）、胞嘧啶（C）和尿嘧啶（U）以外的鹼基。經修飾的核鹼基可為合成的或天然存在的修飾，包括但不限於通用鹼基、5-甲基胞嘧啶（5-me-C）、5-羥甲基胞嘧啶、黃嘌呤（X）、次黃嘌呤（I）、2-氨基腺嘌呤、6-甲基腺嘌呤、6-甲基鳥嘌呤、和腺嘌呤和鳥嘌呤的其他烷基衍生物、腺嘌呤和鳥嘌呤的2-丙基和其他烷基衍生物、2-硫尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶和2-硫胞嘧啶、5-鹵代尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶（假尿嘧啶）、4-硫尿嘧啶、8-鹵素、8-氨基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羥基和其他8-取代腺嘌呤和鳥嘌呤、5-鹵素，特別是5-溴、5-三氟甲基和其他5-取代尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鳥嘌呤和7-甲基腺嘌呤、8-氮雜鳥嘌呤和8-氮雜腺嘌呤、7-脫氮鳥嘌呤和7-脫氮腺嘌呤、和3-脫氮鳥嘌呤和3-脫氮腺

嘌呤。

【0046】 在一些實施方式中，經修飾的鹼基為通用鹼基。「通用鹼基」係指在不改變所得到的雙股體區的雙螺旋結構的情況下，與RNA和DNA中的全部天然鹼基不加選擇地形成鹼基對的鹼基類似物。通用鹼基對於熟悉該項技術者而言係已知的，並且包括但不限於肌苷、C-苯基、C-萘基和其他芳香族衍生物、唑醯胺類、和硝基唑衍生物（如3-硝基吡咯、4-硝基吡咯、5-硝基吡咯和6-硝基吡咯）。

【0047】 可以摻入本發明之RNAi構建體中的其他合適的經修飾鹼基包括在例如Herdewijn, *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.* [反義核酸藥物開發], 10: 297-310 (2000)和Peacock等人, *J. Org. Chem.* [有機化學雜誌], 76: 7295-7300 (2011)中所述的那些。熟悉該項技術者充分瞭解鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶可被其他核鹼基（如上述經修飾的核鹼基）替代，而基本上不改變包含攜帶這樣的替代核鹼基的核苷酸的多核苷酸的鹼基配對特性。

【0048】 在一些實施方式中，所揭露的RNAi構建體的有義股、反義股、或者反義股和有義股兩者的5'端包含磷酸酯部分。如本文所用，術語「磷酸酯部分」係指包括未經修飾的磷酸酯(-O-P=O)(OH)OH)以及經修飾的磷酸酯的末端磷酸酯基團。經修飾的磷酸酯包括如下的磷酸酯，其中O和OH基團中的一或多個被H、O、S、N(R)或烷基所替代，其中R係H、胺基保護基團或者未經取代或經取代的烷基。示例性磷酸酯部分包括但不限於5'-單磷酸酯；5'-二磷酸酯；5'-三磷酸酯；5'-鳥苷帽（7-甲基化的或非甲基化的）；5'-腺苷帽或任何其他經修飾或未經修飾的核苷酸帽結構；5'-單硫代磷酸酯（硫代磷酸酯）；5'-單二硫代磷酸酯（二硫代磷酸酯）；5'- α -硫代三磷酸酯；5'- γ -硫代三磷酸酯、5'-胺基磷酸酯；5'-乙炔基磷酸酯；5'-烷基磷酸酯（其中「烷基」可以為甲基、乙基、異丙基、丙基等）；和5'-烷基醚磷酸酯（其中「烷基醚」可以為甲氧基甲基、乙氧基甲基等）。

【0049】可摻入本發明之RNAi構建體中的經修飾的核苷酸可具有本文所述之多於一種化學修飾。例如，經修飾的核苷酸可以具有對核糖的修飾以及對核鹼基的修飾。舉例而言，經修飾的核苷酸可包含2'糖修飾（例如2'-氟基或2'-甲基）且包含經修飾的鹼基（例如5-甲基胞嘧啶或假尿嘧啶）。在其他實施方式中，經修飾的核苷酸可以包含糖修飾與對5'磷酸的修飾的組合，當將經修飾的核苷酸摻入多核苷酸時，該等修飾將產生經修飾的核苷酸間或核苷間鍵。例如，在一些實施方式中，經修飾的核苷酸可包含糖修飾，如2'-氟修飾、2'-O-甲基修飾、或雙環糖修飾、以及5'硫代磷酸酯基團。因此，在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體的一條或兩條股包含經2'修飾的核苷酸或BNA與硫代磷酸酯核苷酸間鍵的組合。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體的有義股和反義股均包含經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸和硫代磷酸酯核苷酸間鍵的組合。包含經修飾的核苷酸和核苷酸間鍵的示例性RNAi構建體顯示在表1中（RNAi構建體係包含以下的序列的雙股體中的任一種：SEQ ID NO: 1和2；3和4；5和6；7和8；9和10；11和12；13和14；15和16；17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；29和30；31和32；33和34；35和36；37和38；39和40；41和42；43和44；45和46；47和48；49和50；51和52；53和54；55和56；57和58；59和60；61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；75和76；77和78；79和80；81和82；83和84；85和86；87和88；89和90；91和92；93和94；95和96；97和98；99和100；101和102；103和104；105和106；107和108；109和110；111和112；113和114；115和116；117和118；119和120；121和122；123和124；125和126；127和128；129和130；131和132；133和134；135和136；137和138；139和140；141和142；143和144；145和146；147和148；149和150；151和152；153和154；155和156；157和158；159和160；161和162；163和164；165和166；167和168；169和170；171和172；173和174；175和176；177和178；179和180；181

和182；183和184；185和186；187和188；189和190；191和192；193和194；195
和196；197和198；199和200；201和202；203和204；205和206；207和208；209
和210；211和212；213和214；215和216；217和218；219和220；221和222；223
和224；225和226；227和228；229和230；231和232；233和234；235和236；237
和238；239和240；241和242；243和244；245和246；247和248；249和250；251
和252；253和254；255和256；257和258；259和260；261和262；263和264；265
和266；267和268；269和270；271和272；273和274；275和276；277和278；279
和280；281和282；283和284；285和286；287和288；289和290；291和292；293
和294；295和296；297和298；299和300；301和302；303和304；305和306；307
和308；309和310；311和312；313和314；315和316；317和318；319和320；321
和322；323和324；325和326；327和328；329和330；331和332；333和334；335
和336；337和338；339和340；341和342；343和344；345和346；347和348；349
和350；351和352；353和354；355和356；357和358；359和360；361和362；363
和364；365和366；367和368；369和370；371和372；373和374；375和376；377
和378；379和380；381和382；383和384；385和386；387和388；389和390；391
和392；393和394；395和396；397和398；399和400；401和402；403和404；405
和406；407和408；409和410；411和412；413和414；415和416；417和418；419
和420；421和422；423和424；425和426；427和428；429和430；431和432；433
和434；435和436；437和438；439和440；441和442；443和444；445和446；447
和448；449和450；451和452；453和454；455和456；457和458；459和460；461
和462；463和464；465和466；467和468；469和470；471和472；473和474；475
和476；477和478；479和480；481和482；483和484；485和486；487和488；489
和490；491和492；493和494；495和496；497和498；499和500；501和502；503
和504；505和506；507和508；509和510；511和512；513和514；515和516；517

和518；519和520；521和522；523和524；525和526；527和528；529和530；531和532；533和534；535和536；537和538；539和540；541和542；543和544；545和546；547和548；549和550；551和552；553和554；555和556；557和558；559和560；561和562；563和564；或565和566）和表2（RNAi構建體係包含以下的序列的雙股體中的任一種：SEQ ID NO: 567和568；569和570；571和572；573和574；575和576；577和578；579和580；581和582；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；595和596；597和598；599和600；601和602；603和604；605和606；607和608；609和610；611和612；613和614；615和616；617和618；619和620；621和622；623和624；625和626；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；641和642；643和644；645和646；647和648；649和650；651和652；653和654；655和656；657和658；659和660；661和662；663和664；665和666；667和668；669和670；671和672；673和674；675和676；677和678；679和680；681和682；683和684；685和686；687和688；689和690；691和692；693和694；695和696；697和698；699和700；701和702；703和704；705和706；707和708；709和710；711和712；713和714；715和716；717和718；719和720；721和722；723和724；725和726；727和728；729和730；731和732；733和734；735和736；737和738；739和740；741和742；743和744；745和746；747和748；749和750；751和752；753和754；755和756；757和758；759和760；761和762；763和764；765和766；767和768；769和770；771和772；773和774；775和776；777和778；779和780；781和782；783和784；785和786；787和788；789和790；791和792；793和794；795和796；797和798；799和800；801和802；803和804；805和806；807和808；809和810；811和812；813和814；815和816；817和818；819和820；821和822；823和824；825和826；827和828；829和830；831和832；833和834；835和836；837和838；839和

840 ; 841和842 ; 843和844 ; 845和846 ; 847和848 ; 849和850 ; 851和852 ; 853和
854 ; 855和856 ; 857和858 ; 859和860 ; 861和862 ; 863和864 ; 865和866 ; 867和
868 ; 869和870 ; 871和872 ; 873和874 ; 875和876 ; 877和878 ; 879和880 ; 881和
882 ; 883和884 ; 885和886 ; 887和888 ; 889和890 ; 891和892 ; 893和894 ; 895和
896 ; 897和898 ; 899和900 ; 901和902 ; 903和904 ; 905和906 ; 907和908 ; 909和
910 ; 911和912 ; 913和914 ; 915和916 ; 917和918 ; 919和920 ; 921和922 ; 923和
924 ; 925和926 ; 927和928 ; 929和930 ; 931和932 ; 933和934 ; 935和936 ; 937和
938 ; 939和940 ; 941和942 ; 943和944 ; 945和946 ; 947和948 ; 949和950 ; 951和
952 ; 953和954 ; 955和956 ; 957和958 ; 959和960 ; 961和962 ; 963和964 ; 965和
966 ; 967和968 ; 969和970 ; 971和972 ; 973和974 ; 975和976 ; 977和978 ; 979和
980 ; 981和982 ; 983和984 ; 985和986 ; 987和988 ; 989和990 ; 991和992 ; 993和
994 ; 995和996 ; 997和998 ; 999和1000 ; 1001和1002 ; 1003和1004 ; 1005和1006 ;
1007和1008 ; 1009和1010 ; 1011和1012 ; 1013和1014 ; 1015和1016 ; 1017和1018 ;
1019和1020 ; 1021和1022 ; 1023和1024 ; 1025和1026 ; 1027和1028 ; 1029和1030 ;
1031和1032 ; 1033和1034 ; 1035和1036 ; 1037和1038 ; 1039和1040 ; 1041和1042 ;
1043和1044 ; 1045和1046 ; 1047和1048 ; 1049和1050 ; 1051和1052 ; 1053和1054 ;
1055和1056 ; 1057和1058 ; 1059和1060 ; 1061和1062 ; 1063和1064 ; 1065和1066 ;
1067和1068 ; 1069和1070 ; 1071和1072 ; 1073和1074 ; 1075和1076 ; 1077和1078 ;
1079和1080 ; 1081和1082 ; 1083和1084 ; 1085和1086 ; 1087和1088 ; 1089和1090 ;
1091和1092 ; 1093和1094 ; 1095和1096 ; 1097和1098 ; 1099和1100 ; 1101和1102 ;
1103和1104 ; 1105和1106 ; 1107和1108 ; 1109和1110 ; 1111和1112 ; 1113和1114 ;
1115和1116 ; 1117和1118 ; 1119和1120 ; 1121和1122 ; 1123和1124 ; 1125和1126 ;
1127和1128 ; 1129和1130 ; 1131和1132 ; 1133和1134 ; 1135和1136 ; 1137和1138 ;
1139和1140 ; 1141和1142 ; 1143和1144 ; 1145和1146 ; 1147和1148 ; 1149和1150 ;

1151和1152 ; 1153和1154 ; 1155和1156 ; 1157和1158 ; 1159和1160 ; 1161和1162 ;
1163和1164 ; 1165和1166 ; 1167和1168 ; 1169和1170 ; 1171和1172 ; 1173和1174 ;
1175和1176 ; 1177和1178 ; 1179和1180 ; 1181和1182 ; 1183和1184 ; 1185和1186 ;
1187和1188 ; 1189和1190 ; 1191和1192 ; 1193和1194 ; 1195和1196 ; 1197和1198 ;
1199和1200 ; 1201和1202 ; 1203和1204 ; 1205和1206 ; 1207和1208 ; 1209和1210 ;
1211和1212 ; 1213和1214 ; 1215和1216 ; 1217和1218 ; 1219和1220 ; 1221和1222 ;
1223和1224 ; 1225和1226 ; 1227和1228 ; 1229和1230 ; 1231和1232 ; 1233和1234 ;
1235和1236 ; 1237和1238 ; 1239和1240 ; 1241和1242 ; 1243和1244 ; 1245和1246 ;
1247和1248 ; 1249和1250 ; 1251和1252 ; 1253和1254 ; 1255和1256 ; 1257和1258 ;
1259和1260 ; 1261和1262 ; 1263和1264 ; 1265和1266 ; 1267和1268 ; 1269和1270 ;
1271和1272 ; 1273和1274 ; 1275和1276 ; 1277和1278 ; 1279和1280 ; 1281和1282 ;
1283和1284 ; 1285和1286 ; 1287和1288 ; 1289和1290 ; 1291和1292 ; 1293和1294 ;
1295和1296 ; 1297和1298 ; 1299和1300 ; 1301和1302 ; 1303和1304 ; 1305和1306 ;
1307和1308 ; 1309和1310 ; 1311和1312 ; 1313和1314 ; 1315和1316 ; 1317和1318 ;
1319和1320 ; 1321和1322 ; 1323和1324 ; 1325和1326 ; 1327和1328 ; 1329和1330 ;
1331和1332 ; 1333和1334 ; 1335和1336 ; 1337和1338 ; 1339和1340 ; 1341和1342 ;
1343和1344 ; 1345和1346 ; 1347和1348 ; 1349和1350 ; 1351和1352 ; 1353和1354 ;
1355和1356 ; 1357和1358 ; 1359和1360 ; 1361和1362 ; 1363和1364 ; 1365和1366 ;
1367和1368 ; 1369和1370 ; 1371和1372 ; 1373和1374 ; 1375和1376 ; 1377和1378 ;
1379和1380 ; 1381和1382 ; 1383和1384 ; 1385和1386 ; 1387和1388 ; 1389和1390 ;
1391和1392 ; 1393和1394 ; 1395和1396 ; 1397和1398 ; 1399和1400 ; 1401和1402 ;
1403和1404 ; 1405和1406 ; 1407和1408 ; 1409和1410 ; 1411和1412 ; 1413和1414 ;
1415和1416 ; 1417和1418 ; 1419和1420 ; 1421和1422 ; 1423和1424 ; 1425和1426 ;
1427和1428 ; 1429和1430 ; 1431和1432 ; 1433和1434 ; 1435和1436 ; 1437和1438 ;

1439和1440；1441和1442；1443和1444；1445和1446；1447和1448；1449和1450；
1451和1452；1453和1454；1455和1456；1457和1458；1459和1460；1461和1462；
1463和1464；1465和1466；1467和1468；1469和1470；1471和1472；1473和1474；
1475和1476；1477和1478；1479和1480；1481和1482；1483和1484；1485和1486；
1487和1488；1489和1490；1491和1492；1493和1494；1495和1496；1497和1498；
1499和1500；1501和1502；1503和1504；1505和1506；1507和1508；1509和1510；
1511和1512；1513和1514；1515和1516；1517和1518；1519和1520；1521和1522；
1523和1524；1525和1526；1527和1528；1529和1530；1531和1532；1533和1534；
1535和1536；1537和1538；1539和1540；1541和1542；1543和1544；1545和1546；
1547和1548；1549和1550；1551和1552；1553和1554；1555和1556；1557和1558；
1559和1560；1561和1562；1563和1564；1565和1566；1567和1568；1569和1570；
1571和1572；1573和1574；1575和1576；1577和1578；1579和1580；1581和1582；
1583和1584；1585和1586；1587和1588；1589和1590；1591和1592；1593和1594；
1595和1596；1597和1598；1599和1600；1601和1602；1603和1604；1605和1606；
1607和1608；1609和1610；1611和1612；1613和1614；1615和1616；或1617和
1618）。

【0050】不受理論的束縛，每個反義股的轉錄物結合起始位置如下（SEQ ID NO:後跟轉錄物起始位置）：2，187；4，188；6，189；8，190；10，191；
12，192；14，193；16，194；18，195；20，196；22，197；24，198；26，199；
28，201；30，202；32，203；34，204；36，205；38，207；40，231；42，232；
44，233；46，234；48，235；50，236；52，237；54，238；56，239；58，275；
60，276；62，277；64，278；66，279；68，280；70，281；72，282；74，283；
76，285；78，286；80，287；82，288；84，289；86，290；88，291；90，292；
92，293；94，383；96，384；98，385；100，386；102，387；104，388；106，

389 ; 108 , 392 ; 110 , 393 ; 112 , 394 ; 114 , 395 ; 116 , 396 ; 118 , 397 ; 120 ,
398 ; 122 , 399 ; 124 , 400 ; 126 , 401 ; 128 , 406 ; 130 , 407 ; 132 , 408 ; 134 ,
410 ; 136 , 411 ; 138 , 412 ; 140 , 414 ; 142 , 415 ; 144 , 416 ; 146 , 417 ; 148 ,
418 ; 150 , 419 ; 152 , 420 ; 154 , 421 ; 156 , 422 ; 158 , 423 ; 160 , 427 ; 162 ,
428 ; 164 , 429 ; 166 , 431 ; 168 , 432 ; 170 , 433 ; 172 , 434 ; 174 , 435 ; 176 ,
436 ; 178 , 437 ; 180 , 438 ; 182 , 439 ; 184 , 440 ; 186 , 441 ; 188 , 443 ; 190 ,
444 ; 192 , 445 ; 194 , 445 ; 196 , 446 ; 198 , 447 ; 200 , 448 ; 202 , 449 ; 204 ,
449 ; 206 , 450 ; 208 , 451 ; 210 , 452 ; 212 , 453 ; 214 , 453 ; 216 , 454 ; 218 ,
455 ; 220 , 456 ; 222 , 457 ; 224 , 458 ; 226 , 459 ; 228 , 460 ; 230 , 461 ; 232 ,
461 ; 234 , 462 ; 236 , 463 ; 238 , 464 ; 240 , 466 ; 242 , 466 ; 244 , 467 ; 246 ,
468 ; 248 , 469 ; 250 , 470 ; 252 , 470 ; 254 , 471 ; 256 , 472 ; 258 , 473 ; 260 ,
474 ; 262 , 474 ; 264 , 475 ; 266 , 476 ; 268 , 499 ; 270 , 500 ; 272 , 500 ; 274 ,
501 ; 276 , 502 ; 278 , 503 ; 280 , 504 ; 282 , 504 ; 284 , 505 ; 286 , 506 ; 288 ,
507 ; 290 , 508 ; 292 , 508 ; 294 , 509 ; 296 , 510 ; 298 , 511 ; 300 , 513 ; 302 ,
513 ; 304 , 514 ; 306 , 515 ; 308 , 516 ; 310 , 517 ; 312 , 518 ; 314 , 519 ; 316 ,
520 ; 318 , 521 ; 320 , 522 ; 322 , 523 ; 324 , 524 ; 326 , 525 ; 328 , 526 ; 330 ,
530 ; 332 , 531 ; 334 , 532 ; 336 , 533 ; 338 , 579 ; 340 , 580 ; 342 , 581 ; 344 ,
582 ; 346 , 583 ; 348 , 584 ; 350 , 585 ; 352 , 586 ; 354 , 587 ; 356 , 588 ; 358 ,
589 ; 360 , 590 ; 362 , 591 ; 364 , 592 ; 366 , 593 ; 368 , 594 ; 370 , 595 ; 372 ,
596 ; 374 , 597 ; 376 , 598 ; 378 , 599 ; 380 , 600 ; 382 , 601 ; 384 , 602 ; 386 ,
603 ; 388 , 604 ; 390 , 605 ; 392 , 606 ; 394 , 607 ; 396 , 608 ; 398 , 609 ; 400 ,
610 ; 402 , 611 ; 404 , 612 ; 406 , 613 ; 408 , 614 ; 410 , 615 ; 412 , 617 ; 414 ,
618 ; 416 , 619 ; 418 , 620 ; 420 , 623 ; 422 , 624 ; 424 , 625 ; 426 , 626 ; 428 ,
627 ; 430 , 628 ; 432 , 629 ; 434 , 630 ; 436 , 631 ; 438 , 632 ; 440 , 663 ; 442 ,

664 ; 444 , 665 ; 446 , 666 ; 448 , 667 ; 450 , 668 ; 452 , 669 ; 454 , 670 ; 456 ,
671 ; 458 , 672 ; 460 , 673 ; 462 , 674 ; 464 , 675 ; 466 , 676 ; 468 , 677 ; 470 ,
678 ; 472 , 679 ; 474 , 680 ; 476 , 681 ; 478 , 682 ; 480 , 683 ; 482 , 684 ; 484 ,
685 ; 486 , 686 ; 488 , 687 ; 490 , 688 ; 492 , 689 ; 494 , 690 ; 496 , 691 ; 498 ,
692 ; 500 , 693 ; 502 , 694 ; 504 , 695 ; 506 , 696 ; 508 , 697 ; 510 , 698 ; 512 ,
703 ; 514 , 705 ; 516 , 706 ; 518 , 707 ; 520 , 708 ; 522 , 710 ; 524 , 711 ; 526 ,
712 ; 528 , 713 ; 530 , 714 ; 532 , 715 ; 534 , 716 ; 536 , 749 ; 538 , 750 ; 540 ,
751 ; 542 , 752 ; 544 , 753 ; 546 , 754 ; 548 , 755 ; 550 , 760 ; 552 , 761 ; 554 ,
762 ; 556 , 763 ; 558 , 764 ; 560 , 765 ; 562 , 766 ; 564 , 767 ; 566 , 768 ; 568 ,
187 ; 570 , 188 ; 572 , 189 ; 574 , 190 ; 576 , 191 ; 578 , 192 ; 580 , 193 ; 582 ,
194 ; 584 , 195 ; 586 , 196 ; 588 , 197 ; 590 , 198 ; 592 , 199 ; 594 , 201 ; 596 ,
202 ; 598 , 203 ; 600 , 204 ; 602 , 205 ; 604 , 207 ; 606 , 231 ; 608 , 232 ; 610 ,
233 ; 612 , 234 ; 614 , 235 ; 616 , 236 ; 618 , 237 ; 620 , 238 ; 622 , 239 ; 624 ,
275 ; 626 , 276 ; 628 , 277 ; 630 , 278 ; 632 , 279 ; 634 , 280 ; 636 , 281 ; 638 ,
282 ; 640 , 283 ; 642 , 285 ; 644 , 286 ; 646 , 287 ; 648 , 288 ; 650 , 289 ; 652 ,
290 ; 654 , 291 ; 656 , 292 ; 658 , 293 ; 660 , 383 ; 662 , 384 ; 664 , 385 ; 666 ,
386 ; 668 , 387 ; 670 , 388 ; 672 , 389 ; 674 , 392 ; 676 , 393 ; 678 , 394 ; 680 ,
395 ; 682 , 396 ; 684 , 397 ; 686 , 398 ; 688 , 399 ; 690 , 400 ; 692 , 401 ; 694 ,
406 ; 696 , 407 ; 698 , 408 ; 700 , 410 ; 702 , 411 ; 704 , 412 ; 706 , 414 ; 708 ,
415 ; 710 , 416 ; 712 , 417 ; 714 , 418 ; 716 , 419 ; 718 , 420 ; 720 , 421 ; 722 ,
422 ; 724 , 423 ; 726 , 427 ; 728 , 428 ; 730 , 429 ; 732 , 431 ; 734 , 432 ; 736 ,
433 ; 738 , 434 ; 740 , 435 ; 742 , 436 ; 744 , 437 ; 746 , 438 ; 748 , 439 ; 750 ,
440 ; 752 , 441 ; 754 , 443 ; 756 , 444 ; 758 , 445 ; 760 , 445 ; 762 , 446 ; 764 ,
447 ; 766 , 448 ; 768 , 449 ; 770 , 449 ; 772 , 450 ; 774 , 451 ; 776 , 452 ; 778 ,

453 ; 780 , 453 ; 782 , 454 ; 784 , 455 ; 786 , 456 ; 788 , 457 ; 790 , 458 ; 792 ,
459 ; 794 , 460 ; 796 , 461 ; 798 , 461 ; 800 , 462 ; 802 , 463 ; 804 , 464 ; 806 ,
466 ; 808 , 466 ; 810 , 467 ; 812 , 468 ; 814 , 469 ; 816 , 470 ; 818 , 470 ; 820 ,
471 ; 822 , 472 ; 824 , 473 ; 826 , 474 ; 828 , 474 ; 830 , 475 ; 832 , 476 ; 834 ,
499 ; 836 , 500 ; 838 , 500 ; 840 , 501 ; 842 , 502 ; 844 , 503 ; 846 , 504 ; 848 ,
504 ; 850 , 505 ; 852 , 506 ; 854 , 507 ; 856 , 508 ; 858 , 508 ; 860 , 509 ; 862 ,
510 ; 864 , 511 ; 866 , 513 ; 868 , 513 ; 870 , 514 ; 872 , 515 ; 874 , 516 ; 876 ,
517 ; 878 , 518 ; 880 , 519 ; 882 , 520 ; 884 , 521 ; 886 , 522 ; 888 , 523 ; 890 ,
524 ; 892 , 525 ; 894 , 526 ; 896 , 530 ; 898 , 531 ; 900 , 532 ; 902 , 533 ; 904 ,
579 ; 906 , 580 ; 908 , 581 ; 910 , 582 ; 912 , 583 ; 914 , 584 ; 916 , 585 ; 918 ,
586 ; 920 , 587 ; 922 , 588 ; 924 , 589 ; 926 , 590 ; 928 , 591 ; 930 , 592 ; 932 ,
593 ; 934 , 594 ; 936 , 595 ; 938 , 596 ; 940 , 597 ; 942 , 598 ; 944 , 599 ; 946 ,
600 ; 948 , 601 ; 950 , 602 ; 952 , 603 ; 954 , 604 ; 956 , 605 ; 958 , 606 ; 960 ,
607 ; 962 , 608 ; 964 , 609 ; 966 , 610 ; 968 , 611 ; 970 , 612 ; 972 , 613 ; 974 ,
614 ; 976 , 615 ; 978 , 617 ; 980 , 618 ; 982 , 619 ; 984 , 620 ; 986 , 623 ; 988 ,
624 ; 990 , 625 ; 992 , 626 ; 994 , 627 ; 996 , 628 ; 998 , 629 ; 1000 , 630 ; 1002 ,
631 ; 1004 , 632 ; 1006 , 663 ; 1008 , 664 ; 1010 , 665 ; 1012 , 666 ; 1014 , 667 ;
1016 , 668 ; 1018 , 669 ; 1020 , 670 ; 1022 , 671 ; 1024 , 672 ; 1026 , 673 ; 1028 ,
674 ; 1030 , 675 ; 1032 , 676 ; 1034 , 677 ; 1036 , 678 ; 1038 , 679 ; 1040 , 680 ;
1042 , 681 ; 1044 , 682 ; 1046 , 683 ; 1048 , 684 ; 1050 , 685 ; 1052 , 686 ; 1054 ,
687 ; 1056 , 688 ; 1058 , 689 ; 1060 , 690 ; 1062 , 691 ; 1064 , 692 ; 1066 , 693 ;
1068 , 694 ; 1070 , 695 ; 1072 , 696 ; 1074 , 697 ; 1076 , 698 ; 1078 , 703 ; 1080 ,
705 ; 1082 , 706 ; 1084 , 707 ; 1086 , 708 ; 1088 , 710 ; 1090 , 711 ; 1092 , 712 ;
1094 , 713 ; 1096 , 714 ; 1098 , 715 ; 1100 , 716 ; 1102 , 749 ; 1104 , 750 ; 1106 ,

751 ; 1108 , 752 ; 1110 , 753 ; 1112 , 754 ; 1114 , 755 ; 1116 , 760 ; 1118 , 761 ;
1120 , 762 ; 1122 , 763 ; 1124 , 764 ; 1126 , 765 ; 1128 , 766 ; 1130 , 767 ; 1132 ,
768 ; 1133 , 188 ; 1135 , 188 ; 1137 , 188 ; 1139 , 188 ; 1141 , 189 ; 1143 , 191 ;
1145 , 193 ; 1147 , 194 ; 1149 , 194 ; 1151 , 195 ; 1153 , 197 ; 1155 , 198 ; 1157 ,
198 ; 1159 , 198 ; 1161 , 198 ; 1163 , 198 ; 1165 , 198 ; 1167 , 198 ; 1169 , 198 ;
1171 , 198 ; 1173 , 198 ; 1175 , 198 ; 1177 , 198 ; 1179 , 198 ; 1181 , 198 ; 1183 ,
198 ; 1185 , 198 ; 1187 , 198 ; 1189 , 198 ; 1191 , 198 ; 1193 , 198 ; 1195 , 198 ;
1197 , 198 ; 1199 , 198 ; 1201 , 198 ; 1203 , 198 ; 1205 , 198 ; 1207 , 198 ; 1209 ,
198 ; 1211 , 201 ; 1213 , 201 ; 1215 , 202 ; 1217 , 203 ; 1219 , 204 ; 1221 , 204 ;
1223 , 205 ; 1225 , 207 ; 1227 , 207 ; 1229 , 207 ; 1231 , 207 ; 1233 , 207 ; 1235 ,
207 ; 1237 , 223 ; 1239 , 223 ; 1241 , 231 ; 1243 , 231 ; 1245 , 232 ; 1247 , 233 ;
1249 , 233 ; 1251 , 233 ; 1253 , 234 ; 1255 , 236 ; 1257 , 237 ; 1259 , 239 ; 1261 ,
239 ; 1263 , 239 ; 1265 , 239 ; 1267 , 239 ; 1269 , 239 ; 1271 , 275 ; 1273 , 275 ;
1275 , 277 ; 1277 , 278 ; 1279 , 278 ; 1281 , 278 ; 1283 , 279 ; 1285 , 279 ; 1287 ,
279 ; 1289 , 279 ; 1291 , 279 ; 1293 , 279 ; 1295 , 279 ; 1297 , 280 ; 1299 , 280 ;
1301 , 280 ; 1303 , 280 ; 1305 , 280 ; 1307 , 280 ; 1309 , 280 ; 1311 , 280 ; 1313 ,
280 ; 1315 , 280 ; 1317 , 280 ; 1319 , 280 ; 1321 , 280 ; 1323 , 280 ; 1325 , 280 ;
1327 , 280 ; 1329 , 280 ; 1331 , 280 ; 1333 , 280 ; 1335 , 280 ; 1337 , 280 ; 1339 ,
280 ; 1341 , 281 ; 1343 , 281 ; 1345 , 281 ; 1347 , 281 ; 1349 , 287 ; 1351 , 287 ;
1353 , 288 ; 1355 , 288 ; 1357 , 289 ; 1359 , 289 ; 1361 , 289 ; 1363 , 289 ; 1365 ,
289 ; 1367 , 290 ; 1369 , 290 ; 1371 , 290 ; 1373 , 290 ; 1375 , 290 ; 1377 , 290 ;
1379 , 290 ; 1381 , 290 ; 1383 , 290 ; 1385 , 290 ; 1387 , 290 ; 1389 , 290 ; 1391 ,
290 ; 1393 , 290 ; 1395 , 291 ; 1397 , 291 ; 1399 , 291 ; 1401 , 291 ; 1403 , 291 ;
1405 , 291 ; 1407 , 291 ; 1409 , 291 ; 1411 , 291 ; 1413 , 291 ; 1415 , 291 ; 1417 ,

291 ; 1419 , 291 ; 1421 , 291 ; 1423 , 293 ; 1425 , 293 ; 1427 , 293 ; 1429 , 293 ;
 1431 , 293 ; 1433 , 293 ; 1435 , 293 ; 1437 , 293 ; 1439 , 293 ; 1441 , 293 ; 1443 ,
 293 ; 1445 , 293 ; 1447 , 293 ; 1449 , 293 ; 1451 , 293 ; 1453 , 395 ; 1455 , 445 ;
 1457 , 445 ; 1459 , 448 ; 1461 , 448 ; 1463 , 448 ; 1465 , 448 ; 1467 , 448 ; 1469 ,
 451 ; 1471 , 451 ; 1473 , 451 ; 1475 , 451 ; 1477 , 451 ; 1479 , 451 ; 1481 , 451 ;
 1483 , 451 ; 1485 , 451 ; 1487 , 451 ; 1489 , 451 ; 1491 , 451 ; 1493 , 451 ; 1495 ,
 451 ; 1497 , 451 ; 1499 , 451 ; 1501 , 451 ; 1503 , 451 ; 1505 , 451 ; 1507 , 451 ;
 1509 , 451 ; 1511 , 451 ; 1513 , 451 ; 1515 , 451 ; 1517 , 451 ; 1519 , 451 ; 1521 ,
 451 ; 1523 , 451 ; 1525 , 451 ; 1527 , 451 ; 1529 , 451 ; 1531 , 462 ; 1533 , 462 ;
 1535 , 464 ; 1537 , 468 ; 1539 , 468 ; 1541 , 470 ; 1543 , 470 ; 1545 , 471 ; 1547 ,
 471 ; 1549 , 471 ; 1551 , 472 ; 1553 , 473 ; 1555 , 473 ; 1557 , 473 ; 1559 , 474 ;
 1561 , 474 ; 1563 , 475 ; 1565 , 475 ; 1567 , 475 ; 1569 , 475 ; 1571 , 475 ; 1573 ,
 475 ; 1575 , 476 ; 1577 , 476 ; 1579 , 476 ; 1581 , 500 ; 1583 , 506 ; 1585 , 506 ;
 1587 , 506 ; 1589 , 510 ; 1591 , 510 ; 1593 , 510 ; 1595 , 510 ; 1597 , 510 ; 1599 ,
 510 ; 1601 , 510 ; 1603 , 510 ; 1605 , 510 ; 1607 , 510 ; 1609 , 511 ; 1611 , 511 ;
 1613 , 511 ; 1615 , 511 ; 1617 , 511 。

【0051】 同樣，基於反義股的結合，每個雙股體具有如下轉錄物結合起始位置（雙股體編號後跟轉錄物起始位置）：D-1000 , 187 ; D-1001 , 188 ; D-1002 , 189 ; D-1003 , 190 ; D-1004 , 191 ; D-1005 , 192 ; D-1006 , 193 ; D-1007 , 194 ; D-1008 , 195 ; D-1009 , 196 ; D-1010 , 197 ; D-1011 , 198 ; D-1012 , 199 ; D-1013 , 201 ; D-1014 , 202 ; D-1015 , 203 ; D-1016 , 204 ; D-1017 , 205 ; D-1018 , 207 ; D-1019 , 231 ; D-1020 , 232 ; D-1021 , 233 ; D-1022 , 234 ; D-1023 , 235 ; D-1024 , 236 ; D-1025 , 237 ; D-1026 , 238 ; D-1027 , 239 ; D-1028 , 275 ; D-1029 , 276 ; D-1030 , 277 ; D-1031 , 278 ; D-1032 , 279 ; D-1033 , 280 ; D-1034 , 281 ; D-1035 ,

282 ; D-1036 , 283 ; D-1037 , 285 ; D-1038 , 286 ; D-1039 , 287 ; D-1040 , 288 ;
D-1041 , 289 ; D-1042 , 290 ; D-1043 , 291 ; D-1044 , 292 ; D-1045 , 293 ; D-1046 ,
383 ; D-1047 , 384 ; D-1048 , 385 ; D-1049 , 386 ; D-1050 , 387 ; D-1051 , 388 ;
D-1052 , 389 ; D-1053 , 392 ; D-1054 , 393 ; D-1055 , 394 ; D-1056 , 395 ; D-1057 ,
396 ; D-1058 , 397 ; D-1059 , 398 ; D-1060 , 399 ; D-1061 , 400 ; D-1062 , 401 ;
D-1063 , 406 ; D-1064 , 407 ; D-1065 , 408 ; D-1066 , 410 ; D-1067 , 411 ; D-1068 ,
412 ; D-1069 , 414 ; D-1070 , 415 ; D-1071 , 416 ; D-1072 , 417 ; D-1073 , 418 ;
D-1074 , 419 ; D-1075 , 420 ; D-1076 , 421 ; D-1077 , 422 ; D-1078 , 423 ; D-1079 ,
427 ; D-1080 , 428 ; D-1081 , 429 ; D-1082 , 431 ; D-1083 , 432 ; D-1084 , 433 ;
D-1085 , 434 ; D-1086 , 435 ; D-1087 , 436 ; D-1088 , 437 ; D-1089 , 438 ; D-1090 ,
439 ; D-1091 , 440 ; D-1092 , 441 ; D-1093 , 443 ; D-1094 , 444 ; D-1095 , 445 ;
D-1096 , 445 ; D-1097 , 446 ; D-1098 , 447 ; D-1099 , 448 ; D-1100 , 449 ; D-1101 ,
449 ; D-1102 , 450 ; D-1103 , 451 ; D-1104 , 452 ; D-1105 , 453 ; D-1106 , 453 ;
D-1107 , 454 ; D-1108 , 455 ; D-1109 , 456 ; D-1110 , 457 ; D-1111 , 458 ; D-1112 ,
459 ; D-1113 , 460 ; D-1114 , 461 ; D-1115 , 461 ; D-1116 , 462 ; D-1117 , 463 ;
D-1118 , 464 ; D-1119 , 466 ; D-1120 , 466 ; D-1121 , 467 ; D-1122 , 468 ; D-1123 ,
469 ; D-1124 , 470 ; D-1125 , 470 ; D-1126 , 471 ; D-1127 , 472 ; D-1128 , 473 ;
D-1129 , 474 ; D-1130 , 474 ; D-1131 , 475 ; D-1132 , 476 ; D-1133 , 499 ; D-1134 ,
500 ; D-1135 , 500 ; D-1136 , 501 ; D-1137 , 502 ; D-1138 , 503 ; D-1139 , 504 ;
D-1140 , 504 ; D-1141 , 505 ; D-1142 , 506 ; D-1143 , 507 ; D-1144 , 508 ; D-1145 ,
508 ; D-1146 , 509 ; D-1147 , 510 ; D-1148 , 511 ; D-1149 , 513 ; D-1150 , 513 ;
D-1151 , 514 ; D-1152 , 515 ; D-1153 , 516 ; D-1154 , 517 ; D-1155 , 518 ; D-1156 ,
519 ; D-1157 , 520 ; D-1158 , 521 ; D-1159 , 522 ; D-1160 , 523 ; D-1161 , 524 ;
D-1162 , 525 ; D-1163 , 526 ; D-1164 , 530 ; D-1165 , 531 ; D-1166 , 532 ; D-1167 ,

533 ; D-1168 , 579 ; D-1169 , 580 ; D-1170 , 581 ; D-1171 , 582 ; D-1172 , 583 ;
D-1173 , 584 ; D-1174 , 585 ; D-1175 , 586 ; D-1176 , 587 ; D-1177 , 588 ; D-1178 ,
589 ; D-1179 , 590 ; D-1180 , 591 ; D-1181 , 592 ; D-1182 , 593 ; D-1183 , 594 ;
D-1184 , 595 ; D-1185 , 596 ; D-1186 , 597 ; D-1187 , 598 ; D-1188 , 599 ; D-1189 ,
600 ; D-1190 , 601 ; D-1191 , 602 ; D-1192 , 603 ; D-1193 , 604 ; D-1194 , 605 ;
D-1195 , 606 ; D-1196 , 607 ; D-1197 , 608 ; D-1198 , 609 ; D-1199 , 610 ; D-1200 ,
611 ; D-1201 , 612 ; D-1202 , 613 ; D-1203 , 614 ; D-1204 , 615 ; D-1205 , 617 ;
D-1206 , 618 ; D-1207 , 619 ; D-1208 , 620 ; D-1209 , 623 ; D-1210 , 624 ; D-1211 ,
625 ; D-1212 , 626 ; D-1213 , 627 ; D-1214 , 628 ; D-1215 , 629 ; D-1216 , 630 ;
D-1217 , 631 ; D-1218 , 632 ; D-1219 , 663 ; D-1220 , 664 ; D-1221 , 665 ; D-1222 ,
666 ; D-1223 , 667 ; D-1224 , 668 ; D-1225 , 669 ; D-1226 , 670 ; D-1227 , 671 ;
D-1228 , 672 ; D-1229 , 673 ; D-1230 , 674 ; D-1231 , 675 ; D-1232 , 676 ; D-1233 ,
677 ; D-1234 , 678 ; D-1235 , 679 ; D-1236 , 680 ; D-1237 , 681 ; D-1238 , 682 ;
D-1239 , 683 ; D-1240 , 684 ; D-1241 , 685 ; D-1242 , 686 ; D-1243 , 687 ; D-1244 ,
688 ; D-1245 , 689 ; D-1246 , 690 ; D-1247 , 691 ; D-1248 , 692 ; D-1249 , 693 ;
D-1250 , 694 ; D-1251 , 695 ; D-1252 , 696 ; D-1253 , 697 ; D-1254 , 698 ; D-1255 ,
703 ; D-1256 , 705 ; D-1257 , 706 ; D-1258 , 707 ; D-1259 , 708 ; D-1260 , 710 ;
D-1261 , 711 ; D-1262 , 712 ; D-1263 , 713 ; D-1264 , 714 ; D-1265 , 715 ; D-1266 ,
716 ; D-1267 , 749 ; D-1268 , 750 ; D-1269 , 751 ; D-1270 , 752 ; D-1271 , 753 ;
D-1272 , 754 ; D-1273 , 755 ; D-1274 , 760 ; D-1275 , 761 ; D-1276 , 762 ; D-1277 ,
763 ; D-1278 , 764 ; D-1279 , 765 ; D-1280 , 766 ; D-1281 , 767 ; D-1282 , 768 ;
D-2000 , 187 ; D-2001 , 188 ; D-2002 , 189 ; D-2003 , 190 ; D-2004 , 191 ; D-2005 ,
192 ; D-2006 , 193 ; D-2007 , 194 ; D-2008 , 195 ; D-2009 , 196 ; D-2010 , 197 ;
D-2011 , 198 ; D-2012 , 199 ; D-2013 , 201 ; D-2014 , 202 ; D-2015 , 203 ; D-2016 ,

204 ; D-2017 , 205 ; D-2018 , 207 ; D-2019 , 231 ; D-2020 , 232 ; D-2021 , 233 ;
D-2022 , 234 ; D-2023 , 235 ; D-2024 , 236 ; D-2025 , 237 ; D-2026 , 238 ; D-2027 ,
239 ; D-2028 , 275 ; D-2029 , 276 ; D-2030 , 277 ; D-2031 , 278 ; D-2032 , 279 ;
D-2033 , 280 ; D-2034 , 281 ; D-2035 , 282 ; D-2036 , 283 ; D-2037 , 285 ; D-2038 ,
286 ; D-2039 , 287 ; D-2040 , 288 ; D-2041 , 289 ; D-2042 , 290 ; D-2043 , 291 ;
D-2044 , 292 ; D-2045 , 293 ; D-2046 , 383 ; D-2047 , 384 ; D-2048 , 385 ; D-2049 ,
386 ; D-2050 , 387 ; D-2051 , 388 ; D-2052 , 389 ; D-2053 , 392 ; D-2054 , 393 ;
D-2055 , 394 ; D-2056 , 395 ; D-2057 , 396 ; D-2058 , 397 ; D-2059 , 398 ; D-2060 ,
399 ; D-2061 , 400 ; D-2062 , 401 ; D-2063 , 406 ; D-2064 , 407 ; D-2065 , 408 ;
D-2066 , 410 ; D-2067 , 411 ; D-2068 , 412 ; D-2069 , 414 ; D-2070 , 415 ; D-2071 ,
416 ; D-2072 , 417 ; D-2073 , 418 ; D-2074 , 419 ; D-2075 , 420 ; D-2076 , 421 ;
D-2077 , 422 ; D-2078 , 423 ; D-2079 , 427 ; D-2080 , 428 ; D-2081 , 429 ; D-2082 ,
431 ; D-2083 , 432 ; D-2084 , 433 ; D-2085 , 434 ; D-2086 , 435 ; D-2087 , 436 ;
D-2088 , 437 ; D-2089 , 438 ; D-2090 , 439 ; D-2091 , 440 ; D-2092 , 441 ; D-2093 ,
443 ; D-2094 , 444 ; D-2095 , 445 ; D-2096 , 445 ; D-2097 , 446 ; D-2098 , 447 ;
D-2099 , 448 ; D-2100 , 449 ; D-2101 , 449 ; D-2102 , 450 ; D-2103 , 451 ; D-2104 ,
452 ; D-2105 , 453 ; D-2106 , 453 ; D-2107 , 454 ; D-2108 , 455 ; D-2109 , 456 ;
D-2110 , 457 ; D-2111 , 458 ; D-2112 , 459 ; D-2113 , 460 ; D-2114 , 461 ; D-2115 ,
461 ; D-2116 , 462 ; D-2117 , 463 ; D-2118 , 464 ; D-2119 , 466 ; D-2120 , 466 ;
D-2121 , 467 ; D-2122 , 468 ; D-2123 , 469 ; D-2124 , 470 ; D-2125 , 470 ; D-2126 ,
471 ; D-2127 , 472 ; D-2128 , 473 ; D-2129 , 474 ; D-2130 , 474 ; D-2131 , 475 ;
D-2132 , 476 ; D-2133 , 499 ; D-2134 , 500 ; D-2135 , 500 ; D-2136 , 501 ; D-2137 ,
502 ; D-2138 , 503 ; D-2139 , 504 ; D-2140 , 504 ; D-2141 , 505 ; D-2142 , 506 ;
D-2143 , 507 ; D-2144 , 508 ; D-2145 , 508 ; D-2146 , 509 ; D-2147 , 510 ; D-2148 ,

511 ; D-2149 , 513 ; D-2150 , 513 ; D-2151 , 514 ; D-2152 , 515 ; D-2153 , 516 ;
D-2154 , 517 ; D-2155 , 518 ; D-2156 , 519 ; D-2157 , 520 ; D-2158 , 521 ; D-2159 ,
522 ; D-2160 , 523 ; D-2161 , 524 ; D-2162 , 525 ; D-2163 , 526 ; D-2164 , 530 ;
D-2165 , 531 ; D-2166 , 532 ; D-2167 , 533 ; D-2168 , 579 ; D-2169 , 580 ; D-2170 ,
581 ; D-2171 , 582 ; D-2172 , 583 ; D-2173 , 584 ; D-2174 , 585 ; D-2175 , 586 ;
D-2176 , 587 ; D-2177 , 588 ; D-2178 , 589 ; D-2179 , 590 ; D-2180 , 591 ; D-2181 ,
592 ; D-2182 , 593 ; D-2183 , 594 ; D-2184 , 595 ; D-2185 , 596 ; D-2186 , 597 ;
D-2187 , 598 ; D-2188 , 599 ; D-2189 , 600 ; D-2190 , 601 ; D-2191 , 602 ; D-2192 ,
603 ; D-2193 , 604 ; D-2194 , 605 ; D-2195 , 606 ; D-2196 , 607 ; D-2197 , 608 ;
D-2198 , 609 ; D-2199 , 610 ; D-2200 , 611 ; D-2201 , 612 ; D-2202 , 613 ; D-2203 ,
614 ; D-2204 , 615 ; D-2205 , 617 ; D-2206 , 618 ; D-2207 , 619 ; D-2208 , 620 ;
D-2209 , 623 ; D-2210 , 624 ; D-2211 , 625 ; D-2212 , 626 ; D-2213 , 627 ; D-2214 ,
628 ; D-2215 , 629 ; D-2216 , 630 ; D-2217 , 631 ; D-2218 , 632 ; D-2219 , 663 ;
D-2220 , 664 ; D-2221 , 665 ; D-2222 , 666 ; D-2223 , 667 ; D-2224 , 668 ; D-2225 ,
669 ; D-2226 , 670 ; D-2227 , 671 ; D-2228 , 672 ; D-2229 , 673 ; D-2230 , 674 ;
D-2231 , 675 ; D-2232 , 676 ; D-2233 , 677 ; D-2234 , 678 ; D-2235 , 679 ; D-2236 ,
680 ; D-2237 , 681 ; D-2238 , 682 ; D-2239 , 683 ; D-2240 , 684 ; D-2241 , 685 ;
D-2242 , 686 ; D-2243 , 687 ; D-2244 , 688 ; D-2245 , 689 ; D-2246 , 690 ; D-2247 ,
691 ; D-2248 , 692 ; D-2249 , 693 ; D-2250 , 694 ; D-2251 , 695 ; D-2252 , 696 ;
D-2253 , 697 ; D-2254 , 698 ; D-2255 , 703 ; D-2256 , 705 ; D-2257 , 706 ; D-2258 ,
707 ; D-2259 , 708 ; D-2260 , 710 ; D-2261 , 711 ; D-2262 , 712 ; D-2263 , 713 ;
D-2264 , 714 ; D-2265 , 715 ; D-2266 , 716 ; D-2267 , 749 ; D-2268 , 750 ; D-2269 ,
751 ; D-2270 , 752 ; D-2271 , 753 ; D-2272 , 754 ; D-2273 , 755 ; D-2274 , 760 ;
D-2275 , 761 ; D-2276 , 762 ; D-2277 , 763 ; D-2278 , 764 ; D-2279 , 765 ; D-2280 ,

766 ; D-2281 , 767 ; D-2282 , 768 ; D-2283 , 188 ; D-2284 , 188 ; D-2285 , 188 ;
D-2286 , 188 ; D-2287 , 189 ; D-2288 , 191 ; D-2289 , 193 ; D-2290 , 194 ; D-2291 ,
194 ; D-2292 , 195 ; D-2293 , 197 ; D-2294 , 198 ; D-2295 , 198 ; D-2296 , 198 ;
D-2297 , 198 ; D-2298 , 198 ; D-2299 , 198 ; D-2300 , 198 ; D-2301 , 198 ; D-2302 ,
198 ; D-2303 , 198 ; D-2304 , 198 ; D-2305 , 198 ; D-2306 , 198 ; D-2307 , 198 ;
D-2308 , 198 ; D-2309 , 198 ; D-2310 , 198 ; D-2311 , 198 ; D-2312 , 198 ; D-2313 ,
198 ; D-2314 , 198 ; D-2315 , 198 ; D-2316 , 198 ; D-2317 , 198 ; D-2318 , 198 ;
D-2319 , 198 ; D-2320 , 198 ; D-2321 , 198 ; D-2322 , 201 ; D-2323 , 201 ; D-2324 ,
202 ; D-2325 , 203 ; D-2326 , 204 ; D-2327 , 204 ; D-2328 , 205 ; D-2329 , 207 ;
D-2330 , 207 ; D-2331 , 207 ; D-2332 , 207 ; D-2333 , 207 ; D-2334 , 207 ; D-2335 ,
223 ; D-2336 , 223 ; D-2337 , 231 ; D-2338 , 231 ; D-2339 , 232 ; D-2340 , 233 ;
D-2341 , 233 ; D-2342 , 233 ; D-2343 , 234 ; D-2344 , 236 ; D-2345 , 237 ; D-2346 ,
239 ; D-2347 , 239 ; D-2348 , 239 ; D-2349 , 239 ; D-2350 , 239 ; D-2351 , 239 ;
D-2352 , 275 ; D-2353 , 275 ; D-2354 , 277 ; D-2355 , 278 ; D-2356 , 278 ; D-2357 ,
278 ; D-2358 , 279 ; D-2359 , 279 ; D-2360 , 279 ; D-2361 , 279 ; D-2362 , 279 ;
D-2363 , 279 ; D-2364 , 279 ; D-2365 , 280 ; D-2366 , 280 ; D-2367 , 280 ; D-2368 ,
280 ; D-2369 , 280 ; D-2370 , 280 ; D-2371 , 280 ; D-2372 , 280 ; D-2373 , 280 ;
D-2374 , 280 ; D-2375 , 280 ; D-2376 , 280 ; D-2377 , 280 ; D-2378 , 280 ; D-2379 ,
280 ; D-2380 , 280 ; D-2381 , 280 ; D-2382 , 280 ; D-2383 , 280 ; D-2384 , 280 ;
D-2385 , 280 ; D-2386 , 280 ; D-2387 , 281 ; D-2388 , 281 ; D-2389 , 281 ; D-2390 ,
281 ; D-2391 , 287 ; D-2392 , 287 ; D-2393 , 288 ; D-2394 , 288 ; D-2395 , 289 ;
D-2396 , 289 ; D-2397 , 289 ; D-2398 , 289 ; D-2399 , 289 ; D-2400 , 290 ; D-2401 ,
290 ; D-2402 , 290 ; D-2403 , 290 ; D-2404 , 290 ; D-2405 , 290 ; D-2406 , 290 ;
D-2407 , 290 ; D-2408 , 290 ; D-2409 , 290 ; D-2410 , 290 ; D-2411 , 290 ; D-2412 ,

290 ; D-2413 , 290 ; D-2414 , 291 ; D-2415 , 291 ; D-2416 , 291 ; D-2417 , 291 ;
D-2418 , 291 ; D-2419 , 291 ; D-2420 , 291 ; D-2421 , 291 ; D-2422 , 291 ; D-2423 ,
291 ; D-2424 , 291 ; D-2425 , 291 ; D-2426 , 291 ; D-2427 , 291 ; D-2428 , 293 ;
D-2429 , 293 ; D-2430 , 293 ; D-2431 , 293 ; D-2432 , 293 ; D-2433 , 293 ; D-2434 ,
293 ; D-2435 , 293 ; D-2436 , 293 ; D-2437 , 293 ; D-2438 , 293 ; D-2439 , 293 ;
D-2440 , 293 ; D-2441 , 293 ; D-2442 , 293 ; D-2443 , 395 ; D-2444 , 445 ; D-2445 ,
445 ; D-2446 , 448 ; D-2447 , 448 ; D-2448 , 448 ; D-2449 , 448 ; D-2450 , 448 ;
D-2451 , 451 ; D-2452 , 451 ; D-2453 , 451 ; D-2454 , 451 ; D-2455 , 451 ; D-2456 ,
451 ; D-2457 , 451 ; D-2458 , 451 ; D-2459 , 451 ; D-2460 , 451 ; D-2461 , 451 ;
D-2462 , 451 ; D-2463 , 451 ; D-2464 , 451 ; D-2465 , 451 ; D-2466 , 451 ; D-2467 ,
451 ; D-2468 , 451 ; D-2469 , 451 ; D-2470 , 451 ; D-2471 , 451 ; D-2472 , 451 ;
D-2473 , 451 ; D-2474 , 451 ; D-2475 , 451 ; D-2476 , 451 ; D-2477 , 451 ; D-2478 ,
451 ; D-2479 , 451 ; D-2480 , 451 ; D-2481 , 451 ; D-2482 , 462 ; D-2483 , 462 ;
D-2484 , 464 ; D-2485 , 468 ; D-2486 , 468 ; D-2487 , 470 ; D-2488 , 470 ; D-2489 ,
471 ; D-2490 , 471 ; D-2491 , 471 ; D-2492 , 472 ; D-2493 , 473 ; D-2494 , 473 ;
D-2495 , 473 ; D-2496 , 474 ; D-2497 , 474 ; D-2498 , 475 ; D-2499 , 475 ; D-2500 ,
475 ; D-2501 , 475 ; D-2502 , 475 ; D-2503 , 475 ; D-2504 , 476 ; D-2505 , 476 ;
D-2506 , 476 ; D-2507 , 500 ; D-2508 , 506 ; D-2509 , 506 ; D-2510 , 506 ; D-2511 ,
510 ; D-2512 , 510 ; D-2513 , 510 ; D-2514 , 510 ; D-2515 , 510 ; D-2516 , 510 ;
D-2517 , 510 ; D-2518 , 510 ; D-2519 , 510 ; D-2520 , 510 ; D-2521 , 511 ; D-2522 ,
511 ; D-2523 , 511 ; D-2524 , 511 ; D-2525 , 511 。

【0052】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID

NO: 18、20、22、24、26、28、584、586、588、590、592、594、1152、1154、1156、1158、1160、1162、1164、1166、1168、1170、1172、1174、1176、1178、1180、1182、1184、1186、1188、1190、1192、1194、1196、1198、1200、1202、1204、1206、1208、1210、1212、或1214。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；1209和1210；1211和1212；或1213和1214。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 18、20、22、24、26、28、584、586、588、590、592、594、1152、1154、1156、1158、1160、1162、1164、1166、1168、1170、1172、1174、1176、1178、1180、1182、1184、1186、1188、1190、1192、1194、1196、1198、1200、1202、1204、1206、1208、1210、1212、或1214。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 18、20、22、24、26、28、584、586、588、590、592、594、1152、1154、1156、1158、1160、1162、1164、

1166、1168、1170、1172、1174、1176、1178、1180、1182、1184、1186、1188、1190、1192、1194、1196、1198、1200、1202、1204、1206、1208、1210、1212、或1214，並且其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；1209和1210；1211和1212；或1213和1214。

【0053】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 50、52、54、56、616、618、620、622、1256、1258、1260、1262、1264、1266、1268、或1270。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 49和50；51和52；53和54；55和56；615和616；617和618；619和620；621和622；1255和1256；1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；或1269和1270。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 50、52、54、56、616、618、620、622、1256、1258、

1260、1262、1264、1266、1268、或1270。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 50、52、54、56、616、618、620、622、1256、1258、1260、1262、1264、1266、1268、或1270，並且其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 49和50；51和52；53和54；55和56；615和616；617和618；619和620；621和622；1255和1256；1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；或1269和1270。

【0054】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 62、64、66、68、70、72、74、628、630、632、634、636、638、640、1276、1278、1280、1282、1284、1286、1288、1290、1292、1294、1296、1298、1300、1302、1304、1306、1308、1310、1312、1314、1316、1318、1320、1322、1324、1326、1328、1330、1332、1334、1336、1338、1340、1342、1344、1346、或1348。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；1275和1276；1277和1278；1279和1280；1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；1317和1318；

1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；1329和1330；
1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；1341和1342；
1343和1344；1345和1346；或1347和1348。在一些實施方式中，本發明之RNAi
構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結
合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 62、64、66、68、70、72、
74、628、630、632、634、636、638、640、1276、1278、1280、1282、1284、
1286、1288、1290、1292、1294、1296、1298、1300、1302、1304、1306、1308、
1310、1312、1314、1316、1318、1320、1322、1324、1326、1328、1330、1332、
1334、1336、1338、1340、1342、1344、1346、或1348。在一些實施方式中，本
發明之RNAi構建體包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具
有轉錄物結合起始位置，並且具有以下的反義序列：SEQ ID NO: 62、64、66、
68、70、72、74、628、630、632、634、636、638、640、1276、1278、1280、
1282、1284、1286、1288、1290、1292、1294、1296、1298、1300、1302、1304、
1306、1308、1310、1312、1314、1316、1318、1320、1322、1324、1326、1328、
1330、1332、1334、1336、1338、1340、1342、1344、1346、或1348，並且其中
該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 61和62；63和64；65和
66；67和68；69和70；71和72；73和74；627和628；629和630；631和632；633
和634；635和636；637和638；639和640；1275和1276；1277和1278；1279和1280；
1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；
1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；
1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；
1317和1318；1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；
1329和1330；1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；
1341和1342；1343和1344；1345和1346；或1347和1348。

【0055】 在一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1193和1194的序列的雙股體。

【0056】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1171和1172的序列的雙股體。

【0057】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1265和1266的序列的雙股體。

【0058】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1307和1308的序列的雙股體。

【0059】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1311和1312的序列的雙股體。

【0060】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1317和1318的序列的雙股體。

【0061】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1425和1426的序列的雙股體。

【0062】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1439和1440的序列的雙股體。

【0063】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1431和1432的序列的雙股體。

【0064】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1495和1496的序列的雙股體。

【0065】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1487和1488的序列的雙股體。

【0066】 在另一個實施方式中，本發明之RNAi構建體係包含SEQ ID NO: 1383和1384的序列的雙股體。

RNAi構建體的功能

【0067】 本發明之RNAi構建體理想地降低或抑制TTR在細胞（特別是肝臟細胞）中的表現。因此，在一個實施方式中，本發明提供了藉由使細胞與本文所述之任何RNAi構建體接觸來降低TTR在細胞中的表現之方法。細胞可為體外或體內的。可以藉由測量TTR mRNA、TTR蛋白、或者與TTR表現有關的另一種生物標誌物的量或水平來對TTR表現進行評估。可以相對於TTR在未用RNAi構建體處理或用對照RNAi構建體處理的細胞或動物中的表現來確定TTR在用本發明之RNAi構建體處理的細胞或動物中的表現的降低。例如，在一些實施方式中，藉由以下步驟來評估TTR表現的降低：(a) 測量用本發明之RNAi構建體處理的肝臟細胞中的TTR mRNA的量或水平，(b) 測量用對照RNAi構建體（例如，針對未在肝臟細胞中表現的RNA分子的RNAi構建體或具有無義或亂序序列的RNAi構建體）處理或不用構建體處理的肝臟細胞中的TTR mRNA的量或水平，以及(c) 比較來自(a)中的經處理細胞的經測量TTR mRNA水平與來自(b)中的對照細胞的經測量TTR mRNA水平。在比較之前，可以將經處理細胞和對照細胞中的TTR mRNA水平相對於對照基因（例如18S核糖體RNA）的RNA水平歸一化。可以藉由多種方法來測量TTR mRNA水平，該等方法包括RNA印跡分析、核酸酶保護測定、螢光原位雜交（FISH）、反轉錄酶（RT）-PCR、即時RT-PCR、定量PCR等。

【0068】 在其他實施方式中，藉由以下步驟來評估TTR表現的降低：(a) 測量用本發明之RNAi構建體處理的肝臟細胞中的TTR蛋白的量或水平、(b) 測量用對照RNAi構建體（例如，針對未在肝臟細胞中表現的RNA分子的RNAi構建體或具有無義或亂序序列的RNAi構建體）處理或不用構建體處理的肝臟細胞中的TTR蛋白的量或水平、和(c) 比較來自(a)中的經處理細胞的經測量TTR蛋白水平與來自(b)中的對照細胞的經測量TTR蛋白水平。TTR蛋白水平可以使用熟悉

該項技術者已知的任何合適的方法來測量，該等方法包括但不限於西方墨點法、免疫測定（例如ELISA）和流式細胞術。任何測量TTR mRNA或蛋白質的合適的方法可用於評估本發明之RNAi構建體的功效。

【0069】 在一些實施方式中，評估TTR表現水平之方法在體外在天然表現TTR的細胞（例如肝臟細胞）或者已被工程化以表現TTR的細胞中進行。在某些實施方式中，該等方法在體外在肝臟細胞中進行。合適的肝臟細胞包括但不限於原代肝細胞（例如人、非人靈長類動物或齧齒動物的肝細胞）、HepAD38細胞、HuH-6細胞、HuH-7細胞、HuH-5-2細胞、BNLCL2細胞、Hep3B細胞或HepG2細胞。在一個實施方式中，肝臟細胞為Hep3B細胞。在另一個實施方式中，肝臟細胞為HepG2細胞。

【0070】 在其他實施方式中，評估TTR表現水平的方法在體內進行。例如，可以將RNAi構建體和任何對照RNAi構建體投與至動物（例如齧齒動物或非人靈長類動物），並且在處理後可在從該動物收穫的肝臟組織中對TTR mRNA或蛋白質水平進行評估。可替代地或另外地，可以在經處理的動物中對與TTR表現相關的生物標誌物或功能表型進行評估。

【0071】 在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體將TTR在肝臟細胞中的表現降低至少40%、至少45%、或至少50%。在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體將TTR在肝臟細胞中的表現降低至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、或至少85%。在其他實施方式中，本發明之RNAi構建體將TTR在肝臟細胞中的表現降低約90%或更多，例如91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或更多。可以藉由本文所述之任何方法或本領域中已知的其他方法來測量TTR表現的降低百分比。例如，在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在Hep3B細胞（含有野生型TTR）中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。在相關實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在Hep3B細胞中以

5 nM將TTR表現抑制至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、或至少75%。在其他實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在Hep3B細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少94%、至少96%、或至少98%。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在HepG2細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。在相關實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在HepG2細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、或至少75%。在其他實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在HepG2細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少94%、至少96%、或至少98%。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在表現人TTR細胞的CHO轉染細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。在相關實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在表現人TTR的CHO轉染細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、或至少75%。在其他實施方式中，本發明之RNAi構建體在體外在表現人TTR的CHO轉染細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少80%、至少85%、至少90%、至少92%、至少94%、至少96%、或至少98%。可以使用包括例如RNA FISH或微滴式數字PCR在內的多種技術測量TTR的降低（參見例如，Kamitaki等人, *Digital PCR* [數字PCR]. *Methods in Molecular Biology* [分子生物學方法], 1768: 401-422 (2018). doi:10.1007/978-1-4939-7778-9_23）。

【0072】 在一些實施方式中，計算IC₅₀值以評估本發明之RNAi構建體抑制TTR在肝臟細胞中的表現的效力。「IC₅₀值」為實現50%生物或生物化學功能抑制所需的劑量/濃度。在其他實施方式中，RNAi構建體的效力可以藉由計算「AC₅₀」值來評估，該值係實現50%生物或生物化學功能激活所需的劑量/濃度。任何物質或拮抗劑的IC₅₀值或AC₅₀值可以藉由構建劑量-響應曲線並在任何測定中檢查不同濃度的物質或拮抗劑對表現水平或功能活性的影響來確定。給定

拮抗劑或物質的IC₅₀值可以藉由確定抑制一半最大生物反應或天然表現水平所需的濃度來計算。因此，任何RNAi構建體的IC₅₀值可以藉由在任何測定（如免疫測定、RNA FISH測定或微滴式數字PCR測定）中確定抑制肝臟細胞中天然TTR表現水平（例如對照肝臟細胞中的TTR表現水平）的一半所需的RNAi構建體的濃度來計算。類似地，給定物質的AC₅₀值可以藉由確定激活最大生物響應或天然表現水平的一半所需的濃度來計算。本發明之RNAi構建體可以以小於約20 nM（例如，小於約15 nM、10 nM、5 nM、或1 nM）的IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞（例如Hep3B細胞）中的表現。例如，所揭露的RNAi構建體可以以如下IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞中的表現：約0.001 nM至約20 nM、約0.001 nM至約10 nM、約0.001 nM至約5 nM、約0.001 nM至約1 nM、約0.1 nM至約10 nM、約0.1 nM至約5 nM、或約0.1 nM至約1 nM。在某些實施方式中，RNAi構建體以約1 nM至約10 nM（例如約5 nM）的IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞（例如Hep3B細胞）中的表現。本發明之RNAi構建體可以以小於約20 nM的IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞（例如HepG2細胞）中的表現。例如，RNAi構建體可以以如下IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞中的表現：約0.001 nM至約20 nM、約0.001 nM至約10 nM、約0.001 nM至約5 nM、約0.001 nM至約1 nM、約0.1 nM至約10 nM、約0.1 nM至約5 nM、或約0.1 nM至約1 nM。在某些實施方式中，RNAi構建體以約1 nM至約10 nM（例如約5 nM）的IC₅₀抑制TTR在肝臟細胞（例如HepG2細胞）中的表現。本發明之RNAi構建體可以以小於約20 nM的IC₅₀抑制TTR在表現人TTR I148I或I148M的細胞（例如CHO轉染細胞）中的表現。例如，RNAi構建體以如下IC₅₀抑制TTR在表現TTR I148I或I148M的細胞中的表現：約0.001 nM至約20 nM、約0.001 nM至約10 nM、約0.001 nM至約5 nM、約0.001 nM至約1 nM、約0.1 nM至約10 nM、約0.1 nM至約5 nM、或約0.1 nM至約1 nM。在某些實施方式中，RNAi構建體以約1 nM至約10 nM（例如，約5 nM）的IC₅₀抑制TTR在表現TTR I148I或I148M的細胞中的表

現。

【0073】 本發明之RNAi構建體可使用本領域已知的技術(例如常規核酸固相合成)來容易地製成。RNAi構建體的多核苷酸可使用標準核苷酸或核苷先質(例如亞磷醯胺)在合適的核酸合成儀上組裝。自動核酸合成儀由幾個供應商商業銷售,該等合成儀包括來自應用生物系統公司(Applied Biosystems)(福斯特城,加利福尼亞州(Foster City, CA))的DNA/RNA合成儀、來自生物自動化公司(BioAutomation)(歐文市,德克薩斯州(Irving, TX))的MerMade合成儀、和來自電氣醫療集團生命科學部(GE Healthcare Life Sciences)(匹茲堡市,賓夕法尼亞州(Pittsburgh, PA))的OligoPilot合成儀。

【0074】 2'矽基保護基團可與核糖核苷的5'位置處的酸不穩定性二甲氧基三苯甲基(DMT)結合使用,以經由亞磷醯胺化學合成寡核苷酸。已知最終去保護條件不會顯著降解RNA產物。所有合成均可在任何自動或手動合成儀中以大、中或小規模進行。合成還可以在多孔板、柱或載玻片中進行。

【0075】 2'-O-矽基基團可以經由暴露於氟離子來去除,該等氟離子可以包括任何氟離子源,例如含有與無機反離子配對的氟離子的那些鹽(例如氟化銫和氟化鉀)、或含有與有機反離子配對的氟離子的那些鹽(例如四烷基氟化銨)。冠醚催化劑可以與無機氟化物組合用於去保護反應中。示例性氟離子源包括但不限於四丁基氟化銨或胺基氫氟化物(例如,將水性HF與三乙胺組合在偶極非質子溶劑(例如二甲基甲醯胺)中)。

【0076】 選擇用於亞磷酸三酯和磷酸三酯上的保護基團可以改變三酯對氟化物的穩定性。磷酸三酯或亞磷酸三酯的甲基保護可以穩定與氟離子的鍵聯且改善過程產率。

【0077】 由於核糖核苷具有反應性2'羥基取代基,因此可能希望用與5'-O-二甲氧基三苯甲基保護基團正交的保護基團(例如對用酸處理穩定的保護基團)

保護RNA中的反應性2'位置。矽基保護基團符合該標準，且可以在最終的氟化物去保護步驟中容易地去除，這可以導致最少RNA降解。

【0078】 四唑催化劑可用於標準亞磷醯胺偶合反應。示例性催化劑包括例如四唑、S-乙基-四唑、苄基巰基四唑和對硝基苯基四唑。

【0079】 合成本文所述之RNAi構建體的另外的方法對於熟悉該項技術者而言將是顯而易見的。另外，各個合成步驟可以交替序列或順序進行，以得到希望的化合物。其他合成化學轉化、保護基團（例如，對於鹼基上存在的羥基、胺基等）和可用於合成本文所述RNAi構建體的保護基團方法（保護和去保護）係本領域已知的且包括例如以下中描述的那些：R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations* [綜合有機轉化], VCH Publishers [VCH出版社] (1989)；T. W. Greene和P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis* [有機合成中的保護基團], 第2版, John Wiley and Sons [約翰威立父子公司] (1991)；L. Fieser和M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis* [費塞爾和用於有機合成的費塞爾試劑], John Wiley and Sons [約翰威立父子公司] (1994)；以及L. Paquette編輯, *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis* [有機合成試劑百科全書], John Wiley and Sons [約翰威立父子公司] (1995) 及其後續版本。RNAi構建體的定制合成還可從幾個商業供應商處獲得，該等供應商包括Dharmacon公司（Dharmacon, Inc.）（拉斐特，科羅拉多州（Lafayette, CO））、Axo實驗室股份有限公司（AxoLabs GmbH）（庫爾姆巴赫（Kulmbach），德國）和Ambion公司（Ambion, Inc.）（福斯特城，加利福尼亞州）。

【0080】 本發明之RNAi構建體可包含配體。如本文所用，「配體」係指能夠與另一種化合物或分子直接地或間接地相互作用的任何化合物或分子。配體與另一種化合物或分子的相互作用可引發生物響應（例如，啟動訊息轉導級聯、誘導受體介導的內吞作用）或者可僅為物理締合。配體可以修飾所附接的雙股

RNA分子的一或多種特性，如RNA分子的藥效學、藥動學、結合、吸收、細胞分佈、細胞攝取、電荷和/或清除特性。

【0081】 配體可包含血清蛋白（例如，人血清白蛋白、低密度脂蛋白、球蛋白）、膽固醇部分、維生素（例如，生物素、維生素E、維生素B12）、葉酸部分、類固醇、膽汁酸（例如膽酸）、脂肪酸（例如棕櫚酸、肉豆蔻酸）、碳水化合物（例如葡聚糖、聚三葡萄糖、幾丁質、殼聚糖、菊粉、環糊精或透明質酸）、糖苷、磷脂、或抗體或其結合片段（例如，使RNAi構建體靶向特定細胞類型（如肝臟細胞）的全抗體或結合片段）。配體的其他實例包括染料、嵌入劑（例如吡啶）、交聯劑（例如補骨脂素、絲裂黴素C）、卟啉（例如，TPPC4、德薩菲林（texaphyrin）、噻啉（Sapphyrin））、多環芳烴（例如吩吡啉、二氫吩吡啉）、人工內切核酸酶（例如EDTA）、親脂性分子（例如，金剛烷乙酸、1-萘丁酸、二氫鞣固酮、1,3-二O(十六烷基)甘油、香葉氧基己基、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、03-(油醯基)石膽酸、03-(油醯基)膽酸、二甲氧基三苯甲基或吩吡啉）、肽（例如，觸角肽、Tat肽、RGD肽）、烷化劑、聚合物（例如，聚乙二醇（PEG）、PEG-40K）、聚胺基酸和多胺（例如，精胺、亞精胺）。

【0082】 在某些實施方式中，配體具有內體溶解特性。內體溶解配體促進內體裂解和/或本發明之RNAi構建體或其組分自細胞的內體轉運到細胞質。內體溶解配體可為顯示出pH依賴性膜活性和融合性的聚陽離子肽或肽模擬物。在一個實施方式中，內體溶解配體在內體pH下呈現其活性構形。「活性」構形係其中內體溶解配體促進內體的裂解和/或本發明之RNAi構建體或其組分從內體到細胞質的轉運的構形。示例性內體溶解配體包括GALA肽（Subbarao等人, *Biochemistry* [生物化學], 第26卷: 2964-2972, 1987）、EALA肽（Vogel等人, *J. Am. Chem. Soc.* [美國化學會志], 第118卷: 1581-1586, 1996）、以及它們的衍生物（Turk等人, *Biochem. Biophys. Acta* [生物化學與生物物理學報], 第1559卷: 56-68,

2002)。在一個實施方式中，內體溶解組分可含有化學基團（例如胺基酸），其響應於pH的變化將經歷電荷或質子化的變化。內體溶解組分可為直鏈或支鏈的。

【0083】 在一些實施方式中，配體包含脂質或其他疏水分子。在一個實施方式中，配體包含膽固醇部分或其他類固醇。據報告經膽固醇軛合的寡核苷酸較其未經軛合的對應物更具活性（Manoharan, *Antisense Nucleic Acid Drug Development* [反義核酸藥物開發], 第12卷: 103-228, 2002）。包含用於與核酸分子軛合的膽固醇部分和其他脂質的配體也已經描述於美國專利7,851,615、7,745,608、和7,833,992中。在另一個實施方式中，配體可包含葉酸部分。與葉酸部分軛合的多核苷酸可以經由受體介導的內吞作用途徑被細胞攝取。這樣的葉酸-多核苷酸軛合物描述於例如美國專利8,188,247中。

【0084】 考慮到TTR在肝臟細胞（例如肝細胞）中被表現，在某些實施方式中，希望將RNAi構建體特異性地遞送至肝臟細胞。在一些實施方式中，RNAi構建體可以藉由使用與肝臟細胞表面上表現的蛋白質結合或相互作用的配體而特異性靶向肝臟。例如，在某些實施方式中，配體可包含一或多種特異性結合肝細胞上表現的受體的抗原結合蛋白（例如抗體或其結合片段（例如Fab、scFv））。

【0085】 在某些實施方式中，配體包含碳水化合物。「碳水化合物」係指由具有至少6個碳原子（可為直鏈、支鏈或環狀）和與每個碳原子鍵合的氧、氮或硫原子的一或多個單糖單元構成的化合物。碳水化合物包括但不限於糖（例如單糖、二糖、三糖、四糖和含有約4、5、6、7、8或9個單糖單元的寡糖）和多糖（如澱粉、糖原、纖維素和多糖膠）。在一些實施方式中，摻入配體中的碳水化合物為選自戊糖、己糖或庚糖的單糖以及包括這樣的單糖單元的二糖和三糖。在其他實施方式中，摻入配體中的碳水化合物為胺基糖，如半乳胺糖、葡糖胺、N-乙醯半乳胺糖和N-乙醯葡糖胺。

【0086】 在一些實施方式中，配體包含己糖或己糖胺。己糖可選自葡萄糖、

半乳糖、甘露糖、岩藻糖或果糖。己糖胺可選自果糖胺、半乳糖胺、葡糖胺或甘露糖胺。在某些實施方式中，配體包含葡萄糖、半乳糖、半乳糖胺或葡糖胺。在一個實施方式中，配體包含葡萄糖、葡糖胺或N-乙醯葡糖胺。在另一個實施方式中，配體包含半乳糖、半乳糖胺或N-乙醯基-半乳糖胺。在特定實施方式中，配體包含N-乙醯基-半乳糖胺。包含葡萄糖、半乳糖和N-乙醯基-半乳糖(GalNAc)的配體在使化合物靶向肝臟細胞方面特別有效(參見例如，D'Souza和Devarajan, *J. Control Release* [控釋雜誌], 第203卷: 126-139, 2015)。可以摻入本發明之RNAi構建體中的含GalNAc或半乳糖的配體之實例描述於美國專利7,491,805；8,106,022；和8,877,917；美國專利公開案號2003/0130186；以及WIPO公開案號WO 2013/166155中。

【0087】 在某些實施方式中，配體包含多價碳水化合物部分。如本文所用，「多價碳水化合物部分」係指包含能夠獨立地與其他分子結合或相互作用的兩個或更多個碳水化合物單元的部分。例如，多價碳水化合物部分包含兩個或更多個由碳水化合物構成的結合結構域，其可以結合兩個或更多個不同分子或同一分子上的兩個或更多個不同位點。碳水化合物部分的化合價表示該碳水化合物部分內的單個結合結構域的數目。例如，關於碳水化合物部分的術語「一價」、「二價」、「三價」和「四價」分別係指具有一個、兩個、三個和四個結合結構域的碳水化合物部分。多價碳水化合物部分可以包含多價乳糖部分、多價半乳糖部分、多價葡萄糖部分、多價N-乙醯基-半乳糖胺部分、多價N-乙醯基-葡糖胺部分、多價甘露糖部分、或多價岩藻糖部分。在一些實施方式中，配體包含多價半乳糖部分。在其他實施方式中，配體包含多價N-乙醯基-半乳糖胺部分。在該等和其他實施方式中，多價碳水化合物部分為二價、三價或四價的。在這樣的實施方式中，多價碳水化合物部分可為雙觸角或三觸角的。在一個特定實施方式中，多價N-乙醯基-半乳糖胺部分為三價或四價的。在另一個特定實施方式中，多價

半乳糖部分為三價或四價的。用於摻入本發明之RNAi構建體中的示例性含三價和四價GalNAc的配體在下文詳細描述。

【0088】 配體可以直接或間接地附接或軛合到RNAi構建體的RNA分子上。例如，在一些實施方式中，配體直接共價附接至RNAi構建體的有義股或反義股。在其他實施方式中，配體經由連接子共價附接至RNAi構建體的有義股或反義股。配體可以附接到本發明之RNAi構建體的多核苷酸（例如有義股或反義股）的核鹼基、糖部分或核苷酸間鍵。與嘌呤核鹼基或其衍生物的軛合或附接可發生在包括環內和環外原子在內的任何位置處。在某些實施方式中，嘌呤核鹼基的2、6、7或8位置附接至配體。與嘧啶核鹼基或其衍生物的軛合或附接也可發生在任何位置處。在一些實施方式中，嘧啶核鹼基的2、5和6位置可以附接至配體。與核苷酸的糖部分的軛合或附接可以發生在任何碳原子處。糖部分的可附接至配體的示例性碳原子包括2'、3'和5'碳原子。1'位置也可以附接至配體，如在鹼基殘基中。核苷酸間鍵也可以支持配體附接。對於含磷鍵（例如，磷酸二酯、硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、胺基磷酸酯等），配體可直接附接至磷原子或與磷原子結合的O、N或S原子上。對於含胺或醯胺的核苷間鍵（例如PNA），配體可附接至胺或醯胺的氮原子或附接至相鄰碳原子。

【0089】 在某些實施方式中，配體可以附接至有義股或反義股的3'端或5'端。在某些實施方式中，配體共價附接至有義股的5'端。在其他實施方式中，配體共價附接至有義股的3'端。例如，在一些實施方式中，配體附接至有義股的3'末端核苷酸。在某些這樣的實施方式中，配體附接在有義股的3'末端核苷酸的3'位置處。在可替代實施方式中，配體附接在有義股的3'端附近，但在一或多個末端核苷酸之前（即在1、2、3或4個末端核苷酸之前）。在一些實施方式中，配體附接在有義股的3'末端核苷酸的糖的2'位置處。

【0090】 在某些實施方式中，配體經由連接子附接至有義股或反義股。「連

接子」係使配體共價連接至RNAi構建體的多核苷酸組分的原子或原子團。連接子可為從約1至約30個原子長度、從約2至約28個原子長度、從約3至約26個原子長度、從約4至約24個原子長度、從約6至約20個原子長度、從約7至約20個原子長度、從約8至約20個原子長度、從約8至約18個原子長度、從約10至約18個原子長度、和從約12至約18個原子長度。在一些實施方式中，連接子可以包含雙官能連接部分，其通常包含具有兩個官能基的烷基部分。選擇官能基中的一個以結合目的化合物（例如RNAi構建體的有義股或反義股），且選擇另一個以基本上結合任何選定基團，如本文所述之配體。在某些實施方式中，連接子包含重複單元（如乙二醇或胺基酸單元）的鏈結構或寡聚物。典型地用於雙官能連接部分的官能基之實例包括但不限於用於與親核基團反應的親電子試劑和用於與親電子基團反應的親核試劑。在一些實施方式中，雙官能連接部分包括胺基、羥基、羧酸、硫醇、不飽和度（例如雙鍵或三鍵）等。

【0091】 可用於將配體附接至本發明之RNAi構建體中的有義股或反義股的連接子包括但不限於吡咯啉-8-胺基-3,6-二氧雜辛酸、4-(N-馬來醯亞胺基甲基)環己烷-1-甲酸琥珀醯亞胺酯、6-胺基己酸、經取代的C₁-C₁₀烷基、經取代的或未經取代的C₂-C₁₀烯基、或者經取代的或未經取代的C₂-C₁₀炔基。這樣的連接子的較佳取代基基團包括但不限於羥基、胺基、烷氧基、羧基、苄基、苯基、硝基、硫醇、硫代烷氧基、鹵素、烷基、芳基、烯基和炔基。

【0092】 在某些實施方式中，連接子為可切割的。可切割連接子為在細胞外足夠穩定，但是在進入靶細胞後經切割以釋放連接子保持在一起的兩個部分的連接子。在一些實施方式中，可切割連接子在靶細胞中或在第一參考條件（其可以例如經選擇以模擬或代表細胞內條件）下比在受試者血液中或在第二參考條件（其可以例如經選擇以模擬或代表在血液或血清中發現的條件）下切割快至少10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或更多倍、或至少

100倍。

【0093】 可切割連接子易受切割劑（例如pH、氧化還原電位或降解性分子的存在）影響。通常，切割劑在細胞內比在血清或血液中更普遍或以更高水平或活性被發現。這樣的降解劑之實例包括：經選擇用於特定底物或不具有底物特異性的氧化還原劑，包括例如存在於細胞中的氧化或還原酶或還原劑（如硫醇），其可藉由還原來使氧化還原可切割連接子降解；酯酶；可形成酸性環境的內體或試劑，例如產生pH為五或更低的那些；可藉由充當一般酸來使酸可切割連接子水解或降解的酶、肽酶（其可為底物特異性的）、和磷酸酶。

【0094】 可切割連接子可包含易受pH影響的部分。人血清的pH為7.4，而平均細胞內pH略低，範圍為約7.1-7.3。內體具有更高酸性pH，在5.5-6.0範圍內，且溶酶體具有約5.0的甚至更高酸性pH。一些連接子將具有可切割基團，其在較佳的pH下切割，從而將RNA分子自配體釋放到細胞內，或進入所希望的細胞區室。

【0095】 連接子可包括可由特定酶切割的可切割基團。摻入連接子中的可切割基團的類型可取決於待靶向的細胞。例如，靶向肝臟的配體可以通過包括酯基團的連接子連接至RNA分子。肝臟細胞富含酯酶，且因此該連接子在肝臟細胞中將比在不富含酯酶的細胞類型中更有效地切割。富含酯酶的其他類型的細胞包括肺、腎皮質和睪丸的細胞。當靶向富含肽酶的細胞（如肝臟細胞和滑膜細胞）時，可以使用含有肽鍵的連接子。

【0096】 通常，可以藉由測試降解劑（或條件）切割候選連接子的能力來評價候選可切割連接子的適用性。還希望還測試候選可切割連接子在血液中或當與其他非靶組織接觸時抵抗切割的能力。因此，可以確定第一條件與第二條件之間對切割的相對易感性，其中第一條件經選擇為指示靶細胞中的切割，而第二條件經選擇為指示其他組織或生物體液（例如血液或血清）中的切割。評價可以

在無細胞系統中、在細胞中、在細胞培養物中、在器官或組織培養物中或在整個動物中進行。在無細胞或培養條件下進行初步評價並藉由對整個動物進行進一步評價來確認可能是有用的。在一些實施方式中，與在血液或血清中（或者在經選擇以模擬細胞外條件的體外條件下）相比，有用的候選連接子在細胞中（或者在經選擇以模擬細胞內條件的體外條件下）的切割快至少2、4、10、20、50、70或100倍。

【0097】 在其他實施方式中，使用氧化還原可切割連接子。氧化還原可切割連接子在還原或氧化時被切割。還原性可切割基團之實例為二硫連接基團（-S-S-）。為了確定候選可切割連接子是否是合適的「還原性可切割連接子」或者例如是否適合與特定RNAi構建體和特定配體一起使用，可以採用本文所述之一或多種方法。例如，可以藉由與二硫蘇糖醇（DTT）或本領域已知的其他還原劑一起孵育來評價候選連接子，其模擬將在細胞（例如靶細胞）中觀察到的切割速率。也可以在經選擇以模擬血液或血清條件的條件下評價候選連接子。在特定實施方式中，候選連接子在血液中被切割至多10%。在其他實施方式中，與在血液中（或者在經選擇以模仿細胞外條件的體外條件下）相比，有用的候選連接子在細胞中（或者在經選擇以模擬細胞內條件的體外條件下）的降解快至少2、4、10、20、50、70、或100倍。

【0098】 在又其他實施方式中，基於磷酸酯的可切割連接子藉由降解或水解磷酸酯基團的藥劑來切割。水解細胞中的磷酸酯基團的試劑之實例為酶，例如細胞中的磷酸酶。基於磷酸酯的可切割基團之實例為-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-。特定實施方式包括-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、

-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-SP(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-。另一個特定實施方式為-O-P(O)(OH)-O-。該等候選連接子可以使用與上述那些類似的方法評價。

【0099】 在其他實施方式中，連接子可包含酸可切割基團，該等基團為在酸性條件下被切割的基團。在一些實施方式中，酸可切割基團在pH為約6.5或更低（例如，約6.0、5.5、5.0或更低）的酸性環境中被切割，或藉由試劑如可充當一般酸的酶來切割。在細胞中，特定的低pH細胞器（如內體和溶酶體）可以為酸可切割基團提供切割環境。酸可切割連接基團之實例包括但不限於脙、酯和胺基酸酯。酸可切割基團可具有通式-C=NN-、C(O)O或-OC(O)。特定實施方式為當附接至酯的氧（烷氧基）的碳為芳基、經取代的烷基或三級烷基諸如二甲基、戊基或三級丁基時。該等候選物可以使用與上述那些類似的方法評價。

【0100】 在其他實施方式中，連接子可包含基於酯的可切割基團，該等基團藉由細胞中的酶（如酯酶和醯胺酶）來切割。基於酯的可切割基團之實例包括但不限於伸烷基、伸烯基和伸炔基基團的酯。酯可切割基團具有通式-C(O)O-或-OC(O)-。該等候選連接子可以使用與上述那些類似的方法評價。

【0101】 在另外的實施方式中，連接子可以包含基於肽的可切割基團，該等基團藉由細胞中的酶（如肽酶和蛋白酶）來切割。基於肽的可切割基團為在胺基酸之間形成的肽鍵，以產生寡肽（例如，二肽、三肽等）和多肽。基於肽的可切割基團不包括醯胺基團（-C(O)NH-）。醯胺基團可以在任何伸烷基、伸烯基或伸炔基之間形成。肽鍵為在胺基酸之間形成的特殊類型的醯胺鍵，以產生肽和蛋白質。基於肽的可切割基團通常限於在產生肽和蛋白質的胺基酸之間形成的肽鍵（即，醯胺鍵），並且不包括整個醯胺官能基。基於肽的可切割連接基團具有通式-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-，其中RA和RB為兩個相鄰胺基酸的R基團。

該等候選物可以使用與上述那些類似的方法評價。

【0102】 適合於將配體附接到本文所述之RNAi構建體中的有義股或反義股的其他類型的連接子為本領域已知的，且可以包括例如以下中描述的連接子：美國專利7,723,509；8,017,762；8,828,956；8,877,917；和9,181,551。

【0103】 在某些實施方式中，共價附接至本發明之RNAi構建體的有義股或反義股的配體包含GalNAc部分，例如多價GalNAc部分。在一些實施方式中，多價GalNAc部分為三價GalNAc部分且附接至有義股的3'端。在其他實施方式中，多價GalNAc部分為三價GalNAc部分且附接至有義股的5'端。在又其他實施方式中，多價GalNAc部分為四價GalNAc部分且附接至有義股的3'端。在仍其他實施方式中，多價GalNAc部分為四價GalNAc部分且附接至有義股的5'端。

【0104】 在一些實施方式中，可以藉由投與編碼和控制RNAi構建體的細胞內表現的載體，將本發明之RNAi構建體遞送至目標細胞或組織。「載體」（本文中亦稱為「表現載體」）係可用於將目的核酸遞送至細胞內部的物質的組成物。許多載體係本領域已知的，包括但不限於線性多核苷酸、與離子或兩親性化合物締合的多核苷酸、質體和病毒。因此，術語「載體」包括自主複製的質體或病毒。病毒載體之實例包括但不限於腺病毒載體、腺相關病毒載體、反轉錄病毒載體等。載體可以在活細胞中複製，或者其可以以合成方式製成。

【0105】 通常，用於表現本發明之RNAi構建體的載體將包含一或多個與編碼RNAi構建體的序列可操作地連接的啟動子。短語「可操作連接」、「可操作地連接」或「在轉錄控制下」在本文中可互換使用以指示如下情形：啟動子相對於多核苷酸序列處於正確位置和方向，以控制RNA聚合酶的轉錄的起始和多核苷酸序列的表現。「啟動子」係指由啟動基因序列的特異性轉錄所需的細胞合成機制或經引入的合成機制識別的序列。合適的啟動子包括但不限於RNA pol I、pol II、HI或U6 RNA pol III、和病毒啟動子（例如人巨細胞病毒（CMV）立即早

期基因啟動子、SV40早期啟動子、和勞斯肉瘤病毒長末端重複)。在一些實施方式中，採用HI或U6RNA pol III啟動子。啟動子可為組織特異性或誘導型啟動子。令人特別感興趣的是肝臟特異性啟動子，如來自人 α -1抗胰蛋白酶基因、白蛋白基因、血紅素結合蛋白基因和肝脂酶基因的啟動子序列。誘導型啟動子包括例如由蛻皮激素、雌激素、孕酮、四環素和異丙基-PD1-硫代半乳糖苷 (IPTG) 調節的啟動子。

【0106】 當RNAi構建體包含siRNA時，兩條單獨的股 (有義股和反義股) 可以自單個載體或兩個單獨的載體表現。例如，在一些實施方式中，編碼有義股的序列與第一載體上的啟動子可操作連接，且編碼反義股的序列與第二載體上的啟動子可操作連接。在這樣的實施方式中，將第一載體和第二載體例如藉由感染或轉染共同引入靶細胞，使得有義股和反義股一旦被轉錄，將在細胞內雜交以形成siRNA分子。在另一個實施方式中，有義股和反義股由位於單個載體中的兩個單獨的啟動子轉錄。在這樣的實施方式中，編碼有義股的序列可以與第一啟動子可操作連接，且編碼反義股的序列可以與第二啟動子可操作連接，其中第一啟動子和第二啟動子位於單個載體中。在一個實施方式中，載體包含與編碼siRNA分子的序列可操作連接的第一啟動子和在相反方向上與相同序列可操作連接的第二啟動子，使得自該第一啟動子轉錄序列導致siRNA分子的有義股的合成，且自該第二啟動子轉錄序列導致siRNA分子的反義股的合成。

【0107】 當RNAi構建體包含shRNA時，編碼單個至少部分自身互補的RNA分子的序列與啟動子可操作連接以產生單個轉錄物。在一些實施方式中，編碼shRNA的序列包含藉由連接子多核苷酸序列連接的反向重複序列，以在轉錄後產生shRNA的莖和環結構。

【0108】 在一些實施方式中，編碼本發明之RNAi構建體的載體係病毒載體。適合表現本文所述RNAi構建體各種病毒載體系統包括但不限於腺病毒載

體、反轉錄病毒載體（例如慢病毒載體、莫洛尼氏鼠白血病毒）、腺相關病毒載體；單純疱疹病毒載體；SV40載體；多瘤病毒載體；乳頭狀瘤病毒載體；微小核糖核酸病毒載體；和痘病毒載體（例如牛痘病毒）。在某些實施方式中，病毒載體為反轉錄病毒載體（例如慢病毒載體）。

【0109】 適用於在本發明中使用的各種載體、用於將編碼siRNA或shRNA分子的核酸序列插入載體中之方法、和將載體遞送至目的細胞之方法係本領域已知的（參見例如，Dornburg, *Gene Therap.* [基因療法], 第2卷: 301-310, 1995；Eglitis, *Biotechniques* [生物技術], 第6卷: 608-614, 1988；Miller, *HumGene Therap.* [人類基因療法], 第1卷: 5-14, 1990；Anderson, *Nature* [自然], 第392卷: 25-30, 1998；Rubinson D A 等人, *Nat. Genet.* [自然遺傳學], 第33卷: 401-406, 2003；Brummelkamp等人, *Science* [科學], 第296卷: 550-553, 2002；Brummelkamp等人, *Cancer Cell* [癌細胞], 第2卷: 243-247, 2002；Lee等人, *Nat Biotechnol* [自然生物技術], 第20卷: 500-505, 2002；Miyagishi等人, *Nat Biotechnol* [自然生物技術], 第20卷: 497-500, 2002；Paddison等人, *GenesDev* [基因發育], 第16卷: 948-958, 2002；Paul等人, *Nat Biotechnol* [自然生物技術], 第20卷: 505-508, 2002；Sui等人, *Proc Natl Acad Sci USA* [美國國家科學院院刊], 第99卷: 5515-5520, 2002；和Yu等人, *Proc Natl Acad Sci USA* [美國國家科學院院刊], 第99卷: 6047-6052, 2002）。

組成物

【0110】 本揭露還提供了組成物和配製物，該等組成物和配製物包含本文所述之RNAi構建體和藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑。這樣的組成物和配製物可用於在有需要的受試者中降低TTR的表現。當考慮臨床應用時，將以適合於預期應用的形式製備藥物組成物和配製物。通常，這將需要製備基本上不含熱原以及可能對人或動物有害的其他雜質的組成物。

【0111】 短語「藥學上可接受的」或「藥理學上可接受的」係指當投與於

動物或人時不產生不良反應、過敏反應或其他不利反應的分子實體和組成物。如本文所用，「藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑」包括可接受的用於配製藥物（如適合於向人投與的藥物）的溶劑、緩衝劑、溶液、分散介質、包衣、抗菌劑和抗真菌劑、等滲劑和吸收延遲劑等。這樣的介質和試劑用於藥學上活性物質的用途為本領域熟知的。除非任何常規介質或試劑與本發明之RNAi構建體不相容，否則考慮其在治療組成物中之用途。還可將補充活性成分摻入組成物中，條件係它們不會使組成物的載體或RNAi構建體失活。

【0112】 用於配製藥物組成物的組成物和方法取決於幾種標準，包括但不限於投與途徑、待治療的疾病或障礙的類型和程度、以及待投與的劑量。在一些實施方式中，基於預期遞送途徑配製藥物組成物。例如，在某些實施方式中，配製藥物組成物以用於腸胃外遞送。腸胃外遞送形式包括靜脈內、動脈內、皮下、鞘內、腹膜內以及肌內注射或輸注。在一個實施方式中，配製藥物組成物以用於靜脈內遞送。在這樣的實施方式中，藥物組成物可包括基於脂質的遞送媒介物。在另一個實施方式中，配製藥物組成物以用於皮下遞送。在這樣的實施方式中，藥物組成物可包括靶向配體（例如，本文所述之含GalNAc的配體）。

【0113】 在一些實施方式中，藥物組成物包含有效量的本文所述之RNAi構建體。「有效量」係足以產生有益或希望的臨床結果的量。在一些實施方式中，有效量為足以降低TTR在受試者肝細胞中的表現的量。在一些實施方式中，有效量可為足以僅部分降低TTR表現（例如，降低至與人雜合子中野生型TTR等位基因的表現相當的水平）的量。

【0114】 本發明之RNAi構建體的有效量可為從約0.01 mg/kg體重至約100 mg/kg體重、約0.05 mg/kg體重至約75 mg/kg體重、約0.1 mg/kg體重至約50 mg/kg體重、約1 mg/kg至約30 mg/kg體重、約2.5 mg/kg體重至約20 mg/kg體重、或約5 mg/kg體重至約15 mg/kg體重。在某些實施方式中，本發明之RNAi構建體的單一

有效劑量可為約0.1 mg/kg、約0.5 mg/kg、約1 mg/kg、約2 mg/kg、約3 mg/kg、約4 mg/kg、約5 mg/kg、約6 mg/kg、約7 mg/kg、約8 mg/kg、約9 mg/kg或約10 mg/kg。包含有效量的RNAi構建體的藥物組成物可以每週、每兩週、每月、每季度或每半年投與。準確確定有效量和投與頻率可以基於若干因素，包括患者體型、年齡、性別、待治療的障礙類型（例如心肌梗塞、心臟衰竭、冠狀動脈疾病、高膽固醇血症）、使用的特定RNAi構建體和投與途徑。可以使用常規方法和/或在合適的動物模型中測試來確定本發明之任何特定RNAi構建體的有效劑量和體內半衰期的估計值。

【0115】 膠體分散系統，例如大分子複合物、奈米膠囊、微球、珠粒、和基於脂質的系統，包括水包油乳液、膠束、混合膠束、和脂質體，可以用作本發明之RNAi構建體或編碼這樣的構建體的載體的遞送媒介物。適用於遞送本發明之核酸的可商購脂肪乳液包括INTRALIPID®、LIPOSYN®、LIPOSYN®II、LIPOSYN®III、NUTRILIPID、和其他類似脂質乳液。用作體內遞送媒介物的較佳的膠體系統係脂質體（即，人工膜囊）。本發明之RNAi構建體可以封裝在脂質體中，例如陽離子脂質體。可替代地，本發明之RNAi構建體可以與脂質（如陽離子脂質）複合。合適的脂質和脂質體包括中性（例如二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOPE）、二肉豆蔻醯基磷脂醯膽鹼（DMPC）和二棕櫚醯基磷脂醯膽鹼（DPPC）、二硬脂醯基磷脂醯膽鹼）、陰性（例如二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油（DMPG））、和陽離子型（例如二油醯基四甲基胺基丙基（DOTAP）和二油醯基磷脂醯乙醇胺（DOTMA））。這樣的膠體分散系統的製備和使用為本領域熟知的。示例性配製物也揭露於例如美國專利5,783,565；5,837,533；5,981,505；6,127,170；6,217,900；6,379,965；6,383,512；6,747,014；7,202,227；和WO 03/093449中。

【0116】 在一些實施方式中，本發明之RNAi構建體完全封裝於脂質配製物中，例如，以形成SPLP、pSPLP、SNALP、或其他核酸-脂質顆粒。如本文所用，

術語「SNALP」係指穩定的核酸-脂質顆粒，包括SPLP。如本文所用，術語「SPLP」係指包含封裝於脂質囊泡內的質體DNA的核酸-脂質顆粒。SNALP和SPLP典型地含有陽離子脂質、非陽離子脂質、和防止顆粒聚集的脂質（例如，PEG-脂質軛合物）。SNALP和SPLP對於全身應用特別有用，因為它們在靜脈內注射後展現出循環壽命延長，並且在遠端部位（例如，與投與部位物理分離的部位）積累。SPLP包括「pSPLP」，其包括PCT公開案號WO 00/03683中所闡述的經封裝的縮合劑-核酸複合物。核酸-脂質顆粒典型地具有約50 nm至約150 nm、約60 nm至約130 nm、約70 nm至約110 nm、或約70 nm至約90 nm的平均直徑，且基本上無毒。另外，存在於核酸-脂質顆粒中的核酸在水溶液中理想地對用核酸酶的降解具有抗性。核酸-脂質顆粒及其製備方法揭露於例如美國專利5,976,567；5,981,501；6,534,484；6,586,410；和6,815,432；和PCT公開案號WO 96/40964中。

【0117】 適用於注射的藥物組成物包括例如無菌水溶液或分散液和用於臨時製備無菌可注射溶液或分散液的無菌粉末。通常，該等製劑為無菌的且流動到易於注射的程度。製劑應在製造和儲存條件下穩定，且應防止微生物（如細菌和真菌）的污染作用。適合的溶劑或分散介質可以含有例如水、乙醇、多元醇（例如，甘油、丙二醇、液體聚乙二醇等）、其合適的混合物、和植物油。可以例如藉由使用包衣（如卵磷脂）、藉由維持所需的粒度（在分散體的情況下）和/或藉由使用界面活性劑來維持適當的流動性。對微生物作用的防止可以藉由各種抗菌劑和抗真菌劑（例如對羥基苯甲酸酯、氯丁醇、苯酚、山梨酸、硫柳汞等）來實現。在許多情況下，等滲劑（例如，糖或氯化鈉）可以包括在組成物中。可藉由包括吸收延遲劑（例如，單硬脂酸鋁和明膠）來實現可注射組成物的延長吸收。

【0118】 無菌可注射溶液可以藉由如下來製備：將適當量的RNAi構建體（單獨或與配體複合）連同所希望的任何其他成分（如以上所述）一起摻入溶劑

中，然後過濾滅菌。通常，藉由將各種滅菌的活性成分摻入無菌媒介物中來製備分散液，該無菌媒介物含有基礎分散介質和希望的其他成分。在用於製備無菌可注射溶液的無菌粉末的情況下，合適的製備方法包括真空乾燥和冷凍乾燥技術，其產生一或多種活性成分加上來自其先前無菌過濾溶液的任何另外的希望的成分的粉末。

【0119】 本文提供的組成物可以配製成中性或鹽形式。藥學上可接受的鹽包括例如衍生自無機酸（例如，鹽酸或磷酸）或衍生自有機酸（例如，乙酸、草酸、酒石酸、苦杏仁酸等）的酸加成鹽（與游離胺基基團一起形成）。與游離羧基基團形成的鹽還可衍生自無機鹼（例如，氫氧化鈉、氫氧化鉀、氫氧化銨、氫氧化鈣或氫氧化鐵）或衍生自有機鹼（例如，異丙胺、三甲胺、組胺酸、普魯卡因等）。

【0120】 例如對於在水溶液中的腸胃外投與，通常將溶液適當地緩衝，且首先用例如足夠的鹽水或葡萄糖使液體稀釋劑等滲。這樣的水溶液可用於例如靜脈內、肌內、皮下和腹膜內投與。如熟悉該項技術者所知，理想地使用無菌水性介質。舉例說明，可將單次劑量溶解於1 ml等滲NaCl溶液中，並添加到1000 ml皮下注射液中或在所建議輸注部位注射（參見例如「Remington's Pharmaceutical Sciences [雷明頓製藥科學]」第15版, 第1035-1038頁和第1570-1580頁）。對於人投與，製劑應符合FDA標準所要求的無菌性、產熱原性、一般安全性和純度標準。在某些實施方式中，本發明之藥物組成物包含無菌鹽水溶液和本文所述之RNAi構建體或由其組成。在其他實施方式中，本發明之藥物組成物包含本文所述之RNAi構建體和無菌水（例如注射用水，WFI）或由其組成。在仍其他實施方式中，本發明之藥物組成物包含本文所述之RNAi構建體和磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）或由其組成。

【0121】 在一些實施方式中，本發明之藥物組成物與用於投與的裝置一起

包裝或儲存於該裝置內。用於可注射配製物的裝置包括但不限於注射口、預填充注射器、自動注射器、注射泵、隨身注射器和注射筆。用於霧化或粉末配製物的裝置包括但不限於吸入器、吹入器、吸氣器等。因此，本發明包括投與裝置，其包含本發明之用於治療或預防一或多種本文所述障礙的藥物組成物。

用於抑制TTR表現之方法

【0122】 本揭露還提供了抑制TTR基因在細胞中的表現之方法。該等方法包括使細胞與有效抑制TTR在細胞中的表現的量的RNAi構建體（例如，雙股RNAi構建體）接觸。使細胞與RNAi構建體（例如，雙股RNAi構建體）接觸可以在體外或體內進行。使細胞在體內與RNAi構建體接觸包括使受試者（例如，人受試者）內的細胞或細胞群與RNAi構建體接觸。接觸細胞的體外和體內方法的組合也在本揭露的範圍內。

【0123】 本發明提供了用於在有需要的受試者中降低或抑制TTR表現之方法以及治療或預防與TTR表現或活性相關的病症、疾病或障礙之方法。「與TTR表現相關的病症、疾病或障礙」係指其中TTR表現水平被改變或者其中TTR表現水平的升高與患上病症、疾病或障礙的風險增加相關的病症、疾病或障礙。

【0124】 如上所討論，接觸細胞可為直接的或間接的。此外，可以經由靶向配體實現與細胞接觸，該靶向配體包括本文所述或本領域已知的任何配體。在較佳的實施方式中，靶向配體為碳水化合物部分，例如GalNAc3配體或將RNAi構建體引導至目標位點的任何其他配體。

【0125】 在一個實施方式中，使細胞與RNAi接觸包括藉由促進或實現攝取或吸收到細胞中來「引入」或「將RNAi遞送到細胞中」。吸收或攝取RNAi可以通過無協助擴散過程或主動細胞過程或借助助劑或裝置發生。例如，對於體內引入，可以將RNAi注射到組織部位或全身投與。體外引入到細胞中可以使用本領域已知的方法（如電穿孔和脂質轉染）來實現。另外的方法在下文中描述和/或

在本領域中為已知的。

【0126】 如本文所用，術語「抑制」與「降低」、「緘默」、「下調」、「阻抑」和其他類似術語可互換使用，且包括任何水平的抑制。

【0127】 短語「抑制TTR的表現」旨在係指對任何TTR基因（例如小鼠TTR基因、大鼠TTR基因、猴TTR基因、或人TTR基因）以及TTR基因的變體或突變體的表現的抑制。因此，TTR基因可為野生型TTR基因、突變體TTR基因（例如產生澱粉樣蛋白沈積的突變體TTR基因）、或遺傳操作細胞、細胞群、或有機體背景下的轉基因TTR基因。

【0128】 「抑制TTR基因的表現」包括任何水平的TTR基因的抑制，例如，TTR基因表現的至少部分阻抑。可以基於與TTR基因表現相關的任何變量的水平或水平變化，例如TTR mRNA水平、TTR蛋白水平、或澱粉樣沈積物的數量或程度來評估TTR基因的表現。可以在單個細胞或細胞群（包括例如衍生自受試者的樣本）中評估該水平。

【0129】 可以藉由與TTR表現相關的一或多個變量的絕對或相對水平與對照水平相比的降低來評估抑制。對照水平可為本領域中使用的任何類型的對照水平，例如，給藥前基線水平、或由未經處理或用對照（例如僅緩衝對照或無活性試劑對照）處理的類似受試者、細胞或樣本確定的水平。在一些實施方式中，TTR基因的表現被抑制至少約5%、至少約10%、至少約15%、至少約20%、至少約25%、至少約30%、至少約35%、至少約40%、至少約45%、至少約50%、至少約55%、至少約60%、至少約65%、至少約70%、至少約75%、至少約80%、至少約85%、至少約90%、至少約91%、至少約92%、至少約93%、至少約94%、至少約95%、至少約96%、至少約97%、至少約98%、或至少約99%。

【0130】 TTR基因表現的抑制可藉由減少由第一細胞或細胞群（這樣的細胞可存在於例如源自受試者的樣本中）所表現mRNA的量來表現，在該等細胞中

TTR基因被轉錄並且已經經過處理(例如,藉由使一或多個細胞與本發明之RNAi構建體接觸,或者藉由向正存在或已存在該等細胞的受試者投與本發明之RNAi構建體),使得與基本上與第一細胞或細胞群相同但尚未經過如此處理的第二細胞或細胞群(對照細胞)相比,TTR基因的表現被抑制。可以藉由使用下式將經處理細胞中的mRNA水平表示為對照細胞中的mRNA水平的百分比來評估抑制:

$$\frac{(\text{對照細胞中的mRNA}) - (\text{經處理細胞中的mRNA})}{\text{對照細胞中的mRNA}} \times 100\%$$

【0131】可替代地,可根據在功能上與TTR基因表現有關的參數(例如,TTR蛋白表現或SREBP蛋白家族活性)的降低來對TTR基因表現的抑制進行評估。可在內源地或重組地表現TTR的任何細胞中,藉由在本領域中已知的任何測定來確定TTR基因緘默。

【0132】TTR蛋白表現的抑制可藉由由細胞或細胞群所表現的TTR蛋白的水平(例如,在獲自受試者的樣本中所表現的蛋白質的水平)的降低來表現。如上所解釋,為評估mRNA阻抑,經處理細胞或細胞群中蛋白質表現水平的抑制可以類似地表示為對照細胞或細胞群中蛋白質水平的百分比。

【0133】可用於對TTR基因表現的抑制進行評估的對照細胞或細胞群包括尚未與本發明之RNAi構建體接觸的細胞或細胞群。例如,在用RNAi構建體對受試者進行治療之前,對照細胞或細胞群可衍生自單個受試者(例如,人或動物受試者)。

【0134】可利用本領域中已知的用於對mRNA表現進行評估的任何方法(如上文提到的那些)來確定由細胞或細胞群所表現的TTR mRNA的水平或者循環TTR mRNA的水平。在一些實施方式中,藉由對轉錄的多核苷酸或其部分(例如TTR基因的mRNA)進行檢測來確定樣本中TTR的表現水平。在這方面,例如可以使用RNA提取技術自細胞中提取RNA,該等提取技術包括例如酸性酚/

異硫氰酸胍提取 (RNazol B; 生物起源公司 (Biogenesis))、RNeasy RNA 製備套組 (kit) (凱傑公司 (Qiagen)) 或 PAXgene (普裡阿勒蒂克斯公司, 瑞士 (PreAnalytix, Switzerland))。利用核糖核酸雜交的典型測定形式包括核連續測定、RT-PCR、RNA 酶保護測定 (Melton 等人, Nuc. Acids Res. [核酸研究], 12:7035)、RNA 印跡、原位雜交和微陣列分析。循環 TTR mRNA 可以使用 WO 2012/177906 中描述的方法來檢測。

【0135】 在一個實施方式中, 使用核酸探針來確定 TTR 的表現水平。如本文所用, 術語「探針」係指能夠與特定 TTR 序列選擇性結合的任何分子。探針可由熟悉該項技術者合成, 或衍生自適當的生物製劑。探針可以經專門設計以被標記。可用作探針的分子之實例包括但不限於 RNA、DNA、蛋白質、抗體和有機分子。

【0136】 經分離的 mRNA 可用於雜交或擴增測定, 該等測定包括但不限於 DNA 印跡或 RNA 印跡分析、聚合酶鏈反應 (PCR) 分析和探針陣列。確定 mRNA 水平的一種方法涉及使經分離的 mRNA 與可以與 TTR mRNA 雜交的核酸分子 (探針) 接觸。在一個實施方式中, 將 mRNA 固定於固體表面上且與探針接觸, 例如藉由在瓊脂糖凝膠上運行經分離的 mRNA 並將 mRNA 自凝膠轉移至膜 (如硝酸纖維素)。在可替代實施方式中, 將一或多個探針固定於固體表面上, 並使 mRNA 與一或多個探針接觸, 例如在 Affymetrix 基因晶片陣列中。熟悉該項技術者可以容易地適應用於確定 TTR mRNA 水平的已知 mRNA 檢測方法。

【0137】 確定樣本中 TTR 表現水平的可替代方法涉及例如對樣本中的 mRNA 進行核酸擴增和/或應用反轉錄酶 (以製備 cDNA) 的過程, 例如藉由 RT-PCR (參見例如, 美國專利 4,683,202)、連接酶鏈反應 (Barany (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 88: 189-193)、自我持續序列複製 (Guatelli 等人 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 87: 1874-1878)、

轉錄擴增系統 (Kwoh等人 (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA [美國國家科學院院刊] 86: 1173-1177)、Q- β 複製酶 (Lizardi等人 (1988) Bio/Technology [生物技術] 6: 1197)、滾環複製 (Lizardi等人, 同上; 以及美國專利5,854,033) 或者任何其他核酸擴增方法, 然後利用熟悉該項技術者熟知的技術對經擴增的分子進行檢測。若這樣的分子以非常低的數目存在, 則該等檢測方案尤其可用於檢測核酸分子。在本發明之一些方面, 藉由定量螢光RT-PCR (即, TAQMAN™系統) 確定TTR的表現水平。可以使用膜印跡 (如用於雜交分析, 如RNA印跡、DNA印跡、斑點等) 或微孔、樣本管、凝膠、珠粒或纖維 (或包含結合的核酸的任何固體支持物) 來監測TTR mRNA的表現水平 (參見例如, 美國專利5,445,934 ; 5,677,195 ; 5,770,722 ; 5,744,305 ; 和5,874,219)。TTR表現水平的確定還可包括使用溶液中的核酸探針。在某些實施方式中, 使用分支DNA (bDNA) 測定或即時PCR (qPCR) 評估mRNA表現水平。

【0138】 可以使用本領域已知用於測量蛋白質水平的任何方法來確定TTR蛋白表現的水平。這樣的方法包括例如電泳、毛細管電泳、高效液相層析 (HPLC)、薄層層析 (TLC)、超擴散層析、流體或凝膠沈澱素反應、吸收光譜、比色測定、分光光度測定、流式細胞術、免疫擴散 (單或雙)、免疫電泳、西方墨點法、放射免疫測定 (RIA)、酶聯免疫吸附測定 (ELISA)、免疫螢光測定、電化學發光測定等。

【0139】 在一些實施方式中, 本發明之方法的功效可以藉由檢測或監測TTR相關疾病的症狀的減少來監測, 該症狀如胃腸道疼痛, 呼吸困難, 高血壓或四肢、面部、喉、上呼吸道、腹部、軀幹和生殖器的腫脹。可以使用本領域已知的任何方法在體外或體內評估該等症狀。

【0140】 在一些實施方式中, 向受試者投與RNAi構建體或包含RNAi構建體的組成物, 使得將該RNAi構建體遞送至在該受試者內的特定部位。可使用衍

生自受試者內特定部位的體液或組織的樣本中TTR mRNA或TTR蛋白的水平或水平的變化的測量值來評估TTR表現的抑制。在一些實施方式中，可以將RNAi構建體遞送至如肝臟、脈絡叢、視網膜和胰臟的部位。該部位還可為來自任一上述部位的細胞的子部分或子組。該部位還可包括表現特定類型受體的細胞。

治療或預防TTR相關疾病之方法

【0141】 本發明提供了治療性和預防性方法，該等方法包括向患有TTR相關疾病、障礙和/或病症或者易於發展TTR相關疾病、障礙和/或病症的受試者投與如本文所述之RNAi構建體、包含RNAi構建體的組成物（例如藥物組成物）、或包含RNAi構建體的載體。TTR相關疾病的非限制性實例包括例如，暹甲狀腺素蛋白相關心肌病、澱粉樣變性和遺傳性澱粉樣變性（hATTR）。

【0142】 在某些實施方式中，本發明提供了用於在有需要患者中降低TTR表現之方法，該方法包括向患者投與本文所述之任何RNAi構建體。如本文所用，術語「患者」係指哺乳動物，包括人，且與術語「受試者」可互換使用。與未接受RNAi構建體的患者中的TTR表現水平相比，患者肝細胞中的TTR表現水平理想地在投與RNAi構建體後降低。

【0143】 本發明之方法可用於治療患有TTR相關疾病的受試者，例如，將受益於TTR基因表現和/或TTR蛋白產生降低的受試者。在一個方面，本發明提供了在患有非酒精性脂肪性肝病（暹甲狀腺素蛋白相關心肌病）的受試者中降低TTR基因表現的水平之方法。在另一個方面，本發明提供了降低患有暹甲狀腺素蛋白相關心肌病的受試者中TTR蛋白的水平之方法。

【0144】 本發明之治療方法（和用途）包括向受試者（例如人）投與治療有效量的所揭露的靶向TTR基因的RNAi構建體、包含該RNAi構建體的藥物組成物或包含該RNAi構建體的載體。

【0145】 在一個方面，本發明提供了在患有暹甲狀腺素蛋白相關心肌病的

受試者中預防至少一種症狀之方法，該至少一種症狀例如存在hedgehog傳訊途徑升高、疲勞、虛弱、體重減輕、食慾不振、噁心、腹痛、蜘蛛樣血管、皮膚和眼睛發黃（黃疸）、瘙癢、腿部體液積聚和腫脹（水腫）、腹部腫脹（腹水）、和精神錯亂。該等方法包括向受試者投與預防有效量的RNAi構建體（例如dsRNA）、包含該RNAi構建體的藥物組成物、或編碼該RNAi構建體的載體，從而預防患有將受益於TTR基因表現降低的障礙的受試者中的至少一種症狀。「預防有效量」係指在必要的劑量和時間段下有效實現所希望的預防結果（例如，預防疾病發作）的量。

【0146】 在另一個方面，本發明提供了治療有效量的本發明之RNAi構建體用於治療受試者（例如將受益於TTR基因表現的降低和/或抑制的受試者）之用途。在另外的方面，本發明提供了靶向TTR基因的本發明之RNAi構建體（例如dsRNA）或包含靶向TTR基因的RNAi構建體的藥物組成物在製造用於治療受試者的藥物中之用途，例如，該受試者係將受益於TTR基因表現和/或TTR蛋白產生的降低和/或抑制的受試者，例如患有將受益於TTR基因表現降低的障礙（例如TTR相關疾病）的受試者。

【0147】 本揭露提供了本發明之RNAi構建體（例如dsRNA）用於預防患有可受益於TTR基因表現和/或TTR蛋白產生的降低和/或抑制的障礙的受試者中的至少一種症狀之用途。例如，本揭露提供了本文所述之RNAi構建體、包含其的組成物以及包含其的載體在治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病中之用途。

【0148】 在另外的方面，本發明提供了所揭露的RNAi構建體、包含其的組成物或包含其的載體在製造藥物中之用途，該藥物用於預防患有將受益於TTR基因表現和/或TTR蛋白產生的降低和/或抑制的障礙例如TTR相關疾病的受試者中的至少一種症狀。

【0149】 在一個實施方式中，向患有TTR相關疾病（例如非酒精性脂肪性

肝病（運甲狀腺素蛋白相關心肌病）的受試者投與靶向TTR的RNAi構建體，使得當向該受試者投與該RNAi構建體時，TTR基因例如在該受試者的細胞、組織、血液或其他組織或體液中的表現降低至少約10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、62%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或者至少約99%或更多。

【0150】 本發明之方法和用途包括投與本文所述之組成物，使得靶TTR基因的表現的降低持續任何合適的時間量，如約1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24、28、32、36、40、44、48、52、56、60、64、68、72、76或約80小時。在一個實施方式中，靶TTR基因的表現降低持續延長的時間，例如，至少約二、三、四、五、六、七天或更長，例如，約一週、兩週、三週、或約四週或更長。

【0151】 根據本發明之方法和用途的RNAi構建體的投與，可導致在患有TTR相關疾病（例如運甲狀腺素蛋白相關心肌病）的患者的這樣的疾病或障礙的嚴重程度、體征、症狀和/或標誌物的降低。在此上下文中，「降低」意指這樣的水平的統計學顯著降低。降低可為例如至少約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或約100%。可以例如藉由測量疾病進展、疾病緩解、症狀嚴重程度、疼痛減輕、生活品質、維持治療效果所需的藥物劑量、疾病標誌物或適用於所治療或靶向以預防的給定疾病的任何其他可測量參數的水平來評估治療或預防疾病的功效。藉由測量這樣的參數中的任一個或任何參數組合來監測治療或預防功效在

熟悉該項技術者的能力範圍內。例如，可以例如藉由定期監測運甲狀腺素蛋白相關心肌病症狀、肝臟脂肪水平或下游基因的表現來評估治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病的功效。後續讀數與初始讀數的比較為醫師提供治療是否有效的指示。藉由測量這樣的參數中的任一個或任何參數組合來監測治療或預防功效在熟悉該項技術者的能力範圍內。關於靶向TTR的RNAi或其藥物組成物的投與，「有效針對」TTR相關疾病表明以臨床上適當的方式投與導致在至少統計學上顯著部分的患者中的有益效果，如症狀的改善、治癒、疾病的減輕、生命的延長、生活品質的改善、或者通常被熟悉治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病和/或TTR相關疾病及相關原因的醫生認為是積極的其他效果。

【0152】 當疾病症態的一或多個參數得到統計學顯著改善時，或者由於未能惡化或未發展出在其他情況下預期會出現的症狀時，治療或預防效果明顯。作為實例，在可測量疾病參數中，至少10%，較佳的是至少20%、30%、40%、50%或更多有利變化可以指示有效治療。還可以使用本領域已知的針對給定疾病的實驗動物模型來判斷給定RNAi藥物或該藥物的配製物的功效。當使用實驗動物模型時，當觀察到標誌物或症狀的統計學顯著降低時，證明了治療功效。

【0153】 可以向受試者投與任何治療有效量的RNAi構建體。RNAi構建體的示例性治療有效量包括但不限於0.01 mg/kg、0.02 mg/kg、0.03 mg/kg、0.04 mg/kg、0.05 mg/kg、0.1 mg/kg、0.15 mg/kg、0.2 mg/kg、0.25 mg/kg、0.3 mg/kg、0.35 mg/kg、0.4 mg/kg、0.45 mg/kg、0.5 mg/kg、0.55 mg/kg、0.6 mg/kg、0.65 mg/kg、0.7 mg/kg、0.75 mg/kg、0.8 mg/kg、0.85 mg/kg、0.9 mg/kg、0.95 mg/kg、1.0 mg/kg、1.1 mg/kg、1.2 mg/kg、1.3 mg/kg、1.4 mg/kg、1.5 mg/kg、1.6 mg/kg、1.7 mg/kg、1.8 mg/kg、1.9 mg/kg、2.0 mg/kg、2.1 mg/kg、2.2 mg/kg、2.3 mg/kg、2.4 mg/kg、2.5 mg/kg、2.6 mg/kg、2.7 mg/kg、2.8 mg/kg、2.9 mg/kg、3.0 mg/kg、3.1 mg/kg、3.2 mg/kg、3.3 mg/kg、3.4 mg/kg、3.5 mg/kg、3.6 mg/kg、3.7 mg/kg、3.8 mg/kg、

3.9 mg/kg、4.0 mg/kg、4.1 mg/kg、4.2 mg/kg、4.3 mg/kg、4.4 mg/kg、4.5 mg/kg、4.6 mg/kg、4.7 mg/kg、4.8 mg/kg、4.9 mg/kg、5.0 mg/kg、5.1 mg/kg、5.2 mg/kg、5.3 mg/kg、5.4 mg/kg、5.5 mg/kg、5.6 mg/kg、5.7 mg/kg、5.8 mg/kg dsRNA、5.9 mg/kg、6.0 mg/kg、6.1 mg/kg、6.2 mg/kg、6.3 mg/kg、6.4 mg/kg、6.5 mg/kg、6.6 mg/kg、6.7 mg/kg、6.8 mg/kg、6.9 mg/kg、7.0 mg/kg、7.1 mg/kg、7.2 mg/kg、7.3 mg/kg、7.4 mg/kg、7.5 mg/kg、7.6 mg/kg、7.7 mg/kg、7.8 mg/kg、7.9 mg/kg、8.0 mg/kg、8.1 mg/kg、8.2 mg/kg、8.3 mg/kg、8.4 mg/kg、8.5 mg/kg、8.6 mg/kg、8.7 mg/kg、8.8 mg/kg、8.9 mg/kg、9.0 mg/kg、9.1 mg/kg、9.2 mg/kg、9.3 mg/kg、9.4 mg/kg、9.5 mg/kg、9.6 mg/kg、9.7 mg/kg、9.8 mg/kg、9.9 mg/kg、9.0 mg/kg、10 mg/kg、15 mg/kg、20 mg/kg、25 mg/kg、30 mg/kg、35 mg/kg、40 mg/kg、45 mg/kg 或約50 mg/kg。在一個實施方式中，可以向受試者投與0.5 mg/kg的RNAi構建體。所述值的中間值和範圍也包括在本揭露中。

【0154】 RNAi構建體或包含其的組成物的投與可以將TTR蛋白水平（例如，在患者的細胞、組織、血液、尿液或其他區室中）的存在降低至少約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、或至少約99%或更多。

【0155】 在投與全劑量RNAi之前，可以向患者投與較小劑量（如5%輸注），並監測不良反應（如過敏反應）。在另一個實例中，可以監測患者的不想要的免

疫刺激效果，如提高的細胞介素（例如，TNF- α 或INF- α ）水平。

【0156】由於對TTR表現的抑制作用，根據本發明之組成物或由其製備的藥物組成物可以改善患有TTR相關疾病（例如，暹甲狀腺素蛋白相關心肌病）的患者的生活品質。

【0157】本發明之RNAi可以「裸」形式投與，其中經修飾或未經修飾的RNAi構建體直接懸浮在水性或合適的緩衝溶劑中，作為「游離RNAi」。在不存在藥物組成物的情況下投與游離RNAi。游離RNAi可以處於合適的緩衝溶液中。緩衝溶液可包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、穀醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽、或其任何組合。在一個實施方式中，緩衝溶液為磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。可以調節含有RNAi的緩衝溶液的pH和滲透壓（osmolality），使其適用於向受試者投與。

【0158】可替代地，本發明之RNAi構建體可以作為藥物組成物（例如dsRNA脂質體配製物）投與。

【0159】將從TTR基因表現的降低和/或抑制中受益的受試者係患有非酒精性脂肪性肝病（暹甲狀腺素蛋白相關心肌病）和/或如本文所述或以其他方式為本領域已知的另一種TTR相關疾病或障礙的那些受試者。

【0160】本發明進一步提供了RNAi構建體或其藥物組成物與其他藥物和/或其他治療性方法（例如與已知的藥物和/或已知的治療性方法，例如像目前用於治療該等障礙的那些）的組合用於治療將從TTR基因表現的降低和/或抑制中受益的受試者（例如患有TTR相關疾病的受試者）之方法和用途。

【0161】例如，在某些實施方式中，將靶向TTR基因的RNAi構建體與例如可用於治療TTR相關疾病的藥劑組合投與。例如，適用於治療將從TTR表現的降低中受益的受試者（例如，患有TTR相關疾病的受試者）的另外的治療劑和治療性方法包括靶向TTR基因的不同部分的RNAi構建體、治療劑、和/或用於治療TTR相關疾病的程序、或任何前述項的組合。

【0162】 在某些實施方式中，將靶向TTR基因的一部分的第一RNAi構建體與靶向TTR基因的不同部分的第二RNAi構建體組合投與。例如，第一RNAi構建體可以包含形成雙股區的第一有義股和第一反義股，其中所述第一有義股的基本上所有的核苷酸和該第一反義股的基本上所有的核苷酸係經修飾的核苷酸，其中所述第一有義股軀合至在3'-末端處附接的配體，並且其中該配體係通過二價或三價分支連接子附接的一或多種GalNAc衍生物；並且該第二RNAi構建體可以包含形成雙股區的第二有義股和第二反義股，其中該第二有義股的基本上所有的核苷酸和該第二反義股的基本上所有的核苷酸係經修飾的核苷酸，其中該第二有義股軀合至在3'-末端處附接的配體，並且其中該配體係通過二價或三價分支連接子附接的一或多種GalNAc衍生物。在一個實施方式中，第一和第二有義股的所有核苷酸和/或第一和第二反義股的所有核苷酸均包含修飾。經修飾的核苷酸可為本文所述之經修飾的核苷酸中的任一種或組合。

【0163】 RNAi構建體和另外的治療劑和/或治療可在相同時間和/或在相同組合中例如進行腸胃外投與，或者可以將另外的治療劑作為單獨的組成物的一部分或者在單獨的時間和/或藉由本領域已知或本文所述之另一種方法投與。

【0164】 本發明還提供了使用本發明之RNAi構建體和/或含有本發明之RNAi構建體的組成物來降低和/或抑制TTR在細胞中的表現（基因或蛋白質表現）之方法。在又其他方面，提供了本發明之RNAi構建體和/或包含本發明RNAi構建體的組成物在製造用於降低和/或抑制TTR基因在細胞中的表現的藥物中之用途。在仍其他方面，本發明提供了用於減少和/或抑制細胞中TTR蛋白產生的本發明之RNAi和/或包含本發明之RNAi構建體的組成物。在又其他方面，提供了本發明之RNAi構建體和/或包含本發明之RNAi構建體的組成物在製造用於減少和/或抑制細胞中TTR蛋白產生的藥物中之用途。該等方法和用途包括使細胞與本發明之RNAi構建體（例如dsRNA）接觸，並且將細胞維持足夠的時間以獲得

TTR基因的mRNA轉錄物的降解，從而在細胞中抑制TTR基因表現或抑制TTR蛋白產生。基因表現的降低可以藉由本領域已知的或本文所述之用於確定mRNA或蛋白質水平的任何方法來評估。

【0165】 在本發明之方法和用途中，細胞可以在體外或體內進行接觸，即細胞可以在受試者外（例如，在細胞培養物中）或在受試者體內。適合使用本發明之方法處理的細胞可為表現TTR基因的任何細胞，例如來自患有運甲狀腺素蛋白相關心肌病的受試者的細胞或包含含有TTR基因或TTR基因的部分的表現載體的細胞。用於在所揭露的方法中使用的合適的細胞包括例如哺乳動物細胞，例如靈長類動物細胞（如人細胞或非人靈長類動物細胞，例如猴細胞或黑猩猩細胞）、非靈長類動物細胞（如牛細胞、豬細胞、駱駝細胞、美洲駝細胞、馬細胞、山羊細胞、兔細胞、綿羊細胞、倉鼠、豚鼠細胞、貓細胞、狗細胞、大鼠細胞、小鼠細胞、獅子細胞、老虎細胞、熊細胞、或水牛細胞）、鳥類細胞（例如鴨細胞或鵝細胞）、或鯨細胞。在一個實施方式中，細胞係人細胞。

【0166】 在細胞中TTR基因表現可被抑制至少約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或約100%。

【0167】 在細胞中TTR蛋白產生可被抑制至少約5%、6%、7%、8%、9%、10%、11%、12%、13%、14%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、

23%、24%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%、35%、36%、37%、38%、39%、40%、41%、42%、43%、44%、45%、46%、47%、48%、49%、50%、51%、52%、53%、54%、55%、56%、57%、58%、59%、60%、61%、62%、63%、64%、65%、66%、67%、68%、69%、70%、71%、72%、73%、74%、75%、76%、77%、78%、79%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%、或約100%。

【0168】 本發明之體內方法和用途可包括向受試者投與含有RNAi構建體的組成物，其中該RNAi構建體包括與受試者的TTR基因的RNA轉錄物的至少一部分互補的核苷酸序列。當待治療的生物為人時，組成物可以藉由本領域已知的任何方式投與，包括但不限於皮下、靜脈內、口服、腹膜內或腸胃外途徑，包括顱內（例如，腦室內、實質內和鞘內）、肌內、透皮、氣道（氣溶膠）、鼻腔、直腸和局部（包括口腔和舌下）投與。在某些實施方式中，組成物藉由皮下或靜脈內輸注或注射投與。在一個實施方式中，組成物藉由皮下注射投與。

【0169】 在一些實施方式中，本發明係用於降低體內TTR表現之方法，該方法包括向動物投與RNAi構建體或組成物，如本說明書全篇所述。該方法可為藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR（例如人TTR）在表現hTTR的動物中的表現敲低至少45%、50%、60%、70%、或80%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向動物投與RNAi構建體或組成物。該方法可為藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR（例如人TTR）在表現hTTR的動物中的表現敲低至少60%、70%、80%、或90%，並且其中以1.0毫克/公斤動物向動物投與RNAi構建體或組成物。該方法可為藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR（例如人TTR）在表現hTTR的動物中的表現敲低至少80%、85%、90%、或95%，並且其中以3.0毫克/公斤動物向動物投與RNAi構建體或組成物，如實例中所述。

【0170】 在一些實施方式中，經由長效注射投與。長效注射可以在延長的時間段內以一致方式釋放RNAi構建體。因此，長效注射可減少獲得希望的效果（例如，希望的TTR抑制、或治療性或預防性效果）所需的給藥頻率。長效注射還可以提供更一致的血清濃度。長效注射可包括皮下注射或肌肉注射。在一些實施方式中，長效注射為皮下注射。

【0171】 在一些實施方式中，經由泵投與。泵可為外部泵或手術植入泵。在某些實施方式中，泵為皮下植入滲透泵。在其他實施方式中，泵為輸注泵。輸注泵可用於靜脈內、皮下、動脈或硬膜外輸注。在較佳的實施方式中，輸注泵為皮下輸注泵。在其他實施方式中，泵為將RNAi構建體遞送至受試者的手術植入泵。

【0172】 可以基於是否希望局部或全身治療並基於待治療的區域來選擇投與方式。可以選擇投與途徑和投與部位以增強靶向。

【0173】 該等方法和用途包括向哺乳動物（例如人）投與包含靶向哺乳動物細胞中的TTR基因的RNAi構建體（例如，siRNA）的組成物，並且維持哺乳動物足夠時間以獲得TTR基因的mRNA轉錄物的降解，從而抑制TTR基因在哺乳動物中的表現。可以藉由本領域已知或本文所述之任何方法在獲自投與了RNAi構建體的受試者的樣本中評估基因表現和/或蛋白質表現的降低。在一個實施方式中，將組織樣本用作用於監測TTR基因和/或蛋白質表現降低的組織材料。在另一個實施方式中，將血液樣本用作用於監測TTR基因和/或蛋白質表現降低的組織材料。

【0174】 在一些實施方式中，可以藉由執行5'-RACE或本領域中已知方案的修改來評估在投與RNAi構建體後RISC介導的靶mRNA（例如，TTR mRNA）體內切割的驗證（Lasham A等人, (2010) *Nucleic Acid Res.*[核酸研究], 38 (3) p-e19；和Zimmermann等人 (2006) *Nature* [自然] 441: 111-4）。

【0175】 應當理解，本文揭露的所有核糖核酸序列可以藉由用胸腺嘧啶鹼基取代序列中的尿嘧啶鹼基而轉化為去氧核糖核酸序列。同樣地，本文揭露的所有去氧核糖核酸序列可以藉由用尿嘧啶鹼基取代序列中的胸腺嘧啶鹼基而轉化為核糖核酸序列。本發明涵蓋了去氧核糖核酸序列、核糖核酸序列和含有本文揭露的所有序列的去氧核糖核苷酸和核糖核苷酸的混合物的序列。

【0176】 另外地，本文揭露的任何核酸序列可以用化學修飾的任何組合進行修飾。熟悉該項技術者將容易理解，在某些情況下，描述經修飾的多核苷酸的命名如「RNA」或「DNA」為任意的。例如，可以將包含在核糖上具有2'-OH取代基的核苷酸和胸腺嘧啶鹼基的多核苷酸描述為具有經修飾的糖的DNA分子（對於DNA的天然2'-H為2'-OH）或描述為具有經修飾的鹼基的RNA分子（對於RNA的天然尿嘧啶為胸腺嘧啶（甲基化尿嘧啶））。

【0177】 因此，本文提供的核酸序列（包括但不限於序列表中闡述的那些）旨在涵蓋含有天然或經修飾的RNA和/或DNA的任何組合的核酸，包括但不限於具有經修飾核苷鹼基的這樣的核酸。作為另外的實例且為非限制性，具有序列「ATCGATCG」的多核苷酸涵蓋具有經修飾或未經修飾的這樣的序列的任何多核苷酸，包括但不限於包含RNA鹼基的這樣的化合物，如具有序列「AUCGAUCG」的那些化合物、和具有一些DNA鹼基和一些RNA鹼基的那些化合物（如「AUCGATCG」）、以及具有其他經修飾鹼基的多核苷酸（如「ATmeCGAUCG」），其中meC指示在5-位置處包含甲基基團的胞嘧啶鹼基。

【0178】 在一些實施方式中，本發明如下：

【0179】 1.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：
SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、

70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、
104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、
132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、
160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、
188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、210、212、214、
216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、
244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、264、266、268、270、
272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、294、296、298、
300、302、304、306、308、310、312、314、316、318、320、322、324、326、
328、330、332、334、336、338、340、342、344、346、348、350、352、354、
356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、
384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、
412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、
440、442、444、446、448、450、452、454、456、458、460、462、464、466、
468、470、472、474、476、478、480、482、484、486、488、490、492、494、
496、498、500、502、504、506、508、510、512、514、516、518、520、522、
524、526、528、530、532、534、536、538、540、542、544、546、548、550、
552、554、556、558、560、562、564、566、568、570、572、574、576、578、
580、582、584、586、588、590、592、594、596、598、600、602、604、606、
608、610、612、614、616、618、620、622、624、626、628、630、632、634、
636、638、640、642、644、646、648、650、652、654、656、658、660、662、
664、666、668、670、672、674、676、678、680、682、684、686、688、690、
692、694、696、698、700、702、704、706、708、710、712、714、716、718、
720、722、724、726、728、730、732、734、736、738、740、742、744、746、

748、750、752、754、756、758、760、762、764、766、768、770、772、774、776、778、780、782、784、786、788、790、792、794、796、798、800、802、804、806、808、810、812、814、816、818、820、822、824、826、828、830、832、834、836、838、840、842、844、846、848、850、852、854、856、858、860、862、864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、1094、1096、1098、1100、1102、1104、1106、1108、1110、1112、1114、1116、1118、1120、1122、1124、1126、1128、1130、或1132，並且其中該RNAi構建體抑制運甲狀腺素蛋白（TTR）mRNA的表現。

【0180】 2.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 18、20、22、24、26、28、584、586、588、590、592、594、1152、1154、1156、1158、1160、1162、1164、1166、1168、1170、1172、1174、1176、1178、1180、1182、1184、1186、1188、1190、1192、1194、1196、1198、1200、1202、1204、1206、1208、1210、1212、或1214。

【0181】 3.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核

苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；1209和1210；1211和1212；或1213和1214。

【0182】 4.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 50、52、54、56、616、618、620、622、1256、1258、1260、1262、1264、1266、1268、或1270。

【0183】 5.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 49和50；51和52；53和54；55和56；615和616；617和618；619和620；621和622；1255和1256；1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；或1269和1270。

【0184】 6.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差

異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 62、64、66、68、70、72、74、628、630、632、634、636、638、640、1276、1278、1280、1282、1284、1286、1288、1290、1292、1294、1296、1298、1300、1302、1304、1306、1308、1310、1312、1314、1316、1318、1320、1322、1324、1326、1328、1330、1332、1334、1336、1338、1340、1342、1344、1346、或1348。

【0185】 7.一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；1275和1276；1277和1278；1279和1280；1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；1317和1318；1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；1329和1330；1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；1341和1342；1343和1344；1345和1346；或1347和1348。

【0186】 8.如實施方式1-7中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股包含與該反義股的序列充分互補以形成長度為約15至約30個鹼基對的雙股體區的序列。

【0187】 9.如實施方式1-8中任一項所述之RNAi構建體，其中該雙股體區的長度為約17至約24個鹼基對。

【0188】 10.如實施方式1-9中任一項所述之RNAi構建體，其中該雙股體區

的長度為約19至約21個鹼基對。

【0189】 11.如實施方式10所述之RNAi構建體，其中該雙股體區的長度為19個鹼基對。

【0190】 12.如實施方式1-11中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各為約15至約30個核苷酸。

【0191】 13.如實施方式12所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各為約19至約27個核苷酸。

【0192】 14.如實施方式13所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各為約21至約25個核苷酸。

【0193】 15.如實施方式14所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各為約21至約23個核苷酸。

【0194】 16.如實施方式1-15中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含至少一個鈍端。

【0195】 17. 如實施方式1-16中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含具有1至4個未配對核苷酸的至少一個核苷酸突出端。

【0196】 18.如實施方式17所述之RNAi構建體，其中該核苷酸突出端具有兩個未配對核苷酸。

【0197】 19.如實施方式17或18所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該有義股的3'端、該反義股的3'端或該有義股和該反義股兩者的3'端處包含核苷酸突出端。

【0198】 20.如實施方式17-19中任一項所述之RNAi構建體，其中該核苷酸突出端包含5'-UU-3'二核苷酸或5'-dTdT-3'二核苷酸。

【0199】 21.如實施方式1-20中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體包含至少一個經修飾的核苷酸。

【0200】 22.如實施方式21所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸為經2'-修飾的核苷酸。

【0201】 23.如實施方式21所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸係經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-O-烯丙基修飾的核苷酸、雙環核酸（BNA）、乙二醇核酸、反向鹼基、或其組合。

【0202】 24.如實施方式23所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸係經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、或其組合。

【0203】 25.如實施方式21-24中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。

【0204】 26.如實施方式25所述之RNAi構建體，其中該等經修飾的核苷酸係經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、或其組合。

【0205】 27.如實施方式1-26中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含至少一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【0206】 28.如實施方式27所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該反義股的3'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【0207】 29.如實施方式27所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該反義股的3'端和5'端兩者處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在該有義股5'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【0208】 30.如實施方式1-29中任一項所述之RNAi構建體，其中該反義股包含以下的序列：SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、

98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、
126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、
154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、
182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、
210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、
238、240、242、244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、264、
266、268、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、
294、296、298、300、302、304、306、308、310、312、314、316、318、320、
322、324、326、328、330、332、334、336、338、340、342、344、346、348、
350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、
378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、
406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、
434、436、438、440、442、444、446、448、450、452、454、456、458、460、
462、464、466、468、470、472、474、476、478、480、482、484、486、488、
490、492、494、496、498、500、502、504、506、508、510、512、514、516、
518、520、522、524、526、528、530、532、534、536、538、540、542、544、
546、548、550、552、554、556、558、560、562、564、或566。

【0209】 31.如實施方式1-29中任一項所述之RNAi構建體，其中該反義股
包含以下的序列：SEQ ID NO: 568、570、572、574、576、578、580、582、584、
586、588、590、592、594、596、598、600、602、604、606、608、610、612、
614、616、618、620、622、624、626、628、630、632、634、636、638、640、
642、644、646、648、650、652、654、656、658、660、662、664、666、668、
670、672、674、676、678、680、682、684、686、688、690、692、694、696、
698、700、702、704、706、708、710、712、714、716、718、720、722、724、

726、728、730、732、734、736、738、740、742、744、746、748、750、752、
754、756、758、760、762、764、766、768、770、772、774、776、778、780、
782、784、786、788、790、792、794、796、798、800、802、804、806、808、
810、812、814、816、818、820、822、824、826、828、830、832、834、836、
838、840、842、844、846、848、850、852、854、856、858、860、862、864、
866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、
894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、
922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、
950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、
978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、
1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、
1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、
1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、
1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、1094、1096、1098、1100、
1102、1104、1106、1108、1110、1112、1114、1116、1118、1120、1122、1124、
1126、1128、1130、或1132。

【0210】 32.如實施方式1-31中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股包含以下的序列：SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、
25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、
61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、
97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、
127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、
155、157、159、161、163、165、167、169、171、173、175、177、179、181、
183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、203、205、207、209、

211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、
239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、
267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、
295、297、299、301、303、305、307、309、311、313、315、317、319、321、
323、325、327、329、331、333、335、337、339、341、343、345、347、349、
351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、
379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、
407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、
435、437、439、441、443、445、447、449、451、453、455、457、459、461、
463、465、467、469、471、473、475、477、479、481、483、485、487、489、
491、493、495、497、499、501、503、505、507、509、511、513、515、517、
519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、543、545、
547、549、551、553、555、557、559、561、563、或565。

【0211】 33.如實施方式1-31中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股
包含以下的序列：SEQ ID NO: 567、569、571、573、575、577、579、581、583、
585、587、589、591、593、595、597、599、601、603、605、607、609、611、
613、615、617、619、621、623、625、627、629、631、633、635、637、639、
641、643、645、647、649、651、653、655、657、659、661、663、665、667、
669、671、673、675、677、679、681、683、685、687、689、691、693、695、
697、699、701、703、705、707、709、711、713、715、717、719、721、723、
725、727、729、731、733、735、737、739、741、743、745、747、749、751、
753、755、757、759、761、763、765、767、769、771、773、775、777、779、
781、783、785、787、789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、
809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、

837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857、859、861、863、
865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、
893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、
921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、
949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、
977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、
1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、
1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、
1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、
1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、1093、1095、1097、1099、
1101、1103、1105、1107、1109、1111、1113、1115、1117、1119、1121、1123、
1125、1127、1129、1131、1133、1135、1137、1139、1141、1143、1145、1147、
1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、
1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191、1193、1195、
1197、1199、1201、1203、1205、1207、1209、1211、1213、1215、1217、1219、
1221、1223、1225、1227、1229、1231、1233、1235、1237、1239、1241、1243、
1245、1247、1249、1251、1253、1255、1257、1259、1261、1263、1265、1267、
1269、1271、1273、1275、1277、1279、1281、1283、1285、1287、1289、1291、
1293、1295、1297、1299、1301、1303、1305、1307、1309、1311、1313、1315、
1317、1319、1321、1323、1325、1327、1329、1331、1333、1335、1337、1339、
1341、1343、1345、1347、1349、1351、1353、1355、1357、1359、1361、1363、
1365、1367、1369、1371、1373、1375、1377、1379、1381、1383、1385、1387、
1389、1391、1393、1395、1397、1399、1401、1403、1405、1407、1409、1411、
1413、1415、1417、1419、1421、1423、1425、1427、1429、1431、1433、1435、

1437、1439、1441、1443、1445、1447、1449、1451、1453、1455、1457、1459、
1461、1463、1465、1467、1469、1471、1473、1475、1477、1479、1481、1483、
1485、1487、1489、1491、1493、1495、1497、1499、1501、1503、1505、1507、
1509、1511、1513、1515、1517、1519、1521、1523、1525、1527、1529、1531、
1533、1535、1537、1539、1541、1543、1545、1547、1549、1551、1553、1555、
1557、1559、1561、1563、1565、1567、1569、1571、1573、1575、1577、1579、
1581、1583、1585、1587、1589、1591、1593、1595、1597、1599、1601、1603、
1605、1607、1609、1611、1613、1615、或1617。

【0212】 34.如實施方式1-33中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體係以下的雙股體化合物中的任一種：SEQ ID NO: 1和2；3和4；5和6；7和8；9和10；11和12；13和14；15和16；17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；29和30；31和32；33和34；35和36；37和38；39和40；41和42；43和44；45和46；47和48；49和50；51和52；53和54；55和56；57和58；59和60；61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；75和76；77和78；79和80；81和82；83和84；85和86；87和88；89和90；91和92；93和94；95和96；97和98；99和100；101和102；103和104；105和106；107和108；109和110；111和112；113和114；115和116；117和118；119和120；121和122；123和124；125和126；127和128；129和130；131和132；133和134；135和136；137和138；139和140；141和142；143和144；145和146；147和148；149和150；151和152；153和154；155和156；157和158；159和160；161和162；163和164；165和166；167和168；169和170；171和172；173和174；175和176；177和178；179和180；181和182；183和184；185和186；187和188；189和190；191和192；193和194；195和196；197和198；199和200；201和202；203和204；205和206；207和208；209和210；211和212；213和214；215和216；217和218；219和220；221和222；223和224；

225和226；227和228；229和230；231和232；233和234；235和236；237和238；
239和240；241和242；243和244；245和246；247和248；249和250；251和252；
253和254；255和256；257和258；259和260；261和262；263和264；265和266；
267和268；269和270；271和272；273和274；275和276；277和278；279和280；
281和282；283和284；285和286；287和288；289和290；291和292；293和294；
295和296；297和298；299和300；301和302；303和304；305和306；307和308；
309和310；311和312；313和314；315和316；317和318；319和320；321和322；
323和324；325和326；327和328；329和330；331和332；333和334；335和336；
337和338；339和340；341和342；343和344；345和346；347和348；349和350；
351和352；353和354；355和356；357和358；359和360；361和362；363和364；
365和366；367和368；369和370；371和372；373和374；375和376；377和378；
379和380；381和382；383和384；385和386；387和388；389和390；391和392；
393和394；395和396；397和398；399和400；401和402；403和404；405和406；
407和408；409和410；411和412；413和414；415和416；417和418；419和420；
421和422；423和424；425和426；427和428；429和430；431和432；433和434；
435和436；437和438；439和440；441和442；443和444；445和446；447和448；
449和450；451和452；453和454；455和456；457和458；459和460；461和462；
463和464；465和466；467和468；469和470；471和472；473和474；475和476；
477和478；479和480；481和482；483和484；485和486；487和488；489和490；
491和492；493和494；495和496；497和498；499和500；501和502；503和504；
505和506；507和508；509和510；511和512；513和514；515和516；517和518；
519和520；521和522；523和524；525和526；527和528；529和530；531和532；
533和534；535和536；537和538；539和540；541和542；543和544；545和546；
547和548；549和550；551和552；553和554；555和556；557和558；559和560；

561和562；563和564；或565和566。

【0213】 35.如實施方式1-33中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體係以下的雙股體化合物中的任一種：SEQ ID NO: 567和568；569和570；571和572；573和574；575和576；577和578；579和580；581和582；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；595和596；597和598；599和600；601和602；603和604；605和606；607和608；609和610；611和612；613和614；615和616；617和618；619和620；621和622；623和624；625和626；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；641和642；643和644；645和646；647和648；649和650；651和652；653和654；655和656；657和658；659和660；661和662；663和664；665和666；667和668；669和670；671和672；673和674；675和676；677和678；679和680；681和682；683和684；685和686；687和688；689和690；691和692；693和694；695和696；697和698；699和700；701和702；703和704；705和706；707和708；709和710；711和712；713和714；715和716；717和718；719和720；721和722；723和724；725和726；727和728；729和730；731和732；733和734；735和736；737和738；739和740；741和742；743和744；745和746；747和748；749和750；751和752；753和754；755和756；757和758；759和760；761和762；763和764；765和766；767和768；769和770；771和772；773和774；775和776；777和778；779和780；781和782；783和784；785和786；787和788；789和790；791和792；793和794；795和796；797和798；799和800；801和802；803和804；805和806；807和808；809和810；811和812；813和814；815和816；817和818；819和820；821和822；823和824；825和826；827和828；829和830；831和832；833和834；835和836；837和838；839和840；841和842；843和844；845和846；847和848；849和850；851和852；853和854；855和856；857和858；859和860；861和862；863和864；865

和866；867和868；869和870；871和872；873和874；875和876；877和878；879
和880；881和882；883和884；885和886；887和888；889和890；891和892；893
和894；895和896；897和898；899和900；901和902；903和904；905和906；907
和908；909和910；911和912；913和914；915和916；917和918；919和920；921
和922；923和924；925和926；927和928；929和930；931和932；933和934；935
和936；937和938；939和940；941和942；943和944；945和946；947和948；949
和950；951和952；953和954；955和956；957和958；959和960；961和962；963
和964；965和966；967和968；969和970；971和972；973和974；975和976；977
和978；979和980；981和982；983和984；985和986；987和988；989和990；991
和992；993和994；995和996；997和998；999和1000；1001和1002；1003和1004；
1005和1006；1007和1008；1009和1010；1011和1012；1013和1014；1015和1016；
1017和1018；1019和1020；1021和1022；1023和1024；1025和1026；1027和1028；
1029和1030；1031和1032；1033和1034；1035和1036；1037和1038；1039和1040；
1041和1042；1043和1044；1045和1046；1047和1048；1049和1050；1051和1052；
1053和1054；1055和1056；1057和1058；1059和1060；1061和1062；1063和1064；
1065和1066；1067和1068；1069和1070；1071和1072；1073和1074；1075和1076；
1077和1078；1079和1080；1081和1082；1083和1084；1085和1086；1087和1088；
1089和1090；1091和1092；1093和1094；1095和1096；1097和1098；1099和1100；
1101和1102；1103和1104；1105和1106；1107和1108；1109和1110；1111和1112；
1113和1114；1115和1116；1117和1118；1119和1120；1121和1122；1123和1124；
1125和1126；1127和1128；1129和1130；1131和1132；1133和1134；1135和1136；
1137和1138；1139和1140；1141和1142；1143和1144；1145和1146；1147和1148；
1149和1150；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；
1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；

1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；
1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；
1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；
1209和1210；1211和1212；1213和1214；1215和1216；1217和1218；1219和1220；
1221和1222；1223和1224；1225和1226；1227和1228；1229和1230；1231和1232；
1233和1234；1235和1236；1237和1238；1239和1240；1241和1242；1243和1244；
1245和1246；1247和1248；1249和1250；1251和1252；1253和1254；1255和1256；
1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；
1269和1270；1271和1272；1273和1274；1275和1276；1277和1278；1279和1280；
1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；
1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；
1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；
1317和1318；1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；
1329和1330；1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；
1341和1342；1343和1344；1345和1346；1347和1348；1349和1350；1351和1352；
1353和1354；1355和1356；1357和1358；1359和1360；1361和1362；1363和1364；
1365和1366；1367和1368；1369和1370；1371和1372；1373和1374；1375和1376；
1377和1378；1379和1380；1381和1382；1383和1384；1385和1386；1387和1388；
1389和1390；1391和1392；1393和1394；1395和1396；1397和1398；1399和1400；
1401和1402；1403和1404；1405和1406；1407和1408；1409和1410；1411和1412；
1413和1414；1415和1416；1417和1418；1419和1420；1421和1422；1423和1424；
1425和1426；1427和1428；1429和1430；1431和1432；1433和1434；1435和1436；
1437和1438；1439和1440；1441和1442；1443和1444；1445和1446；1447和1448；
1449和1450；1451和1452；1453和1454；1455和1456；1457和1458；1459和1460；

1461和1462；1463和1464；1465和1466；1467和1468；1469和1470；1471和1472；
1473和1474；1475和1476；1477和1478；1479和1480；1481和1482；1483和1484；
1485和1486；1487和1488；1489和1490；1491和1492；1493和1494；1495和1496；
1497和1498；1499和1500；1501和1502；1503和1504；1505和1506；1507和1508；
1509和1510；1511和1512；1513和1514；1515和1516；1517和1518；1519和1520；
1521和1522；1523和1524；1525和1526；1527和1528；1529和1530；1531和1532；
1533和1534；1535和1536；1537和1538；1539和1540；1541和1542；1543和1544；
1545和1546；1547和1548；1549和1550；1551和1552；1553和1554；1555和1556；
1557和1558；1559和1560；1561和1562；1563和1564；1565和1566；1567和1568；
1569和1570；1571和1572；1573和1574；1575和1576；1577和1578；1579和1580；
1581和1582；1583和1584；1585和1586；1587和1588；1589和1590；1591和1592；
1593和1594；1595和1596；1597和1598；1599和1600；1601和1602；1603和1604；
1605和1606；1607和1608；1609和1610；1611和1612；1613和1614；1615和1616；
或1617和1618。

【0214】 36.如實施方式1-35中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體係小干擾RNA（siRNA）。

【0215】 37.如實施方式1-36中任一項所述之RNAi構建體，其中與已經與對照RNAi構建體一起孵育的肝臟細胞中的TTR表現水平相比，在與該RNAi構建體一起孵育之後，該RNAi構建體降低肝臟細胞中的TTR表現水平。

【0216】 38.如實施方式37所述之RNAi構建體，其中該等肝臟細胞係Hep3B或HepG2細胞。

【0217】 39.如實施方式1-38中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在體外在Hep3B細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。

【0218】 40.如實施方式1-38中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構

建體在體外在HepG2細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。

【0219】 41.如實施方式1-40中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體以小於約5 nM的IC50抑制TTR在Hep3B細胞中的表現。

【0220】 42.如實施方式1-40中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體以小於約5 nM的IC50抑制TTR在HepG2細胞中的表現。

【0221】 43.如實施方式1-42中任一項所述之RNAi構建體，其進一步包含與肝臟細胞表面上表現的一或多種蛋白質結合的配體。

【0222】 44.一種組成物，其包含如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體和藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑。

【0223】 45.一種用於在有需要的患者中減少TTR表現之方法，該方法包括向該患者投與如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物。

【0224】 46.如實施方式45所述之方法，其中與未接受該RNAi構建體的患者中的TTR表現水平相比，在投與有效量的該RNAi構建體後的患者中TTR在肝細胞中的表現水平降低。

【0225】 47.如實施方式45-46中任一項所述之方法，其中該患者患有運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）。

【0226】 48.一種用於減少體內TTR表現之方法，該方法包括向動物投與如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物。

【0227】 49.如實施方式48所述之方法，其中該TTR係人TTR（hTTR）。

【0228】 50.如實施方式48或49中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少45%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0229】 51.如實施方式50所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少

50%、至少60%、或至少70%。

【0230】 52.如實施方式48或49中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少60%，並且其中以1.0毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0231】 53.如實施方式52所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少80%。

【0232】 54.如實施方式48或49中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少90%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0233】 55.如實施方式52所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少95%。

【0234】 56.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物，其用於在治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）中使用。

【0235】 57.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物，其用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現降低至少45%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0236】 58.如實施方式57所述之RNAi構建體或組成物，其中將該TTR的表現敲低至少50%、至少60%、或至少70%。

【0237】 59.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物，其用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現降低至少60%，並且其中以1.0毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0238】 60.如實施方式59所述之RNAi構建體或組成物，其中將該TTR的

表現敲低至少80%。

【0239】 61.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物，其用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現降低至少90%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0240】 62.如實施方式61所述之RNAi構建體或組成物，其中將該TTR的表現敲低至少95%。

【0241】 63.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物在製造用於治療運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）的藥物中之用途。

【0242】 64.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物在製造用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現降低至少45%的藥物中之用途，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0243】 65.如實施方式64所述之用途，其中將該TTR的表現敲低至少50%、至少60%、或至少70%。

【0244】 66.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物在製造用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現降低至少60%的藥物中之用途，並且其中以1.0毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0245】 67.如實施方式66所述之用途，其中將該TTR的表現敲低至少80%。

【0246】 68.如實施方式1-43中任一項所述之RNAi構建體或如實施方式44所述之組成物在製造用於藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動

物中的表現降低至少90%的藥物中之用途，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【0247】 69.如實施方式68所述之用途，其中將該TTR的表現敲低至少95%。

【0248】 以下實例（包括所進行的實驗和所實現的結果）僅出於說明目的而提供，並且不應解釋為限制所附申請專利範圍的範圍。

實例

實例1：經修飾的TTR siRNA分子的選擇、設計和合成

【0249】 使用人TTR轉錄物（Ensembl轉錄物ENST00000237014.7）的生物資訊學分析來確定靶向運甲狀腺素蛋白（TTR）的治療性siRNA分子的最佳序列的鑒定和選擇。表1顯示鑒定為具有治療特性的序列。在各種序列中，「invAb」係反向無鹼基核苷酸。

【0250】 [表1]. 針對TTR的siRNA序列：

雙股體 編號	有義序列 (5'-3')	SEQ ID NO: (有 義)	反義序列 (5'-3')	SEQ ID NO: (反 義)
D-1000	UUCUUGGCAGGAUGGCUUCU{invAb}	1	AAGAAGCCAUCCUGCCAAGAAUU	2
D-1001	UCUUGGCAGGAUGGCUUCUC{invAb}	3	UGAGAAGCCAUCCUGCCAAGAAUU	4
D-1002	CUUGGCAGGAUGGCUUCUCA{invAb}	5	AUGAGAAGCCAUCCUGCCAAGUU	6
D-1003	UUGGCAGGAUGGCUUCUCAU{invAb}	7	AAUGAGAAGCCAUCCUGCCAAUU	8
D-1004	UGGCAGGAUGGCUUCUCAUC{invAb}	9	AGAUGAGAAGCCAUCCUGCCAUU	10
D-1005	GGCAGGAUGGCUUCUCAUCG{invAb}	11	ACGAUGAGAAGCCAUCCUGCCUU	12
D-1006	GCAGGAUGGCUUCUCAUCGU{invAb}	13	AACGAUGAGAAGCCAUCCUGCUU	14
D-1007	CAGGAUGGCUUCUCAUCGUC{invAb}	15	AGACGAUGAGAAGCCAUCCUGUU	16
D-1008	AGGAUGGCUUCUCAUCGUCU{invAb}	17	AAGACGAUGAGAAGCCAUCCUUU	18
D-1009	GGAUGGCUUCUCAUCGUCUG{invAb}	19	ACAGACGAUGAGAAGCCAUCCUU	20
D-1010	GAUGGCUUCUCAUCGUCUGC{invAb}	21	AGCAGACGAUGAGAAGCCAUCUU	22

D-1011	AUGGCUUCUCAUCGUCUGCU{invAb}	23	AAGCAGACGAUGAGAAGCCAUUU	24
D-1012	UGGCUUCUCAUCGUCUGCUC{invAb}	25	AGAGCAGACGAUGAGAAGCCAUU	26
D-1013	GCUUCUCAUCGUCUGCUCCU{invAb}	27	AAGGAGCAGACGAUGAGAAGCUU	28
D-1014	CUUCUCAUCGUCUGCUCCUC{invAb}	29	AGAGGAGCAGACGAUGAGAAGUU	30
D-1015	UUCUCAUCGUCUGCUCCUCC{invAb}	31	AGGAGGAGCAGACGAUGAGAAUU	32
D-1016	UCUCAUCGUCUGCUCCUCCU{invAb}	33	AAGGAGGAGCAGACGAUGAGAAU	34
D-1017	CUCAUCGUCUGCUCCUCCUC{invAb}	35	AGAGGAGGAGCAGACGAUGAGUU	36
D-1018	CAUCGUCUGCUCCUCCUCUG{invAb}	37	ACAGAGGAGGAGCAGACGAUGUU	38
D-1019	GCUGGACUGGUUUUGUGUC{invAb}	39	AGACACAAAUACCAGUCCAGCUU	40
D-1020	CUGGACUGGUUUUGUGUCU{invAb}	41	AAGACACAAAUACCAGUCCAGUU	42
D-1021	UGGACUGGUUUUGUGUCUG{invAb}	43	UCAGACACAAAUACCAGUCCAUU	44
D-1022	GGACUGGUUUUGUGUCUGA{invAb}	45	AUCAGACACAAAUACCAGUCCUU	46
D-1023	GACUGGUUUUGUGUCUGAG{invAb}	47	ACUCAGACACAAAUACCAGUCUU	48
D-1024	ACUGGUUUUGUGUCUGAGG{invAb}	49	ACCUCAGACACAAAUACCAGUUU	50
D-1025	CUGGUUUUGUGUCUGAGGC{invAb}	51	AGCCUCAGACACAAAUACCAGUU	52
D-1026	UGGUUUUGUGUCUGAGGCU{invAb}	53	AAGCCUCAGACACAAAUACCAUU	54
D-1027	GGUUUUUGUGUCUGAGGCUG{invAb}	55	ACAGCCUCAGACACAAAUACCUU	56
D-1028	UGAAUCCAAGUGUCCUCUGA{invAb}	57	AUCAGAGGACACUUGGAUUCAUU	58
D-1029	GAAUCCAAGUGUCCUCUGAU{invAb}	59	AAUCAGAGGACACUUGGAUUCUU	60
D-1030	AAUCCAAGUGUCCUCUGAUG{invAb}	61	ACAUCAGAGGACACUUGGAUUU	62
D-1031	AUCCAAGUGUCCUCUGAUGG{invAb}	63	ACCAUCAGAGGACACUUGGAUUU	64
D-1032	UCCAAGUGUCCUCUGAUGGU{invAb}	65	AACCAUCAGAGGACACUUGGAUU	66
D-1033	CCAAGUGUCCUCUGAUGGUC{invAb}	67	UGACCAUCAGAGGACACUUGGUU	68
D-1034	CAAGUGUCCUCUGAUGGUCA{invAb}	69	UUGACCAUCAGAGGACACUUGUU	70
D-1035	AAGUGUCCUCUGAUGGUCAA{invAb}	71	UUUGACCAUCAGAGGACACUUUU	72
D-1036	AGUGUCCUCUGAUGGUCAAA{invAb}	73	AUUUGACCAUCAGAGGACACUUU	74
D-1037	UGUCCUCUGAUGGUCAAAGU{invAb}	75	AACUUUGACCAUCAGAGGACAUU	76
D-1038	GUCCUCUGAUGGUCAAAGUU{invAb}	77	AAACUUUGACCAUCAGAGGACUU	78
D-1039	UCCUCUGAUGGUCAAAGUUC{invAb}	79	AGAACUUUGACCAUCAGAGGAUU	80
D-1040	CCUCUGAUGGUCAAAGUUCU{invAb}	81	UAGAACUUUGACCAUCAGAGGUU	82
D-1041	CUCUGAUGGUCAAAGUUCUA{invAb}	83	AUAGAACUUUGACCAUCAGAGUU	84
D-1042	UCUGAUGGUCAAAGUUCUAG{invAb}	85	UCUAGAACUUUGACCAUCAGAUU	86
D-1043	CUGAUGGUCAAAGUUCUAGA{invAb}	87	AUCUAGAACUUUGACCAUCAGUU	88
D-1044	UGAUGGUCAAAGUUCUAGAU{invAb}	89	AAUCUAGAACUUUGACCAUCAUU	90
D-1045	GAUGGUCAAAGUUCUAGAUG{invAb}	91	ACAUCUAGAACUUUGACCAUCUU	92
D-1046	GCCAUUUGCCUCUGGGAAAA{invAb}	93	AUUUUGCCAGAGGCAAAUGGCUU	94
D-1047	CCAUUUGCCUCUGGGAAAAC{invAb}	95	AGUUUUGCCAGAGGCAAAUGGUU	96
D-1048	CAUUUGCCUCUGGGAAAACC{invAb}	97	UGGUUUUGCCAGAGGCAAAUGUU	98
D-1049	AUUUGCCUCUGGGAAAACCA{invAb}	99	AUGGUUUUGCCAGAGGCAAAUUU	100
D-1050	UUUGCCUCUGGGAAAACCAG{invAb}	101	ACUGGUUUUGCCAGAGGCAAAUU	102

D-1051	UUGCCUCUGGGAAAACCAGU{invAb}	103	AACUGGUUUUCCCAGAGGCAAUU	104
D-1052	UGCCUCUGGGAAAACCAGUG{invAb}	105	UCACUGGUUUUCCCAGAGGCAAUU	106
D-1053	CUCUGGGAAAACCAGUGAGU{invAb}	107	AACUCACUGGUUUUCCCAGAGUU	108
D-1054	UCUGGGAAAACCAGUGAGUC{invAb}	109	AGACUCACUGGUUUUCCCAGAAUU	110
D-1055	CUGGGAAAACCAGUGAGUCU{invAb}	111	AAGACUCACUGGUUUUCCCAGUU	112
D-1056	UGGGAAAACCAGUGAGUCUG{invAb}	113	ACAGACUCACUGGUUUUCCCAAUU	114
D-1057	GGGAAAACCAGUGAGUCUGG{invAb}	115	UCCAGACUCACUGGUUUUCCCUU	116
D-1058	GGAAAACCAGUGAGUCUGGA{invAb}	117	AUCCAGACUCACUGGUUUUCCCUU	118
D-1059	GAAAACCAGUGAGUCUGGAG{invAb}	119	UCUCCAGACUCACUGGUUUUCCUU	120
D-1060	AAAACCAGUGAGUCUGGAGA{invAb}	121	AUCUCCAGACUCACUGGUUUUUUU	122
D-1061	AAACCAGUGAGUCUGGAGAG{invAb}	123	ACUCUCCAGACUCACUGGUUUUUU	124
D-1062	AACCAGUGAGUCUGGAGAGC{invAb}	125	AGCUCUCCAGACUCACUGGUUUUU	126
D-1063	GUGAGUCUGGAGAGCUGCAU{invAb}	127	AAUGCAGCUCUCCAGACUCACUU	128
D-1064	UGAGUCUGGAGAGCUGCAUG{invAb}	129	ACAUGCAGCUCUCCAGACUCAUU	130
D-1065	GAGUCUGGAGAGCUGCAUGG{invAb}	131	ACCAUGCAGCUCUCCAGACUCUU	132
D-1066	GUCUGGAGAGCUGCAUGGGC{invAb}	133	AGCCAUGCAGCUCUCCAGACUU	134
D-1067	UCUGGAGAGCUGCAUGGGCU{invAb}	135	AAGCCAUGCAGCUCUCCAGAAUU	136
D-1068	CUGGAGAGCUGCAUGGGCUC{invAb}	137	UGAGCCAUGCAGCUCUCCAGUU	138
D-1069	GGAGAGCUGCAUGGGCUCAC{invAb}	139	UGUGAGCCAUGCAGCUCUCCUU	140
D-1070	GAGAGCUGCAUGGGCUCACA{invAb}	141	UUGUGAGCCAUGCAGCUCUCUU	142
D-1071	AGAGCUGCAUGGGCUCACAA{invAb}	143	AUUGUGAGCCAUGCAGCUCUUU	144
D-1072	GAGCUGCAUGGGCUCACAAC{invAb}	145	AGUUGUGAGCCAUGCAGCUCUU	146
D-1073	AGCUGCAUGGGCUCACAACU{invAb}	147	AAGUUGUGAGCCAUGCAGCUCUU	148
D-1074	GCUGCAUGGGCUCACAACUG{invAb}	149	UCAGUUGUGAGCCAUGCAGCUCUU	150
D-1075	CUGCAUGGGCUCACAACUGA{invAb}	151	AUCAGUUGUGAGCCAUGCAGUU	152
D-1076	UGCAUGGGCUCACAACUGAG{invAb}	153	ACUCAGUUGUGAGCCAUGCACUU	154
D-1077	GCAUGGGCUCACAACUGAGG{invAb}	155	UCCUCAGUUGUGAGCCAUGCUCUU	156
D-1078	CAUGGGCUCACAACUGAGGA{invAb}	157	AUCCUCAGUUGUGAGCCAUGUU	158
D-1079	GGCUCACAACUGAGGAGGAA{invAb}	159	AUCCUCCUCAGUUGUGAGCCUU	160
D-1080	GCUCACAACUGAGGAGGAAU{invAb}	161	AAUCCUCCUCAGUUGUGAGCUCU	162
D-1081	CUCACAACUGAGGAGGAAUU{invAb}	163	AAAUCCUCCUCAGUUGUGAGUU	164
D-1082	CACAACUGAGGAGGAAUUUG{invAb}	165	ACAAAUCCUCCUCAGUUGUGUU	166
D-1083	ACAACUGAGGAGGAAUUUGU{invAb}	167	UACAAAUCCUCCUCAGUUGUUU	168
D-1084	CAACUGAGGAGGAAUUUGUA{invAb}	169	AUACAAAUCCUCCUCAGUUGUU	170
D-1085	AACUGAGGAGGAAUUUGUAG{invAb}	171	UCUACAAAUCCUCCUCAGUUUU	172
D-1086	ACUGAGGAGGAAUUUGUAGA{invAb}	173	UUCUACAAAUCCUCCUCAGUUU	174
D-1087	CUGAGGAGGAAUUUGUAGAA{invAb}	175	AUUCUACAAAUCCUCCUCAGUU	176
D-1088	UGAGGAGGAAUUUGUAGAAG{invAb}	177	ACUUCUACAAAUCCUCCUCAUU	178
D-1089	GAGGAGGAAUUUGUAGAAGG{invAb}	179	ACCUUCUACAAAUCCUCCUCUU	180
D-1090	AGGAGGAAUUUGUAGAAGGG{invAb}	181	UCCCUUCUACAAAUCCUCCUUU	182

D-1091	GGAGGAAUUUGUAGAAGGGA{invAb}	183	AUCCCUUCUACAAAUCCUCUU	184
D-1092	GAGGAAUUUGUAGAAGGGAU{invAb}	185	UAUCCCUUCUACAAAUCCUCUU	186
D-1093	GGAAUUUGUAGAAGGGAUUAU{invAb}	187	UAUAUCCCUUCUACAAAUCCUU	188
D-1094	GAAUUUGUAGAAGGGAUAUA{invAb}	189	AUAUAUCCCUUCUACAAAUCCUU	190
D-1095	AAUUUGUAGAAGGGAUAUAC{invAb}	191	UGUAUAUCCCUUCUACAAAUUUU	192
D-1096	AAUUUGUAGAAGGGAUAUAC{invAb}	193	UGUAUAUCCCUUCUACAAAUUUU	194
D-1097	AUUUGUAGAAGGGAUAUACA{invAb}	195	UUGUAUAUCCCUUCUACAAAUUU	196
D-1098	UUUGUAGAAGGGAUAUACAA{invAb}	197	UUUGUAUAUCCCUUCUACAAAUU	198
D-1099	UUGUAGAAGGGAUAUACAAA{invAb}	199	AUUUGUAUAUCCCUUCUACAAUU	200
D-1100	UGUAGAAGGGAUAUACAAAG{invAb}	201	ACUUUGUAUAUCCCUUCUACAUU	202
D-1101	UGUAGAAGGGAUAUACAAAG{invAb}	203	ACUUUGUAUAUCCCUUCUACAUU	204
D-1102	GUAGAAGGGAUAUACAAAGU{invAb}	205	AACUUUGUAUAUCCCUUCUACUU	206
D-1103	UAGAAGGGAUAUACAAAGUG{invAb}	207	ACACUUUGUAUAUCCCUUCUAAU	208
D-1104	AGAAGGGAUAUACAAAGUGG{invAb}	209	UCCACUUUGUAUAUCCCUUCUUU	210
D-1105	GAAGGGAUAUACAAAGUGGA{invAb}	211	UCCACUUUGUAUAUCCCUUCUU	212
D-1106	GAAGGGAUAUACAAAGUGGA{invAb}	213	UCCACUUUGUAUAUCCCUUCUU	214
D-1107	AAGGGAUAUACAAAGUGGAA{invAb}	215	UUCCACUUUGUAUAUCCCUUUU	216
D-1108	AGGGAUAUACAAAGUGGAAA{invAb}	217	AUUCCACUUUGUAUAUCCCUUU	218
D-1109	GGGAUAUACAAAGUGGAAAU{invAb}	219	UAUUCCACUUUGUAUAUCCCUU	220
D-1110	GGAUUAUACAAAGUGGAAAUA{invAb}	221	AUAUUCCACUUUGUAUAUCCUU	222
D-1111	GAUAUACAAAGUGGAAAUAG{invAb}	223	UCUAUUCCACUUUGUAUAUCCUU	224
D-1112	AUAUACAAAGUGGAAAUAGA{invAb}	225	AUCUAUUCCACUUUGUAUAUUU	226
D-1113	UAUACAAAGUGGAAAUAGAC{invAb}	227	UGUCUAUUCCACUUUGUAUAUU	228
D-1114	AUACAAAGUGGAAAUAGACA{invAb}	229	AUGUCUAUUCCACUUUGUAUUU	230
D-1115	AUACAAAGUGGAAAUAGACA{invAb}	231	AUGUCUAUUCCACUUUGUAUUU	232
D-1116	UACAAAGUGGAAAUAGACAC{invAb}	233	AGUGUCUAUUCCACUUUGUAUU	234
D-1117	ACAAAGUGGAAAUAGACACC{invAb}	235	UGGUGUCUAUUCCACUUUGUUU	236
D-1118	CAAAGUGGAAAUAGACACCA{invAb}	237	UUGGUGUCUAUUCCACUUUGUU	238
D-1119	AAGUGGAAAUAGACACCAAA{invAb}	239	AUUUGGUGUCUAUUCCACUUUU	240
D-1120	AAGUGGAAAUAGACACCAAA{invAb}	241	AUUUGGUGUCUAUUCCACUUUU	242
D-1121	AGUGGAAAUAGACACCAAAU{invAb}	243	AAUUUGGUGUCUAUUCCACUUU	244
D-1122	GUGGAAAUAGACACCAAAUC{invAb}	245	AGAUUUGGUGUCUAUUCCACUU	246
D-1123	UGGAAAUAGACACCAAAUCU{invAb}	247	AAGAUUUGGUGUCUAUUCCAUU	248
D-1124	GGAAAUAGACACCAAAUCUU{invAb}	249	UAAGAUUUGGUGUCUAUUCCUU	250
D-1125	GGAAAUAGACACCAAAUCUU{invAb}	251	UAAGAUUUGGUGUCUAUUCCUU	252
D-1126	GAAAUAGACACCAAAUCUUA{invAb}	253	AUAAGAUUUGGUGUCUAUUUCUU	254
D-1127	AAAUAGACACCAAAUCUUAC{invAb}	255	AGUAAGAUUUGGUGUCUAUUUUU	256
D-1128	AAUAGACACCAAAUCUUACU{invAb}	257	AAGUAAGAUUUGGUGUCUAUUUU	258
D-1129	AUAGACACCAAAUCUUACUG{invAb}	259	ACAGUAAGAUUUGGUGUCUAUUU	260
D-1130	AUAGACACCAAAUCUUACUG{invAb}	261	ACAGUAAGAUUUGGUGUCUAUUU	262

D-1131	UAGACACCAAUCUUACUGG{invAb}	263	UCCAGUAAGAUUUGGUGUCUAAU	264
D-1132	AGACACCAAUCUUACUGGA{invAb}	265	UCCAGUAAGAUUUGGUGUCUUU	266
D-1133	CACUUGGCAUCUCCCCAUUC{invAb}	267	AGAAUGGGGAGAUGCCAAGUGUU	268
D-1134	ACUUGGCAUCUCCCCAUUCC{invAb}	269	UGGAAUGGGGAGAUGCCAAGUUU	270
D-1135	ACUUGGCAUCUCCCCAUUCC{invAb}	271	UGGAAUGGGGAGAUGCCAAGUUU	272
D-1136	CUUGGCAUCUCCCCAUUCCA{invAb}	273	AUGGAAUGGGGAGAUGCCAAGUU	274
D-1137	UUGGCAUCUCCCCAUUCCA{invAb}	275	AAUGGAAUGGGGAGAUGCCAAUU	276
D-1138	UGGCAUCUCCCCAUUCCAUG{invAb}	277	UCAUGGAAUGGGGAGAUGCCAUU	278
D-1139	GGCAUCUCCCCAUUCCAUGA{invAb}	279	AUCAUGGAAUGGGGAGAUGCCUU	280
D-1140	GGCAUCUCCCCAUUCCAUGA{invAb}	281	AUCAUGGAAUGGGGAGAUGCCUU	282
D-1141	GCAUCUCCCCAUUCCAUGAG{invAb}	283	ACUCAUGGAAUGGGGAGAUGCUU	284
D-1142	CAUCUCCCCAUUCCAUGAGC{invAb}	285	UGCUC AUGGAAUGGGGAGAUUU	286
D-1143	AUCUCCCCAUUCCAUGAGCA{invAb}	287	AUGCUC AUGGAAUGGGGAGAUUU	288
D-1144	UCUCCCCAUUCCAUGAGCAU{invAb}	289	AAUGCUC AUGGAAUGGGGAGAUU	290
D-1145	UCUCCCCAUUCCAUGAGCAU{invAb}	291	AAUGCUC AUGGAAUGGGGAGAUU	292
D-1146	CUCCCCAUUCCAUGAGCAUG{invAb}	293	ACAUGCUC AUGGAAUGGGGAGUU	294
D-1147	UCCCCAUUCCAUGAGCAUGC{invAb}	295	UGCAUGCUC AUGGAAUGGGGAGUU	296
D-1148	CCCAUCCAUGAGCAUGCA{invAb}	297	AUGCAUGCUC AUGGAAUGGGGAGUU	298
D-1149	CCAUCCAUGAGCAUGCAGA{invAb}	299	AUCUGCAUGCUC AUGGAAUGGUAU	300
D-1150	CCAUCCAUGAGCAUGCAGA{invAb}	301	AUCUGCAUGCUC AUGGAAUGGUAU	302
D-1151	CAUCCAUGAGCAUGCAGAG{invAb}	303	ACUCUGCAUGCUC AUGGAAUGGUAU	304
D-1152	AUCCAUGAGCAUGCAGAGG{invAb}	305	ACCUCUGCAUGCUC AUGGAAUUU	306
D-1153	UCCAUGAGCAUGCAGAGGU{invAb}	307	AACCUCUGCAUGCUC AUGGAAUU	308
D-1154	UCCAUGAGCAUGCAGAGGUG{invAb}	309	ACACCUCUGCAUGCUC AUGGAAUU	310
D-1155	CCAUGAGCAUGCAGAGGUGG{invAb}	311	ACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	312
D-1156	CAUGAGCAUGCAGAGGUGGU{invAb}	313	UACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	314
D-1157	AUGAGCAUGCAGAGGUGGUA{invAb}	315	AUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	316
D-1158	UGAGCAUGCAGAGGUGGUAU{invAb}	317	AAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	318
D-1159	GAGCAUGCAGAGGUGGUAUU{invAb}	319	AAAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	320
D-1160	AGCAUGCAGAGGUGGUAUUC{invAb}	321	UGAAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	322
D-1161	GCAUGCAGAGGUGGUAUUCA{invAb}	323	AUGAAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	324
D-1162	CAUGCAGAGGUGGUAUUCAC{invAb}	325	UGUGAAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	326
D-1163	AUGCAGAGGUGGUAUUCACA{invAb}	327	AUGUGAAUACCACCUCUGCAUGCUC AUGGUAU	328
D-1164	AGAGGUGGUAUUCACAGCCA{invAb}	329	UUGGCUGUGAAUACCACCUCUUU	330
D-1165	GAGGUGGUAUUCACAGCCAA{invAb}	331	AUUGGCUGUGAAUACCACCUCUUU	332
D-1166	AGGUGGUAUUCACAGCCAAC{invAb}	333	AGUUGGCUGUGAAUACCACCUCUUU	334
D-1167	GGUGGUAUUCACAGCCAACG{invAb}	335	UCGUUGGCUGUGAAUACCACCUCUUU	336
D-1168	GCCGCCUGCUGAGCCCCUA{invAb}	337	AUAGGGGCUCAGCAGGGCGGCUU	338
D-1169	CCGCCUGCUGAGCCCCUAC{invAb}	339	AGUAGGGGCUCAGCAGGGCGGCUU	340
D-1170	CGCCCUGCUGAGCCCCUACU{invAb}	341	AAGUAGGGGCUCAGCAGGGCGGCUU	342

D-1171	GCCUGCUGAGCCCCUACUC{invAb}	343	AGAGUAGGGGCUCAGCAGGGCUU	344
D-1172	CCCUGCUGAGCCCCUACUCC{invAb}	345	AGGAGUAGGGGCUCAGCAGGGUU	346
D-1173	CCUGCUGAGCCCCUACUCCU{invAb}	347	UAGGAGUAGGGGCUCAGCAGGUU	348
D-1174	CUGCUGAGCCCCUACUCCUA{invAb}	349	AUAGGAGUAGGGGCUCAGCAGUU	350
D-1175	UGCUGAGCCCCUACUCCUAU{invAb}	351	AAUAGGAGUAGGGGCUCAGCAUU	352
D-1176	GCUGAGCCCCUACUCCUAUU{invAb}	353	AAAUAGGAGUAGGGGCUCAGCUU	354
D-1177	CUGAGCCCCUACUCCUAUUC{invAb}	355	AGAAUAGGAGUAGGGGCUCAGUU	356
D-1178	UGAGCCCCUACUCCUAUUC{invAb}	357	UGGAAUAGGAGUAGGGGCUCAUU	358
D-1179	GAGCCCCUACUCCUAUUC{invAb}	359	AUGGAAUAGGAGUAGGGGCUCUU	360
D-1180	AGCCCCUACUCCUAUUC{invAb}	361	AGUGGAAUAGGAGUAGGGGCUUU	362
D-1181	GCCCCUACUCCUAUUC{invAb}	363	UGGUGGAAUAGGAGUAGGGGCUU	364
D-1182	CCCCUACUCCUAUUC{invAb}	365	AUGGUGGAAUAGGAGUAGGGGUU	366
D-1183	CCCUACUCCUAUUC{invAb}	367	AGUGGUGGAAUAGGAGUAGGGUU	368
D-1184	CCUACUCCUAUUC{invAb}	369	ACGUGGUGGAAUAGGAGUAGGUU	370
D-1185	CUACUCCUAUUC{invAb}	371	ACCGUGGUGGAAUAGGAGUAGUU	372
D-1186	UACUCCUAUUC{invAb}	373	AGCCGUGGUGGAAUAGGAGUAUU	374
D-1187	ACUCCUAUUC{invAb}	375	AAGCCGUGGUGGAAUAGGAGUUU	376
D-1188	CUCUACUCCUAUUC{invAb}	377	ACAGCCGUGGUGGAAUAGGAGUU	378
D-1189	UCCUAUUC{invAb}	379	AACAGCCGUGGUGGAAUAGGAUU	380
D-1190	CCUAUUC{invAb}	381	AGACAGCCGUGGUGGAAUAGGUU	382
D-1191	CUAUUC{invAb}	383	ACGACAGCCGUGGUGGAAUAGUU	384
D-1192	UAUUC{invAb}	385	AACGACAGCCGUGGUGGAAUAUU	386
D-1193	AUUC{invAb}	387	UGACGACAGCCGUGGUGGAAUUU	388
D-1194	UUC{invAb}	389	AUGACGACAGCCGUGGUGGAAUU	390
D-1195	UCC{invAb}	391	AGUGACGACAGCCGUGGUGGAAUU	392
D-1196	CCACCACGGCUGUCGUCACC{invAb}	393	UGGUGACGACAGCCGUGGUGGUU	394
D-1197	CACCACGGCUGUCGUCACCA{invAb}	395	UUGGUGACGACAGCCGUGGUGUU	396
D-1198	ACCACGGCUGUCGUCACCAA{invAb}	397	AUUGGUGACGACAGCCGUGGUUU	398
D-1199	CCACGGCUGUCGUCACCAAU{invAb}	399	AAUUGGUGACGACAGCCGUGGUU	400
D-1200	CACGGCUGUCGUCACCAAUC{invAb}	401	AGAUUGGUGACGACAGCCGUGUU	402
D-1201	ACGGCUGUCGUCACCAAUCC{invAb}	403	AGGAUUGGUGACGACAGCCGUUU	404
D-1202	CGGCUGUCGUCACCAAUCCC{invAb}	405	UGGGAUUGGUGACGACAGCCGUU	406
D-1203	GGCUGUCGUCACCAAUCCCA{invAb}	407	UUGGGAUUGGUGACGACAGCCUU	408
D-1204	GCUGUCGUCACCAAUCCCAA{invAb}	409	AUUGGGAUUGGUGACGACAGCUU	410
D-1205	UGUCGUCACCAAUCCCAAGG{invAb}	411	UCCUUGGGAUUGGUGACGACAUU	412
D-1206	GUCGUCACCAAUCCCAAGGA{invAb}	413	UUCUUGGGAUUGGUGACGACUU	414
D-1207	UCGUCACCAAUCCCAAGGAA{invAb}	415	AUUCUUGGGAUUGGUGACGAUU	416
D-1208	CGUCACCAAUCCCAAGGAAU{invAb}	417	AAUUCUUGGGAUUGGUGACGUU	418
D-1209	CACCAAUCCCAAGGAAUGAG{invAb}	419	ACUCAUUCUUGGGAUUGGUGUU	420
D-1210	ACCAAUCCCAAGGAAUGAGG{invAb}	421	ACCUCAUUCUUGGGAUUGGUUU	422

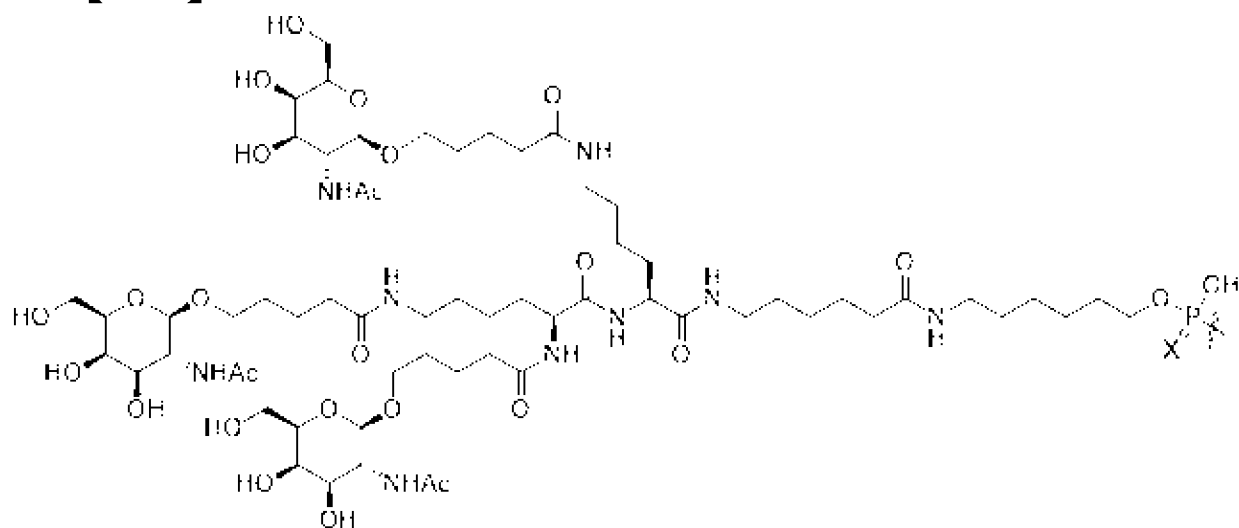
D-1211	CCAAUCCCAAGGAAUGAGGG{invAb}	423	UCCCUCAUUCCUUGGGAUUGGUU	424
D-1212	CAAUCCCAAGGAAUGAGGGA{invAb}	425	AUCCUCAUUCCUUGGGAUUGGUU	426
D-1213	AAUCCCAAGGAAUGAGGGAC{invAb}	427	AGUCCUCAUUCCUUGGGAUUUU	428
D-1214	AUCCCAAGGAAUGAGGGACU{invAb}	429	AAGUCCUCAUUCCUUGGGAUUU	430
D-1215	UCCCAAGGAAUGAGGGACUU{invAb}	431	AAAGUCCUCAUUCCUUGGGAUU	432
D-1216	CCCAAGGAAUGAGGGACUUC{invAb}	433	AGAAGUCCUCAUUCCUUGGGAUU	434
D-1217	CCAAGGAAUGAGGGACUUCU{invAb}	435	AAGAAGUCCUCAUUCCUUGGGAUU	436
D-1218	CAAGGAAUGAGGGACUUCUC{invAb}	437	AGAGAAGUCCUCAUUCCUUGGUU	438
D-1219	CUGAAGGACGAGGGAUGGGA{invAb}	439	AUCCAUCCUCGUCCUUCAGUU	440
D-1220	UGAAGGACGAGGGAUGGGAU{invAb}	441	AAUCCAUCCUCGUCCUUCAUU	442
D-1221	GAAGGACGAGGGAUGGGAUU{invAb}	443	AAAUCCAUCCUCGUCCUUCUU	444
D-1222	AAGGACGAGGGAUGGGAUUU{invAb}	445	AAAUCCAUCCUCGUCCUUUU	446
D-1223	AGGACGAGGGAUGGGAUUUC{invAb}	447	UGAAAUCCAUCCUCGUCCUUU	448
D-1224	GGACGAGGGAUGGGAUUUCA{invAb}	449	AUGAAAUCCAUCCUCGUCCUU	450
D-1225	GACGAGGGAUGGGAUUUCAU{invAb}	451	AAUGAAAUCCAUCCUCGUCCUU	452
D-1226	ACGAGGGAUGGGAUUUCAUG{invAb}	453	ACAUGAAAUCCAUCCUCGUUUU	454
D-1227	CGAGGGAUGGGAUUUCAUGU{invAb}	455	UACAUGAAAUCCAUCCUCGUUU	456
D-1228	GAGGGAUGGGAUUUCAUGUA{invAb}	457	UUACAUGAAAUCCAUCCUCUUU	458
D-1229	AGGGAUGGGAUUUCAUGUAA{invAb}	459	AUUACAUGAAAUCCAUCCUUUU	460
D-1230	GGAUGGGAUUUCAUGUAAC{invAb}	461	AGUUACAUGAAAUCCAUCCUUU	462
D-1231	GGAUGGGAUUUCAUGUAACC{invAb}	463	UGGUACAUGAAAUCCAUCCUU	464
D-1232	GAUGGGAUUUCAUGUAACCA{invAb}	465	UUGGUACAUGAAAUCCAUCCUU	466
D-1233	AUGGGAUUUCAUGUAACCAA{invAb}	467	AUUGGUACAUGAAAUCCAUUUU	468
D-1234	UGGGAUUUCAUGUAACCAAG{invAb}	469	UCUUGGUACAUGAAAUCCAUUU	470
D-1235	GGAUUUCAUGUAACCAAGA{invAb}	471	AUCUUGGUACAUGAAAUCCUUU	472
D-1236	GGAUUUUCAUGUAACCAAGAG{invAb}	473	ACUCUUGGUACAUGAAAUCCUU	474
D-1237	GAUUUCAUGUAACCAAGAGU{invAb}	475	UACUCUUGGUACAUGAAAUCUU	476
D-1238	AUUUCAUGUAACCAAGAGUA{invAb}	477	AUACUCUUGGUACAUGAAAUUU	478
D-1239	UUUCAUGUAACCAAGAGUAU{invAb}	479	AAUACUCUUGGUACAUGAAAUU	480
D-1240	UUCAUGUAACCAAGAGUAUU{invAb}	481	AAAUACUCUUGGUACAUGAAUU	482
D-1241	UCAUGUAACCAAGAGUAUUC{invAb}	483	AGAAUACUCUUGGUACAUGAAUU	484
D-1242	CAUGUAACCAAGAGUAUUCU{invAb}	485	UGGAAUACUCUUGGUACAUGUUU	486
D-1243	AUGUAACCAAGAGUAUUCU{invAb}	487	AUGGAAUACUCUUGGUACAUUU	488
D-1244	UGUAACCAAGAGUAUUCU{invAb}	489	AAUGGAAUACUCUUGGUACAUU	490
D-1245	GUAACCAAGAGUAUUCU{invAb}	491	AAAUGGAAUACUCUUGGUACUU	492
D-1246	UAACCAAGAGUAUUCU{invAb}	493	AAAUGGAAUACUCUUGGUAAUU	494
D-1247	AACCAAGAGUAUUCU{invAb}	495	AAAAUGGAAUACUCUUGGUUUU	496
D-1248	ACCAAGAGUAUUCU{invAb}	497	UAAAAUGGAAUACUCUUGGUUU	498
D-1249	CCAAGAGUAUUCU{invAb}	499	AUAAAAUGGAAUACUCUUGGUUU	500
D-1250	CAAGAGUAUUCU{invAb}	501	AGUAAAAUGGAAUACUCUUGGUUU	502

D-1251	AAGAGUAUCCAUUUUUACU{invAb}	503	UAGUAAAAAUGGAAUACUCUUUU	504
D-1252	AGAGUAUCCAUUUUUACUA{invAb}	505	UUAGUAAAAAUGGAAUACUCUUU	506
D-1253	GAGUAUCCAUUUUUACUAA{invAb}	507	UUUAGUAAAAAUGGAAUACUCUU	508
D-1254	AGUAUCCAUUUUUACUAAA{invAb}	509	AUUUAGUAAAAAUGGAAUACUUU	510
D-1255	UCCAUUUUUACUAAAAGCAGU{invAb}	511	AACUGCUUUAGUAAAAAUGGAUU	512
D-1256	CAUUUUUACUAAAAGCAGUGU{invAb}	513	AACACUGCUUUAGUAAAAAUGUU	514
D-1257	AUUUUUACUAAAAGCAGUGUU{invAb}	515	AAACACUGCUUUAGUAAAAUUU	516
D-1258	UUUUUACUAAAAGCAGUGUUU{invAb}	517	AAAACACUGCUUUAGUAAAAUU	518
D-1259	UUUUACUAAAAGCAGUGUUUU{invAb}	519	AAAAACACUGCUUUAGUAAAAUU	520
D-1260	UUACUAAAAGCAGUGUUUCA{invAb}	521	AUGAAAACACUGCUUUAGUAAUU	522
D-1261	UACUAAAAGCAGUGUUUCAC{invAb}	523	AGUGAAAACACUGCUUUAGUAAU	524
D-1262	ACUAAAAGCAGUGUUUCACC{invAb}	525	AGGUGAAAACACUGCUUUAGUUU	526
D-1263	CUAAAAGCAGUGUUUCACCU{invAb}	527	AAGGUGAAAACACUGCUUUAGUU	528
D-1264	UAAAGCAGUGUUUCACCUC{invAb}	529	UGAGGUGAAAACACUGCUUUAAU	530
D-1265	AAAGCAGUGUUUCACCUCA{invAb}	531	AUGAGGUGAAAACACUGCUUUUU	532
D-1266	AAGCAGUGUUUCACCUCAU{invAb}	533	UAUGAGGUGAAAACACUGCUUUU	534
D-1267	AGUCCAGGCAGAGACAAUAA{invAb}	535	UUUAUUGUCUCUGCCUGGACUUU	536
D-1268	GUCCAGGCAGAGACAAUAAA{invAb}	537	UUUUUUAUUGUCUCUGCCUGGACUU	538
D-1269	UCCAGGCAGAGACAAUAAAA{invAb}	539	AUUUUUUAUUGUCUCUGCCUGGAUU	540
D-1270	CCAGGCAGAGACAAUAAAAC{invAb}	541	UGUUUUUAUUGUCUCUGCCUGGUU	542
D-1271	CAGGCAGAGACAAUAAAACA{invAb}	543	AUGUUUUUAUUGUCUCUGCCUGUU	544
D-1272	AGGCAGAGACAAUAAAACAU{invAb}	545	AAUGUUUUUAUUGUCUCUGCCUUU	546
D-1273	GGCAGAGACAAUAAAACAUU{invAb}	547	AAAUGUUUUUAUUGUCUCUGCCUU	548
D-1274	AGACAAUAAAACAUUCCUGU{invAb}	549	AACAGGAAUGUUUUUAUUGUCUUU	550
D-1275	GACAAUAAAACAUUCCUGUG{invAb}	551	UCACAGGAAUGUUUUUAUUGUCUU	552
D-1276	ACAAUAAAACAUUCCUGUGA{invAb}	553	UUCACAGGAAUGUUUUUAUUGUUU	554
D-1277	CAAUAAAACAUUCCUGUGAA{invAb}	555	UUUCACAGGAAUGUUUUUAUUGUU	556
D-1278	AAUAAAACAUUCCUGUGAAA{invAb}	557	AUUUCACAGGAAUGUUUUUAUUU	558
D-1279	AUAAAACAUUCCUGUGAAAG{invAb}	559	ACUUUCACAGGAAUGUUUUUAUU	560
D-1280	UAAAACAUUCCUGUGAAAGG{invAb}	561	ACCUUCACAGGAAUGUUUUUAUU	562
D-1281	AAAACAUUCCUGUGAAAGGC{invAb}	563	UGCCUUUCACAGGAAUGUUUUUU	564
D-1282	AAACAUUCCUGUGAAAGGCA{invAb}	565	AUGCCUUUCACAGGAAUGUUUUU	566

【0251】為提高TTR siRNA序列的效力和體內穩定性，將化學修飾摻入TTR siRNA分子中。特別地，將核糖的2'-O-甲基和2'-氟修飾摻入TTR siRNA內的特定位置。硫代磷酸酯核苷酸間鍵還摻入在反義序列和/或有義序列的末端處。下表2描述了各經修飾的TTR siRNA的有義序列和反義序列的修飾。根據以下符號，在表2中列出了核苷酸序列：A、U、G、和C = 對應的核糖核苷酸；dC和dG

=相應的去氧核糖核苷酸；dT = 去氧胸苷；a、u、g、和c = 相應的2'-O-甲基核糖核苷酸；Af、Uf、Gf、和Cf = 相應的2'-去氧-2'-氟（「2'-氟」）核糖核苷酸；[InvAb] 係反向無鹼基殘基；[Ab]係無鹼基殘基；GNA係乙二醇核酸，其中具有GNA主鏈的鹼基顯示為AgN、UgN、CgN、和GgN。在序列中插入「s」表明兩個相鄰核苷酸藉由硫代磷酸二酯基團（例如硫代磷酸酯核苷酸間鍵）連接。除非另有說明，否則所有其他核苷酸藉由3'-5'磷酸二酯基團連接。表2中的每個siRNA化合物均包含19-21個鹼基對的雙股體區，其在兩條股的3'端具有2個核苷酸的突出端或者在一個末端或兩個末端具有鈍端。在一些實施方式中，有義股的每個5'端均已連接至以下GalNAc（稱為{sGalNAc3}）結構：

【0252】



【0253】，其中X = O或S。

[表2]. 針對具有修飾的TTR的siRNA序列

雙股體編號	有義序列 (5'-3')	SEQ ID NO: (有義)	反義序列 (5'-3')	SEQ ID NO: (反義)
D-	ususcuugGfcAfGfGfAfuggeucucus{invAb}	567	asAfsgaagCfcauccuGfcCfaagaasusu	568

2000				
D-2001	uscsuuggCfaGfGfAfUfggcuucucs{invAb}	569	usGfsagaaGfccauccUfgCfcaagasusu	570
D-2002	csusuggcAfgGfAfUfGfgcuucucas{invAb}	571	asUfsgagaAfgccaucCfuGfccaagsusu	572
D-2003	ususggcaGfgAfUfGfGfcuucucaus{invAb}	573	asAfsugagAfgccaucCfcUfgccaasusu	574
D-2004	usgsgcagGfaUfGfGfCfuucucaus{invAb}	575	asGfsaugaGfaagccaUfcCfugccasusu	576
D-2005	gsgscaggAfuGfGfCfufucucaugs{invAb}	577	asCfsgaugAfgaagccAfuCfugccsusu	578
D-2006	gscsaggaUfgGfCfUfufucaucgus{invAb}	579	asAfsagauGfagaagcCfaUfccugcsusu	580
D-2007	csasggauGfgCfUfUfCfucucgus{invAb}	581	asGfsacgaUfgagaagCfcAfuccugsusu	582
D-2008	asgsgaugGfcUfUfCfUfcaucgucus{invAb}	583	asAfsagagAfgagaaGfcCfaucucususu	584
D-2009	gsgsauggCfuUfCfUfCfaucgucgus{invAb}	585	asCfsagacGfaugagaAfgCfaucucususu	586
D-2010	gsasuggcUfuCfUfCfAfucgucgus{invAb}	587	asGfscagaCfgaugagAfaGfccaucususu	588
D-2011	asusggcuUfcUfCfAfUfugucgucus{invAb}	589	asAfsagagAfgaugaGfaAfgccaucususu	590
D-2012	usgsgcuuCfuCfAfUfCfugucgucucs{invAb}	591	asGfsagcaGfacgaugAfgAfgccasusu	592
D-2013	gscsuucuCfaUfCfGfUfugucuccus{invAb}	593	asAfsaggagCfagacgaUfgAfgaagcsusu	594
D-2014	csusucucAfuCfGfUfCfugucuccus{invAb}	595	asGfsaggaGfcagacgAfuGfagaagsusu	596
D-2015	ususcucaUfcGfUfCfUfugucuccus{invAb}	597	asGfsgaggAfgcagacGfaUfgagaasusu	598
D-2016	uscsucauCfGfUfCfUfGfucuccuccus{invAb}	599	asAfsaggagGfagcagaCfGfugagasusu	600
D-2017	csuscaucGfuCfUfGfCfucuccuccus{invAb}	601	asGfsaggaGfgagcagAfcGfauagagsusu	602
D-2018	csasucguCfuGfCfUfCfucuccucgus{invAb}	603	asCfsagagGfaggagcAfgAfcgaugsusu	604
D-2019	gscsuggaCfuGfGfUfAfuugugucgus{invAb}	605	asGfsacacAfaauaccAfgUfccagcsusu	606
D-2020	csusggacUfgGfUfAfUfuugugucgus{invAb}	607	asAfsagacaCfaaaucCfaGfuccagsusu	608

D-2021	usgsgacuGfgUfAfUfUfugugucugs{invAb}	609	usCfsagacAfcaaaUfCfAfguccasusu	610
D-2022	gsgsacugGfuAfUfUfUfugugucugas{invAb}	611	asUfscagaCfacaauAfcCfaguccsusu	612
D-2023	gsascuggUfaUfUfUfGfugucugags{invAb}	613	asCfsucagAfcacaaaUfaCfcagucsusu	614
D-2024	ascugguAfuUfUfGfUfugucugaggs{invAb}	615	asCfscucaGfacacaaAfuAfccagususu	616
D-2025	csusguaUfuUfGfUfGfucugaggs{invAb}	617	asGfscucAfgacacaAfaUfaccagsusu	618
D-2026	usgsuauUfuGfUfGfUfcugaggs{invAb}	619	asAfsccuCfagacacAfaAfuaccasusu	620
D-2027	gsgsuauUfgUfGfUfCfugaggs{invAb}	621	asCfsagccUfcagacaCfaAfaucssusu	622
D-2028	usgsaacCfaAfGfUfGfuccucugas{invAb}	623	asUfscagaGfgacacuUfgGfaucassusu	624
D-2029	gsasaucAfaGfUfGfUfccucugaus{invAb}	625	asAfsucagAfggacacUfuGfgauucssusu	626
D-2030	asasuccaAfgUfGfUfCfcucugaus{invAb}	627	asCfsaucaGfaggacaCfuUfggauususu	628
D-2031	asuscaaGfuGfUfCfCfucugaggs{invAb}	629	asCfscaucAfgaggacAfcUfuggaususu	630
D-2032	uscscagUfgUfCfCfUfcugaggs{invAb}	631	asAfsccauCfagaggaCfaCfuuggasusu	632
D-2033	cscsaaguGfuCfCfUfCfugaggs{invAb}	633	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuuggssusu	634
D-2034	csasagugUfcCfUfCfUfgauggucas{invAb}	635	usUfsgaccAfucagagGfaCfacuugsusu	636
D-2035	asasugugCfcUfCfUfGfauggucaa{invAb}	637	usUfsugacCfaucagaGfgAfcacuususu	638
D-2036	asgsugucCfuCfUfGfAfuggucaa{invAb}	639	asUfsuugaCfcaucagAfgGfacacususu	640
D-2037	usgsuccuCfuGfAfUfGfucuaaags{invAb}	641	asAfsccuuGfaccuacAfgAfggacassusu	642
D-2038	gsuscucUfgAfUfGfGfuaaaguus{invAb}	643	asAfsacuuUfgaccuAfaGfaggacsusu	644
D-2039	uscscucuGfaUfGfGfUfcaaguucs{invAb}	645	asGfsaacuUfugaccaUfcAfgaggassusu	646
D-2040	cscsucugAfuGfGfUfCfaaaguuc{invAb}	647	usAfsaacUfuugaccAfuCfagaggsusu	648
D-	csuscugaUfgGfUfCfAfaaguuc{invAb}	649	asUfsagaaCfuugacCfaUfcagagsusu	650

2041				
D-2042	uscugauGfgUfCfAfAfaguucuaags{invAb}	651	usCfsuagaAfcuuugaCfcAfucagasusu	652
D-2043	csusgaugGfuCfAfAfAfguucuaags{invAb}	653	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	654
D-2044	usgsauggUfcAfAfAfGfuucuaags{invAb}	655	asAfsucuaGfaacuuuGfaCfcaucasusu	656
D-2045	gsasugguCfaAfAfGfUfucuaags{invAb}	657	asCfsaucuAfgaacuuUfgAfccaucususu	658
D-2046	gscscauuUfgCfCfUfCfuggaaaas{invAb}	659	asUfsuuucCfcagaggCfaAfauggcsusu	660
D-2047	cscsauuuGfcCfUfCfUfgggaaaacs{invAb}	661	asGfsuuuuCfccagagGfcAfaauggsusu	662
D-2048	csasuuugCfcUfCfUfGfggaaaacs{invAb}	663	usGfsguuUfcccagaGfgCfaaugsusu	664
D-2049	asusuugeCfuCfUfGfGfgaaaaccas{invAb}	665	asUfsgguUfuccagAfgGfcaaususu	666
D-2050	ususugccUfcUfGfGfGfaaaaccags{invAb}	667	asCfsugguUfuucccaGfaGfgcaasusu	668
D-2051	ususgccuCfuGfGfGfaaaaccagus{invAb}	669	asAfscuggUfuuucccAfgAfggcaasusu	670
D-2052	usgscucUfgGfGfAfAfaaccagus{invAb}	671	usCfsacugGfuuuuccCfaGfaggcasusu	672
D-2053	csuscuggGfaAfAfAfCfcagugagus{invAb}	673	asAfsucuaCfugguuUfcCfcagagsusu	674
D-2054	uscuggAfaAfAfCfCfagugagus{invAb}	675	asGfsacucAfcugguuUfuCfcagagsusu	676
D-2055	csusgggaAfaAfCfCfAfgugagus{invAb}	677	asAfsagacuCfacugguUfuUfcccagsusu	678
D-2056	usgsgaaAfaCfCfAfGfugagucugs{invAb}	679	asCfsagacUfcacuggUfuUfuuccasusu	680
D-2057	gsgsgaaaAfcCfAfGfUfgagucuggs{invAb}	681	usCfscagaCfucacugGfuUfuuccsusu	682
D-2058	gsgsaaaaCfcAfGfUfGfagucuggas{invAb}	683	asUfscagAfcucacuGfgUfuuuccsusu	684
D-2059	gsasaaacCfaGfUfGfAfgucuggags{invAb}	685	usCfsuccaGfacucacUfgGfuuuucsusu	686
D-2060	asasaaccAfgUfGfAfGfucuggagas{invAb}	687	asUfscuccAfgacucaCfuGfguuuususu	688
D-2061	asasaccaGfuGfAfGfUfcuggagas{invAb}	689	asCfsucucCfagacucAfcUfgguuususu	690

D-2062	asascagUfgAfGfUfCfuggagagcs{invAb}	691	asGfscucuCfcagacuCfaCfugguususu	692
D-2063	gsusgaguCfuGfGfAfGfagcugcaus{invAb}	693	asAfsugcaGfcucuccAfgAfcucacsusu	694
D-2064	usgsagucUfgGfAfGfAfgcugcaugs{invAb}	695	asCfsaugcAfgcucucCfaGfacucasusu	696
D-2065	gsasgucuGfgAfGfAfGfcugcauggs{invAb}	697	asCfsaugCfagcucuCfcAfgacuscusu	698
D-2066	gsuscuggAfgAfGfCfUfgcaugggs{invAb}	699	asGfscccaUfgcagcuCfuCfcagacsusu	700
D-2067	uscusggaGfaGfCfUfGfcaugggcs{invAb}	701	asAfsgccAfugcagcUfcUfccagasusu	702
D-2068	csusggagAfgCfUfGfCfaugggcucs{invAb}	703	usGfsagccCfaugcagCfuCfuccagsusu	704
D-2069	gsgsagagCfuGfCfAfUfgggcucacs{invAb}	705	usGfsugagCfccaugcAfgCfucucssusu	706
D-2070	gsasgagcUfgCfAfUfGfggcucacas{invAb}	707	usUfsgugaGfccaugCfaGfcucucssusu	708
D-2071	asgsagcuGfcAfUfGfGfGfcucacaas{invAb}	709	asUfsugugAfgcccauGfcAfgcucssusu	710
D-2072	gsasgcugCfaUfGfGfGfcucacaacs{invAb}	711	asGfsuuguGfagcccaUfgCfagcucssusu	712
D-2073	asgscugcAfuGfGfGfCfucacaacus{invAb}	713	asAfsguugUfgagcccAfuGfcagcuscusu	714
D-2074	gscsugcaUfgGfGfCfUfcacaacugs{invAb}	715	usCfsaguuGfugagccCfaUfgcagcscusu	716
D-2075	csusgcauGfgGfCfUfCfacaacugas{invAb}	717	asUfscaguUfgugagcCfcAfgcagcscusu	718
D-2076	usgsaugGfgCfUfCfAfaacugags{invAb}	719	asCfsucagUfugugagCfcCfaugcscusu	720
D-2077	gscsauggGfcUfCfAfCfaacugaggs{invAb}	721	usCfscucaGfuugugaGfcCfaugcscusu	722
D-2078	csasuggCfuCfAfCfAfacugaggas{invAb}	723	asUfscucAfguugugAfgCfcaugscusu	724
D-2079	gsgscucaCfaAfCfUfGfaggaggaas{invAb}	725	asUfsuccuCfcucaguUfgUfgagccscusu	726
D-2080	gscsucacAfaCfUfGfAfggaggaas{invAb}	727	asAfsuuccUfccucagUfuGfugagcscusu	728
D-2081	csuscacaAfcUfGfAfGfaggaggaauus{invAb}	729	asAfsauucCfuccucaGfuUfgugagcscusu	730
D-	csascaacUfgAfGfGfAfggaauuugs{invAb}	731	asCfsaaauUfccuccuCfaGfuugugscusu	732

2082				
D-2083	ascsaacuGfaGfGfAfGfgaauuugus{invAb}	733	usAfscaaaUfuccuccUfcAfguugususu	734
D-2084	csasacugAfgGfGfGfaauuuguas{invAb}	735	asUfsacaaAfuuccucCfuCfaguugsusu	736
D-2085	asascugaGfgAfGfGfAfaauuuguas{invAb}	737	usCfsuacaAfaauccuCfcUfcaguususu	738
D-2086	ascugagGfaGfGfAfaauuuguas{invAb}	739	usUfscuacAfaauuccUfcCfucagususu	740
D-2087	csusgaggAfgGfGfAfaauuuguas{invAb}	741	asUfsucuaCfaaaucCfuCfcucagsusu	742
D-2088	usgsaggaGfgAfAfUfUfuguagaags{invAb}	743	asCfsuucuAfaaaucCfcUfcucasusu	744
D-2089	gsasggagGfaAfUfUfUfguagaaggs{invAb}	745	asCfscuucUfacaauUfcCfuccususu	746
D-2090	asgsaggAfaUfUfUfUfguagaaggs{invAb}	747	usCfscuuCfuacaaaUfuCfuccususu	748
D-2091	gsgsaggaAfuUfUfGfUfagaagggas{invAb}	749	asUfscuuUfcuacaaAfuUfccuccususu	750
D-2092	gsasggaaUfuUfGfUfAfgaagggas{invAb}	751	usAfsuccUfucuaAfaUfccuccususu	752
D-2093	gsgsaaUfgUfAfGfAfggagauas{invAb}	753	usAfsuacCfcuucuaCfaAfaauccususu	754
D-2094	gsasuuUfgUfAfGfAfggagauas{invAb}	755	asUfsauauCfccuucAfcAfaauccususu	756
D-2095	asasuugUfaGfAfAfGfggagauacs{invAb}	757	usGfsuauUfcccucUfaCfaaaususu	758
D-2096	asasuugUfaGfAfAfGfggagauacs{invAb}	759	usGfsuauUfcccucUfaCfaaaususu	760
D-2097	asusuugaAfgAfAfGfGfgauauacas{invAb}	761	usUfsguauAfuuccuuCfuAfaaaususu	762
D-2098	ususuguaGfaAfGfGfGfauauacaas{invAb}	763	usUfsuguaUfaucuuUfcUfacaasusu	764
D-2099	ususuguaGfaAfGfGfAfaauacaas{invAb}	765	asUfsuugaAfaauuccUfuCfuacaasusu	766
D-2100	usgsuagaAfgGfGfAfaauacaas{invAb}	767	asCfsuuugUfaauuccCfuUfcuacasusu	768
D-2101	usgsuagaAfgGfGfAfaauacaas{invAb}	769	asCfsuuugUfaauuccCfuUfcuacasusu	770
D-2102	gsusagaaGfgGfAfUfAfaucagag{invAb}	771	asAfsuuuGfuauucCfcUfucacacusu	772

D-2103	usasgaagGfgAfUfAfUfacaagugs{invAb}	773	asCfsacuuUfguauauCfcCfuucuasusu	774
D-2104	asgsaaggGfaUfAfUfAfaaaguggs{invAb}	775	usCfscacuUfuguauaUfcCfcuucususu	776
D-2105	gsasagggAfuAfUfAfCfaaaguggas{invAb}	777	usUfscacUfuuguauAfuCfccuucususu	778
D-2106	gsasagggAfuAfUfAfCfaaaguggas{invAb}	779	usUfscacUfuuguauAfuCfccuucususu	780
D-2107	asasgggaUfaUfAfCfAfaaguggaas{invAb}	781	usUfsuccaCfuuuguaUfaUfccuucususu	782
D-2108	asgsggauAfuAfCfAfafaguggaaas{invAb}	783	asUfsuuccAfcuuuguAfuAfuccuucususu	784
D-2109	gsgsgauaUfaCfAfAfAfuguggaaus{invAb}	785	usAfsuuucCfacuuugUfaUfauccsusu	786
D-2110	gsgsauauAfcAfAfAfGfuggaaauas{invAb}	787	asUfsauuuCfcacuuuGfuAfuaucsu	788
D-2111	gsasuauaCfaAfAfGfUfggaaauags{invAb}	789	usCfsuauUfccacuuUfgUfauaucsu	790
D-2112	asusauacAfaAfGfUfGfGfaaaauagas{invAb}	791	asUfscuauUfuccacuUfuGfuauaususu	792
D-2113	usasuacaAfaGfUfGfGfaaaauagacs{invAb}	793	usGfsucuaUfuuccacUfuUfguauasusu	794
D-2114	asusacaaAfgUfGfGfAfaauagacas{invAb}	795	asUfsgucuAfuuuccaCfuUfuguasusu	796
D-2115	asusacaaAfgUfGfGfAfaauagacas{invAb}	797	asUfsgucuAfuuuccaCfuUfuguasusu	798
D-2116	usascaaaGfuGfGfAfafauagacacs{invAb}	799	asGfsugucUfauuuccAfcUfuuguasusu	800
D-2117	ascsaaagUfgGfAfAfAfuaagacacs{invAb}	801	usGfsguguCfuauuuCfaCfuuuugusu	802
D-2118	csasaaguGfgAfAfAfUfagacaccas{invAb}	803	usUfsggugUfcuauuuCfcAfcuuugsusu	804
D-2119	asasuggAfaAfUfAfGfacaccaas{invAb}	805	asUfsuuggUfgucuuUfuCfcacuuusu	806
D-2120	asasuggAfaAfUfAfGfacaccaas{invAb}	807	asUfsuuggUfgucuuUfuCfcacuuusu	808
D-2121	asgsuggaAfaUfAfGfAfcaccaaas{invAb}	809	asAfsuuugGfugucuaUfuUfccacusu	810
D-2122	gsusggaaAfuAfGfAfCfaccaaacs{invAb}	811	asGfsauuuGfgugucuaAfuUfccacusu	812
D-	usgsaaaUfaGfAfCfAfcacaaucus{invAb}	813	asAfsgaauUfggugucUfaUfuuccasusu	814

2123				
D-2124	gsgsaaauAfgAfCfAfCfaaaucuuus{invAb}	815	usAfsagauUfugguguCfuAfuuuocsusu	816
D-2125	gsgsaaauAfgAfCfAfCfaaaucuuus{invAb}	817	usAfsagauUfugguguCfuAfuuuocsusu	818
D-2126	gsasaauaGfaCfAfCfCfaaaucuuas{invAb}	819	asUfsaagaUfuuggugUfcUfauuocsusu	820
D-2127	asasauagAfcAfCfCfAfaaucuuacs{invAb}	821	asGfsuaagAfuugguGfuCfuauuususu	822
D-2128	asasuagaCfaCfCfAfAfaucuuacus{invAb}	823	asAfsuaagAfuugguUfgUfcuauuususu	824
D-2129	asusagacAfcCfAfAfAfucuuacugs{invAb}	825	asCfsaguaAfgauuugGfuGfucuaususu	826
D-2130	asusagacAfcCfAfAfAfucuuacugs{invAb}	827	asCfsaguaAfgauuugGfuGfucuaususu	828
D-2131	usasgacaCfcAfAfAfUfcuuacuggs{invAb}	829	usCfscaguAfagauuuGfgUfgucuasusu	830
D-2132	asgsacacCfaAfAfUfcuuacuggas{invAb}	831	usUfscagUfaagauUfgGfugucususu	832
D-2133	csascuugGfcAfUfCfUfcccuaucs{invAb}	833	asGfsaaugGfggagauGfcCfaagugsusu	834
D-2134	ascsuuggCfaUfCfUfCfccauucss{invAb}	835	usGfsgaauGfgggagaUfgCfaagussusu	836
D-2135	ascsuuggCfaUfCfUfCfccauucss{invAb}	837	usGfsgaauGfgggagaUfgCfaagussusu	838
D-2136	csusuggeAfuCfUfCfCfccauuccas{invAb}	839	asUfsggaaUfggggagAfuGfccaagsusu	840
D-2137	ususggcaUfcUfCfCfCfcauuceaus{invAb}	841	asAfsuggaAfuugggaGfaUfgccaasusu	842
D-2138	usgsgeauCfuCfCfCfcauuceaugas{invAb}	843	usCfsauggAfaugggAfgAfugccasusu	844
D-2139	gsgscaucUfcCfCfCfAfuuccaugas{invAb}	845	asUfscaugGfaugggGfaGfaugccsusu	846
D-2140	gsgscaucUfcCfCfCfAfuuccaugas{invAb}	847	asUfscaugGfaugggGfaGfaugccsusu	848
D-2141	gscsaucuCfcCfCfAfUfuccaugags{invAb}	849	asCfsucauGfgauggGfgAfgaugcsusu	850
D-2142	csasucucCfcCfAfUfUfcaugagcs{invAb}	851	usGfscucaUfggaugGfgGfagaugsusu	852
D-2143	asuscuccCfcAfUfUfCfcaugagcs{invAb}	853	asUfsgcucAfuuggaauGfgGfgagaussusu	854

D-2144	uscsucceCfaUfUfCfCfaugageaus{invAb}	855	asAfsugcuCfauggaaUfgGfggagasusu	856
D-2145	uscsucceCfaUfUfCfCfaugageaus{invAb}	857	asAfsugcuCfauggaaUfgGfggagasusu	858
D-2146	csusccccAfuUfCfCfAfugageaus{invAb}	859	asCfsaugcUfcauggaAfuGfgggagsusu	860
D-2147	uscseccaUfuCfCfAfUfgageaus{invAb}	861	usGfsaugcCfcauggAfaUfgggagasusu	862
D-2148	cscseccauUfcCfAfUfGfageaugcas{invAb}	863	asUfsgcauGfcucaugGfaAfuggggsusu	864
D-2149	cscsauucCfaUfGfAfGfcaugcagas{invAb}	865	asUfscugcAfugcucaUfgGfaauggsusu	866
D-2150	cscsauucCfaUfGfAfGfcaugcagas{invAb}	867	asUfscugcAfugcucaUfgGfaauggsusu	868
D-2151	csasuuccAfuGfAfGfCfaugcagags{invAb}	869	asCfsucugCfaugcucAfuGfgaaugsusu	870
D-2152	asusuccaUfgAfGfCfAfugcagaggs{invAb}	871	asCfscucuGfcaugcuCfaUfggaaususu	872
D-2153	ususccauGfaGfCfAfUfgcagaggus{invAb}	873	asAfsccucUfgcaugcUfcAfuggaasusu	874
D-2154	uscscaugAfgCfAfUfGfagaggugs{invAb}	875	asCfsaccuCfugcaugCfuCfauggasusu	876
D-2155	cscsaugaGfcAfUfGfCfagaggugs{invAb}	877	asCfscaccUfcugcauGfcUfcauggsusu	878
D-2156	csasugagCfaUfGfCfAfgagguggus{invAb}	879	usAfsccacCfucugcaUfgCfcaugsusu	880
D-2157	asusgagcAfuGfCfAfGfaggugguas{invAb}	881	asUfsaccaCfcucugcAfuGfcucaususu	882
D-2158	usgsagcaUfgCfAfGfAfggugguaus{invAb}	883	asAfsuaccAfccucugCfaUfgcucasusu	884
D-2159	gsasgcauGfcAfGfAfGfugguauus{invAb}	885	asAfsauacCfaccucuGfcAfugcucususu	886
D-2160	asgsaugcCfaGfAfGfGfugguauucs{invAb}	887	usGfsaauaCfcaccucUfgCfaugcususu	888
D-2161	gscsaugcAfgAfGfGfUfgguauucas{invAb}	889	asUfsgaauAfccaccuCfuGfcaugcsusu	890
D-2162	csasugcaGfaGfGfUfGfuaauucacs{invAb}	891	usGfsugaaUfaccaccUfcUfgcaugsusu	892
D-2163	asusgcagAfgGfUfGfGfuauucacas{invAb}	893	asUfsgugaAfuaccacCfuCfugcaususu	894
D-	asgsagguGfgUfAfUfUfcacagccas{invAb}	895	usUfsggcuGfugaauaCfcAfccucususu	896

2164				
D-2165	gsasggugGfuAfUfUfCfacagccaas{invAb}	897	asUfsuggcUfgugaaUfcCfaccususu	898
D-2166	asgsguggUfaUfUfCfAfcagccaacs{invAb}	899	asGfsuuggCfugugaaUfaCfcaccususu	900
D-2167	gsgsugguAfuUfCfAfCfagccaacs{invAb}	901	usCfsguugGfcugugaAfuAfccaccsusu	902
D-2168	gscscgccCfuGfCfUfGfagcccuas{invAb}	903	asUfsagggGfcucagcAfgGfgcgcsusu	904
D-2169	cscsgcccUfgCfUfGfAfgcccuacs{invAb}	905	asGfsuaggGfgcucagCfaGfgcgcsusu	906
D-2170	csgscccuGfcUfGfAfGfcccuaucus{invAb}	907	asAfsuagGfggcucaGfcAfgggcsusu	908
D-2171	gscscugCfuGfAfGfCfcccuaucus{invAb}	909	asGfsaguaGfgggcucAfgCfaggcsusu	910
D-2172	cscscugeUfgAfGfCfCfcuacuccs{invAb}	911	asGfsgaguAfggggcuCfaGfcaggcsusu	912
D-2173	cscsugcuGfaGfCfCfCfcuacuccs{invAb}	913	usAfsaggUfaggggUfcAfgcaggcsusu	914
D-2174	csusgcugAfgCfCfCfCfuacuccas{invAb}	915	asUfsaggaGfuagggCfuCfagcagsusu	916
D-2175	usgscugaGfcCfCfCfUfacuccuacs{invAb}	917	asAfsuaggAfguaggGfcUfcagcasusu	918
D-2176	gscsugagCfcCfCfUfAfcuccuauus{invAb}	919	asAfsauagGfaguaggGfgCfucagcsusu	920
D-2177	csusgageCfcCfUfAfCfuccuauucs{invAb}	921	asGfsaauaGfgaguagGfgGfcucagsusu	922
D-2178	usgsagccCfuAfCfUfCfcuauuccs{invAb}	923	usGfsgaaUfaggaguGfgGfgcucasusu	924
D-2179	gsasgcccCfuAfCfUfCfcuauuccas{invAb}	925	asUfsggaaUfaggaguAfgGfggcucsusu	926
D-2180	asgsccccUfaCfUfCfCfuauuccacs{invAb}	927	asGfsuggaAfuaggagUfaGfgggcsusu	928
D-2181	gscscccuAfcUfCfCfUfauuccacs{invAb}	929	usGfsguggAfauaggaGfuAfgggcsusu	930
D-2182	cscscuacCfuCfCfUfAfuuccaccas{invAb}	931	asUfsggugGfaauaggAfgUfagggsusu	932
D-2183	cscscuacUfcCfUfAfUfuccaccacs{invAb}	933	asGfsugguGfgaaugGfaGfuagggsusu	934
D-2184	cscsuacuCfcUfAfUfUfccaccaacs{invAb}	935	asCfsguggUfggaaUfgAfguagggsusu	936

D-2185	csusacucCfuAfUfUfCfaccacggs{invAb}	937	asCfscgugGfuggaauAfgGfaguagsusu	938
D-2186	usascuccUfaUfUfCfCfaccacggs{invAb}	939	asGfscgugGfuggaauUfaGfaguagsusu	940
D-2187	asesuccuAfuUfCfCfAfcacggs{invAb}	941	asAfgscgugUfguggaAfuAfggagsusu	942
D-2188	csusccuaUfuCfCfAfcacggs{invAb}	943	asCfsagccGfuggugAfaUfaggagsusu	944
D-2189	uscscuauUfcCfAfcCfCfaccggs{invAb}	945	asAfsagccGfuggugGfaAfuaggagsusu	946
D-2190	cscsuauuUfcCfCfAfcggs{invAb}	947	asGfsagccGfuggugGfaAfuaggagsusu	948
D-2191	csusauucCfaCfCfAfcggs{invAb}	949	asCfsgacaGfccgugUfgGfaauagsusu	950
D-2192	usasuuccAfcCfAfcGfgcuggs{invAb}	951	asAfsagccGfccgugGfuGfauagsusu	952
D-2193	asusuccaCfcAfcGfGfcguggs{invAb}	953	usGfsagccGfccgugGfuGfauagsusu	954
D-2194	ususccacCfaCfGfGfcguggs{invAb}	955	asUfsgaccAfcagccGfuGfuggagsusu	956
D-2195	uscscaccAfcGfGfCfUfgcuggs{invAb}	957	asGfsugaccGfccgugGfuGfuggagsusu	958
D-2196	cscsaccaCfGfCfUfGfucggs{invAb}	959	usGfsgugaCfagccGfuGfuggagsusu	960
D-2197	csasccacGfGfCfUfGfucggs{invAb}	961	usUfsggugAfcagccGfuGfuggagsusu	962
D-2198	asescaccGfGfUfGfUfcggs{invAb}	963	asUfsggugGfccgugGfuGfuggagsusu	964
D-2199	cscsacggCfuGfUfCfGfucggs{invAb}	965	asAfsuuggUfgagccAfcCfcggsusu	966
D-2200	csasccgCfuGfUfCfGfucggs{invAb}	967	asGfsauugGfagccAfcCfcggsusu	968
D-2201	asesggcuGfuCfGfUfCfaccaggs{invAb}	969	asGfsgauGfugaccAfcAfcggsusu	970
D-2202	csgsgcugUfcGfUfCfAfcaggs{invAb}	971	usGfsgauUfggugGfaCfagccgsusu	972
D-2203	gsgscuguCfGfUfCfAfcaggs{invAb}	973	usUfsggugUfggugGfaCfagccgsusu	974
D-2204	gscsugcGfuCfAfcCfAfcaggs{invAb}	975	asUfsggugUfggugGfaCfagccgsusu	976
D-	usgsucguCfaCfCfAfcaggs{invAb}	977	usCfscuugGfgauuggUfgAfcaggsusu	978

2205				
D-2206	gsuscgucAfcCfAfAfUfccaaggas{invAb}	979	usUfscuuGfggauugGfuGfacacsusu	980
D-2207	uscsgucaCfcAfAfUfCfccaaggaas{invAb}	981	asUfsuccuUfgggauGfgUfgacgasusu	982
D-2208	csgsucacCfaAfUfCfCfcaaggaas{invAb}	983	asAfsuuccUfugggauUfgGfugacgsusu	984
D-2209	csasccaaUfcCfCfAfAfggaugags{invAb}	985	asCfsucaUfccuuggGfaUfugggsusu	986
D-2210	ascscaaUfcCfCfAfAfggaugags{invAb}	987	asCfscucaUfccuugGfgAfuuggsusu	988
D-2211	cscsaucCfcAfAfGfGfaaugaggs{invAb}	989	usCfscucAfuuccuGfgGfauggsusu	990
D-2212	csasaucCfaAfGfGfaugaggs{invAb}	991	asUfscuuCfauccuUfgGfgauugsusu	992
D-2213	asasuccAfaGfGfAfAfgaggacs{invAb}	993	asGfsuccUfcauccUfuGfggaususu	994
D-2214	asuscccaAfgGfAfUfgaggac{invAb}	995	asAfsuccCfcauccCfuUfgggaususu	996
D-2215	uscscaaGfgAfAfUfgaggacu{invAb}	997	asAfsagucCfcucaUfcUfgggasusu	998
D-2216	cscscaagGfaAfUfgAfggacu{invAb}	999	asGfsaaguCfccucaUfcCfuuggsusu	1000
D-2217	cscsaagAfaUfGfAfggacu{invAb}	1001	asAfsaagUfccucaUfuCfcuuggsusu	1002
D-2218	csasaggaAfuGfAfgGfagacu{invAb}	1003	asGfsagaaGfuccucAfuUfccuugsusu	1004
D-2219	csusgaagGfaCfGfAfggauggas{invAb}	1005	asUfscucaUfccucUfcCfuucagsusu	1006
D-2220	usgsaagAfcGfAfgGfgauggaus{invAb}	1007	asAfsuccAfuuccGfuCfcuucasusu	1008
D-2221	gsasaggaCfGfAfgGfauuggau{invAb}	1009	asAfsauccCfauccuUfcUfccuugsusu	1010
D-2222	asasggacGfaGfGfAfgggaau{invAb}	1011	asAfsaauCfcauccUfcGfuccuugsusu	1012
D-2223	asgsgacAfgGfAfgggaau{invAb}	1013	usGfsaaUfccuccCfuCfuccuugsusu	1014
D-2224	gsgsacgaGfgGfAfUfgggaau{invAb}	1015	asUfsgaaUfccuccCfcUfcuccuugsusu	1016
D-2225	gsascgagGfgAfUfgGfgaauuca{invAb}	1017	asAfsugaAfuuccCfcCfucgucsu	1018

D-2226	ascsgaggGfaUfGfGfGfauucaugs{invAb}	101 9	asCfsaugaAfauccaUfcCfcucgusus	102 0
D-2227	csgsagggAfuGfGfGfAfuucaugs{invAb}	102 1	usAfscaugAfaaucccAfuCfccucgusus	102 2
D-2228	gsasgggaUfgGfGfAfUfuucaguas{invAb}	102 3	usUfsacauGfaaauccCfaUfccucgusus	102 4
D-2229	asgsggauGfgGfAfUfUfcauguaas{invAb}	102 5	asUfsuacaUfgaaaucCfcAfucccusus	102 6
D-2230	gsgsgaugGfgAfUfUfUfcauguaacs{invAb}	102 7	asGfsuuacAfugaaaCfcCfaucccsusu	102 8
D-2231	gsgsauggGfaUfUfUfCfauguaaccs{invAb}	102 9	usGfsguuaCfaugaaaUfcCfaucccsusu	103 0
D-2232	gsasugggAfuUfUfCfAfuguaaccas{invAb}	103 1	usUfsgguuAfaugaaAfuCfcaucgusus	103 2
D-2233	asusgggaUfuUfCfAfUfguaaccaas{invAb}	103 3	asUfsugguUfacaugaAfaUfccaususu	103 4
D-2234	usgsggauUfuCfAfUfGfuaaccaags{invAb}	103 5	usCfsuuggUfuacaugAfaAfucccusus	103 6
D-2235	gsgsgauuUfcAfUfGfUfaaccaagas{invAb}	103 7	asUfscuugGfuuaacuGfaAfaucccsusu	103 8
D-2236	gsgsaaaaCfaUfGfUfAfaccaagags{invAb}	103 9	asCfsucuuGfguuacaUfgAfaauccsusu	104 0
D-2237	gsasuuucAfuGfUfAfAfccaagagus{invAb}	104 1	usAfsucuuUfgguuacAfuGfaaaucgusus	104 2
D-2238	asusuucaUfgUfAfAfCfcaagaguas{invAb}	104 3	asUfsacucUfugguuacCfaUfgaaaucgusus	104 4
D-2239	ususucauGfuAfAfCfCfaagaguas{invAb}	104 5	asAfsuacuCfuugguuAfcAfugaaucgusus	104 6
D-2240	ususcaugUfaAfCfCfAfagaguauus{invAb}	104 7	asAfsauacUfcuugguUfaCfaugaucgusus	104 8
D-2241	uscsauguAfaCfCfAfAfagaguauucs{invAb}	104 9	asGfsaauaCfucuuuggUfuAfaucgusus	105 0
D-2242	csasuguaAfcCfAfAfGfaguauuccs{invAb}	105 1	usGfsgaaUfcuucuuGfuUfcaucgusus	105 2
D-2243	asusguaaCfcAfAfGfAfaguauuccas{invAb}	105 3	asUfsggaaUfacucuuGfgUfuacaucgusus	105 4
D-2244	usgsuaacCfaAfGfAfGfuaucceaus{invAb}	105 5	asAfsuggaAfuacucUfgGfuuaucgusus	105 6
D-2245	gsusaaccAfaGfAfGfUfauuccauus{invAb}	105 7	asAfsauggAfaucucUfuGfguuacgusus	105 8
D-	usasaccaAfgAfGfUfAfuuccauuus{invAb}	105	asAfsaaugGfaaacuUfuUfgguuasusus	106

2246		9		0
D-2247	asascaaGfaGfUfAfUfuccauuuus{invAb}	106	asAfsaaauGfgaaauacUfcUfugguususu	106
		1		2
D-2248	ascscaagAfgUfAfUfUfccauuuuuus{invAb}	106	usAfsaaaaUfggaaauCfuCfuuggususu	106
		3		4
D-2249	cscsaagaGfuAfUfUfCfcuuuuuuas{invAb}	106	asUfsaaaaAfuggaaUfcUfcuuggsusu	106
		5		6
D-2250	csasagagUfaUfUfCfCfuuuuuuacs{invAb}	106	asGfsuaaaAfauuggaaUfaCfucuuugsusu	106
		7		8
D-2251	asasagauAfuUfCfCfAfuuuuuuacus{invAb}	106	usAfsguaaAfaauggaAfuAfcucuususu	107
		9		0
D-2252	asgsaguaUfuCfCfAfUfuuuuuacuas{invAb}	107	usUfsaguaAfaaauggAfaUfacucususu	107
		1		2
D-2253	gsasguauUfcCfAfUfUfuuuuacuaas{invAb}	107	usUfsuaguAfaaaugGfaAfuacucususu	107
		3		4
D-2254	asgsuuuuCfcAfUfUfUfuuuuacuaas{invAb}	107	asUfsuuagUfaaaaaUfgAfaucucususu	107
		5		6
D-2255	uscscuuUfuUfAfCfUfaaagcagus{invAb}	107	asAfcucgUfuuuaguaAfaAfauggasusu	107
		7		8
D-2256	csasuuuuUfaCfUfAfAfagcagugus{invAb}	107	asAfcacugfcuuuagUfaAfaaaugsusu	108
		9		0
D-2257	asusuuuuAfcUfAfAfAfgcaguguus{invAb}	108	asAfsacacUfgcuuuuGfuAfaaaususu	108
		1		2
D-2258	ususuuuaCfuAfAfAfGfcaguguuus{invAb}	108	asAfsaacaCfugcuuuAfgUfaaaaasusu	108
		3		4
D-2259	ususuuacUfaAfAfGfCfaguguuuuus{invAb}	108	asAfsaaacAfcugcuuUfaGfuaaaasusu	108
		5		6
D-2260	ususacuaAfaGfCfAfGfuguuuuucas{invAb}	108	asUfsgaaaAfcacugcUfuUfaguaasusu	108
		7		8
D-2261	usasuuuaAfgCfAfGfUfguuuuuacs{invAb}	108	asGfsugaaAfacacugCfuUfuaguasusu	109
		9		0
D-2262	ascsuaaaGfcAfGfUfGfuuuuucacs{invAb}	109	asGfsgugaAfaacacuGfcUfuuuagususu	109
		1		2
D-2263	csusaaagCfaGfUfGfUfuuuuaccus{invAb}	109	asAfsaggugAfaaacacUfgCfuuuagsusu	109
		3		4
D-2264	usasaagcAfgUfGfUfUfuuuuaccus{invAb}	109	usGfsagguGfaaaacaCfuGfcuuuasusu	109
		5		6
D-2265	asasagcaGfuGfUfUfUfucaccucas{invAb}	109	asUfsgaggUfgaaaacAfcUfgcuuususu	109
		7		8
D-2266	asasgcagUfgUfUfUfUfcaccucaus{invAb}	109	usAfsugagGfugaaaaCfaCfugcuususu	110
		9		0

D-2267	asgsuccaGfgCfAfGfAfgacaauaas{invAb}	110 1	usUfsuauuGfucucugCfcUfggacususu	110 2
D-2268	gsusccagGfcAfGfAfGfacaauaas{invAb}	110 3	usUfsuuauUfgucucuGfcCfuggacsusu	110 4
D-2269	usescaggCfaGfAfGfAfcaauaaaa{invAb}	110 5	asUfsuuuaUfugucucUfgCfcuggasusu	110 6
D-2270	cscsaggcAfgAfGfAfCfaauaaaaacs{invAb}	110 7	usGfsuuuuAfuugucuCfuGfccuggsusu	110 8
D-2271	csasggcaGfaGfAfCfAfauaaaaacs{invAb}	110 9	asUfsguuuUfauugucUfcUfgccugsusu	111 0
D-2272	asgsgcagAfgAfCfAfAfuaaaacaus{invAb}	111 1	asAfsuguuUfuauuguCfuCfuggcususu	111 2
D-2273	gsgscagaGfaCfAfAfUfaaaacauus{invAb}	111 3	asAfsauguUfuuaugUfcUfcugccsusu	111 4
D-2274	asgsacaaUfaAfAfAfCfauuccugus{invAb}	111 5	asAfscaggAfauguuuUfaUfugucususu	111 6
D-2275	gsascaauAfaAfAfCfAfuccugugs{invAb}	111 7	usCfsacagGfaauguuUfuAfuugucsusu	111 8
D-2276	ascsaauaAfaAfCfAfUfuccugugas{invAb}	111 9	usUfscacaGfgaauguUfuUfauugususu	112 0
D-2277	csasauaaAfaCfAfUfUfccugugaas{invAb}	112 1	usUfsucacAfggaugUfuUfuauugsusu	112 2
D-2278	asasuaaaAfcAfUfUfCfcugugaas{invAb}	112 3	asUfsuucacCfaggaauGfuUfuauuususu	112 4
D-2279	asusaaaaCfaUfUfCfCfugugaaags{invAb}	112 5	asCfsuuucAfcaggaaUfgUfuuuuususu	112 6
D-2280	usasaacAfUfCfCfUfgugaaaggs{invAb}	112 7	asCfscuuuCfacaggaAfuGfuuuuasusu	112 8
D-2281	asasaacaUfuCfCfUfGfugaaggs{invAb}	112 9	usGfscuuUfcacaggAfaUfguuuususu	113 0
D-2282	asasacauUfcCfUfGfUfgaaaggs{invAb}	113 1	asUfsgccuUfucacagGfaAfuguuususu	113 2
D-2283	{sGalNAc3}ucuuggCfaGfGfAfUfggcuucus{invAb}	113 3	usGfsagaaGfccauccUfgCfcaagasusu	113 4
D-2284	{sGalNAc3}ucuuggCfaGfGfAfUfggcaucus{invAb}	113 5	usGfsagauGfccauccUfgCfcaagasusu	113 6
D-2285	{sGalNAc3}ucuuggCfaGfGfAfUfggguucus{invAb}	113 7	usGfsagaaCfccauccUfgCfcaagasusu	113 8
D-2286	{sGalNAc3}ucuuggCfaGfGfAfUfgccuucus{invAb}	113 9	usGfsagaaGfgcauccUfgCfcaagasusu	114 0
D-	{sGalNAc3}cuuggcAfgGfAfUfGfgcuucucas{invAb}	114	asUfsgagaAfgccaucCfuGfccaagsusu	114

2287	b}	1		2
D-2288	{sGalNAc3}uggcagGfaUfGfGfCfuucucaucs{invAb}	114		114
	b}	3	asGfsaugaGfaagccaUfcCfugccasusu	4
D-2289	{sGalNAc3}gcaggaUfgGfCfUfUfcucaucgus{invAb}	114		114
	b}	5	asAfscgauGfagaagcCfaUfccugcsusu	6
D-2290	{sGalNAc3}caggauGfgCfUfUfCfucucgucs{invAb}	114		114
	}	7	asGfsacgaUfgagaagCfcAfuccugsusu	8
D-2291	{sGalNAc3}caggauGfgCfUfUfCfucucgucs{invAb}	114		115
	b}	9	asGfsacgaAfgagaagCfcAfuccugsusu	0
D-2292	{sGalNAc3}aggauGfcUfUfCfUfcucgucs{invAb}	115		115
	b}	1	asAfsgacgAfugagaaGfcCfauccususu	2
D-2293	{sGalNAc3}gauggcUfuCfUfCfAfucgucgucs{invAb}	115		115
	b}	3	asGfscagaCfgaugagAfaGfccaucususu	4
D-2294	{sGalNAc3}ggcuucUfcAfUfCfGfucugucs{invAb}	115		115
	}	5	gsAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccsusu	6
D-2295	{sGalNAc3}ggcuUfcUfCfAfUfcgucgucs{invAb}	115		115
	}	7	gsAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccsusu	8
D-2296	{sGalNAc3}augguucUfcAfUfCfGfucugucs{invAb}	115		116
	b}	9	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccaususu	0
D-2297	{sGalNAc3}augguucUfcAfUfCfGfacugucs{invAb}	116		116
	b}	1	asAfsgcagUfcgaugaGfaAfgccaususu	2
D-2298	{sGalNAc3}augguucUfcAfUfCfCfucugucs{invAb}	116		116
	b}	3	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccaususu	4
D-2299	{sGalNAc3}augguUfcUfCfAfUfcgucugucs{invAb}	116		116
	b}	5	asAfsgcagacgauGfaGfaAfgccaususu	6
D-2300	{sGalNAc3}augguUfcUfCfAfUfccucugucs{invAb}	116		116
	b}	7	asAfsgcagaggauGfaGfaAfgccaususu	8
D-2301	{sGalNAc3}augguUfcUfcAfucgucugucs{invAb}	116		117
	}	9	u	0
D-2302	{sGalNAc3}augguUfcUfcAfuccucugucs{invAb}	117		117
	}	1	u	2
D-2303	{sGalNAc3}augguucUfcAfucgucugucs{invAb}	117		117
	}	3	asAfsgcagAfcgauGfaGfaagccaususu	4
D-2304	{sGalNAc3}ggcuUfcUfCfAfUfccucugucs{invAb}	117		117
	}	5	asAfsgcagaggauGfaGfaAfgccsusu	6
D-2305	{sGalNAc3}augguucUfcAfUfCfCfucugesus{invAb}	117		117
	b}	7	asAfsgcAfgAfcgauGfaGfaAfgccausc	8
D-2306	{sGalNAc3}augguucUfcAfUfCfCfucugesus{invAb}	117		118
	b}	9	sc	0
D-2307	{sGalNAc3}augguUfcUfCfAfUfccucugesus{invAb}	118		118
	b}	1	sc	2

D-2308	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfccucugcsus{invAb}	118 3	asAfsgcAfgAfggauGfaGfaAfgccausc sc	118 4
D-2309	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfcgucugcsus{invAb}	118 5	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccsasus	118 6
D-2310	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfcgacugcsus{invAb}	118 7	asAfsgcagUfcgaugaGfaAfgccsasus	118 8
D-2311	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfccucugcsus{invAb}	118 9	asAfsgcagAfggaugaGfaAfgccsasus	119 0
D-2312	{sGalNAc3}ggcuucUfcAfUfCfGfucugcsus{invAb}	119 1	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccsusu	119 2
D-2313	{sGalNAc3}ggcuucUfcAfUfCfCfucugcsus{invAb}	119 3	asAfsgcagAfggaugaGfaAfgccsusu	119 4
D-2314	{sGalNAc3}auggeuUfcUfcAfucugcsus{invAb}	119 5	asAfsgcagacgauGfaGfaAfgccaususu	119 6
D-2315	{sGalNAc3}auggeuUfcUfcAfuccucugcsus{invAb}	119 7	asAfsgcagaggauGfaGfaAfgccaususu	119 8
D-2316	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfcgucugcsus{invAb}	119 9	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccaususu	120 0
D-2317	{sGalNAc3}auggeuUfcUfCfAfUfccucugcsus{invAb}	120 1	asAfsgcagAfggaugaGfaAfgccaususu	120 2
D-2318	{sGalNAc3}ggcuUfcUfcAfuccucugcsus{invAb}	120 3	asAfsgcagaggauGfaGfaAfgccsusu	120 4
D-2319	{sGalNAc3}ggcuUfcUfcAfuccucugcsus{invAb}	120 5	asAfsgcagAfggauGfaGfaAfgccsusu	120 6
D-2320	{sGalNAc3}ggcuUfcUfCfAfUfcgucugcsus{invAb}	120 7	asAfsgcagAfcgaugaGfaAfgccsusu	120 8
D-2321	{sGalNAc3}ggcuUfcUfCfAfUfccucugcsus{invAb}	120 9	asAfsgcagAfggaugaGfaAfgccsusu	121 0
D-2322	{sGalNAc3}geuucuCfaUfCfGfUfcgucuccus{invAb}	121 1	asAfsggagCfagacgaUfgAfgaagcsusu	121 2
D-2323	{sGalNAc3}geuucuCfaUfCfGfUfcguguccus{invAb}	121 3	asAfsggacCfagacgaUfgAfgaagcsusu	121 4
D-2324	{sGalNAc3}cuucucAfuCfGfUfCfuguccucus{invAb}	121 5	asGfsaggaGfcagacgAfuGfagaagsusu	121 6
D-2325	{sGalNAc3}uucucaUfcGfUfCfUfcgucuccus{invAb}	121 7	asGfsgaggAfgcagacGfaUfgagaasusu	121 8
D-2326	{sGalNAc3}ucucauCfgUfCfUfGfucuccucus{invAb}	121 9	asAfsggagGfagcagaCfgAfugagasusu	122 0
D-2327	{sGalNAc3}ucucauCfgUfCfUfGfucgucuccus{invAb}	122 1	asAfsggacGfagcagaCfgAfugagasusu	122 2
D-	{sGalNAc3}cucaucGfuCfUfGfCfucuccucus{invAb}	122	asGfsaggaGfgagcagAfcGfaugagsusu	122

2328	}	3		4
D-2329	{sGalNAc3}ucgucuGfcUfCfCfUfccucugs{invAb}	122 5	gsCfsagagGfaggagcAfgAfcgasusu	122 6
D-2330	{sGalNAc3}ucguCfuGfCfUfCfcuccucugs{invAb}	122 7	gsCfsagagGfaggagcAfgAfcgasusu	122 8
D-2331	{sGalNAc3}caucgucuGfcUfCfCfUfgcucugs{invAb}	122 9	asCfsagagCfaggagcAfgAfcgaugsusu	123 0
D-2332	{sGalNAc3}caucguCfuGfCfUfCfcucucugs{invAb}	123 1	asCfsagagCfaggagcAfgAfcgasusg	123 2
D-2333	{sGalNAc3}caucguCfuGfCfUfCfcuccucugs{invAb}	123 3	asCfsagagGfaggagcAfgAfcgaugsusu	123 4
D-2334	{sGalNAc3}caucguCfuGfCfUfCfcaccucugs{invAb}	123 5	asCfsagagGfuggagcAfgAfcgaugsusu	123 6
D-2335	{sGalNAc3}ugccuuGfcUfGfGfAfcugguas{invAb}	123 7	asUfsaccaGfuccagcAfaGfgcasusu	123 8
D-2336	{sGalNAc3}ugccUfuGfCfUfGfgacugguas{invAb}	123 9	asUfsaccaGfuccagcAfaGfgcasusu	124 0
D-2337	{sGalNAc3}gcuggaCfuGfGfUfAfuugugucs{invAb}	124 1	asGfsacacAfaauaccAfgUfccagsusu	124 2
D-2338	{sGalNAc3}gcuggaCfuGfGfUfAfuucugucs{invAb}	124 3	asGfsacagAfaauaccAfgUfccagsusu	124 4
D-2339	{sGalNAc3}cuggacUfgGfUfAfuugugucus{invAb}	124 5	asAfsagacaCfaaaucCfaGfuccagsusu	124 6
D-2340	{sGalNAc3}uggacuggUfaUfUfUfCfugucugs{invAb}	124 7	usCfsagacAfgaaauaCfcAfguccasusu	124 8
D-2341	{sGalNAc3}uggacuGfgUfAfUfUfucugucugs{invAb}	124 9	usCfsagacAfgaaauaCfcAfgucscsa	125 0
D-2342	{sGalNAc3}uggacuGfgUfAfUfUfugugucugs{invAb}	125 1	usCfsagacAfcfaaaucCfcAfguccasusu	125 2
D-2343	{sGalNAc3}ggacugGfuAfUfUfUfgugucugas{invAb}	125 3	asUfscagaCfacaaauAfcCfaguccsusu	125 4
D-2344	{sGalNAc3}acugguAfuUfUfGfUfgucugaggs{invAb}	125 5	asCfscucaGfacacaaAfuAfcagusus	125 6
D-2345	{sGalNAc3}cugguaUfuUfGfUfGfucugaggs{invAb}	125 7	asGfscucAfgacacaAfaUfaccagsusu	125 8
D-2346	{sGalNAc3}gguaauugUfgUfCfUfGfacgcusgs{invAb}	125 9	asCfsagCfUfcagaCfaCfaAfauaccsas	126 0
D-2347	{sGalNAc3}gguaauugUfgUfCfUfGfacgcusgs{invAb}	126 1	asCfsagCfUfcagaCfaCfaAfauaccsas	126 2
D-2348	{sGalNAc3}gguaauUfgUfGfUfCfugacgcusgs{invAb}	126 3	asCfsagCfUfcagaCfaCfaAfauaccsas	126 4

D-2349	{sGalNAc3}gguauuUfgUfGfUfCfugacgcusgs{invAb}	126 5	asCfsagCfgUfcagaCfaCfaAfauaccsas g	126 6
D-2350	{sGalNAc3}gguauuUfgUfGfUfCfugaggcugs{invAb}	126 7	asCfsagccUfcagacaCfaAfauaccsusu	126 8
D-2351	{sGalNAc3}gguauuUfgUfGfUfCfugacgcugs{invAb}	126 9	asCfsagcgUfcagacaCfaAfauaccsusu	127 0
D-2352	{sGalNAc3}ugaauCfaAfGfUfGfuccucugas{invAb}	127 1	asUfscagaGfgacacuUfgGfauucasusu	127 2
D-2353	{sGalNAc3}ugaauCfaAfGfUfGfugcucugas{invAb}	127 3	asUfscagaGfcacacuUfgGfauucasusu	127 4
D-2354	{sGalNAc3}aauccaAfgUfGfUfCfcucugaugs{invAb}	127 5	asCfsaucaGfaggacaCfuUfggauususu	127 6
D-2355	{sGalNAc3}auccaaGfuGfUfCfCfucugaugs{invAb}	127 7	asCfscaucAfgaggacAfcUfuggaususu	127 8
D-2356	{sGalNAc3}auccaaGfuGfUfCfCfucugaugs{invAb}	127 9	asCfscaugAfgaggacAfcUfuggaususu	128 0
D-2357	{sGalNAc3}auccaaGfuGfUfCfCfucagaugs{invAb}	128 1	asCfscaucUfgaggacAfcUfuggaususu	128 2
D-2358	{sGalNAc3}uccaagUfcCfUfCfUfcauggus{invAb}	128 3	asAfsccauGfagaggaCfaCfuuggasusu	128 4
D-2359	{sGalNAc3}uccaagUfgUfCfCfUfcucauggus{invAb}	128 5	asAfsccauGfagaggaCfaCfuuggsgsa	128 6
D-2360	{sGalNAc3}caagUfcCfUfCfUfcauggus{invAb}	128 7	asAfsccauGfagaggaCfaCfuugsusu	128 8
D-2361	{sGalNAc3}uccaagUfgUfCfCfUfcugauggus{invAb}	128 9	asAfsccauCfagaggaCfaCfuuggasusu	129 0
D-2362	{sGalNAc3}uccaagUfgUfCfCfUfcuguuggus{invAb}	129 1	asAfsccaaCfagaggaCfaCfuuggasusu	129 2
D-2363	{sGalNAc3}uccaagUfgUfCfCfUfcucauggus{invAb}	129 3	asAfsccauGfagaggaCfaCfuuggasusu	129 4
D-2364	{sGalNAc3}caagUfgUfCfCfUfcucauggus{invAb}	129 5	asAfsccauGfagaggaCfaCfuugsusu	129 6
D-2365	{sGalNAc3}ccaaguguCfcUfCfUfGfauggucs{invAb}	129 7	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuuggsusu	129 8
D-2366	{sGalNAc3}ccaaguguCfcUfCfUfGfuuggucs{invAb}	129 9	usGfsaccaAfcagaggAfcAfcuuggsusu	130 0
D-2367	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfCfUfCfugauggucs{invAb}	130 1	usGfsaccaucagaGfgAfcAfcuuggsusu	130 2
D-2368	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcugauggucs{invAb}	130 3	usGfsaccaUfcagaGfgAfcAfcuuggsus u	130 4
D-	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcuguuggucs{invAb}	130	usGfsaccaacagaGfgAfcAfcuusgsg	130

2369		5		6
D-2370	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcuguuggucs{invAb}	130 7	usGfsaccaAfcagaGfgAfcAfcuusgsg	130 8
D-2371	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	130 9	usGfsaccaacagaGfgAfcAfcuusgsg	131 0
D-2372	{sGalNAc3}ccaaguguCfcUfcUfcUfcGfuuggucs{invAb}	131 1	usGfsacCfaAfcagaGfgAfcAfcuuggsa su	131 2
D-2373	{sGalNAc3}ccaaguguCfcUfcUfcUfcGfuuggucs{invAb}	131 3	usGfsaccAfAfcagaGfgAfcAfcuuggsa su	131 4
D-2374	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	131 5	usGfsaccAfAfcagaGfgAfcAfcuuggsa su	131 6
D-2375	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	131 7	usGfsacCfaAfcagaGfgAfcAfcuuggsa su	131 8
D-2376	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	131 9	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuusgsg	132 0
D-2377	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	132 1	usGfsaccaAfcagaggAfcAfcuusgsg	132 2
D-2378	{sGalNAc3}aaguguCfcUfcUfcUfcGfauggucs{invAb}	132 3	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuususu	132 4
D-2379	{sGalNAc3}aaguguCfcUfcUfcUfcGfuuggucs{invAb}	132 5	usGfsaccaAfcagaggAfcAfcuususu	132 6
D-2380	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcugauggucs{invAb}	132 7	usGfsaccaucagaGfgAfcAfcuuggsusu	132 8
D-2381	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	132 9	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuuggsusu	133 0
D-2382	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	133 1	usGfsaccuUfcagaggAfcAfcuuggsusu	133 2
D-2383	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	133 3	usGfsaccaAfcagaggAfcAfcuuggsusu	133 4
D-2384	{sGalNAc3}ccaaguGfuCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	133 5	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuuggsusu	133 6
D-2385	{sGalNAc3}aaguGfuCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	133 7	usGfsaccaUfcagaggAfcAfcuususu	133 8
D-2386	{sGalNAc3}aaguGfuCfcUfcUfcfuguuggucs{invAb}	133 9	usGfsaccaAfcagaggAfcAfcuususu	134 0
D-2387	{sGalNAc3}caagugUfcCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	134 1	usUfsgaccAfucagagGfaCfacuugsusu	134 2
D-2388	{sGalNAc3}caagugUfcCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	134 3	usUfsgaccAfucagagGfaCfacuugsusu	134 4
D-2389	{sGalNAc3}caagugUfcCfcUfcUfcfugauggucs{invAb}	134 5	usUfsgaccUfucagagGfaCfacuugsusu	134 6

D-2390	{sGalNAc3}caagugUfcCfUfCfUfguuggucas{invAb}	134 7	usUfsgaccAfacagagGfaCfacuugsusu	134 8
D-2391	{sGalNAc3}uccucuGfaUfGfGfUfcaaaguucs{invAb}	134 9	asGfsaacuUfugaccaUfcAfgaggasusu	135 0
D-2392	{sGalNAc3}uccucuGfaUfGfGfUfcuaguucs{invAb}	135 1	asGfsaacuAfuugaccaUfcAfgaggasusu	135 2
D-2393	{sGalNAc3}ccucugAfuGfGfUfCfaaaguucus{invAb}	135 3	usAfsaacUfuugaccAfuCfagaggasusu	135 4
D-2394	{sGalNAc3}ccucugAfuGfGfUfCfaaacuucus{invAb}	135 5	usAfsaacUfuugaccAfuCfagaggasusu	135 6
D-2395	{sGalNAc3}cucugaugGfuCfAfAfAfguucuas{invAb}	135 7	asUfsagaaCfuugaccCfaUfcagagsusu	135 8
D-2396	{sGalNAc3}cucugaUfgGfUfCfAfaaguucuas{invAb}	135 9	asUfsagaaCfuugaccCfaUfcagsasg	136 0
D-2397	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfguucuas{invAb}	136 1	asUfsagaaCfuugaccCfaUfcagsusu	136 2
D-2398	{sGalNAc3}cucugaUfgGfUfCfAfaaguucuas{invAb}	136 3	asUfsagaaCfuugaccCfaUfcagagsusu	136 4
D-2399	{sGalNAc3}cugaUfgGfUfCfAfaaguucuas{invAb}	136 5	asUfsagaaCfuugaccCfaUfcagsusu	136 6
D-2400	{sGalNAc3}ucugauggUfcAfAfAfCfuucuasgs{invAb}	136 7	usCfsuagaAfguuuGfaCfAfucagasusu	136 8
D-2401	{sGalNAc3}ucugauGfgUfcAfaacuucuasgs{invAb}	136 9	usCfsuagaaguuuGfaCfAfucagsa	137 0
D-2402	{sGalNAc3}ucugauGfgUfcAfaacuucuasgs{invAb}	137 1	usCfsuagaAfguuuGfaCfAfucagsa	137 2
D-2403	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfacuucuasgs{invAb}	137 3	usCfsuagaaguuuGfaCfAfucagsa	137 4
D-2404	{sGalNAc3}ucugauggUfcAfAfAfCfuucuasgs{invAb}	137 5	usCfsuaGfaAfguuuGfaCfAfucagsg	137 6
D-2405	{sGalNAc3}ucugauggUfcAfAfAfCfuucuasgs{invAb}	137 7	usCfsuagAfguuuGfaCfAfucagsg	137 8
D-2406	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfacuucuasgs{invAb}	137 9	usCfsuagAfguuuGfaCfAfucagsg	138 0
D-2407	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfacuucuasgs{invAb}	138 1	usCfsuaGfaAfguuuGfaCfAfucagsg	138 2
D-2408	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfacuucuasgs{invAb}	138 3	usCfsuagaAfguuuGfaCfAfucagsa	138 4
D-2409	{sGalNAc3}ugauggUfcAfAfAfCfuucuasgs{invAb}	138 5	usCfsuagaAfguuuGfaCfAfucagsusu	138 6
D-	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfaaguucuasgs{invAb}	138	usCfsuagaAfguuuGfaCfAfucagsusu	138

2410	b}	7		8
D-2411	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfaguacuags{invAb}	138	usCfsuaguAfcuuugaCfcAfucagsusu	139
D-2412	{sGalNAc3}ucugauGfgUfCfAfAfacuucuags{invAb}	139	usCfsuagaAfguuugaCfcAfucagsusu	139
D-2413	{sGalNAc3}ugauGfgUfCfAfAfacuucuags{invAb}	139	usCfsuagaAfguuugaCfcAfucagsusu	139
D-2414	{sGalNAc3}cugaugguCfaAfAfGfUfucuasg{invAb}	139	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	139
D-2415	{sGalNAc3}cugaugguCfaAfAfGfUfucuasg{invAb}	139	asUfscuagUfacuuugAfcCfaucagsusu	139
D-2416	{sGalNAc3}cugaugguCfaAfAfGfAfucuasg{invAb}	139	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	140
D-2417	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfguucuagas{invAb}	140	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsg	140
D-2418	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfguacuagas{invAb}	140	asUfscuagUfacuuugAfcCfaucagsg	140
D-2419	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfgaucuagas{invAb}	140	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsg	140
D-2420	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuasg{invAb}	140	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	140
D-2421	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuasg{invAb}	140	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	141
D-2422	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfAfucuasg{invAb}	141	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	141
D-2423	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfguucuagas{invAb}	141	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	141
D-2424	{sGalNAc3}cugaugGfuCfAfAfAfgaucuagas{invAb}	141	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	141
D-2425	{sGalNAc3}gaugGfuCfAfAfAfguucuagas{invAb}	141	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	141
D-2426	{sGalNAc3}gaugGfuCfAfAfAfguucuagas{invAb}	141	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	142
D-2427	{sGalNAc3}gaugGfuCfAfAfAfgaucuagas{invAb}	142	asUfscuagAfacuuugAfcCfaucagsusu	142
D-2428	{sGalNAc3}gauggucaAfaGfUfUfCfuugaugs{invAb}	142	asCfsaucaAfgaacuuUfgAfcaucagsusu	142
D-2429	{sGalNAc3}gauggucaAfaGfUfUfCfuugaugs{invAb}	142	asCfsauCfaAfgaacUfuUfgAfcaucagsg	142
D-2430	{sGalNAc3}gauggucaAfaGfUfUfGfuugaugs{invAb}	142	asCfsauCfuAfgaacUfuUfgAfcaucagsg	142

D-2431	{sGalNAc3}gauggucaAfaGfUfUfCfuugaugs{invAb}	142 9	asCfsaucAfaAfgaacUfuUfgAfccaucsa sg	143 0
D-2432	{sGalNAc3}gauggucaAfaGfUfUfGfuugaugs{invAb}	143 1	asCfsaucUfaAfaaacUfuUfgAfccaucsas g	143 2
D-2433	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	143 3	asCfsaucAfaAfgaacUfuUfgAfccaucsa sg	143 4
D-2434	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfuguugaugs{invAb}	143 5	asCfsaucUfaAfaaacUfuUfgAfccaucsas g	143 6
D-2435	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	143 7	asCfsauCfaAfgaacUfuUfgAfccaucsas g	143 8
D-2436	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfuguugaugs{invAb}	143 9	asCfsauCfuAfaaacUfuUfgAfccaucsas g	144 0
D-2437	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	144 1	asCfsaucaAfgaacuuUfgAfccasusc g	144 2
D-2438	{sGalNAc3}uggucaAfaGfUfUfCfuugaugs{invAb}	144 3	asCfsaucaAfgaacuuUfgAfccasusu g	144 4
D-2439	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	144 5	asCfsaucuAfgaacuuUfgAfccaucsusu g	144 6
D-2440	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	144 7	asCfsaucaAfgaacuuUfgAfccaucsusu g	144 8
D-2441	{sGalNAc3}gaugguCfaAfAfGfUfuguugaugs{invAb}	144 9	asCfsaucuAfaaacuuUfgAfccaucsusu g	145 0
D-2442	{sGalNAc3}ugguCfaAfAfGfUfucuugaugs{invAb}	145 1	asCfsaucaAfgaacuuUfgAfccasusu g	145 2
D-2443	{sGalNAc3}ugggaaAfaCfCfAfGfugagucugs{invAb}	145 3	asCfsagacUfcaucuggUfuUfucccasusu g	145 4
D-2444	{sGalNAc3}aauuugUfaGfAfAfGfggauauacs{invAb}	145 5	usGfsuauaUfcccucUfaCfaaaususu g	145 6
D-2445	{sGalNAc3}aauuugUfaGfAfAfGfgcauauacs{invAb}	145 7	usGfsuauaUfgccucUfaCfaaaususu g	145 8
D-2446	{sGalNAc3}uuguagaaGfgGfAfUfAfuaacaas{invAb}	145 9	asUfsuuguAfuaucceUfuCfuacaasusu g	146 0
D-2447	{sGalNAc3}uuguagAfaGfGfGfAfuaacaas{invAb}	146 1	asUfsuuguAfuaucceUfuCfuacsasa g	146 2
D-2448	{sGalNAc3}guagaaGfgGfAfUfAfuaacaas{invAb}	146 3	asUfsuuguAfuaucceUfuCfuacsusu g	146 4
D-2449	{sGalNAc3}uuguagAfaGfGfGfAfuaacaas{invAb}	146 5	asUfsuuguAfuaucceUfuCfuacaasusu g	146 6
D-2450	{sGalNAc3}guagAfaGfGfGfAfuaacaas{invAb}	146 7	asUfsuuguAfuaucceUfuCfuacsusu g	146 8
D-	{sGalNAc3}gaaggAfuAfUfAfCfaagugs{invAb}	146	csCfsacuuUfguauauCfcCfuacsusu	147

2451		9		0
D-2452	{sGalNAc3}gaagGfgAfUfAfUfacaaagugs{invAb}	147 1	csCfsacuuUfguauauCfcCfuucsusu	147 2
D-2453	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfCfaaagugs{invAb}	147 3	asCfsacuuUfguauauCfcCfuucuasusu	147 4
D-2454	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfGfaaagugs{invAb}	147 5	asCfsacuuUfcuauauCfcCfuucuasusu	147 6
D-2455	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfagaaagugs{invAb}	147 7	asCfsacuuucuaAfUfCfcCfuucuasusu	147 8
D-2456	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuaaaagugs{invAb}	147 9	asCfsacuuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusu	148 0
D-2457	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfuaaaagugs{invAb}	148 1	asCfsacuuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusu	148 2
D-2458	{sGalNAc3}gaagGfgAfUfAfUfacaaagugs{invAb}	148 3	asCfsacuuuguauAfUfCfcCfuucsusu	148 4
D-2459	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfCfauagusgs{invAb}	148 5	asCfsacUfaUfguauAfUfCfcCfuucuasusc	148 6
D-2460	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfCfuaagusgs{invAb}	148 7	asCfsacUfuAfguauAfUfCfcCfuucuasusc	148 8
D-2461	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfGfaaagusgs{invAb}	148 9	asCfsacUfuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusc	149 0
D-2462	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfCfauagusgs{invAb}	149 1	asCfsacuAfUfguauAfUfCfcCfuucuasusc	149 2
D-2463	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfCfuaagusgs{invAb}	149 3	asCfsacuUfaAfguauAfUfCfcCfuucuasusc	149 4
D-2464	{sGalNAc3}uagaagggAfuAfUfAfGfaaagusgs{invAb}	149 5	asCfsacuUfuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusc	149 6
D-2465	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfacuagusgs{invAb}	149 7	asCfsacuAfUfguauAfUfCfcCfuucuasusc	149 8
D-2466	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfacuagusgs{invAb}	149 9	asCfsacuUfaAfguauAfUfCfcCfuucuasusc	150 0
D-2467	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfagaaagusgs{invAb}	150 1	asCfsacuUfuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusc	150 2
D-2468	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfacuagusgs{invAb}	150 3	asCfsacUfaUfguauAfUfCfcCfuucuasusc	150 4
D-2469	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfacuagusgs{invAb}	150 5	asCfsacUfuAfguauAfUfCfcCfuucuasusc	150 6
D-2470	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfagaaagusgs{invAb}	150 7	asCfsacUfuUfcuauAfUfCfcCfuucuasusc	150 8
D-2471	{sGalNAc3}uagaagGfgAfUfAfUfacaaagugs{invAb}	150 9	asCfsacuuUfguauauCfcCfuucsusa	151 0

D-2472	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuafagaaagugs{invAb}	151 1	asCfsacuuUfcuaauauCfcCfuucsusa	151 2
D-2473	{sGalNAc3}gaaggAfuAfuafGfaagugs{invAb}	151 3	asCfsacuuUfcuaauauCfcCfuucsusu	151 4
D-2474	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuagaaagugs{invAb}	151 5	asCfsacuuucuaufuafCfcCfuucuasusu	151 6
D-2475	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuafacaaagugs{invAb}	151 7	asCfsacuuUfguaauauCfcCfuucuasusu	151 8
D-2476	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuafacauagugs{invAb}	151 9	asCfsacuaUfguaauauCfcCfuucuasusu	152 0
D-2477	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuafacuaagugs{invAb}	152 1	asCfsacuuAfguaauauCfcCfuucuasusu	152 2
D-2478	{sGalNAc3}uagaagGfgAfuAfuafagaaagugs{invAb}	152 3	asCfsacuuUfcuaauauCfcCfuucuasusu	152 4
D-2479	{sGalNAc3}gaagGfgAfuAfuacaaagugs{invAb}	152 5	asCfsacuuuguauafuafCfcCfuucsusu	152 6
D-2480	{sGalNAc3}gaagGfgAfuAfuacaaagugs{invAb}	152 7	asCfsacuuUfguaufuafCfcCfuucsusu	152 8
D-2481	{sGalNAc3}gaagGfgAfuAfuafagaaagugs{invAb}	152 9	asCfsacuuUfcuaauauCfcCfuucsusu	153 0
D-2482	{sGalNAc3}uacaaaGfuGfGfAfaauagacacs{invAb}	153 1	asGfsugucUfauuuuccAfcUfuuguasusu	153 2
D-2483	{sGalNAc3}uacaaaGfuGfGfAfaauagacacs{invAb}	153 3	asGfsugucAfauuuccAfcUfuuguasusu	153 4
D-2484	{sGalNAc3}caaaguGfgAfuAfuafagacaccas{invAb}	153 5	usUfsggugUfcuaauuuCfcAfcuuugsusu	153 6
D-2485	{sGalNAc3}guggaaAfuAfuGfAfcfaccaaaucs{invAb}	153 7	asGfsauuuGfgugucuAfuUfuccacsusu	153 8
D-2486	{sGalNAc3}guggaaAfuAfuGfAfcfagcaaaaucs{invAb}	153 9	asGfsauuuGfcugucuAfuUfuccacsusu	154 0
D-2487	{sGalNAc3}gaaaauAfgAfcfAfcfaaaucuuas{invAb}	154 1	usAfsagauUfugguguCfuAfuuuccusu	154 2
D-2488	{sGalNAc3}gaaaauAfgAfcfAfcfaaaucuuas{invAb}	154 3	usAfsagauAfuugguguCfuAfuuuccusu	154 4
D-2489	{sGalNAc3}gaaaauGfaCfAfcfCfaaaucuuas{invAb}	154 5	asUfsaagaUfuuggugUfcUfauuuccusu	154 6
D-2490	{sGalNAc3}gaaaauGfaCfAfcfCfaaaucuuas{invAb}	154 7	asUfsaaguUfuuggugUfcUfauuuccusu	154 8
D-2491	{sGalNAc3}gaaaauGfaCfAfcfCfaaaucuuas{invAb}	154 9	asUfsaagaAfuuggugUfcUfauuuccusu	155 0
D-	{sGalNAc3}aaaagAfcAfcfCfAfaaauuuacs{invAb}	155	asGfsuaagAfuuggugGfuCfuauuuususu	155

2492	}	1		2
D-2493	{sGalNAc3}aauagaCfaCfCfAfAfaucuuacus{invAb}	155		155
	}	3	asAfsguaaGfauuuggUfgUfcuauususu	4
D-2494	{sGalNAc3}aauagaCfaCfCfAfAfaucuuacus{invAb}	155		155
	}	5	asAfsguauGfauuuggUfgUfcuauususu	6
D-2495	{sGalNAc3}aauagaCfaCfCfAfAfaucuuacus{invAb}	155		155
	}	7	asAfsguaaGfuuuuggUfgUfcuauususu	8
D-2496	{sGalNAc3}auagacAfcCfAfAfAfucuuacugs{invAb}	155		156
	}	9	asCfsaguaAfgauuugGfuGfucuaususu	0
D-2497	{sGalNAc3}auagacAfcCfAfAfAfucuuacugs{invAb}	156		156
	}	1	asCfsaguaUfgauuugGfuGfucuaususu	2
D-2498	{sGalNAc3}uagacaccAfaAfUfCfUfuacuggs{invAb}	156		156
	}	3	usCfscaguAfaaguuuGfgUfgucuasusu	4
D-2499	{sGalNAc3}uagacaCfcAfAfAfUfcuuacuggs{invAb}	156		156
	}	5	usCfscaguAfaaguuuGfgUfgucusa	6
D-2500	{sGalNAc3}gacaccAfaAfUfCfUfuacuggs{invAb}	156		156
	}	7	usCfscaguAfaaguuuGfgUfgucususu	8
D-2501	{sGalNAc3}uagacaCfcAfAfAfUfcuuacuggs{invAb}	156		157
	}	9	usCfscaguAfaaguuuGfgUfgucuasusu	0
D-2502	{sGalNAc3}uagacaCfcAfAfAfUfcuuucuggs{invAb}	157		157
	b}	1	usCfscagaAfaaguuuGfgUfgucuasusu	2
D-2503	{sGalNAc3}gacaCfcAfAfAfUfcuuacuggs{invAb}	157		157
	}	3	usCfscaguAfaaguuuGfgUfgucususu	4
D-2504	{sGalNAc3}agacacCfaAfAfUfCfuucuggas{invAb}	157		157
	}	5	usUfscagUfaaguuUfgGfugucususu	6
D-2505	{sGalNAc3}agacacCfaAfAfUfCfuucuggas{invAb}	157		157
	}	7	usUfscagAfaaguuUfgGfugucususu	8
D-2506	{sGalNAc3}agacacCfaAfAfUfCfuacuggas{invAb}	157		158
	}	9	usUfscagUfuaguuUfgGfugucususu	0
D-2507	{sGalNAc3}acuuggCfaUfCfUfCfccauuccs{invAb}	158		158
	}	1	usGfsgaauGfgggagaUfgCfaagususu	2
D-2508	{sGalNAc3}caucucCfcCfAfUfUfccaugages{invAb}	158		158
	}	3	usGfscucaUfggaugGfgGfagaugsusu	4
D-2509	{sGalNAc3}caucucCfcCfAfUfUfccuugages{invAb}	158		158
	}	5	usGfscucaAfggaugGfgGfagaugsusu	6
D-2510	{sGalNAc3}caucucCfcCfAfUfUfcgaugages{invAb}	158		158
	}	7	usGfscucaUfcgaugGfgGfagaugsusu	8
D-2511	{sGalNAc3}ucccauuCfcAfUfGfUfgcauges{invAb}	158		159
	}	9	usGfscaugCfacaugAfaUfgggasusu	0
D-2512	{sGalNAc3}ucccauuCfcAfUfGfUfgcaugscs{invAb}	159		159
	b}	1	sa	2

D-2513	{sGalNAc3}ucccauUfcAfUfGfUfgcaugscs{invAb}	159 3	usGfscauGfCfacauGfgAfaUfggggsg sa	159 4
D-2514	{sGalNAc3}ucccaUfuCfCfAfUfgugcaugscs{invAb}	159 5	usGfscauGfCfacauGfgAfaUfggggsg sa	159 6
D-2515	{sGalNAc3}ucccaUfuCfCfAfUfgugcaugscs{invAb}	159 7	usGfscUfgCfacauGfgAfaUfggggsg sa	159 8
D-2516	{sGalNAc3}ucccaUfuCfCfAfUfgugcaugscs{invAb}	159 9	usGfscaugCfacauggAfaUfgggsgsa	160 0
D-2517	{sGalNAc3}cccauUfcAfUfGfUfgcaugscs{invAb}	160 1	usGfscaugCfacauggAfaUfggggsusu	160 2
D-2518	{sGalNAc3}ucccaUfuCfCfAfUfgagcaugscs{invAb}	160 3	usGfscaugCfucauggAfaUfgggggsusu	160 4
D-2519	{sGalNAc3}ucccaUfuCfCfAfUfgugcaugscs{invAb}	160 5	usGfscaugCfacauggAfaUfgggggsusu	160 6
D-2520	{sGalNAc3}cccaUfuCfCfAfUfgugcaugscs{invAb}	160 7	usGfscaugCfacauggAfaUfggggsusu	160 8
D-2521	{sGalNAc3}ccccauUfcCfAfUfGfAfGfcaugcas{invAb}	160 9	asUfsgcauGfcucaugGfaAfuggggsusu	161 0
D-2522	{sGalNAc3}ccccauUfcCfAfUfGfagcaugcas{invAb}	161 1	asUfsgcauGfcucaugGfaAfuggsgsg	161 2
D-2523	{sGalNAc3}cccauUfcCfAfUfGfAfGfcaugcas{invAb}	161 3	asUfsgcauGfcucaugGfaAfugggsusu	161 4
D-2524	{sGalNAc3}ccccauUfcCfAfUfGfagcaugcas{invAb}	161 5	asUfsgcauGfcucaugGfaAfuggggsusu	161 6
D-2525	{sGalNAc3}cccauUfcCfAfUfGfagcaugcas{invAb}	161 7	asUfsgcauGfcucaugGfaAfugggsusu	161 8

實例2：在RNA FISH測定中所選擇TTR siRNA分子的功效

【0254】 在靶向核糖核酸分子的螢光原位雜交測定 (RNA FISH) 中篩選實例1中合成的siRNA分子以確定IC₅₀和最大活性值。

【0255】 進行RNA FISH (螢光原位雜交) 測定以藉由測試siRNA來測量TTR mRNA敲低。將HepG2細胞 (購自ATCC) 在補充有10%胎牛血清 (FBS, 西格瑪公司 (Sigma)) 和1%青黴素-鏈黴素 (P-S, 康寧公司 (Corning)) 的伊格爾氏最低必需培養基 (EMEM) (ATCC® 30-2003™) 中培養。使用Lipofectamine RNAiMAX轉染試劑 (賽默飛世爾科技公司 (Thermo Fisher Scientific)) 藉由反

向轉染將siRNA轉染到細胞中。藉由Bravo自動化液體處理平臺（安捷倫公司（Agilent））將1 μ L的測試siRNA（10個數據點，從100 nM最終濃度開始以1:3稀釋的劑量）或磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）媒介物和4 μ L不含補充物的普通EMEM添加到PDL包被的CellCarrier-384 Ultra測定板（珀金埃爾默公司（PerkinElmer））中。然後，藉由Multidrop Combi試劑分配器（賽默飛世爾科技公司），將在不含補充物的普通EMEM中預稀釋（在5 μ L EMEM中0.06 μ L的RNAiMAX）的5 μ L的Lipofectamine RNAiMAX（賽默飛世爾科技公司）分配到測定板中。在室溫（RT）下孵育siRNA/RNAiMAX混合物20分鐘後，使用Multidrop Combi試劑分配器，將補充有10% FBS和1% P-S的EMEM中的30 μ L HepG2細胞（每孔2000個細胞）添加至轉染複合物中。將測定板在RT下孵育20 min，然後置於培養箱中。將細胞在37°C和5% CO₂下孵育72小時。

【0256】 RNA FISH測定在siRNA轉染後72小時在內部組裝的自動FISH測定平臺上使用製造商的測定試劑和方案（來自賽默飛世爾科技公司的QuantiGene® ViewRNA HC篩選測定）進行。簡言之，將細胞在4%甲醛（賽默飛世爾科技公司）中在RT下固定15 min，在RT下用洗滌劑透化3 min，且然後在RT下用蛋白酶溶液（在PBS中以1:4000稀釋）處理10 min。將靶特异性探針（賽默飛世爾科技公司，目錄號VX-02，測定ID：VA6-17191-VC）或媒介物（不含靶探針的靶探針稀釋劑，作為陰性對照）孵育3小時，而前置放大器、放大器和標記探針分別孵育1小時。所有雜交步驟均在40°C下在Cytomat 2 C-LIN自動培養箱（賽默飛世爾科技公司）中進行。在雜交反應後，將細胞用Hoechst和CellMask Blue（賽默飛世爾科技公司）染色30分鐘，且然後在Opera Phenix高含量篩選系統（珀金埃爾默公司）上成像。使用Columbus圖像數據存儲和分析系統（珀金埃爾默公司）分析影像以獲得每個細胞的平均斑點計數。使用高（有靶探針的PBS）和低（沒有靶探針的PBS）對照孔對每個細胞的平均斑點計數進行歸一化。高和

低對照分別具有100和0的歸一化值。使用基因數據公司（Genedata）的Screener數據分析軟體（基因數據公司，瑞士巴塞爾（Basel, Switzerland））將相對於測試siRNA濃度的歸一化值擬合到4參數S形模型以獲得IC50值和最大活性。

【0257】測定的結果顯示在表3中。將TTR活性表示為與對照相比在最大和18 nM時的敲低百分比（%KD）。負值指示TTR水平降低。該表還顯示了活力百分比。

[表3]. HepG2細胞的RNA FISH測定

雙股體編號	IC50 (M)	最大活性（%最大KD）	18 nM時的%KD	活力%
D-2000	8.93E-09	-90.5	-65.5	6.0
D-2001	5.24E-09	-97.4	-83.6	-18.1
D-2002	4.04E-09	-94.9	-84.3	-22.3
D-2003	1.04E-08	-94.6	-75.2	-10.3
D-2004	4.84E-09	-96.8	-86.4	-20.9
D-2005	0.000000011	-95.6	-63.2	-8.6
D-2006	3.45E-09	-92.2	-86.4	-12.1
D-2007	1.05E-09	-96.2	-97.6	14.1
D-2008	2.9E-09	-94.2	-93.2	-14.7
D-2009	3.65E-09	-96.1	-78.8	-4.2
D-2010	3.08E-09	-96.8	-92.5	-27.2
D-2011	1.85E-09	-96.6	-90.0	-35.6
D-2012	5.65E-10	-81.7	-76.0	-26.9
D-2013	5.17E-09	-93.8	-82.7	-12.3
D-2014	2.77E-09	-95.8	-95.8	-1.0
D-2015	6.13E-09	-96.7	-85.5	-20.8
D-2016	7.35E-10	-96.2	-91.9	7.0
D-2017	2.59E-09	-98.3	-95.6	-24.9
D-2018	2.77E-09	-93.0	-91.4	0.3
D-2019	2.29E-09	-98.7	-86.8	-22.7
D-2020	1.54E-09	-95.8	-89.6	32.0

D-2021	2.6E-09	-99.2	-91.3	-8.7
D-2022	8.84E-10	-98.6	-82.1	-4.1
D-2023	2.65E-09	-98.2	-79.8	-12.5
D-2024	1.22E-09	-97.8	-93.7	1.4
D-2025	2.92E-09	-85.1	-83.2	-36.4
D-2026	2.12E-09	-92.6	-79.4	-23.4
D-2027	1.6E-09	-98.2	-87.4	-17.9
D-2028	1.82E-09	-97.3	-82.1	11.4
D-2029	1.12E-08	-93.8	-63.0	-27.4
D-2030	5.43E-09	-97.6	-80.6	-13.3
D-2031	3.14E-09	-92.3	-88.9	-29.3
D-2032	3.1E-09	-97.6	-93.1	18.7
D-2033	1.16E-09	-94.3	-94.5	-25.8
D-2034	0.000000011	-97.7	-85.1	-25.9
D-2035	1.69E-08	-97.7	-48.0	-24.4
D-2036	4.89E-09	-93.1	-79.9	-21.1
D-2037	2.01E-08	-83.7	-50.4	-8.1
D-2038	2.19E-08	-76.5	-42.5	-6.9
D-2039	2.41E-09	-85.4	-89.9	-24.6
D-2040	3.3E-09	-100.2	-88.4	-3.7
D-2041	3.04E-09	-94.1	-83.5	-26.3
D-2042	2.85E-09	-98.2	-90.8	-11.6
D-2043	2.08E-09	-95.6	-94.7	-11.0
D-2044	3.53E-09	-91.4	-68.1	8.1
D-2045	2.13E-09	-93.6	-94.9	-26.3
D-2046	1.32E-08	-91.2	-54.5	-15.6
D-2047	3.85E-08	-95.5	-75.6	-45.9
D-2048	3.12E-08	-95.6	-48.2	-29.1
D-2049	1.47E-08	-94.3	-58.9	-21.2
D-2050	0.000000162	-79.8	-14.4	2.2
D-2051	5.56E-08	-88.6	-25.4	-1.0
D-2052	未定義	-38.3	-20.3	-9.9
D-2053	2.79E-08	-93.4	-22.3	-29.0

D-2054	2.75E-08	-92.4	-45.0	-8.4
D-2055	0.000000101	-81.4	-29.8	-11.1
D-2056	3.06E-09	-97.1	-83.7	-22.5
D-2057	2.02E-08	-95.7	-45.1	-21.7
D-2058	2.22E-08	-91.4	-55.3	3.6
D-2059	> 500E-9	-19.7	-1.4	-5.6
D-2060	> 500E-9	-12.7	-7.2	21.6
D-2061	0.000000013	-80.2	-44.0	6.4
D-2062	6.38E-08	-85.9	-11.0	12.4
D-2063	3.42E-08	-60.8	-2.6	-30.0
D-2064	3.59E-08	-62.0	-24.8	-8.9
D-2065	未定義	-43.4	-13.4	21.2
D-2066	7.88E-08	-74.1	-33.7	2.9
D-2067	0.000000152	-78.8	-10.5	-19.1
D-2068	未定義	-41.2	4.9	38.6
D-2069	8.93E-08	-64.0	-10.2	-8.2
D-2070	6.24E-08	-59.7	-14.9	-25.0
D-2071	未定義	-45.3	-15.5	-6.6
D-2072	6.82E-08	-46.9	-13.6	-15.1
D-2073	0.000000105	-69.5	-9.0	-9.6
D-2074	4.41E-08	-78.6	-33.3	3.2
D-2075	1.84E-08	-96.7	-50.3	-10.8
D-2076	1.92E-08	-97.6	-50.3	-16.3
D-2077	7.51E-08	-68.2	-36.1	-12.0
D-2078	3.43E-08	-96.3	-39.7	3.0
D-2079	0.000000152	-84.6	-16.3	-0.3
D-2080	9.15E-08	-70.8	-28.2	-23.7
D-2081	> 500E-9	-22.7	-11.3	-46.2
D-2082	2.06E-08	-95.7	-46.4	10.5
D-2083	1.34E-08	-96.9	-65.8	-24.0
D-2084	6.49E-08	-74.8	-0.3	-17.2
D-2085	1.27E-08	-95.3	-63.9	0.2
D-2086	2.88E-08	-97.5	-47.4	-8.8

D-2087	2.21E-08	-92.9	-46.9	-17.8
D-2088	2.89E-08	-95.3	-41.9	-0.5
D-2089	4.56E-08	-90.9	-41.8	-3.8
D-2090	8.57E-08	-72.6	-30.8	-14.4
D-2091	0.000000014	-92.1	-53.8	-2.7
D-2092	6.44E-08	-79.1	-1.7	11.6
D-2093	6.46E-08	-50.3	-10.1	-20.5
D-2094	1.05E-08	-97.7	-70.3	-27.4
D-2095	1.27E-09	-95.0	-97.9	-28.0
D-2096	4.55E-09	-94.5	-94.9	-2.4
D-2097	4.08E-08	-69.8	-24.1	18.0
D-2098	5.77E-08	-61.8	-16.0	12.0
D-2099	2.79E-09	-95.7	-82.1	13.4
D-2100	1.09E-08	-94.3	-63.4	-15.6
D-2101	4.98E-08	-87.8	-14.4	-21.1
D-2102	3.22E-08	-90.5	-62.2	-3.8
D-2103	3.39E-09	-93.9	-93.3	-20.4
D-2104	7.32E-09	-92.6	-78.5	-18.7
D-2105	1.08E-08	-91.9	-77.8	-2.9
D-2106	6.05E-09	-91.3	-51.3	-21.5
D-2107	4.65E-09	-94.5	-69.5	-4.7
D-2108	7.16E-09	-96.3	-77.8	-10.3
D-2109	1.21E-08	-94.1	-49.8	-23.8
D-2110	1.26E-08	-97.8	-66.0	-0.6
D-2111	5.71E-09	-90.4	-79.2	7.3
D-2112	4.96E-09	-95.3	-72.6	3.3
D-2113	> 500E-9	60.2	-21.5	-34.5
D-2114	7.41E-09	-94.8	-73.9	-26.3
D-2115	2.34E-09	-94.1	-69.9	-15.5
D-2116	2.31E-09	-97.0	-90.7	-27.7
D-2117	9.66E-09	-96.0	-63.4	-26.7
D-2118	1.36E-09	-96.6	-88.8	-20.4
D-2119	5.08E-08	-84.1	-34.4	-20.1
D-2120	2.72E-08	-81.8	-32.4	-22.9

D-2121	1.96E-08	-95.7	-55.2	-31.4
D-2122	4.1E-09	-93.5	-83.2	-13.8
D-2123	1.27E-08	-95.8	-72.3	-31.4
D-2124	3.76E-09	-99.1	-85.7	3.1
D-2125	3.49E-09	-98.4	-79.0	17.2
D-2126	3.32E-09	-95.5	-83.8	-20.8
D-2127	1.42E-09	-97.5	-90.0	-21.1
D-2128	3.25E-09	-98.0	-81.4	-8.7
D-2129	3.25E-09	-98.6	-81.8	-7.5
D-2130	5.09E-09	-97.4	-81.4	0.7
D-2131	6.66E-09	-94.8	-84.6	-1.1
D-2132	3.93E-09	-94.7	-93.6	-8.7
D-2133	3.23E-09	-87.6	-77.0	-19.7
D-2134	2.24E-09	-94.8	-87.9	-13.2
D-2135	1.03E-08	-93.2	-81.3	-7.4
D-2136	1.28E-08	-94.3	-52.5	5.8
D-2137	5.04E-09	-84.3	-70.6	1.4
D-2138	0.000000005	-86.4	-79.8	-18.5
D-2139	2.73E-08	-67.2	-37.9	-11.0
D-2140	1.47E-08	-65.3	-25.5	-31.9
D-2141	1.23E-08	-92.3	-53.2	-18.7
D-2142	3.11E-09	-92.2	-81.2	-17.5
D-2143	2.92E-08	-75.5	-26.3	-6.4
D-2144	0.000000033	-62.8	-38.9	-20.3
D-2145	8.61E-09	-61.1	-20.2	-24.3
D-2146	7.05E-09	-86.8	-57.8	-15.1
D-2147	3.47E-09	-96.8	-87.9	-27.3
D-2148	5.7E-09	-92.0	-82.9	-20.7
D-2149	1.84E-09	-95.5	-74.5	-20.0
D-2150	6.41E-09	-94.9	-72.8	3.0
D-2151	0.00000001	-91.7	-69.9	-13.5
D-2152	0.000000109	-78.2	-10.4	-19.5
D-2153	8.35E-09	-93.5	-70.4	-23.4
D-2154	1.36E-08	-89.7	-65.0	19.7

D-2155	4.07E-08	-90.6	-18.0	3.3
D-2156	3.8E-09	-97.3	-73.0	-16.0
D-2157	1.48E-08	-88.1	-52.3	-6.2
D-2158	1.56E-08	-89.4	-60.6	-9.2
D-2159	0.000000127	-53.0	-6.4	7.2
D-2160	1.94E-08	-72.0	-37.4	-11.7
D-2161	1.21E-08	-90.2	-61.9	-7.7
D-2162	6.33E-09	-91.1	-68.9	-11.2
D-2163	4.38E-08	-68.8	-22.3	-28.9
D-2164	0.000000013	-98.6	-67.5	-5.6
D-2165	2.36E-08	-93.7	-44.2	-9.0
D-2166	2.75E-08	-48.2	-18.8	-3.3
D-2167	2.97E-08	-83.9	-23.0	5.2
D-2168	0.000000162	-70.7	-3.5	-16.7
D-2169	2.69E-08	-94.5	-24.5	-9.1
D-2170	6.92E-08	-64.5	3.0	-14.1
D-2171	2.58E-08	-80.8	-29.6	-19.7
D-2172	0.000000021	-93.9	-49.2	-15.9
D-2173	2.85E-08	-97.0	-48.1	-7.3
D-2174	2.09E-08	-90.3	-56.2	11.6
D-2175	3.13E-08	-97.2	-26.6	3.2
D-2176	0.000000105	-62.6	38.0	-13.5
D-2177	2.07E-08	-93.4	-47.0	-22.9
D-2178	1.39E-08	-95.4	-51.6	-6.2
D-2179	6.49E-08	-77.9	-24.2	-3.9
D-2180	1.21E-08	-93.8	-70.4	-24.9
D-2181	6.93E-08	-92.1	-27.7	-30.9
D-2182	5.78E-08	-92.2	-32.0	-38.3
D-2183	0.000000012	-95.1	-77.8	-50.7
D-2184	0.000000036	-92.2	-29.8	-14.4
D-2185	1.44E-08	-92.6	-58.3	-32.4
D-2186	1.08E-08	-94.8	-64.2	-10.9
D-2187	2.15E-08	-91.0	-49.5	-13.8
D-2188	3.47E-08	-96.6	-47.2	-16.4

D-2189	2.53E-08	-94.3	-42.2	-47.9
D-2190	8.19E-09	-84.2	-79.8	-40.6
D-2191	2.18E-08	-90.4	-74.1	-57.4
D-2192	0.000000123	-82.0	-13.8	-25.4
D-2193	2.59E-08	-74.4	-28.2	-34.1
D-2194	4.17E-08	-95.5	-19.5	-38.3
D-2195	4.18E-08	-95.2	-38.5	-26.3
D-2196	0.000000071	-67.6	-12.1	-53.2
D-2197	1.19E-08	-92.7	-79.8	-51.8
D-2198	0.000000035	-81.4	-19.7	-20.1
D-2199	5.19E-08	-80.0	-36.4	-33.2
D-2200	3.86E-08	-76.5	-18.8	-24.9
D-2201	1.38E-08	-94.3	-52.5	-7.7
D-2202	3.33E-08	-91.1	-33.2	-16.5
D-2203	0.000000038	-79.7	-36.8	-12.7
D-2204	1.43E-08	-90.9	-63.7	-42.5
D-2205	2.61E-08	-88.9	-53.5	-32.7
D-2206	0.000000091	-77.5	-33.9	-21.8
D-2207	5.62E-08	-84.3	-17.7	-12.7
D-2208	2.27E-08	-85.2	-39.7	-40.3
D-2209	4.73E-08	-81.2	-6.2	-2.3
D-2210	5.39E-08	-77.8	-14.4	-6.3
D-2211	0.000000135	-59.4	9.3	5.6
D-2212	9.24E-08	-51.1	-8.1	0.2
D-2213	0.000000132	-86.4	0.2	-5.4
D-2214	未定義	-29.6	-2.1	-5.9
D-2215	9.19E-09	-71.6	-40.7	-35.1
D-2216	9.75E-08	-98.0	-10.3	-27.3
D-2217	8.76E-08	-94.8	-3.4	8.0
D-2218	6.08E-08	-93.3	-17.2	0.7
D-2219	0.000000067	-100.8	9.6	-17.6
D-2220	0.000000102	-92.1	8.1	-15.2
D-2221	8.43E-09	-72.5	-48.3	-17.3

D-2222	0.000000108	-91.3	-16.4	-6.9
D-2223	9.24E-08	-91.7	-12.2	-9.5
D-2224	0.000000085	-92.1	-6.8	-12.9
D-2225	8.24E-08	-92.0	-4.3	1.0
D-2226	0.000000112	-91.7	-21.5	-10.3
D-2227	0.000000106	-92.3	-10.6	-10.4
D-2228	1.75E-09	-96.2	-86.1	-12.0
D-2229	7.81E-08	-97.4	-13.1	-1.0
D-2230	9.72E-09	-95.9	-16.5	11.1
D-2231	7.96E-08	-94.6	-17.5	-1.5
D-2232	0.000000104	-92.7	-2.2	-27.6
D-2233	0.000000104	-94.7	-2.5	-27.2
D-2234	7.47E-08	-101.0	-17.4	-34.3
D-2235	> 500E-9	73.1	22.4	-39.6
D-2236	0.000000076	-96.8	-8.7	-13.6
D-2237	8.84E-08	-93.5	-6.5	9.4
D-2238	0.000000113	-96.8	-17.0	-7.6
D-2239	4.23E-09	-96.2	-91.0	-27.0
D-2240	9.91E-08	-96.5	-6.1	5.6
D-2241	0.00000011	-88.8	-20.2	-38.2
D-2242	0.000000063	-98.5	-16.4	-27.5
D-2243	1.47E-09	-90.9	-81.2	-3.8
D-2244	0.000000101	-94.3	-5.8	-1.0
D-2245	0.00000009	-92.2	-6.1	-10.7
D-2246	2.66E-09	-98.9	-92.4	-32.3
D-2247	8.66E-09	-98.4	-82.4	13.7
D-2248	3.96E-09	-94.5	-87.9	-21.3
D-2249	7.13E-09	-94.5	-70.2	1.0
D-2250	3.28E-09	-96.6	-89.7	-23.3
D-2251	4.09E-09	-98.9	-85.4	-1.0
D-2252	1.71E-09	-96.9	-81.3	1.5
D-2253	6.32E-09	-95.0	-76.8	-4.9
D-2254	8.59E-09	-96.4	-84.9	3.3
D-2255	2.95E-09	-94.4	-89.4	-25.8

D-2256	1.64E-09	-99.5	-96.6	-5.7
D-2257	1.06E-08	-97.7	-75.2	-19.7
D-2258	0.000000011	-98.9	-82.0	3.9
D-2259	2.19E-08	-95.9	-42.5	18.2
D-2260	3.35E-09	-98.2	-90.2	-12.4
D-2261	3.56E-09	-95.3	-88.8	-2.7
D-2262	1.16E-08	-95.0	-83.1	13.6
D-2263	3.76E-09	-99.7	-90.4	-18.5
D-2264	1.18E-08	-99.0	-74.9	-9.9
D-2265	1.87E-08	-97.4	-53.7	-20.3
D-2266	8.67E-09	-97.1	-89.2	-19.4
D-2267	7.05E-09	-87.7	-75.1	-5.1
D-2268	1.18E-08	-94.4	-63.0	0.9
D-2269	1.97E-08	-96.3	-52.4	-16.4
D-2270	5.4E-09	-93.6	-88.6	-0.1
D-2271	6.23E-09	-91.8	-80.7	-15.4
D-2272	9.1E-09	-94.2	-70.6	1.0
D-2273	5.54E-09	-90.4	-73.4	-1.6
D-2274	5.84E-09	-93.9	-76.9	7.5
D-2275	9.13E-09	-92.9	-68.3	-19.5
D-2276	1.54E-08	-96.1	-65.7	-20.7
D-2277	9.94E-09	-95.6	-83.3	-11.5
D-2278	1.47E-08	-89.8	-60.4	
D-2279	7.06E-09	-93.8	-75.9	
D-2280	9.35E-09	-92.4	-61.1	
D-2281	8.87E-09	-89.8	-67.8	
D-2282	7.27E-09	-89.7	-77.3	

實例3：在人源化小鼠模型中TTR siRNA分子的功效篩選

【0258】 將在磷酸鹽緩衝鹽水（賽默飛世爾科技公司，14190-136）中稀釋至 $1e12$ 個病毒顆粒/動物的相關腺病毒（AAV；血清型DJ8；無內毒素，由美商安進公司（Amgen）內部製備）靜脈注射至無病原體的C57BL/6NCrl雌性小鼠（查

理斯河實驗室公司 (Charles River Laboratories Inc.) 的尾靜脈以驅動人 *TTR* (h*TTR*) 在肝臟中的表現。研究開始時小鼠通常為8-10週齡，且每組包括n=4-6隻動物。每輪篩選包括至少兩個經媒介物處理的對照組：用媒介物處理的AAV空載體和AAV-h*TTR*。在AAV投與後十四天，將小鼠經由皮下注射，以用磷酸鹽緩衝鹽水 (賽默飛世爾科技公司，14190-136) 稀釋的0.5、1.0、或3.0毫克/公斤動物 (如下表4所示) 的單劑量的siRNA (0.5 mM) 處理。注射siRNA後28天，按照實驗室動物護理評估和認證協會 (AAALAC) 指南，對小鼠進行麻醉，並然後藉由二次物理方法實施安樂死。從動物身上收集肝臟並立即在液氮中速凍，根據製造商的說明使用QIAcube儀器 (凱傑公司，9001292) 和RNeasy Mini QIAcube套組 (240) (凱傑公司，74116) 處理經純化的RNA。使用NanoDrop™ 8000分光光度計 (賽默飛世爾公司，ND-8000GL) 分析RNA樣本。用RQ1無RNA酶的DNA酶 (普洛麥格公司 (Promega)，M6101) 處理RNA，且使用TaqMan™ RNA-to-CT™ 1-Step套組 (應用生物系統公司，4392653) 製備即時qPCR。即時qPCR在QuantStudio 7 Flex PCR機器上運行。結果基於人*TTR*的基因表現，其歸一化至小鼠*Tbp* (來自英傑公司 (Invitrogen) 的TaqMan™測定，分別為Hs00174914和Mm01277042)，且表示為人*TTR* mRNA表現與經媒介物處理的對照動物相比的相對敲低。還確定內源性小鼠*TTR*表現以用於比較 (英傑公司，Mm00443267)。

【0259】 本文所述之所有動物程序均由查理斯河加速器和開發實驗室 (Charles River Accelerator and Development Lab, CRADL, AAALAC認證) 的機構動物護理和使用委員會 (Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC) 批准，並根據實驗室動物護理與使用指南 (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals) 第8版 (美國國家研究委員會 (National Research Council (U.S.))) 進行護理。將小鼠分組圈養在22°C±2°C、具有12小時光照；12小時黑暗週期 (0600-1800小時) 的空調房間內。動物可以隨意獲取常規食物 (Envigo公

司，2920X），並被關在裝有預裝無菌酸化水瓶的輻照的Innovive一次性IVC齧齒動物籠養系統（聖地牙哥，加利福尼亞州）的籠中。

[表4].體內運甲狀腺素蛋白敲低測定

雙股體編號	投與的劑量 (mg/kg)	運甲狀腺素蛋白hTTR敲低 (%)	運甲狀腺素蛋白mTTR敲低 (%)
D-2443	1	-28.2	-14.4
D-2440	1	11.0	-6.0
D-2352	1	-31.0	-33.9
D-2343	1	-17.6	-43.3
D-2339	1	-26.3	1.0
D-2326	1	-38.8	15.4
D-2292	1	-37.3	1.0
D-2290	1	-33.2	-39.2
D-2496	1	-66.3	0.5
D-2350	1	-33.5	-13.5
D-2507	1	-65.4	-43.6
D-2345	1	15.2	-0.8
D-2504	1	-34.4	-44.6
D-2475	1	-53.4	-51.0
D-2501	1	-76.7	-8.3
D-2343	1	-49.8	-8.6
D-2449	1	-82.0	-4.9
D-2439	1	-27.2	-6.8
D-2342	1	-66.7	-72.8
D-2492	1	-7.5	7.1
D-2489	1	-44.9	-4.0
D-2423	1	-83.8	-57.5
D-2337	1	-72.4	-59.7
D-2487	1	-15.9	-5.7
D-2410	1	-42.8	-34.4

D-2333	1	-70.3	-12.3
D-2485	1	-64.9	-21.3
D-2398	1	-82.4	-51.4
D-2393	1	-40.1	-51.1
D-2328	1	-14.2	1.2
D-2391	1	-3.9	-2.2
D-2325	1	-71.9	-79.5
D-2524	1	-80.6	-33.7
D-2484	1	-59.2	19.3
D-2324	1	-25.5	7.2
D-2322	1	-27.7	23.6
D-2289	1	-41.6	-3.8
D-2518	1	-39.2	-11.4
D-2288	1	-34.9	-35.2
D-2482	1	-63.8	7.9
D-2387	1	-50.4	-2.8
D-2316	1	-77.5	10.9
D-2293	1	-37.5	0.8
D-2381	1	-82.1	-10.5
D-2287	1	-73.3	-40.4
D-2283	1	-58.1	-26.6
D-2361	1	10.4	-0.1
D-2355	1	42.7	-28.0
D-2493	1	-15.0	1.9
D-2508	1	-39.6	17.1
D-2354	1	-55.2	32.9
D-2491	1	-56.1	4.3
D-2490	1	-38.4	10.9
D-2327	1	-23.1	4.5
D-2394	1	-41.2	0.8
D-2353	1	-39.1	25.6
D-2488	1	-9.1	32.1
D-2506	1	-55.5	12.3

D-2505	1	-43.3	-3.6
D-2486	1	-67.1	13.0
D-2392	1	-31.8	-14.7
D-2351	1	-63.7	-40.8
D-2286	1	-33.7	0.2
D-2285	1	-3.6	182.6
D-2502	1	-31.4	9.4
D-2284	1	-4.5	11.7
D-2497	1	0.5	13.7
D-2445	1	-40.7	27.6
D-2323	1	-51.6	24.9
D-2390	1	-62.2	28.5
D-2483	1	-46.4	28.6
D-2317	1	-71.9	17.5
D-2495	1	-43.7	18.0
D-2389	1	-46.9	9.4
D-2388	1	-49.7	31.3
D-2494	1	14.0	26.8
D-2384	1	-51.0	2.1
D-2477	1	-67.0	-43.2
D-2383	1	-73.9	13.1
D-2382	1	-40.0	-14.7
D-2476	1	-61.2	-7.8
D-2441	1	-70.5	-6.5
D-2338	1	-53.7	-42.9
D-2334	1	-27.7	-16.3
D-2440	1	-73.6	-40.9
D-2519	1	-71.6	-20.2
D-2412	1	-73.4	-23.2
D-2363	1	-71.6	-22.5
D-2362	1	-46.8	-34.0
S-2424	1	-74.6	-22.5
D-2291	1	-37.9	-35.5
D-2441	1	-52.8	-20.8

D-2510	1	-64.5	-12.0
D-2509	1	-31.0	-2.5
D-2357	1	-46.9	-22.3
D-2356	1	-30.6	-29.9
D-2449	0.5	-27.7	-17.2
D-2449	1	-1.3	8.1
D-2449	3	-79.8	6.0
D-2423	0.5	-84.1	-36.9
D-2423	1	-83.3	-44.9
D-2423	3	-97.3	-81.5
D-2398	0.5	1.1	9.4
D-2398	1	2.1	0.3
D-2398	3	-52.8	-7.4
D-2524	0.5	-10.6	-19.5
D-2524	1	-53.8	-14.8
D-2524	3	-88.9	-20.2
D-2381	0.5	156.3	121.8
D-2381	1	-30.7	-47.3
D-2381	3	-91.1	-84.4
D-2501	0.5	133.2	84.9
D-2501	1	35.8	53.9
D-2501	3	-24.8	7.5
D-2316	0.5	-2.8	86.6
D-2316	1	-54.3	42.1
D-2316	3	-91.0	71.2
D-2412	0.5	14.2	118.4
D-2412	1	-38.9	80.7
D-2412	3	-89.9	74.2
D-2412	0.5	-62.6	-9.4
D-2400	0.5	-69.5	-13.5
D-2413	0.5	-49.8	-13.0
D-2409	0.5	-53.4	-15.0

D-2408	0.5	-71.2	-28.4
D-2398	1	-85.6	-61.7
D-2398	0.5	-75.6	-48.4
D-2395	0.5	-16.1	-36.9
D-2399	0.5	-5.2	-8.2
D-2397	0.5	0.4	-19.6
D-2396	0.5	-20.7	-19.6
D-2423	0.5	-66.7	-47.3
D-2414	0.5	-65.1	-48.7
D-2425	0.5	-66.2	-46.1
D-2420	0.5	-71.0	-46.0
D-2417	0.5	-76.1	-28.0
D-2381	0.5	-66.8	-25.8
D-2365	0.5	-30.7	-40.3
D-2385	0.5	-39.4	-35.4
D-2378	0.5	-41.2	-29.5
D-2376	0.5	-41.2	-71.6
D-2316	0.5	-59.3	-67.5
D-2296	0.5	-56.4	-63.0
D-2320	0.5	-52.8	-64.7
D-2312	0.5	-68.9	-61.1
D-2309	0.5	-66.9	-71.9
D-2449	0.5	-37.7	-5.4
D-2446	0.5	-7.5	-10.1
D-2450	0.5	4.0	-12.4
D-2448	0.5	36.2	-28.4
D-2447	0.5	50.3	3.3
D-2501	0.5	-40.8	-22.6
D-2498	0.5	16.6	-17.8
D-2503	0.5	-4.5	-32.1
D-2500	0.5	-31.0	-38.5
D-2499	0.5	-27.8	-31.4
D-2524	0.5	-69.7	-36.7
D-2521	0.5	-21.0	-24.1

D-2525	0.5	-26.6	-44.5
D-2523	0.5	-23.4	-23.8
D-2522	0.5	-34.2	-31.4
D-2524	1	-35.1	8.7
D-2524	0.5	-17.4	-9.9
D-2521	0.5	-24.9	-4.0
D-2525	0.5	-4.7	-1.7
D-2523	0.5	-14.1	0.8
D-2522	0.5	-51.2	11.8
D-2297	1	-0.5	-14.6
D-2297	0.5	-12.4	-26.1
D-2310	0.5	-9.8	-26.4
D-2294	0.5	-55.5	-13.5
D-2295	0.5	-52.7	-23.8
D-2331	1	-16.4	-17.7
D-2331	0.5	7.3	-26.9
D-2332	0.5	-16.6	-36.1
D-2329	0.5	-1.1	-28.6
D-2330	0.5	-17.3	-33.2
D-2340	1	-30.0	-30.7
D-2340	0.5	-29.0	-41.5
D-2341	0.5	-21.5	-31.6
D-2335	0.5	-15.7	-24.1
D-2336	0.5	-26.9	-28.6
D-2415	1	-18.2	-26.5
D-2415	0.5	-18.0	-37.5
D-2418	0.5	2.8	-37.5
D-2421	0.5	-73.0	-57.8
D-2425	0.5	-75.1	-49.1
D-2454	1	-19.5	-31.4
D-2454	0.5	-40.6	-14.6
D-2472	1	-25.9	-21.8
D-2472	0.5	-15.0	-24.0

D-2451	0.5	-70.5	-19.9
D-2452	0.5	-63.3	-28.0
D-2423	1	-86.1	-63.7
D-2423	0.5	-68.0	-48.6
D-2449	1	-46.3	-31.3
D-2449	0.5	-40.5	-34.8
D-2316	1	-74.6	-37.2
D-2316	0.5	-64.5	-29.7
D-2381	1	-73.4	-80.2
D-2381	0.5	-72.4	-71.4
D-2412	0.5	-64.6	-4.7
D-2412	1	-77.2	-10.7
D-2412	3	-96.3	-11.3
D-2408	0.5	-69.7	3.4
D-2408	1	-90.1	2.0
D-2408	3	-96.9	-14.6
D-2398	0.5	-35.0	-6.2
D-2398	1	-22.8	-22.5
D-2398	3	-56.3	-20.4
D-2423	0.5	-84.1	-45.2
D-2423	1	-83.1	-50.4
D-2423	3	-98.3	-89.0
D-2417	0.5	-65.1	-34.7
D-2417	1	-87.6	-46.8
D-2417	3	-96.5	-79.2
D-2381	0.5	-63.4	-57.9
D-2381	1	-84.2	-84.0
D-2381	3	-94.2	-93.1
D-2316	0.5	-59.8	-18.2
D-2316	1	-80.4	-12.2
D-2316	3	-96.9	-17.4
D-2449	0.5	-36.1	-3.5
D-2449	1	-74.4	-21.2

D-2449	3	-86.4	-25.4
D-2452	0.5	-76.1	-12.1
D-2452	1	-84.3	-12.5
D-2452	3	-96.1	-20.8
D-2451	0.5	-63.4	-12.7
D-2451	1	-80.9	-11.9
D-2451	3	-96.1	-28.0
D-2425	0.5	-71.8	-30.6
D-2425	1	-84.0	-60.5
D-2425	3	-97.6	-72.3
D-2478	0.5	-64.5	-18.6
D-2478	1	-83.5	-16.3
D-2478	3	-92.4	-12.3
ALNY #2 (AD-87404)	1	-86.4	-0.1
ALNY #2 (AD-87404)	0.5	-72.9	-3.3
D-2408	1	-81.7	-18.0
D-2408	0.5	-74.2	-11.4
D-2423	1	-83.5	-52.1
D-2423	0.5	-57.3	-15.7
D-2452	1	-77.4	-12.1
D-2452	0.5	-49.8	1.0
D-2408	1	-82.8	-2.4
D-2408	0.5	-77.7	0.4
D-2423	1	-86.1	-55.6
D-2423	0.5	-67.6	-20.7
D-2452	1	-83.5	-12.4
D-2452	0.5	-66.1	5.6
D-2408	0.5	-71.9	-31.7
D-2423	0.5	-70.8	-41.2
D-2452	0.5	-68.5	-12.1
D-2519	1	-59.2	5.0

D-2519	0.5	-38.2	-11.1
D-2511	0.5	-30.9	-16.5
D-2520	0.5	-64.1	-21.0
D-2517	0.5	-34.4	-17.1
D-2516	0.5	-68.3	-17.9
D-2317	1	-68.0	-0.6
D-2317	0.5	-56.7	-31.4
D-2298	0.5	-46.8	9.4
D-2321	0.5	-47.4	-12.4
D-2313	0.5	-56.3	-16.8
D-2311	0.5	-48.3	-30.8
D-2363	1	-38.2	21.6
D-2363	0.5	-2.7	66.1
D-2358	0.5	4.8	78.5
D-2364	0.5	-31.5	64.6
D-2360	0.5	-23.9	57.7
D-2359	0.5	-27.7	65.0
D-2383	1	-67.1	13.3
D-2383	0.5	-16.9	168.1
D-2366	0.5	-35.3	46.3
D-2386	0.5	6.6	51.7
D-2379	0.5	-12.0	73.5
D-2377	0.5	-37.8	31.4
D-2424	1	-79.2	7.2
D-2424	0.5	29.6	-12.9
D-2416	0.5	-41.7	-12.2
D-2427	0.5	-32.4	1.0
D-2422	0.5	-23.6	18.5
D-2419	0.5	-41.0	6.6
D-2316	1	-63.0	28.3
D-2316	0.5	-45.2	5.6
D-2314	0.5	-36.1	-3.7
D-2301	0.5	-50.2	15.9
D-2299	0.5	-4.8	17.8

D-2303	0.5	-22.0	-5.9
D-2478	1	-57.9	0.8
D-2478	0.5	-14.8	-1.4
D-2474	0.5	-15.3	3.4
D-2455	0.5	27.6	30.2
D-2456	0.5	-32.7	16.5
D-2457	0.5	7.4	-2.9
D-2408	1	-85.3	29.0
D-2408	0.5	-64.3	8.4
D-2381	3	-96.7	16.2
D-2381	1	-67.9	-64.0
D-2381	0.5	-50.5	-34.5
D-2365	1	-47.4	-44.5
D-2365	0.5	-54.6	-37.9
D-2385	1	-51.9	0.0
D-2385	0.5	-62.8	-8.0
D-2378	3	-83.8	-35.4
D-2378	1	-54.0	-26.2
D-2378	0.5	-52.4	-25.6
D-2376	1	-70.9	-42.0
D-2376	0.5	-45.3	-10.6
D-2383	3	-92.3	-65.8
D-2383	1	-65.1	-25.6
D-2383	0.5	-26.4	7.2
D-2312	3	-97.3	28.5
D-2312	1	-88.5	20.4
D-2312	0.5	-67.6	27.1
D-2301	1	-76.1	12.9
D-2301	0.5	-58.1	20.6
D-2317	1	-67.0	21.1
D-2317	0.5	-53.1	-6.4
D-2313	1	-65.3	5.9
D-2313	0.5	-54.7	2.7

D-2440	3	-90.4	-57.0
D-2440	1	-78.0	-25.7
D-2440	0.5	-34.0	-12.6
D-2363	1	-53.5	-14.9
D-2363	0.5	-20.9	1.9
D-2496	1	-17.1	22.8
D-2496	0.5	-34.6	7.6
D-2516	3	-92.0	8.3
D-2516	1	-72.3	-3.3
D-2516	0.5	-44.8	-5.5
D-2440	0.5	-41.3	53.5
D-2428	0.5	-49.3	71.2
D-2442	0.5	-61.1	19.0
D-2438	0.5	-26.7	41.5
D-2437	0.5	-49.3	14.3
D-2478	0.5	-30.8	47.4
D-2481	0.5	-52.0	59.9
D-2473	0.5	-44.4	54.2
D-2475	0.5	-40.6	2.3
D-2453	0.5	-53.5	36.1
D-2471	0.5	-78.2	49.4
D-2317	0.5	-64.5	24.2
D-2315	0.5	-70.9	-57.1
D-2302	0.5	-77.4	-62.6
D-2300	0.5	-69.4	-51.6
D-2313	0.5	-79.8	-53.1
D-2318	0.5	-62.4	-46.0
D-2319	0.5	-69.5	-63.5
D-2304	0.5	-81.3	-57.5
D-2377	0.5	-73.0	-57.2
D-2369	0.5	-66.2	-59.2
D-2370	0.5	-78.7	-75.6
D-2371	0.5	-85.1	-63.3

D-2478	0.5	-79.1	-64.1
D-2478	0.5	-82.2	-61.2
D-2380	0.5	-22.2	-13.9
D-2368	0.5	-46.8	-36.3
D-2367	0.5	-45.1	-21.1
D-2408	0.5	-76.7	-5.3
D-2401	0.5	-67.8	15.6
D-2402	0.5	-69.4	-21.6
D-2403	0.5	-70.1	-5.5
D-2452	0.5	-73.8	-14.8
D-2479	0.5	-72.0	3.8
D-2480	0.5	-67.1	-8.3
D-2458	0.5	-65.9	-3.2
D-2308	0.5	-59.4	10.6
D-2307	0.5	-53.8	13.1
D-2305	0.5	-73.1	15.6
D-2306	0.5	-62.2	21.5
D-2349	0.5	-73.2	-67.6
D-2348	0.5	-64.8	-65.5
D-2346	0.5	-62.9	-44.7
D-2347	0.5	-68.4	-60.8
D-2375	0.5	-71.2	-27.7
D-2374	0.5	-54.8	-27.9
D-2372	0.5	-73.9	-29.1
D-2373	0.5	-60.8	-38.7
D-2407	0.5	-79.3	-16.7
D-2406	0.5	-69.0	-22.0
D-2404	0.5	-75.2	-7.9
D-2405	0.5	-70.4	-13.2
D-2435	0.5	-71.8	-55.3
D-2433	0.5	-64.6	-56.1
D-2429	0.5	-70.2	-52.6
D-2431	0.5	-66.8	-45.7

D-2436	0.5	-81.0	-6.7
D-2434	0.5	-62.2	-3.6
D-2430	0.5	-67.9	23.1
D-2432	0.5	-73.4	-9.3
D-2468	0.5	-62.3	-19.8
D-2465	0.5	-69.2	-5.1
D-2459	0.5	-63.8	-7.5
D-2462	0.5	-50.8	-5.9
D-2469	0.5	-59.9	0.9
D-2466	0.5	-61.9	-7.3
D-2460	0.5	-72.8	-12.8
D-2463	0.5	-51.2	-9.7
D-2470	0.5	-65.0	-9.6
D-2467	0.5	-72.8	0.0
D-2461	0.5	-54.1	-19.2
D-2464	0.5	-79.2	-13.3
D-2515	0.5	-55.8	-23.1
D-2514	0.5	-56.7	-24.7
D-2512	0.5	-50.7	10.6
D-2513	0.5	-44.7	-4.9
D-2478	0.5	-54.3	-6.1
D-2478	1	-64.5	-14.0
D-2302	0.5	-48.0	2.7
D-2313	0.5	-73.9	-8.1
D-2304	0.5	-59.7	-2.5
D-2370	0.5	-56.1	-7.9
D-2371	0.5	-44.1	0.6
D-2403	0.5	-71.2	-4.3

【0260】本說明書中所提及的所有公開、專利以及專利申請藉由引用併入本文，達到如同每一個單獨的公開、專利或專利申請被特別地並且單獨地指示藉由引用併入的相同的程度。然而，本文對參考文獻的引用不應解釋為承認這樣的參考文獻為本發明之先前技術。在藉由引用併入的參考文獻中所提供的任何定

義或術語與在本文中所提供的術語和討論不同的情況下，以本發明術語和定義為準。

【0261】 認為前述書面說明足以能夠使熟悉該項技術者來實踐本發明。前述描述和實例詳述本發明之某些實施方式，且描述由諸位發明人所考慮的最佳模式。然而，將理解的是無論前述內容可如何詳細地出現在文本中，本發明可以按多種方式實施，並且本發明應該根據所附申請專利範圍及其任何等同物來解釋。

【符號說明】

【0262】 無

【生物材料寄存】

【0263】 無

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：

SEQ ID NO: 2、4、6、8、10、12、14、16、18、20、22、24、26、28、30、32、34、36、38、40、42、44、46、48、50、52、54、56、58、60、62、64、66、68、70、72、74、76、78、80、82、84、86、88、90、92、94、96、98、100、102、104、106、108、110、112、114、116、118、120、122、124、126、128、130、132、134、136、138、140、142、144、146、148、150、152、154、156、158、160、162、164、166、168、170、172、174、176、178、180、182、184、186、188、190、192、194、196、198、200、202、204、206、208、210、212、214、216、218、220、222、224、226、228、230、232、234、236、238、240、242、244、246、248、250、252、254、256、258、260、262、264、266、268、270、272、274、276、278、280、282、284、286、288、290、292、294、296、298、300、302、304、306、308、310、312、314、316、318、320、322、324、326、328、330、332、334、336、338、340、342、344、346、348、350、352、354、356、358、360、362、364、366、368、370、372、374、376、378、380、382、384、386、388、390、392、394、396、398、400、402、404、406、408、410、412、414、416、418、420、422、424、426、428、430、432、434、436、438、440、442、444、446、448、450、452、454、456、458、460、462、464、466、468、470、472、474、476、478、480、482、484、486、488、490、492、494、496、498、500、502、504、506、508、510、512、514、516、518、520、522、524、526、528、530、532、534、536、538、540、542、544、546、548、550、552、554、556、558、560、562、564、566、568、570、572、574、576、578、

580、582、584、586、588、590、592、594、596、598、600、602、604、606、608、610、612、614、616、618、620、622、624、626、628、630、632、634、636、638、640、642、644、646、648、650、652、654、656、658、660、662、664、666、668、670、672、674、676、678、680、682、684、686、688、690、692、694、696、698、700、702、704、706、708、710、712、714、716、718、720、722、724、726、728、730、732、734、736、738、740、742、744、746、748、750、752、754、756、758、760、762、764、766、768、770、772、774、776、778、780、782、784、786、788、790、792、794、796、798、800、802、804、806、808、810、812、814、816、818、820、822、824、826、828、830、832、834、836、838、840、842、844、846、848、850、852、854、856、858、860、862、864、866、868、870、872、874、876、878、880、882、884、886、888、890、892、894、896、898、900、902、904、906、908、910、912、914、916、918、920、922、924、926、928、930、932、934、936、938、940、942、944、946、948、950、952、954、956、958、960、962、964、966、968、970、972、974、976、978、980、982、984、986、988、990、992、994、996、998、1000、1002、1004、1006、1008、1010、1012、1014、1016、1018、1020、1022、1024、1026、1028、1030、1032、1034、1036、1038、1040、1042、1044、1046、1048、1050、1052、1054、1056、1058、1060、1062、1064、1066、1068、1070、1072、1074、1076、1078、1080、1082、1084、1086、1088、1090、1092、1094、1096、1098、1100、1102、1104、1106、1108、1110、1112、1114、1116、1118、1120、1122、1124、1126、1128、1130、或1132，並且其中該RNAi構建體抑制暹甲狀腺素蛋白（TTR）mRNA的表現。

【請求項2】 一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差

異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 18、20、22、24、26、28、584、586、588、590、592、594、1152、1154、1156、1158、1160、1162、1164、1166、1168、1170、1172、1174、1176、1178、1180、1182、1184、1186、1188、1190、1192、1194、1196、1198、1200、1202、1204、1206、1208、1210、1212、或1214。

【請求項3】 一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸195至201處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；1209和1210；1211和1212；或1213和1214。

【請求項4】 一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 50、52、54、56、616、618、620、622、1256、1258、1260、1262、1264、1266、1268、或1270。

【請求項5】 一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸236至239處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義

序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 49和50；51和52；53和54；55和56；615和616；617和618；619和620；621和622；1255和1256；1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；或1269和1270。

【請求項6】一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與以下的反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域：SEQ ID NO: 62、64、66、68、70、72、74、628、630、632、634、636、638、640、1276、1278、1280、1282、1284、1286、1288、1290、1292、1294、1296、1298、1300、1302、1304、1306、1308、1310、1312、1314、1316、1318、1320、1322、1324、1326、1328、1330、1332、1334、1336、1338、1340、1342、1344、1346、或1348。

【請求項7】一種RNAi構建體，其包含有義股和反義股，其中該反義股在核苷酸277至283處具有轉錄物結合起始位置，並且包含具有與反義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，並且其中該有義股包含具有與有義序列差異不超過3個核苷酸的至少15個連續核苷酸的區域，其中該等有義序列和反義序列包含以下的序列：SEQ ID NO: 61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；1275和1276；1277和1278；1279和1280；1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；1317和1318；1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；1329和1330；1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；1341和1342；1343和1344；1345和1346；或1347和1348。

【請求項8】如請求項1-7中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股包含與該反義股的序列充分互補以形成長度為約15至約30個鹼基對的雙股體區的序列。

【請求項9】如請求項1-8中任一項所述之RNAi構建體，其中該雙股體區的長度為約17至約24個鹼基對。

【請求項10】如請求項1-9中任一項所述之RNAi構建體，其中該雙股體區的長度為約19至約21個鹼基對。

【請求項11】如請求項10所述之RNAi構建體，其中該雙股體區的長度為19個鹼基對。

【請求項12】如請求項1-11中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各自為約15至約30個核苷酸。

【請求項13】如請求項12所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各自為約19至約27個核苷酸。

【請求項14】如請求項13所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各自為約21至約25個核苷酸。

【請求項15】如請求項14所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股的長度各自為約21至約23個核苷酸。

【請求項16】如請求項1-15中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含至少一個鈍端。

【請求項17】如請求項1-16中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含具有1至4個未配對核苷酸的至少一個核苷酸突出端。

【請求項18】如請求項17所述之RNAi構建體，其中該核苷酸突出端具有兩個未配對核苷酸。

【請求項19】如請求項17或18所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該

有義股的3'端、該反義股的3'端、或者該有義股和該反義股兩者的3'端處包含核苷酸突出端。

【請求項20】 如請求項17-19中任一項所述之RNAi構建體，其中該核苷酸突出端包含5'-UU-3'二核苷酸或5'-dTdT-3'二核苷酸。

【請求項21】 如請求項1-20中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體包含至少一個經修飾的核苷酸。

【請求項22】 如請求項21所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸係經2'-修飾的核苷酸。

【請求項23】 如請求項21所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸係經2'-氟修飾的核苷酸、經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-O-烯丙基修飾的核苷酸、雙環核酸（BNA）、乙二醇核酸、反向鹼基、或其組合。

【請求項24】 如請求項23所述之RNAi構建體，其中該經修飾的核苷酸係經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-O-甲氧基乙基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、或其組合。

【請求項25】 如請求項21-24中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股和該反義股中的所有核苷酸均為經修飾的核苷酸。

【請求項26】 如請求項25所述之RNAi構建體，其中該等經修飾的核苷酸係經2'-O-甲基修飾的核苷酸、經2'-氟修飾的核苷酸、或其組合。

【請求項27】 如請求項1-26中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體包含至少一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【請求項28】 如請求項27所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該反義股的3'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【請求項29】 如請求項27所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在該反義

股的3'端和5'端兩者處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵，且在該有義股的5'端處包含兩個連續硫代磷酸酯核苷酸間鍵。

【請求項30】如請求項1-29中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股包含以下的序列：SEQ ID NO: 1、3、5、7、9、11、13、15、17、19、21、23、25、27、29、31、33、35、37、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131、133、135、137、139、141、143、145、147、149、151、153、155、157、159、161、163、165、167、169、171、173、175、177、179、181、183、185、187、189、191、193、195、197、199、201、203、205、207、209、211、213、215、217、219、221、223、225、227、229、231、233、235、237、239、241、243、245、247、249、251、253、255、257、259、261、263、265、267、269、271、273、275、277、279、281、283、285、287、289、291、293、295、297、299、301、303、305、307、309、311、313、315、317、319、321、323、325、327、329、331、333、335、337、339、341、343、345、347、349、351、353、355、357、359、361、363、365、367、369、371、373、375、377、379、381、383、385、387、389、391、393、395、397、399、401、403、405、407、409、411、413、415、417、419、421、423、425、427、429、431、433、435、437、439、441、443、445、447、449、451、453、455、457、459、461、463、465、467、469、471、473、475、477、479、481、483、485、487、489、491、493、495、497、499、501、503、505、507、509、511、513、515、517、519、521、523、525、527、529、531、533、535、537、539、541、543、545、547、549、551、553、555、557、559、561、563、或565。

【請求項31】如請求項1-29中任一項所述之RNAi構建體，其中該有義股包含

以下的序列：SEQ ID NO: 567、569、571、573、575、577、579、581、583、585、587、589、591、593、595、597、599、601、603、605、607、609、611、613、615、617、619、621、623、625、627、629、631、633、635、637、639、641、643、645、647、649、651、653、655、657、659、661、663、665、667、669、671、673、675、677、679、681、683、685、687、689、691、693、695、697、699、701、703、705、707、709、711、713、715、717、719、721、723、725、727、729、731、733、735、737、739、741、743、745、747、749、751、753、755、757、759、761、763、765、767、769、771、773、775、777、779、781、783、785、787、789、791、793、795、797、799、801、803、805、807、809、811、813、815、817、819、821、823、825、827、829、831、833、835、837、839、841、843、845、847、849、851、853、855、857、859、861、863、865、867、869、871、873、875、877、879、881、883、885、887、889、891、893、895、897、899、901、903、905、907、909、911、913、915、917、919、921、923、925、927、929、931、933、935、937、939、941、943、945、947、949、951、953、955、957、959、961、963、965、967、969、971、973、975、977、979、981、983、985、987、989、991、993、995、997、999、1001、1003、1005、1007、1009、1011、1013、1015、1017、1019、1021、1023、1025、1027、1029、1031、1033、1035、1037、1039、1041、1043、1045、1047、1049、1051、1053、1055、1057、1059、1061、1063、1065、1067、1069、1071、1073、1075、1077、1079、1081、1083、1085、1087、1089、1091、1093、1095、1097、1099、1101、1103、1105、1107、1109、1111、1113、1115、1117、1119、1121、1123、1125、1127、1129、1131、1133、1135、1137、1139、1141、1143、1145、1147、1149、1151、1153、1155、1157、1159、1161、1163、1165、1167、1169、1171、1173、1175、1177、1179、1181、1183、1185、1187、1189、1191、1193、1195、1197、

1199、1201、1203、1205、1207、1209、1211、1213、1215、1217、1219、1221、
1223、1225、1227、1229、1231、1233、1235、1237、1239、1241、1243、1245、
1247、1249、1251、1253、1255、1257、1259、1261、1263、1265、1267、1269、
1271、1273、1275、1277、1279、1281、1283、1285、1287、1289、1291、1293、
1295、1297、1299、1301、1303、1305、1307、1309、1311、1313、1315、1317、
1319、1321、1323、1325、1327、1329、1331、1333、1335、1337、1339、1341、
1343、1345、1347、1349、1351、1353、1355、1357、1359、1361、1363、1365、
1367、1369、1371、1373、1375、1377、1379、1381、1383、1385、1387、1389、
1391、1393、1395、1397、1399、1401、1403、1405、1407、1409、1411、1413、
1415、1417、1419、1421、1423、1425、1427、1429、1431、1433、1435、1437、
1439、1441、1443、1445、1447、1449、1451、1453、1455、1457、1459、1461、
1463、1465、1467、1469、1471、1473、1475、1477、1479、1481、1483、1485、
1487、1489、1491、1493、1495、1497、1499、1501、1503、1505、1507、1509、
1511、1513、1515、1517、1519、1521、1523、1525、1527、1529、1531、1533、
1535、1537、1539、1541、1543、1545、1547、1549、1551、1553、1555、1557、
1559、1561、1563、1565、1567、1569、1571、1573、1575、1577、1579、1581、
1583、1585、1587、1589、1591、1593、1595、1597、1599、1601、1603、1605、
1607、1609、1611、1613、1615、或1617。

【請求項32】 如請求項1-31中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體係以下的雙股體化合物中的任一種：SEQ ID NO: 1和2；3和4；5和6；7和8；9和10；11和12；13和14；15和16；17和18；19和20；21和22；23和24；25和26；27和28；29和30；31和32；33和34；35和36；37和38；39和40；41和42；43和44；45和46；47和48；49和50；51和52；53和54；55和56；57和58；59和60；61和62；63和64；65和66；67和68；69和70；71和72；73和74；75和76；77和78；79和80；

81和82；83和84；85和86；87和88；89和90；91和92；93和94；95和96；97和98；
99和100；101和102；103和104；105和106；107和108；109和110；111和112；
113和114；115和116；117和118；119和120；121和122；123和124；125和126；
127和128；129和130；131和132；133和134；135和136；137和138；139和140；
141和142；143和144；145和146；147和148；149和150；151和152；153和154；
155和156；157和158；159和160；161和162；163和164；165和166；167和168；
169和170；171和172；173和174；175和176；177和178；179和180；181和182；
183和184；185和186；187和188；189和190；191和192；193和194；195和196；
197和198；199和200；201和202；203和204；205和206；207和208；209和210；
211和212；213和214；215和216；217和218；219和220；221和222；223和224；
225和226；227和228；229和230；231和232；233和234；235和236；237和238；
239和240；241和242；243和244；245和246；247和248；249和250；251和252；
253和254；255和256；257和258；259和260；261和262；263和264；265和266；
267和268；269和270；271和272；273和274；275和276；277和278；279和280；
281和282；283和284；285和286；287和288；289和290；291和292；293和294；
295和296；297和298；299和300；301和302；303和304；305和306；307和308；
309和310；311和312；313和314；315和316；317和318；319和320；321和322；
323和324；325和326；327和328；329和330；331和332；333和334；335和336；
337和338；339和340；341和342；343和344；345和346；347和348；349和350；
351和352；353和354；355和356；357和358；359和360；361和362；363和364；
365和366；367和368；369和370；371和372；373和374；375和376；377和378；
379和380；381和382；383和384；385和386；387和388；389和390；391和392；
393和394；395和396；397和398；399和400；401和402；403和404；405和406；
407和408；409和410；411和412；413和414；415和416；417和418；419和420；

421和422；423和424；425和426；427和428；429和430；431和432；433和434；
435和436；437和438；439和440；441和442；443和444；445和446；447和448；
449和450；451和452；453和454；455和456；457和458；459和460；461和462；
463和464；465和466；467和468；469和470；471和472；473和474；475和476；
477和478；479和480；481和482；483和484；485和486；487和488；489和490；
491和492；493和494；495和496；497和498；499和500；501和502；503和504；
505和506；507和508；509和510；511和512；513和514；515和516；517和518；
519和520；521和522；523和524；525和526；527和528；529和530；531和532；
533和534；535和536；537和538；539和540；541和542；543和544；545和546；
547和548；549和550；551和552；553和554；555和556；557和558；559和560；
561和562；563和564；或565和566。

【請求項33】 如請求項1-31中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體係以下的雙股體化合物中的任一種：SEQ ID NO: 567和568；569和570；571和572；573和574；575和576；577和578；579和580；581和582；583和584；585和586；587和588；589和590；591和592；593和594；595和596；597和598；599和600；601和602；603和604；605和606；607和608；609和610；611和612；613和614；615和616；617和618；619和620；621和622；623和624；625和626；627和628；629和630；631和632；633和634；635和636；637和638；639和640；641和642；643和644；645和646；647和648；649和650；651和652；653和654；655和656；657和658；659和660；661和662；663和664；665和666；667和668；669和670；671和672；673和674；675和676；677和678；679和680；681和682；683和684；685和686；687和688；689和690；691和692；693和694；695和696；697和698；699和700；701和702；703和704；705和706；707和708；709和710；711和712；713和714；715和716；717和718；719和720；721和722；723和724；725和

726 ; 727和728 ; 729和730 ; 731和732 ; 733和734 ; 735和736 ; 737和738 ; 739和
740 ; 741和742 ; 743和744 ; 745和746 ; 747和748 ; 749和750 ; 751和752 ; 753和
754 ; 755和756 ; 757和758 ; 759和760 ; 761和762 ; 763和764 ; 765和766 ; 767和
768 ; 769和770 ; 771和772 ; 773和774 ; 775和776 ; 777和778 ; 779和780 ; 781和
782 ; 783和784 ; 785和786 ; 787和788 ; 789和790 ; 791和792 ; 793和794 ; 795和
796 ; 797和798 ; 799和800 ; 801和802 ; 803和804 ; 805和806 ; 807和808 ; 809和
810 ; 811和812 ; 813和814 ; 815和816 ; 817和818 ; 819和820 ; 821和822 ; 823和
824 ; 825和826 ; 827和828 ; 829和830 ; 831和832 ; 833和834 ; 835和836 ; 837和
838 ; 839和840 ; 841和842 ; 843和844 ; 845和846 ; 847和848 ; 849和850 ; 851和
852 ; 853和854 ; 855和856 ; 857和858 ; 859和860 ; 861和862 ; 863和864 ; 865和
866 ; 867和868 ; 869和870 ; 871和872 ; 873和874 ; 875和876 ; 877和878 ; 879和
880 ; 881和882 ; 883和884 ; 885和886 ; 887和888 ; 889和890 ; 891和892 ; 893和
894 ; 895和896 ; 897和898 ; 899和900 ; 901和902 ; 903和904 ; 905和906 ; 907和
908 ; 909和910 ; 911和912 ; 913和914 ; 915和916 ; 917和918 ; 919和920 ; 921和
922 ; 923和924 ; 925和926 ; 927和928 ; 929和930 ; 931和932 ; 933和934 ; 935和
936 ; 937和938 ; 939和940 ; 941和942 ; 943和944 ; 945和946 ; 947和948 ; 949和
950 ; 951和952 ; 953和954 ; 955和956 ; 957和958 ; 959和960 ; 961和962 ; 963和
964 ; 965和966 ; 967和968 ; 969和970 ; 971和972 ; 973和974 ; 975和976 ; 977和
978 ; 979和980 ; 981和982 ; 983和984 ; 985和986 ; 987和988 ; 989和990 ; 991和
992 ; 993和994 ; 995和996 ; 997和998 ; 999和1000 ; 1001和1002 ; 1003和1004 ;
1005和1006 ; 1007和1008 ; 1009和1010 ; 1011和1012 ; 1013和1014 ; 1015和1016 ;
1017和1018 ; 1019和1020 ; 1021和1022 ; 1023和1024 ; 1025和1026 ; 1027和1028 ;
1029和1030 ; 1031和1032 ; 1033和1034 ; 1035和1036 ; 1037和1038 ; 1039和1040 ;
1041和1042 ; 1043和1044 ; 1045和1046 ; 1047和1048 ; 1049和1050 ; 1051和1052 ;

1053和1054；1055和1056；1057和1058；1059和1060；1061和1062；1063和1064；
1065和1066；1067和1068；1069和1070；1071和1072；1073和1074；1075和1076；
1077和1078；1079和1080；1081和1082；1083和1084；1085和1086；1087和1088；
1089和1090；1091和1092；1093和1094；1095和1096；1097和1098；1099和1100；
1101和1102；1103和1104；1105和1106；1107和1108；1109和1110；1111和1112；
1113和1114；1115和1116；1117和1118；1119和1120；1121和1122；1123和1124；
1125和1126；1127和1128；1129和1130；1131和1132；1133和1134；1135和1136；
1137和1138；1139和1140；1141和1142；1143和1144；1145和1146；1147和1148；
1149和1150；1151和1152；1153和1154；1155和1156；1157和1158；1159和1160；
1161和1162；1163和1164；1165和1166；1167和1168；1169和1170；1171和1172；
1173和1174；1175和1176；1177和1178；1179和1180；1181和1182；1183和1184；
1185和1186；1187和1188；1189和1190；1191和1192；1193和1194；1195和1196；
1197和1198；1199和1200；1201和1202；1203和1204；1205和1206；1207和1208；
1209和1210；1211和1212；1213和1214；1215和1216；1217和1218；1219和1220；
1221和1222；1223和1224；1225和1226；1227和1228；1229和1230；1231和1232；
1233和1234；1235和1236；1237和1238；1239和1240；1241和1242；1243和1244；
1245和1246；1247和1248；1249和1250；1251和1252；1253和1254；1255和1256；
1257和1258；1259和1260；1261和1262；1263和1264；1265和1266；1267和1268；
1269和1270；1271和1272；1273和1274；1275和1276；1277和1278；1279和1280；
1281和1282；1283和1284；1285和1286；1287和1288；1289和1290；1291和1292；
1293和1294；1295和1296；1297和1298；1299和1300；1301和1302；1303和1304；
1305和1306；1307和1308；1309和1310；1311和1312；1313和1314；1315和1316；
1317和1318；1319和1320；1321和1322；1323和1324；1325和1326；1327和1328；
1329和1330；1331和1332；1333和1334；1335和1336；1337和1338；1339和1340；

1341和1342；1343和1344；1345和1346；1347和1348；1349和1350；1351和1352；
1353和1354；1355和1356；1357和1358；1359和1360；1361和1362；1363和1364；
1365和1366；1367和1368；1369和1370；1371和1372；1373和1374；1375和1376；
1377和1378；1379和1380；1381和1382；1383和1384；1385和1386；1387和1388；
1389和1390；1391和1392；1393和1394；1395和1396；1397和1398；1399和1400；
1401和1402；1403和1404；1405和1406；1407和1408；1409和1410；1411和1412；
1413和1414；1415和1416；1417和1418；1419和1420；1421和1422；1423和1424；
1425和1426；1427和1428；1429和1430；1431和1432；1433和1434；1435和1436；
1437和1438；1439和1440；1441和1442；1443和1444；1445和1446；1447和1448；
1449和1450；1451和1452；1453和1454；1455和1456；1457和1458；1459和1460；
1461和1462；1463和1464；1465和1466；1467和1468；1469和1470；1471和1472；
1473和1474；1475和1476；1477和1478；1479和1480；1481和1482；1483和1484；
1485和1486；1487和1488；1489和1490；1491和1492；1493和1494；1495和1496；
1497和1498；1499和1500；1501和1502；1503和1504；1505和1506；1507和1508；
1509和1510；1511和1512；1513和1514；1515和1516；1517和1518；1519和1520；
1521和1522；1523和1524；1525和1526；1527和1528；1529和1530；1531和1532；
1533和1534；1535和1536；1537和1538；1539和1540；1541和1542；1543和1544；
1545和1546；1547和1548；1549和1550；1551和1552；1553和1554；1555和1556；
1557和1558；1559和1560；1561和1562；1563和1564；1565和1566；1567和1568；
1569和1570；1571和1572；1573和1574；1575和1576；1577和1578；1579和1580；
1581和1582；1583和1584；1585和1586；1587和1588；1589和1590；1591和1592；
1593和1594；1595和1596；1597和1598；1599和1600；1601和1602；1603和1604；
1605和1606；1607和1608；1609和1610；1611和1612；1613和1614；1615和1616；
或1617和1618。

【請求項34】如請求項1-33中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體係小干擾RNA（siRNA）。

【請求項35】如請求項1-35中任一項所述之RNAi構建體，其中與已經與對照RNAi構建體一起孵育的肝臟細胞中的TTR表現水平相比，在與該RNAi構建體一起孵育之後，該RNAi構建體降低肝臟細胞中的TTR表現水平。

【請求項36】如請求項35所述之RNAi構建體，其中該等肝臟細胞係Hep3B或HepG2細胞。

【請求項37】如請求項1-36中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在體外在Hep3B細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。

【請求項38】如請求項1-36中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體在體外在HepG2細胞中以5 nM將TTR表現抑制至少40%。

【請求項39】如請求項1-38中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體以小於約5 nM的IC₅₀抑制TTR在Hep3B細胞中的表現。

【請求項40】如請求項1-38中任一項所述之RNAi構建體，其中該RNAi構建體以小於約5 nM的IC₅₀抑制TTR在HepG2細胞中的表現。

【請求項41】如請求項1-40中任一項所述之RNAi構建體，該RNAi構建體進一步包含與肝臟細胞表面上表現的一或多種蛋白質結合的配體。

【請求項42】一種組成物，其包含如請求項1-41中任一項所述之RNAi構建體和藥學上可接受的載劑、賦形劑或稀釋劑。

【請求項43】一種用於在有需要的患者中減少TTR表現之方法，該方法包括向該患者投與如請求項1-41中任一項所述之RNAi構建體或如請求項44所述之組成物。

【請求項44】如請求項43所述之方法，其中與未接受該RNAi構建體的患者中的TTR表現水平相比，在投與該RNAi構建體後的患者中TTR在肝細胞中的表

現水平降低。

【請求項45】 如請求項43-44中任一項所述之方法，其中該患者患有運甲狀腺素蛋白相關心肌病（ATTR-CM）。

【請求項46】 一種用於減少體內TTR表現之方法，該方法包括向動物投與如請求項1-41中任一項所述之RNAi構建體或如請求項42所述之組成物。

【請求項47】 如請求項46所述之方法，其中該TTR係人TTR（hTTR）。

【請求項48】 如請求項46或47中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少45%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【請求項49】 如請求項48所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少50%、至少60%、或至少70%。

【請求項50】 如請求項46或47中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少60%，並且其中以1.0毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【請求項51】 如請求項50所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少80%。

【請求項52】 如請求項46或47中任一項所述之方法，其中藉由相關腺病毒（AAV）注射將TTR在表現hTTR的動物中的表現敲低至少90%，並且其中以0.5毫克/公斤動物向該動物投與該RNAi構建體或該組成物。

【請求項53】 如請求項52所述之方法，其中將該TTR的表現敲低至少95%。