



(21)申請案號：111107744

(22)申請日：中華民國 111 (2022) 年 03 月 03 日

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

A61K31/713 (2006.01)

A61P3/06 (2006.01)

(30)優先權：2021/03/04 美國

63/156,476

2022/02/10 美國

63/308,668

(71)申請人：美商艾拉倫製藥股份有限公司(美國) ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC.

(US)

美國

(72)發明人：邦都蘭特 盧卡斯 D BONDURANT, LUCAS D. (US)；舒黎格爾 馬克 K

SCHLEGAL, MARK K. (US)；祖柏 杰弗里 ZUBER, JEFFREY (US)；伍德 勞

倫 布萊爾 WOODS, LAUREN BLAIR (US)；奇克林 泰勒 CHICKERING, TYLER

(US)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：102 項 圖式數：3 共 269 頁

(54)名稱

類血管生成素 3 (ANGPTL3) iRNA 組成物及其使用方法

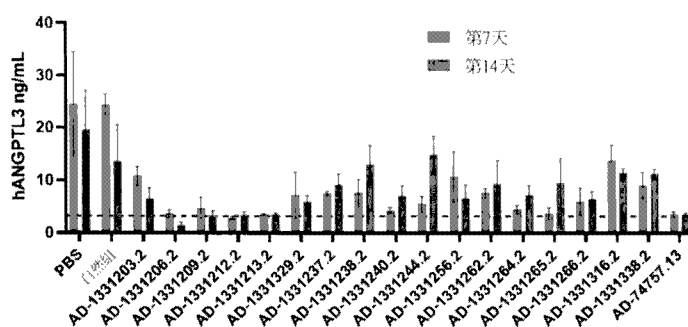
(57)摘要

本發明涉及靶向類血管生成素 3(ANGPTL3)基因的 RNAi 試劑，例如，雙股 RNA(dsRNA)試劑。本發明還涉及使用這種 RNAi 試劑抑制 ANGPTL3 基因表現的方法以及預防和治療 ANGPTL3 相關疾病的方法，例如，脂質代謝紊亂，例如高脂血症或高三酸甘油酯血症。

The present invention relates to RNAi agents, e.g., double stranded RNA (dsRNA) agents, targeting the Angiopoietin-like 3 (ANGPTL3) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of an ANGPTL3 gene and to methods of preventing and treating an ANGPTL3-associated disorder, e.g., a disorder of lipid metabolism, such as hyperlipidemia or hypertriglyceridemia.

指定代表圖：

【圖1A】



## 【發明摘要】

【中文發明名稱】 類血管生成素 3(ANGPTL3) iRNA 組成物及其使用方法

【英文發明名稱】 ANGIOPOIETIN-LIKE 3 (ANGPTL3) iRNA

COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

### 【中文】

本發明涉及靶向類血管生成素 3 (ANGPTL3) 基因的 RNAi 試劑，例如，雙股 RNA (dsRNA) 試劑。本發明還涉及使用這種 RNAi 試劑抑制 ANGPTL3 基因表現的方法以及預防和治療 ANGPTL3 相關疾病的方法，例如，脂質代謝紊亂，例如高脂血症或高三酸甘油酯血症。

### 【英文】

The present invention relates to RNAi agents, *e.g.*, double stranded RNA (dsRNA) agents, targeting the Angiotensin-like 3 (ANGPTL3) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of an ANGPTL3 gene and to methods of preventing and treating an ANGPTL3-associated disorder, *e.g.*, a disorder of lipid metabolism, such as hyperlipidemia or hypertriglyceridemia.

【指定代表圖】 圖 1A

【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】 類血管生成素 3(ANGPTL3) iRNA 組成物及其使用方法

【英文發明名稱】 ANGIOPOIETIN-LIKE 3 (ANGPTL3) iRNA

COMPOSITIONS AND METHODS OF USE THEREOF

### 相關應用

【0001】 本申請主張 2021 年 3 月 4 日提交的美國臨時申請案第 63/156,476 號，以及 2022 年 2 月 10 日提交的美國臨時申請案第 63/308,668 號的優先權。上述各申請的全部內容藉由引用併入本文中。

### 序列表

【0002】 本申請包含以電子方式(於 ASCII 格式)提交的序列表，特此藉由引用將其整體併入本文中。所述 ASCII 檔創建於 2022 年 2 月 28 日，名為 121301\_15120\_SL.txt，大小為 316,668 個位元組。

### 【技術領域】

【0003】 本發明涉及靶向類血管生成素 3 (ANGPTL3) 基因的 RNAi 試劑、使用這種 RNAi 試劑抑制 ANGPTL3 基因表現的方法以及預防和治療 ANGPTL3 相關疾病的方法。

### 【先前技術】

【0004】 類血管生成素 3 (ANGPTL3) 是類血管生成素分泌因子家族的成員，其調節脂質代謝且主要在肝臟中表現 (Koishi, R., 等人, (2002))

Nat.Genet.30(2):151-157).ANGPTL3 雙重抑制脂蛋白脂肪酶(LPL)和內皮脂肪酶(EL)的催化活性，脂蛋白脂肪酶(LPL)催化三酸甘油酯的水解，而內皮脂肪酶(EL)水解高密度脂蛋白(HDL)磷脂。在降血脂但肥胖的 KK/Snk 小鼠中，ANGPTL3 表現的降低藉由促進三酸甘油酯的清除而具有對抗高脂血症和動脈粥樣硬化等的保護作用(Ando 等人，(2003) J. Lipid Res.，44：1216-1223)。人類 ANGPTL3 血漿濃度與血漿 HDL 膽固醇和 HDL 磷脂的水平呈正相關(Shimamura 等人，(2007) *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*,27：366-372)。

**【0005】** 脂質代謝紊亂可導致血清脂質(如三酸甘油酯和/或膽固醇)的水平升高。血清脂質升高與高血壓、心血管疾病、糖尿病和其他病理狀況密切相關。高三酸甘油酯血症是脂質代謝紊亂的一個例子，其特徵為高水平的血液中三酸甘油酯。高三酸甘油酯血症與動脈粥樣硬化相關，即使在沒有高膽固醇水平(高膽固醇血症)的情況下也是如此。當三酸甘油酯濃度過高(即大於 1000mg/dl 或 12 mmol/l)時，高三酸甘油酯血症也可導致胰腺炎。高脂血症是脂質代謝紊亂的另一個例子，其特徵在於血液中任何一種或所有脂質和/或脂蛋白的水平升高。目前對脂質代謝紊亂的治療，包括節食，運動和他汀類藥物和其他藥物治療，並不總是有效的。因此，本領域需要有對具有脂質代謝紊亂的個體進行的替代治療。

### **【發明內容】**

**【0006】** 本發明提供的 iRNA 組成物，其影響 RNA 誘導的沉默複合物(RISC)所介導之編碼類血管生成素 3 (ANGPTL3) 的基因轉錄本的裂解。ANGPTL3 基因可以在細胞內，例如，個體(例如人類個體)內的細胞。本發明還

提供了使用本發明的 iRNA 組成物來抑制 ANGPTL3 基因的表現和/或用於治療將從抑制或減少 ANGPTL3 基因的表現中受益的個體(例如患有或容易患有脂質代謝紊亂的個體)的方法,例如患有或容易患有高脂血症或高三酸甘油酯血症的個體。

**【0007】** 因此,於一具體實施態樣中,本發明提供了一種雙股核糖核酸(dsRNA)試劑,用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現,其中該 dsRNA 試劑包括形成雙股區域的正義股和反義股,其中該正義股包含至少 15 個(例如 15、16、17、18、19、20 或 21 個)與 SEQIDNO:1 的核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的連續核苷酸,反義股包含至少 15 個(例如,15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 SEQIDNO:2 的核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的連續核苷酸。於一實施例中,該 dsRNA 試劑包括至少一種熱去穩定(thermally destabilizing)核苷酸修飾,例如,無鹼基修飾;雙鏈體中對應核苷酸之誤配(mismatch);不穩定的糖修飾、2'-去氧修飾、無環核苷酸、未鎖核酸(UNA)或甘油核酸(GNA),例如,該反義股包含至少一種熱去穩定核苷酸修飾。

**【0008】** 於一實施態樣中,本發明提供了一種雙股核糖核酸(dsRNA)試劑,用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現,其中該 dsRNA 試劑包括形成雙股區域的正義股和反義股,其中該反義股包含與編碼 ANGPTL3 的 mRNA 互補之區域,且其中該互補之區域包括至少 15 個(例如,15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與表 2 至 3 和 7 至 8 中任何一個反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如 3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

**【0009】** 於另一實施態樣中,本發明提供一種雙股核糖核酸(dsRNA)試劑,用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現,其中該 dsRNA 試

劑包括形成雙股區域的正義股和反義股，其中該正義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、或 21 個)與 SEQIDNO：1 中核苷酸 58 至 80、73 至 102、73 至 124、80 至 114、91 至 113、92 至 114、291 至 320、291 至 342、307 至 336、540 至 567、540 至 589 和 545 至 577 中任一個核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸，且該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 SEQIDNO：2 中相應的核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0010】於一實施態樣中，本發明提供了一種雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現，其中該 dsRNA 試劑包括形成雙股區域的正義股和反義股，其中該正義股包含至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、或 21 個)與 SEQIDNO：1 中核苷酸 58 至 80、80 至 102、84 至 106、87 至 109、91 至 113、92 至 114、186 至 208、307 至 329、308 至 330、310 至 332、314 至 336、545 至 567、551 至 573、553 至 575、554 至 576、555 至 577、1133 至 1155 或 1140 至 11621 中任一個核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸，且該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 SEQ ID NO：2 中相應的核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0011】於另一實施態樣中，本發明提供一種雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現，其中該 dsRNA 試劑包括形成雙股區域的正義股和反義股，其中該正義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、或 21 個)與 SEQ ID NO：1 中核苷酸 58 至 80、91 至 113 或 92 至 114 中任一個核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核

苷酸的連續核苷酸，且該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 SEQ ID NO：2 中相應的核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0012】於一實施態樣中，本發明提供了一種雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，用於抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 在細胞中的表現，其中 dsRNA 試劑包括形成雙股區域的正義股和反義股，其中該正義股包含至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、或 21 個)與 SEQ ID NO：1 中核苷酸 58 至 80 的核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸，且該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 SEQ ID NO：2 中相應的核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0013】於一實施例中，該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與選自由 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；AD-1331329.1；AD-1331237.1；AD-1331238.1；AD-1331240.1；AD-1331244.1；AD-1331256.1；AD-1331262.1；AD-1331264.1；AD-1331265.1；AD-1331266.1；AD-1331316.1；AD-1331338.1；和 AD-1479372 所組成的群組中任一個雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如，3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0014】於一實施例中，該反義股包括至少 15 個(例如，15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與選自由 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；AD-1331329.1；AD-1331240.1；AD-1331262.1；AD-1331264.1；AD-1331265.1；AD-1331266.1；和 AD-1479372 所組成的群組中



任一個雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如, 3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0015】於一實施例中, 該反義股包括至少 15 個(例如, 15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與選自由 AD-1331203.1; AD-1331206.1; AD-1331209.1; AD-1331212.1; AD-1331213.1; 和 AD-1479372 所組成的群組中任一個雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如, 3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0016】於一實施例中, 該反義股包括至少 15 個(例如, 15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與選自由 AD-1331212.1; AD-1331213.1; 和 AD-1479372 所組成的群組中任一個雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如, 3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0017】於一實施例中, 該反義股包括至少 15 個(例如, 15、16、17、18、19、20、21、22 或 23 個)與 AD-1479372 的反義股核苷酸序列相差不超過 3 個(例如, 3、2、1 或 0 個)核苷酸的連續核苷酸。

【0018】於一實施例中, 該 dsRNA 試劑包含至少一個修飾的核苷酸。

【0019】於一實施例中, 實質上正義股的所有核苷酸皆包含修飾; 實質上反義股的所有核苷酸皆包含修飾; 或實質上正義股的所有核苷酸以及實質上反義股的所有核苷酸皆包含修飾。

【0020】於一實施例中, 正義股的所有核苷酸皆包含修飾; 反義股的所有核苷酸皆包含修飾; 或正義的所有核苷酸和反義股的所有核苷酸皆包含修飾。

【0021】於一實施例中, 至少一個修飾之核苷酸選自下述所組成的群組: 去氧核苷酸、3'端去氧胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸(unlocked nucleic acid)、

構形受限核苷酸(conformationally restricted nucleotide)、拘束之乙基核苷酸、無鹼基之核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-O-烯丙基修飾之核苷酸、2'-C-烷基修飾之核苷酸、2'-羥基修飾之核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾之核苷酸、2'-O-烷基修飾之核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫吡喃修飾之核苷酸、1,5-脫水己糖醇修飾之核苷酸、環己烯基修飾之核苷酸、包含硫代磷酸酯基團之核苷酸、包含甲基磷酸酯基團之核苷酸、包含 5'-磷酸酯之核苷酸、包括 5'-磷酸酯模擬物之核苷酸、熱去穩定核苷酸、二醇修飾之核苷酸 (GNA)、包含 2'磷酸酯之核苷酸、和 2-O- (N-甲基乙醯胺) 修飾之核苷酸；及其組合。

【0022】於一實施例中，核苷酸的修飾選自 LNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2-O'-烷基、2-O'-烯丙基、2-C'-烯丙基、2'-氟、2'-去氧、2'-羥基和乙二醇組成的組；及其組合。

【0023】於一實施例中，至少一個修飾之核苷酸選自下述所組成的群組：去氧核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、乙二醇修飾之核苷酸 (GNA) (例如，Ggn、Cgn、Tgn 或 Agn)、具有 2'磷酸酯之核苷酸(例如，G2p、C2p、A2p 或 U2p)，以及乙烯基磷酸酯核苷酸；及其組合。

【0024】於一實施例中，核苷酸上的至少一種修飾是熱去穩定核苷酸修飾。

【0025】於一實施例中，熱去穩定核苷酸修飾選自下述所組成的群組：無鹼基修飾；雙鏈體中對應核苷酸之誤配(mismatch)；不穩定的糖修飾、2'-去氧修飾、無環核苷酸、未鎖核酸 (UNA) 或甘油核酸 (GNA)。

【0026】於某些實施例中，修飾的核苷酸包含短序列的 3'端去氧胸腺嘧啶 (dT)。

【0027】於某些實施例中，該 dsRNA 試劑復包括至少一種硫代磷酸酯核苷酸間鏈結。於某些實施例中，該 dsRNA 試劑包含 6 至 8 個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結。於一實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結位於一股之 3'-端。視需要地，該股為反義股。於另一實施例中，該股為正義股。於一相關實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結位於一股之 5'-端。視需要地，該股為反義股。於另一實施例中，該股為正義股。於另一實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結位於一股的 5'-和 3'-端。視需要地，該股為反義股。於另一實施例中，該股為正義股。

【0028】該雙股區域之長度可以為 19 至 30 個核苷酸對； 19 至 25 個核苷酸對； 19 至 23 個核苷酸對； 23 至 27 個核苷酸對；或 21 至 23 個核苷酸對。

【0029】於一實施例中，每一股的長度獨立地不超過 30 個核苷酸。

【0030】於一實施例中，該正義股之長度為 21 個核苷酸，且該反義股之長度為 23 個核苷酸。

【0031】互補區域的長度可以為至少 17 個核苷酸；介於 19 至 23 個核苷酸；或 19 個核苷酸。

【0032】於一實施例中，至少一股包含至少具有 1 個核苷酸的 3'突出。於另一實施例中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3'突出。

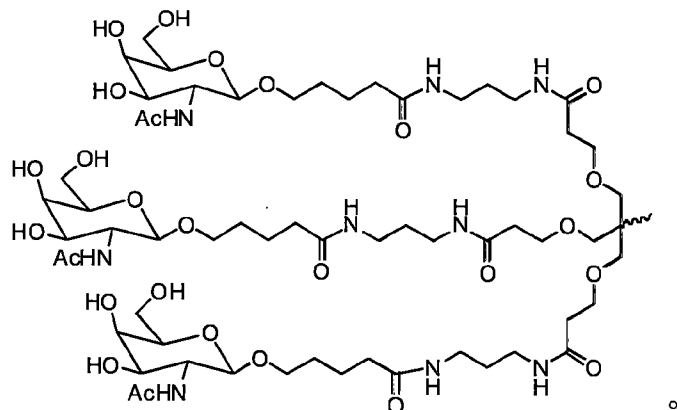
【0033】於一實施例中，該 dsRNA 試劑復包括配體。

【0034】於一實施例中，該配體與該 dsRNA 試劑的正義股的 3'末端接合。

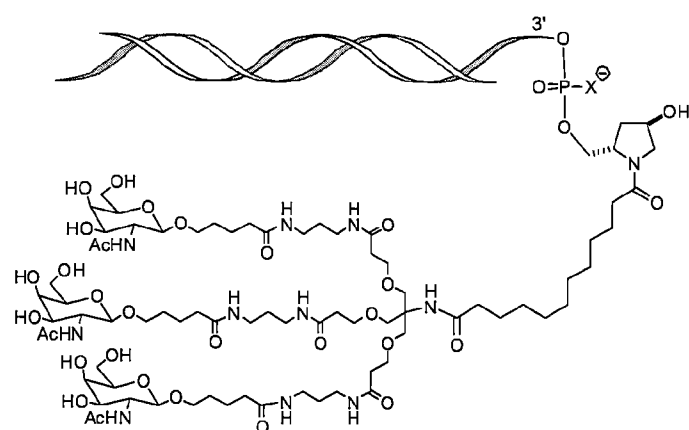
【0035】於一實施例中，該配體是 N-乙醯半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物。

【0036】於一實施例中，該配體是一種或多種藉由單價、二價或三價支鏈連接子連接的 GalNAc 衍生物。

【0037】於一實施例中，該配體為



【0038】於一實施例中，該 dsRNA 試劑與該配體接合，如下方案所示。



且，其中 X 是 O 或 S。

【0039】於一實施例中，該 X 為 O。

【0040】於一實施例中，該 dsRNA 試劑復包括至少一種硫代磷酸酯或甲基磷酸鹽間核苷酸鏈結。

【0041】於一實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸鹽核苷酸間鏈結位於一股(例如，該反義股或該正義股)的 3'-終端。

【0042】於一實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸鹽核苷酸間鏈結位於一股(例如，該反義股或該正義股)的5'-終端。

【0043】於一實施例中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸鹽核苷酸間鏈結位於一股的5'-終端和3'-終端。於一實施例中，該股為反義股。

【0044】於一實施例中，雙鏈體中該反義股5'-端位置1的鹼基對是AU鹼基對。

【0045】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 18) 相差不超過4個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3'* (SEQ ID NO: 19) 相差不超過4個鹼基，其中a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-OMe) A、G、C和U；dA和dG是2'-去氧A和G；Cf和Uf為2'-去氧-2'-氟(2'-F) C和U；且s為硫代磷酸酯鏈結。

【0046】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 18) 相差不超過3個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3'* (SEQ ID NO: 19) 相差不超過3個鹼基，其中a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-OMe) A、G、C和U；dA和dG是2'-去氧A和G；Cf和Uf為2'-去氧-2'-氟(2'-F) C和U；且s是硫代磷酸酯鏈結。

【0047】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 18) 相差不超過2個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列5'-*asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3'* (SEQ ID NO: 19) 相差不超過2個鹼基，其中a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-

OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 為 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【0048】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO：18) 相差不超過 1 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO：19) 相差不超過 1 個鹼基，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 為 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【0049】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO：18) 且該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO：19)，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 為 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

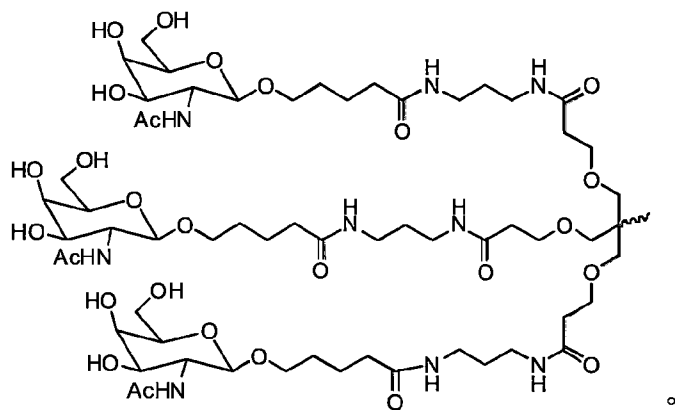
【0050】於一實施例中，dsRNA 試劑復包括配體。

【0051】於一實施例中，該配體與該 dsRNA 試劑的正義股的 3'端接合。

【0052】於一實施例中，該配體是 N-乙醯半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物。

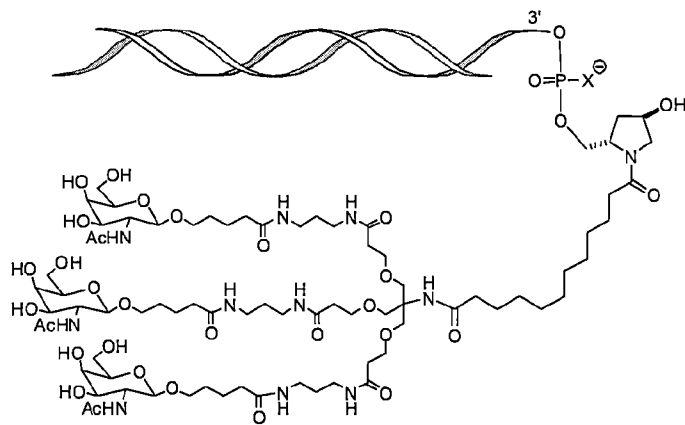
【0053】於一實施例中，配體是一種或多種藉由單價、二價或三價支鏈連接子連接的 GalNAc 衍生物。

【0054】於一實施例中，該配體為



【0055】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asasguccuUfCfUfuuuuauuguu*L96-3' (SEQ ID NO: 20) 且該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO: 19)，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；s 為硫代磷酸酯鏈結，及 L96 為 N-[三 (GalNAc-烷基)-醯胺基]-4-脛脯胺酸。

【0056】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asasguccuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO: 18) 且該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO: 19)，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；s 為硫代磷酸酯鏈結，且其中一個配體與正義股的 3'端接合，如下方案所示



【0057】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 4 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa* -3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 4 個鹼基，或其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu*-3' (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 4 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa* -3' (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 4 個鹼基，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【0058】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 3 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa* -3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 3 個鹼基；或其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu*-3' (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 3 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa*-3 (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 3 個鹼基，其



中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【0059】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 2 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa -3'* (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 2 個鹼基；或其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu-3'* (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 2 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfsacaAfuaaaagAfaGfgagcususa-3'* (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 2 個鹼基，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

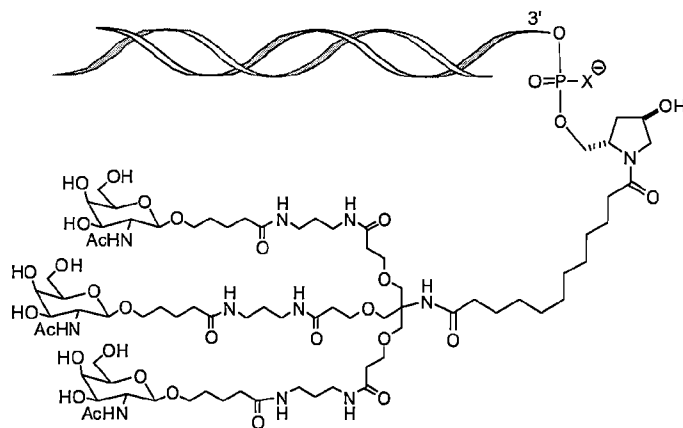
【0060】於一實施例中，正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 1 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa -3'* (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 1 個鹼基；或其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu-3'* (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 1 個鹼基且該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-*asAfsacaAfuaaaagAfaGfgagcususa-3'* (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 1 個鹼基，其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；且 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【0061】於一實施例中，該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3'* (SEQ ID NO: 21) 且該反義股的核苷酸序列包



序列包括 5'- asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcusa -3' (SEQ ID NO : 24) , 其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U ; Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U ; s 為硫代磷酸酯鏈結, L96 為 N-[三 (GalNAc-烷基) -醯胺基] -4-脛脯胺酸。

【0068】於一實施例中, 該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'- asasgcucCfuUfCfUfuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 21) 且該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'- asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcusa -3' (SEQ ID NO : 22) ; 其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U ; Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U ; s 是硫代磷酸酯鏈結, 且其中一個配體與正義股的 3'端接合, 如下方案所示

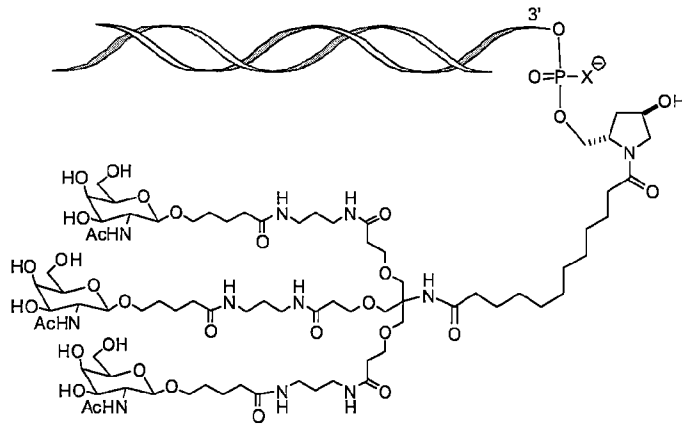


以及,

其中 X 為 O。

【0069】於一實施例中, 該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'- asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 23) 且該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'- asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcusa -3' (SEQ ID NO : 24) , 其中 a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U ; Cf 和 Uf 是 2'-去氧-

2'-氟(2'-F)C 和 U; s 是硫代磷酸酯鏈結且其中一個配體與正義股的 3'-端接合，如下方案所示



其中 X 為 O。

**【0070】** 本發明亦提供含有本發明的任何 dsRNA 試劑的細胞和包含本發明任何 dsRNA 試劑的醫藥組成物。

**【0071】** 本發明的醫藥組成物可以包括在未緩衝溶液(例如，鹽水或水)中的 dsRNA 試劑，或本發明的醫藥組成物可以包括在緩衝溶液中的 dsRNA 試劑，例如，包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白(prolamine)、碳酸鹽或磷酸鹽或其任意組合的緩衝溶液；或磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS)。

**【0072】** 於一實施態樣中，本發明提供了抑制類血管生成素 3 (ANGPTL3) 基因在細胞中的表現的方法。該方法包括將細胞與本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物接觸，從而抑制 ANGPTL3 基因在細胞中的表現。

**【0073】** 於一實施例中，該細胞位於個體(例如，人類個體)內，例如具有類血管生成素 3 (ANGPTL3) 相關病症(例如脂質代謝紊亂之病症)的個體。於特定實施例中，該脂質代謝紊亂之病症是高脂血症或高三酸甘油酯血症。

【0074】於特定實施例中，ANGPTL3 的表現受到至少約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 95%的抑制。於一實施例中，抑制 ANGPTL3 的表現使個體血清中的 ANGPTL3 蛋白水平降低至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 95%。

【0075】於一實施態樣中，本發明提供了一種治療具有將受益於類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現減少的病症的個體的方法。該方法包括向個體施用治療有效量的本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物，從而治療具有受益於 ANGPTL3 表現減少的病症的個體。

【0076】於另一實施態樣中，本發明提供了一種在個體中預防至少一種癥狀的方法，該個體具有將受益於類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現減少的病症。該方法包括向該個體施用預防性有效量的本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物，從而防止該具有將受益於類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現減少的病症的個體中的至少一種癥狀。

【0077】於特定實施例中，該病症是類血管生成素 3 (ANGPTL3) 相關的病症，例如脂質代謝紊亂之病症。於特定實施例中，該脂質代謝紊亂之病症是高脂血症或高三酸甘油酯血症。於特定實施例中，向個體施用該 dsRNA 造成一或多種血清脂質的降低和/或 ANGPTL3 蛋白積累的減少。

【0078】於進一步實施態樣中，本發明亦提供了抑制 ANGPTL3 在個體中的表現的方法。該方法包括向個體施用治療有效量的本文中提供的任何 dsRNA，從而抑制 ANGPTL3 在個體中的表現。

【0079】於一實施例中，該個體是人類。

【0080】於一實施例中，該 dsRNA 試劑以約 0.01mg/kg 至約 50mg/kg 的劑量施用於個體。

【0081】於一實施例中，該 dsRNA 試劑係皮下注射予個體。

【0082】於一實施例中，本發明的方法包括進一步測定來自個體的樣品中 ANGPTL3 的水平。

【0083】於一實施例中，該個體樣品中 ANGPTL3 的水平是血液或血清樣品中的 ANGPTL3 蛋白水平。

【0084】於特定實施例中，本發明的方法復包括向個體施用額外的治療劑。

【0085】本發明亦提供包含本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物的試劑組，及視需要地，可包含使用說明。於一實施例中，本發明提供了一種試劑組，用於藉由使用有效抑制 ANGPTL3 在細胞中的表現之量的本發明的雙股 RNAi 試劑接觸細胞來執行抑制 ANGPTL3 基因在細胞中表現的方法。該試劑組包括 RNAi 試劑和使用說明以及，視需要地，將 RNAi 試劑施用到個體的裝置。

【0086】於一實施例中，該 RNAi 試劑是其藥學上可接受的鹽。本文中每種 RNAi 試劑的「藥學上可接受的鹽」包括但不限於鈉鹽、鈣鹽、鋰鹽、鉀鹽、銨鹽、鎂鹽、其混合物。本領域技術人員可以理解，當該 RNAi 試劑作為聚陽離子鹽提供時，視需要可具有修飾的磷酸二酯鍵主鏈和/或任何其他酸性修飾基團（例如，5'-末端磷酸鹽基團）的每個遊離酸基具有一個陽離子。例如，長度為「n」個核苷酸的寡核苷酸含有 n-1 視需要可具有修飾的磷酸二酯鍵，因此，長度為 21nt 的寡核苷酸可作為具有多達 20 個陽離子（例如，20 個鈉陽離子）的鹽

提供。同理，具有長度為 21nt 的正義股和長度為 23nt 的反義股的 RNAi 試劑可以作為具有多達 42 個陽離子（例如，42 個鈉陽離子）的鹽提供。於前述示例中，該 RNAi 試劑亦包括 5'-末端磷酸酯或 5'-末端乙烯基磷酸鹽基團，該 RNAi 試劑可以作為具有多達 44 個陽離子（例如，44 個鈉陽離子）的鹽提供。

#### 【圖式簡單說明】

【0087】圖 1A 和 1B 為顯示小鼠血清樣品中人類 ANGPTL3 蛋白水平的圖（每組 n=3），以 3mg/kg 單劑量的指示 dsRNA 雙鏈體施用於皮下。於給藥後第 7 天或第 14 天收集血清樣本。人類 ANGPTL3 蛋白水平由 ELISA 測定。圖 1A 顯示了具有標準差的組均值。圖 1B 顯示了具有標準差的各個點。

【0088】圖 2 為顯示小鼠中人類 ANGPTL3mRNA 水平（每組 n=3）的圖，於給藥後第 14 天經皮下施用單劑量的指示 dsRNA 雙鏈體。人類 ANGPTL3mRNA 水平係以相對於施用 PBS 所檢測到的對照水平顯示。

【0089】圖 3 為顯示經皮下注射 3mg/kg 或 10mg/kg 單劑量的 AD-1331212、AD-1331213 或 AD-1479372 的食蟹獼猴猴子血清中 ANGPTL3 蛋白的水平（n=3 每組）的圖。該 ANGPTL3 的水平係與第 0 天（給藥日）相比的百分比變化顯示。

#### 【實施方式】

【0090】本發明提供的 iRNA 組成物影響 RNA 誘導的沉默複合物（RISC）介導的類血管生成素 3（ANGPTL3）基因的 RNA 轉錄本的裂解。該基因可以在

細胞內，例如，個體(例如人類)內的細胞。這些 iRNA 的使用能夠靶向降解哺乳動物中相應基因 (ANGPTL3) 的 mRNA。

【0091】 本發明的 iRNA 已設計為靶向人類類血管生成素 3 (ANGPTL3) 基因，包括該基因中保存在其他哺乳動物物種之 ANGPTL3 異種同源物中的部分。不欲受縛於理論，據信前述性質和特定靶位點的組合或子組合、或這些 iRNA 中的特定修飾賦予本發明的 iRNA 改善之功效、穩定性、效力、耐久性和安全性。

【0092】 因此，本發明提供了治療和預防類血管生成素 3 (ANGPTL3) 相關疾病(例如，脂質代謝紊亂(例如高脂血症或高三酸甘油酯血症))的方法，該方法使用 iRNA 組成物影響 RNA 誘導的沉默複合物 (RISC) 介導的 ANGPTL3 基因轉錄本的裂解。

【0093】 本發明的 iRNA 包括 RNA 股 (反義股)，該 RNA 股具有長達約 30 個核苷酸或更少之區域，例如，長度為 19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個核苷酸之區域，該區域與 ANGPTL3 基因的 mRNA 轉錄本的至少一部分實質上互補。

【0094】 於特定實施例中，本發明之雙股 RNAi 試劑的單或雙股之長度可達 66 個核苷酸，例如，36 至 66、26 至 36、25 至 36、31 至 60、22 至 43、27 至 53 個核苷酸，其包含至少具有 19 個連續核苷酸的區域，該區域實質上與 ANGPTL3 基因的 mRNA 轉錄本的至少一部分互補。於某些實施例中，這類具有



較長反義股的 iRNA 試劑可以例如包括長度為 20 至 60 個核苷酸的第二 RNA 股（正義股），其中該正義股和反義股形成 18 至 30 個連續核苷酸的雙鏈體鏈體。

【0095】使用本發明的 iRNA 可以在哺乳動物中靶向降解相應基因（ANGPTL3 基因）的 mRNA。本發明人已使用體外(invitro)試驗展示靶向 ANGPTL3 基因的 iRNA 可以有效地介導 RNAi，從而顯著地抑制 ANGPTL3 基因的表現。因此，包括這些 iRNA 的方法和組成物可用於治療具有 ANGPTL3 相關疾病(例如，脂質代謝紊亂，例如高脂血症或高三酸甘油酯血症)的個體。

【0096】因此，本發明提供了用於治療具有將受益於抑制或減少 ANGPTL3 基因表現的疾病的個體的方法和聯合療法，例如，類血管生成素 3（ANGPTL3）相關疾病，例如脂質代謝紊亂，例如高脂血症或高三酸甘油酯血症，該方法和聯合療法使用 iRNA 組成物影響 RNA 誘導的沉默複合物（RISC）介導的 ANGPTL3 基因之 RNA 轉錄本的裂解。

【0097】本發明還提供了用於預防個體中至少一種癥狀的方法，該疾病將受益於抑制或減少 ANGPTL3 基因的表現，例如，脂質代謝紊亂，例如高脂血症或高三酸甘油酯血症。

【0098】以下詳細描述公開了如何製造和使用含有 iRNA 的組成物來抑制 ANGPTL3 基因的表現，以及用於治療受益於抑制和/或減少 ANGPTL3 基因表現的個體的組成物、用途和方法，例如，易感染或被診斷患有 ANGPTL3 相關疾病的個體。

## I. 定義

【0099】為了更容易地理解本發明，首先定義某些術語。此外，應注意，每當述及參數之數值或數值範圍時，皆意欲包含所述數值間之數值及範圍作為本發明內的一部份

【0100】本文中使用的冠詞「一」指代文中語法之賓語的一或多於一者(亦即，至少一者)。舉例而言，「一元件」指代一個元件或多於一個元件(如複數個元件)。

【0101】本文中使用的術語「包括」指代「包括但不限於」，且與後者可互換地使用。

【0102】除非上下文另明確指示，否則本文中使用的術語「或」指代「及/或」，且與後者可互換地使用。例如，「正義股或反義股」係理解為「正義股或反義股或正義股和反義股」。

【0103】本文中使用的術語「約」指代於該技藝中之公差範圍內。例如，「約」可理解為與均值偏離 2 個標準差。於某些具體實施例中，「約」指代+10%。於某些具體實施例中，「約」指代+5%。當「約」存在於一系列數字或範圍之前時，應理解為「約」可修飾該一系列數字或範圍中之各者。

【0104】於數字或一系列數字之前的術語「至少」、「不低於」或「或更多」係理解為包括該術語「至少」旁之數字，以及自上下文明確表示之後續的全部數字或邏輯上可包括之整數。例如，核酸分子中之核苷酸的數目必須為整數。例如，「21 個核苷酸之核酸分子的至少 19 個核苷酸」指代 19、20 或 21 個核苷酸具有所指示之特性。當「至少」存在於一系列數字或範圍之前時，係理解為「至少」可修飾該一系列數字或範圍中之各者。

【0105】如本文所用，短語「不多於」或「或更低」係理解為與短語旁之數值以及符合上下文邏輯之邏輯上更低之數值或整數到零為止。例如，具有「不多於 2 個核苷酸」之突出的雙螺旋具有 2、1 或 0 個核苷酸之突出。當「不多於」存在於一系列數字或範圍之前時，應理解為「不多於」可修飾該一系列數字或範圍中之各者。如本文中所用，範圍包括上限及下限兩者。

【0106】如本文所用，偵檢方法可包括分析物呈現之量低於該方法之偵檢水平的測定。

【0107】在所指示之標靶位點與正義或反義股之核苷酸序列之間存在矛盾的情況下，以所指示之序列為準。

【0108】在序列與其在轉錄本或其他序列所指示之位點之間存在矛盾的情況下，以本說明書中敘述之核苷酸序列為準。

【0109】如本文中所用，「類血管生成素 3」與術語「ANGPTL3」互換使用，指代編碼在血管生成中起作用的分泌蛋白家族成員之公知基因。編碼的蛋白質(主要在肝臟中表現)係進一步加工成包含 N 端盤繞線圈結構域的鏈和 C-終端纖維蛋白原鏈。該 N 端鏈對脂質代謝很重要，而 C-終端鏈可能參與血管生成。此基因的突變導致家族性低  $\beta$  脂蛋白血症 2 型。

【0110】人類 ANGPTL3mRNA 轉錄本的序列可以在例如 GenBank 登錄號 GI : 452408443 (NM\_014495.3 ; SEQ ID NO : 1 ; 反向互補, SEQ ID NO : 2) 或 GenBank 登錄號 GI : 41327750 (NM\_014495.2 ; SEQ ID NO:3 ; 反向互補, SEQ ID NO : 4)獲得。小鼠 ANGPTL3mRNA 的序列可以在例如 GenBank 登錄號 GI : 142388354 (NM\_013913.3 ; SEQ ID NO : 5 ; 反向互補, SEQ ID NO : 6)獲得。大鼠 ANGPTL3mRNA 的序列可以在例如 GenBank 登錄號 GI : 68163568

(NM\_001025065.1 ; SEQ ID NO : 7 ; 反向互補 , SEQ ID NO : 8)獲得。食蟹獼猴 ANGPTL3mRNA 的序列可以在例如 GenBank 登錄號 GI : 982227663(XM\_005543185.2 ; SEQ ID NO:9 ; 反向互補 , SEQ ID NO : 10)獲得。恆河獼猴 ANGPTL3 mRNA 的序列可以在例如 GenBank 登錄號 GI : 297278846 (XM\_001086114.2 ; SEQ ID NO:11 ; 反向互補 , SEQ ID NO : 12)獲得。

【0111】 ANGPTL3 mRNA 序列的其他示例可藉由公開可用的資料庫隨時獲得，例如，GenBank，UniProt，OMIM 和 Macaca 基因組計劃網站。

【0112】有關 ANGPTL3 的更多資訊可以在例如 [www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=ANGPTL3](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=ANGPTL3) 獲得。

【0113】上述每個 GenBank 登錄號和基因資料庫號的全部內容均在提交本申請之日藉由引用併入本文。

【0114】本文中使用的術語「ANGPTL3」也指 ANGPTL3 基因的變異，包括 SNP 資料庫中提供的變體。ANGPTL3 基因中的許多序列變體已經被鑒定出來，且可以在 NCBI dbSNP 和 UniProt（例如，參見 [www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=ANGPTL3](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=ANGPTL3)）獲得，其全部內容在提交本申請之日藉由引用併入本文。ANGPTL3 基因內 SNP 的非限制性例子可以在 NCBI dbSNP 登錄號 rs193064039 ; rs192778191 ; rs192764027 ; rs192528948 ; rs191931953 ; rs191293319 ; rs191171206 ; rs191145608 ; rs191086880 ; rs191012841 ; 或 rs190255403 獲得。

【0115】如本文中所用，「靶序列」指代在轉錄 ANGPTL3 基因期間形成的 mRNA 分子之核苷酸序列的連續部分，包括作為初級轉錄產物之 RNA 加工產物的 mRNA。於一實施例中，序列的標靶部分至少具有足夠長度，以作為在

ANGPTL3 基因轉錄過程中形成之 mRNA 分子的核苷酸序列部分或附近之 iRNA 導向裂解的基質。

【0116】 靶序列的長度可以是約 19 至 36 個核苷酸，例如，約 19 至 30 個核苷酸的長度。例如，靶序列可以是約 19 至 30 個核苷酸，為 19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個核苷酸長度。於特定實施例中，該靶序列的長度為 19 至 23 個核苷酸，視需要長度可為 21 至 23 個核苷酸。介於上述範圍及長度的範圍和長度亦認為是本揭露的一部分。

【0117】 如本文中所用，術語「包含序列的股」指代包含核苷酸之鏈的寡核苷酸，其中該核苷酸藉由使用標準核苷酸命名法指代之序列而揭示。

【0118】 「G」、「C」、「A」、「T」和「U」通常分別代表含有鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷和尿嘧啶作為鹼基的核苷酸。惟，應理解，術語「核糖核苷酸」或「核苷酸」或「去氧核糖核苷酸」亦可指代經修飾之核苷酸，如下文進一步揭示者，或替代物替換部分。熟練之人士熟知，鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤及尿嘧啶可經由其他部分替換而基本上不改變包含承載此替換部分之核苷酸之寡核苷酸的鹼基配對特性。例如而不限於，包含肌苷作為其鹼基之核苷酸可與含有腺嘌呤、胞嘧啶或鳥嘌呤之核苷酸進行鹼基配對。因此，於本發明之核苷酸序列中，含有尿嘧啶、鳥嘌呤或腺嘌呤之核苷酸可替換為含有例如肌苷之核苷酸。在另一示例中，寡核苷酸中任一腺嘌呤和胞嘧啶可以分別被鳥嘌呤和尿嘧啶取代，

以形成與標靶 mRNA 的 G-U 搖擺鹼基對。含有此種替換部分的序列適用於本發明中的組成物和方法。

【0119】如本文中可互換使用，術語「iRNA」、「RNAi 劑」、「iRNA 劑」及「RNA 干擾劑」指代含有如本文中定義之術語的 RNA，且其經由 RNA 誘導型緘默化複合體物(RISC)途徑而媒介 RNA 轉錄本的靶向裂解。iRNA 透過作為 RNA 干擾(RNAi)之進程而引導 mRNA 之序列特異性降解。iRNA 調整例如抑制細胞如個體如哺乳動物個體體內之細胞中 ANGPTL3 基因的表現。

【0120】於一實施例中，本發明之 RNAi 劑包括單股 RNA，其與標靶 RNA 序列例如如 HAO1 標靶 mRNA 交互作用，以引導該標靶 RNA 之裂解。不欲受縛於理論，咸信被引入細胞內之長的雙股 RNA 藉由被稱為切丁酶(Dicer)之第 III 型核酸內切酶之作用破碎為 siRNA (Sharp et al. (2001) Genes Dev. 15 : 485)。切丁酶，核酸酶 III 樣酶，將 daRNA 加工為 19 至 23 個鹼基對之短干擾 RNA，該短干擾 RNA 之特徵為具有兩個鹼基之 3' 懸垂(Bernstein, et al., (2001) Nature 409 : 363)。隨後，該 siRNA 被併入 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)內，於該，一種或多種解旋酶令該 siRNA 雙螺旋解捲曲，使得補體反義股能夠引導標靶識別(Nykanen, et al., (2001) Cell 107 : 309)。當結合至適宜之標靶 mRNA 時，該 RISC 內之一種或多種核酸內切酶裂解該標靶以誘導緘默化(Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15 : 188)。因此，於一方面，本發明係關於單股 RNA (siRNA)，其於細胞內生成且促進 RISC 複合體之形成，以有效緘默化標靶基因亦即 ANGPTL3 基因。據此，本文中，術語「siRNA」亦用以指代上揭之 RNAi。

【0121】於特定實施例中，該 RNAi 劑可係單股 siRNA，其係引入細胞或生物體內以抑制標靶 mRNA。單股 RNAi 劑結合至 RISC 核酸內切酶 Argonaute2，

其隨後裂解標靶 mRNA。該單股 siRNA 通常係 15-30 個核苷酸且經化學修飾。單股 siRNA 之設計及測試揭示於美國專利第 8,101,348 號及 Lima 等人., (2012) Cell 150 : 883-894 中，其各自之整體內容藉由引用併入本文。本文中揭示之任意反義核苷酸序列可用作本文中揭示之單股 siRNA 或用作藉由 Lima 等人., (2012) Cell 150; : 883-894 中揭示之方法化學修飾者。

【0122】於特定實施例中，用於本發明之組成物、用途及方法中之「iRNA」為雙股 RNA，且在本文中指代為「雙股 RNAi 劑」、「雙股 RNA(dsRNA)分子」、「dsRNA 分子」或「dsRNA」。術語「dsRNA」指代核糖核酸分子之複合體，其具有包含兩個反平行且實質上互補之核酸股的雙螺旋結構，該兩個核酸股指代為具有相對於標靶 RNA(即 ANGPTL3 基因)之「正義」取向及「反義」取向。於本發明之一些具體實施例中，雙股 RNA(dsRNA)透過轉錄後基因緘默化機制而觸發標靶 RNA 如 mRNA 之降解，本文中，該機制指代為 RNA 干擾或 RNAi。

【0123】通常，dsRNA 分子之每一股之主要部分之核苷酸係核糖核苷酸，但如本文中所詳述，一股或兩股亦可包括一個或多個非核糖核苷酸，如去氧核糖核苷酸及/或經修飾之核苷酸。此外，如本說明書中所用，「iRNA」可包括具有化學修飾的核糖核苷酸；iRNA 可能包括多個核苷酸的實質性修飾。如本文中所用，術語「修飾之核苷酸」指代獨立地具有修飾之糖部分、修飾之核苷酸間鍵結、或修飾核鹼基或其任意組合的核苷酸。因此，術語「修飾之核苷酸」涵蓋取代、添加或去除核苷酸間鍵結、糖部分、或核鹼基之例如，功能性基團或原子。此類修飾可包括本文中揭露或本領域中已知之全部類型之修飾。用於 siRNA 類型分子中的任何此類修飾皆藉本說明書及專利申請範圍之「iRNA」或「RNAi 試劑」予以涵蓋。

【0124】於本揭露的特定實施例中，若 RNAi 試劑中存在去氧-核苷酸之內含物，該 RNAi 試劑可被認為是構成修飾的核苷酸。

【0125】雙鏈體區域可以是允許藉由 RISC 途徑特異性降解所需靶 RNA 的任何長度，且可以在長度為約 19 至 36 個鹼基對，例如，為約 19 至 30 個鹼基對，例如，約 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 或 36 個鹼基對之長度，例如約 19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個鹼基對之長度。於特定實施例中，該雙鏈體區域的長度為 19 至 21 個鹼基對，例如，長度為 21 個鹼基對。介於上述範圍及長度間的範圍和長度也被認為是本揭露的一部分。

【0126】形成雙鏈體結構的兩條股可以是一個較大 RNA 分子中不同之部分，或其可以是分開的 RNA 分子。當兩條股是一個較大分子之一部分，且因此由一條股的 3'-端和形成雙鏈體結構的相應另一條股的 5'-端之間不間斷的核苷酸鏈連接，則連接 RNA 鏈被稱為「髮夾莖環」。髮夾莖環可以包含至少一個不成對的核苷酸。於某些實施例中，該髮夾莖環可包含至少 2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、23 或更多個不成對的核苷酸。於某些實施例中，該髮夾莖環可以是 10 個或更少的核苷酸。於某些實施例中，該髮夾莖環可以是 8 個或更少的不成對的核苷酸。於某些實施例中，該髮夾莖環可以是 4 至 10 個不成對的核苷酸。於某些實施例中，該髮夾莖環可以是 4 至 8 個核苷酸。



【0127】當 dsRNA 的兩條實質上互補的股由分開的 RNA 分子組成時，這些分子不需要，但可以共價連接。當該兩條股藉由一股的 3'-端和形成雙鏈體結構的相應另一股的 5'-端之間的不間斷核苷酸鏈以外的方式共價連接時，該連接結構被稱為「連接子」。該 RNA 股可以具有相同或不同數量的核苷酸。鹼基對的最大數量是 dsRNA 最短鏈中的核苷酸數量減去雙鏈體中存在的任何突出。除了雙鏈體結構外，RNAi 還可以包含一個或多個核苷酸突出。在 RNAi 試劑的一個實施例中，至少一股包含具有至少 1 個核苷酸的 3'突出。於另一實施例中，至少一股包含具有至少 2 個核苷酸(例如，2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸)的 3'突出。於其他實施例中，該 RNAi 試劑中至少一股包含具有至少 1 個核苷酸的 5'突出。於定實施例中，至少一股包含具有至少 2 個核苷酸(例如，2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸)的 5'突出。仍於其他實施例中，該 RNAi 試劑之一股的 3'和 5'端皆包含具有至少 1 個核苷酸的突出。

【0128】於特定實施例中，本發明的 iRNA 試劑是 dsRNA，其每股包含 19 至 23 個核苷酸，該 dsRNA 與靶 RNA 序列(例如，ANGPTL3 基因)相互作用，以直接裂解靶 RNA。

【0129】於某些實施例中，本發明的 iRNA 是 24 至 30 個核苷酸的 dsRNA，其與靶 RNA 序列(例如，ANGPTL3 靶 mRNA 序列)相互作用，以驅使靶 RNA 的裂解。

【0130】如本文中所用，術語「核苷酸突出」指代至少一個從雙股 iRNA 的雙鏈體結構中突出的不成對核苷酸。例如，當 dsRNA 之一股的 3'-端延伸到另一股的 5'-端之外時(反之亦然)，則存在核苷酸突出。dsRNA 可以包含具有至少

一個核苷酸的突出；或者，該突出可以包含至少兩個核苷酸、至少三個核苷酸、至少四個核苷酸、至少五個核苷酸或更多。核苷酸突出可以包含或由核苷酸/核苷類似物組成，包括去氧核苷酸/核苷。該突出可以位於正義股、反義股或其任意之組合上。此外，該突出的核苷酸可以存在於 dsRNA 的反義股或正義股之 5'-端、3'-端或兩端。

【0131】於一實施例中，dsRNA 的反義股具有 1 至 10 個核苷酸，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸，該突出在 3'-端或 5'-端。於一實施例中，dsRNA 的正義股具有 1 至 10 個核苷酸，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸，該突出在 3'-端或 5'-端。於另一實施例中，該突出中的一個或多個核苷酸被硫代磷酸核苷取代。

【0132】於特定實施例中，dsRNA 的反義股具有 1 至 10 個核苷酸，例如，0 至 3、1 至 3、2 至 4、2 至 5、4 至 10、5 至 10，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸，該突出在 3'-端或 5'-端。於一實施例中，dsRNA 的正義股具有 1 至 10 個核苷酸，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸，該突出在 3'-端或 5'-端。於另一實施例中，該突出中的一個或多個核苷酸被硫代磷酸核苷取代。

【0133】於特定實施例中，dsRNA 的反義股具有 1 至 10 個核苷酸，例如，1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸，該突出在 3'-端或 5'-端。於特定實施例中，位於正義股或反義股的突出，或兩者兼而有之，可以包括超過 10 個核苷酸的延伸長度，例如，1 至 30 個核苷酸、2 至 30 個核苷酸、10 至 30 個核苷酸、10 至 25 個核苷酸、10 至 20 個核苷酸或 10 至 15 個核苷酸。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙鏈體的正義股。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙

鏈體之正義股的 3'端。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙鏈體之正義股的 5'端。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙鏈體的反義股。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙鏈體之反義股的 3'端。於特定實施例中，延伸突出係位在該雙鏈體之反義股的 5'端。於特定實施例中，延伸突出中的一個或多個核苷酸被硫代磷酸核苷取代。於特定實施例中，該突出包括自互補部分，使得該突出能夠形成在生理條件下穩定的髮夾結構。

**【0134】** 「鈍」或「鈍端」指代在該雙股 RNA 試劑之末端沒有未配對之核苷酸，亦即，沒有核苷酸突出。「鈍端」雙股 RNA 試劑在其整個長度上為雙股(即在分子的兩端沒有核苷酸突出)。本發明的 RNAi 試劑包括一端沒有核苷酸突出的 RNAi 試劑(即具有一個突出和一個鈍端之劑)或兩端沒有核苷酸突出的試劑。大多數情況下，這樣的分子在其整個長度上為雙股。

**【0135】** 術語「反義股」或「引導股」指代 iRNA 的股(例如，dsRNA)，其包括與靶序列(例如 ANGPTL3 mRNA)實質上互補的區域。

**【0136】** 如本文中所用，術語「互補區域」指代反義股上實質上與序列(例如，如本文所定義之靶序列(例如 ANGPTL3 核苷酸序列))互補的區域。當該互補區域與靶序列不完全互補，該誤配可能位於分子的內部或末端區域。通常，最耐受的誤配發生在末端區域，例如，在 iRNA 的 5'-或 3'-端的 5、4 或 3 個核苷酸內。於某些實施例中，本發明的雙股 RNA 試劑包括反義股中的核苷酸誤配。於某些實施例中，本發明之雙股 RNA 試劑的反義股包括不超過 4 個與靶 mRNA 的誤配，例如，該反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與靶 mRNA 的誤配。於某些實施例中，本發明之雙股 RNA 試劑的反義股包括不超過 4 個與該正義股的誤配，例如，該反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與該正義股的誤配。於某些實施例中，本

發明之雙股 RNA 試劑的包含於正義股上的核苷酸誤配。於某些實施例中，本發明之雙股 RNA 試劑的正義股包括不超過 4 條與反義股的誤配，例如，該正義股包括 4、3、2、1 或 0 與反義股的誤配。於某些實施例中，該核苷酸誤配為，例如，自該 iRNA 的 3'-端 5、4、3 個內之核苷酸。於另一實施例中，該核苷酸誤配為，例如，在該 iRNA 試劑的 3'-端核苷酸中。於某些實施例中，該誤配不在種子區域。

**【0137】** 因此，本文中所述的 RNAi 試劑可以包含一或多個與靶序列的誤配。於一實施例中，本文中所述的 RNAi 試劑包含不超過 3 個誤配（即 3、2、1 或 0 個誤配）。於一實施例中，本文中所述的 RNAi 試劑含有不超過 2 個誤配。於一實施例中，本文中所述的 RNAi 試劑含有不超過 1 個誤配。於一實施例中，如本文所述的 RNAi 試劑包含 0 個誤配。於特定實施例中，若該 RNAi 試劑之反義股包含與靶序列的誤配，則可視需要地將誤配限制為位於來自互補區域的 5'-或 3'-端的最後 5 個核苷酸內。例如，於此實施例中，對於具有 23 核苷酸之 RNAi 試劑，其與 ANGPTL3 基因的一個區域互補的股通常不包含中心 13 個核苷酸內的任何誤配。本文中描述的方法或本領域已知的方法可用於確定含有與靶序列誤配的 RNAi 試劑是否有效抑制 ANGPTL3 基因的表現。考慮具有誤配的 RNAi 藥物在抑制 ANGPTL3 基因表現方面的功效非常重要，特別是如果已知 ANGPTL3 基因中的互補特定區域在群體內具有多態性序列變異。

**【0138】** 本文使用的術語「正義股」或「隨從股」是指 iRNA 的股，其包括與此定義之術語「反義股」之區域實質上互補的區域。

**【0139】** 如本文所用，「實質上所有核苷酸都被修飾」係很大程度上但不是完全修飾的，且可以包括不超過 5、4、3、2 或 1 個未修飾的核苷酸。

【0140】如本文所用，術語「裂解區域」指代位於緊鄰裂解位點的區域。該裂解位點為靶發生裂解的位點。於某些實施例中，該裂解區域包括位於該裂解位點之任一端並緊鄰該切解位點的三個鹼基。於某些實施例中，該裂解區域包括位於該裂解位點之任一端並緊鄰該切解位點的兩個鹼基。於某些實施例中，該裂解位點特異性地出現在由反義股的核苷酸 10 和 11 結合的位點，且該裂解區域包括核苷酸 11、12 和 13。

【0141】除非另行指示，本文中所用之術語「互補」，用來揭示關於第二核苷酸序列之第一核苷酸序列時，指代包含該第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸在某些條件下與包含該第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸雜交且形成雙螺旋結構的能力，如具熟練技術之人士所理解者。舉例而言，此等條件可係嚴苛條件，其中嚴苛條件可包括：400 mM NaCl、40 mM PIPES pH 6.4、1 mM EDTA、50°C 或 70°C、12 至 16 小時，之後洗滌（參見，例如，「分子選殖：實驗室手冊，Sambrook 等人。(1989)冷泉港實驗室出版社）。可施加其他條件，諸如生理學相關條件如可在生物體內部遭遇者。具熟練技術之人士將能夠根據所雜交之核苷酸的最終應用而確定最適用於兩個序列之互補性測試的條件集。

【0142】iRNA 內(例如，本文中所述的 dsRNA 內)的互補序列，包括包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸至包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸於其一者或兩者核苷酸序列整個長度上的鹼基配對。這種序列在本文中可稱為「完全互補」。然而，當本文中第一序列相對於第二序列被稱為「實質上互補」，則此兩者序列可以是完全互補，或它們可以形成一或多個，但在長度最多達 30 個鹼基對之雙鏈體雜交的情況下通常不超過 5、4、3 或 2 個誤配的鹼基對，同時保留在最適於其最終應用之條件下雜交的能力，例如，於體外或體內抑

制基因表現。惟，當兩個寡核苷酸設計為雜交時形成一個或多個單股突出，則此類突出不應被視為互補上的誤配。舉例而言，包含一個長度為 21 個核苷酸之寡核苷酸及另一個長度為 23 個核苷酸之寡核苷酸的 dsRNA，其中該較長之核苷酸包含一個與該較短之核苷酸完全互補的 21 個核苷酸之序列，對於本文所揭示之目的，仍可指代為「完全互補」。

【0143】如本文中所用，「互補」序列亦可包括非 Watson-Crick 鹼基對及/或從非天然核苷酸及經修飾之核苷酸形成的鹼基對，或完全由其形成，只要其雜交能力之上述需求得以滿足即可。此類非 Watson-Crick 鹼基對包括但不限於，G：U Wobble 鹼基配對或 Hoogsteen 鹼基配對。

【0144】本文中，術語「互補」、「完全互補」及「基本互補」可用於 dsRNA 之正義股與反義股之間或 dsRNA 之反義股與標靶序列之間的鹼基配對，其將從所用之的上下文理解。

【0145】如本文中所用，與信使 RNA (mRNA) 之「至少一部分實質上互補」之多核苷酸指代與感興趣之 mRNA (例如，編碼 ANGPTL3 基因的 mRNA) 之接續部分實質上互補之多核苷酸。舉例而言，如果該序列與編碼 ANGPTL3 之 mRNA 之非中斷部分實質上互補，則該多核苷酸與 ANGPTL3 mRNA 之至少一部分互補。

【0146】因此，於某些實施例中，本文公開的反義多核苷酸與靶 ANGPTL3 序列完全互補。於其他實施例中，本文公開的反義多核苷酸實質上與靶 ANGPTL3 序列互補，且包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少 80% 互補於 SEQIDNOs：1、3、5、7、9 或 11 中任一核苷酸序列的等效區域，或約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、

約 97%、約 98%或約 99%互補於 SEQIDNOs : 1、3、5、7、9 或 11 等任一序列之片段。

【0147】於某些實施例中，本文公開的反義多核苷酸實質上與靶 ANGPTL3 序列的片段互補，且包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少 80%互補於 SEQIDNO : 1 中選自核苷酸組 73 至 102、73 至 124、80 至 114、291 至 320、291 至 342、307 至 336、540 至 567、540 至 589 和 545 至 577 之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%互補於該片段。

【0148】於某些實施例中，本文公開的反義多核苷酸實質上與靶 ANGPTL3 序列的片段互補，並且包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少 80%互補於 SEQIDNO : 1 中選自核苷酸組 80 至 102、84 至 106、87 至 109、91 至 113、92 至 114、186 至 208、307 至 329、308 至 330、310 至 332、314 至 336、545 至 567、551 至 573、553 至 575、554 至 576、555 至 577、1133 至 1155 或 1140 至 1162 之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%互補於該片段。

【0149】於其他實施例中，本文公開的反義多核苷酸實質上與靶 ANGPTL3 序列互補，並且包括一個連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80%互補於表 2 至 3 和 7 至 8 中任一正義股核苷酸序列，或表 2 至 3 和 7 至 8 中任一正義股核苷酸序列之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或 100%互補。

【0150】於一實施例中，本揭露之 RNAi 試劑包括與反義多核苷酸實質上互補的正義股，而該反義多核苷酸又與靶 ANGPTL3 序列相同，且其中該正義股多核苷酸包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80%互補於 SEQIDNOs : 2、4、6、8、10 或 12 之核苷酸序列的等效區域、或 SEQIDNOs : 2、4、6、8、10 或 12 中的任一序列之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或 100%互補。

【0151】於某些實施例中，本發明的 iRNA 包括與反義多核苷酸實質上互補的正義股，而反義多核苷酸又與靶 ANGPTL3 序列互補，且其中該正義股多核苷酸包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80%互補於表 2 至 3 和 7 至 8 中的任一反義股核苷酸序列，或表 2 至 3 和 7 至 8 中任一反義股核苷酸序列之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或 100%互補。

【0152】於一實施例中，該反義股包含至少 15 個，例如，15、16、17、18、19 或 20 個連續核苷酸，該連續核苷酸與選自 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；AD-1331329.1；AD-1331237.1；AD-1331238.1；AD-1331240.1；AD-1331244.1；AD-1331256.1；AD-1331262.1；AD-1331264.1；AD-1331265.1；AD-1331266.1；AD-1331316.1；和 AD-1331338.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸。

【0153】於一實施例中，該反義股包含至少 15 個，例如，15、16、17、18、19 或 20 個連續核苷酸，該連續核苷酸與選自 AD-1331203.1；AD-1331206.1；



AD-1331209.1 ; AD-1331212.1 ; AD-1331213.1 ; AD-1331329.1 ; AD-1331240.1 ; AD-1331262.1 ; AD-1331264.1 ; AD-1331265.1 和 AD-1331266.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸。於一實施例中，該反義股包含至少 15 個，例如，15、16、17、18、19 或 20 個連續核苷酸，該連續核苷酸與選自 AD-1331203.1 ; AD-1331206.1 ; AD-1331209.1 ; AD-1331212.1 ; 和 AD-1331213.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸。

**【0154】** 通常，「iRNA」包括具有化學修飾之核糖核苷酸。此類修飾可包括本文中所公開或本領域已知之所有類型的修飾。用於 dsRNA 類型分子中的任何此類修飾皆藉本說明書及專利申請範圍之「iRNA」予以涵蓋。

**【0155】** 於本揭露之特定實施例中，若去氧核苷酸存在於 RNAi 試劑中，則該去氧-核苷酸可被認為是構成修飾的核苷酸。

**【0156】** 於本發明之一具體實施態樣中，用於本發明之方法和組成物中的試劑為單股反義寡核苷酸分子，其藉由反義抑制機制抑制標靶 mRNA。該單股反義寡核苷酸分子與靶 mRNA 內的序列互補。該單股反義寡核苷酸分子可藉由與 mRNA 進行鹼基配對並物理性地阻礙轉譯機制以抑制轉譯(以化學計量測定)，參見，Dias, N. et al., (2002) *Mol Cancer Ther* 1 : 347-355。該單股反義寡核苷酸分子的長度可約為 14 至約 30 個核苷酸，且具有與靶序列互補之序列。例如，該單股反義寡核苷酸分子可包含本文所述任一反義序列之至少約 14、15、16、17、18、19、20 或更多個連續核苷酸的序列。

**【0157】** 本文中使用的短語「用 iRNA 接觸細胞」，例如 dsRNA，包括藉由任何可能的手段接觸細胞。用 iRNA 接觸細胞包括將細胞在體外(in vitro)與

iRNA 接觸或於體內(invivo)接觸細胞與 iRNA。該接觸可直接或間接進行。因此，例如，iRNA 可由執行該方法之個體與細胞進行物理接觸，或者，iRNA 可被置於允許或導致其隨後與細胞接觸的情境中。

**【0158】** 可例如藉由將細胞與 iRNA 共培養以完成在體外接觸細胞。於體內接觸細胞可例如藉由將 iRNA 注射到細胞所在的組織內或附近，或藉由將 iRNA 注射到另一個區域，例如，血流或皮下空間，使試劑隨後抵達待接觸之細胞所在的組織。例如，iRNA 可以包含或接合到配體，例如，GalNAc，其將 iRNA 引導到感興趣的位點(例如，肝臟)。亦可能結合體外和體內之接觸方法。例如，細胞可在體外與 iRNA 接觸後移植到個體體內。

**【0159】** 於特定實施例中，與 iRNA 接觸細胞包括藉由促進或影響對細胞的攝取或吸收來「引入」或「將 iRNA 遞送到細胞中」。iRNA 的吸收或攝取可藉由無輔助擴散或主動細胞過程，或藉由輔助劑或裝置發生。將 iRNA 引入細胞可以體外或體內之方式。例如，對於體內引入，iRNA 可注射到組織部位或全身給藥。體外引入細胞包括本領域已知的方法，例如電穿孔和脂肪切除。進一步的方法係描述於本文中或為本領域所習知。

**【0160】** 術語「脂質納米顆粒」或「LNP」為包含封裝以藥物活性分子(例如核酸分子)之脂質層的囊泡，例如，iRNA 或轉錄 iRNA 的質粒。LNP 係例如描述於美國專利案 6,858,225、6,815,432、8,158,601 和 8,058,069 中，其各自之整體內容藉由引用併入本文。

**【0161】** 如本文所用，「個體」為動物(例如哺乳動物)，包括靈長類動物(例如人類、非人類靈長類動物，例如，猴子和黑猩猩)、非靈長類動物(例如牛、豬、馬、山羊、兔子、綿羊、倉鼠、豚鼠、貓、狗、大鼠或小鼠)，或不

以內源性還是異源性表現靶基因之鳥類。於一實施例中，該個體為人類，例如正在治療或評估的疾病或病症的人類，該疾病或病症將受益於 ANGPTL3 表現之減少；有疾病或紊亂風險的人類，該疾病或紊亂將受益於 ANGPTL3 表現之減少；患有受益於 ANGPTL3 表現減少之疾病或紊亂的人類；或正接受疾病或病症治療的人類，該疾病或病症將受益於本文中描述之 ANGPTL3 表現的減少。於某些實施例中，該個體為女性人類。於其他實施例中，該個體為男性人類。於一實施例中，該個體為成人個體。於另一實施例中，該個體為兒童個體。

**【0162】** 如本文中所用，術語「治療」或「療法」指代有益或或所欲之結果，例如減少個體中 ANGPTL3 相關疾病之至少一種體徵或癥狀。治療亦包括減少與非所欲之 ANGPTL3 表現相關的一個或多個體徵或癥狀；減少非所欲之 ANGPTL3 活化或穩定的程度；改善或緩解非所欲之 ANGPTL3 活化或穩定。「治療」亦可意指相比於未治療時之預期壽命的壽命延長。在個體或疾病標誌物或癥狀之 ANGPTL3 水平的上下文中，術語「下降」指代該水平的統計學顯著減少。例如，可減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。於特定實施例中，至少減少 20%。於特定實施例中，疾病標誌物(例如，蛋白質或基因表現水平)減少至少為 50%。在個體 ANGPTL3 水平之上下文中，「下降」為減少到沒有此種病症之個體在正常範圍內可接受的水平。於特定實施例中，「下降」係指患有疾病之個體的標誌物或癥狀水平與個體在正常範圍內可接受的水平之間差異的減少，例如，肥胖個體與具有在正常範圍內可接受之體重的個體間體重的下降水平。

【0163】如本文所用，當「預防」用於可藉由減少 ANGPTL3 基因之表現來治療或改善的疾病、病症或其病癥時，係指代個體出現與此類疾病、病症或病癥相關之癥狀的可能性降低，例如，非所欲或過度 ANGPTL3 表現之癥狀(例如高三酸甘油酯水平或出疹性黃瘤)的降低。發生高三酸甘油酯水平或出疹性黃瘤的可能性降低，例如，當具有一或多個高三酸甘油酯水平或出疹性黃瘤之風險因素的個體未能發展出高三酸甘油酯水平或出疹性黃瘤，或發展出高三酸甘油酯水平或出疹性黃瘤時，相對於具有相同風險因素且未接受本文所述治療之群體而言，具有較低的嚴重程度。未能發展出此種疾病、病症或病癥，或與該疾病、病症或病癥相關的癥狀發展減少(例如，在該疾病或病症之臨床公認量表上至少約 10%)，或延遲出現癥狀(例如，數天、數週、數月或數年)等被認為是有效的預防。

【0164】如本文所用，術語「血清脂質」指代血液中存在之任何主要脂質。血清脂質可能以遊離形式或作為蛋白質複合物(例如，脂蛋白複合物)的一部分存在於血液中。血清脂質之非限制性示例包括三酸甘油酯和膽固醇，如總膽固醇(TG)、低密度脂蛋白膽固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白膽固醇(HDL-C)、極低密度脂蛋白膽固醇(VLDL-C)和中密度脂蛋白膽固醇(IDL-C)。

【0165】本文所用的術語「類血管生成素 3 相關疾病」或「ANGPTL3 相關疾病」是由 ANGPTL3 基因表現或 ANGPTL3 蛋白產生引起或與之相關的疾病或病症。術語「ANGPTL3 相關疾病」包括受益於 ANGPTL3 基因表現、複製或蛋白質活性降低的疾病、病症或病癥。於某些實施例中，ANGPTL3 相關疾病為脂質代謝紊亂。

【0166】如本文所用，「脂質代謝紊亂」指代與脂質代謝紊亂相關或由脂質代謝紊亂引起的任何病症。例如，該術語包括任何可導致高脂血症的病症，疾病或病癥，或以血液中任何或所有脂質和/或脂蛋白水平異常升高為特徵的病癥。此術語指代遺傳性疾病如家族性高三酸甘油酯血症、家族性部分性脂肪營養不良 1 型 (FPLD1)，或誘發或獲得性疾病如由於疾病，病症或病癥（例如，腎功能衰竭）、飲食或攝入某些藥物（例如，用於治療如愛滋病或愛滋病毒之高活性抗逆轉錄病毒療法 (HAART) 而誘發或獲得的疾病。脂質代謝的示例性疾病包括但不限於動脈粥樣硬化、血脂異常、高三酸甘油酯血症（包括藥物誘導的高三酸甘油酯血症、利尿劑誘導的高三酸甘油酯血症、酒精誘導的高三酸甘油酯血症、 $\beta$ -腎上腺素阻斷劑誘導的高三酸甘油酯血症、雌激素誘導的高三酸甘油酯血症、糖皮質激素誘導的高三酸甘油酯血症、類視黃醇誘導的高三酸甘油酯血症、西咪替丁 (cimetidine) 誘導的高三酸甘油酯血症和家族性高三酸甘油酯血症高三酸甘油酯血症），與高三酸甘油酯血症相關的急性胰腺炎、乳糜微粒綜合癥、家族性乳糜微粒血症、Apo-E 缺乏或阻抗、LPL 缺乏或低活性、高脂血症（包括家族性聯合高脂血症）、高膽固醇血症、與高膽固醇血症相關的痛風、黃斑病（皮下膽固醇沉積）、具有異質性 LPL 缺乏症的高脂血症以及具有高 LDL 和異質性 LPL 缺乏症的高脂血症。

【0167】如本文中所定義，與脂質代謝紊亂相關的心血管疾病也被認為是「脂質代謝紊亂」。此類疾病可能包括冠狀動脈疾病（也稱為缺血性心臟病）、與冠狀動脈疾病相關的炎症、再狹窄、外周血管疾病和中風。

【0168】如本文中所定義，與體重有關的疾病也被認為是「脂質代謝紊亂」。此類疾病可能包括肥胖、代謝綜合癥，包括代謝綜合癥的獨立癥狀（例如，

中心性肥胖、FBG/糖尿病前期/糖尿病、高膽固醇血症、高三酸甘油酯血症和高血壓）、甲狀腺功能減退、尿毒症以及與體重增加（包括快速體重增加）、體重減輕、持續性體重減輕或體重減輕後體重恢復之風險相關的其他疾病。

**【0169】** 如本文中所定義，血糖紊亂進一步被認為是「脂質代謝紊亂」。此類疾病可能包括糖尿病、高血壓和與胰島素阻抗相關之多囊卵巢綜合癥。脂質代謝之其他典型疾病也可能包括腎移植、腎病綜合癥、庫欣綜合癥 (Cushing's syndrome)、肢端肥大症、系統性紅斑性狼瘡、球蛋白異常、脂肪營養不良、I型糖原症和愛迪生氏病(Addison's disease)。

**【0170】** 本文中所用之「治療有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述之量，當將該 RNAi 劑投予患者以用於治療 ANGPTL3 相關疾病的個體時，其量足以對該疾病之治療造成功效(例如，藉由削弱、緩解或維持現有疾病或疾病之一種或多種症狀)。「治療有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投予、疾病及其嚴重性及待治療之患者的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、由 HAO1 表現媒介之病理過程之階段、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

**【0171】** 本文中使用的「預防有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述的量，當將該 RNAi 劑投予具有 ANGPTL3 相關疾病之個體時，足以預防或改善該疾病或該疾病之一或多種癥狀。改善疾病包括減緩疾病之進程或降低晚期疾病之嚴重程度。「預防有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投予、疾病風險程度及待治療之患者的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

【0172】「治療有效量」或「預防性有效量」亦包括以適用於任何治療之合理益/風險比產生一些所欲效果之 RNAi 藥物的量。本發明方法中採用的 iRNA 可以足夠的量施用以產生適用於此類治療之合理益/風險比。

【0173】本文中使用的短語「藥學上可接受的」是指那些在合理的醫學判斷範圍內適合與人類個體和動物個體的組織接觸而沒有過度毒性，刺激性，過敏反應或其他問題或併發症的化合物（包括鹽）、材料、組成物或劑型，與合理的益/風險比相稱。

【0174】本文中使用的短語「藥學上可接受的載體」是指藥學上可接受的材料、組成物或載體，例如液體或固體填料、稀釋劑、賦形劑、製造助劑（例如，潤滑劑、滑石鎂、硬脂酸鈣或硬脂酸鋅、或硬脂酸）或溶劑封裝材料，參與從一個器官或身體之一部分攜帶或運輸主要化合物至另一個器官或身體的一部分。每個載體必須為「可接受的」，即與製劑的其他成分相容，並且對所治療的個體沒有傷害。這類載體為本領域已知的。藥學上可接受的載體包括用於注射給藥的載體。

【0175】本文中使用的術語「樣品」包括從個體內分離出的類似液體、細胞或組織的採集物，及個體內存在的液體、細胞或組織。生物體液之實例包括血液、血清和血清液、血漿、腦脊液、眼液、淋巴液、尿液、唾液等。組織樣本可能包括來自組織、器官或局部區域之樣本。例如，樣品可能來自特定器官、器官之一部分或這些器官內的液體或細胞。於特定實施例中，樣品可來自肝臟（例如，全肝或肝臟之某些片段或肝臟中特定類型之細胞，例如，肝細胞）。於某些實施例中，「來自個體之樣品」指代從個體獲得的尿液。「來自個體的樣本」可指代來自個體之血液或血液衍生的血清或血漿。

## II. 本發明之 iRNA

【0176】 本發明提供了抑制 ANGPTL3 基因表現的 iRNA。於特定實施例中，該 iRNA 包括用於抑制 ANGPTL3 基因在細胞中之表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 分子，例如個體(例如哺乳動物，例如易患 ANGPTL3 相關疾病(例如，脂質代謝紊亂，例如，高脂血症或高三酸甘油酯血症)的人)內的細胞。該 dsRNAi 試劑包括具有互補性區域的反義股，該區域與 ANGPTL3 基因表現中形成之 mRNA 的至少一部分互補。互補區域的長度約為 19 至 30 個核苷酸(例如，長度約為 30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20 或 19 個核苷酸)。

【0177】 在與表現 ANGPTL3 基因的細胞接觸時，該 iRNA 抑制 ANGPTL3 基因(例如，人類、靈長類動物、非靈長類動物或大鼠之 ANGPTL3 基因)的表現至少約 50%，例如藉由 PCR 或基於分枝 DNA (bDNA) 之方法測定，或藉由基於蛋白質的方法(例如藉由免疫螢光分析(例如，使用西方印跡或流式細胞術技術)測定。於特定實施例中，表現之抑制係藉由本文提供之實施例中提供的 qPCR 方法以 siRNA 在例如適當生物體細胞系中 10nM 濃度下測定。於特定實施例中，體內表現之抑制係藉由敲落表現人類基因之嚙齒動物中的人類基因測定，例如，表現人類靶基因(例如，當作為單劑量(例如，在 RNA 表現的最低點以 3mg/kg 施用時)施用時)的小鼠或 AAV 感染的小鼠。

【0178】 dsRNA 包括兩條互補之 RNA 股，其在該 dsRNA 將被使用之條件下雜交形成雙鏈體結構。dsRNA 之一股(反義股)包括一個互補區域，該區域與靶序列實質上互補，且通常完全互補。該靶序列可衍生自 ANGPTL3 基因表現過程中形成的 mRNA 序列。另一股(正義股)包括與該反義股互補之區域，使兩股在合適的條件下結合時雜交並形成雙鏈體結構。如本文中其他地方所述與



本領域公知，dsRNA 之互補序列也可包含在單一核酸分子內作為自互補區域，而非在分開的寡核苷酸上。

【0179】通常，該雙鏈體結構之長度為 15 至 30 個鹼基對，例如，長度為 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、18 至 25、18 至 24、18 至 23、18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21-22 個鹼基對。於特定實施例中，該雙鏈體結構之長度為 18 至 25 個鹼基對，例如，長度為 18 至 25、18 至 24、18 至 23、18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 25、21 至 24、21 至 23、21 至 22、22 至 25、22 至 24、22 至 23、23 至 25、23 至 24 或 24 至 25 個鹼基對，例如，19 至 21 個鹼基對。介於上述範圍與長度間的範圍和長度亦被認為是本揭露之一部分。

【0180】同理，靶序列之互補區域長度為 15 至 30 個核苷酸，例如 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、18 至 25、18 至 24、18 至 23、18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、

20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個核苷酸，例如長度為 19 至 23 個核苷酸或長度為 21 至 23 個核苷酸。介於上述範圍與長度間的範圍和長度亦被認為是本揭露之一部分。

【0181】於某些實施例中，該雙鏈體結構之長度為 19 至 30 個鹼基對。同理，該靶序列之互補區域的長度為 19 至 30 個核苷酸。

【0182】於某些實施例中，dsRNA 之長度約為 19 至約 23 個核苷酸，或長度約為 25 至約 30 個核苷酸。通常，該 dsRNA 具有足夠之長度可作為切丁酶之基質。例如，本領域所周知，長度超過約 21 至 23 個核苷酸的 dsRNA 可作為切丁酶之基質。如通常技術人員所能理解，靶向裂解之 RNA 區域通常為較大 RNA 分子之一部分，通常為 mRNA 分子。於相關情況下，mRNA 標靶之「部分」為 mRNA 標靶的連續序列，其具有足夠之長度使其成為 RNAi 導向裂解（即藉由 RISC 途徑裂解）之基質。

【0183】本領域技術人員亦理解，雙鏈體區域為 dsRNA 之主要功能部分，例如，約 19 至約 30 個鹼基對(例如，約 19 至 30、約 19 至 29、約 19 至 28、約 19 至 27、約 19 至 26、約 19 至 25、約 19 至 24、約 19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 鹼基對)之雙鏈體區域。因此，於一實施例中，只要其係加工成功能性雙鏈體(例如，15 至 30 個鹼基對)，靶向所欲之 RNA 進行裂解，RNA 分子或具有大於 30 個鹼基對之雙鏈體區域的 RNA 分子的複合物即為 dsRNA。因此，領域中通常技藝人士將理解，於一實施例中，

miRNA 為 dsRNA。於另一實施例中，dsRNA 非為天然存在之 miRNA。於另一實施例中，可用於靶向 ANGPTL3 基因表現之 iRNA 試劑非在靶細胞中經由裂解較大之 dsRNA 產生。

【0184】本文中所述之 dsRNA 可復包括一或多個單股核苷酸突出(例如，1 至 4、2 至 4、1 至 3、2 至 3、1、2、3 或 4 個核苷酸)。與鈍端對應物相比，具有至少一個核苷酸突出之 dsRNA 可具有優異之抑制特性。核苷酸突出可包含或由核苷酸/核苷類似物組成，包括去氧核苷酸/核苷。突出可位於正義股、反義股或其任意組合。此外，突出之核苷酸可存在於 dsRNA 之反義或正義股的 5'-端、3'-端或兩端。

【0185】dsRNA 可藉由本領域已知的標準方法合成。本發明之雙股 RNAi 化合物可使用兩步驟之過程製備。首先，單獨製備雙股 RNA 分子之單股。而後將成分股黏合。siRNA 化合物之單股可使用溶液相有機合成、固相有機合成、或兩者來製備。有機合成的優點為包含非天然或修飾之核苷酸的寡核苷酸鏈可以很容易地製備。同理，本發明之單股寡核苷酸可使用溶液相有機合成、固相有機合成、或兩者來製備。

【0186】於一實施態樣中，本發明的 dsRNA 包括至少兩個核苷酸序列，一個正義序列和一反義序列。從表 2 至 3 和表 7 至 8 中任一個中提供的序列組中選擇該正義股，並且從表 2 至 3 和表 7 至 8 中任一個序列組中選擇該正義股之相應反義股。於此態樣中，兩個序列中的一個與兩個序列中的另一個序列互補，其中一個序列與 ANGPTL3 基因表現中產生之 mRNA 序列基本互補。因此，在這方面，dsRNA 將包括兩個寡核苷酸，其中一個寡核苷酸被描述為表 2 至 3 和 7 至

8 中任一正義股，第二個寡核苷酸被描述為表 2 至 3 和 7 至 8 中任一正義股之相應反義股。

【0187】於特定實施例中，該 dsRNA 之實質上互補的序列包含在分開之寡核苷酸上。於其他實施例中，該 dsRNA 之實質上互補的序列包含在單一寡核苷酸上。

【0188】於一實施例中，該反義股包含至少 15 個(例如，15、16、17、18、19 或 20 個)與選自 AD-1331203.1;AD-1331206.1;AD-1331209.1;AD-1331212.1;AD-1331213.1;AD-1331329.1;AD-1331237.1;AD-1331238.1;AD-1331240.1;AD-1331244.1;AD-1331256.1;AD-1331262.1;AD-1331264.1;AD-1331265.1;AD-1331266.1;AD-1331316.1;和 AD-1331338.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的連續核苷酸。

【0189】於一實施例中，該反義股包含至少 15 個(例如，15、16、17、18、19 或 20 個)與選自 AD-1331203.1;AD-1331206.1;AD-1331209.1;AD-1331212.1;AD-1331213.1;AD-1331329.1;AD-1331240.1;AD-1331262.1;AD-1331264.1;AD-1331265.1 和 AD-1331266.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的連續核苷酸。

【0190】於一實施例中，該反義股包含至少 15 個(例如，15、16、17、18、19 或 20 個)與選自 AD-1331203.1;AD-1331206.1;AD-1331209.1;AD-1331212.1;和 AD-1331213.1 所組成的群組中任一雙鏈體之反義股核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的連續核苷酸。

【0191】應理解，儘管如表 3 中之序列未被描述為修飾或接合序列，然本發明之 iRNA 的 RNA(例如，本發明之 dsRNA)可包含表 2 至 3 和表 7 至 8 中列

出之任一未修飾、未接合、或與其中描述具有不同之修飾或接合的序列。換句話說，本發明包含如本文所述之表 2 至 3 和表 7 至 8 的未修飾、未接合、修飾、或接合的 dsRNA。

【0192】如本領域技術人員所理解，具有約 20 至 23 個鹼基對(例如，21 個鹼基對)之雙鏈體結構的 dsRNA 已被譽為在誘導 RNA 干擾方面特別有效 (Elbashir 等人, *EMBO* 2001, 20: 6877-6888)。惟，較短或較長之 RNA 雙鏈體結構亦經由他人發現有效 (Chu 和 Rana (2007) *RNA* 14: 1714-1719; 金等人。(2005) *Nat Biotech* 23: 222-226)。於上述實施例中，由於表 2 至 3 和表 7 至 8 中提供之任一寡核苷酸序列的性質，本文中描述之 dsRNA 可包括至少一條長度最小為 21 個核苷酸的股。可合理預期，與上述 dsRNA 相比之具有表 2 至 3 和 7 至 8 中任一序列減去一端或兩端上少數幾個核苷酸的較短雙鏈體可同等有效。因此，具有至少 19 個、20 個或更多個衍生自表 2 至 3 和 7 至 8 中任一序列之連續核苷酸序列的 dsRNA，且其在抑制 ANGPTL3 基因表現的能力上與包含完整序列之 dsRNA 的差異不超過約 5、10、15、20、25 或 30%，係被認為在本發明之保護範圍內。

【0193】此外，表 2 至 3 和表 7 至 8 中提供之 RNA 可識別 ANGPTL3 轉錄本中易受 RISC 介導之裂解影響的位點。因此，本發明復具有靶向這些位點之一中 iRNA 的特徵。如本文中所用，若 iRNA 促進轉錄本在該特定位點內任何地方之轉錄本的裂解，則稱該 iRNA 靶向 RNA 轉錄本之特定位點。此類 iRNA 通常包括來自表 2 至 3 和 7 至 8 中任一序列中至少約 19 個連續核苷酸的序列，該序列接合至從 ANGPTL3 基因中所選序列相鄰之區域獲取的其他核苷酸序列。

### III. 本發明的修飾 iRNA

【0194】於特定實施例中，本發明之 iRNA 的 RNA(例如，dsRNA)係未修飾的，且不包含本領域已知及本文中描述的化學修飾或接合。於其他實施例中，本發明之 iRNA 的 RNA(例如，dsRNA)係經化學修飾以增強穩定性或其它有益之特性。於本發明之特定實施例中，實質上本發明之 iRNA 的所有核苷酸皆被修飾。於本發明之其他實施例中，iRNA 之所有核苷酸或 iRNA 之實質上所有核苷酸皆被修飾，即不超過 5、4、3、2 或 1 個未修飾的核苷酸存在於該 iRNA 之股中。

【0195】本發明提出之核酸中之任一者，例如，RNAi，可藉由該領域中良好構建之方法合成及/或修飾，該方法為例如彼等於《現代核酸化學技術》(「Current protocols in nucleic acid chemistry」, Beaucage, S.L. et al. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA)中揭示者，該文獻藉由引用而併入本文。修飾包括，舉例而言，末端修飾，例如，5'-端修飾(磷醯化、接合、反向鏈結)或 3-端修飾(接合、DNA 核苷酸、反向鏈結等)；鹼基修飾，例如，置換為穩定化鹼基、去穩定化鹼基、或與同伴之拓展物進行鹼基配對之鹼基，移除鹼基(無鹼基之核苷酸)，或複合鹼基；糖修飾(例如，在 2'-位置或 4'-位置)或糖之置換；及/或骨幹修飾，包括磷酸二酯類鏈結之修飾或置換。可用於本文所述具體實施例中之 iRNA 化合物之具體實例係包括，但不限於，含有經修飾之骨幹或不合天然核苷酸間鏈結之 RNA。具有經修飾之骨幹的 RNA 除此之外亦包括彼等在骨幹中不具有磷原子者。對於本說明書之目的，且如該領域中有時參照者，在其核苷酸間骨幹中不具有磷原子的經修飾之 RNA 亦可視為寡核苷酸。於一些具體實施例中，經修飾之 RNA 將在其核苷酸間骨幹中具有磷原子。

【0196】經修飾之 RNA 骨幹包括，舉例而言，具有正常 3'-5' 鏈結之硫代磷酸酯類、手性硫代磷酸酯類、二硫代磷酸酯類、磷酸三酯類、胺基烷基磷酸三酯類、包括 3'-伸烷基磷酸酯類及手性磷酸酯類之甲基及其他烷基磷酸酯類、膦酸酯類、包括 3'-胺基磷醯胺化物及胺基烷基磷醯胺化物之磷醯胺化物、硫羰基磷醯胺化物類、硫羰基烷基磷酸酯類、硫羰基烷基磷酸三酯類、以及硼磷酸酯類；此等之 2'-5' 鏈結類似物；以及彼等具有反向極性者，其中相鄰至核苷單元對係將 3'-5' 鏈接至 5'-3' 或將 2'-5' 鏈接至 5'-2'。亦可包括多種鹽類、混合鹽類及游離酸形式。於本發明之某些實施例中，本發明之 dsRNA 劑為遊離酸形式。於本發明之其他實施例中，本發明之 dsRNA 劑為鹽形式。於一實施例中，本發明的 dsRNA 劑呈鈉鹽形式。於特定實施例中，當本發明之 dsRNA 劑以鈉鹽形式存在時，鈉離子作為反離子存在於試劑中幾乎所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯基團。實質上所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯鍵具有鈉反離子的試劑包括不超過 5、4、3、2 或 1 個磷酸二酯和/或硫代磷酸酯鍵沒有鈉反離子。於某些實施例中，當本發明之 dsRNA 劑呈鈉鹽形式時，鈉離子作為試劑中存在之所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯基團的反離子存在於試劑中。

【0197】教示上述含磷鏈結之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 3,687,808 號、第 4,469,863 號、第 4,476,301 號、第 5,023,243 號、第 5,177,195 號、第 5,188,897 號、第 5,264,423 號、第 5,276,019 號、第 5,278,302 號、第 5,286,717 號、第 5,321,131 號、第 5,399,676 號、第 5,405,939 號、第 5,453,496 號、第 5,455,233 號、第 5,466,677 號、第 5,476,925 號、第 5,519,126 號、第 5,536,821 號、第 5,541,316 號、第 5,550,111 號、第 5,563,253 號、第 5,571,799 號、第 5,587,361 號、第 5,625,050 號、第 6,028,188 號、第 6,124,445 號、第 6,160,109 號、第 6,169,170

號、第 6,172,209 號、第 6,239,265 號、第 6,277,603 號、第 6,326,199 號、第 6,346,614 號、第 6,444,423 號、第 6,531,590 號、第 6,534,639 號、第 6,608,035 號、第 6,683,167 號、第 6,858,715 號、第 6,867,294 號、第 6,878,805 號、第 7,015,315 號、第 7,041,816 號、第 7,273,933 號、第 7,321,029 號、及美國再公告專利第 39464 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

**【0198】** 其內部不包括磷原子之經修飾之 RNA 骨幹具有藉由短鏈烷基或環烷基類核苷酸間鏈結、混合雜原子及烷基或環烷基核苷酸間鏈結、或一個或多個短鏈雜原子或雜環核苷酸間鏈結形成的骨幹。此等包括彼等具有 N-嗎啉基鏈結(部分地由核苷至糖部分形成)；矽氧烷骨幹；硫醚、亞砒及砒骨幹；甲醯基及硫代甲醯基骨幹；亞甲基甲醯基及硫代甲醯基骨幹；含有伸烷基之骨幹；胺基磺酸酯骨幹；亞甲基亞胺基及亞甲基胼基骨幹；磺酸酯及磺醯胺骨幹；醯胺骨幹；以及其他具有混合之 N、O、S 及 CH<sub>2</sub> 組分部分者。

**【0199】** 教示上述寡核苷酸之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,034,506 號、第 5,166,315 號、第 5,185,444 號、第 5,214,134 號、第 5,216,141 號、第 5,235,033 號、第 5,64,562 號、第 5,264,564 號、第 5,405,938 號、第 5,434,257 號、第 5,466,677 號、第 5,470,967 號、第 5,489,677 號、第 5,541,307 號、第 5,561,225 號、第 5,596,086 號、第 5,602,240 號、第 5,608,046 號、第 5,610,289 號、第 5,618,704 號、第 5,623,070 號、第 5,663,312 號、第 5,633,360 號、第 5,677,437 號、及第 5,677,439 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

**【0200】** 於其他具體實施例中，適宜之 RNA 模擬物係考慮用於 iRNA 中，其中該核苷酸單元之糖以及核苷酸間鏈結(即骨幹)經置換為新穎基團。鹼基單元係保留與適宜之核酸標靶化合物雜交。一種此類寡聚化合物，業經顯示具有優異



雜交特性之 RNA 模擬物，指代為肽核酸(PNA)。於 PNA 化合物中，RNA 之糖骨幹替換為含有醯胺之骨幹，尤其是胺基乙基甘油骨幹。核酸鹼基得以保留，且直接或間接地鍵結至骨幹之醯胺部分的氮雜氮原子。教示 PNA 化合物之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,539,082 號、第 5,714,331 號、及第 5,719,262 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。適用於本發明之 iRNA 中之額外之 PNA 化合物揭示於，舉例而言，Nielsen et al., *Science*, 1991, 254, 1497-1500 中。

【0201】本發明提出之一些具體實施例包括具有硫代磷酸酯骨幹之 RNA 以及具有雜原子管之寡核苷酸，尤其是上文引用之美國專利第 5,489,677 號的 --CH<sub>2</sub>--NH--CH<sub>2</sub>-、--CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--O--CH<sub>2</sub>--[稱為亞甲基(甲基亞胺基)或 MMI 骨幹]、--CH<sub>2</sub>--O--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--、--CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--及--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--CH<sub>2</sub>--，以及上文引用之美國專利第 5,602,240 號的醯胺骨幹。於一些具體實施例中，本文提出之 RNA 具有上文引用之美國專利第 5,034,506 號的 N-嗎啉基骨幹結構。天然磷酸二酯骨幹表示為 O-P(O)(OH)-OCH<sub>2</sub>-。

【0202】經修飾之 RNA 亦可含有一個或多個經取代之糖部分。本文提出之 iRNA 如 dsRNA 可包括位於 2' 位置之下述之一者：OH；F；O-、S-或 N-烷基；O-、S-或 N-烯基；O-、S-或 N-炔基；或 O-烷基-O-烷基，其中該烷基、烯基及炔基可係經取代或未經取代之 C<sub>1</sub> 至 C<sub>10</sub> 烷基或 C<sub>2</sub> 至 C<sub>10</sub> 烯基及炔基。例示性之適宜修飾包括 O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OCH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>、O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ONH<sub>2</sub>、及 O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>，其中 n 及 m 係從 1 至約 10。於其他具體實施例中，dsRNA 包括位於 2' 位置之下述之一者：C<sub>1</sub> 至 C<sub>10</sub> 低級烷基、經取代之低級烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或 O-芳烷基、SH、SCH<sub>3</sub>、OCN、

Cl、Br、CN、CF<sub>3</sub>、OCF<sub>3</sub>、SOCH<sub>3</sub>、SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>、ONO<sub>2</sub>、NO<sub>2</sub>、N<sub>3</sub>、NH<sub>2</sub>、雜環烷基、雜環烷基芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經取代之矽烷基、RNA 裂解基團、保護基團、嵌入劑、用於改善 iRNA 之藥物動力學特性之基團、或用於改善 iRNA 之藥效動力學特性之基團、以及其他具有類似特性之取代基。於一些具體實施例中，該修飾包括 2'-甲氧基乙氧基(2'-O--CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>，亦稱為 2'-O-(2-甲氧基乙基)或 2'-MOE) (Martin et al., *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78 : 486-504)，亦即，烷氧基-烷氧基基團。另一例示性修飾為 2'-二甲基胺基氧乙氧基，亦即，O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 基團，亦稱為 2'-DMAOE，如下文實施例中所述；以及 2'-二甲基胺基乙氧基乙氧基(該領域中亦稱為 2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基或 2'-DMAEOE)，亦即，2'-O--CH<sub>2</sub>--O--CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>。

【0203】其他修飾包括 2'-甲氧基(2'-OCH<sub>3</sub>)、2'-胺基丙氧基(2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>)及 2'-氟(2'-F)。類似之修飾亦可在 iRNA 之 RNA 之其他位置作成，尤其是 3'端核苷酸之糖的 3'位置或 2'-5'鏈結之 dsRNA 中以及 5'端核苷酸之 5'位置。iRNA 亦可具有替代呋喃戊糖基糖的糖模擬物如環丁基部分。教示此類經修飾之糖結構之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 4,981,957 號、第 5,118,800 號、第 5,319,080 號、第 5,359,044 號、第 5,393,878 號、第 5,446,137 號、第 5,466,786 號、第 5,514,785 號、第 5,519,134 號、第 5,567,811 號、第 5,576,427 號、第 5,591,722 號、第 5,597,909 號、第 5,610,300 號、第 5,627,053 號、第 5,639,873 號、第 5,646,265 號、第 5,658,873 號、第 5,670,633 號、及第 5,700,920 號，此等中之某些為本案所共有。前述者各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0204】 iRNA 亦可包括核酸鹼基(該領域中一般簡稱為「鹼基」)修飾或取代。如本文中所用，「未經修飾」或「天然」核酸鹼基包括嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。經修飾之核酸鹼基包括其他合成及天然核酸鹼基，諸如去氧-胸腺嘧啶(dT)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)；5-羥甲基胞嘧啶；黃嘌呤；次黃嘌呤；2-胺基腺嘌呤；腺嘌呤及鳥嘌呤之6-甲基及其他烷基衍生物；腺嘌呤及鳥嘌呤之2-丙基及其他烷基衍生物；2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶、2-硫胞嘧啶；5-鹵尿嘧啶、5-鹵胞嘧啶；5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶；6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶；5-尿嘧啶(假尿嘧啶)；4-硫尿嘧啶；8-鹵、8-胺基、8-巯基、8-硫烷基、8-羥基及其他8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤；5-鹵尤其是5-溴、5-三氟甲基及其他5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及7-甲基腺嘌呤；8-氮雜鳥嘌呤及8-氮雜腺嘌呤；7-去氮鳥嘌呤及7-去氮腺嘌呤；以及3-去氮鳥嘌呤及3-去氮腺嘌呤。其他核酸鹼基包括彼等揭露於美國專利第3,687,808號中者；彼等揭露於《生物化學、生物技術及醫藥中之經修飾之核苷酸》(Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008)中者；彼等揭露於《聚合物科學及工程之簡明百科》(The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990)中者；此等由 Englisch et al., *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613 揭露者；以及彼等由《dsRNA 研究及應用》第15章第289至302頁(Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993)揭露者。此等核酸鹼基中之某些尤其可用於增加本發明提出之寡聚化合物的結合親和性。此等包括5-取代之嘧啶、6-氮雜嘧啶及N-2、N-6及O-6

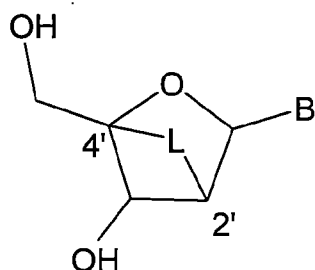
取代之嘍呤，包括 2-氨基丙基腺嘍呤、5-丙基尿嘍啶及 5-丙基胞嘍啶。5-甲基胞嘍啶取代業經顯示將核酸雙螺旋穩定性增加 0.6 至 1.2°C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278) 且係示例性之鹼基取代，尤其是當與 2'-O-甲氧基乙基糖修飾合用時尤甚。

**【0205】** 教示某些上述經修飾之核酸鹼基以及其他經修飾之核酸鹼基的代表性美國專利包括但不限於，上述之美國專利第 3,687,808 號、第 4,845,205 號、第 5,130,30 號、第 5,134,066 號、第 5,175,273 號、第 5,367,066 號、第 5,432,272 號、第 5,457,187 號、第 5,459,255 號、第 5,484,908 號、第 5,502,177 號、第 5,525,711 號、第 5,552,540 號、第 5,587,469 號、第 5,594,121 號、第 5,596,091 號、第 5,614,617 號、第 5,681,941 號、第 5,750,692 號、第 6,015,886 號、第 6,147,200 號、第 6,166,197 號、第 6,222,025 號、第 6,235,887 號、第 6,380,368 號、第 6,528,640 號、第 6,639,062 號、第 6,617,438 號、第 7,045,610 號、第 7,427,672 號、及第 7,495,088 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

**【0206】** 於某些實施例中，本揭露之 RNAi 試劑亦可被修飾為包括一或多個雙環糖部分。「雙環糖」是由兩個碳（無論相鄰或非相鄰）橋接形成之環修飾的呋喃糖基環。「雙環核苷」（BNA）是一種具有糖部分的核苷，其糖部分包括藉由橋接糖環的兩個碳（無論相鄰或非相鄰）而形成的環，從而形成雙環系統。於特定實施例中，該橋視需要地藉由 2'-無環氧原子連接糖環的 4'-碳和 2'-碳。因此，於某些實施例中，本發明之劑可包括一或多種鎖核酸（LNA）。鎖核酸為具有修飾核糖部分的核苷酸，其中該核糖部分包括額外之 2'和 4'碳橋接。換言之，LNA 為一種由包含 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'橋的雙環糖部分組成之核苷酸。該結構有效

地將核糖「鎖定」在 3'-內結構構型中。在 siRNA 中添加鎖核酸已被證明可提高血清中的 siRNA 穩定性，並減少脫靶效應 (Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193) .用於本發明之多核苷酸的雙環核苷酸的實例包括但不限於包含 4'和 2'核糖基環原子之間橋接的核苷。於特定實施例中，本發明之反義多核苷酸劑包括一或多個包含 4'至 2'橋接的雙環核苷酸。

【0207】鎖核苷可以結構表示（省略立體化學），



其中 B 為核鹼基或修飾之核鹼基，L 為將 2'-碳連接到核糖環之 4'-碳的連接基團。此類 4'至 2'橋接雙環核苷的例子包括但不限於 4'-(CH<sub>2</sub>)—O-2'(LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)—S-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>—O-2'(ENA); 4'-CH(CH<sub>3</sub>)—O-2'（也稱為「拘束乙基」或「cEt」）和 4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)—O-2'（及其類似物；例如參見美國專利案 7,399,845）；4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)—O-2'（及其類似物；例如參見美國專利案 8,278,283）；4'-CH<sub>2</sub>—N(OCH<sub>3</sub>)-2'（及其類似物；例如參見美國專利案 8,278,425）；4'-CH<sub>2</sub>—O—N(CH<sub>3</sub>)-2'（例如參見美國專利公開號：2004/0171570）；4'-CH<sub>2</sub>—N(R)—O-2'，其中 R 為 H、C<sub>1</sub>-C<sub>12</sub> 烷基或氮保護基（例如參見，美國專利案 7,427,672）；4'-CH<sub>2</sub>—C(H)(CH<sub>3</sub>)-2'（例如參見，Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134）；和 4'-CH<sub>2</sub>—C(=CH<sub>2</sub>)-2'（及

其類似物；例如參見，美國專利案 8,278,426）。上述各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0208】 教示鎖核酸核苷酸之製備的附加代表性美國專利及美國專利公開號包括但不限於下列者：美國專利第 6,268,490 號、第 6,525,191 號、第 6,670,461 號、第 6,770,748 號、第 6,794,499 號、第 6,998,484 號、第 7,053,207 號、第 7,034,133 號、第 7,084,125 號、第 7,399,845 號、第 7,427,672 號、第 7,569,686 號、第 7,741,457 號、第 8,022,193 號、第 8,030,467 號、第 8,278,425 號、第 8,278,426 號、第 8,278,283 號、美國專利公開號 US2008/0039618；和 US2009/0012281，其各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0209】 任何上述之雙環核苷皆可製備以具有一或多種立體化學糖構型，包括例如  $\alpha$ -L-核呋喃糖和  $\beta$ -D-核糖呋喃糖（參見專利案 WO99/14226）。

【0210】 該 iRNA 之 RNA 亦可被修飾以包括一或多個拘束之乙基核苷酸。如本文中所示，「拘束之乙基核苷酸」或「cEt」為包含包含 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' 橋接（即前述結構中的 L）之雙環糖部分的鎖核酸。於一實施例中，約束之乙基核苷酸在本文中稱為「S-cEt」的 S 構型。

【0211】 本發明的 iRNA 可亦包括一或多個「構型限制之核苷酸」（「CRN」）。CRN 為核苷酸類似物，其連接子連接核糖之 C2' 和 C4' 碳或核糖的 C3 和 C5' 碳。CRN 將核糖環鎖定為穩定的構型，並增加與 mRNA 的雜交親和力。該連接子之長度足以將氧氣置於最佳位置，以實現穩定性和親和力，從而減少核糖環縮攏(puckering)。

【0212】 教示上述某些 CRN 之製備的代表性專利包括但不限於美國專利公開號：2013/0190383、及 PCT 公開號 WO 2013/036868，其各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0213】 於某些實施例中，本發明之 iRNA 包括一或多種 UNA（未鎖核酸）核苷酸單體。UNA 為未鎖之無環核酸，其中糖之任何鍵結皆被移除，形成未鎖的「糖」殘基。於一實例中，UNA 亦包括在 C1'至 C4'之間鍵結（即 C1'和 C4'碳之間的共價碳-氧-碳鍵）已被去除的單體。於另一實例中，糖之 C2'-C3'鍵（即 C2'和 C3'碳之間的共價碳-碳鍵）已被去除（參見 引用併入本文之 *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008) and *Fluiter et al., Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039）。

【0214】 教示 UNA 之製備的代表性美國專利公開號包括但不限於美國專利第 8,314,227 號、和美國專利公開號 2013/0096289、2013/0011922；和 2011/0313020，其各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0215】 對 RNA 分子末端之潛在穩定修飾可包括 N-（乙醯胺基己醯基）-4-羥脯醇（Hyp-C6-NHAc）、N-（己醯基-4-醯基-4-醯基）-4-羥脯醇（Hyp-C6-NHAc）、N-（己醯基-4-醯基-4-醯基）-4-羥脯醇（Hyp-C6-NHAc）、N-（己醯基-4-醯基-4-醯基）-4-羥脯醇（Hyp 脯胺酸醇（Hyp-C6）、N-（乙醯基-4-羥基脯胺酸醇（Hyp-NHAc）、胸苷-2'-O-去氧胸苷（醯），N-（胺基己醯基）-4-羥基脯胺酸（Hyp-C6-胺基）、2-二十二烷醯基尿苷-3'-磷酸，倒置 2'-去氧修飾的核糖核苷酸(如倒置的 dT (idT)、倒置的 dA (idA)、和倒置的 2'-去氧核糖核苷酸 (iAb) 等。此類修飾之揭露可參見專利案 WO2011/005861 中。

【0216】於一實例中，寡核苷酸之 3' 或 5' 端與倒置的 2'-去氧修飾的核糖核苷酸相連，例如倒置的 dT (idT)、倒置的 dA (idA) 或倒置的 2'-去氧核糖核苷酸 (iAb)。於一具體實例中，倒置的 2'-去氧修飾的核糖核苷酸與寡核苷酸的 3' 端連接，例如本文所述之正義股的 3'-端，該連接係藉由 3'-3' 磷酸二酯鍵或 3'-3'-硫代磷酸酯鍵。

【0217】在另一實例中，正義股之 3' 端藉由 3'-3'-硫代磷酸酯鍵連接到倒置的無鹼基核糖核苷酸 (iAb)。於另一實例中，正義股之 3' 端藉由 3' 至 3'-硫代磷酸酯鍵連接到倒置的 dA (idA)。

【0218】於一具體實例中，倒置之 2'-去氧修飾的核糖核苷酸與寡核苷酸的 3' 端連接，例如本文所述之正義股的 3'-端，該連接係藉由 3' 至 3' 磷酸二酯鍵或 3'-3'-硫代磷酸酯鍵。

【0219】在另一實例中，正義股之 3'-端核苷酸為倒置的 dA (idA)，且藉由 3' 至 3'-鍵 (例如，3' 至 3'-硫代磷酸鍵) 與前一個核苷酸連接。

【0220】本發明之 iRNA 核苷酸的其它修飾包括 5' 磷酸鹽或 5' 磷酸鹽類似物，例如，iRNA 之反義股的 5'-端磷酸鹽或磷酸鹽類似物。適宜之磷酸鹽類似物係揭露於例如美國專利公開號 2012/0157511 中，其整體內容藉由引用併入本文。

#### A. 包含本發明模體之修飾 iRNA

【0221】於本發明之特定態樣中，本發明之雙股 RNA 劑包括如所揭露之具有化學修飾的試劑，例如，在 WO2013/075035 中，其整體內容藉由引用併入本文。如本文和 WO2013/075035 所示，在三個連續核苷酸上具有三個相同修飾之一個或多個模體可引入 dsRNAi 劑之正義股或反義股中，特別是在裂解位點或附近。於某些實施例中，dsRNAi 劑之正義股和反義股可以別樣方式被完全修飾。



引入這些模體干擾了正義或反義股之修飾模式（若存在）。該 dsRNAi 劑可視需要與 GalNAc 衍生配體接合，例如於正義股上。

【0222】更具體地說，當雙股 RNA 劑之正義股和反義股被完全修飾為在 dsRNAi 試劑之至少一股的裂解位點或附近在三個連續核苷酸具有三個相同修飾的一或多個模體時，係觀察到該 dsRNAi 試劑的基因沉默活性。

【0223】因此，本發明提供了能夠在體內抑制靶基因（即 ANGPTL3 基因）表現的雙股 RNA 劑。該 RNAi 試劑包括一條正義股和一條反義股。該 RNAi 劑之每一股的長度可例如為 17 至 30 個核苷酸、25 至 30 個核苷酸、27 至 30 個核苷酸、19 至 25 個核苷酸、19 至 23 個核苷酸、19 至 21 個核苷酸、21 至 25 個核苷酸，或 21 至 23 個核苷酸。

【0224】該正義股和反義股通常形成雙鏈體之雙股 RNA（「dsRNA」），在本文中亦稱為「dsRNAi 劑」。該 dsRNAi 劑之雙鏈體區域可為，例如，該雙鏈體區域之長度可為 27 至 30 個核苷酸對、19 至 25 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19-23 個核苷酸對、19-23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 25 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 21 個核苷酸對、21 至 25 個核苷酸對或 21-23 個核苷酸對。於另一實例中，該雙鏈體區域之長度係從 19、20、21、22、23、24、25、26 和 27 個核苷酸中選擇。

【0225】於特定實施例中，該 dsRNAi 試劑可在一股或雙股之 3' -端、5' -端或兩端包含一或多個突出區域或封帽基團。該突出之長度可獨立地為 1 至 6 個核苷酸（例如 2 至 6 個核苷酸）、1 至 5 個核苷酸、2 至 5 個核苷酸、1 至 4 個核苷酸、2 至 4 個核苷酸、1 至 3 個核苷酸、2 至 3 個核苷酸或 1 至 2 個核苷酸。於特定實施例中，該突出區域可包括如上述提供之擴展突出區域。該突出可為一股較

之另一股長的結果，也可為相同長度之兩股交錯的結果。該突出可與標靶 mRNA 形成誤配，或可與被靶向之基因序列互補，或可為另一個序列。該第一股與第二股亦可連接於彼此，例如，藉由額外之鹼基以形成髮夾(hairpin)，或藉由其他非鹼基連接子。

【0226】於特定實施例中，該 dsRNAi 劑之突出區域中的核苷酸獨立地可經修飾或未修飾，包括但不限於 2'-糖修飾，例如，2'-F、2'-O-甲基、胸苷(T)、2'-O-甲氧基乙基-5-甲基尿苷(Teo)、2'-O-甲氧基乙基腺苷(Aeo)、2'-O-甲氧基乙基-5-甲基胞嘧啶(m5Ceo)、及其任意之組合。

【0227】例如，TT 可為任一鏈上任一端之突出序列。該突出可與標靶 mRNA 形成誤配，或它可與被靶向的基因序列互補，或可為另一個序列。

【0228】該 dsRNAi 劑之正義股、反義股或兩股之 5'-或 3'-突出可被磷酸化。於某些實施例中，該突出區域包含兩個核苷酸，在該兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯，其中該兩個核苷酸可相同或不同。於某些實施例中，該突出存在於正義股、反義股或兩股之 3'-端。於某些實施例中，此類 3'-突出存在於反義股中。於某些實施例中，此類 3'-突出存在於正義股中。

【0229】該 dsRNAi 劑可只含有單個突出，以增強該 RNAi 的干擾活性而不會影響其整體穩定性。例如，該單股突出可位於正義股之 3'-端，或位於反義股之 3'-端。該 RNAi 也可能具有鈍端，位於反義股之 5'-端(即正義股的 3'-端)，反之亦然。通常，該 dsRNAi 劑之反義股在 3'-端具有核苷酸突出，且在 5'-端具有鈍端。不欲受縛於理論，反義股 5'-端之不對稱鈍端和反義股之 3'-端突出有利於該引導股載入到 RISC 過程中。

【0230】於特定實施例中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 19 個核苷酸，其中該正義股在自 5'端 7、8、9 之位置的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少一個模體。該反義股在自 5'末端 11、12 及 13 之位置的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0231】於其他實施例中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 20 個核苷酸，其中該正義股在自 5'端 8、9 及 10 之位置的三個連續核苷酸含有三個 2'-F 修飾的至少一個模體。該反義股在自 5'末端 11、12 及 13 之位置的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0232】於又一其它實施例中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 21 個核苷酸，其中該正義股在自 5'端 9、10 及 11 之位置的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少一個模體。該反義股在自 5'端 11、12 及 13 之位置的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0233】於特定實施例中，該 dsRNAi 劑包括 21 核苷酸之正義股和 23 核苷酸之反義股，其中該正義股在自 5'端 9、10 及 11 之位置的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少一個模體；該反義股在自 5'端 11、12 及 13 之位置的三個連續核苷酸含有 2'-O-甲基修飾的至少一個模體，其中該 RNAi 劑之一端為鈍端，而另一端包括 2 個核苷酸突出。於一實施例中，該 2 個核苷酸突出位於該反義股之 3'-端。

【0234】當該 2 個核苷酸突出位於反義股之 3'-端時，該三個末端核苷酸之間可能存在兩個硫代磷酸酯間核苷酸鍵結，其中該三個核苷酸中兩者為突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁之配對核苷酸。於一實施例中，該 RNAi 劑在正義股之 5'-端和反義股之 5'-端的三個末端核苷酸之間另外具有兩個硫代磷酸酯間

核苷酸鍵結。於特定實施例中，該 dsRNAi 試劑之正義股及反義股之每核苷酸股，包括作為模體一部分之核苷酸，皆為經修飾之核苷酸。於特定實施例中，每個殘基獨立地經修飾以 2'-O-甲基或 3'-氟，例如，在替換的模體中。視需要地，該 dsRNAi 試劑復包括配體（諸如 GalNAc3）。

**【0235】** 於特定實施例中，該 dsRNAi 試劑包括正義股和反義股，其中該正義股之長度為 25 至 30 個核苷酸殘基，其中從 5'端核苷酸（位置 1）開始，第一股之 1 至 23 個位置包含至少 8 個核糖核苷酸；該反義股之長度為 36 至 66 個核苷酸殘基，從 3'端核苷酸開始，在與正義股 1 至 23 之位置配對的位置包含至少 8 個核糖核苷酸以形成雙旋體；其中，該反義股之至少 3'端核苷酸與正義股不成對，且至多 6 個連續的 3'端核苷酸與正義股不成對，從而形成 1 至 6 個核苷酸的 3'單股突出；其中，該反義股之 5'端包括 10 至 30 個與正義股不成對之連續核苷酸，從而形成 10 至 30 個核苷酸單股 5'突出；其中，當正義股和反義股對齊以實現最大互補性時，至少該正義股之 5'端和 3'端核苷酸與反義股之核苷酸鹼基配對，從而在正義股和反義股之間形成實質上為雙旋體之區域；且反義股與靶 RNA 沿反義股之至少 19 個核糖核苷酸的長度實質上互補，以降低該雙鏈體核酸被引入哺乳動物細胞時的靶基因表現；其中，該正義股在三個連續的核苷酸含有三個 2'-F 修飾的至少一個模體，其中至少一個模體出現在裂解位點或附近。該反義股在裂解位點或附近的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

**【0236】** 於某些實施例中，該 dsRNAi 試劑包括正義股和反義股，其中該 dsRNAi 試劑包括具有至少 25 和最多 29 個核苷酸長度之第一股和具有最多 30 個核苷酸長度之第二股，該第二股具有自 5'端位置 11、12、13 的三個連續核苷

酸具有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體；其中，該第一股之 3'端和第二股的 5'端形成鈍端，且該第二股在其 3'端比第一股長 1 至 4 個核苷酸，其中該雙旋體區域之長度至少為 25 個核苷酸，且該第二股與標靶 RNA 沿該第二股長度之至少 19 個核苷酸實質上互補，以於該 RNAi 試劑引入哺乳動物細胞時降低靶基因表現，且其中該 dsRNAi 試劑之切丁酶進行裂解，形成包含該第二股 3'端之 siRNA，從而降低哺乳動物中靶基因的表現。視需要地，該 dsRNAi 試劑復包括配體。

【0237】於某些實施例中，該 dsRNAi 試劑之正義股在三個連續的核苷酸含有三個相同修飾的至少一個模體，其中一個模體出現在正義股的裂解位點。

【0238】於某些實施例中，該 dsRNAi 試劑之反義股還可在三個連續的核苷酸含有相同修飾的至少一個模體，其中一個模體出現在反義股中的裂解位點或附近。

【0239】對於具有 19 至 23 個核苷酸長度之雙鏈體區域的 dsRNAi 試劑，該反義股之裂解位點通常位於從反義股 5'-端開始的第一個核苷酸計數或從反義股 5'-端之雙鏈體區域內的第一個成對核苷酸開始計數之距離 5'端的第 10、11 和 12 個位置周圍。因此，三個相同修飾之模體可能發生在位置 9、10、11；位置 10、11、12；位置 11、12、13；位置 12、13、14；或反義股之位置 13、14、15。該反義股中的裂解位點也可能根據從 5'-端之該 dsRNAi 劑的雙鏈體長度發生改變。

【0240】該 dsRNAi 劑之正義股可在該股之裂解位點上的三個連續核苷酸含有相同修飾的至少一個模體；且該反義股可在該股之裂解位點或附近在三個連續的核苷酸具有相同修飾的至少一個模體。當該正義股和該反義股形成 dsRNA 雙旋體時，該正義股和反義股可就此對齊，以至於該正義股上三個核苷

酸的一個模體和該反義股上三個核苷酸的一個模體具有至少一個核苷酸重疊，即，該正義股中模體之三個核苷酸中的至少一個與該反義股中模體的三個核苷酸中的至少一個形成一個鹼基對。或者，至少兩個核苷酸重疊，或所有三個核苷酸重疊。

**【0241】** 於某些實施例中，該 dsRNAi 試劑之正義股可包含三個連續核苷酸三個相同修飾的多個模體。第一個模體可出現在該股之裂解位點或附近，且其他模體可能為側翼修飾。術語「側翼修飾」在本文中是指發生在該股之另一部分的模體，該模體在同一股之裂解位點或附近與模體分離。側翼修飾要麼與第一個模體相鄰，要麼被至少一或多個核苷酸分開。當模體彼此緊鄰時，模體的化學成分彼此不同，且當模體被一或多個核苷酸分開時，其化學成分可相同或不同。可能存在兩個或多個側翼修飾。例如，當存在兩個側翼修飾時，每個側翼修飾皆可能出現在相對於第一個模體的一端，該模體位於或靠近裂解位點或領導模體的任一側。

**【0242】** 與正義股一樣，該 dsRNAi 劑之反義股可能在三個連續的核苷酸包含三個相同修飾的多個模體，其中至少一個模體出現在該股之裂解位點或附近。此反義股亦可包含一或多個側翼修飾，其對齊方式類似於正義股可能存在之側翼修飾。

**【0243】** 於某些實施例中，該 dsRNAi 劑之正義股或反義股上的側翼修飾通常不包括在鏈的 3'-端、5'-端或兩端之第一或兩個末端核苷酸。

**【0244】** 於其他實施例中，該 dsRNAi 劑之正義股或反義股上的側翼修飾通常不包括在鏈的 3'-端、5'-端或兩端之雙鏈體區域內的第一個或兩個配對核苷酸。

【0245】當該 dsRNAi 劑之正義股和反義股各自包含至少一個側翼修飾時，該側翼修飾可能落在該雙鏈體區域之同一端，且具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊。

【0246】當該 dsRNAi 試劑之正義股和反義股各自包含至少兩個側翼修飾時，該正義股和該反義股可就此對齊，使來自一股之兩個修飾分別落在該雙鏈體區域之一端，並具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊；來自一股之兩個修飾分別落在該雙鏈體之另一端，並具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊；一股之兩個修飾落在領導模體之每一側，在該雙鏈體區域中具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊。

【0247】於某些實施例中，該 dsRNAi 劑之正義股與反義股的每一個核苷酸，包括作為模體一部分之核苷酸皆可經修飾。每個核苷酸具有相同或不同之修飾，可包括對一或兩個非連接磷酸氧或一或多個連接磷酸氧的一種或多種改換；核糖成分之改換，例如，核糖之 2'-羥基；用「去磷酸」連接子大規模改換磷酸部分；修飾或取代天然存在之鹼基；以及核糖-磷酸主鏈之取代或修飾。

【0248】由於核酸為次單元之聚合物，因此許多修飾出現於核酸中重複的位置，例如，鹼基之修飾，或磷酸鹽部分之修飾，或磷酸鹽部分之非連接氧。在某些情況下，修飾將出現在核酸中的所有主要位置，但在許多情況下不會發生。作為示例，修飾可能僅出現於 3' 或 5' 的末端位置、可能僅出現在末端區域，例如，在末端核苷酸之一個位置或一股之最後 2、3、4、5 或 10 個核苷酸中。修飾可能出現於雙股區域、單鏈區域或兩者中。修飾可能僅出現於 RNA 之雙股區域，也可能僅出現在 RNA 之單股區域。例如，在非連接氧位置之硫代磷酸酯修飾可能僅出現在一或兩個末端，可能僅出現在末端區域，例如，在末端核苷酸上之一

個位置或一股之最後 2、3、4、5 或 10 個核苷酸中，或可能出現在雙股和單股區域，尤其是在終端。5'-端或多個端可以磷酸化。

【0249】為了例如增強穩定性，可以在突出中包括特定的鹼基，或在單股突出(例如，在 5'-或 3'-突出中，或兩者兼而有之)中包括修飾之核苷酸或核苷酸替代物。例如，可在突出物中包括嘌呤核苷酸。於某些實施例中，3'-或 5'-突出中的全部或部分鹼基可經修飾，例如，以本文所述之修飾。修飾可包括，例如，在核糖之 2' 位置使用本領域已知的修飾(例如，使用去氧核糖核苷酸、2'-去氧-2'-氟 (2'-F) 或 2'-O-甲基修飾代替核鹼基的核糖)，以及磷酸基團的修飾，例如，硫代磷酸酯修飾。突出不必與標靶序列同源。

【0250】於某些實施例中，該正義股與反義股之每個殘基均獨立地以 LNA、CRN、cET、UNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-去氧、2'-羥基或 2'-氟獨立修飾。該股可包含多個修改。於一實施例中，該正義股和反義股之每個殘基均獨立地以 2'-O-甲基或 2'-氟修飾。

【0251】該正義股和該反義股上通常至少存在兩種不同的修飾。此兩種修飾可為 2'-O-甲基或 2'-氟修飾，或者其他修飾。

【0252】於某些實施例中， $N_a$  或  $N_b$  包括改換模式之修飾。本文中使用的術語「交替模體」是指具有一或多種修飾之模體，每種修飾出現於一股之鳩替核苷酸。改換核苷酸可指每隔一個核苷酸一個或每三個核苷酸一個，或類似的模式。例如，如果 A、B 和 C 各自代表一種類型的核苷酸修飾，則交替模體可為「ABABABABABAB...」、「AABBAABBAABB...」、「AABAABAABAAB...」、「AAABAABAAB...」、「AAABBBAAAB...」或「ABCABCABCABC...」等。



【0253】 交替模體中包含之修飾類型可相同或不同。例如，如果 A、B、C、D 各自代表核苷酸之一種修飾類型，則交替模式(即對每隔幾個核苷酸的修飾)，可為相同的，但每個正義股或反義股皆可從改換模體內的幾種修飾可能中選擇，例如「ABABAB...」、「ACACAC...」、「BDBDBD...」或「CDCDCD...」等。

【0254】 於某些實施例中，本發明之 dsRNAi 劑包括於該正義股交替模體之修飾圖案相對於該反義股交替模體之修飾圖案具有偏移。此類偏移可能是這樣的，即該正義股之核苷酸修飾基團對應於該反義股之核苷酸的不同修飾基團，反之亦然。例如，當與該 dsRNA 雙鏈體中的反義股配對時，該正義股中的交替模體可能自該股之 5'到 3'以「ABABAB」開頭，該反義股中的交替模體可能自該雙鏈體區域中該股之 5'到 3'以「BABABA」開頭。作為另一實例，該正義股中之交替模體可自該股之 5'到 3'以「AABBAABB」開頭，而該反義股中的交替模體可自該雙鏈體區域中該股之 5'到 3'以「BBAABBAA」開頭，因此在該正義股和該反義股之間存在完全或部分偏移的修飾模式。

【0255】 於一具體實例中，該正義股的交替模體是自該股之 5'至 3'的「ABABAB」，其中每個 A 為未修飾之核糖核苷酸，每個 B 為 2'-羥甲基修飾之核苷酸。

【0256】 於一具體實例中，該正義股的交替模體是自該股之 5'至 3'的「ABABAB」，其中每個 A 為 2'-去氧-2'-氟修飾之核苷酸，每個 B 為 2'-羥甲基修飾之核苷酸。

【0257】 在另一個具體實例中，該反義股的交替模體是自該股之 3' 至 5' 的「BABABA」，其中每個 A 為 2'-去氧-2'-氟修飾之核苷酸，每個 B 為 2'-羥甲基修飾之核苷酸。

【0258】 於一具體實例中，該正義股的交替模體是自該股之 5' 至 3' 的「ABABAB」，該反義股的交替模體是自該股之 3' 至 5' 的「BABABA」，其中每個 A 為未修飾的核糖核苷酸，每個 B 為 2'-O 甲基修飾的核苷酸。

【0259】 於一具體實例中，該正義股的交替模體是自該股之 5' 至 3' 的「ABABAB」，而反義股的交替模體是自該股之 3' 至 5' 的「BABABA」，其中每個 A 為 2'-去氧-2'-氟修飾之核苷酸，每個 B 為 2'-O 甲基修飾之核苷酸。

【0260】 於某些實施例中，該 dsRNAi 劑包括該起始於該正義股具有 2'-O-甲基修飾和 2'-F 修飾之交替模體的模式相對於起始於該反義股具有 2'-O-甲基修飾和 2'-F 修飾之交替模體的模式具有偏移，即該正義股 2'-O-甲基修飾之核苷酸與該反義股 2'-F 修飾之核苷酸鹼基配對，反之亦然。該正義股之位置 1 可自 2'-F 修飾開始，該反義股之位置 1 可自 2'-O-甲基修飾開始。

【0261】 在該正義股或該反義股的三個連續的核苷酸引入一或多個相同修飾之模體干擾該正義股或該反義股中存在的初始修飾模式。藉由將三個連續核苷酸之三個相同修飾的一或多個模體引入該正義股或該反義股的修飾模式，此類干擾可以增強對靶基因的基因沉默活性。

【0262】 於某些實施例中，當將三個連續核苷酸之三個相同修飾的模體引入任何一股時，該模體旁之核苷酸修飾與該模體之修飾不同。例如，包含模體之序列部分為「...NaYYYNb...」，其中「Y」表示在三個連續核苷酸上三個相同修飾之模體的修飾，「N<sub>a</sub>」和「N<sub>b</sub>」表示位於模體「YYY」旁之核苷酸的修飾，其

中該修飾與 Y 的修飾不同，且  $N_a$  和  $N_b$  可為相同或不同的修飾。或者，當存在側翼修飾時， $N_a$  或  $N_b$  可存在或不存在。

**【0263】** 該 iRNA 可復包含至少一種硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽間核苷酸連接。該硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽間核苷酸鍵修飾可能出現於正義股、反義股或兩股之任何位置的任何核苷酸。例如，該核苷酸間鍵修飾可能出現於正義股或反義股的每個核苷酸；每個核苷酸間鍵修飾可以交替模式出現於正義股或反義股；或者正義股或反義股可以交替模式包含兩種核苷酸間鍵修飾。該正義股核苷酸間鍵修飾之交替模式可能與該反義股相同或不同，且該正義股核苷酸間鍵修飾之交替模式可能相對於該反義股上核苷酸間鍵修飾之交替模式具有偏移。於一實施例中，該雙股 RNAi 劑包含 6 至 8 個硫代磷酸酯間核苷酸連接。於某些實施例中，該反義股包括兩個位於 5'-端的硫代磷酸酯間核苷酸鍵和位於 3'-端的兩個硫代磷酸體間核苷酸鍵，且該正義股於 5'-端或 3'-端包含至少兩個硫代磷酸酯間核苷酸鍵。

**【0264】** 於某些實施例中，dsRNAi 劑包括在突出區域中的硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽間核苷酸鍵修飾。例如，該突出區域可包含兩個核苷酸，該兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽的核苷酸間連接。還可以進行核苷酸間鍵聯修飾，以將突出核苷酸與雙鏈體區域內的末端成對核苷酸連接起來。例如，至少 2、3、4 或所有突出核苷酸可以藉由硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間鍵連接，且視需要地，可有額外的硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間核苷酸鍵將該突出核苷酸與該突出核苷酸旁的成對核苷酸連接起來。例如，在末端三個核苷酸之間可能存在至少兩個硫代磷酸酯間核苷酸連接，其中該三個核苷酸中之兩者為

突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁的成對核苷酸。此些末端三個核苷酸可位在反義股的 3'-端，正義股的 3'-端，反義股的 5'-端，或正義股的 5'-端。

【0265】於某些實施例中，該 2-核苷酸突出位於反義股之 3'端，且在該三個核苷酸末端之間有兩個硫代磷酸酯間核苷酸連接，其中該三個核苷酸中之兩者為突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁的成對核苷酸。視需要地，該 dsRNAi 試劑還可在該正義股之 5'端和反義股之 5'端的三個核苷酸末端之間具有兩個硫代磷酸鹽間核苷酸連接。

【0266】於一實施例中，該 dsRNAi 試劑包括與標靶、雙旋體內或其組合之誤配。該誤配可能出現於該突出區域或雙旋體區域。該鹼基對可根據其促進解離或熔化的傾向進行排名（例如，關於特定配對之鍵結或解離之自由能，最簡單之方法是在單個對的基礎上檢查對，儘管也可使用近鄰分析 (nextneighboranalysis) 或類似的分析）。在促進解離方面：A : U 優於 G : C、G : U 優於 G : C、且 I : C 優於 G : C (I=肌苷)。誤配(例如，非規範或非規範配對 (如本文其他地方所述)) 優於規範 (A : T, A : U, G : C) 配對；且包含通用鹼基之配對優於規範配對。

【0267】於特定實施例中，該 dsRNAi 試劑包括自反義股之雙旋體區域中自 5'端之第 1、2、3、4 或第 5 個鹼基對中獨立地選自 A : U、G : U、I : C 及誤配的至少一個，例如，非規範或非規範配對或包含通用鹼基之配對，以促進雙旋體 5'端之反義股的解離。

【0268】於特定實施例中，於該雙旋體區域中自反義股之的 5'-端起算之位置 1 的核苷酸選自 A、dA、dU、U 和 dT。或者，於該雙鏈體區域中自反義股之

5'-端起算之第 1、2 或第 3 個鹼基對中至少有一個是 AU 鹼基對。例如，該雙鏈體區域內自反義股之 5'端開始的第一個鹼基對為 AU 鹼基對。

【0269】於特定實施例中，該正義股 3'端之核苷酸為去氧胸苷（dT），或該反義股 3'端之核苷酸為去氧胸苷（dT）。例如，有一小段去氧胸苷之核苷酸序列（例如，於該正義股、該反義股或兩股之 3'端具有兩個 dT 核苷酸）。

【0270】於特定實施例中，該正義股之序列可用式 (I) 表示：



其中：

i 和 j 各自獨立為 0 或 1；

p 和 q 各自獨立為 0-6；

每個  $N_a$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 25 個修飾的核苷酸，每個序列包含至少兩個不同的修飾之核苷酸；

每個  $N_b$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10 個修飾的核苷酸；

每個  $n_p$  和  $n_q$  獨立地代表一個突出核苷酸；

其中  $N_b$  和 Y 不具有相同的修飾；且

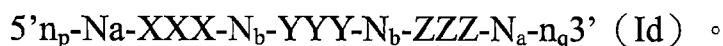
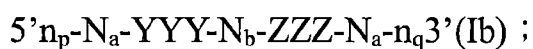
XXX、YYY 和 ZZZ 各自獨立地代表三個連續核苷酸的三個相同修飾之模體。於一實施例中，YYY 為所有 2'-F 修飾的核苷酸。

【0271】於某些實施例中， $N_a$  或  $N_b$  包括交替模式之修飾。

【0272】於某些實施例中，YYY 模體出現於該正義股之裂解位點或附近。例如，當該 dsRNAi 劑具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙旋體區域時，YYY 模體可出現於正義股之裂解位點或附近（例如：可出現於位置 6、7、8；7、8、9；8、9、10；9、10、11；10、11、12；或 11、12、13 的位置），計數自 5'-端第一

個核苷酸開始；或視需要地，計數自 5'-端雙鏈體區域內的第一個配對核苷酸開始。

【0273】於一個實施例中， $i$  為 1 且  $j$  為 0、或  $i$  為 0 且  $j$  為 1、或者  $i$  和  $j$  均為 1。因此，該正義股可用以下公式表示：



【0274】當該正義股由式 (Ib) 表示時， $N_b$  表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個  $N_a$  可獨立地表示一個包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個經修飾之核苷酸寡核苷酸序列。

【0275】當該正義股由式 (Ic) 表示時， $N_b$  表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個  $N_a$  可獨立地表示一個包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個經修飾之寡核苷酸序列。

【0276】當正義股由式 (Id) 表示時，每個  $N_b$  獨立地表示一個包括 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。於一實施例中， $N_b$  為 0、1、2、3、4、5 或 6，每個  $N_a$  可獨立地表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

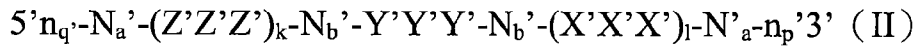
【0277】 $X$ 、 $Y$  和  $Z$  中之各者可彼此相同或不同。

【0278】在其它實施例中， $i$  為 0 且  $j$  為 0，且該正義股可用以下公式表示：



當該正義股由式 (Ia) 表示時，每個  $N_a$  可獨立地表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0279】於一實施例中，該 RNAi 的反義股序列可以用式 (II) 表示：



其中：

k 和 l 各自獨立為 0 或 1；

p' 和 q' 各自獨立為 0-6；

每個  $N_a$  獨立地代表一個包括 0 至 25 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列，每個序列包含至少兩個不同之修飾的核苷酸；

每個  $N_b$  獨立地代表一個包括 0 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列；

每個  $n_p$  和  $n_q$  獨立地代表一個突出核苷酸；

其中  $N_b$  和 Y' 不具有相同的修改；以及

$X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$  和  $Z'Z'Z'$  各自獨立地表示三個連續核苷酸上三個相同修飾的模體。

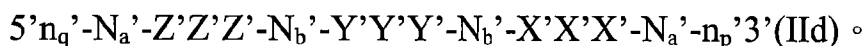
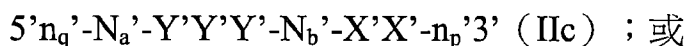
【0280】於某些實施例中， $N_a$  或  $N_b$  包括交替模式之修飾。

【0281】 $Y'Y'Y'$  模體出現於該反義股之裂解位點或附近。例如，當該 dsRNAi 劑具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙旋體區域時， $Y'Y'Y'$  模體可出現在位置 9、10、11；10、11、12；11、12、13；12、13、14；或該反義股之 13、14、15，計數從 5'-端第一個核苷酸開始；或視需要地，計數從該雙旋體區域內 5'-端之第一個成對核苷酸開始。於一實施例中， $Y'Y'Y'$  模體出現在位置 11、12、13。

【0282】在某些實施例中， $Y'Y'Y'$  模體為所有 2'-OMe 修飾的核苷酸。

【0283】在某些實施例中，k 為 1 且 l 為 0，或 k 為 0 且 l 為 1，或 k 和 l 均為 1。

【0284】因此，該反義股可用以下公式表示：

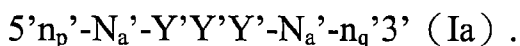


【0285】當反義股由式 (IIb) 表示時， $N_b'$  表示包含 0-10，0-7，0-10，0-7，0-5，0-4，0-2 或 0 修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個  $N_a'$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0286】當反義股表示為式 (IIc) 時， $N_b'$  表示包含 0-10，0-7，0-10，0-7，0-5，0-4，0-2 或 0 修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個  $N_a'$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0287】當反義股表示為式 (IIId) 時，每個  $N_b'$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0-10，0-7，0-10，0-7，0-5，0-4，0-2 或 0 個修飾的核苷酸。每個  $N_a'$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。於一實施例中， $N_b$  為 0、1、2、3、4、5 或 6。

【0288】在其它實施方式中，k 為 0，l 為 0，反義股可以用以下式表示：



【0289】當反義股表示為式 (IIa) 時，每個  $N_a'$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0290】X'、Y'和 Z'中的每一個都可以彼此相同或不同。



【0291】 正義股和反義股的每個核苷酸可以用 LNA、CRN、UNA、cEt、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羥基或 2'-氟獨立修飾。例如，正義股和反義股的每個核苷酸都用 2'-O-甲基或 2'-氟獨立修飾。特別是，每個 X、Y、Z、X'、Y'和 Z'可以代表 2'-O-甲基修飾或 2'-氟修飾。

【0292】 於某些實施例中，dsRNAi 試劑的正義股可以包含 YYY 模體，當雙鏈體區域為 21nt 時，鏈的 9、10 和 11 位置出現，計數從第一核苷酸開始，從 5'-末端開始，或者視需要地，從雙鏈體區域內的第一對核苷酸開始計數，從 5'-末端開始；和 Y 表示 2'-F 修改。正義股可能另外包含 XXX 模體或 ZZZ 模體作為雙鏈體區域另一端的側翼修飾；和 XXX 和 ZZZ 各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0293】 於某些實施例中，反義股可包含 Y'Y'Y'模體，該模體出現在股的第 11、12、13 位，該計數從第一核苷酸開始，從 5'-末端開始，或者視需要地，該計數從雙鏈體區域內的第一對核苷酸開始，從 5'-末端開始；Y'代表 2'-O-甲基修飾。反義股可能另外包含 X'X'X'模體或 Z'Z'Z'模體作為雙鏈體區域另一端的側翼修飾；和 X'X'X'和 Z'Z'Z'各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0294】 由上述任何一式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 和 (Id) 表示的正義股，與反義股分別由任何一個公式 (IIa)、(IIb)、(IIc) 和 (IId) 表示的反義股形成雙鏈體。

【0295】 因此，用於本發明方法的 dsRNAi 試劑可包括正義股和反義股，每股具有 14 至 30 個核苷酸，iRNA 雙鏈體由式 (III) 表示：

意義：5'<sub>n<sub>p</sub></sub>-N<sub>a</sub>-(XXX)<sub>i</sub>-N<sub>b</sub>-YYY-N<sub>b</sub>-(ZZZ)<sub>j</sub>-N<sub>a</sub>-n<sub>q</sub>3'

反義：3' $n_p$ '- $N_a$ '-(X'X'X') $_k$ - $N_b$ '-Y'Y'- $N_b$ '-(Z'Z'Z') $_l$ - $N_a$ '- $n_q$ '5'

(III)

其中：

$i$ 、 $j$ 、 $k$ 和 $l$ 各自獨立為0或1；

$p$ 、 $p'$ 、 $q$ 和 $q'$ 各自獨立地為0-6；

每個  $N_a$ 和  $N_a'$ 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括0-25個修飾的核苷酸，每個序列包含至少兩個不同的修飾之核苷酸；

每個  $N_b$ 和  $N_b'$ 獨立代表一個寡核苷酸序列，包括0-10個修飾的核苷酸；

其中，每個  $n_p$ '、 $n_p$ 、 $n_q$ '和  $n_q$ 可能存在也可能不存在，獨立地代表一個突出核苷酸；

XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'和Z'Z'Z'各自獨立地表示三個連續核苷酸上三個相同修飾的一個模體。

【0296】在一個實施例中， $i$ 為0， $j$ 為0；或者 $i$ 是1， $j$ 是0；或者 $i$ 是0， $j$ 是1；或者 $i$ 和 $j$ 都是0；或者 $i$ 和 $j$ 都是1。在另一實施例中， $k$ 為0， $l$ 為0；或 $k$ 為1， $l$ 為0； $k$ 為0， $l$ 為1；或者 $k$ 和 $l$ 都是0；或者 $k$ 和 $l$ 都是1。

【0297】形成 iRNA 雙鏈體的正義股和反義股的示例性組合包括以下公式：

5' $n_p$ - $N_a$ -YYY- $N_a$ - $n_q$ 3'

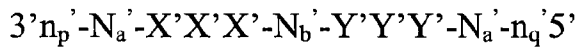
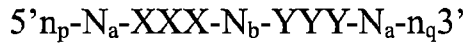
3' $n_p$ '- $N_a$ '-Y'Y'Y'- $N_a$ ' $n_q$ '5'

(IIIa)

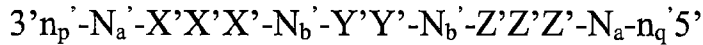
5' $n_p$ - $N_a$ -YYY- $N_b$ -ZZZ- $N_a$ - $n_q$ 3'

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

(IIIb)



(IIIc)



(IIIId)

【0298】當 dsRNAi 試劑用式 (IIIa) 表示時，每個  $N_a$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個、2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0299】當 dsRNAi 試劑由式 (IIIb) 表示時，每個  $N_b$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 1-10，1-7，1-5 或 1-4 個修飾的核苷酸。每個  $N_a$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0300】當 dsRNAi 試劑表示為式 (IIIc) 時，每個  $N_b$ 、 $N_b'$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0-10，0-7，0-10，0-7，0-5，0-4，0-2 或 0 個修飾的核苷酸。每個  $N_a$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。

【0301】當 dsRNAi 試劑表示為式 (IIIId) 時，每個  $N_b$ 、 $N_b'$  獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0-10，0-7，0-10，0-7，0-5，0-4，0-2 或 0 修飾之核苷酸。每個  $N_a$ 、 $N_a'$  獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個，2-15 個或 2-10 個修飾的核苷酸。 $N_a$ 、 $N_a'$ 、 $N_b$  和  $N_b'$  中的每一個都獨立地包含交替模式的修飾。

【0302】式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (IIIId) 中的 X、Y 和 Z 中的每一個都可能彼此相同或不同。

【0303】當 dsRNAi 試劑由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (III d) 表示時，至少一個 Y 核苷酸可能與其中一個 Y'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 Y 核苷酸與相應的 Y'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 Y 核苷酸都與相應的 Y'核苷酸形成鹼基對。

【0304】當 dsRNAi 試劑由式 (IIIb) 或 (III d) 表示時，至少一個 Z 核苷酸可能與其中一個 Z'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 Z 核苷酸與相應的 Z'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 Z 核苷酸都與相應的 Z'核苷酸形成鹼基對。

【0305】當 dsRNAi 試劑表示為式 (IIIc) 或 (III d) 時，至少一個 X 核苷酸可能與其中一個 X'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 X 核苷酸與相應的 X'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 X 核苷酸都與相應的 X'核苷酸形成鹼基對。

【0306】在某些實施例中，對 Y 核苷酸的修飾不同於對 Y'核苷酸的修飾，對 Z 核苷酸的修飾與對 Z'核苷酸的修飾不同，或者對 X'核苷酸的修飾與對 X 核苷酸的修飾不同。

【0307】在某些實施例中，當 dsRNAi 試劑由式 (III d) 表示時， $N_a$  修飾是 2-O'-甲基或 2'-氟修飾。在其它實施例中，當 RNAi 試劑由式 (III d) 表示時，所述  $N_a$  修飾是 2-O'-甲基或 2'-氟修飾，並且  $n_p' > 0$  和至少一個  $n_p'$  藉由硫代磷酸酯鍵與相鄰核苷酸連接。在又一個實施例中，當 RNAi 試劑由式 (III d) 表示時， $N_a$  修飾是 2-O-甲基或 2-氟修飾， $n_p' > 0$  和至少一個  $n_p'$  藉由硫代磷酸酯鍵連接到相鄰的核苷酸，並且正義股與藉由二價或三價支鏈連接子連接的一個或多個 GalNAc 衍生物接合（如下所述）。在其它實施例中，當 RNAi 試劑由式 (III d) 表示時， $N_a$  修飾是 2-O-甲基或 2-氟修飾， $n_p' > 0$  和至少一個  $n_p'$  藉由硫代磷酸酯

鏈連接到相鄰的核苷酸，正義股包含至少一個硫代磷酸酯鍵結，並且該正義股藉由二價或二價或多種 GanAc 衍生物接合三價分支連結子。

【0308】於某些實施例中，當 dsRNAi 試劑由式 (IIIa) 表示時， $N_a$  修飾是 2-O'-甲基或 2'-氟修飾， $n_p' > 0$  和至少一個  $n_p'$  藉由硫代磷酸酯鍵連接到相鄰的核苷酸，正義股包含至少一個硫代磷酸酯鍵結，並且該正義股藉由二價或二價連接與一個或多個 GalNAc 衍生物接合三價分支連結子。

【0309】於某些實施例中，dsRNAi 試劑是含有至少兩個由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (IIId) 表示的雙鏈體的多聚體，其中雙鏈體藉由連接子連接。連接子可以是可裂解的，也可以是不可裂解的。視需要地，多聚體還包括配體。每個雙鏈體可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每個雙鏈體可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

【0310】於某些實施例中，dsRNAi 試劑是包含三、四、五、六或更多由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (IIId) 表示的雙鏈體的多聚體，其中雙鏈體藉由連接子連接。連接子可以是可裂解的，也可以是不可裂解的。視需要地，多聚體還包括配體。每個雙鏈體可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每個雙鏈體可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

【0311】於一實施例中，由至少一個式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (IIId) 中的至少一個表示的 dsRNAi 試劑在 5' 末端相互連接，並且 3' 末端的一個或兩個，並且視需要地與配體接合。每種藥物都可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每種藥物可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

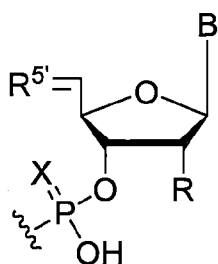
【0312】在某些實施例中，本發明的 RNAi 試劑可以含有少量含有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，10 個或更少的具有 2'-氟修飾的核苷酸。例如，RNAi 試劑

可含有 10、9、8、7、6、5、4、3、2、1 或 0 個核苷酸，並具有 2'-氟修飾。在一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑含有 10 個具有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，4 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在在正義股和 6 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑含有 6 個具有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，4 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在正義股和 2 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。

【0313】在其它實施例中，本發明的 RNAi 試劑可以含有超低數量的含 2'-氟修飾的核苷酸，例如，含有 2'-氟修飾的 2 或更少個核苷酸。例如，RNAi 試劑可含有 2、1 或 0 個具有 2'-氟修飾的核苷酸。在具體實施方案中，RNAi 試劑可含有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，0 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在正義股和具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。

【0314】各種出版物描述了可用於本發明方法的多聚體 iRNA。這些出版物包括美 WO2007/091269、美國專利號 7,858,769、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887 和 WO2011/031520，其中每一項的全部內容特此藉由引用併入本文。

【0315】在某些實施例中，本公開的組成物和方法包括如本文所述的 RNAi 試劑的磷酸乙烯酯 (VP) 修飾。在示例性實施例中，本公開內容的 5'磷酸乙烯酯修飾之核苷酸具有以下結構：



其中 X 是 O 或 S；

R 為氫、羥基、氟或 C<sub>1-20</sub> 烷氧基（例如，甲氧基或正十六烷氧基）；

R5' 是 =C(H)-P(O)(OH)<sub>2</sub>，C5' 碳和 R5' 之間的雙鍵位於 E 或 Z 方向（例如 E 方向）；並且

B 是核鹼基或修飾的核鹼基，視需要地 B 是腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

**【0316】** 本公開的磷酸乙烯酯可以附接在 dsRNA 的反義股或正義股。在某些實施例中，本公開的磷酸乙烯酯附接在 dsRNA 的反義股，視需要地在 dsRNA 的反義股的 5' 末端。

**【0317】** 磷酸乙烯酯修飾也考慮用於即時公開的組成物和方法。一個示例性的磷酸乙烯酯結構包括前面的結構，其中 R5' 是 =C(H)-OP(O)(OH)<sub>2</sub>，C5' 碳和 R5' 之間的雙鍵在 E 或 Z 取向（例如，E 取向）。

**【0318】** 如下所述，包含一個或多個碳水化合物部分與 iRNA 的接合的 iRNA 可以優化 iRNA 的一個或多個性質。在許多情況下，碳水化合物部分將附接在 iRNA 的修飾亞基。例如，iRNA 的一個或多個核糖核苷酸亞基的核糖糖可以被另一部分取代，例如，非碳水化合物（如環狀）載體，其附接碳水化合物配體。核糖核苷酸亞基，其中核糖的亞基已被如此取代，本文稱為核糖替代修飾亞基（RRMS）。環狀載體可以是碳環系，即，所有環原子都是碳原子，或者雜環系統，即，一個或多個環原子可以是雜原子，例如，氮、氧、硫。該環載體可以是單環系統，或者可以包含兩個或多個環，例如稠合環。環狀載體可以是完全飽和的環體系，或者它可以包含一個或多個雙鍵。

**【0319】** 配體可以藉由載體附接在多核苷酸。載體包括 (i) 至少一個「骨幹連接點」，例如兩個「骨幹連接點」和 (ii) 至少一個「繫接連接點」。本文中使用的「主鏈附接點」是指官能團，例如羥基，或通常可用於的鍵，並且適合於將載體併入主鏈中，例如，磷酸鹽，或改性的磷酸鹽，例如，含硫的核糖核酸的主鏈。「繫接附接點」(TAP) 在一些具體實施方式中是指環狀載體的組成環原子，例如，碳原子或雜原子(不同於提供主鏈附接點的原子)，其連接選定的部分。該部分可以是，例如，碳水化合物，例如單糖、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖。或者，所選部分藉由中間繫接連接到環狀載體。因此，環狀載體通常包括官能團，例如，胺基，或者通常提供鍵，其適合於併入或拴附另一化學實體，例如，配體到組成環。

**【0320】** iRNA 可經由載體與配體接合，其中載體可以是環基團或無環基團。於一實施例中，環基團選自吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧雜環戊烷、噁唑烷基、異噁唑烷基、嗎啉基、噻唑烷基、異噻唑烷基、喹噁啉基、噻嗪酮醯基、四氫呋喃基和十氫萘。於一實施例中，無環基團是絲胺酸醇主鏈或二乙醇胺主鏈。

#### i. 熱去穩定修飾

**【0321】** 在某些實施例中，dsRNA 分子可以藉由在反義股的種子區域併入熱去穩定修飾來優化 RNA 干擾。本文所用的「種子區域」是指在所指鏈的 5' 端的 2-9 位置。例如，可以在反義股的種子區域併入熱去穩定修飾，以減少或抑制脫靶基因沉默。

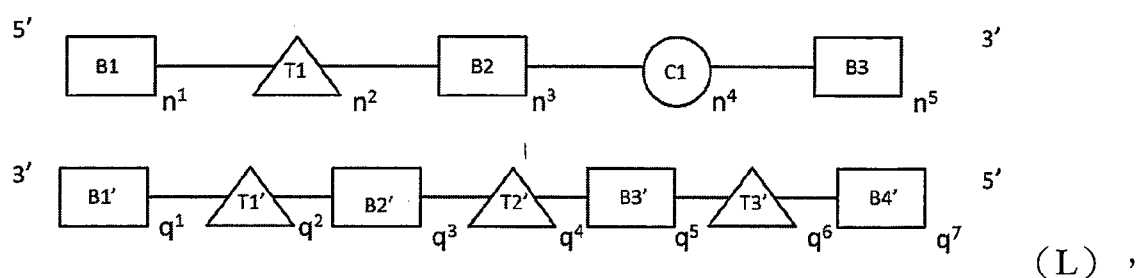
**【0322】** 術語「熱去穩定修飾」包括導致 dsRNA 的總熔化溫度 ( $T_m$ ) 低於 dsRNA 的  $T_m$  而沒有這種修飾的修飾。例如，熱去穩定修飾可以將 dsRNA 的  $T_m$



降低 1-4°C，例如 1、2、3 或 4 攝氏度。並且，術語「熱去穩定核苷酸」是指含有一個或多個熱去穩定修飾的核苷酸。

【0323】已經發現，具有反義股的 dsRNA 在反義股的前 9 個核苷酸位置內至少包含一個雙鏈體的熱去穩定修飾，從反義股的 5' 端計數，降低了脫靶基因沉默活性。因此，於某些實施例中，反義股包括至少一個（例如，一個、兩個、三個、四個、五個或更多個）在反義股的 5' 區域的前 9 個核苷酸位置內的雙鏈體的熱去穩定修飾。在一些具體實施方案中，雙鏈體的一個或多個熱去穩定修飾位於位置 2-9，例如，位置 4-8，從反義股的 5' 端。在一些進一步的實施方式中，雙鏈體的熱去穩定修飾位於反義股 5' 端的位置 6、7 或 8。在還有一些進一步的實施例中，雙鏈體鏈體的熱去穩定修飾位於反義股的 5' 端位置 7。在一些具體實施方式中，雙鏈體鏈體的熱去穩定改性位於反義股的 5' 端的位置 2、3、4、5 或 9。

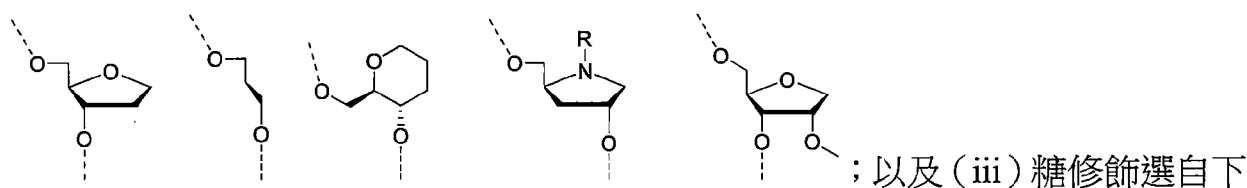
【0324】iRNA 試劑包括正義股和反義股，每股具有 14 至 40 個核苷酸。RNAi 試劑可以用式 (L) 表示：



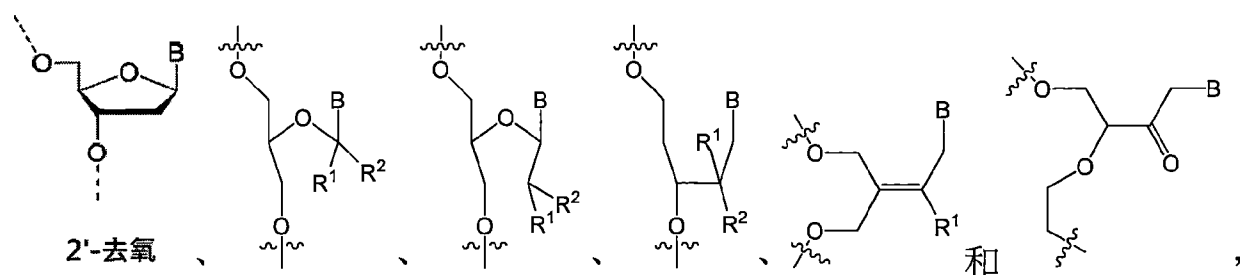
【0325】在式 (L) 中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3' 和 B4' 各自獨立地是一個核苷酸，含有從 2'-O-烷基、2'-取代烷氧基、2'-取代烷基、2'-鹵素、ENA 和 BNA/LNA 組成的群組中選擇的修飾。於一實施例中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3' 和 B4' 各包含 2'-OMe 修飾。於一實施例中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3' 和

B4'各含有 2'-OMe 或 2'-F 修飾。於一實施例中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3' 和 B4'中的至少一種含有 2'-O-N-甲基乙醯胺基 (2'-O-NMA, 2'-O-CH<sub>2</sub>C(O)N(Me)H) 修飾。

【0326】 C1 是一種熱去穩定核苷酸，放置在與反義股的種子區域相反的位置點 (即，在反義股 5'-端的位置 2-8)。例如，C1 位於正義股的位置，該位置與反義股 5'-端位置 2-8 的核苷酸配對。在一個例子中，C1 位於正義股 5'端的位置 15。C1 核苷酸具有熱破壞穩定性的修飾，其中可能包括非鹼性修飾；與雙鏈體中相反的核苷酸誤配；和糖修飾，例如 2'-去氧修飾或無環核苷酸，例如，未解聚核酸 (UNA) 或甘油核酸 (GNA) 或 2'-5'-連接核糖核苷酸 (「3'-RNA」)。於一實施例中，C1 具有熱去穩定修飾，選自由下列組成的組：i) 與反義股中相反的核苷酸誤配；ii) 從以下組中選出的無鹼基修飾：

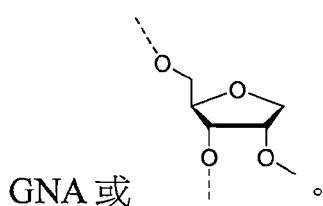


列組：



其中 B 是修飾或未修飾的核鹼基，R<sup>1</sup> 和 R<sup>2</sup> 獨立地為 H、鹵素、OR<sub>3</sub>、或烷基；和 R<sub>3</sub> 是 H、烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖。在一個實施例中，C1 中的熱去穩定修飾是從選自 G : G、G : A、G : U、G : T、A : A、A : C、C : C、C : U、C : U、C : T、U : T 和 U : T 組成的組中的誤配；視需要地，誤配對

中的至少一個核鹼基是 2'-去氧核鹼基。在一個例子中，C1 中的熱去穩定修飾是



【0327】 T1、T1'、T2'和 T3'各自獨立地代表一個核苷酸，該核苷酸包含一種修飾，為核苷酸提供小於或等於 2'-OMe 修飾的空間位阻體積。空間位阻體積是指修改的空間位阻效應的總和。用於確定核苷酸修飾的空間位阻效應的方法為本領域技術人員所熟知。修飾可以在核苷酸的核糖的 2'位置，或修飾非核糖核苷酸，無環核苷酸或核苷酸的主鏈，其相似或等效於核糖的 2'位置，併為核苷酸提供小於或等於 2'-OMe 修飾的空間位阻體積。例如，T1、T1'、T2'和 T3'都是從 DNA、RNA、LNA、2'-F 和 2'-F-5'-甲基中獨立選擇的。於一實施方案中，T1 是 DNA。於一實施方案中，T1'是 DNA、RNA 或 LNA。於一實施方案中，T2'是 DNA 或 RNA。於一實施方案中，T3'是 DNA 或 RNA。

【0328】  $n^1$ 、 $n^3$  和  $q^1$  的長度獨立為 4 至 15 個核苷酸。

【0329】  $n^5$ 、 $q^3$  和  $q^7$  的長度獨立為 1-6 個核苷酸。

【0330】  $n^4$ 、 $q^2$  和  $q^6$  的長度獨立為 1-3 個核苷酸；或者， $n^4$  為 0。

【0331】  $q^5$  的長度獨立為 0-10 個核苷酸。

【0332】  $n^2$  和  $q^4$  的長度獨立為 0-3 個核苷酸。

【0333】 或者， $n^4$  的長度為 0-3 個核苷酸。

【0334】 在一個實施例中， $n^4$  可以是 0。在一個示例中， $n^4$  為 0， $q^2$  和  $q^6$  為 1。在另一個例子中， $n^4$  為 0， $q^2$  和  $q^6$  各為 1，在正義股的位置 1-5（從正義股的 5'端計數）內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾，在位置 1 和 2 有兩個硫代磷

酸酯核苷酸間鏈結修飾，在反義股的位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。

【0335】於一實施例中， $n^4$ 、 $q^2$ 和  $q^6$ 各為 1。

【0336】在一個實施例中， $n^2$ 、 $n^4$ 、 $q^2$ 、 $q^4$ 和  $q^6$ 各為 1。

【0337】於一實施例中，C1 位於正義股 5'端的位置 14-17，當正義股長度為 19-22 個核苷酸時， $n^4$ 為 1。在一個實施例中，C1 位於正義股 5'端的位置 15

【0338】在一個實施例中，T3'從反義股的 5'端開始於位置 2。在一個例子中，T3'位於反義股 5'端的位置 2， $q^6$ 等於 1。

【0339】在一個實施例中，T1'從反義股的 5'端開始於位置 14。在一個例子中，T1'位於反義股 5'端的位置 14， $q^2$ 等於 1。

【0340】在示例性實施例中，T3'從反義股的 5'端從位置 2 開始，T1'從反義股的 5'端從位置 14 開始。在一個例子中，T3'從反義股 5'端的位置 2 開始， $q^6$ 等於 1，T1'從反義股的 5'端從位置 14 開始， $q^2$ 等於 1。

【0341】於一實施例中，T1'和 T3'被長度上的 11 個核苷酸分開（即不計算 T1'和 T3'核苷酸）。

【0342】在一個實施例中，T1'位於反義股 5'端的位置 14。在一個例子中，T1'位於反義股 5'端的位置 14， $q^2$ 等於 1，並且在非核糖，無環或骨架中 2'位置或位置的修飾提供的空間位塊比 2'-OMe 核糖少。

【0343】在一個實施例中，T3'位於反義股 5'端的位置 2。在一個例子中，T3'位於反義股 5'端的位置 2， $q^6$ 等於 1，並且在非核糖、無環或骨架中 2'位置或位置的修飾提供小於或等於空間位塊小於或等於 2'-OMe 核糖。

【0344】於一實施例中，T1 位於正義股的裂解位點。在一個例子中，T1 位於距離正義股 5'端的位置 11，當正義股的長度為 19-22 個核苷酸時， $n^2$  為 1。在示例性實施例中，T1 位於正義股位置 11 的解理位點，距正義股 5'端，當正義股長度為 19-22 個核苷酸時， $n^2$  為 1，

【0345】在一個實施例中，T2'從反義股的 5'端開始於位置 6。在一個示例中，T2'位於反義股 5'端的 6-10 位置， $q^4$  為 1。

【0346】在示例性實施例中，T1 位於正義股的解理位點，例如，在距離正義股 5'端的位置 11，當正義股的長度為 19-22 個核苷酸時， $n^2$  為 1；T1'位於反義股 5'端的 14 位置， $q^2$  等於 1，對 T1'的修飾位於核糖的 2'位置或非核糖，無環或主鏈中的位置，提供比 2'-OMe 核糖更少的空間位阻體積；T2'位於反義股 5'端的 6-10 位置， $q^4$  為 1；T3'位於反義股 5'端的位置 2， $q^6$  等於 1，對 T3'的修改位於非核糖、無環或主鏈中的 2'位置或位置，其空間位阻體積小於或等於 2'-OMe 核糖。

【0347】在一個實施例中，T2'從反義股的 5'端開始於位置 8。在一個例子中，T2'從反義股的 5'端開始於位置 8， $q^4$  為 2。

【0348】在一個實施例中，T2'從反義股的 5'端開始於位置 9。在一個例子中，T2'位於反義股 5'端的位置 9， $q^4$  為 1。

【0349】於一實施例中，B1'為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1'為 2'-F， $q^2$  為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2'為 2'-F， $q^4$  為 1，B3'為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 6，T3'為 2'-F， $q^6$  為 1，B4'為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股的位置 1-5 內具有兩個硫代磷酸酯間核苷酸鍵修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1

和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

【0350】於一實施例中， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 6，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

【0351】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。

【0352】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩次硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

【0353】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 6，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-

F,  $q^1$  為 7, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4, T2' 為 2'-F,  $q^4$  為 2, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 5, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1。

【0354】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 6, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 7, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4, T2' 為 2'-F,  $q^4$  為 2, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 5, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0355】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4, T2' 為 2'-F,  $q^4$  為 1, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 6, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1。

【0356】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4, T2' 為 2'-F,  $q^4$  為, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 6, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0357】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 5，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；視需要地在反義股的 3' 末端至少增加 2 個額外的 TT。

【0358】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 5，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；視需要擇在反義股的 3' 端增加至少 2 個額外的 TT；在正義股位置 1-5 的位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

【0359】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。

【0360】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在



反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0361】 於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。

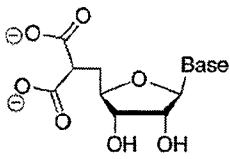
【0362】 於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

【0363】 於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。

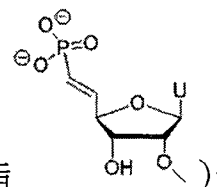
【0364】 於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從正義股的 5'-端計數)，在反義

股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。

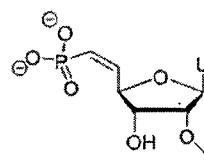
【0365】 RNAi 試劑可以包含位於正義股或反義股 5'端的含磷基團。5'端含磷基團可以是 5'-端磷酸鹽（5'-P）、5'-端硫代磷酸酯（5'-PS）、5'-端二硫代磷酸酯（5'-PS<sub>2</sub>）、5'-端乙烯基磷酸鹽（5'-VP）、5'-端甲基磷酸鹽（MePhos）

或 5'-去氧-5'-C-丙二醯基（）。當 5'端含磷基團為 5'端乙烯基磷

酸鹽（5'-VP）時，5'-VP 可以是 5'-E-VP 異構體（即，反式磷酸乙烯酯



5'-Z-VP 異構體（即，順式）-磷酸乙烯酯，



【0366】 於一實施例中，RNAi 試劑包括在正義股的 5'末端的含磷基團。  
於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股的 5'末端的含磷基團。

【0367】 於一實施例中，RNAi 試劑包括 5'-P。於一實施例中，RNAi 試劑包含反義股中的 5'-P。

【0368】 於一實施例中，RNAi 試劑包括 5'-PS。於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股中的 5'-PS。

【0369】 於一實施例中，RNAi 試劑包括 5'-VP。於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股中的 5'-VP。於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股中的 5'-E-VP。於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股中的 5'-Z-VP。

【0370】於一實施例中，RNAi 試劑包括 5'-PS<sub>2</sub>。於一實施例中，RNAi 試劑包括在反義股中的 5'-PS<sub>2</sub>。

【0371】於一實施例中，RNAi 試劑包括 5'-PS<sub>2</sub>。於一實施例中，RNAi 試劑在反義股中包含 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0372】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n<sup>1</sup> 為 8，T1 為 2'-F，n<sup>2</sup> 為 3，B2 為 2'-OMe，n<sup>3</sup> 為 7，n<sup>4</sup> 為 0，B3 為 2'-OMe，n<sup>5</sup> 為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>1</sup> 為 9，T1' 為 2'-F，q<sup>2</sup> 為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>3</sup> 為 4，T2' 為 2'-F，q<sup>4</sup> 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>5</sup> 為 5，T3' 為 2'-F，q<sup>6</sup> 為 1，B4' 為 2'-OMe，q<sup>7</sup> 為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0373】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n<sup>1</sup> 為 8，T1 為 2'-F，n<sup>2</sup> 為 3，B2 為 2'-OMe，n<sup>3</sup> 為 7，n<sup>4</sup> 為 0，B3 為 2'-OMe，n<sup>5</sup> 為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>1</sup> 為 9，T1' 為 2'-F，q<sup>2</sup> 為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>3</sup> 為 4，T2' 為 2'-F，q<sup>4</sup> 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>5</sup> 為 5，T3' 為 2'-F，q<sup>6</sup> 為 1，B4' 為 2'-OMe，q<sup>7</sup> 為 1。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0374】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n<sup>1</sup> 為 8，T1 為 2'-F，n<sup>2</sup> 為 3，B2 為 2'-OMe，n<sup>3</sup> 為 7，n<sup>4</sup> 為 0，B3 為 2'-OMe，n<sup>5</sup> 為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>1</sup> 為 9，T1' 為 2'-F，q<sup>2</sup> 為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>3</sup> 為 4，T2' 為 2'-F，q<sup>4</sup> 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>5</sup> 為 5，T3' 為 2'-F，q<sup>6</sup> 為 1，B4' 為 2'-OMe，q<sup>7</sup> 為 1。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0375】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n<sup>1</sup> 為 8，T1 為 2'-F，n<sup>2</sup> 為 3，B2 為 2'-OMe，n<sup>3</sup> 為 7，n<sup>4</sup> 為 0，B3 為 2'-OMe，n<sup>5</sup> 為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>1</sup> 為 9，T1' 為 2'-F，q<sup>2</sup> 為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F，q<sup>3</sup> 為 4，T2' 為 2'-F，q<sup>4</sup>

為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0376】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0377】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0378】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置

18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0379】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0380】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0381】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為

1；在正義股的位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0382】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括一個 5'-P。

【0383】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。dsRNA 試劑還包括 5'-PS。

【0384】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0385】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為

2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0386】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0387】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 處有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0388】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0389】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0390】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾，兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾在反義股的 18-23 位置內（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0391】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個



硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0392】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0393】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0394】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0395】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。dsRNAiRNA 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0396】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0397】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在返義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0398】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在返義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0399】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股的位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0400】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0401】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23

內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二鹽基。

【0402】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0403】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0404】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0405】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0406】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0407】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P。

【0408】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內具有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS。

【0409】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-

F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-F,  $q^7$  為 1; 在正義股的位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合。

【0410】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-F,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub>。

【0411】於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-F,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基。

【0412】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施例中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0413】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0414】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為

1；在正義股的位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP（例如，5'-E-VP，5'-Z-VP 或其組合）和靶向配體。

【0415】於一實施例中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0416】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS2 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS2 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0417】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi



試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基和靶向配體。於一實施例中，5'-去氧-5'-C-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0418】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施例中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0419】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-OMe， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0420】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-

F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-VP (例如, 5'-E-VP, 5'-Z-VP 或其組合) 和靶向配體。於一實施例中, 5'-VP 位於反義股的 5'-端, 靶向配體位於正義股的 3'-端。

**【0421】** 於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-PS2 和靶向配體。於一實施例中, 5'-PS2 位於反義股的 5'-端, 靶向配體位於正義股的 3'端。

**【0422】** 於一實施例中, B1 為 2'-OMe 或 2'-F,  $n^1$  為 8, T1 為 2'F,  $n^2$  為 3, B2 為 2'-OMe,  $n^3$  為 7,  $n^4$  為 0, B3 為 2'-OMe,  $n^5$  為 3, B1' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-OMe,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有

兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基和靶向配體。於一實施例中，5'-去氧-5'-C-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0423】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'-F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施例中，5'-P 位於反義股的 5'端，靶向配體位於正義股的 3'端。

【0424】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'-F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0425】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP（例如，5'-E-VP，5'-Z-VP 或其組合）和靶向配體。於一實施例中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0426】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub> 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS<sub>2</sub> 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0427】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4，T2' 為 2'-F， $q^4$  為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 5，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；

在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基和靶向配體。於一實施例中，5'-去氧-5'-C-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0428】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施例中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0429】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS

和靶向配體。於一實施例中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0430】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-VP（例如，5'-E-VP、5'-Z-VP 或其組合）和靶向配體。於一實施例中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0431】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^1$  為 9，T1' 為 2'-F， $q^2$  為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^3$  為 4， $q^4$  為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F， $q^5$  為 7，T3' 為 2'-F， $q^6$  為 1，B4' 為 2'-F， $q^7$  為 1；在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從正義股的 5'-端計數），在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾（從反義股的 5'-端計數）。RNAi 試劑還包括 5'-PS<sub>2</sub> 和靶向配體。於一實施例中，5'-PS<sub>2</sub> 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於正義股的 3'-端。

【0432】於一實施例中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F， $n^1$  為 8，T1 為 2'F， $n^2$  為 3，B2 為 2'-OMe， $n^3$  為 7， $n^4$  為 0，B3 為 2'-OMe， $n^5$  為 3，B1' 為 2'-OMe 或 2'-

F,  $q^1$  為 9, T1' 為 2'-F,  $q^2$  為 1, B2' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^3$  為 4,  $q^4$  為 0, B3' 為 2'-OMe 或 2'-F,  $q^5$  為 7, T3' 為 2'-F,  $q^6$  為 1, B4' 為 2'-F,  $q^7$  為 1; 在正義股位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從正義股的 5'-端計數), 在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾以及位置 18-23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 試劑還包括 5'-去氧-5'-C-丙二醯基和靶向配體。於一實施例中, 5'-去氧-5'-C-丙二醯基位於反義股的 5'-端, 靶向配體位於正義股的 3'-端。

**【0433】** 在具體實施方式中, 本發明的 RNAi 試劑包括:

**【0434】** (a) 正義股具有:

(i) 長度為 21 個核苷酸;

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體, 其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物; 和

(iii) 位置 1、3、5、7、9 至 11、13、17、19 和 21 的 2'-F 修飾, 以及位置 2、4、6、8、12、14 至 16、18 和 20 的 2'-OMe 修飾 (從 5'端計數);

和

**【0435】** (b) 反義股具有:

(i) 長度為 23 個核苷酸;

(ii) 位置 1、3、5、9、11 至 13、15、17、19、21 和 23 的 2'-OMe 修飾, 以及位置 2、4、6 至 8、10、14、16、18、20 和 22 的 2'F 修飾 (從 5'端計數);

和

(iii) 核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結 (從 5'-端計數);

其中，dsRNA 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0436】 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0437】 (a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii) 位置 1、3、5、7、9 至 11、13、15、17、19 和 21 的 2'-F 修飾，以及位置 2、4、6、8、12、14、16、18 和 20 的 2'-OMe 修飾（從 5'端計數）；和

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0438】 (b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3、5、7、9、11 至 13、15、17、19 和 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2、4、6、8、10、14、16、18 和 20 的 2'F 修飾（從 5'端計數）；

和

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0439】 其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0440】 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：



【0441】 (a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii) 位置 1 至 6、8、10 和 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，位置 7 和 9 的 2'-F 修飾，位置 11 的去氧核苷酸（例如 dT）（從 5'端計數）；以及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0442】 (b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3、7、9、11、13、15、17 和 19 至 23 的 2'-OMe 修飾，位置 2、4 至 6、8、10、12、14、16 和 18 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；和

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0443】 其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0444】 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0445】 (a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii)位置 1 至 6、8、10、12、14 和 16 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及位置 7、9、11、13 和 15 的 2'-F 修飾；和

(iv)核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

**【0446】** (b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、5、7、9、11、13、15、17、19 和 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2 至 4、6、8、10、12、14、16、18 和 20 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；

和

(iii)核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'端計數）；

**【0447】** 其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

**【0448】** 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

**【0449】** (a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii)位置 1 至 9 和 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及位置 10 和 11 的 2'-F 修飾；  
和

(iv)核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0450】 (b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3、5、7、9、11 至 13、15、17、19 和 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2、4、6、8、10、14、16、18 和 20 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；

和

(iii)核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0451】 其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0452】 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0453】 (a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii)位置 1、3、5、7、9 至 11 和 13 的 2'-F 修飾，以及位置 2、4、6、8、12 和 14 至 21 的 2'-OMe 修飾；和

(iv)核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

**【0454】** (b) 反義股具有：

- (i) 長度為 23 個核苷酸；
- (ii) 位置 1、3、5 至 7、9、11 至 13、15、17 至 19 和 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2、4、8、10、14、16 和 20 的 2'-F 修飾（從 5' 末端計數）；和
- (iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

**【0455】** 其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

**【0456】** 在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

**【0457】** (a) 正義股具有：

- (i) 長度為 21 個核苷酸；
- (ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；
- (iii) 位置 1、2、4、6、8、12、14、15、17 和 19 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及位置 3、5、7、9 至 11、13、16 和 18 的 2'-F 修飾；和
- (iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5' 端計數）；

和

**【0458】** (b) 反義股具有：

- (i) 長度為 25 個核苷酸；

(ii) 位置 1、4、6、7、9、11 至 13、15、17 和 19 至 23 的 2'-OMe 修飾，位置 2、3、5、8、10、14、16 和 18 的 2'-F 修飾，以及位置 24 和 25 的去氧核苷酸（例如，dT）修飾（從 5'-端計數）；以及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0459】其中 RNAi 試劑在反義股的 3'-端有四個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0460】在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0461】(a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii) 位置 1 至 6、8 和 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及位置 7 和 9 至 11 的 2'-F 修飾；和

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0462】(b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3 至 5、7、8、10 至 13、15 和 17 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2、6、9、14 和 16 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；和

(iii)核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0463】其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0464】在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0465】(a) 正義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii)位置 1 至 6、8 和 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及位置 7 和 9 至 11 的 2'-F 修飾；和

(iv)核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0466】(b) 反義股具有：

(i) 長度為 23 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3 至 5、7、10 至 13、15 和 17 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及位置 2、6、8、9、14 和 16 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；和

(iii)核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0467】其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0468】在另一個具體實施例中，本發明的 RNAi 試劑包括：

【0469】(a) 正義股具有：

(i) 長度為 19 個核苷酸；

(ii) 附接在 3'-端的 ASGPR 配體，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價支鏈連接子連接子連接的三種 GalNAc 衍生物；

(iii) 位置 1 至 4、6 和 10 至 19 的 2'-OMe 修飾，以及位置 5 和 7 至 9 的 2'-F 修飾；和

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

和

【0470】(b) 反義股具有：

(i) 長度為 21 個核苷酸；

(ii) 位置 1、3 至 5、7、10 至 13、15 和 17 至 21 的 2'-OMe 修飾，位置 2、6、8、9、14 和 16 的 2'-F 修飾（從 5'端計數）；和

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 19 和 20 之間以及核苷酸位置 20 和 21 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結（從 5'-端計數）；

【0471】其中，RNAi 試劑在反義股的 3'-端有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端有一個鈍端。

【0472】在某些實施例中，用於本發明方法的 iRNA 試劑選自表 2-3 和 7-8 中所列任一種試劑。這些試劑還可以包含配體。

### III. iRNA 與配體接合

【0473】本發明的 iRNA 的 RNA 的另一種修飾涉及化學連結到 iRNA 的一個或多個配體，部分或接合物，其增強 iRNA 的活性，細胞分佈或細胞攝取，例如，進入細胞。這種部分包括但不限於脂質部分，例如膽固醇部分 (Letsinger 等人, Proc.國家統計局酸。科學。美國, 1989, 86: 6553-6556). 在其它實施例中，配體是膽酸 (Manoharan 等人, Biorg. 地中海。化學。Let., 1994, 4: 1053-1060)，一種硫醚，例如，綠柱石-S-三苯硫醇 (Manoharan 等人, Ann.紐約州阿卡德。科學, 1992, 660: 306-309; Manoharan 等人, Biorg. 地中海。化學。Let., 1993, 3: 2765-2770)，硫代膽固醇 (Oberhauser et al., Nucl.Acids Res., 1992, 20: 533-538)，脂肪族鏈，例如，十二烷二醇或十一烷基殘基 (Saison-Behmoaras 等人, EMBO J., 1991, 10: 1111-1118; 卡巴諾夫 等人, FEBS Lett., 1990, 259: 327-330; Svinarchuk 等人, Biochimie, 1993 年, 75: 49-54)，磷脂，例如，二十六烷基-脫色甘油或三乙基銨 1, 2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸酯 (Manoharan 等人, Tetrahedron Lett., 1995 年, 36: 3651-3654; Shea 等人, Nucl. Acids Res., 1990, 18: 3777-3783)，多胺或聚乙二醇鏈 (Manoharan et al., 1990, 18: 3777-3783)，多胺或聚乙二醇鏈 (Manoharan et al., Nucleosides & Nucleotides, 1995, 14: 969-973)，或金剛烷乙酸 (Manoharan et al., Tetrahedron Lett., 1995, 36: 3651-3654)，棕櫚醯部分 (Mishra et al., Biochim.生物物理學。Acta, 1995, 1264: 229-237)，或十八胺或己基胺基羰氧基膽固醇部分 (Crooke et al., J. Pharmacol.到期論文, 1996, 277: 923-937)。

【0474】在某些實施例中，配體改變其摻入其中的 iRNA 試劑的分佈、靶向或壽命。於某些實施例中，配體為選定的標靶提供了增強的親和力，例如，分子、細胞或細胞類型、隔室，例如，細胞或器官區室、組織、器官或身體區域，



例如，與不存在這種配體的物種相比。於某些實施例中，配體不參與雙鏈體核酸中的雙鏈體配對。

**【0475】** 配體可包括天然存在的物質，例如蛋白質（例如，人血清白蛋白（HSA）、低密度脂蛋白（LDL）或球蛋白）；碳水化合物（例如，葡聚糖、支鏈澱粉、幾丁質、殼聚糖、菊粉、環糊精、N-乙醯胺基葡萄糖、N-乙醯半乳糖胺或透明質酸）；或脂質。配體也可以是重組分子或合成分子，例如合成聚合物，例如，合成聚胺基酸。聚胺基酸的實例包括聚胺基酸是聚賴胺酸（PLL）、聚 L-天冬胺酸、聚 L-谷胺酸、苯乙烯-馬來酸酐共聚物、聚（L-丙交酯共糖化）共聚物、二乙基醚-馬來酸酐共聚物、N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺共聚物（HMPA）、聚乙二醇（PEG）、聚乙烯醇（PVA）、聚胺酯、聚（2-乙基丙烯酸）、N-異丙基丙烯醯胺聚合物或聚磷嗪。聚胺的實例包括：聚乙烯亞胺、聚賴胺酸（PLL）、精胺、亞精胺、聚胺、假肽聚胺、肽聚胺、樹枝狀多胺、精胺酸、脘、魚精蛋白、魚精蛋白、陽離子脂質、陽離子卟啉、聚胺的季鹽或  $\alpha$  螺旋肽。

**【0476】** 配體還可以包括靶向基團，例如，細胞或組織靶向劑，例如，凝集素、糖蛋白、脂質或蛋白質，例如，抗體，其與指定的細胞類型（例如腎細胞）結合。靶向基團可以是促甲狀腺激素、黑素促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性劑蛋白 A、粘蛋白碳水化合物、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯半乳糖胺、N-乙醯基葡萄糖胺、多價岩藻糖、糖基化多胺基酸、多價半乳糖、轉鐵蛋白、雙磷酸鹽、聚谷胺酸、聚天冬胺酸、脂質、膽固醇、類固醇、膽汁酸、葉酸、維生素 B12、維生素 A、生物素或 RGD 肽模擬物。在某些實施例中，配體是多價半乳糖，例如，N-乙醯半乳糖胺。

【0477】配體的其它實例包括染料、插層劑（例如吡啶）、交聯劑（例如補骨脂林、絲裂黴素 C）、卟啉（TPPC4、德沙卟啉、Sapphyrin）、多環芳烴（例如，吩嗪、二氫吩嗪）、人工內切酶（例如 EDTA）、親脂性分子，例如，膽固醇、膽酸、金剛烷乙酸、1-萘丁酸、二氫舉酮、1,3-雙-O（十六烷基）甘油、香葉氧基己基、十六烷基甘油、冰片醇、薄荷醇、1,3-丙二醇、七庚基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-（油醯基）石膽酸、O3-（油醯基）膽酸、二甲氧基三苯甲基或苯惡嗪）和肽接合物（例如，觸角肽，Tat 肽）、烷化劑、磷酸鹽、胺基、巰基、PEG（例如，PEG-40K）、MPEG、[MPEG]<sub>2</sub>、多胺基、烷基、取代烷基、放射性標記標記物、酶、半抗原（例如，生物素）、轉運/吸收促進劑（例如，阿司匹林、維生素 E、葉酸）、合成核糖核酸酶（例如，咪唑、雙咪唑、組胺、咪唑簇、吡啶-咪唑接合物、四氮唑環的 Eu<sup>3+</sup>複合物）、二硝基苯基、HRP 或 AP。

【0478】配體可以是蛋白質，例如，糖蛋白，或肽，例如，對共配體具有特定親和力的分子，或抗體，例如抗體，其與指定的細胞類型（例如肝細胞）結合。配體也可以包括激素和激素受體。它們還可以包括非肽物種，例如脂質、凝集素、碳水化合物、維生素、輔助因數、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯半乳糖胺、N-乙醯基胺基葡萄糖多價甘露糖或多價岩藻糖。配體可以是脂多糖，p38MAP 激酶的激活劑或 NF- $\kappa$ B 的激活劑。

【0479】配體可以是一種物質，例如，藥物，它可以增加 iRNA 試劑對細胞的攝取，例如，藉由破壞細胞的細胞骨架，例如，藉由破壞細胞的微管，微絲或中間絲。該藥物可以是，例如紫杉醇、長春新鹼、長春花鹼、胞查拉素、諾考達唑、海綿毒素(japlakinolide)、紅海海綿蛋白 A、鬼筆環肽(phalloidin)、海洋苔蘚素(swinholide)A、吡啶辛或肌舍文。

【0480】於某些實施例中，附接在本文所述的 iRNA 上的配體充當藥代動力學調節劑（PK 調節劑）。PK 調節劑包括親脂性試劑、膽汁酸、類固醇、磷脂類似物、肽、蛋白質結合劑、PEG、維生素等。示例性的 PK 調節劑包括但不限於膽固醇、脂肪酸、膽酸、石膽酸、二烷基甘油酯、二醯基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生、布洛芬、維生素 E、生物素。包含許多硫代磷酸酯鍵的寡核苷酸也已知與血清蛋白結合，因此短寡核苷酸，例如，約 5 個鹼基、10 個鹼基、15 個鹼基或 20 個鹼基的寡核苷酸，在主鏈中包含多個硫代磷酸酯鍵，也適合於作為配體（例如作為 PK 調節配體）。此外，結合血清成分的適配體（例如，血清蛋白）也適合用作本文所述的實施例中的 PK 調節配體。

【0481】本發明的配體接合 iRNA 可以藉由使用具有吊墜反應官能的寡核苷酸來合成，例如從連接分子附接到寡核苷酸上的寡核苷酸（如下所述）。這種反應性寡核苷酸可以直接與市售配體、合成的配體帶有各種保護基團中的任何一個或具有連接部分的配體反應。

【0482】用於本發明接合物的寡核苷酸可以藉由眾所周知的固相合成技術方便和常規地製造。用於這種合成的設備由幾家供應商出售，例如，包括應用生物系統®公司（加利福尼亞州福斯特城）。用於這種合成的任何其他方法可以另外或替代地採用本領域已知的。還已知使用類似的技術來製備其它寡核苷酸，例如硫代磷酸酯和烷基化衍生物。

【0483】在本發明的配體接合 iRNA 和含序列的配體分子特異性連接核苷中，寡核苷酸和寡核苷可以組裝在合適的 DNA 合成器上，利用標準核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸和寡核苷可以組裝在合適的 DNA 合成器上，利用標準核苷酸或核苷酸或核苷中，寡核苷酸和寡核苷前體，

或已經具有連接部分的核苷酸或核苷接合前體，配體核苷酸或核苷結合前體已經具有配體分子，或非核苷配體構建塊。

**【0484】** 當使用已經具有連接部分的核苷酸-接合前體時，序列特異性連接核苷酸的合成通常完成，然後配體分子與連接部分反應以形成配體接合寡核苷酸。於某些實施例中，本發明的寡核苷酸或連接核苷酸由自動合成器合成，除了市售且常規用於寡核苷酸合成的標準亞磷醯胺和非標準亞磷醯胺外，還使用衍生自配體-核苷酸接合物的亞磷醯胺合成。

#### A. 脂質接合物

**【0485】** 在某些實施例中，配體或接合物是基於脂質或脂質的分子。於一實施例中，這種脂質或基於脂質的分子結合血清蛋白，例如，人血清白蛋白（HSA）。HSA 結合配體允許將接合物分佈到靶組織，例如，身體的非腎臟靶組織。例如，目標組織可以是肝臟，包括肝臟的實質細胞。其他可以結合 HSA 的分子也可以用作配體。例如，可以使用萘普生或阿司匹林。脂質或脂質基配體可以（a）增加對接合物降解的抵抗力，（b）增加靶向或轉運到靶細胞或細胞膜中，或（c）可用於調節與血清蛋白的結合，例如，HSA。

**【0486】** 基於脂質的配體可用於抑制，例如，控制接合物與靶組織的結合。例如，與 HSA 結合更強的脂質或脂質基配體不太可能靶向腎臟，因此不太可能從體內清除。與 HSA 結合較弱的脂質或脂質基配體可用於靶向腎臟的接合物。

**【0487】** 在某些實施例中，基於脂質的配體結合 HSA。於一實施例中，它與 HSA 結合具有足夠的親和力，使得接合物將分佈到非腎臟組織。然而，優選親和力不能太強，以至於 HSA 配體結合不能逆轉。

【0488】 在其它實施例中，基於脂質的配體結合 HSA 較弱或根本不結合。於一實施例中，接合物將分佈到腎臟。靶向腎細胞的其他部分也可以代替或補充基於脂質的配體。

【0489】 於另一具體實施態樣中，配體是部分，例如，維生素，其被靶細胞（例如，增殖細胞）吸收。這些對於治療以不需要的細胞增殖為特徵的疾病特別有用，例如，惡性或非惡性類型，例如，癌細胞。典型的維生素包括維生素 A、E 和 K。其它示例性維生素包括 B 族維生素，例如，葉酸、B12、核黃素、生物素、吡哆醛或其它維生素或被靶細胞如肝細胞吸收的營養素。還包括 HSA 和低密度脂蛋白（LDL）。

#### B.細胞滲透劑

【0490】 於另一具體實施態樣中，配體是細胞滲透劑，例如，螺旋細胞滲透劑。於一實施例中，該藥劑是兩性。示例性試劑是肽，例如 tat 或觸角足突變肽 (antennopedia)。如果該試劑是肽，則可以對其進行修飾，包括肽類比物、嵌入體 (invertomers)、非肽或假肽鍵，以及使用 D-胺基酸。於一實施例中，螺旋劑是  $\alpha$ -螺旋劑，其具有親脂相和疏脂相。

【0491】 配體可以是肽或肽類比。肽類比物（在本文中也稱為寡肽單胞菌）是一種能夠摺疊成類似於天然肽的定義的三維結構的分子。肽和肽酶對 iRNA 試劑的附接可以影響 iRNA 的藥代動力學分佈，例如藉由增強細胞識別和吸收。肽或肽類比部分的長度可以是約 5-50 個胺基酸，例如，約 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸長。

【0492】 肽或肽類比物可以是，例如，細胞滲透肽、陽離子肽、兩性肽或疏水肽（例如，主要由 Tyr、Trp 或 Phe 組成）。所述肽部分可以是樹枝狀聚體

肽、約束肽或交聯肽。在另一種選擇中，肽部分可以包括疏水膜易位序列(MTS)。一種示例性的疏水性 MTS 含肽是 RFGF，其胺基酸序列 AAVALLPAVLLALLAP (SEQIDNO: 14) 含有疏水性 MTS 的 RFGF 類似物 (例如，胺基酸序列 AALLPVLLAAP (SEQIDNO: 15) 也可以是靶向部分。肽部分可以是「遞送」肽，它可以攜帶大極性分子，包括肽，寡核苷酸和蛋白質穿過細胞膜。例如，來自 HIVTat 蛋白 (GRKKRRQRRRPPQ (SEQIDNO: 16) 和果蠅天線蛋白 (RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQIDNO: 17)) 的序列已被發現能夠作為遞送肽發揮作用。肽或肽類比物可以藉由隨機的 DNA 序列進行編碼，例如從噬菌體展示庫中鑒定的肽，或單珠一化合物 (OBOC) 組合文庫 (Lam 等人, Nature, 354: 82-84, 1991)。肽或肽類比物的實例是藉由摻入的單體單元拴在 dsRNA 試劑上用於細胞靶向目的的精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸 (RGD) 肽，或 RGD 模擬物。肽部分的長度範圍從約 5 個胺基酸到約 40 個胺基酸。肽部分可以具有結構修飾，例如增加穩定性或直接構象性質。可以使用下面描述的任何結構修飾。

**【0493】** 用於本發明的組成物和方法的 RGD 肽可以是線性的或環狀的，並且可以被修飾，例如，糖基化或甲基化，以促進靶向特定組織。含 RGD 的肽和肽二元組學可能包括 D-胺基酸，以及合成的 RGD 類比物。除了 RGD 之外，還可以使用靶向整合素配體的其他部分，例如 PECAM-1 或 VEGF。

**【0494】** 「細胞滲透肽」是能夠滲透細胞的，例如，微生物細胞，例如細菌或真菌細胞，或哺乳動物細胞，例如人類細胞。微生物細胞滲透肽可以是例如  $\alpha$  螺旋線性肽 (例如，LL-37 或 CeropinP1)，含二硫鍵的肽 (例如， $\alpha$ -防禦素， $\beta$ -防禦素或巴藤內辛)，或者僅包含一種或兩種主要胺基酸的肽 (例如，PR-39 或 吡啶昔)。細胞滲透肽還可以包括核定位信號 (NLS)。例如，細胞滲透肽可以

是二分兩性肽，如 MPG，其衍生自 HIV-1gp41 的融合肽結構域和 SV40 大 T 抗原的 NLS (Simeoni 等人，Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003)。

### C. 碳水化合物接合物

**【0495】** 在本發明的組成物和方法的一些實施例中，iRNA 還包括碳水化合物。碳水化合物接合的 iRNA 有利於核酸的體內遞送，以及適合於體內治療用途的組成物，如本文所述。如本文所用，「碳水化合物」是指一種化合物，其本身是由一個或多個單糖單元組成的化合物，該單元具有至少 6 個碳原子（其可以是線性的、支鏈的或環狀的），並且氧、氮或硫原子鍵結到每個碳原子上；或者具有作為其一部分的化合物，該碳水化合物部分由一個或多個單糖單元組成，每個單元具有至少六個碳原子（其中可以是線性的、支化的或迴圈的），用氧、氮或硫原子鍵結到每個碳原子上。代表性碳水化合物包括糖（含有約 4、5、6、7、8 或 9 個單糖單位的單糖、二糖、三糖和低聚糖）和多糖，如澱粉、糖原、纖維素和多糖膠。特定的單糖包括 C5 及以上（例如，C5、C6、C7 或 C8）糖；二糖和三糖包括具有兩個或三個單糖單位的糖（例如，C5、C6、C7 或 C8）。

**【0496】** 在某些實施例中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合物接合物是單糖。

**【0497】** 在某些實施例中，單糖是 N-乙醯半乳糖胺 (GalNAc)。GalNAc 接合物，其包含一種或多種 N-乙醯半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物，例如在 US8, 106, 022 中描述，其全部內容特此藉由引用併入本文。於某些實施例中，GalNAc 接合物用作將 iRNA 靶向特定細胞的配體。於某些實施例中，GalNAc 接合物將 iRNA 靶向肝細胞，例如，藉由充當肝細胞（例如，肝細胞）的積層蛋白受體的配體。

【0498】於某些實施例中，碳水化合物接合物包含一種或多種 GalNAc 衍生物。GalNAc 衍生物可以藉由連接子連接，例如，二價或三價支鏈連接子。在一些實施方式中，GalNAc 接合物被接合到正義股的'3 端。於某些實施例中，GalNAc 接合物藉由連子子（例如，藉由本文所述的連接子）與 iRNA 試劑接合（例如，到正義股的 3'-端）。在一些實施例中，GalNAc 接合物被接合到正義股的 5'-端。於某些實施例中，GalNAc 接合物藉由連接子（例如，藉由本文所述的連接子）與 iRNA 試劑接合（例如，到正義股的 5'-端）。

【0499】在本發明的某些實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由單價連接子連接到本發明的 iRNA 試劑。於某些實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由二價連接子附接在本發明的 iRNA 試劑。在本發明的又一實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由三價連接子附接在本發明的 iRNA 試劑。在本發明的其它實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由四價連接子附接在本發明的 iRNA 試劑。

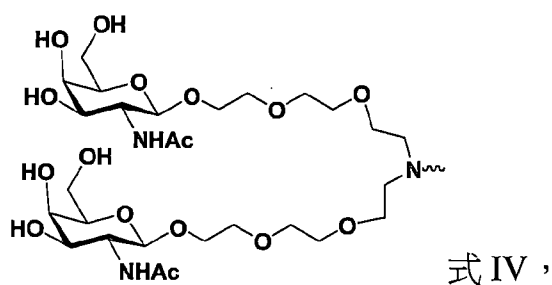
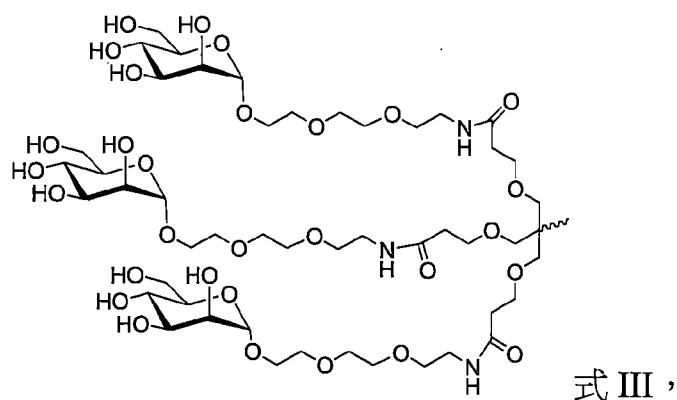
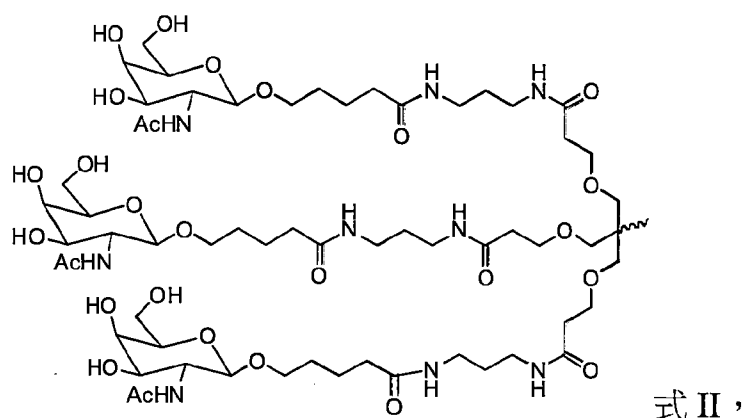
【0500】在某些實施例中，本發明的雙鏈體 RNAi 試劑包括一種附接在 iRNA 試劑上的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。在某些實施例中，本發明的雙鏈體 RNAi 試劑包括多個（例如，2、3、4、5 或 6）GalNAc 或 GalNAc 衍生物，每個衍生物獨立地藉由多個單價連接子連接到雙鏈體 RNAi 試劑的多個核苷酸。

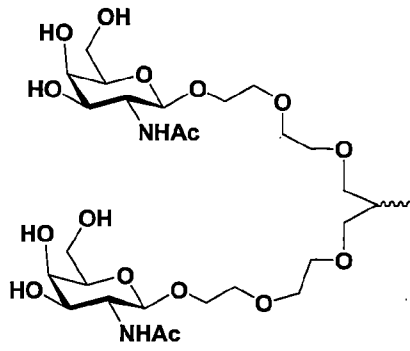
【0501】於某些實施例中，例如，當本發明的 iRNA 試劑的兩股是一個較大分子的一部分時，由一股的 3'-端和 5'-端的一股連接的不間斷的核苷酸鏈和分別形成髮夾莖環，包括多個不成對的核苷酸，髮夾莖環內每個未成對的核苷酸可以獨立地包含藉由一價連接子連接的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾莖環也可以由雙鏈體一股中的延伸突出形成。



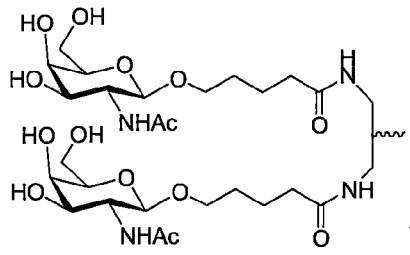
【0502】於某些實施例中，例如，當本發明的 iRNA 試劑的兩股是一個較大分子的一部分時，由一股的 3'-端和 5'-端的一股連接的不間斷的核苷酸鏈和分別形成髮夾莖環，包括多個不成對的核苷酸，髮夾莖環內每個未成對的核苷酸可以獨立地包含藉由一價連接子連接的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾莖環也可以由雙鏈體一股中的延伸突出形成。

【0503】於一實施例中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合物接合物選自下列組成的群組：

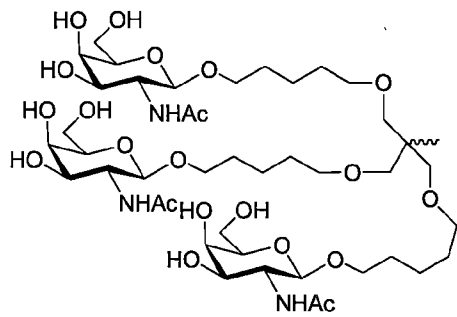




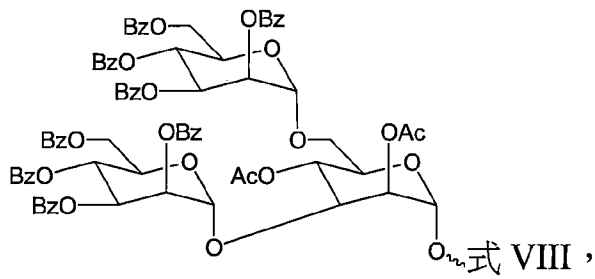
式 V,



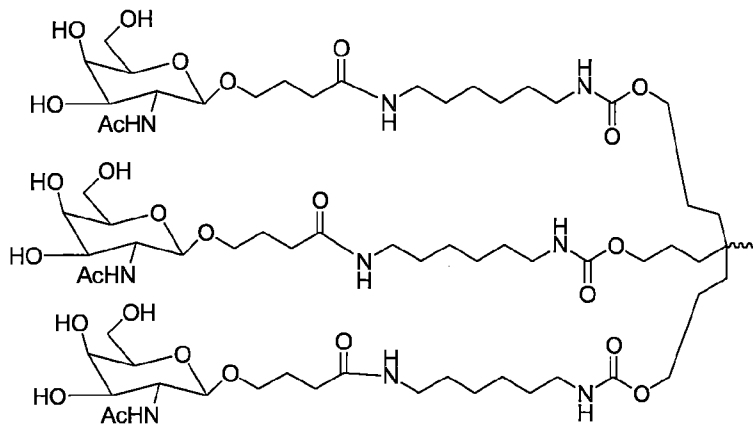
式 VI,



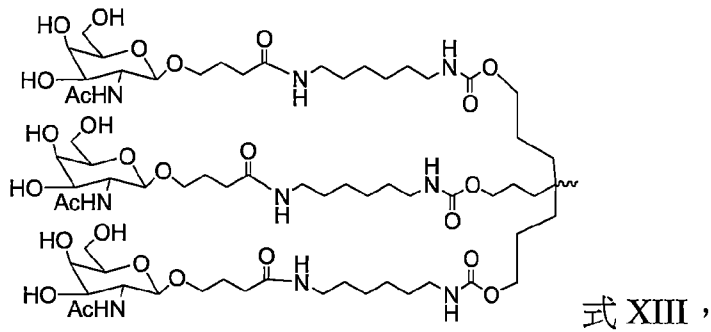
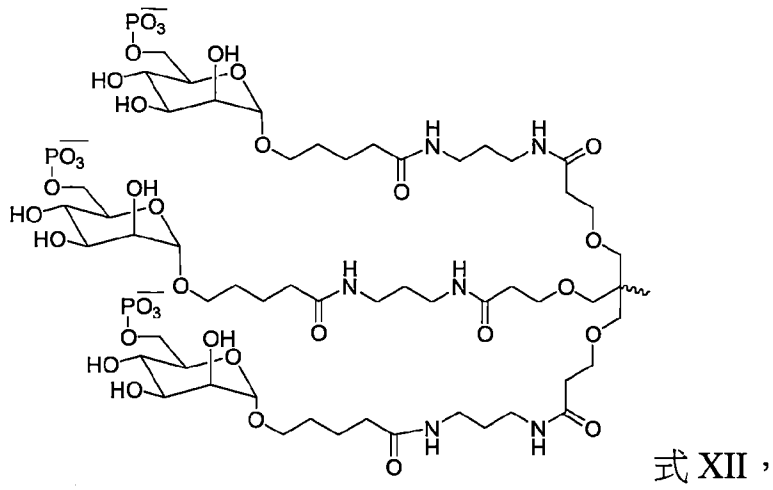
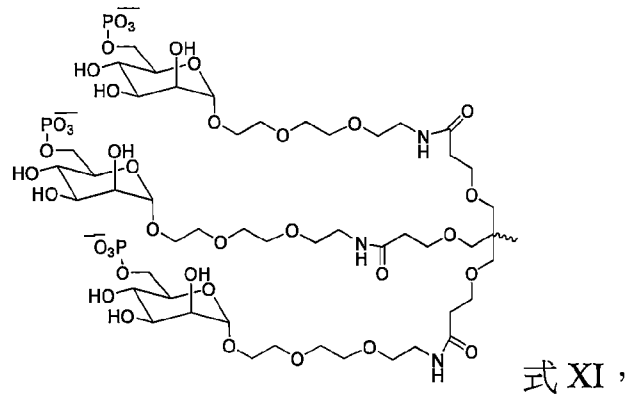
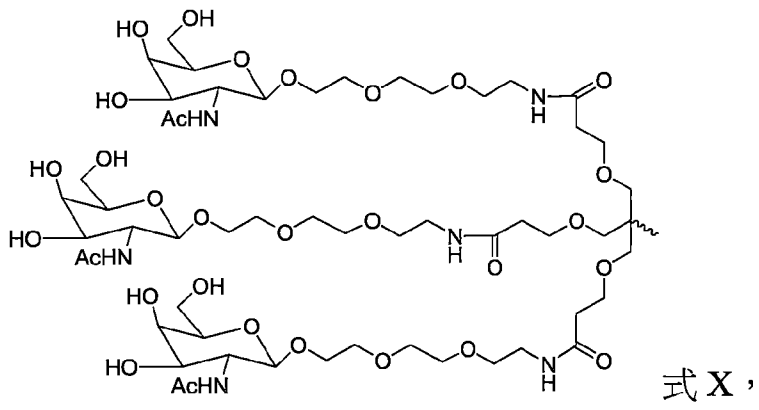
式 VII,

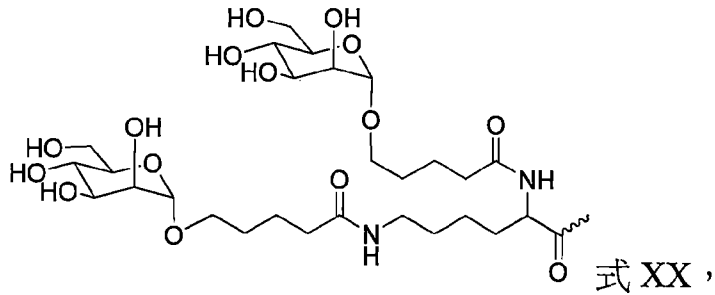
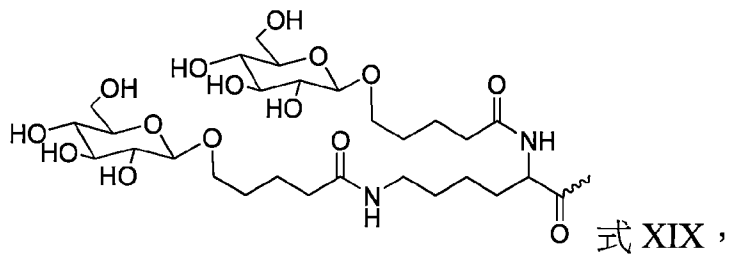
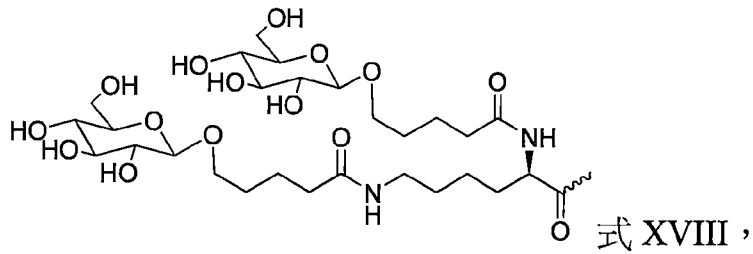
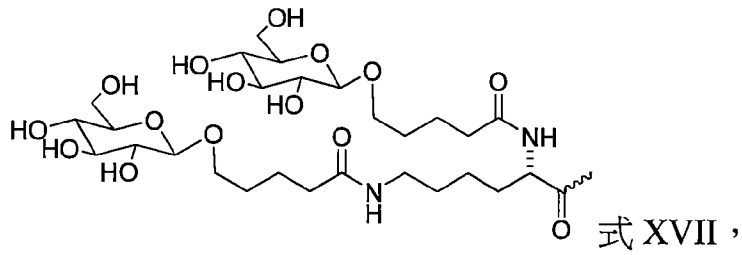
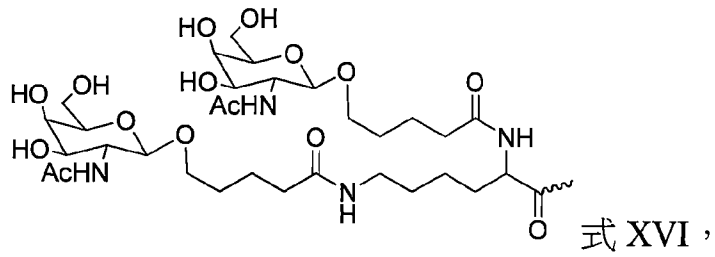
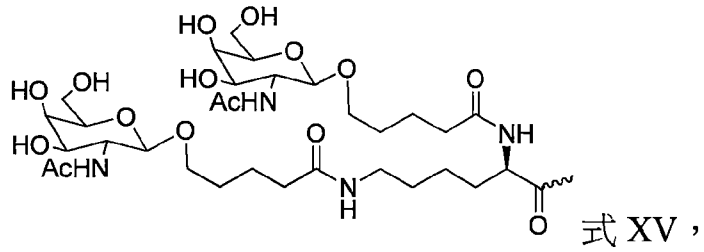
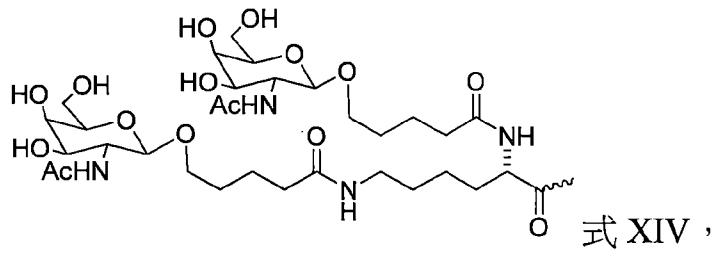


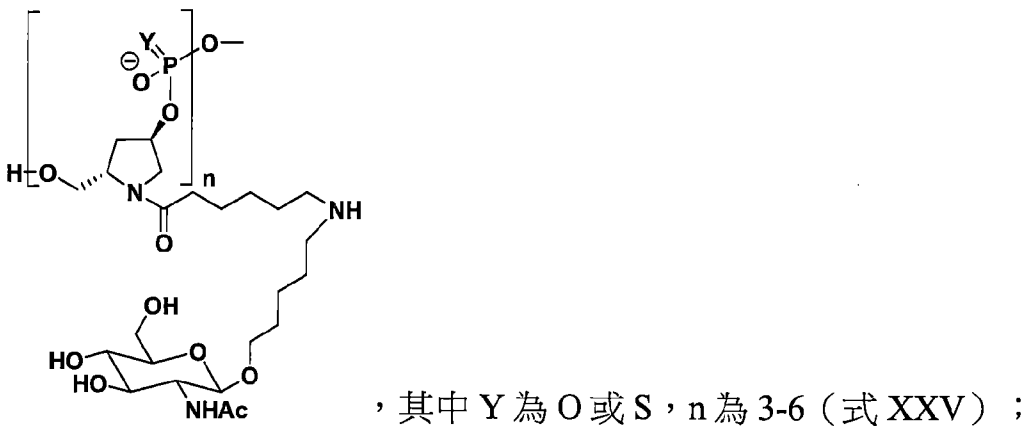
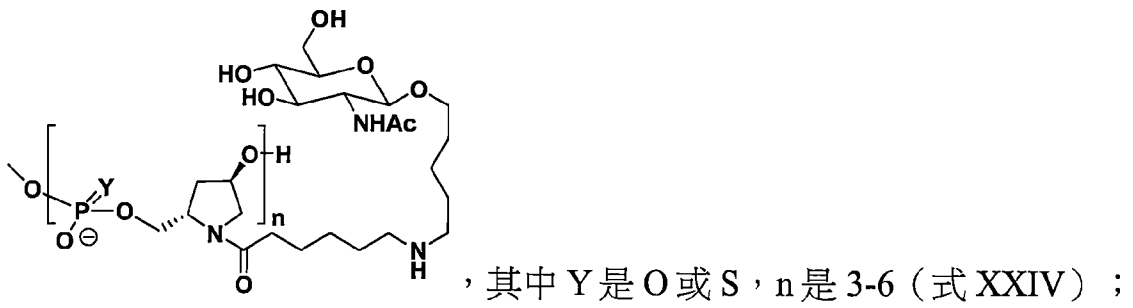
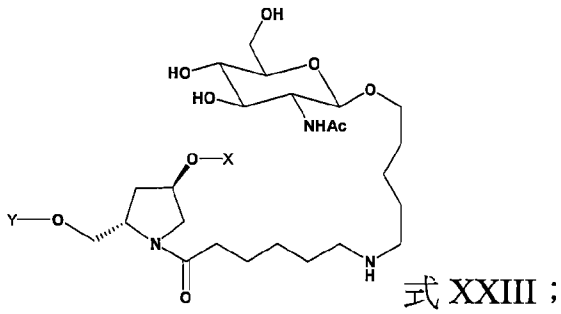
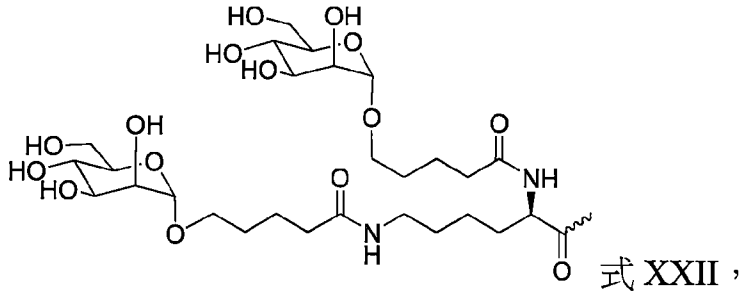
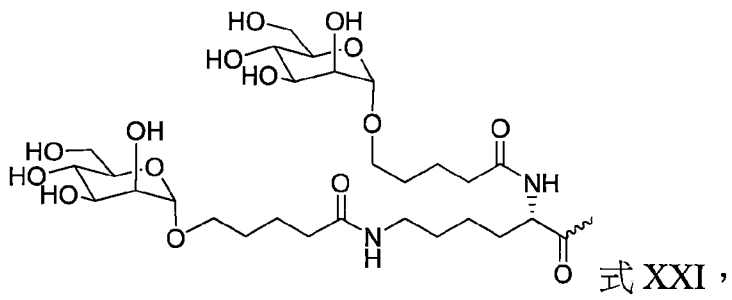
式 VIII,

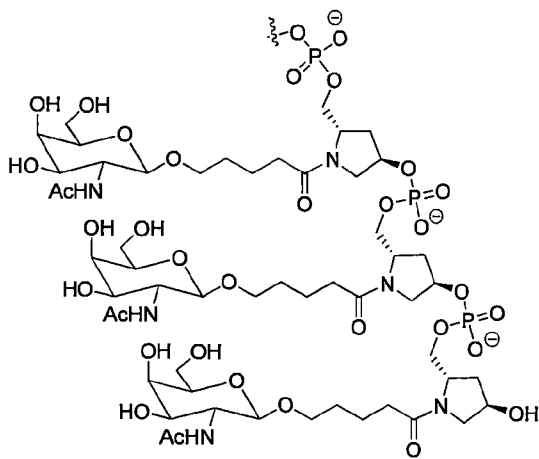
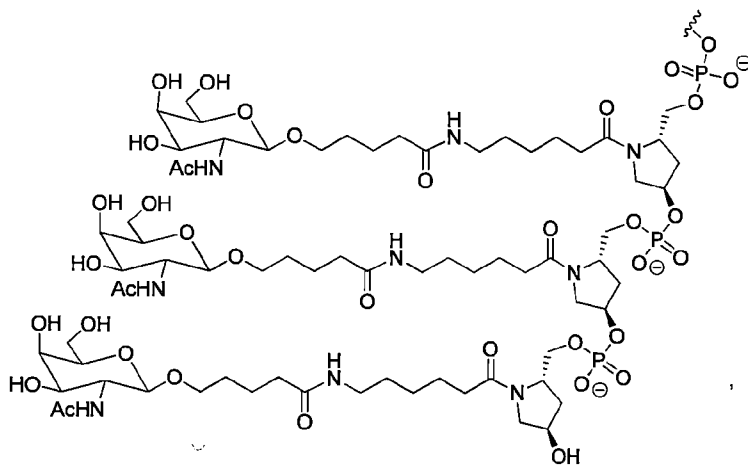
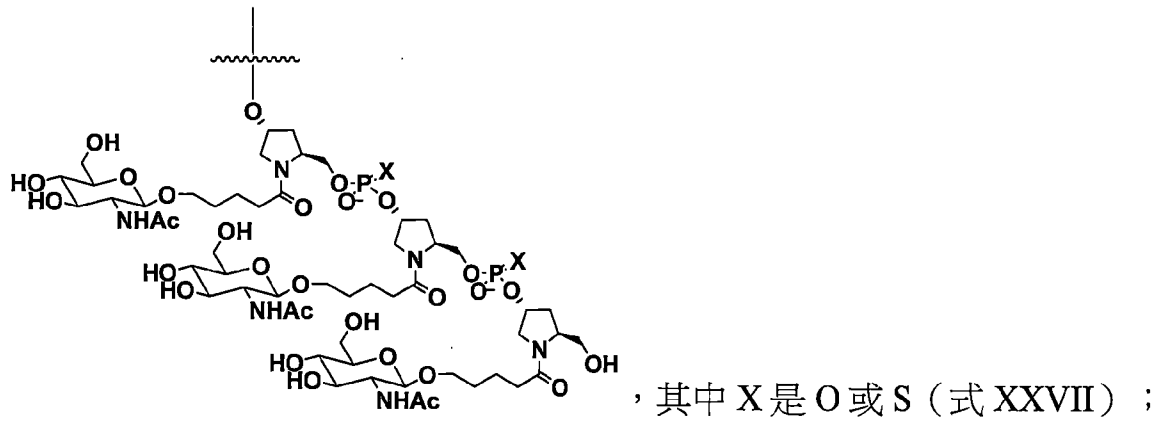
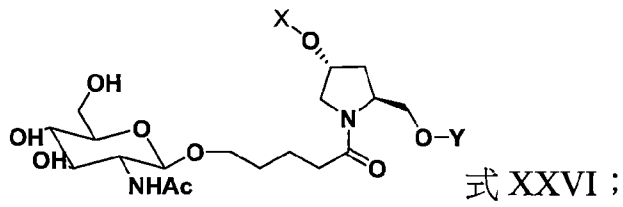


式 IX,

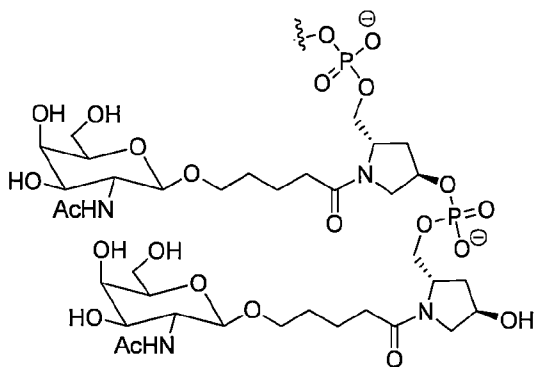
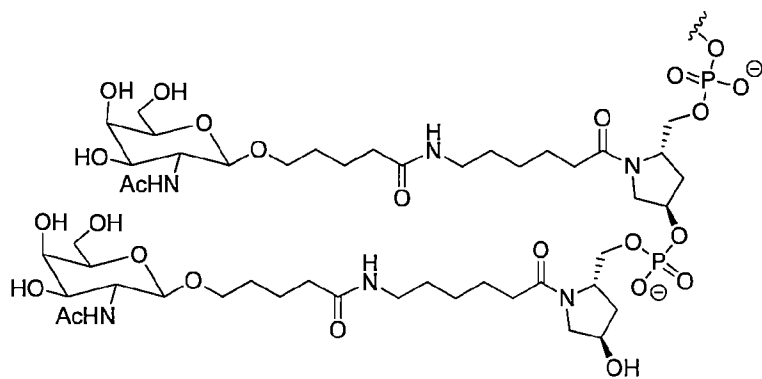






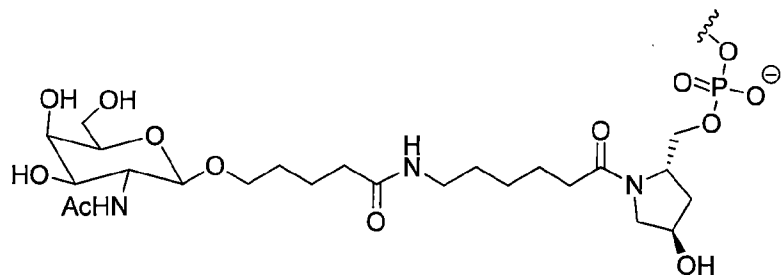


式 XXVII ; 式 XXIX ;

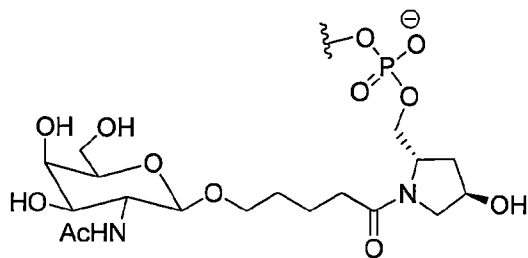


式 XXX ;

式 XXXI ;

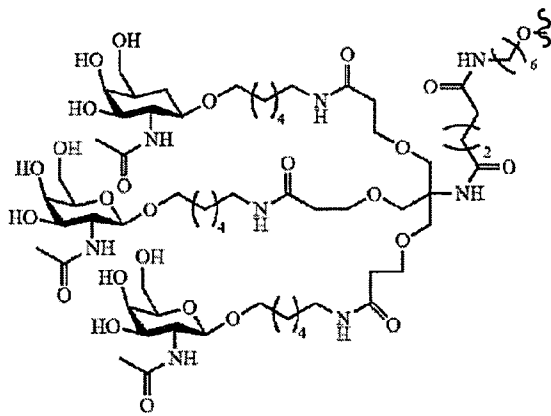


，以及



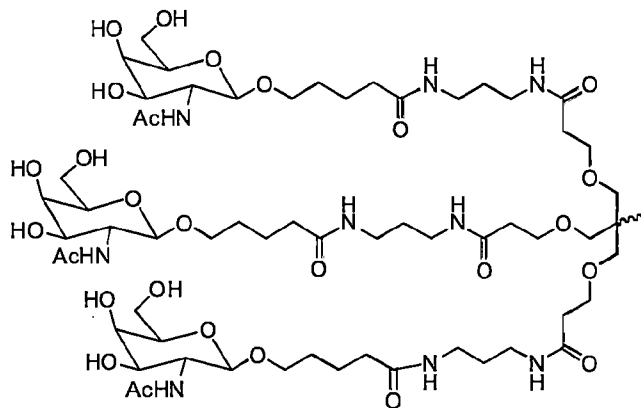
式 XXXII ;

式 XXXIII 。



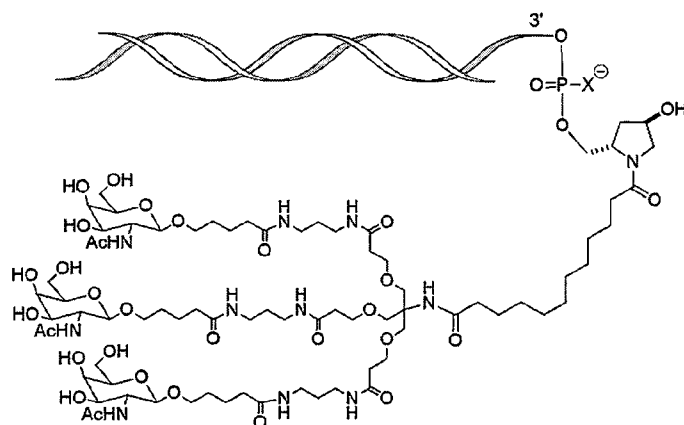
式 XXXIV。

【0504】於另一實施例中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合物接合物是單糖。於一實施例中，該單糖是 N-乙醯半乳糖胺，例如



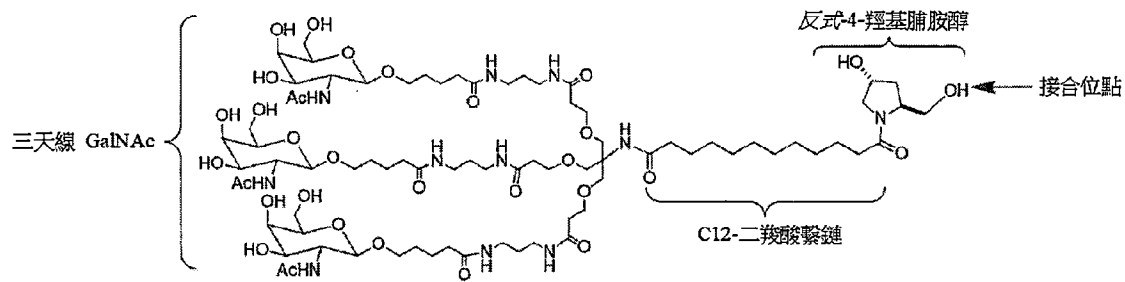
式 II。

【0505】於某些實施例中，RNAi 試劑藉由如下方案所示的連接子附接在碳水化合物接合物，其中 X 為 O 或 S

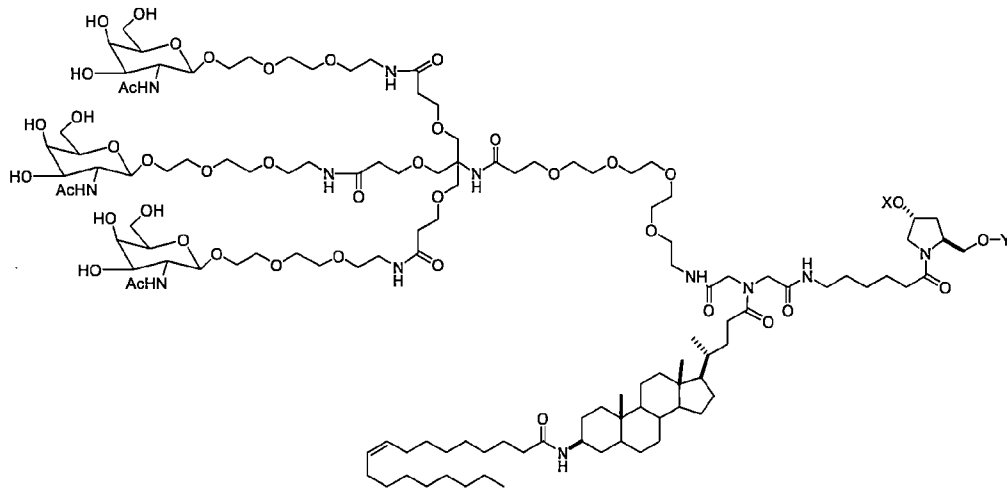




【0506】於某些實施例中，RNAi 試劑與 L96 接合如表 1 所示，如下所示：

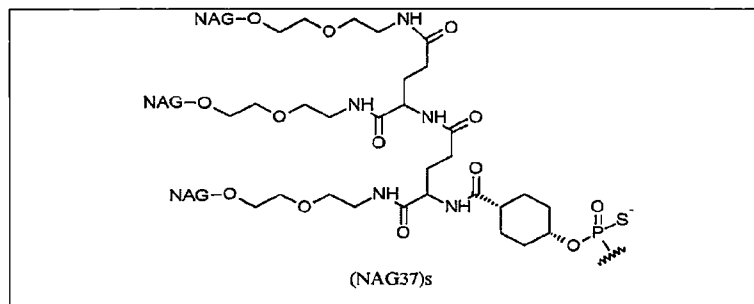


【0507】用於本文所述的實施例中的另一種代表性碳水化合物接合物包括但不限於，



(式 XXXVI)，當 X 或 Y 中的一個是寡核苷酸時，另一個是氫。

【0508】於某些實施例中，合適的配體是 WO 2019/055633 中公開發的配體，其全部內容藉由引用併入本文。於一實施例中，配體包括如下結構：



【0509】 在本發明的某些實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由單價連接子連接到本發明的 iRNA 試劑。於某些實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由二價連接子附接在本發明的 iRNA 試劑。在本發明的又一實施例中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由三價連接子附接在本發明的 iRNA 試劑上。

【0510】 於一實施例中，本發明的雙鏈體 RNAi 試劑包括一個或多個附接在 iRNA 試劑上的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。GalNAc 可以藉由正義股或斜鏈上的連接子連接到任何核苷酸。GalNAc 可以連接到感束的 5'-端，感線的 3'-端，反義股的 5'-端或反義股的 3'-端。在一個實施例中，GalNAc 被連接到感線的 3'-端，例如，藉由三價連接子。

【0511】 在其它實施例中，本發明的雙鏈體 RNAi 試劑包括多個（例如，2、3、4、5 或 6）GalNAc 或 GalNAc 衍生物，每個衍生物獨立地藉由多個連接子連接到多個雙鏈體 RNAi 試劑的核苷酸上，例如，一價連接子。

【0512】 於某些實施例中，例如，當本發明的 iRNA 試劑的雙股是由一股的 3'-端和 5'-端的相應另一股之間不間斷的核苷酸鏈連接的一個較大分子的一部分時，形成一個髮夾莖環，包括多個不成對的核苷酸，髮夾莖環內的每個未成對的核苷酸可以獨立地包含藉由一價連接子連接的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。

【0513】 於某些實施例中，碳水化合物接合物還包括一個或多個如上所述的附加配體，例如，但不限於，PK 調節劑或細胞滲透肽。

【0514】 適合在本發明中使用的其他碳水化合物接合物和連接子包括 PCT 公開號中描述的那些。WO 2014/179620 和 WO 2014/179627，其全部內容藉由引用併入本文。

#### D. 連接子

【0515】於某些實施例中，本文中描述的接合物或配體可以連接到具有可裂解或不可裂解的各種連接子的 iRNA 寡核苷酸。

【0516】術語「連結子」或「連結基團」是指連接化合物的兩個部分的有機部分，例如，共價連接化合物的兩個部分。直接鍵或原子如氧或硫的連接子，如 NR<sub>8</sub>、C(O)、C(O)NH、SO、SO<sub>2</sub>、SO<sub>2</sub>NH 或原子鏈，例如，但不限於，被取代或未取代的烷基、被取代或未取代的烯基、被取代或未取代的炔基、芳基烷基、芳烯基、芳基烷基、雜芳基烷基、雜芳基烯基、雜芳基烷基、雜環基烷基、雜環基烷基、雜環基烷基、芳基、雜芳基、雜環基、環烷基、環烯基、環烯基、烷基芳基、烷基芳基、烷基芳基烯基、烷基芳基烷基、烯基芳基烷基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、炔基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基烯基、烷基異芳基烷基、烯基異芳基烷基、烯基雜芳基烷基、炔基異芳基烷基、炔基異芳基烯基、炔基雜芳基烷基、烷基雜環基烷基、烷基雜環基烯基、烷基異環基烯基、烯基異環基烷基、烯基異環基烷基、烯基雜環烯基、烯基雜環烯基、炔基雜環基烷基、炔基雜環基烯基、炔基雜環烯基、炔基雜環烯基、烷基異環基烷基、烷基芳基、烷基異環烯基、烷基異芳基，其中一種或多種亞甲基乙烯被 O，S，S(O)，SO<sub>2</sub>，N(R<sub>8</sub>)，C(O)，取代或未取代的芳基，取代或未取代的雜芳基，或取代或未取代的雜環中斷或終止；其中 R<sub>8</sub> 是氫，鹵基，脂肪族或取代的脂肪族。於一實施例中，所述連接子約為 1-24 個原子、2-24、3-24、4-24、5-24、6-24、6-18、7-18、8-18、7-17、8-17、6-16、7-17 或 8-16 個原子。

【0517】可裂解的連接基團是在細胞外足夠穩定的基團，但在進入靶細胞時被裂解以釋放連接子保持在一起的兩個部分。在示例性實施例中，可裂解連接

基團在目標細胞中或在第一參考條件下（例如，可以選擇類比或表示細胞內條件）中比在個體血液中裂解至少約 10 次、20 次、30 次、40 次、50 次、60 次、70 次、80 次、90 倍或更多，或至少快 100 倍，或在第二個參考條件下（例如，可以選擇其來模仿或代表在血液或血清中發現的條件）。

**【0518】** 可裂解的連接基團容易受到裂解劑的影響，例如，pH 值、氧化還原電位或降解分子的存在。通常，與血清或血液相比，裂解劑在細胞內更普遍或更高水平或活動。這種降解劑的例子包括：為特定受質選擇的氧化還原劑或沒有受質特異性的氧化還原劑，例如，包括，存在於細胞中的氧化或還原酶或還原劑如硫醇，其可以藉由還原降解氧化可裂解的連接基團；酯酶；內體或可以產生酸性環境的試劑，例如，那些導致 pH 值為 5 或更低的；酶，藉由作為一般酸、肽酶（可以是受質特異性）和磷酸酶，可以水解或降解酸可裂解連接基團。

**【0519】** 可裂解的鍵結基團，如二硫鍵，可對 pH 值敏感。人血清的 pH 值為 7.4，而細胞內平均 pH 值略低，範圍約為 7.1-7.3。內體具有更酸性的 pH 值，在 5.5-6.0 的範圍內，而溶酶體在 5.0 左右具有更酸性的 pH 值。一些連接子將具有可裂解的連接基團，該基團在選定的 pH 下被裂解，從而從細胞內的配體釋放陽離子脂質，或釋放到所需的細胞隔室中。

**【0520】** 連接子可以包括可由特定酶裂解的可裂解連結基團。合併到連接子中的可裂解連結基團的類型可能取決於要靶向的細胞。例如，肝臟靶向配體可以藉由包含酯基的連接子與陽離子脂質連接。肝細胞富含酯酶，因此與不富含酯酶的細胞類型相比，肝細胞中的連接子將被更有效地裂解。其他富含酯酶的細胞類型包括肺細胞、腎皮質細胞和睪丸細胞。

【0521】含有肽鍵的连接子可用於靶向富含肽酶的細胞類型，例如肝細胞和滑膜細胞。

【0522】通常，可以藉由測試降解劑（或條件）裂解候選連結組的能力來評估候選可裂解連結組的適用性。還希望測試候選可裂解連接基團是否能夠抵抗血液中的裂解或與其它非靶組織接觸時。因此，可以確定第一和第二條件之間的相對易碎性，其中第一個條件被選為指示靶細胞中的裂解，並且選擇第二個條件以指示其它組織或生物體液（例如，血液或血清）中的裂解。評估可以在無細胞系統，細胞，細胞培養，器官或組織培養物或整個動物中進行。在無細胞或培養條件下進行初步評估並藉由對整個動物的進一步評估進行確認是有用的。在某些實施例中，有用的候選化合物在細胞中（或在體外條件下選擇模仿細胞內條件）比血液或血清（或在體外條件下選擇模仿細胞內條件）裂解至少約 2，4，10，20，30，40，50，60，70，80，90 或 100 倍。

#### i. 氧化還原可裂解連結基團

【0523】在某些實施例中，可裂解連接基團是在還原或氧化時被裂解的氧化還原可裂解連接基團。可還原裂解連結基團的一個例子是二硫化物連接基團（-S-S-）。為了確定候選可裂解連結基團是否是合適的「可還原可裂解鏈接基團」，或者例如適合與特定的 iRNA 部分和特定的靶向劑一起使用，可以查看本文中描述的方法。例如，候選物可以藉由與二硫磷脂醇（DTT）或其它還原劑一起孵育來評估，使用本領域已知的試劑，其類比將在細胞中觀察到的裂解速率，例如，靶細胞。候選物也可以在選擇類比血液或血清條件的條件下進行評估。在其中一種情況下，候選化合物在血液中最多被裂解約 10%。在其它實施例中，有用的候選化合物在細胞中降解的速度至少比血液（或在體外條件下選擇模擬細

胞內條件) 快約 2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90 或約 100 倍。候選化合物的裂解速率可以在選擇模擬細胞內培養基的條件下使用標準酶動力學測定來確定，並與選擇模擬細胞外培養基的條件進行比較。

### ii. 磷酸酯基可裂解連接基團

**【0524】** 在其它實施例中，可裂解連接子包括基於磷酸酯的可裂解連接基團。基於磷酸酯的可裂解連接基團被降解或水解磷酸基團的試劑裂解。在細胞中裂解磷酸基團的一個例子是細胞中的磷酸酶等酶。磷酸酯基連接基團的例子是-O-P(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(SRk)-O-, -S-P(ORk)-O-, -O-P(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)-O-, -S-P(O)-O-, -S-P(S)(Rk)-O-, -S-P(O)-S-, -O-P(S)(Rk)-S-, 其中 Rk 在每次出現時可以獨立地為 C1-C20 烷基，C1-C20 鹵代烷基，C6-C10 芳基或 C7-C12 芳烷基。示例性實施例包括-O-P(O)(OH)-O-, -O-P(S)(OH)-O-, -O-P(S)(SH)-O-, -S-P(O)(OH)-O-, -O-P(O)-S-, -S-P(O)-S-, -O-P(S)(OH)-S-, -S-P(S)(OH)-O-, -O-P(O)(H)-O-, -O-P(S)(H)-O-, -S-P(O)(H)-O-, -S-P(O)(H)-S-S-, 和-O-P(S)(H)-S-S-。在某些實施例中，磷酸鹽基連接基團是-O-P(O)(OH)-O-。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

### iii. 酸性可裂解連接基團

**【0525】** 在其它實施例中，可裂解連接子包括酸性可裂解連接基團。酸性可裂解連接基團是在酸性條件下被裂解的連結基團。在某些實施例中，酸可裂解連接基團在 pH 值約為 6.5 或更低（例如，約 6.0，5.5，5.0 或更低）的酸性環境中裂解，或藉由可充當一般酸的酶等試劑進行裂解。在細胞中，特定的低 pH 細胞

器，如內體和溶酶體，可以為酸裂解連接基團提供裂解環境。酸可裂解連接基團的實例包括但不限於胺、酯和胺基酸的酯。酸性可裂解基團可以具有通式- $C=NN-$ 、 $C(O)O$  或  $-OC(O)$ 。一個示例性實施例是當附接在氧上的碳（烷氧基）是芳基、取代的烷基或叔烷基，例如二甲基戊基或第三丁基時。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

#### iv. 基於酯的連結組

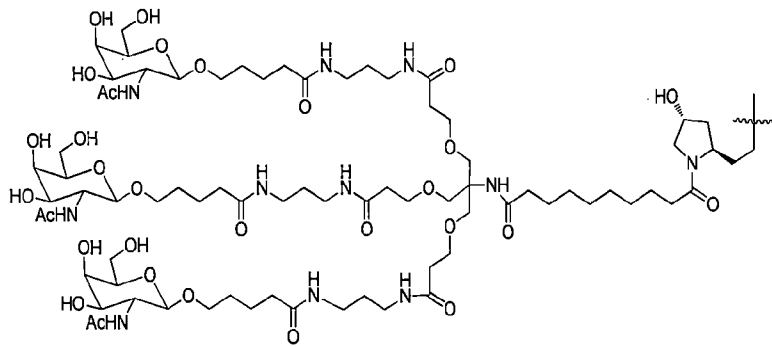
**【0526】** 在其它實施例中，可裂解連接子包括基於酯的可裂解連結基團。基於酯的可裂解連接基團被細胞中的酯酶和醯胺酶等酶裂解。酯基可裂解連接基團的實例包括但不限於亞(伸)烷基、亞(伸)烯基和亞(伸)炔基的酯類。酯可裂解連結基團的一般式為  $-C(O)O-$  或  $-OC(O)-$ 。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

#### v. 基於肽的裂解基團

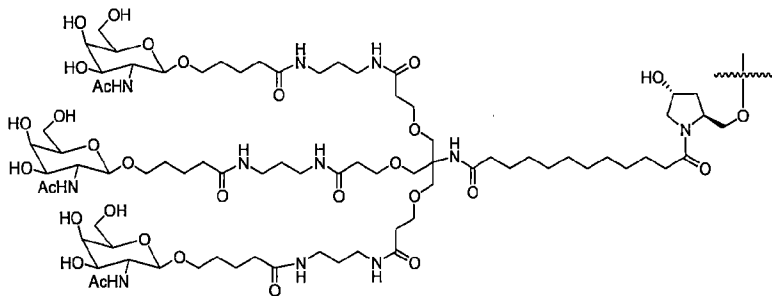
**【0527】** 在另一個其它實施例中，可裂解連接子包括基於肽的可裂解連接基團。基於肽的可裂解連接基團由細胞中的肽酶和蛋白酶等酶裂解。基於肽的可裂解連接基團是在胺基酸之間形成的肽鍵，以產生寡肽（例如，二肽，三肽等）和多肽。基於肽的可裂解基團不包括醯胺基團（ $-C(O)NH-$ ）。醯胺基可以在任何亞(伸)烷基、亞(伸)烯基或亞(伸)炔基之間形成。肽鍵是胺基酸之間形成的一種特殊類型的醯胺鍵，用於產生肽和蛋白質。基於肽的裂解基團通常局限於在產生肽和蛋白質的胺基酸之間形成的肽鍵（即，醯胺鍵），並且不包括整個醯胺官能團。基於肽的可裂解連接基團具有一般式  $-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-$ ，其中 **RA** 和 **RB** 是兩個相鄰胺基酸的 **R** 基團。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

【0528】於某些實施例中，本發明的 iRNA 藉由連接子與碳水化合物接合。

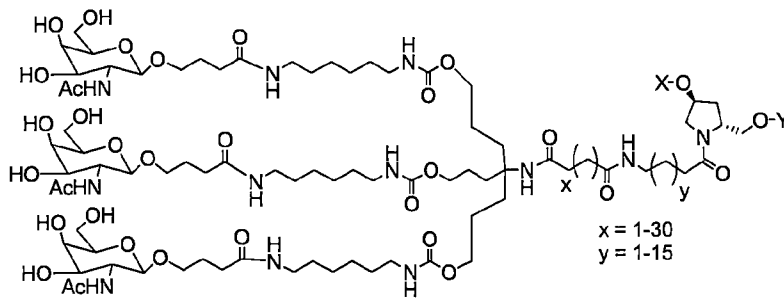
iRNA 碳水化合物接合物與本發明組成物和方法的接合物的非限制性實例包括但不限於，



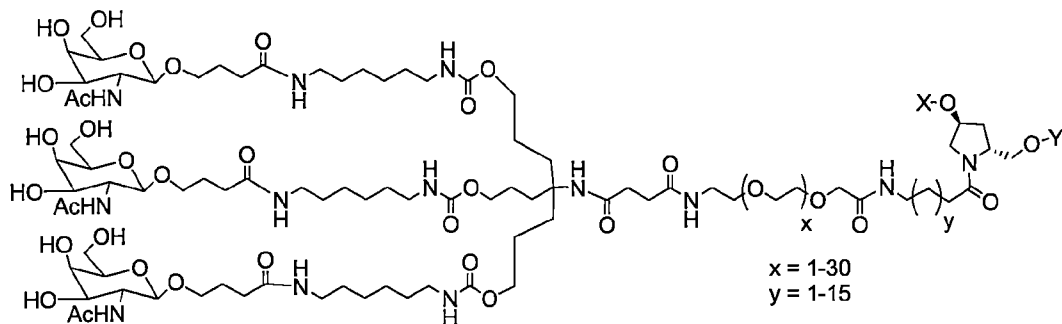
(式 XXXVII) ，



(式 XXXVIII) ，

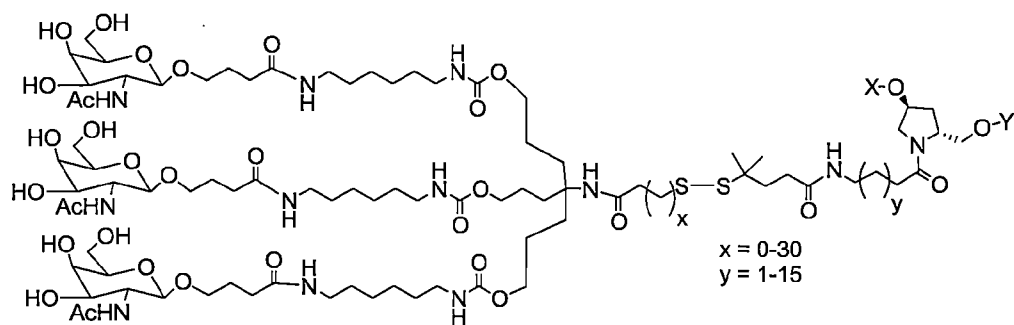


(式 XXXVIII) ，

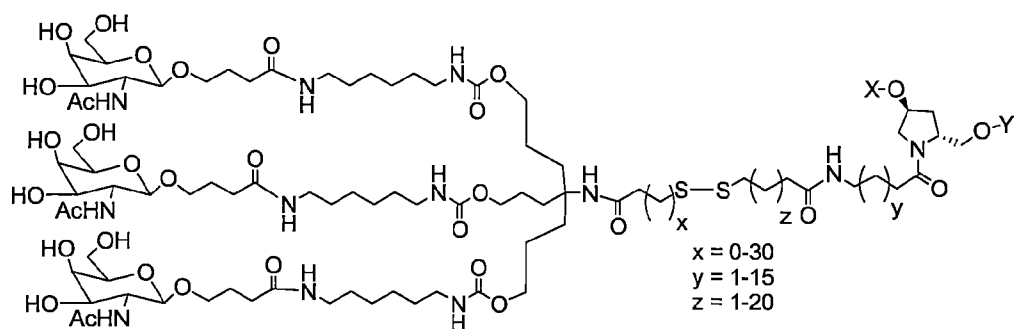


(式 XL) ，

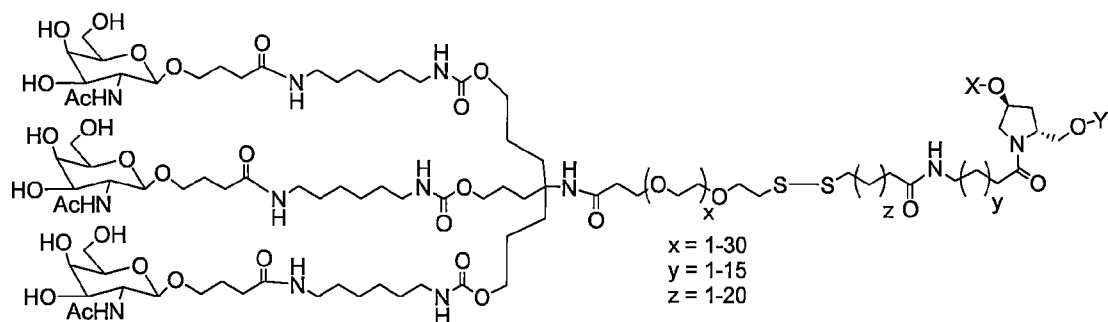




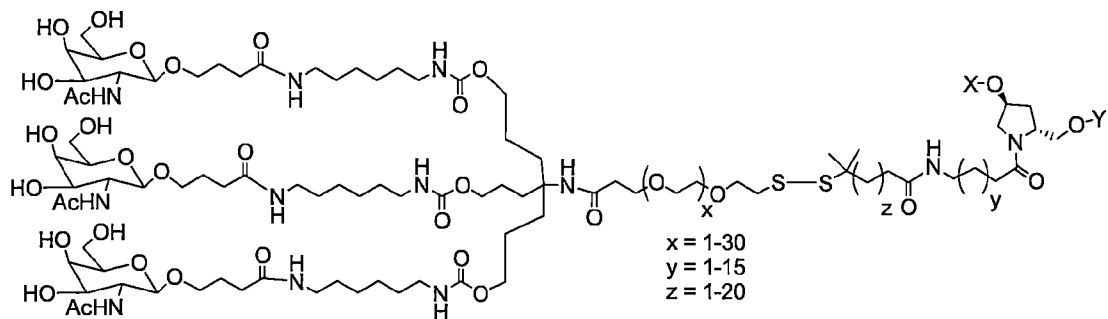
(式 XLI) ,



(式 XLII) ,



(式 XLIII) , 以及

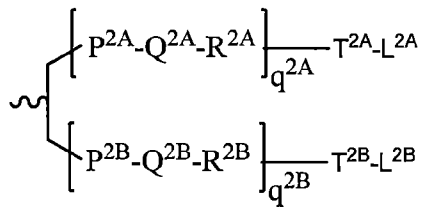


(式 XLIV) , 當 X 或 Y 中的一個是寡核苷酸時, 另一個是氫。

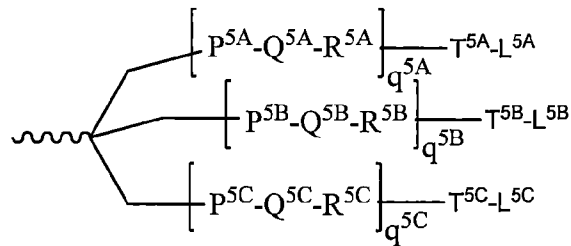
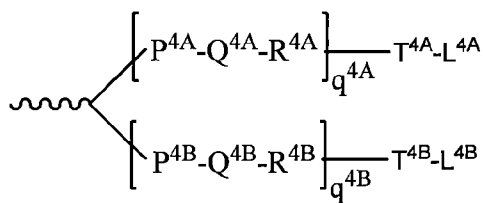
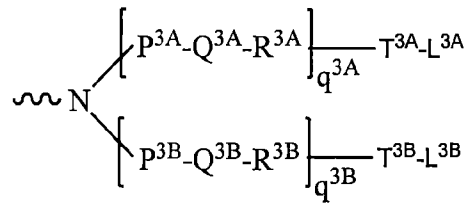
【0529】 在本發明的組成物和方法的某些實施例中，配體是藉由二價或三價支鏈連接劑連接的一種或多種「GalNAc」（N-乙醯半乳糖胺）衍生物。

【0530】 於一實施例中，本發明的 dsRNA 與選自式 (XLV) 中所示的任何結構組 (XLV) - (XLVI) 中所示的二價或三價支鏈連接子接合：

【0531】 式 XXXXV



式 XLVI



式 XLVII

式 XLVIII

其中：

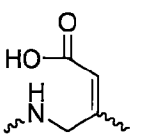
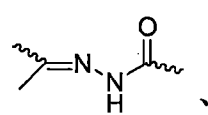
q<sup>2A</sup>、q<sup>2B</sup>、q<sup>3A</sup>、q<sup>3B</sup>、q<sup>4A</sup>、q<sup>4B</sup>、q<sup>5A</sup>、q<sup>5B</sup> 和 q<sup>5C</sup> 分別表示每個出現 0-20，其中重複單元可以相同或不同；

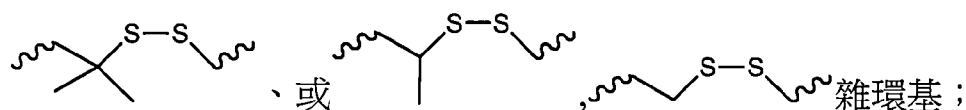
P<sup>2A</sup>、P<sup>2B</sup>、P<sup>3A</sup>、P<sup>3B</sup>、P<sup>4A</sup>、P<sup>4B</sup>、P<sup>5A</sup>、P<sup>5B</sup>、P<sup>5C</sup>、T<sup>2A</sup>、T<sup>2B</sup>、T<sup>3A</sup>、T<sup>3B</sup>、T<sup>4A</sup>、T<sup>4B</sup>、T<sup>4A</sup>、T<sup>5B</sup>、T<sup>5C</sup> 於每次出現時獨立地不存在或係 CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、CH<sub>2</sub>、CH<sub>2</sub>NH 或 CH<sub>2</sub>O；

Q<sup>2A</sup>、Q<sup>2B</sup>、Q<sup>3A</sup>、Q<sup>3B</sup>、Q<sup>4A</sup>、Q<sup>4B</sup>、Q<sup>5A</sup>、Q<sup>5B</sup>、Q<sup>5C</sup> 於每次出現時係獨立為不存在或係伸烷基、經取代之伸烷基(其中，一個或多個亞甲基可藉由

O、S、S(O)、SO<sub>2</sub>、N(R<sup>N</sup>)、C(R')=C(R'')、C≡C 或 C(O)之一者或多者中斷或封端)；

R<sup>2A</sup>、R<sup>2B</sup>、R<sup>3A</sup>、R<sup>3B</sup>、R<sup>4A</sup>、R<sup>4B</sup>、R<sup>5A</sup>、R<sup>5B</sup>、R<sup>5C</sup> 於每次出現時獨立地不存在或係 NH、O、S、CH<sub>2</sub>、C(O)O、C(O)NH、NHCH(R<sup>a</sup>)C(O)、-C(O)-

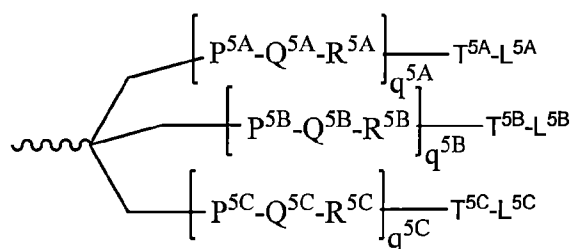
CH(R<sup>a</sup>)-NH-、CO、CH=N-O、、、



【0532】 L<sup>2A</sup>、L<sup>2B</sup>、L<sup>3A</sup>、L<sup>3B</sup>、L<sup>4A</sup>、L<sup>4B</sup>、L<sup>5A</sup>、L<sup>5B</sup> 及 L<sup>5C</sup> 係代表配體；

即每個獨立地為每種單糖（如 GalNAc）、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖而單獨出現；而 Ra 是 H 或胺基酸的側鏈。三價接合 GalNAc 衍生物特別適用於與 RNAi 試劑一起用於抑制靶基因的表現，例如式 (XLIX) 的那些：

式 XLIX



其中 L<sup>5A</sup>、L<sup>5B</sup> 和 L<sup>5C</sup> 代表單糖，如 GalNAc 衍生物。

【0533】 合適的二價和三價支鏈連接子基團接合 GalNAc 衍生物的實例包括但不限於上述列舉的結構為式 II、VII、XI、X 和 XIII。

【0534】 教示 RNA 接合物之製備之代表性美國專利包括但不限於，美國專利 4,828,979；4,948,882；5,218,105；5,525,465；5,541,313；5,545,730；

5,552,538 ; 5,578,717,5,580,731 ; 5,591,584 ; 5,109,124 ; 5,118,802 ; 5,138,045 ;  
5,414,077 ; 5,486,603 ; 5,512,439 ; 5,578,718 ; 5,608,046 ; 4,587,044 ; 4,605,735 ;  
4,667,025 ; 4,762,779 ; 4,789,737 ; 4,824,941 ; 4,835,263 ; 4,876,335 ; 4,904,582 ;  
4,958,013 ; 5,082,830 ; 5,112,963 ; 5,214,136 ; 5,082,830 ; 5,112,963 ; 5,214,136 ;  
5,245,022 ; 5,254,469 ; 5,258,506 ; 5,262,536 ; 5,272,250 ; 5,292,873 ; 5,317,098 ;  
5,371,241,5,391,723 ; 5,416,203,5,451,463 ; 5,510,475 ; 5,512,667 ; 5,514,785 ;  
5,565,552 ; 5,567,810 ; 5,574,142 ; 5,585,481 ; 5,587,371 ; 5,595,726 ; 5,597,696 ;  
5,599,923 ; 5,599,928 ; 5,688,941 ; 6,294,664 ; 6,320,017 ; 6,576,752 ; 6,783,931 ;  
6,900,297 ; 7,037,646 ; 和 8,106,022, 其中每一項的全部內容特此藉由引用併  
入本文。

【0535】 沒有必要對給定化合物中的所有位置進行均勻修飾，事實上，上述修飾中的一種以上可以摻入單個化合物中，甚至可以摻入 iRNA 中的單個核苷中。本發明還包括作為嵌合化合物的 iRNA 化合物。

【0536】 在本發明的上下文中，「嵌合體」iRNA 化合物或「嵌合體」是 iRNA 化合物，例如 dsRNAi 試劑，它們包含兩個或多個化學上不同的區域，每個區域由至少一個單體單元組成，即，在 dsRNA 化合物的情況下具有核苷酸。這些 iRNA 通常包含至少一個區域，其中 RNA 被修飾，以使 iRNA 增加對核酸酶降解的抵抗力，增加細胞攝取或增加對靶核酸的結合親和力。iRNA 的另一個區域可以作為能夠裂解 RNA : DNA 或 RNA : RNA 雜交種的酶的受質。例如，RNaseH 是一種細胞內切酶，可裂解 RNA : DNA 雙鏈體的 RNA 鏈。因此，RNaseH 的活化導致 RNA 標靶的裂解，從而大大提高了 iRNA 抑制基因表現的效率。因此，與硫代磷酸酯去氧 dsRNA 雜交到同一靶區相比，當使用嵌合 dsRNA 時，

通常可以使用較短的 iRNA 獲得可比的結果。RNA 標靶的裂解可以藉由凝膠電泳和必要時與本領域已知的核酸雜交技術相關的常規檢測。

【0537】 在某些情況下，iRNA 的 RNA 可以被非配體基團修飾。許多非配體分子已被接合到 iRNA，以增強 iRNA 的活性，細胞分佈或細胞攝取，並且科學文獻中提供了進行這種接合的程式。這種非配體部分包括脂質部分，如膽固醇 (Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61 ; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:65533)、膽酸 (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇 (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306 ; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765)、硫代膽固醇 (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533)、脂肪鏈例如十二烷二醇或十一烷基殘基 (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111 ; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327 ; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49)、磷脂質例如二-十六烷基-rac-甘油或 1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸三乙銻 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651 ; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777)、聚胺或聚乙二醇鏈 (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969)、或金剛烷乙酸 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651)、棕櫚醯基部分 (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229)、或十八烷基胺或己基胺-羰氧基膽固醇部分 (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923)。上面列出了教授製備這種 RNA 接合物的代表性美國專利。典型的接合方案涉及在序列的一個或多個位置合成帶有胺基連接子的 RNA。然後，

胺基與使用適當的接合或活化試劑接合的分子反應。接合反應可以在 RNA 仍然與固體載體結合的情況下進行，也可以在 RNA 裂解後以溶液相進行。藉由 HPLC 純化 RNA 接合物通常提供純接合物。

#### IV. 遞送本發明的 iRNA

【0538】將本發明的 iRNA 遞送到細胞例如個體內的細胞，例如人類個體（例如，需要其個體，例如易感染或被診斷患有 ANGPTL3 相關疾病的個體，例如，脂質代謝紊亂）可以藉由許多不同的方式實現。例如，遞送可以藉由在體外或體內與本發明的 iRNA 接觸細胞來進行遞送。體內遞送也可以藉由向個體施用含有 iRNA 的組成物（例如 dsRNA）直接進行。或者，可以藉由施用一個或多個編碼和指導 iRNA 表現的載體間接進行體內遞送。下文將進一步討論這些備選辦法。

【0539】一般而言，任何遞送核酸分子的方法（體外或體內）都可以適於與本發明的 iRNA 一起使用（參見，例如， Akhtar S. and Julian RL., (1992)*Trends Cell.Biol.*2(5):139-144 及 WO94/02595，它們藉由引用全部併入本文）。對於體內遞送，為了遞送 iRNA 分子而需要考慮的因素包括，例如，遞送分子的生物穩定性，預防非特異性效應以及遞送分子在靶組織中的積累。RNA 干擾也顯示出藉由直接注射局部遞送到 CNS 的成功（ Dorn, G. *et al.*, (2004) *Nucleic Acids* 32:e49； Tan, PH.*et al.*(2005)*Gene Ther.*12:59-66； Makimura, H. *et a.l* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18； Shishkina, GT., *et al.*(2004) *Neuroscience* 129:521-528； Thakker, ER.,*et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*101:17270-17275； Akaneya, Y., *et al.*(2005)*J. Neurophysiol.*93:594-602)。修飾 RNA 或藥物載體還可以允許將 iRNA 靶向靶

向組織並避免不良的脫靶效應。iRNA 分子可以藉由化學接合與親脂性基團（如膽固醇）進行修飾，以增強細胞攝取並防止降解。例如，將針對 ApoB 與親脂性膽固醇部分接合的 iRNA 全身注射到小鼠體內，並導致肝臟和空腸中 apoBmRNA 的敲低（Soutschek, J.等人（2004）*Nature*432：173-178）。

【0540】在替代實施例中，iRNA 可以使用藥物遞送系統，例如納米顆粒、樹枝狀聚合物、聚合物、脂質體或陽離子遞送系統。帶正電的陽離子遞送系統有助於 iRNA 分子（帶負電）的結合，並且還增強帶負電荷的細胞膜上的相互作用，以允許細胞有效地攝取 iRNA。陽離子脂質，樹枝狀聚合物或聚合物可以結合到 iRNA 上，或誘導形成囊泡或膠束（參見例如，Kim SH 等人（2008）*Journal of Controlled Release* 129（2）：107-116），包裹 iRNA。囊泡或膠束的形成進一步防止了全身給藥時 iRNA 的降解。製造和施用陽離子-iRNA 複合物的方法完全符合本領域技術人員的能力（參見例如，Sorensen, DR., *et al.* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766；Verma, UN.*et al.*, (2003) *Clin. Cancer Res.*9:1291-1300；Arnold, A*Set al.*(2007) *J. Hypertens.* 25:197-205，它們藉由引用全部併入本文）。一些可用於全身遞送 iRNA 的藥物遞送系統的非限制性例子包括 DOTAP（Sorensen, DR., *et al* (2003), 如上；Verma, UN.*et al.*, (2003), 如上）、Oligofectamine “固體核酸脂質顆粒”(Zimmermann, TS.*et al.*, (2006) *Nature* 441:111-114)、心磷脂(Chien, PY.*et al.*, (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328；Pal, A. *et al.*, (2005) *Int J. Oncol.*26:1087-1091)、聚伸乙基亞胺(Bonnet ME.*et al.*, (2008) *Pharm.Res.*Aug 16 Epub ahead of print；Aigner, A. (2006) *J. Biomed.Biotechnol.*71659)、Arg-Gly-Asp (RGD) 胜肽(Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.*3:472-487)、及聚醯胺基胺(Tomalia, DA. *et* 99464

第 156 頁，共 245 頁(發明說明書)

*al.*, (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67 ; Yoo, H. *et al.*, (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804).於某些實施例中，iRNA 與環糊精形成複合物用於全身給藥。iRNA 和環糊精的給藥方法和醫藥組成物可見於美國專利第 7, 427, 605 號，其藉由引用併入本文的全部內容。

#### A. 本發明的載體編碼 iRNA

【0541】 靶向 ANGPTL3 基因的 iRNA 可以從插入 DNA 或 RNA 載體的轉錄單元中表現（參見，例如，Couture, A 等人，TIG。 (1996), 12:5-10 ; Skillern, A, *etal.*, 國際 PCT 公開號 WO00/22113, 康拉德, 國際 PCT 出版物號 WO00/22114, 康拉德, 美國專利號 6, 054, 299）。表現可以是短暫的（大約數小時至數周）或持續的（數周至數月或更長時間），具體取決於所使用的特定構建體和靶組織或細胞類型。這些轉基因可以作為線性構建體、環形質粒或病毒載體引入，病毒載體可以是積分載體，也可以是非整合載體。轉基因也可以構建以允許其作為染色體外質粒遺傳（Gassmann 等人，*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:1292）。

【0542】 可與本文所述的方法和組成物一起使用的病毒載體系統包括但不限於：（a）腺病毒載體；（二）逆轉錄病毒載體，包括但不限於慢病毒載體、鼠鼠白血病毒等；（c）與腺相關的病毒載體；（d）單純疱疹病毒載體；（e）SV40 載體；（f）多瘤病毒載體；（g）狀瘤病毒載體；（h）小核糖核酸病毒載體；（i）痘病毒載體，如正痘，例如，牛痘病毒載體或阿維波，例如金絲雀痘或禽流感；和（j）輔助依賴性或無內臟腺病毒。複製有缺陷的病毒也可能是有利的。不同的載體將或不會被納入細胞的基因組。如果需要，這些構建體可以包括用於轉染的病毒序列。或者，可以將構建體摻入能夠進行表泌體複製的載體中，例如 EPV 和 EBV 載體。用於 iRNA 重組表現的構建體通常需要調節元件，例如，



啟動子，增強子等，以確保 iRNA 在靶細胞中的表現。向量和構造要考慮的其他方面在本領域是已知的。

## V. 本發明的醫藥組成物

**【0543】** 本發明還包括醫藥組成物和製劑，其包括本發明的 iRNA。於一實施例中，本文提供的醫藥組成物含有 iRNA，如本文所述，以及藥學上可接受的載體。含有 iRNA 的醫藥組成物可用於預防或治療 ANGPTL3 相關疾病，例如，脂質代謝紊亂。這種醫藥組成物是根據遞送方式配製的。一個例子是配製用於藉由腸胃外遞送全身給藥的組成物，例如，藉由皮下注射（SC），肌內（IM）或靜脈內（IV）給藥。本發明的醫藥組成物可以以足以抑制 ANGPTL3 基因表現的劑量施用。

**【0544】** 於某些實施例中，本發明的醫藥組成物是無菌的。於另一實施例中，本發明的醫藥組成物不含熱原。

**【0545】** 本發明的醫藥組成物可以以足以抑制 ANGPTL3 基因表現的劑量施用。一般而言，本發明的 iRNA 的合適劑量將在每天每公斤體重約 0.001 至約 200.0 毫克的範圍內，一般在每公斤體重每天約 1 至 50 毫克的範圍內。通常，本發明的 iRNA 的合適劑量將在約 0.1 毫克/千克至約 5.0 毫克/千克的範圍內，例如，約 0.3 毫克/千克和約 3.0 毫克/千克。重複劑量方案可能包括定期給予治療量的 iRNA，例如每月一次，每 3-6 個月一次或每年一次。在某些實施例中，iRNA 大約每月施用一次至約每六個月施用一次。

**【0546】** 在初始治療方案之後，治療可以以較低的頻率進行。治療持續時間可根據疾病的嚴重程度確定。

【0547】 在其它實施例中，單劑量的醫藥組成物可以持久，使得劑量以不超過 1、2、3 或 4 個月的間隔施用。在本發明的一些實施例中，單劑量的本發明醫藥組成物大約每月施用一次。在本發明的其它實施例中，每季度施用一次本發明醫藥組成物的單劑量（即，大約每三個月施用一次）。在本發明的其它實施例中，單劑量的本發明醫藥組成物每年施用兩次（即，大約每六個月一次）。

【0548】 熟練的工匠會理解，某些因素可以影響有效治療個體所需的劑量和時間，包括但不限於個體中存在的突變，先前的治療，個體的一般健康情況或年齡以及存在的其他疾病。此外，以適當情況下，以預防性或治療有效量的組成物治療個體可以包括單一治療或一系列治療。

【0549】 iRNA 可以以靶向特定組織（例如，肝細胞）的方式遞送。

【0550】 本發明的醫藥組成物包括但不限於溶液、乳液和含脂質體的製劑。這些組成物可以由各種組分產生，這些組分包括但不限於預製液體、自乳化固體和自乳化半固體。製劑包括那些針對肝臟的製劑。

【0551】 本發明的藥物製劑，其可以方便地以單位劑型呈現，可以根據製藥工業中公知的常規技術製備。這些技術包括使活性成分與藥物載體或賦形劑結合的步驟。通常，製劑是藉由均勻和緊密地將活性成分與液體載體結合來製備的。

#### A.其他配方

##### i. 乳液

【0552】 本發明的組成物可以製備和配製成乳液。乳液通常是一種液體分散在另一種液體中的異質體系，其形式通常直徑超過 0.1 $\mu$ m（參見例如，Ansel 的藥物劑型和藥物輸送系統，Allen，LV.，Popovich NG.和 Ansel HC.，2004，

Lippincott Williams & Wilkins (第 8 版) , 紐約, NY ; Idson , in *Pharmaceutical Drug Drug Forms* , Lieberman , Rieger and Banker ( Eds. ) , 1988 , Marcel Dekker , Inc. , New York , N.Y. , Volume 1 , p. 199 ; Rosoff , in *Pharmaceutical Drug Drug Forms* , Lieberman , Rieger and Banker ( Eds. ) , 1988 , Marcel Dekker , Inc. , New York , N.Y. , Volume 1 , p. 245 ; 《藥物劑型塊》 , Lieberman , Rieger and Banker ( Eds. ) , 1988 , Marcel Dekker , Inc. , New York , N.Y. , Volume 2 , p. 335 ; Higuchi 等人 , 收錄於 *Remington's Pharmaceutical Sciences* , Mack Publishing Co. , Easton , Pa. , 1985 , p. 301 ) 。乳液通常是雙相體系 , 由兩個不混溶的液相組成 , 它們彼此緊密混合和分散。一般來說 , 乳液可以是油包水 ( w/o ) 或水包油 ( o/w ) 品種。當水相被精細地分成並作為微小的液滴分散成塊狀油相時 , 所得的組成物稱為油包水 ( w/o ) 乳液。或者 , 當油相被精細地分成並作為微小的液滴分散到本體水相中時 , 所得組成物稱為水包油 ( o/w ) 乳液。乳液除了分散相外 , 還可以含有其他組分 , 活性藥物可以作為溶液存在於水相 , 油相或本身作為單獨的相存在。乳化劑、穩定劑、染料和抗氧化劑等藥用賦形劑也可以根據需要存在於乳液中。藥物乳液也可以是由兩個以上相組成的多種乳液 , 例如 , 在油包油 ( o/w/o ) 和水包油 ( w/o/w ) 乳液的情況下。這種複雜的配方通常提供簡單的二元乳液所沒有的某些優點。多個乳液 , 其中 O/w 乳液的單個油滴包圍著小水滴 , 構成 w/o/w 乳液。同樣 , 封閉在油性連續相中穩定的水球中的油滴系統提供 o/w/o 乳液。

**【0553】** 乳液的特點是熱力學穩定性很小或沒有熱力學穩定性。通常 , 乳液的分散相或不連續相被很好地分散到外相或連續相中 , 並藉由乳化劑的手段或製劑的粘度以這種形式保持。穩定乳液的其他方法需要使用乳化劑 , 乳化劑可以摻入乳液的任一相中。乳化劑大致可分為四類 : 合成表面活性劑 , 天然存在的

乳化劑，吸收鹼和精細分散的固體（例如，參見 Ansel 的藥物劑型和藥物輸送系統，Allen, LV., Popovich NG.和 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第 8 版)，紐約，NY；Idson, in Pharmaceutical Drug Drug Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.)，1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 199)。

**【0554】** 合成表面活性劑，也稱為表面活性劑，在乳液的配方中具有廣泛的適用性，並且已經在文獻中進行了審查（例如，參見 Ansel 的藥物劑型和藥物輸送系統，Allen, LV., Popovich NG.和 Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (第 8 版)，紐約，NY；Rieger, in Pharmaceutical Drug Drug Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.)，1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 285；Idson, in Pharmaceutical Drug Drug Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.)，Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, Volume 1, p. 199)。表面活性劑通常是兩親性的，包括親水和疏水部分。表面活性劑的親水性與疏水性的比例被稱為親水性/親脂性平衡 (HLB)，是在製劑製備中對表面活性劑進行分類和選擇的寶貴工具。表面活性劑可以根據親水基團的性質分為不同的類別：非離子，陰離子，陽離子和兩性（參見例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285)。

【0555】 乳液配方中還包括各種各樣的非乳化材料，並有助於乳液的性能。這些包括脂肪，油，蠟，脂肪酸，脂肪醇，脂肪酯，保濕劑，親水膠體，防腐劑和抗氧化劑（Block，in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.，第 1 卷，第 335 頁；Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.，第 1 卷，第 199 頁）。

【0556】 藉由皮膚病學，口服和腸胃外途徑應用乳液製劑及其製造方法已在文獻中進行了回顧（例如，參見 *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199）。

## ii. 微乳液

【0557】 在本發明的一個實施例中，iRNA 和核酸的組成物被配製成微乳液。微乳液可以定義為水，油和兩親物的系統，它是單個光學各向同性和熱力學穩定的液體溶液（參見例如，Ansel 的藥物劑型和藥物遞送系統，Allen，LV.，PopovichNG.和 AnselHC.，2004，LippincottWilliams&Wilkins（第 8 版），紐約，NY；Rosoff，《藥物劑型》，Lieberman，RiegerandBanker（Eds.），1988，MarcelDekker，Inc.，NewYork，N.Y.，Volumel，p.245）。通常，微乳液是藉由將油首先分散在表面活性劑水溶液中，然後加入足夠量的第四組分（通常是中間鏈長醇）以形成透明體系來製備的體系。因此，微乳液也被描述為兩種不混溶液

體的熱力學穩定，各向同性透明分散體，其由表面活性分子的界面膜穩定( Leung 和 Shah，在：藥物的控釋：PolymersandAggregateSystems，Rosoff，M.，Ed.，1989，VCHPublishers，NewYork，page185-215)。

### iii.微粒

【0558】本發明的 iRNA 可以摻入到顆粒中，例如，微粒。微粒可以藉由噴霧乾燥生產，但也可以藉由其他方法生產，包括凍干，蒸發，流化床乾燥，真空乾燥或這些技術的組合。

### iv.滲透增強劑

【0559】於一實施例中，本發明採用各種滲透增強劑來有效地將核酸，特別是 iRNA 遞送到動物的皮膚上。大多數藥物以電離和非電離形式存在於溶液中。然而，通常只有脂溶性或親脂性藥物容易穿過細胞膜。已經發現，如果用滲透增強劑理要交叉的膜，即使是非親脂性藥物也可以穿過細胞膜。除了說明非親脂性藥物在細胞膜上擴散外，滲透增強劑還增強了親脂性藥物的通透性。

【0560】滲透增強劑可分為五大類之一，即，表面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑和非螯合非表面活性劑（例如，見 Malmsten，M.藥物輸送中的表面活性劑和聚合物，InformaHealthCare，紐約，紐約，2002年；Lee 等人，《治療藥物載體系統中的批判性評論》，1991年，第 92 頁）。上述各類滲透增強劑及其在製造醫藥組成物和遞送藥物劑中的用途是本領域公知的。

### v.賦形劑

【0561】與載體化合物相反，「藥物載體」或「賦形劑」是藥學上可接受的溶劑、懸浮劑或任何其他藥理學惰性載體，用於向動物遞送一種或多種核酸。輔料可以是液體或固體，並且選擇時，考慮到計劃的給藥方式，以便提供所需的

體積，稠度等，當與核酸和給定醫藥組成物的其它組分結合時。這種試劑是本領域公知的。

vi. 其他組分

**【0562】** 本發明的組成物可以另外地含有傳統上在醫藥組成物中發現的其它輔助組分，在其技術上確定的使用水平。因此，例如，組成物可以含有額外的、相容的、藥學活性的材料，例如，例如，止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或抗炎劑，或者可以含有可用於物理配製本發明組成物的各種劑型的附加材料，例如染料、矯味劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑和穩定劑。然而，當添加這種材料時，不應過度干擾本發明組成物組分的生物活性。製劑可以滅菌，如果需要，可以與輔助劑混合，例如，潤滑劑、防腐劑、穩定劑、潤濕劑、乳化劑、用於影響滲透壓的鹽、緩衝劑、著色劑、調味劑或芳香物質等，它們不會與製劑的核酸產生有害的相互作用。

**【0563】** 水懸浮液可以含有增加懸浮液粘度的物質，例如包括羧甲基纖維素鈉，山梨糖醇或葡聚糖。懸架還可以包含穩定器。

**【0564】** 於某些實施例中，本發明中特徵的醫藥組成物包括 (a) 一種或多種 iRNA 和 (b) 一種或多種藉由非 iRNA 機制起作用並且可用於治療 ANGPTL33 相關疾病的試劑，例如，脂質代謝紊亂。

**【0565】** 這些化合物的毒性和預防功效可以藉由細胞培養物或實驗動物的標準藥物程序來確定，例如，用於確定 LD50(對 50% 人群的致死劑量)和 ED50 (在 50% 人群中預防性有效的劑量)。毒性和治療效果之間的劑量比是治療指數，可以表示為 LD50/ED50 的比例。具有高治療指數的化合物是優選的。

【0566】從細胞培養測定和動物研究中獲得的數據可用於制定用於人類的劑量範圍。本發明中特有的組成物的劑量通常位於包括 ED50 的迴圈濃度範圍內，例如 ED80 或 ED90，具有很少或沒有毒性。劑量可以在此範圍內變化，具體取決於所使用的劑型和使用的給藥途徑。對於本發明特徵方法中使用的任何化合物，可以首先從細胞培養測定中估計預防性有效劑量。可以在動物模型中配製劑量，以達到化合物的迴圈血漿濃度範圍，或者在適當的時候，達到目標序列的多肽產物（例如，實現多肽濃度的降低），其中包括 IC50（即，達到癥狀半最大抑制的測試化合物的濃度）或細胞培養中確定的更高水平的抑制。這些資訊可用於更準確地確定人體的有用劑量。血漿中的水平可以測量，例如，藉由高效液相色譜法。

【0567】除了它們的施用之外，如上所述，本發明中特徵的 iRNA 可以與用於預防或治療 ANGPTL3 相關疾病的其它已知試劑聯合施用，例如，脂質代謝紊亂。無論如何，施用醫師可以根據使用本領域已知的或本文描述的療效標準測量值觀察到的結果來調整 iRNA 給藥的量和時間。

## VI. 抑制 ANGPTL3 表現的方法

【0568】本發明還提供了抑制 ANGPTL3 基因在細胞中表現的方法。這些方法包括將細胞與 RNAi 試劑（例如，雙股 RNA 試劑）接觸，其量有效抑制 ANGPTL3 在細胞中的表現，從而抑制 ANGPTL3 在細胞中的表現。

【0569】細胞與 iRNA（例如，雙股 RNA 試劑）的接觸可以在體外或體內完成。體內細胞與 iRNA 接觸包括與個體（例如，人類個體）內的一個細胞或一組細胞接觸 iRNA。體外和體內接觸細胞方法的組合也是可能的。如上所述，可以直接或間接地聯繫細胞。此外，細胞的接觸可以藉由靶向配體來完成，包括本



文中描述的或本領域已知的任何配體。於某些實施例中，靶向配體是碳水化合物部分，例如，GalNAc3 配體，或任何其他將 RNAi 試劑引導至感興趣位點的配體。

**【0570】** 本文中使用的術語「抑制」可與「還原」、「沉默」、「下調」、「抑制」和其他類似術語互換使用，並且包括任何級別的抑制。

**【0571】** 短語「抑制 ANGPTL3 的表現」旨在指抑制任何 ANGPTL3 基因（例如，小鼠 ANGPTL3 基因，大鼠 ANGPTL3 基因，猴子 ANGPTL3 基因或人類 ANGPTL3 基因）以及 ANGPTL3 基因的變體或突變體的表現。因此，ANGPTL3 基因可以是野生型 ANGPTL3 基因，突變 ANGPTL3 基因，或遺傳操縱細胞，細胞群或生物體背景下的轉基因 ANGPTL3 基因。

**【0572】** 「抑制 ANGPTL3 基因的表現」包括對 ANGPTL3 基因的任何水平的抑制，例如，至少部分抑制 ANGPTL3 基因的表現。ANGPTL3 基因的表現可以基於與 ANGPTL3 基因表現相關的任何變數的水平或水平的變化來評估，例如，ANGPTL3 mRNA 水平或 ANGPTL3 蛋白水平。ANGPTL3 的表現也可以根據血清脂質，三酸甘油酯，膽固醇（包括 LDL-C，HDL-C，VLDL-C，IDL-C 和總膽固醇）或游離脂肪酸的水平間接評估。該水平可以在單個細胞或一組細胞中進行評估，例如，包括來自個體的樣本。據瞭解，ANGPTL3 主要在肝臟中表現。

**【0573】** 抑制可以藉由與對照水平相比，與 ANGPTL3 表現相關的一個或多個變數的絕對或相對水平的降低來評估。所述對照水平可以是本領域使用的任何類型的對照水平，例如，預劑量基線水平，或由未經理或用對照理的類似個體、細胞或樣品確定的水平（例如，例如，僅緩衝液對照劑或非活性劑對照）。

【0574】 在本發明方法的一些實施例中，ANGPTL3 基因的表現受到至少 50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或 95%的抑制或低於檢測水平的測定。於某些實施例中，ANGPTL3 基因的表現受到至少 70%的抑制。進一步理解，在某些組織中抑制 ANGPTL3 的表現，例如,在肝臟中，而不顯著抑制其它組織（例如,腦）中的表現，可能是可取的。於某些實施例中，表現水平是使用實施例 2 中提供的測定方法測定的，在適當物種匹配的細胞系中具有 10 nM siRNA 濃度。

【0575】 在某些實施例中，體內表現的抑制是藉由敲低表現人類基因的啮齒動物中的人類基因來確定的，例如，表現人類靶基因的 AAV 感染小鼠（即，ANGPTL3），例如，當作為單劑量施用時，例如，在 RNA 表現的最低點以 3mg /kg。還可以確定模型動物系統中內源性基因表現的敲低，例如，在以 3mg /kg 在 RNA 表現的最低點給予單劑量後。當人類基因的核酸序列和模型動物基因足夠接近時，這種系統是有用的，使得人類 iRNA 提供了對模型動物基因的有效敲低。使用實施例 2 中提供的 PCR 方法測定肝臟中的 RNA 表現。

【0576】 ANGPTL3 基因表現的抑制可能表現為第一個細胞或一組細胞（例如，這些細胞可能存在於來自個體的樣品中）表現的 mRNA 量的減少，其中 ANGPTL3 基因被轉錄並且已經或已經理（例如，藉由將細胞或細胞與本發明的 iRNA 接觸，或藉由將本發明的 iRNA 施用於細胞存在或曾經存在的個體，使得 ANGPTL3 基因的表現受到抑制，與與第一細胞或細胞組基本相同的第二細胞或細胞組相比，但尚未或尚未經過如此理（對照細胞未理）使用 iRNA 或不用靶向目標基因的 iRNA 理）。於某些實施例中，藉由使用實施例 2 中提供的 10nM

siRNA 濃度的物種匹配細胞系中並表現理過的細胞中 mRNA 水平的百分比來評估抑製作用，使用以下公式：

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

【0577】在其它實施例中，ANGPTL3 基因表現的抑制可以根據與 ANGPTL3 基因表現在功能上相關的參數的降低來評估，例如，個體血液或血清中的 ANGPTL3 蛋白水平。ANGPTL3 基因沉默可以在表現 ANGPTL3 的任何細胞中測定，無論是內源性還是來自表現構建體的異源性，以及藉由本領域已知的任何測定。

【0578】ANGPTL3 蛋白表現的抑制可能表現為由細胞或細胞組或個體樣品表現的 ANGPTL3 蛋白水平的降低（例如，來自個體的血液樣品中的蛋白質水平）。如上所述，為了評估 mRNA 抑制，對理過的細胞或細胞組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組中蛋白質水平的百分比，或個體樣品中蛋白質水平的變化，例如，血液或血清由此衍生。

【0579】可用於評估 ANGPTL3 基因表現抑制的對照細胞、一組細胞或個體樣品包括尚未與本發明的 RNAi 試劑接觸的細胞、細胞群或個體樣品。例如，對照細胞、細胞組或個體樣本可以衍生自單個個體（例如，人或動物個體）之前用 RNAi 試劑或適當匹配的群體對照組進行治療。

【0580】由一個細胞或一組細胞表現的 ANGPTL3 mRNA 的水平可以使用任何本領域已知的用於評估 mRNA 表現的方法來確定。於一實施例中，ANGPTL3 在樣品中的表現水平是藉由檢測轉錄的多核苷酸或其一部分來確定的，例如 ANGPTL3 基因的 mRNA。RNA 可以使用 RNA 提取技術從細胞中提

取，包括例如使用酸性苯酚/胍異硫氰酸酯提取（RNAzolB；Biogenesis）、RNeasyTMRNA 製備試劑組（Qiagen®）或 PAXgene™（PreAnalytix™，瑞士）。利用核糖核酸雜交的典型檢測形式包括核電泳檢測、RT-PCR、RNase 保護檢測、Northern 印跡、原位 雜交和微陣列分析。

【0581】於某些實施例中，ANGPTL3 的表現水平是使用核酸探針測定的。本文使用的術語「探針」是指能夠選擇性地結合到特定 ANGPTL3 的任何分子。探針可以藉由本領域技術人員之一合成，或者衍生自適當的生物製劑。探針可以專門設計用於標記。可用作探針的分子示例包括但不限於 RNA、DNA、蛋白質、抗體和有機分子。

【0582】分離的 mRNA 可用於雜交或擴增測定，包括但不限於南方或北方分析，聚合酶鏈反應（PCR）分析和探針陣列。測定 mRNA 水平的一種方法是將分離的 mRNA 與可雜交為 ANGPTL3mRNA 的核酸分子（探針）接觸。於一實施例中，mRNA 固定在固體表面上並與探針接觸，例如藉由在瓊脂糖凝膠上運行分離的 mRNA 並將 mRNA 從凝膠轉移到膜上，例如硝酸纖維素。在替代實施例中，探針固定在固體表面上，並且 mRNA 與探針接觸，例如，在 Affymetrix® 基因晶元陣列中。熟練的工匠可以很容易地調整已知的 mRNA 檢測方法，用於確定 ANGPTL3mRNA 的水平。

【0583】確定樣品中 ANGPTL3 表現水平的替代方法涉及例如樣品中 mRNA 的核酸擴增或逆轉錄酶（以製備 cDNA）之製程，該製程係例如藉由 RT-PCR（Mullis 於 1987 年於美國專利 4,683,202 中詳述之實驗性態樣）、連接酶連鎖反應（Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193）、自我持續之序列複製（Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*

87:1874-1878)、轉錄擴增系統(Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177)、Q- $\beta$  複製酶(Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197)、滾環式複製(Lizardi *et al.*, US Patent No. 5,854,033) 或任何其他核酸擴增方法,隨後使用本領域技術人員熟知的技術檢測擴增的分子。這些檢測方案對於檢測核酸分子特別有用,如果核酸分子的數量非常少。在本發明的特定方面,ANGPTL3 的表現水平藉由定量螢光 RT-PCR(即, TaqMan™ 系統)確定。於某些實施例中,表現水平由使用實施例 2 中提供的方法確定,例如,10 nM siRNA 濃度,在物種匹配的細胞系中。

**【0584】** ANGPTL3 mRNA 的表現水平可以使用膜印跡(例如用於雜交分析,例如北方印漬、南方印漬、點等)或微孔、樣本管、凝膠、珠或纖維(或包含經結合之核酸的任意固體支撐物)監控 GPR75 mRNA 之表現水平。參見,美國專利第 5,770,722 號、第 5,874,219 號、第 5,744,305 號、第 5,677,195 號及第 5,445,934 號,它們藉由引用併入本文。ANGPTL3 表現水平的測定也可包括在溶液中使用核酸探針。

**【0585】** 於某些實施例中,使用支鏈 DNA (bdNA) 測定或即時螢光定量 PCR (qPCR) 評估 mRNA 表現水平。這些方法的使用在此提出的實施例中描述和舉例說明。於某些實施例中,表現水平藉由實施例 2 中提供的方法確定,使用 10nM siRNA 濃度的物種匹配的細胞系。

**【0586】** ANGPTL3 蛋白表現的水平可以使用本領域已知的任何用於測量蛋白質水平的方法來確定。這些方法包括,例如電泳,毛細管電泳,高效液相色譜 (HPLC),薄層色譜 (TLC),高擴散色譜,流體或凝膠沉澱素反應,吸收光譜,比色測定,分光光度法測定,流式細胞術,免疫擴散(單次或雙重),免

疫電泳，蛋白質印跡，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。

【0587】於某些實施例中，本發明方法的功效是藉由降低 ANGPTL3 mRNA 或蛋白質水平來評估的 (例如，在肝活檢中)。

【0588】在本發明方法的一些實施例中，iRNA 被施用於個體，使得 iRNA 被遞送到個體內的特定位點。ANGPTL3 表現的抑制可以藉由測量來自個體內特定部位 (例如，肝臟或血液) 的液體或組織樣本中 ANGPTL3 mRNA 或 ANGPTL3 蛋白水平或水平的變化來評估。

【0589】如本文所用，術語檢測或確定分析物的水平被理解為意味著執行步驟以確定是否存在材料，例如，蛋白質，RNA。如本文所用，檢測或確定的方法包括檢測或測定低於所用方法檢測水平的分析物水平。

## VII. 本發明的預防和治療方法

【0590】本發明還提供了使用本發明的 iRNA 或含有本發明的 iRNA 的組成物來抑制 ANGPTL3 的表現的方法，從而預防或治療 ANGPTL3 相關疾病，例如，脂質代謝紊亂。在本發明的方法中，細胞可以在體外或體內與 siRNA 接觸，即，細胞可以在個體內。

【0591】適合於使用本發明方法治療的細胞可以是表現 ANGPTL3 基因的任何細胞，例如肝細胞。適合在本發明方法中使用的細胞可以是哺乳動物細胞，例如靈長類細胞 (例如人細胞，包括嵌合非人動物中的人類細胞，或非人靈長類細胞，例如，猴子細胞或黑猩猩細胞)，或非靈長類細胞。在某些實施例中，細胞是人細胞，例如，人肝細胞。在本發明的方法中，ANGPTL3 表現被抑制在細

胞中至少 50、55、60、65、70、75、80、85、90 或 95，或達到低於檢測水平的測定水平。

**【0592】** 本發明的體內方法可以包括向個體施用含有 iRNA 的組成物，其中 iRNA 包括與要施用 RNAi 試劑的哺乳動物 ANGPTL3 基因的至少一部分互補的核苷酸序列。該組成物可以藉由本領域已知的任何手段施用，包括但不限於口服、腹膜內或腸胃外途徑，包括顱內（例如，腦室內、實質內和鞘內）、靜脈內、肌肉內、皮下、透皮、氣道（氣溶膠）、鼻腔、直腸和局部（包括頰內和舌下）給藥。在某些實施例中，組成物藉由靜脈輸注或注射給藥。在某些實施例中，所述組成物藉由皮下注射給藥。在某些實施例中，組成物藉由肌內注射給藥。

**【0593】** 於一具體實施態樣中，本發明還提供了用於抑制 ANGPTL3 基因在哺乳動物中的表現的方法。這些方法包括向哺乳動物施用包含 dsRNA 的組成物，該組成物靶向哺乳動物細胞中的 ANGPTL3 基因，並保持哺乳動物足夠長的時間以獲得 ANGPTL3 基因的 mRNA 轉錄本的降解，從而抑制 ANGPTL3 基因在細胞中的表現。基因表現的減少可以藉由本領域已知的任何方法和方法進行評估，例如本文所述的 qRT-PCR，例如，在實施例 2 中。蛋白質產量的減少可以藉由任何已知的方法來評估，例如酶聯免疫吸附。在某些實施例中，穿刺肝活檢樣品用作組織材料，用於監測 ANGPTL3 基因或蛋白表現的減少。在其它實施例中，血液樣品用作個體樣品，用於監測 ANGPTL3 蛋白表現的減少。

**【0594】** 本發明還提供了在需要其個體中的治療方法，例如，被診斷患有 ANGPTL3 相關病症的個體，例如脂質代謝紊亂。於一實施例中，具有脂質代謝紊亂的個體具有高脂血症。於另一實施例中，具有脂質代謝紊亂的個體具有高三酸甘油酯血症。

【0595】本發明還提供了在有需要的個體中進行預防的方法。本發明的治療方法包括將本發明的 iRNA 施用於個體，例如，將受益於 ANGPTL3 表現減少的個體，其預防有效量的 dsRNA 靶向 ANGPTL3 基因或包含靶向 ANGPTL3 基因的 dsRNA 的醫藥組成物。

【0596】於一具體實施態樣中，本發明提供了治療具有有利於減少 ANGPTL3 表現的疾病的個體的方法，例如，ANGPTL3 相關疾病，例如脂質代謝紊亂，例如，高脂血症或高三酸甘油酯血症。個體的治療將受益於 ANGPTL3 基因表現的減少和/或抑制，包括治療性治療（例如，個體患有出疹性黃瘤）和預防性治療（例如，個體沒有萌發性黃瘤或個體可能有發生出疹性黃瘤的風險）。

【0597】本發明的 iRNA 可以作為「遊離 iRNA」施用。在沒有醫藥組成物的情況下施用遊離的 iRNA。裸 iRNA 可以在合適的緩衝溶液中。緩衝溶液可包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、丙胺、碳酸鹽或磷酸鹽，或其任意組合。於一實施例中，緩衝溶液是磷酸鹽緩衝鹽水（PBS）。含有 iRNA 的緩衝溶液的 pH 和滲透壓可以調節，使其適合施用於個體。

【0598】或者，本發明的 iRNA 可以作為醫藥組成物施用，例如 dsRNA 脂質體製劑。

【0599】受益於 ANGPTL3 基因表現抑制的個體是易感染或被診斷患有 ANGPTL3 相關疾病的個體，例如脂質代謝紊亂，例如，高脂血症或高三酸甘油酯血症。在實施例中，該方法包括施用本文所特有的組成物，使得 ANGPTL3 基因的標靶表現降低，例如每劑約 1、2、3、4、5、6、1-6、1-3 或 3-6 個月。在某些實施例中，組成物每 3-6 個月施用一次。



【0600】於一實施例中，iRNA 可用於本文所特示的方法和組成物特異性靶向 RNA（原代或加工的）靶 ANGPTL3 基因。使用 iRNA 抑制這些基因表現的組成物和方法可以按照本文所述製備和進行。

【0601】根據本發明的方法施用 iRNA 可導致預防或治療 ANGPTL3 相關病症，例如，脂質代謝紊亂，例如，高脂血症或高三酸甘油酯血症。個體可以施用治療量的 iRNA，例如約 0.01 毫克/千克至約 200 毫克/千克。

【0602】於一實施例中，iRNA 是皮下給藥的，即，藉由皮下注射。一次或多次注射可用於將所需劑量的 iRNA 遞送到個體。注射可以在一段時間內重複。

【0603】可以定期重複給藥。在某些實施例中，在初始治療方案之後，治療可以在較低頻率的基礎上施用。重複劑量方案可包括定期給予治療量的 iRNA，例如每月一次至每年一次。在某些實施例中，iRNA 大約每月施用一次至約每三個月一次，或約每三個月施用一次至約每六個月一次。

【0604】本發明還提供了 iRNA 試劑或其醫藥組成物的方法和用途，用於治療將受益於減少和/或抑制 ANGPTL3 基因表現的個體，例如，具有 ANGPTL3 相關疾病的個體，與其他藥物和/或其他治療方法聯合使用，例如，使用已知的藥物和/或已知的治療方法，例如，目前用於治療這些疾病的藥物和/或治療方法。

【0605】因此，在本發明的某些方面，其方法包括本發明的單一 iRNA 試劑，還包括向個體施用一種或多種額外的治療劑。

【0606】例如，在某些實施例中，靶向 ANGPTL3 的 iRNA 與，例如可用於治療脂質代謝紊亂的試劑聯合施用。例如，適合於治療將受益於 ANGPTL3 表現中的還原子的個體的附加藥物，例如，具有脂質代謝紊亂的個體，可以包括降低一種或多種血清脂質的藥物。這種藥物的非限制性實例可包括膽固醇合成抑製

劑，例如 HMG-CoA 還原酶抑制劑，例如，他汀類藥物。他汀類藥物可能包括阿托伐他汀（立普妥），氟伐他汀（Lescol），洛伐他汀（Mevacor），洛伐他汀緩釋（Altoprev），匹伐他汀（Livalo），普伐他汀（Pravachol），瑞舒伐他汀（Crestor）和辛伐他汀（Zocor）。可用於治療脂質代謝紊亂的其他藥物可包括膽汁螯合劑，如考來烯胺和其他樹脂；VLDL 分泌抑制劑，如煙酸；親脂性抗氧化劑，如 Probucol；醯基輔酶 A 膽固醇醯基轉移酶抑制劑；法尼醇 X 受體拮抗劑；甾醇調節結合蛋白裂解啟動蛋白（SCAP）啟動劑；微粒體三酸甘油酯轉移蛋白（MTP）抑制劑；ApoE 相關肽；和針對 ANGPTL3 的治療性抗體。附加的治療劑還可以包括提高高密度脂蛋白（HDL）的藥物，例如膽固醇酯轉移蛋白（CETP）抑制劑。此外，附加的治療劑還可以包括膳食補充劑，例如，魚油。iRNA 和附加治療劑可以同時施用和/或以相同的組合給藥，例如，腸胃外給藥，或者附加治療劑可以作為單獨組成物的一部分或在單獨的時間和/或藉由本領域公知或本文描述的另一種方法給藥。

**【0607】** iRNA 試劑和附加治療劑和/或治療可以同時施用和/或以相同的組合給藥，例如，腸胃外給藥，或者附加治療劑可以作為單獨組成物的一部分或單獨施用和/或藉由本領域公知或本文描述的另一種方法給藥。

### VIII. 套組

**【0608】** 在某些方面，即時公開提供的試劑組包括包含 siRNA 化合物的藥物製劑的合適容器，例如，雙鏈體 siRNA 化合物或 siRNA 化合物（例如，前體，例如，可以加工成 siRNA 化合物的較大 siRNA 化合物，或編碼 siRNA 化合物的 DNA，例如，雙鏈體 siRNA 化合物，或 ssiRNA 化合物，或其前體）。

**【0609】** 此類試劑組包括一種或多種 dsRNA 試劑和使用說明，例如，用於施用預防性或治療有效量的 dsRNA 試劑的說明。dsRNA 試劑可以在小瓶或預填充注射器中。該試劑組可視需要地包括用於施用 dsRNA 試劑的裝置（例如，注射裝置，例如預填充注射器），或用於測量 ANGPTL3 抑制的裝置（例如，用於測量抑制 ANGPTL3 mRNA、ANGPTL3 蛋白和/或 ANGPTL3 活性的裝置）。這種用於測量 ANGPTL3 抑制的裝置可以包括用於從個體獲得樣品的裝置，例如，血漿樣品。本發明的試劑組可視需要地進一步包括用於確定治療有效或預防有效量的裝置。

**【0610】** 在某些實施例中，藥物製劑的各個組分可以放在一個容器中，例如，小瓶或預填充注射器。或者，可以期望在兩個或多個容器中分別提供藥物製劑的組分，例如，一個容器用於 siRNA 化合物製劑，另一個容器用於載體化合物。該套件可以包裝在許多不同的配置中，例如單個盒子中的一個或多個容器。不同的元件可以組合，例如，根據套件提供的說明。這些組分可以根據本文中描述的方法組合，例如，製備和施用醫藥組成物。該套件還可以包括一個輸送設備。

**【0611】** 本發明藉由以下實施例進一步說明，其不應被解釋為限制。本申請中引用的所有參考文獻、專利和已公佈專利申請的全部內容，以及非正式的列表和圖表，特此藉由引用併入本文。

## 實例

### **【0612】 實例 1. iRNA 合成**

### **【0613】 試劑來源**

如果本文未具體說明試劑的來源，則可以從任何分子生物學試劑供應商獲得該試劑，其品質/純度標準在分子生物學中的應用。

**【0614】 siRNA 設計**

siRNA 靶向人類血管生成素3 (ANGPTL3) 基因 (人類: NCBI refseqID NM\_014995.3 和 NM\_014995.2, NCBI GeneID: 27329) 是使用自定義 R 和 Python 腳本設計的。人類 NM\_014995.3 REFSEQ mRNA 的長度為 2951 個鹼基。人類 NM\_014995.2 REFSEQ mRNA 的長度為 2126 個鹼基。

**【0615】** 未修飾的 ANGPTL3 正義股和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 2 所示。修飾的 ANGPTL3 正義股和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 3 所示。

**【0616】** 需要理解的是，在整個應用程式中，不帶小數的雙鏈體名稱等效於具有十進位的雙鏈體名稱，後者僅引用雙鏈體的批號。例如，AD-959917 相當於 AD-959917.1。

**【0617】 siRNA Synthesis**

siRNA 是使用本領域已知的方法設計、合成和製備的。

**【0618】** 簡而言之，使用 Mermade 192 合成器 (BioAutomation) 在固體載體上具有亞磷醯胺化學，以 1  $\mu$ mol 尺度合成 siRNA 序列。固體載體是受控孔隙玻璃 (500-1000 Å)，其中裝有定製的 GalNAc 配體 (3'-GalNAc 接合物)，通用固體載體 (AM 化學品) 或感興趣的第一個核苷酸。從 Thermo-Fisher (威斯康星州密爾沃基)，Hongene (中國) 或 Chemgenes (美國馬薩諸塞州威爾明頓) 獲得輔助合成試劑和標準 2-氰乙基亞磷醯胺單體 (2'-去氧-2'-氟, 2'-O-甲基, RNA, DNA)。其他亞磷醯胺單體從商業供應商採購，內部製備，或使用各種 CMO 的定製合成法採購。在乙腈或 9:1 乙腈:DMF 中以 100 mM 的濃度製備亞磷醯胺，並使用 5-乙硫基-1H-四氮唑 (ETT, 乙腈中 0.25M) 接合，反應時間為 400s。使用 3-((二甲基胺基亞甲基)胺基)-3H-1, 2, 4-二噻唑-3-硫酮 (DDTT, 從 99464

Chemgenes (Wilmington, MA, USA) 獲得的) 溶液在無水乙腈/吡啶 (9:1v/v) 中生成硫代磷酸酯鍵。氧化時間為 5 分鐘。所有序列均藉由最終去除 DMT 組 (「DMT-Off」) 進行合成。

**【0619】** 在固相合成完成後，在 96 孔板中用室溫下用 300 $\mu$ L 甲胺 (40%水溶液) 理固體負載的寡核糖核苷酸約 2 小時，以提供從固體載體中裂解並隨後除去所有額外的鹼不穩定保護基團。對於含有任何天然核糖核苷酸鍵 (2'-OH) 的序列，用第三丁基二甲基矽烷基 (TBDMS) 保護，使用 TEA.3HF (三乙胺三氫氟化物) 進行第二個脫保護步驟。向每個寡核糖核苷酸溶液中加入 200 $\mu$ L 二甲基亞砜 (DMSO) 和 300 $\mu$ L TEA.3HF，並將該溶液在 60°C 下孵育約 30 分鐘。孵育後，將板置於室溫，藉由加入 1mL 的 9:1 丙腈:乙醇或 1:1 乙醇:異丙醇沉澱粗寡核糖核苷酸。然後將板在 4°C 下離心 45 分鐘，並在多通道移液器的說明下小心地傾析上清液。將寡核糖核苷酸沉澱重懸於 20mM NaOAc 中，隨後在配備自動進樣器，紫外檢測器，電導率儀和馏分收集器的安捷倫 LC 系統上使用 HiTrap 尺寸排阻柱 (5mL, GEHealthcare) 脫鹽。將脫鹽樣品收集在 96 個孔板中，然後藉由 LC-MS 和紫外光譜法進行分析，以分別確認身份並量化材料量。

**【0620】** 在 Tecan 液體理機器人上執行單股雙鏈體。將感感和反義單鏈以等莫耳比與 10 $\mu$ M 的終濃度在 96 孔板中的 1xPBS 中結合，板密封，在 100°C 下孵育 10 分鐘，隨後在 2-3 小時內緩慢返回室溫。確認每個雙相的濃度和身份，然後用於體外篩選測定。

## **【0621】 實例 2.體外篩查方法**

### **【0622】 細胞培養和 384 孔轉染**

對於轉染，原代犬徽菌肝細胞(PCH)細胞或 Hep3B 細胞(ATCC, Manassas, VA) 在 37°C 下在 Eagle's Minimum Essential 培養基(Gibco) 中 5%CO<sub>2</sub> 的氣氛中生長到接近匯合，然後藉由胰蛋白酶消化從板中釋放出來。轉染是藉由每孔將 7.5µl Opti-MEM 加 0.1µl Lipofectamine RNAiMax (Invitrogen, Carlsbad CA, 貓 #13778-150) 加入 2.5µl 每個 siRNA 雙鏈體體到 384 孔板中的單個孔中進行的。然後將混合物在室溫下孵育 15 分鐘。然後將 40µl 不含含有 ~1.5x10<sup>4</sup> 個細胞的抗生素的完整生長培養基加入 siRNA 混合物中。在 RNA 純化之前將細胞孵育 24 小時。在 10nM, 1nM 和 0.1nM 最終雙相濃度下進行單劑量實驗。

**【0623】** 使用 DYNABEADS mRNA 分離試劑組 (Invitrogen™, 第#部分: 610-12)

**【0624】** 將細胞在 75µl 含有每孔 3µL 微珠的裂解/結合緩衝液中裂解，並在靜電振蕩器上混合 10 分鐘。在 Biotek EL406 上使用磁板支架自動完成洗滌步驟。在緩衝液 A 中洗滌一次珠子 (在 90µL 中)，在緩衝液 B 中洗滌一次，在緩衝液 E 中洗滌兩次，中間有抽吸步驟。在最後一次抽吸之後，將完整的 10µL RT 混合物加入到每個孔中，如下所述。

**【0625】** 使用 ABI 高容量 cDNA 逆轉錄試劑組 (應用生物系統, 福斯特城, 加利福尼亞州, 貓 #4368813)

**【0626】** 每孔加入 1µl 10X 緩衝液, 0.4µl 25XdNTPs, 1µl 隨機引物, 0.5µl 逆轉錄酶, 0.5µl RNase 抑制劑和 6.6µl H<sub>2</sub>O 的前混合物。將板密封, 在靜電振蕩器上攪拌 10 分鐘, 然後在 37°C 下孵育 2 小時。之後, 將板在 80°C 下攪拌 8 分鐘。

**【0627】 即時螢光定量 PCR**

將兩微升 ( $\mu\text{l}$ ) 的 cDNA 加入到含有 0.5 $\mu\text{l}$  人 GAPDHTaqMan 探針 (4326317E)，0.5 $\mu\text{l}$  人 ANGPTL3，2 $\mu\text{l}$  無核酸酶水和 5 $\mu\text{l}$ Lightcycler480 探針預混液(羅氏 Cat#04887301001)的預混液中,每孔 384 孔板(羅氏貓#04887301001)。即時螢光定量 PCR 是在 LightCycler480 實時螢光定量 PCR 系統 (羅氏) 中完成的。

**【0628】** 為了計算相對摺疊變化，使用  $\Delta\Delta\text{Ct}$  方法分析數據，並歸一化為用 10nMAD-1955 轉染的細胞或類比轉染細胞進行的測定。使用 XLFit 的 4 參數擬合模型計算 IC50，並歸一化為用 AD-1955 轉染或類比轉染的細胞。AD-1955 的感知和反義序列是：正義：cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT (SEQ ID NO：27) 和反義 UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO：28)。

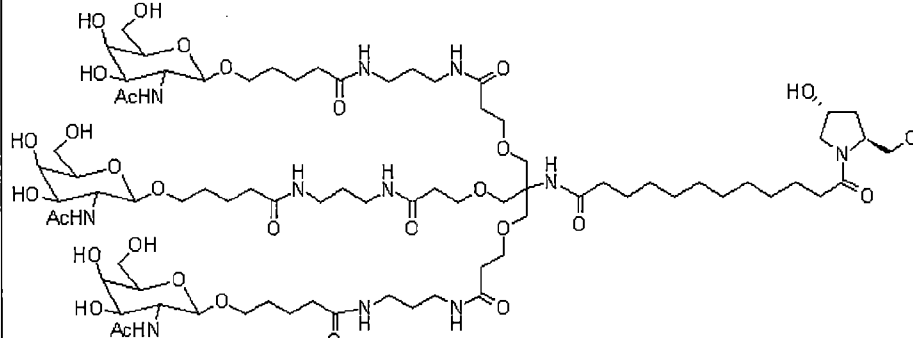
**【0629】** 表 2 和表 3 中列有原代腦徽菌肝細胞 (PCH) 的 dsRNA 藥物的單劑量篩選結果見表 4。

**【0630】** 表 1.核苷酸單體的縮寫，用於核酸序列表示。可以理解，當這些單體存在於寡核苷酸中時，藉由 5'-3'-磷酸二酯鍵相互連接；並且據瞭解，當核苷酸含有 2'-氟修飾時，則氟取代母核苷酸中該位置的羥基（即，它是 2'-去氧-2'-氟核苷酸）。

縮寫	核苷酸
A	磷酸腺苷-3'-磷酸
Ab	$\beta$ -L-腺苷-3'-磷酸
Abs	$\beta$ -L-腺苷-3'-硫代磷酸酯
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸

縮寫	核苷酸
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸酯
As	腺苷-3'-硫代磷酸酯
C	胞苷-3'-磷酸
Cb	$\beta$ -L-胞苷-3'-磷酸
Cbs	$\beta$ -L-胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cf	2'-氟胞苷-3'-磷酸
Cfs	2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸酯
G	鳥苷-3'-磷酸
Gb	$\beta$ -L-鳥苷-3'-磷酸
Gbs	$\beta$ -L-鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gf	2'-氟鳥苷-3'-磷酸
Gfs	2'-氟鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gs	鳥苷-3'-硫代磷酸酯
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸
Tfs	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
U	尿苷-3'-磷酸鹽
Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯
Us	尿苷-3'-硫代磷酸酯



縮寫	核苷酸
N	任何核苷酸，修飾或未修飾
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸
cs	2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸酯
g	2'-O-甲基鳥苷-3'-磷酸
gs	2'-O-甲基鳥苷-3'-硫代磷酸酯
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
s	硫代磷酸酯鏈結
L10	氨-(膽固醇羧醯胺基己醯基)-4-羥基脯胺酸醇
L96	氨-[三(GalNAc-烷基)-胺基癸醯基]-4-羥脯胺酸 (羥脯胺酸-(GalNAc-烷基)3) 
Y34	2-羥甲基四氫呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯
Y44	反相胺基葡萄糖(2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸)
(Agn)	腺苷-乙二醇核酸(GNA) S-異構體

縮寫	核苷酸
(Cgn)	胞苷二醇核酸 (GNA) S-異構體
(Ggn)	鳥苷-乙二醇核酸 (GNA) S-異構體
(Tgn)	胸苷二醇核酸 (GNA) S-異構體
P	磷酸鹽
VP	膦酸乙烯酯
dA	2'-去氧腺苷-3'-磷酸
dAs	2'-去氧腺苷-3'-硫代磷酸酯
dC	2'-去氧胞苷-3'-磷酸
dCs	2'-去氧胞苷-3'-硫代磷酸酯
dG	2'-去氧鳥苷-3'-磷酸
dGs	2'-去氧鳥苷-3'-硫代磷酸酯
dT	2'-去氧胸苷-3'-磷酸
dTs	2'-去氧胸苷-3'-硫代磷酸酯
dU	2'-去氧尿苷
dUs	2'-去氧尿苷-3'-硫代磷酸酯
(C2p)	胞苷-2'-磷酸
(G2p)	鳥苷-2'-磷酸
(U2p)	尿苷-2'-磷酸
(A2p)	腺苷-2'-磷酸
(Chd)	2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸
(Ahd)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸
(Ghd)	2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸

縮寫	核苷酸
(Uhd)	2'-O-十六烷基尿苷-3'-磷酸
s	硫代磷酸酯

表 2. ANGPRTL3 dsRNA 試劑的未修飾的正義股序列及反義股序列

雙鏈名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495 .3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331197.1	AUAAAAAUGUUCACAAUU AAU	29	NM_014495.3_7 5-95_G21U_s	75-95	AUUAAUUGUGAACAUUUUUUA UCU	138		73-95
AD-1331198.1	UAAAAAUGUUCACAAUUA AGU	30	NM_014495.3_7 6-96_C21U_s	76-96	ACUUAUUUGUGAACAUUUUU AUC	139		74-96
AD-1331199.1	AAAAAUGUUCACAAUUAA GCU	31	NM_014495.3_7 7-97_s	77-97	AGUUAAUUUGUGAACAUUUU UAU	140		75-97
AD-1331200.1	AAAAUUGUUCACAAUUAAAG CUU	32	NM_014495.3_7 8-98_C21U_s	78-98	AAGCUAAUUUGUGAACAUUU UUA	141		76-98
AD-1331201.1	AAUUGUUCACAAUUAAAGC UCU	33	NM_014495.3_7 9-99_C21U_s	79-99	AGAGCUTAAUUUGUGAACAUU UUU	142		77-99
AD-1331202.1	ADGUUCACAAUUAAAGCUC CUU	34	NM_014495.3_8 1-101_s	81-101	AAGGAGCUUAAUUUGUGAAC UUU	143		79-101
AD-1331203.1	UGUUCACAAUUAAAGCUCC UUU	35	NM_014495.3_8 2-102_C21U_s	82-102	AAAGGAGCUUAAUUUGUGAAC AUU	144		80-102
AD-1331204.1	GUUCACAAUUAAAGCUCCU UCU	36	NM_014495.3_8 3-103_s	83-103	AGAAGGAGCUUAAUUUGUGAA CAU	145		81-103
AD-1331205.1	UUCACAAUUAAAGCUCCUU CUU	37	NM_014495.3_8 4-104_s	84-104	AAGAAGGAGCUUAAUUUGUGA ACA	146		82-104
AD-66977.2	UCACAAUUAAAGCUCCUUC UUU	38		85-105	AAAGAAGGAGCUUAAUUUGUG AAC	147	NM_014495 2_54-76_as	83-105
AD-1331206.1	CACAAUUAAAGCUCCUUCU UUU	39	NM_014495.3_8 6-106_s	86-106	AAAAGAAGGAGCUUAAUUUGU GAA	148		84-106
AD-1331207.1	ACAAUUAAAGCUCCUUCUU UUU	40	NM_014495.3_8 7-107_s	87-107	AAAAGAAGGAGCUUAAUUUG UGA	149		85-107
AD-1331208.1	CAAUAAAGCUCCUUGUUU UUU	41		88-108	AAAAGAAGGAGCUUAAUU GUG	150		86-108

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331209.1	AUUUAGCUCUCCUUUUUU UAU	42	NM_014495.3_8 9-109_s	89-109	AUAAAAGAAGGAGCUAAU UGU	151		87-109
AD-67003.3	AUUUAGCUCUCCUUUUUU AUU	43		90-110	AUAAAAGAAGGAGCUAAA UUG	152	NM_014495 2_59-81_as	88-110
AD-1331210.1	UUUAGCUCUCCUUUUUUUA UUU	44	NM_014495.3_9 1-111_G21U_s	91-111	AAUUA AAAAGAAGGAGCUUA AUU	153		89-111
AD-1331211.1	UAAGCUCUCCUUUUUUUAU UGU	45	NM_014495.3_9 2-112_s	92-112	ACAAUAAAAGAAGGAGCUU AAU	154		90-112
AD-1331212.1	AAGCUCUCCUUUUUUUAUU GUU	46	NM_014495.3_9 3-113_s	93-113	AACA AUAAAAGAAGGAGCU UAA	155		91-113
AD-1331213.1	AGCUCUCCUUUUUUUAUUG UUU	47		94-114	AAACA UAAAAGAAGGAGC UUA	156		92-114
AD-1331214.1	GCUCUCCUUUUUUUAUUGU UCU	48		95-115	AGAA CAUAAAAGAAGGAG CUU	157		93-115
AD-1331215.1	CUCUCUCCUUUUUAUUGUU CCU	49	NM_014495.3_9 6-116_s	96-116	AGGA CAUAAAAGAAGGA GCU	158		94-116
AD-1331216.1	UCUCUCCUUUUUAUUGUUG CUU	50		97-117	AAGGA CAUAAAAGAAGG AGC	159		95-117
AD-1331217.1	CCUUCUCCUUUUUAUUGUCC UCU	51		98-118	AGAGGA CAUAAAAGAAG GAG	160		96-118
AD-1331218.1	CUUCUCCUUUUUAUUGUCCU CUA	52		99-119	UAGAGGA CAUAAAAGAAG GGA	161		97-119
AD-1331220.1	UCUUUUUAUUGUCCUCUCU AGU	53	NM_014495.3_1 01-121_s	101-121	ACUAGGA CAUAAAAGAAG AAG	162		99-121
AD-1331221.1	CUUUUUUAUUGUCCUCUA GUU	54	NM_014495.3_1 02-122_s	102-122	AACUAGGA CAUAAAAGAAG GAA	163		100-122
AD-1331222.1	UUUUUAUUGUCCUCUCUAG UUU	55		103-123	AAACUAGGA CAUAAAAGAAG AGA	164		101-123



雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495 .3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的 範圍
AD-65695.22	ACAUUUUUGAUCAGUCUUU	70		307-327	AAAAAGACUGAUCAAAUAUG UUG	179	NM_014495 .2_276-298_as	305-327
AD-1331236.1	CAUAAUUUGAUCAGUCUUU	71		308-328	AAAAAGACUGAUCAAAUAU GUU	180		306-328
AD-1331237.1	AUAUUUGAUCAGUCUUUU UAU	72	NM_014495.3_3 09-329_s	309-329	AUAAAAAGACUGAUCAAAUA UGU	181		307-329
AD-1331238.1	UAUUUGAUCAGUCUUUUU AUU	73	NM_014495.3_3 10-330_G21U_s	310-330	AUUAAAAAGACUGAUCAAA AU AUG	182		308-330
AD-1331239.1	AUUUGAUCAGUCUUUUUA UGU	74		311-331	ACAUAAAAAGACUGAUCAAA UAU	183		309-331
AD-1331240.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAU GAU	75	NM_014495.3_3 12-332_s	312-332	AUCAUAAAAAGACUGAUCAAA AUA	184		310-332
AD-1331241.1	UUGAUCAGUCUUUUUAUG AUU	76	NM_014495.3_3 13-333_C21U_s	313-333	AAUCAUAAAAAGACUGAUC AAU	185		311-333
AD-1331242.1	UGAUCAGUCUUUUUAUGA UCU	77	NM_014495.3_3 14-334_s	314-334	AGAUCATAAAAAAGACUGAUC AAA	186		312-334
AD-1331243.1	GAUCAGUCUUUUUAUGAU CUA	78	NM_014495.3_3 15-335_s	315-335	UAGATCAUAAAAAGACUGAU CAA	187		313-335
AD-1331244.1	AUCAGUCUUUUUAUGAUC UAU	79	NM_014495.3_3 16-336_s	316-336	AUAGAUCAUAAAAAGACUGA UCA	188		314-336
AD-1331245.1	UCAGUCUUUUUAUGAUCU AUU	80	NM_014495.3_3 17-337_C21U_s	317-337	AAUAGATCAUAAAAAGACUG AUC	189		315-337
AD-1331246.1	CAGUCUUUUUAUGAUCUA UCU	81	NM_014495.3_3 18-338_G21U_s	318-338	AGAUAGAUCAUAAAAAGACU GAU	190		316-338
AD-1331247.1	AGUCUUUUUAUGAUCUAU CGU	82	NM_014495.3_3 19-339_C21U_s	319-339	ACGAUAGAUCAUAAAAAGAC UGA	191		317-339
AD-1331248.1	GUCUUUUUAUGAUCUAUC GCU	83	NM_014495.3_3 20-340_s	320-340	AGCGAUAGAUCAUAAAAAGAA CUG	192		318-340

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331249.1	UCUUUUUAUGAUCUAUCG CUU	84	NM_014495.3_3 21-341_G21U_s	321-341	AAGCGAUAGAUCAUAAAAG ACU	193		319-341
AD-1331250.1	CUUUUUUAUGAUCUAUCG UGU	85	NM_014495.3_3 22-342_C21U_s	322-342	ACAGCGAUAGAUCAUAAAA GAC	194		320-342
AD-1331251.1	AACUCCAGAACACCCAGAG AGU	86	NM_014495.3_5 42-562_s	542-562	ACUUCUGGGUGUUCUGGAGU UUC	195		540-562
AD-1331252.1	ACUCCAGAACACCCAGAG GUA	87	NM_014495.3_5 43-563_s	543-563	UACUTCTGGGUGUUCUGGAG UUU	196		541-563
AD-1331253.1	CUCCAGAACACCCAGAG UAA	88	NM_014495.3_5 44-564_s	544-564	UUACTUCUGGGUGUUCUGGAG GUU	197		542-564
AD-1331254.1	UCCAGAACACCCAGAG AAU	89	NM_014495.3_5 45-565_C21U_s	545-565	AUUACUTCUGGGUGUUCUGG AGU	198		543-565
AD-1331255.1	CCAGAACACCCAGAG ACU	90	NM_014495.3_5 46-566_s	546-566	AGUUAUUCUGGGUGUUCUG GAG	199		544-566
AD-1331256.1	CAGAACACCCAGAG CUU	91	NM_014495.3_5 47-567_s	547-567	AAGUTACUUCUGGGUGUUCU GGA	200		545-567
AD-1331257.1	AGAACACCCAGAG UUU	92	NM_014495.3_5 48-568_C21U_s	548-568	AAAGUUACUUCUGGGUGUUC UGG	201		546-568
AD-1331258.1	GAACACCCAGAG UCA	93	NM_014495.3_5 49-569_s	549-569	UGAACUTACUUCUGGGUGUUC CUG	202		547-569
AD-1331259.1	AACACCCAGAG CAU	94	NM_014495.3_5 50-570_C21U_s	550-570	AUGAAGTUACUUCUGGGUGU UCU	203		548-570
AD-1331260.1	ACACCCAGAG ACU	95	NM_014495.3_5 51-571_s	551-571	AGUGAAGUUACUUCUGGGUG UUC	204		549-571
AD-1331261.1	CACCCAGAG CUU	96	NM_014495.3_5 52-572_s	552-572	AAGUGAAGUUACUUCUGGGUG GUU	205		550-572
AD-1331262.1	ACCCAGAG UUU	97		553-573	AAAGUGAAGUUACUUCUGGG UGU	206		551-573



雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144.95.3 中的範圍
AD-1331263.1	CCCAGAAAGUAACUUCACU UAA	98	NM_014495.3_5 54-574_s	554-574	UUUAGUGAAGUUAACUUCUGG GUG	207		552-574
AD-1331264.1	CCAGAAGUAACUUCACUU AAA	99	NM_014495.3_5 57-576_s	555-575	UUUAAAGTGAAGUUAACUUCUG GGU	208		553-575
AD-1331265.1	CAGAAGUAACUUCACUUA AAA	100	NM_014495.3_5 56-576_s	556-576	UUUUAAAGUGAAGUUAACUUCU GGG	209		554-576
AD-1331266.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAU	101	NM_014495.3_5 57-577_C21U_s	557-577	AUUUUAAAGUGAAGUUAACUUC UGG	210		555-577
AD-1331267.1	GAAAGUAACUUCACUUA ACU	102	NM_014495.3_5 58-578_s	558-578	AGUUUUAAAGUGAAGUUAACUU CUG	211		556-578
AD-1331268.1	AAGUAACUUCACUUA CUU	103	NM_014495.3_5 59-579_s	559-579	AAGUUUUAAAGUGAAGUUAACU UCU	212		557-579
AD-1331269.1	AGUAACUUCACUUA UUU	104	NM_014495.3_5 60-580_s	560-580	AAAGUUUUAAAGUGAAGUUAAC UUC	213		558-580
AD-1331270.1	GUAACUUCACUUA UUU	105	NM_014495.3_5 61-581_s	561-581	AAAAGUUUUAAAGUGAAGUUA CUU	214		559-581
AD-1331271.1	UACUUCACUUA UUU	106		562-582	AAAAGUUUUAAAGUGAAGUU ACU	215		560-582
AD-1331272.1	AACUUCACUUA UGU	107	NM_014495.3_5 63-583_s	563-583	ACAAAAGUUUUAAAGUGAAGU UAC	216		561-583
AD-1331273.1	ACUUCACUUA GUU	108		564-584	AACAAAAGUUUUAAAGUGAAG UUA	217		562-584
AD-1331274.1	CUUCACUUA UAU	109	NM_014495.3_5 65-585_G21U_s	565-585	AUACAAAAGUUUUAAAGUGAA GUU	218		563-585
AD-1331275.1	UUCACUUA AGU	110		566-586	ACUACAAAAGUUUUAAAGUGA AGU	219		564-586
AD-1331276.1	UCACUUA GAU	111		567-587	AUCUACAAAAGUUUUAAAGUG AAG	220		565-587

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331277.1	CACUUA AAAACUUUUUGUAG AAA	112	NM_014495.3_5 70-589_s	568-588	UUUCTACAAAAGUUUUUAAAG GAA	221		566-588
AD-1331278.1	ACUUAAAACUUUUUGUAGA AAA	113	NM_014495.3_5 69-589_s	569-589	UUUUUCACAAAAGUUUUUAAAG UGA	222		567-589
AD-1331279.1	AAUGUUCACAAUUAAGCU CCU	114		80-100	AGGAGCTUAAUTGUGAAACAU UUU	223		78-100
AD-1331280.1	AUUUGCUAUGUUAGACGGA UGU	115		188-208	ACAU CGTCUAACAUAGCAAAA UCU	224		186-208
AD-1331281.1	UUGCUAUGUUAGACGAUG UAA	116		190-210	UTACA UCGUCUAACAUAGCA AAU	225		188-210
AD-1331282.1	UGCUAUGUUAGACGAUGU AAA	117		191-211	UTUACA TCGUCTAACAUAGC AAA	226		189-211
AD-1331283.1	AACUGAGAAAGAACUACAU AUA	118		373-393	UAUATGTAGUUCUUCUCAGU UCC	227		371-393
AD-1331284.1	AACCAACAGCAUAGUCAAA AUA	119		648-668	UAUUTGACUAUGCUGUUGGU UUA	228		646-668
AD-1331285.1	CCCACAGAAA UUCUCUA UCU	120		711-731	AGAUAGAGAAA TUUCUGUGG GUU	229		709-731
AD-1331286.1	CAGGUAGUCCAUGGACAU UAA	121		913-933	UTAATGTCCAUGGACUACCU GAU	230		911-933
AD-1331287.1	GGUAGUCCAUGGACAUUA AUU	122		915-935	AAUUAATGUCCAUGGACUAC CUG	231		913-935
AD-1331288.1	AGUUGGAAAGACUGGAAAG ACA	123		1081-1101	UGUCTUTCCAGTCUCCAAACU CA	232		1079-1101
AD-1331289.1	UGGAAAGACAAACAAACAU UAU	124		1092-1112	ATAATGTUUGUTGUCUUUCC AGU	233		1090-1112
AD-1331290.1	UUUACUUUGGAAAUCACG AAA	125		1126-1146	UTUCGUGAUUUUCCCAAGUAA AAA	234		1124-1146

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495 .3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331291.1	GGGAAAUACACGAAACCAA CUA	126		1133-1153	UAGUTGGUUUCGGAUUUCC CAA	235		1131-1153
AD-1331292.1	GAAUUCACGAAACCAACU AUA	127		1135-1155	UAUAGUTGGUUTCUGGAUUU CCC	236		1133-1155
AD-1331293.1	CGAAACCAACUUAACGCCU ACA	128		1142-1162	UGUAGCGUAUAUGUUGUUC GUG	237		1140-1162
AD-1331294.1	AUCAACCAAAAUGUUGAU CCA	129		1415-1435	UGGATCAACAUTUUGGUUGA UUU	238		1413-1435
AD-1331295.1	UUAAAACUCUAAAACUUGA CUA	130		1850-1870	UAGUCAAGUUUTGAGUUUUA ACA	239		1848-1870
AD-1331296.1	CAAAACUUGAAAGCCUCC UAU	131		445-465	ATAGGAGGCUUTCAGUUUUU GAG	240		443-465
AD-1331297.1	UCAACAUUGAAUAGAUGG AUU	132		935-955	AAUCCATCUAUTCGAUUGG AAU	241		933-955
AD-1331298.1	CAAAACUUCAAUGAAACG UGU	133		957-977	ACACGUTUCAUTGAAUUUU GUG	242		955-977
AD-1331299.1	AAUCACGAAACCAACUUAU ACU	134		1137-1157	AGUATAGUUGGTUUCGUGAU UUC	243		1135-1157
AD-1331300.1	GGGAAUCAAUUUJAGAUG GUU	135		1695-1715	AACCAUCUAAAAUUUGAUUCC CAC	244		1693-1715
AD-1331301.1	CAAAAUGUUGAUCCAUCC AAU	136		1421-1441	ATUGGATGGAUCAACAUUUU GGU	245		1419-1441
AD-1331302.1	UGGACAUUA-AUJUCAACAU CGA	137		924-944	UCGATGTUGAAUAAAUGUCC AUG	246		922-944
AD-1331328.1	AAUGUUCACAAUUAAGGU CCU	114		80-100	AGGAGCTUAAUTGTGAAACAU UUU	247		78-100
AD-1331329.1	AUUUGCUAUGUUAGACGA UGU	115		188-208	ACAUCCGTCUAAACATAGCAA UCU	248		186-208

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NIM_014495 3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NIM_0144 95.3 中的範圍
AD-1331330.1	UUGCUAUGUUAGACGAUG UAA	116		190-210	UTACAUGGUCU AACATAGCA AAU	249		188-210
AD-1331306.1	UGCUAUGUUAGACGAUGU AAA	117		191-211	UTUACATCGUC TAAACAUGC AAA	226		189-211
AD-1331331.1	AACUGAGAAGAACUACAU AUA	118		373-393	UAUATGTAGUUCU TCTCAGU UCC	250		371-393
AD-1331332.1	AACCAACAGCAUAGUCA AUA	119		648-668	UAUUTGACUAUGCTGTUGGU UUA	251		646-668
AD-1331333.1	CCCACAGAAAUUUCUCUA UCU	120		711-731	AGAUAAGAGAAATUTCTGUGG GUU	252		709-731
AD-1331334.1	CAGGUAGUCCAUUGGACAU UAA	121		913-933	UTAATGTCCAUGGACTACCUG AU	253		911-933
AD-1331311.1	GGUAGUCCAUUGGACAUUA AUU	122		915-935	AAUUAATGUCCAUGGACUAC CUG	231		913-935
AD-1331335.1	AGUUGGAAGACUGGAAAG ACA	123		1081-1101	UGUCTUTCCAAGTCTUCCAACU CA	254		1079-1101
AD-1331336.1	UGGAAAGACAACAAACA UAU	124		1092-1112	ATAATGTUUUGUTGTCTUUGCA GU	255		1090-1112
AD-1331314.1	UUUACUUGGGAAAUCACG AAA	125		1126-1146	UTUCGUGAUUUUCCCCAAGUAA AAA	234		1124-1146
AD-1331337.1	GGGAAAUCACGAAACCAA CUA	126		1133-1153	UAGUTGGUUUCGUGATUUC CAA	256		1131-1153
AD-1331316.1	GAAAUCACGAAACCAAACU AUA	127		1135-1155	UAUAGUTGGUUTCGUGAUUU CCC	236		1133-1155
AD-1331338.1	CGAAACCAACUUAUCGCU ACA	128		1142-1162	UGUAGCGUAUAGUTGGUUUC GUG	257		1140-1162
AD-1331339.1	AUCAACCAAAAUGUUGAU CCA	129		1415-1435	UGGATCAACAUTUTGGUUGA UUU	258		1413-1435

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	來源名稱	NM_014495.3 中的範圍
AD-1331340.1	UUAAAAACUCUAAACUUGA CUA	130		1850-1870	UAGUCAAGUUUTGAGTUUUA ACA	259		1848-1870
AD-1331320.1	CAAAACUUGAAAGCCUCC UAU	131		445-465	ATAGGAGGCUUTCAGUUUU GAG	240		443-465
AD-1331341.1	UCAACAUCGAAUAGAUGG AUU	132		935-955	AAUCCATCUAUTCGATGUUG AAU	260		933-955
AD-1331322.1	CAAAACUUCAAUGAAACG UGU	133		957-977	ACACGUTUCAUTGAAUUUU GUG	242		955-977
AD-1331342.1	AAUCACGAAACCAACUAAU ACU	134		1137-1157	AGUATAGUUGGTUTCGUGAU UUC	261		1135-1157
AD-1331343.1	GGGAAUCAAUUUAGAUG GUU	135		1695-1715	AACCAUCUAAAAAUTGAUCC CAC	262		1693-1715
AD-1331325.1	CAAAAUGUUGAUCCAUC AAU	136		1421-1441	ATUGGATGGAUCAACAUUUU GGU	245		1419-1441
AD-1331344.1	UGGACAUUAAUUCACAAU CGA	137		924-944	UCGATGTUGAATUAATGUCC AUG	263		922-944

表 3. ANGPTL3 dsRNA 試劑的經修飾的正義股序列及反義股序列

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331197.1	asasaaaaAfuGfUfUfcacaauuaanL.96	264	asUfsuaaUfugugaacAfuUfuuuauuscu	372	AGAUA AAAAUUUUCACAAUUUAAG	503
AD-1331198.1	usasaaaaUfgUfUfcacaauuaagnL.96	265	asCfsuaaAfuugugaAfaUfuuuauusisc	373	GAUAAAAAUUUUCACAAUUUAAGC	504
AD-1331199.1	asasaauGfuUfCfAfcacaauuaagcuL.96	266	asCfsuuAfaugugaAfcAfuuuuasasu	374	AUAAAAAUUUUCACAAUUUAAGCU	505
AD-1331200.1	asasaauUfuCfAfcfacaauuaagcuL.96	267	asAfsquUfaauugAfaCfaauuusasa	375	UAAAAAUUUUCACAAUUUAAGCUC	506
AD-1331201.1	asasaauUfcAfcfacaauuaagcuL.96	268	asCfsagCu(Tgn)aaauuGfaAfcfaauuususu	376	AAAAAUUUUCACAAUUUAAGCUCC	507

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331202.1	asusguucAfcAfAfUfuaagcuccuuL96	269	asAfsaggAg(C2p)uuauuGfuGfaacaususu	377	AAUUGUUCACAAUUAAAGCUCUUCU	508
AD-1331203.1	usgsuucaCfaAfUfUfaagcuccuuL96	270	asAfsagdGa(G2p)uuauUfgUfgaacasusu	378	AAUUGUUCACAAUUAAAGCUCUUCU	509
AD-1331204.1	gsusuuacAfaUfUfAfgcuccuuL96	271	asGfsaadGg(Agn)gcuuuaUfuGfugaacsasu	379	AUGUUCACAAUUAAAGCUCUUCU	510
AD-1331205.1	ususcacaAfuUfAfAfgcuccuuL96	272	asAfsaadAg(C2p)agcuaaAfuUfgugaacsu	380	UGUUCACAAUUAAAGCUCUUCU	511
AD-66977.2	uscacaaUfuAfAfGfcuccuuL96	273	asAfsagaAfggaguuAfaUfugugasase	381	GUUCACAAUUAAAGCUCUUCU	512
AD-1331206.1	csascauUfaAfGfcfccuccuuL96	274	asAfsaagAfaaggagUfaAfuuggsasa	382	UUCACAAUUAAAGCUCUUCU	513
AD-1331207.1	ascsaauAfaGfcUfccuccuuL96	275	asAfsaaaGfaaggagUfaAfuuggsa	383	UCACAAUUAAAGCUCUUCU	514
AD-1331208.1	csasauaAfgCfcfccuccuuL96	276	asAfsaaaAfgaaggagCfuUfaauugsusg	384	CACAAUUAAAGCUCUUCU	515
AD-1331209.1	asasuuaaGfcUfcfcfccuccuuL96	277	asUfsaaaAfaagaagGfcUfuaauugsu	385	ACAAUUAAAGCUCUUCU	516
AD-67003.3	asusuaagCfcCfcfcfccuccuuL96	278	asAfsuaaAfaagaagGfcUfuaauugsu	386	CAUUAAAGCUCUUCU	517
AD-1331210.1	ususaaagCfcUfcfccuccuuL96	279	asAfsanaAfaagaagGfcUfuaauugsu	387	AAUUAAAGCUCUUCU	518
AD-1331211.1	usasagcuCfcUfcfccuccuuL96	280	asCfsaaUfaaaagaaGfgAfgcuuasasu	388	AUUAAAGCUCUUCU	519
AD-1331212.1	asasgcucCfcUfcfccuccuuL96	281	asAfscaaUfaaaagaaGfgAfgcuuasasa	22	UUAAAGCUCUUCU	520
AD-1331213.1	asgsuuccUfcUfcfccuccuuL96	282	asAfsacaAfaaaagaaGfgAfgagcuisasa	24	UAAGCUCUUCU	521
AD-1331214.1	gsccuuccUfcUfcfccuccuuL96	283	asGfsaacAfaaaagaaGfgAfgagcuisusu	389	AAGCUCUUCU	522
AD-1331215.1	csusccuuCfcUfcfccuccuuL96	284	asGfsagaCfaaaagaaGfgAfgagcuisu	390	AGCUCUUCU	523
AD-1331216.1	uscscuuUfcUfcfccuccuuL96	285	asAfsagaAfaaaagaaGfgAfgagcuisu	391	GCUCUUCU	524
AD-1331217.1	csccuuUfcUfcfccuccuuL96	286	asGfsagagAfaaaagaaGfgAfgagcuisu	392	CUCUUCU	525
AD-1331218.1	csusuuUfcUfcfccuccuuL96	286	usAfsaadGg(Agn)acaauaAfaAfaagaagsasa	393	UCCUUCU	526



雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331237.1	asusauuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuL96	306	asUfsaaaAfaagacUfaAfaauuuugsu	413	ACAUUUUUGAUCAGUCUUUUUUU	546
AD-1331238.1	usasuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	307	asAfsuaaAfaagacUfaAfaauuuugsu	414	CAUUAUUUGAUCAGUCUUUUUUU	547
AD-1331239.1	asusuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	308	asCfsauaAfaagacUfaUfcaaausasu	415	AUAUUUUGAUCAGUCUUUUUUU	548
AD-1331240.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	309	asUfscauAfaaagacUfgAfucaasusa	416	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUU	549
AD-1331241.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	310	asAfsucaUfaaagaCfuGfaucasasu	417	AUUUGAUCAGUCUUUUUUU	550
AD-1331242.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	311	asGfsaudCa(Tgn)aaaagAfaUfcaucasasa	418	UUUGAUCAGUCUUUUUUU	551
AD-1331243.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	312	usAfsgadTc(Agn)uaaaaGfaCfugaucasasa	419	UUUGAUCAGUCUUUUUUU	552
AD-1331244.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	313	asUfsagAu(C2p)uaaaaAfaUfcaucasasa	420	UGAUCAGUCUUUUUUU	553
AD-1331245.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	314	asAfsuadGa(Tgn)caaaaAfaGfacugasusc	421	GAUCAGUCUUUUUUU	554
AD-1331246.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	315	asGfsaudA(gAgn)ucaaaaAfaAfgacugasusu	422	AUCAGUCUUUUUUU	555
AD-1331247.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	316	asCfsagauAfgaucuuAfaAfaagacugsa	423	UCAGUCUUUUUUU	556
AD-1331248.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	317	asGfscgaUfagaucuuAfaAfaagacugsu	424	GAGUCUUUUUUU	557
AD-1331249.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	318	asAfsagcAfaagacuuAfaAfaagacugsu	425	AGUCUUUUUUU	558
AD-1331250.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	319	asCfsagcGfaagacuuAfaAfaagacugsu	426	GUCUUUUUUU	559
AD-1331251.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	320	asCfsaudCu(G2p)gguguuCfuGfagugususc	427	GAAACUCCAGAACACCCAGAAAGU	560
AD-1331252.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	321	usAfsudTc(Tgn)gguguuUfcaUfagugususu	428	AAACUCCAGAACACCCAGAAAGU	561
AD-1331253.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	322	usUfsadTu(C2p)gguguuUfcaUfagugususu	429	AACUCCAGAACACCCAGAAAGU	562
AD-1331254.1	usuuuuGfaUfCfaUfgucuuuuuuuuL96	323	asUfsuadCu(Tgn)cuugguuGfuUfcaugagugsu	430	ACUCCAGAACACCCAGAAAGU	563



雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331255.1	cscsagaaCfaCfcfCfagaaguuaacuuL96	324	asGfsuudAc(Tgn)ucugggUfgUfucuggsasg	431	CUCCAGAACACCCAGAAAGUAACU	564
AD-1331256.1	csasgaacAfcCfCfAfgaaguuaacuuL96	325	asAfsugdTa(C2p)uucuggGfuGfuucugsgsa	432	UCCAGAAACACCCAGAAAGUAACUU	565
AD-1331257.1	asgsaacaCfcCfAfGfaaguuaacuuuL96	326	asAfsaguUfacuucugGfgUfguucussg	433	CCAGAACACCCAGAAAGUAACUUC	566
AD-1331258.1	gsasacacCfcAfGfAfguaaacuuaL96	327	usGfsaadGu(Tgn)acuucUfgGfugnuucsu	434	CAGAACACCCAGAAAGUAACUUCA	567
AD-1331259.1	asascaccfaGfAfAfguaacuuaL96	328	asUfsgadAg(Tgn)uacuucUfgGfgugnuucsu	435	AGAACACCCAGAAAGUAACUUCAC	568
AD-1331260.1	ascscaccAfgAfAfGfuaacuuaL96	329	asGfsugdAa(G2p)uacuucUfgGfgugnuucsu	436	GAAACACCCAGAAAGUAACUUCACU	569
AD-1331261.1	csascccaGfaAfGfUfaacuuaL96	330	asAfsugdGa(Agm)guuacuUfcUfgggugusuu	437	AACACCCAGAAAGUAACUUCACUU	570
AD-1331262.1	ascscagAfaGfUfAfaacuuaL96	331	asAfsaguGfaaguuaCfuCfuggsusuu	438	ACACCCAGAAAGUAACUUCACUUA	571
AD-1331263.1	cscscagaAfgUfaFafcuuaL96	332	usUfsaadGu(G2p)aauguuAfcUfugggusug	439	CACCCAGAAAGUAACUUCACUAAA	572
AD-1331264.1	cscsagaaGfuAfAfCfuuaL96	333	usUfsuudAg(Tgn)aauguuAfcUfugggusuu	440	ACCCAGAAAGUAACUUCACUAAA	573
AD-1331265.1	csasgaagUfaAfCfUfucuaL96	334	usUfsuudAa(G2p)uagaaguUfaCfuucugsg	441	CCCAGAAAGUAACUUCACUAAAA	574
AD-1331266.1	asgsaaguAfaCfUfucuaL96	335	asUfsuuuAfaaguagaUfuAfcuucussg	442	CCAGAAAGUAACUUCACUAAAAAC	575
AD-1331267.1	gsasaguaAfcUfUfCfuaL96	336	asGfsuuuUfaaguagaGfuUfacuucussg	443	CAGAAAGUAACUUCACUAAAAACU	576
AD-1331268.1	asasguuaCfuUfCfAfcuaL96	337	asAfsuuUfuaaaguAfgUfuaucussu	444	AGAAAGUAACUUCACUAAAAACUU	577
AD-1331269.1	asgsuaacUfuCfAfCfuuaL96	338	asAfsaguUfuaaaguAfaGfuaucussu	445	GAAAGUAACUUCACUAAAAACUUU	578
AD-1331270.1	gsusaacuUfcAfCfUfaaL96	339	asAfsaagUfuuuaguGfaAfguuacussu	446	AAGUAACUUCACUAAAAACUUUU	579
AD-1331271.1	usasacuUfcAfCfUfaaL96	340	asAfsaaaGfuuuaguUfgAfguuacussu	447	AGUAAACUUCACUAAAAACUUUUG	580
AD-1331272.1	asascuuaCfcUfUfaaL96	341	asCfsaaaAfguuuuaGfUfuaaaguasac	448	GUAAACUUCACUAAAAACUUUUGU	581

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331273.1	ascnucaCfuUfAfaAfaacuuuuuuL96	342	asAfscaaAfaquuuuaAfgUfgaagususa	449	UAACUUACACUUAAAAACUUUUUGUA	582
AD-1331274.1	csusucacUfuAfaAfaacuuuuuuuuL96	343	asUfsacaAfaquuuuAfaGfugaagsusu	450	AACUUACACUUAAAAACUUUUUGUAG	583
AD-1331275.1	ususcacuUfaAfaAfaacuuuuuuuuL96	344	asCfsuacAfaaguuuUfaAfgugaagsu	451	ACUUCACUUAAAAACUUUUUGUAGA	584
AD-1331276.1	uscacuuAfaAfaAfaacuuuuuuuuL96	345	asUfscuaCfaaaguuUfuAfaugagasig	452	CUUCACUUAAAAACUUUUUGUAGAA	585
AD-1331277.1	csascuuAfaAfaAfaacuuuuuuuuL96	346	usUfscudTa(C2p)aaaaguUfuUfaagugasa	453	UUCACUUAAAAACUUUUUGUAGAAA	586
AD-1331278.1	ascnuuaAfaCfuUfuuuuuuuuuuuL96	347	usUfscudCu(Agn)caaaagUfuUfaaagugsa	454	UCACUUAAAAACUUUUUGUAGAAA	587
AD-1331279.1	asasuguucaCfaAfaacuuuuuuuuL96	348	asdGsgadGcdTuaudTgUfgaacuuusu	455	AAAAUGUUCACAAUUAAGCUCU	588
AD-1331280.1	asusnucuaUfGfuuaagacuuuuL96	349	asdCsaudCgdTcuadCaUfagcaauuscu	456	AGAUUUGCUAUGUUAGACGUAUGU	589
AD-1331281.1	usugcuangUfuAfaacuuuuuuuuL96	350	usdTsaadAudCgucudAacfaaagcaasasu	457	AUUUGCUAUGUUAGACGUAUGUAA	590
AD-1331282.1	usgscuauguUfaAfaacuuuuuuuuL96	351	usdTsuadCadTcguedTaAfaaagcaasasa	458	UUUGCUAUGUUAGACGUAUGUAAA	591
AD-1331283.1	asascugagaAfaAfaacuuuuuuuuL96	352	usdAsuadTgdTaguudCuUfencaguuuscsc	459	GGAAACUGAGAAGAAACUACAUUA	592
AD-1331284.1	asasccaacaGfcAfaacuuuuuuuuL96	353	usdAsuudTgdAcuudGcUfguuuuuuuuuu	460	UAAACCAACAGCAUAGUCAAAUA	593
AD-1331285.1	csccacagaAfaAfaacuuuuuuuuL96	354	asdGsaudAgaAgaadTuUfeguuggggsusu	461	AACCCACAGAAAUUUUCUCUAUCU	594
AD-1331286.1	csasgguaguCfaAfaacuuuuuuuuL96	355	usdTsaadTgdTccaudGgAfcuaccuugsasu	462	AUCAGGUAGUCCAUGGACAUUAA	595
AD-1331287.1	gsgsuaguccAfuGfagaacuuuuuuL96	356	asdAsuudAadTguccdAuGfagacuucosug	463	CAGGUAGUCCAUGGACAUUAAU	596
AD-1331288.1	asgguuggaaGfaAfaacuuuuuuuuL96	357	usdGsuedTudTccagTcUfuccaacusca	464	UGAGUUUGGAGACUCUGGAAAGACA	597
AD-1331289.1	usgsgaaagaCfaAfaacuuuuuuuuL96	358	asdTsaadTgdTtuugudTgUfenuuccaggsu	465	ACUGGAAAAGACAAACAAACAUAU	598
AD-1331290.1	ususuacuuugGfaAfaacuuuuuuuuL96	359	usdTsuudGudGauudCcCfaaguuuaasasa	466	UUUUUACUUGGGAAAUCACGAAA	599

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331291.1	gsgsaaauicAfCfGfaaaccacaual96	360	usdAsgudTgdGuuucdGuCfauuucccasa	467	UUGGGAUAUCACGAAACCAACUA	600
AD-1331292.1	gsasaaucacGfAfAfaccaacuuaial96	361	iisdAsnuadGudTgguudTcGfugauuucscsc	468	GGGAUAUCA CGAAACCAACUAUA	601
AD-1331293.1	csgsaaaccaAfCfUfaucgcuacaL96	362	usdGsuadGcdGuaudGuUfsguuucgsusg	469	CACGAAACCAACUAUACGCUACA	602
AD-1331294.1	asuscaaccaAfAfAfiguugauccaL96	363	usdGsgadTcdAacaudTuUfsguugaususu	470	AAAUCAACCAAAAUGUUGAUCCA	603
AD-1331295.1	ususaauacuCfUfAfaacuugacuaL96	364	usdAsgudCadAguuudTgAfgnuuuaascsa	471	UGUUAAAACUCUAAAACUUGACUA	604
AD-1331296.1	csasaaacuGfAfAfigccuccuaul96	365	asdTsagudGadGgcudTcAfagnuuugsasg	472	CUCAAAAACUUGAAAAGCCUCCUAG	605
AD-1331297.1	uscsaaacuGfAfAfigauggaual96	366	asdAsuudCadTcuudTcGfauugugasasu	473	AUUCACAUCGGAUAUAGAUGGAUC	606
AD-1331298.1	csasaaacuCfAfAfigaaacgugul96	367	asdCsacdGudTucudTgAfagnuuugsusg	474	CACAAAACUUCAAUGAAAACGGUGG	607
AD-1331299.1	asasucagaAfAfCfcaacuuaual96	368	asdGsuadTadGuuggdTuUfegugauususc	475	GAAAUACACGAAACCAACUAUACG	608
AD-1331300.1	gsgsgaaucaAfUfUfuaagauuguul96	369	asdAsecdAudCuaadAuUfgaaucccasc	476	GUGGGAAUCAAUUUUUAAGAUGGUC	609
AD-1331301.1	csasaaanguUfGfAfuccauccaual96	370	asdTsuigdGadTggandCaAfcannuuugsusu	477	ACCAAAAUGUUGAUCCAUCCAAC	610
AD-1331302.1	usgsaacuuAfAfUfuaacaucgaL96	371	usdCsgadTgdTugaadTuAfauguccasug	478	CAUGGACAUAUAUUUCAACAUCGA	611
AD-1331328.1	asasiguucaCfAfAfuuaagcuccul96	348	asdGsgadGcdTuaandTgdTgdAcauuususu	479	AAA AUGUUCACAAUUAAGCUCCU	588
AD-1331329.1	asusunucuaUfGfUfuagacgaugul96	349	asdCsaudCgdTcuandCadTadGcaauuscsu	480	AGAUUUGCUAUGUUGAGACGGAUGU	589
AD-1331330.1	usugcuangUfUfAfgacgauguaal96	350	usdTsacdAudCgucudAadCadTagcaasasu	481	AUUUGCUAUGUUGAGACGGAUGUAA	590
AD-1331306.1	usgsctuanguUfAfGfacgauguaaal96	351	iisdTsuadCadTcgudTadAcdAuaagcasasa	482	UUUGCUAUGUUGAGACGGAUGUAAA	591
AD-1331331.1	asascugagaAfGfAfacuacauuaial96	352	usdAsuadTgdTaguudCudTcdTcaguuuscsc	483	GGAACUGAGAAAGAACUACAUAUA	592
AD-1331332.1	asasccaacaGfCfAfuagucaaaial96	353	usdAsuudTgdAcuudGcdTgdTugguuususa	484	UAAAACCAACAGCAUAGUCAAAUA	593

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列 5'至 3'	SEQ ID NO:
AD-1331333.1	csccacagaAfaFufuucucuauL96	354	asdGsaudAgdAgaadTudTcdTgugggsusu	485	AACCCACAGAAAUUUCUCUAUCU	594
AD-1331334.1	csasgguaaguCfCfAflugacauuaaL96	355	usdTsaadTgdTccaudGgdAcdTaccetgsasu	486	AUCAGGUAGUCCAUGGACAUAUAA	595
AD-1331335.1	gsgsuaguccAfuGfgacaunaauuL96	356	asdAsuudAadTgucedAudGgdAciuccesug	487	CAGGUAGUCCAUGGACAUAUAAUU	596
AD-1331335.1	asgsuuggaaGfAfCfuggaaagacaL96	357	usdGsuudTudTccagdTcdTudCcaacscsa	488	UGAGUUUGGAAGACUGGAAAAGACA	597
AD-1331336.1	usgsgaaagaCfAfAfcfaaacaauuuL96	358	asdTsaadTgdTuuugdTgdTcdTuuiccasgsu	489	ACUGGAAAAGACAACAACAUAUUAU	598
AD-133134.1	ususuaauugGfGfAfaaiaucagaaaL96	359	usdTsuudGudGauuudCcdCadAguaaasasa	490	UUUUUACUUUGGAAAUAUCACGAAA	599
AD-1331337.1	gsggaaaucafcGfafaacccaauaL96	360	usdAsgudTgdGhuuudGudGadTuuicccsasa	491	UUGGGAAAUCACGAAAACCAACUA	600
AD-1331316.1	gsaaaucaacGfAfAfcfaaccauuaL96	361	usdAsuudGudTgguudTcdGudGauuucscsc	492	GGGAAAUCACGAAAACCAACUAUA	601
AD-1331338.1	csaaacccaAfCfUfaucgcuacaL96	362	usdGsuudGcdGuaudGudTgdGhuuucgsusg	493	CACGAAAACCAACUAUAUCGCUACA	602
AD-1331339.1	asuscaaccaAfaFAfuguugauccaL96	363	usdGsgadTcdAcaudTudTgdGhuugaususu	494	AAAUCAACCAAAAUGUUUGAUCCA	603
AD-1331340.1	ususaaacuCfUfAfaacuuigacuaL96	364	usdAsgudCadAguuudTgdAgdTuuuaascsa	495	UGUUAAAACUCUAAAACUUGACUA	604
AD-1331320.1	csasaaacuGfAfAfcgcccuaauL96	365	asdTsaadGadGgcudTcdAadGhuuugsasg	496	CUCAAAAACUUGAAAAGCCUCCUAG	605
AD-1331341.1	uscsaaacuGfAfAfuagauggauuL96	366	asdAsuudCadTcaudTcdGadTguugasasu	497	AUUCAACAUCGAAUAUAGAUUGGAUC	606
AD-1331322.1	csasaaacuCfAfAfcgaaacguguL96	367	asdCsacdGudTucaudTgdAadGhuuugsusg	498	CACAAAACUUCUAAAUGAAAACGUGG	607
AD-1331342.1	asasucacgaAfAfCfcaacuuaauL96	368	asdGsuudTadGuuugdTudTcdGugauuisusc	499	GAAAUCACGAAAACCAACUAUACG	608
AD-1331343.1	gsgsgaaucAfuFufuuaugguuL96	369	asdAsccadAudCuaaadAudTgdAuuicccsasc	500	GUGGGAAUCAUUUUUAGAUGGUUC	609
AD-1331325.1	csasaaaguUfGfAfucauccaauL96	370	asdTsuudGadTggadCadAcdAuuuuggsusu	501	ACCAAAAUGUUUGAUCCAUCAAC	610
AD-1331344.1	usgsgaacuuAfaFufucaacaucgaL96	371	usdCsadTgdTugaadTudAadTguccasusg	502	CAUGGACAUAUAAUAUCAACAUCGA	611

【0631】表 4.初代食蟹獼猴肝細胞(PCH)中的 ANGPTL3 劑量篩選

雙鍵體 ID	10nM		1nM		0.1nM	
	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV
AD-1331197.1	17.2	4.9	17.2	3.1	42.1	16.6
AD-1331198.1	18.7	3.3	15.6	9.8	117.6	10.7
AD-1331199.1	22.5	3.2	20.6	1.2	79.0	20.6
AD-1331200.1	16.0	2.3	10.7	6.4	47.0	14.5
AD-1331201.1	33.2	1.5	22.1	13.9	95.6	3.0
AD-1331202.1	15.4	5.8	12.2	1.2	34.2	11.8
AD-1331203.1	14.2	1.6	10.3	3.7	32.6	5.9
AD-1331204.1	21.4	1.5	15.2	0.9	73.1	4.2
AD-1331205.1	21.7	5.5	15.6	0.2	40.1	11.3
AD-66977.2	19.3	2.6	17.4	2.6	39.2	4.8
AD-1331206.1	16.0	9.0	11.2	1.1	18.6	4.9
AD-1331207.1	17.9	6.0	10.2	3.2	24.2	8.9
AD-1331208.1	19.4	4.5	11.8	0.9	29.1	12.6
AD-1331209.1	10.9	2.8	11.9	2.9	27.6	3.9
AD-67003.3	13.7	3.3	11.8	1.3	27.0	5.0
AD-1331210.1	23.2	5.8	24.6	1.8	58.4	15.3
AD-1331211.1	25.9	8.3	22.5	0.3	68.1	11.4
AD-1331212.1	13.0	5.2	12.5	0.8	33.4	10.7
AD-1331213.1	23.1	9.0	8.5	0.5	22.1	3.1
AD-1331214.1	25.9	13.0	27.5	6.1	69.5	13.3
AD-1331215.1	16.6	4.3	18.2	3.7	53.0	9.2
AD-1331216.1	18.3	4.1	17.8	4.0	44.0	6.5
AD-1331217.1	27.5	8.6	29.8	5.2	81.8	21.5
AD-1331218.1	21.2	2.2	26.7	6.2	63.5	9.7
AD-1331220.1	36.0	7.5	26.5	4.0	59.7	6.7
AD-1331221.1	34.7	0.3	55.1	5.0	89.3	12.3
AD-1331222.1	17.4	2.6	17.3	4.2	43.6	12.2
AD-1331223.1	13.6	1.5	16.0	2.8	39.7	10.0
AD-1331224.1	23.3	4.0	28.5	5.4	60.3	15.5
AD-1331225.1	20.3	7.8	18.8	1.4	50.5	9.5
AD-1331226.1	14.6	3.0	13.3	4.7	46.2	11.3
AD-1331227.1	23.7	11.6	26.2	6.6	65.2	6.1
AD-1331228.1	14.8	1.9	10.3	0.7	25.9	2.4
AD-1331229.1	16.6	5.2	13.0	1.8	38.6	17.3
AD-1331230.1	14.3	4.1	13.2	1.9	44.4	12.4
AD-1331231.1	27.2	6.0	29.9	6.4	68.0	13.1
AD-1331232.1	32.7	7.9	64.6	4.1	110.0	6.3
AD-1331233.1	26.5	4.1	23.9	1.2	70.0	16.6
AD-1331234.1	15.4	3.2	11.8	3.3	37.2	13.6
AD-67031.2	12.3	1.3	9.6	3.3	31.4	5.3
AD-1331235.1	19.7	12.5	10.2	0.5	21.3	6.7
AD-65695.22	23.2	13.7	9.3	0.3	16.9	3.4
AD-1331236.1	26.1	15.3	21.7	3.1	51.8	3.1
AD-1331237.1	10.9	3.2	11.8	1.9	26.2	6.2
AD-1331238.1	48.2	21.0	13.1	0.8	18.3	4.3
AD-1331239.1	26.4	8.5	38.7	26.4	88.0	4.2
AD-1331240.1	12.6	3.6	8.3	0.5	26.6	2.9
AD-1331241.1	18.4	5.1	13.2	0.7	37.5	5.7
AD-1331242.1	82.5	18.7	77.3	5.4	87.9	5.6

雙鍵體 ID	10nM		1nM		0.1nM	
	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV
AD-1331243.1	48.8	6.0	48.6	9.9	86.4	3.3
AD-1331244.1	9.6	1.2	9.5	1.0	23.2	4.2
AD-1331245.1	16.5	3.8	25.5	1.1	70.2	9.9
AD-1331246.1	24.7	10.8	25.1	2.9	68.7	9.7
AD-1331247.1	23.2	3.1	43.3	3.9	84.2	1.5
AD-1331248.1	42.1	4.4	65.4	5.8	90.0	5.2
AD-1331249.1	17.5	4.6	19.7	4.0	44.9	6.0
AD-1331250.1	20.1	4.3	35.1	2.1	70.0	8.0
AD-1331251.1	27.7	2.8	48.0	3.7	72.7	5.0
AD-1331252.1	14.1	2.7	17.2	1.1	45.6	6.2
AD-1331253.1	13.8	2.1	19.8	6.9	71.7	11.1
AD-1331254.1	39.4	4.8	61.7	6.8	87.1	7.7
AD-1331255.1	10.5	2.5	12.3	2.2	53.7	4.9
AD-1331256.1	10.1	4.1	7.9	1.6	19.0	5.3
AD-1331257.1	11.8	2.0	12.3	1.0	30.7	6.8
AD-1331258.1	34.1	3.7	52.2	7.0	74.3	7.6
AD-1331259.1	9.8	0.8	11.8	3.1	28.9	3.2
AD-1331260.1	12.3	1.5	15.2	2.3	47.9	8.8
AD-1331261.1	7.2	0.4	13.0	0.6	54.6	5.6
AD-1331262.1	9.3	5.8	9.1	1.4	22.3	0.8
AD-1331263.1	8.2	2.2	8.2	0.9	28.4	3.3
AD-1331264.1	7.9	1.6	7.4	1.2	15.4	4.4
AD-1331265.1	10.4	3.0	8.0	1.1	18.4	7.3
AD-1331266.1	11.4	6.2	9.7	0.5	21.0	10.2
AD-1331267.1	21.0	6.6	28.6	7.1	94.6	15.5
AD-1331268.1	20.1	6.0	32.5	3.3	96.7	12.2
AD-1331269.1	9.8	1.6	10.2	1.5	34.0	13.0
AD-1331270.1	10.0	1.4	18.3	4.2	47.6	6.0
AD-1331271.1	22.1	3.8	26.2	3.3	72.0	13.6
AD-1331272.1	72.2	21.7	93.0	10.8	77.7	12.6
AD-1331273.1	20.2	4.7	44.8	3.2	75.7	14.3
AD-1331274.1	18.1	5.0	42.6	9.2	75.5	17.7
AD-1331275.1	99.2	9.6	113.2	15.1	123.9	20.7
AD-1331276.1	69.0	8.5	110.6	19.8	118.4	13.9
AD-1331277.1	50.8	3.5	82.7	16.1	125.9	14.9
AD-1331278.1	98.0	19.7	109.0	6.2	106.9	13.3
AD-1331279.1	7.8	2.0	6.6	0.7	16.1	2.5
AD-1331280.1	6.7	3.3	9.0	1.5	30.0	6.2
AD-1331281.1	10.5	0.8	16.9	4.9	54.5	12.8
AD-1331282.1	9.2	1.6	20.6	8.1	34.1	10.3
AD-1331283.1	7.1	2.4	10.5	N/A	41.3	13.7
AD-1331284.1	13.0	3.2	10.9	N/A	28.2	8.3
AD-1331285.1	9.1	1.8	22.5	1.6	42.9	13.8
AD-1331286.1	7.9	0.6	15.6	3.9	25.3	9.0
AD-1331287.1	54.2	6.7	74.6	12.2	112.7	19.8
AD-1331288.1	13.0	3.6	22.6	2.8	56.2	10.4
AD-1331289.1	10.1	1.8	12.3	3.4	26.7	8.8
AD-1331290.1	33.2	4.8	68.6	10.9	118.9	21.4
AD-1331291.1	10.0	0.9	26.6	18.1	64.9	20.3
AD-1331292.1	10.1	2.6	14.1	2.9	23.7	2.7
AD-1331293.1	8.5	2.3	11.2	3.8	19.5	5.8

雙鏈體 ID	10nM		1nM		0.1nM	
	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV	食蟹獼猴訊息 殘留平均%	STDEV
AD-1331294.1	11.6	2.1	15.9	3.7	27.5	6.3
AD-1331295.1	110.5	23.3	80.1	7.6	85.5	4.1
AD-1331296.1	15.4	3.0	18.6	5.6	29.2	5.3
AD-1331297.1	14.2	4.2	21.1	1.4	45.5	15.2
AD-1331298.1	13.1	1.3	24.8	5.7	79.2	26.9
AD-1331299.1	7.0	2.1	19.6	13.3	34.9	6.3
AD-1331300.1	127.0	19.3	113.5	14.8	112.9	15.2
AD-1331301.1	10.0	2.9	12.6	3.6	19.7	3.3
AD-1331302.1	8.8	1.0	14.1	3.0	33.2	12.3
AD-1331328.1	9.6	2.0	19.8	4.6	23.0	1.9
AD-1331329.1	9.7	1.8	16.3	1.1	28.4	8.6
AD-1331330.1	26.3	4.3	58.4	12.1	109.3	9.6
AD-1331306.1	11.5	1.6	19.3	8.2	39.7	6.5
AD-1331331.1	9.9	1.9	11.1	2.8	20.6	5.4
AD-1331332.1	13.1	2.3	22.4	2.0	15.6	2.7
AD-1331333.1	9.0	1.0	19.0	5.8	34.3	4.1
AD-1331334.1	7.8	1.3	10.5	1.0	17.5	3.9
AD-1331311.1	67.9	13.4	89.8	11.0	94.8	6.0
AD-1331335.1	9.6	1.6	27.4	6.8	52.8	13.5
AD-1331336.1	7.1	2.1	13.5	4.5	29.8	7.1
AD-1331314.1	56.4	6.5	64.3	5.5	90.2	15.7
AD-1331337.1	7.6	1.9	20.9	3.2	48.2	3.6
AD-1331316.1	5.8	0.8	12.4	1.7	22.4	3.5
AD-1331338.1	5.1	1.5	10.3	2.4	20.6	5.8
AD-1331339.1	7.6	1.6	13.9	3.2	36.3	6.2
AD-1331340.1	119.3	11.9	113.7	8.5	105.6	8.0
AD-1331320.1	7.5	0.5	17.5	4.2	37.1	6.7
AD-1331341.1	12.2	2.3	44.4	5.4	68.3	7.2
AD-1331322.1	7.6	1.8	15.0	4.8	48.7	18.1
AD-1331342.1	4.8	1.4	15.3	6.8	26.4	6.4
AD-1331343.1	89.2	4.2	103.3	7.2	92.8	5.6
AD-1331325.1	7.4	3.1	12.2	2.3	28.3	10.3
AD-1331344.1	9.0	2.4	23.2	9.0	33.0	4.0

### 【0632】實例 3. 小鼠 dsRNA 雙鏈體體的體內篩選

從上述體外研究中確定的感興趣的雙相體在體內進行評估。特別地，在給藥前一天-14 隻野生型小鼠 (C57BL/6) 藉由靜脈內給藥編碼人 ANGPTL3 的腺相關病毒 8 (AAV8) 載體的  $2 \times 10^{11}$  病毒顆粒轉導。特別是，給予小鼠編碼開放閱讀框的 AAV8 和 3'UTR 的人類 ANGPTL3 mRNA，稱為 NM\_014495.3。

【0633】 在第 0 天，將三隻小鼠的組皮下注射單次 3mg/kg 劑量的目標藥物（見表 5）或 PBS 對照。在給藥後第 7 天或第 14 天，收集血清樣品，並藉由 ELISA 測定法測量血清樣品中 ANGPTL3 的水平。結果以組均值和標準差（SD）（圖 1A），顯示，以及用 SD 繪製的各個點（圖 1B）顯示。陽性對照 AD-74757 以 3mg/kg 治療，在第 7 天和第 14 天達到 3ng/mL 或更低。如預期的那樣。由幾種化合物組成的簇導致 ANGPTL3 水平與基準組相似或低於基準組（虛線）。具體而言，大多數靶向人 ANGPTL3 轉錄本中核苷酸 80-114 區域的化合物，例如 AD-1331203.1、AD-1331206.1、AD-1331209.1、AD-1331212.1 和 AD-1331213.1，顯示出與 AD-74757 相似的 KD。

【0634】 在給藥後的第 14 天，動物犧牲，收集肝臟樣本並在液氮中快速冷凍。提取組織 mRNA，採用 RT-QPCR 方法進行分析。將人類 ANGPTL3 mRNA 水平與管家基因 GAPDH 進行比較。然後將這些值歸一化為 PBS 載體對照組的平均值。數據以基線值的百分比表示，並表示為平均值加標準差。結果如圖 2 所示，表明測試的示例性雙鏈體試劑有效地降低了體內人 ANGPTL3 信使 RNA 的水平。



【0635】表 5. 用於體內篩選的感興趣雙鏈體

雙鏈體名稱	範圍
AD-1331203.1	80-102
AD-1331206.1	84-106
AD-1331209.1	87-109
AD-1331212.1	91-113
AD-1331213.1	92-114
AD-1331329.1	186-208
AD-1331237.1	307-329
AD-1331238.1	308-330
AD-1331240.1	310-332
AD-1331244.1	314-336
AD-1331256.1	545-567
AD-1331262.1	551-573
AD-1331264.1	553-575
AD-1331265.1	554-576
AD-1331266.1	555-577
AD-1331316.1	1133-1155
AD-1331338.1	1140-1162
AD-74757	553-575

## 【0636】實例 4. 結構-活動關係 (SAR) 分析

【0637】基於實施例 2 和 3 中的體外和體內分析，對選定的雙鏈體進行結構-活性關係 (SAR) 分析 (見表 6)。特別是，在體外和體內設計，合成和測定了其他雙鏈體。

【0638】siRNA 使用本領域已知的常規方法合成和退火，並如上所述。如上所述，用這些 siRNA 在 PCH 細胞和 Hep3B 細胞中進行體外硬化測定。

【0639】未修飾的 ANGPTL3 感和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 7 所示。修飾的 ANGPTL3 檢測和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 8 所示。

【0640】表 7-8 中列出的 dsRNA 藥物在原發性黴菌肝細胞 (PCH) 中的單劑量篩選結果如表 9 所示。

【0641】表 7-8 中列出的 dsRNA 藥物在 Hep3B 細胞中的單劑量篩選結果如表 10 所示。

【0642】表 6. 用於 SAR 分析的感興趣雙鏈體

雙鏈體名稱	範圍
AD-1331203.1	80-102
AD-1331206.1	84-106
AD-1331209.1	87-109
AD-1331212.1	91-113
AD-1331213.1	92-114
AD-1331329.1	186-208
AD-1331240.1	310-332
AD-1331262.1	551-573
AD-1331264.1	553-575
AD-1331265.1	554-576
AD-1331266.1	555-577

表 7. ANGP1L3 dsRNA 試劑的未修飾正義股序列及反義股序列

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍
AD-1331203.3	UGUUCACAAUUAAAGCCUCCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUUGUGAACAUU	144	80-102
AD-1331206.3	CACAAUUAAAGCCUCCUUCUUU	39	86-106	AAAAGAAAGGAGCUUAAUUUGUGAA	148	84-106
AD-1331209.3	AUUAAAGCCUCCUUCUUUUUAAU	42	89-109	AUAAAAAAGAAAGGAGCUUAAUUUGU	151	87-109
AD-1331212.3	AAGCCUCCUUCUUUUUUAUUGUU	46	93-113	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUAA	155	91-113
AD-1331213.3	AGCUCUUUCUUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAUAUAAAAAGAAAGGAGCUUA	156	59-81
AD-1331240.3	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	AUCAUAAAAAGACUCUGAUCAAUA	184	310-332
AD-1331262.3	ACCCAGAAAGUAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGUGAAGUUACUUCUGGGUGU	206	518-540
AD-1331264.3	CCAGAAGUAACUUCACUUA	99	555-575	UUUAAGTGAAGUUACUUCUGGGU	208	553-575
AD-1331265.3	CAGAAGUAACUUCACUUA	100	556-576	UUUUAAGUGAAGUUACUUCUGGG	209	554-576
AD-1331266.3	AGAAGUAACUUCACUUA	101	557-577	AUUUAAAGUGAAGUUACUUCUGG	210	555-577
AD-1331329.3	AUUUGCUAUGUUAGACGAGU	115	155-175	ACAUCGTCUAAACATAGCAAAUCU	248	153-175
AD-1479370.1	AAGCUCUUCUUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUAA	155	58-80
AD-1479371.1	AAGCUCUUCUUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUAA	155	58-80
AD-1479372.1	AAGCUCUUCUUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUUG	661	58-80
AD-1479373.1	AAGCUCUUCUUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUUG	661	58-80

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479374.1	AAGCUCUUCUUUUUAUUGUA	612	60-80	UACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUGG	662	58-80
AD-1479375.1	AAGCUCUUCUUUUUAUUGUA	612	60-80	UACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUGG	662	58-80
AD-1479376.1	AAGCUCUUCUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUCU	663	58-80
AD-1479377.1	AAGCUCUUCUUUUUAUUGUU	46	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUUCU	663	58-80
AD-1479378.1	GCUCUUCUUUUUAUUGUU	613	62-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUU	664	60-80
AD-1479379.1	GCUCUUCUUUUUAUUGUU	613	62-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGCUU	664	60-80
AD-1479380.1	AAGCACUUCUUUUUAUUGUU	614	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGUGCUUCU	665	58-80
AD-1479381.1	AAGGUCUUCUUUUUAUUGUU	615	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGACCUUCU	666	58-80
AD-1479382.1	AACCUCUUCUUUUUAUUGUU	616	60-80	AACAAUAAAAAAGAAAGGAGGUUCU	667	58-80
AD-1479383.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUA	668	59-81
AD-1479384.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUA	668	59-81
AD-1479385.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUG	669	59-81
AD-1479386.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUG	669	59-81
AD-1479387.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUA	617	61-81	UAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUG	670	59-81
AD-1479388.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUA	617	61-81	UAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUG	670	59-81
AD-1479389.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUCU	671	59-81
AD-1479390.1	AGCUCUUCUUUUUAUUGUUU	47	61-81	AAACAATAAAAAAAGAAAGGAGCUUCU	671	59-81

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479391.1	CUCCUUCUUUUUAUUGUUU	618	63-81	AAACAATAAAAAGAAAGGAGCU	672	61-81
AD-1479392.1	CUCCUUCUUUUUAUUGUUU	618	63-81	AAACAATAAAAAGAAAGGAGCU	672	61-81
AD-1479393.1	AGCUGCUUCUUUUUAUUGUUU	619	61-81	AAACAATAAAAAGAAAGCAGCUCU	673	59-81
AD-1479394.1	AGCACCUUCUUUUUAUUGUUU	620	61-81	AAACAATAAAAAGAAAGGUGCUCU	674	59-81
AD-1479395.1	AGGUCCUUCUUUUUAUUGUUU	621	61-81	AAACAATAAAAAGAAAGGUCCUCU	675	59-81
AD-1479396.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGUUACUUCUGGGU	208	520-542
AD-1479397.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UTUAAGTGAAAGUUACUUCUGGGU	676	520-542
AD-1479398.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGTUACUUCUGGGU	677	520-542
AD-1479399.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGTUACTUCUGGGU	678	520-542
AD-1479400.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UTUAAGTGAAAGUUACUUCUGGGU	679	520-542
AD-1479401.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGTUACUUCUGGGU	680	520-542
AD-1479402.1	AGAAAGUAAACUUCACUUAAA	622	524-542	UTUAAGTGAAAGUUACUUCUGG	681	522-542
AD-1479403.1	AGAAAGUAAACUUCACUUAAA	622	524-542	UUUAAGTGAAAGTUACUUCUGG	682	522-542
AD-1479404.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UTUAAGTGAAAGTUACUUCUGGGU	683	520-542
AD-1479405.1	AGAAAGUAAACUUCACUUAAA	622	524-542	UTUAAGTGAAAGTUACUUCUGG	684	522-542
AD-1479406.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGUUACUUCUGGGU	208	520-542
AD-1479407.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	99	522-542	UUUAAGTGAAAGUUACUUCUGGGU	208	520-542

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479408.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUAAA	99	522-542	UTUAAAGTGAAAGTUAACUUCUGGGU	683	520-542
AD-1479409.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUAAA	99	522-542	UTUAAAGTGAAAGTUAACUUCUGGGU	683	520-542
AD-1479410.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUAAA	99	522-542	UTUAAAGUGAAAGTUAACUUCUGGGU	685	520-542
AD-1479411.1	CCAGAAAGUAAACUUCACUAAA	99	522-542	UTUAAAGUGAAAGTUAACUUCUGGGU	685	520-542
AD-1479412.1	CCAGUAGUAAACUUCACUAAA	623	522-542	UUUAAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGU	686	520-542
AD-1479413.1	CCACAAAGUAAACUUCACUAAA	624	522-542	UUUAAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGU	687	520-542
AD-1479414.1	CCUGAAGUAAACUUCACUAAA	625	522-542	UUUAAAGTGAAAGUUAACUUCAGGGU	688	520-542
AD-1479415.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAUU	144	80-102
AD-1479416.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAUU	144	47-69
AD-1479417.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAUU	144	47-69
AD-1479418.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAUU	689	47-69
AD-1479419.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAUU	690	47-69
AD-1479420.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAGG	691	80-102
AD-1479421.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAGG	691	80-102
AD-1479422.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAGG	691	47-69
AD-1479423.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAGG	692	82-102
AD-1479424.1	UGUUCACAAUUAAGCUCUUU	35	82-102	AAAGGAGCUUAAUUGUGAACAGG	692	82-102

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479425.1	UGUUCACAAUUAAAGCUCUUU	35	49-69	AAAGGAGCUAAUUUGUGAACG	692	49-69
AD-1479426.1	UGUUGACAAUUAAAGCUCUUU	626	49-69	AAAGGAGCUAAUUUGUCAACAUU	693	47-69
AD-1479427.1	UGUACACAAUUAAAGCUCUUU	627	49-69	AAAGGAGCUAAUUUGUGUACAUU	694	47-69
AD-1479428.1	UGAUACAAUUAAAGCUCUUU	628	49-69	AAAGGAGCUAAUUUGUGAUCAUU	695	47-69
AD-1479429.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUGUGAA	148	51-73
AD-1479430.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUTAAUUUGUGAA	696	51-73
AD-1479431.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUGUGGG	697	51-73
AD-1479432.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	629	53-73	UAAAGAGGAGCUAAUUUGUGGG	698	51-73
AD-1479433.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUTAAUUUGUGGG	699	51-73
AD-1479434.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUGUGCU	700	51-73
AD-1479435.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	629	53-73	UAAAGAGGAGCUAAUUUGUGCU	701	51-73
AD-1479436.1	CACAAUUAAAGCUCUUUUU	39	53-73	AAAAGAGGAGCUTAAUUUGUGCU	702	51-73
AD-1479437.1	CAUUUAAAGCUCUUUUU	630	55-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUGUG	703	53-73
AD-1479438.1	CAUUUAAAGCUCUUUUU	630	55-73	AAAAGAGGAGCUTAAUUUGUG	704	53-73
AD-1479439.1	CACAUUUAAAGCUCUUUUU	631	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUGUGCU	705	51-73
AD-1479440.1	CACAUUUAAAGCUCUUUUU	632	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUAGUGCU	706	51-73
AD-1479441.1	CAGAUUUAAAGCUCUUUUU	633	53-73	AAAAGAGGAGCUAAUUUCUGCU	707	51-73

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479442.1	CACA AUUAAGCUCUCCUUCUUUU	39	53-73	AAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGUCU	700	51-73
AD-1479443.1	CACA AUUAAGCUCUCCUUCUUUU	39	53-73	AAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGUCU	700	51-73
AD-1479444.1	CACA AUUAAGCUCUCCUUCUUUU	39	53-73	AAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGUCU	700	51-73
AD-1479445.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	42	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	708	54-76
AD-1479446.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAAA	634	56-76	UTAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	709	54-76
AD-1479447.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	42	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	710	54-76
AD-1479448.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUAAA	634	56-76	UTAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	711	54-76
AD-1479449.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	42	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	708	54-76
AD-1479450.1	AAUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	42	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	708	54-76
AD-1479451.1	UUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	635	58-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUU	712	56-76
AD-1479452.1	UUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	635	58-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUU	713	56-76
AD-1479453.1	UUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	635	58-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUU	712	56-76
AD-1479454.1	UUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	635	58-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUU	713	56-76
AD-1479455.1	AAUUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	636	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	714	54-76
AD-1479456.1	AAUUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	637	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	715	54-76
AD-1479457.1	AAUUUAAGCUCUCCUUCUUUUUAU	638	56-76	ATAAAAAGAAAGGAGCUCUAAUUUGU	716	54-76
AD-1479458.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUUGAU	75	312-332	AUCATAAAAAGACUGAUCACAAAUG	717	310-332



雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍
AD-1479459.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAA	639	279-299	UUCATAAAAAGACUGAUCAAAUG	718	277-299
AD-1479460.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAUG	719	310-332
AD-1479461.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCAUAAAAAGACUGAUCAAAUG	720	310-332
AD-1479462.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAUG	719	310-332
AD-1479463.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAA	639	279-299	UTCATAAAAAGACUGAUCAAAUG	721	277-299
AD-1479464.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCAUAAAAAGACUGAUCAAAUG	720	310-332
AD-1479465.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCAUAAAAAGACTGAUCAAAUG	722	310-332
AD-1479466.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	312-332	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAUG	719	310-332
AD-1479467.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	640	280-299	ATCAUAAAAAGACUGAUCAAACU	723	278-299
AD-1479468.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAACU	724	277-299
AD-1479469.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAACU	724	277-299
AD-1479470.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	641	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAACU	725	277-299
AD-1479471.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	642	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUGAAAACU	726	277-299
AD-1479472.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	643	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUCUAAAACU	727	277-299
AD-1479473.1	UUUGAUCAGUCUUUUUAUGAU	75	279-299	ATCATAAAAAGACUGAUCAAAACU	724	277-299
AD-1479474.1	CAGAAGUAACUUCACUAAAA	100	556-576	UTUUAAAGUGAAGUUACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479475.1	CAGAAGUAACUUCACUAAAA	100	556-576	UTUUAAAGUGAAGUUACUUCUGGG	728	554-576

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_014495.3 中的範圍
AD-1479476.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479477.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	729	554-576
AD-1479478.1	GAAGUAAACUUCACUUA AAA	644	525-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUG	730	523-543
AD-1479479.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479480.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479481.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479482.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479483.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479484.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479485.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479486.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479487.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	556-576	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	554-576
AD-1479488.1	CAGAAAGUAAACUUCACUUA AAA	100	523-543	UTUUAAGUGAAGUUAACUUCUGGG	728	521-543
AD-1479489.1	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	97	520-540	AAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479490.1	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	97	520-540	AAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479491.1	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	645	520-540	UAAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGUGU	732	518-540
AD-1479492.1	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	645	520-540	UAAAGTGAAAGUUAACUUCUGGGUGU	732	518-540

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍
AD-1479493.1	ACCCAGAAGUAAACUUACUUU	646	520-540	AAAGTAAAGUUACUUCUGGGUGU	733	518-540
AD-1479494.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479495.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479496.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	734	518-540
AD-1479497.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	734	518-540
AD-1479498.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	734	518-540
AD-1479499.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	734	518-540
AD-1479500.1	CCAGAAGUAAACUUCACUUU	647	522-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGU	735	520-540
AD-1479501.1	CCAGAAGUAAACUUCACUUU	647	522-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGU	735	520-540
AD-1479502.1	CCAGAAGUAAACUUCACUUU	647	522-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGU	735	520-540
AD-1479503.1	CCAGAAGUAAACUUCACUUU	647	522-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGU	735	520-540
AD-1479504.1	ACCCUGAAGUAAACUUCACUUU	648	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCAGGGUGU	736	518-540
AD-1479505.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	649	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	737	518-540
AD-1479506.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	650	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	738	518-540
AD-1479507.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479508.1	ACCCAGAAGUAAACUUCACUUU	97	520-540	AAAGTGAAGUUACUUCUGGGUGU	731	518-540
AD-1479509.1	AGAAGUAAACUUCACUUAAAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_01495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM_01495.3 中的範圍
AD-1479510.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544
AD-1479511.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544
AD-1479512.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544
AD-1479513.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAA	651	524-544	UUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	740	522-544
AD-1479514.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAA	651	524-544	UUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	740	522-544
AD-1479515.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544
AD-1479516.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	739	522-544
AD-1479517.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	741	522-544
AD-1479518.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	741	522-544
AD-1479519.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	741	522-544
AD-1479520.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	741	522-544
AD-1479521.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUCU	742	522-544
AD-1479522.1	AGAAGUAACUUCACUUA AAAU	101	524-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUCU	742	522-544
AD-1479523.1	AAGUAACUUCACUUA AAAU	652	526-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUCU	743	524-544
AD-1479524.1	AAGUAACUUCACUUA AAAU	652	526-544	ATUUUTAAGUGAAGUUACUUCUCU	743	524-544
AD-1479525.1	AGAACUAACUUCACUUA AAAU	653	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	744	522-544
AD-1479526.1	AGAUGUAACUUCACUUA AAAU	654	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUUCUGG	745	522-544

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	NM 014495.3 中的範圍
AD-1479527.1	.AGUAGUAACUUCACUUA AAAU	655	524-544	AUUUTAAGUGAAGUUACUACUGG	746	522-544
AD-1479528.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGU	115	155-175	ACAUCGTCUAACAUAGCAAUCU	224	153-175
AD-1479529.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGU	115	155-175	ACAUCGUCUAAACAUAGCAAUCU	747	153-175
AD-1479530.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGA	656	155-175	UCAUCGTCUAACAUAGCAAUCU	748	153-175
AD-1479531.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGA	656	155-175	UCAUCGUCUAAACAUAGCAAUCU	749	153-175
AD-1479532.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGA	656	155-175	UCAUCGTCUAACAUAGCAAUCU	748	153-175
AD-1479533.1	AUUUGCUAUGUUAGACGAUGA	656	155-175	UCAUCGUCUAAACAUAGCAAUCU	749	153-175
AD-1479534.1	UUGCUAUGUUAGACGAUGU	657	157-175	ACAUCGTCUAACAUAGCAAAGU	750	155-175
AD-1479535.1	UUGCUAUGUUAGACGAUGU	657	157-175	ACAUCGUCUAAACAUAGCAAAGU	751	155-175
AD-1479536.1	AUUUCCUAUGUUAGACGAUGU	658	155-175	ACAUCGUCUAAACAUAGCAAUCU	752	153-175
AD-1479537.1	AUUAGCUAUGUUAGACGAUGU	659	155-175	ACAUCGUCUAAACAUAGCUAAUCU	753	153-175
AD-1479538.1	AUAUGCUAUGUUAGACGAUGU	660	155-175	ACAUCGUCUAAACAUAGCAUAUCU	754	153-175

表 8. ANGPL13 dsRNA 試劑的經修飾正義股序列及反義股序列

雙鏈體名稱	正義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義股序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 標靶序列	SEQ ID NO:
AD-1331203.3	usgsuicaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asAfsagdGa(G2p)cumaauUfgUfgaacastu	378	AAUGUUCACAAUUAAGCUCCUUC	509
AD-1331206.3	csascaauUfaAfGfCfuccuuuuuuL96	274	asAfsaagAfaagagcuUfaAfuugusasa	382	UUCACAAUUAAGCUCCUUCUUU	513

AD-1331209.3	asasuuAafeUfCfCfuuuuuuuuL96	277	asUfsaaaAfaagaagGafCufuaaunsgsu	385	ACAAUUAAGCUCUUCUUUUUUU	516
AD-1331212.3	asasgucUfuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	25	asAfscaaUfaaaagaAfgGfagcuusasa	22	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1331213.3	asgscuccUfuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	281	asAfsacaAfuaaaagAfaGfgagcuusasa	24	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUUC	521
AD-1331240.3	usuuuugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuuL96	309	asUfscuuAfaaaagacUfgAfucaasusa	416	UUAUUUGAUUCAGUCUUUUUUUUAUGAU	549
AD-1331262.3	ascsceagAfaGfUfAfacuuuacuuuuL96	331	asAfsaguuGfaaguuacUfuCfugagcuusgsu	438	ACACCCAGAAAGUAACUUCACUUA	571
AD-1331264.3	csasagaaGfuAfaCfuuuacuuuuuuL96	333	usUfuuadAg(Tgn)gaaguuAfcUfucuggsusu	440	ACCCAGAAAGUAACUUCACUUA	573
AD-1331265.3	csasagaagUfaAfcUfuuuacuuuuuuL96	334	usUfuuuAa(G2p)uagaagUfaCfuueuggsusu	441	CCCAGAAAGUAACUUCACUUA	574
AD-1331266.3	asgsaaguAfaCfUfUfuuuuuuuuuuL96	335	asUfuuuuAfaaguuagUfuAfcuuuuggsusu	442	CCAGAAAGUAACUUCACUUA	575
AD-1331329.3	asuuuuuuuuUfGfUfuuuuuuuuuuL96	349	asdCsauuUfCgTcuuadCaaadGaaauuscu	480	AGAUUUGCUAUGUUUAGACCGAUGU	589
AD-1479370.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGaAfggagcuusasa	825	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479371.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGadAagdGagcuusasa	826	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479372.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGaAfggagcuusgsu	19	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479373.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGadAagdGagcuusgsu	827	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479374.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	755	usdAascadAudAaaaadGaAfggagcuusgsu	828	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479375.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	755	usdAascadAudAaaaadGadAagdGagcuusgsu	829	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479376.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGaAfggagcuuscu	830	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479377.1	asasgucuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	20	asdAascadAudAaaaadGadAagdGagcuuscu	831	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	520
AD-1479378.1	gscsuuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	756	asdAascadAudAaaaadGaAfggagcuuscu	832	AAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	977
AD-1479379.1	gscsuuccUfCfUfuuuuuuuuuuL96	756	asdAascadAudAaaaadGadAagdGagcuuscu	833	AAGCUCUUCUUUUUUUUUUUGUU	977

AD-1479380.1	asasgcaccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	757	asdAsacdAadAaaadGafgggcuuiscsu	834	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUU	520
AD-1479381.1	asasgguccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	758	asdAsacdAadAaaadGafggaccuuiscsu	835	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUU	520
AD-1479382.1	asascuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	759	asdAsacdAadAaaadGafggagguuiscsu	836	UUAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUU	520
AD-1479383.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuusisa	837	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479384.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgdAadGgagcususa	838	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479385.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuusig	839	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479386.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgdAadGgagcuusig	840	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479387.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	761	usdAsacdAadTaaadAgafaggagcuusig	841	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479388.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	761	usdAsacdAadTaaadAgdAadGgagcuusig	842	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479389.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuuscu	843	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479390.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	760	asdAsacdAadTaaadAgdAadGgagcuuscu	844	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479391.1	csusccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	762	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuuscu	845	AGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	978
AD-1479392.1	csusccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	762	asdAsacdAadTaaadAgdAadGgagcuuscu	846	AGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	978
AD-1479393.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	763	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuuscu	847	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479394.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	764	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuuscu	848	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479395.1	asgsuccuUfCfUfuuuuuuuuuuL96	765	asdAsacdAadTaaadAgafaggagcuuscu	849	UAAGCUCUUCUUUUUUUUUUUUUUUUUC	521
AD-1479396.1	cscsagaaguAfAfCfuucacuuuaalL96	766	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfcUfucuggggsu	440	ACCCAGAAGUAACUUCACUUA AAA	573
AD-1479397.1	cscsagaaguAfAfCfuucacuuuaalL96	766	usdTsuaadAg(Tgn)gaaguuAfcUfucuggggsu	850	ACCCAGAAGUAACUUCACUUA AAA	573
AD-1479398.1	cscsagaaguAfAfCfuucacuuuaalL96	766	usUfsuadAg(Tgn)gaagdTuafcuucuggggsu	851	ACCCAGAAGUAACUUCACUUA AAA	573

AD-1479399.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	766	usUfsuadAg(Tgn)gaagdTuAdTucuggsgsu	852	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479400.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	766	usdTsuaadAg(Tgn)gaaguuAfeUfucuggscsu	853	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479401.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	766	usUfsuadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncuggscsu	854	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479402.1	asgsaaguAfaCfuucacuuuaaL96	767	usdTsuaadAg(Tgn)gaaguuAfeUfucussgg	855	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	979
AD-1479403.1	asgsaaguAfaCfuucacuuuaaL96	767	usUfsuadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncussgg	856	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	979
AD-1479404.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	766	usdTsuaadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncuggsgsu	857	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479405.1	asgsaaguAfaCfuucacuuuaaL96	767	usdTsuaadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncussgg	858	CCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	979
AD-1479406.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	768	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfeUfucuggsgsu	440	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479407.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	769	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfeUfucuggsgsu	440	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479408.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	768	usdTsuaadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncuggsgsu	857	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479409.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	769	usdTsuaadAg(Tgn)gaagdTuAfeuncuggsgsu	857	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479410.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	768	usdTsuaadAg(U2p)gaagdTuAfeuncuggscsu	859	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479411.1	cscsagaagudAaCfuucacuuuaaL96	769	usdTsuaadAg(U2p)gaagdTuAfeuncuggscsu	859	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479412.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	770	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfeUfacuggsgsu	860	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479413.1	cscsagaaguAfaCfuucacuuuaaL96	771	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfeUfucuggsgsu	861	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479414.1	cscsugaaguAfaCfuucacuuuaaL96	772	usUfsuadAg(Tgn)gaaguuAfeUfacuggsgsu	862	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAA	573
AD-1479415.1	usgsuucacaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asdAsagdGa(G2p)cuuaanUfUfgaacaasusu	863	AAUGUUCACAAUUAAGCUCCUUC	509
AD-1479416.1	usgsuucacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cuuaadAuUfUfgaacaasusu	864	AAUGUUCACAAUUAAGCUCCUUC	509
AD-1479417.1	usgsuucacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cuuaadAuUfUfgaacaasusu	865	AAUGUUCACAAUUAAGCUCCUUC	509



AD-1479418.1	usgsnuuacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cunadAudTgdTgacacasusu	866	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479419.1	usgsnuuacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cunadAudTgdTgacacasusu	867	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479420.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asAfsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfgaacsosg	868	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479421.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asdAsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfgaacsosg	869	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479422.1	usgsnuuacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cunadAudUfguuaacsosg	870	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479423.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asAfsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfgaacsosg	871	UGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	980
AD-1479424.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	270	asdAsagdGa(G2p)cunadAudUfguuaacsosg	872	UGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	980
AD-1479425.1	usgsnuuacaAfUfUfaagcuccuuuL96	773	asdAsagdGa(G2p)cunadAudUfguuaacsosg	873	UGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	980
AD-1479426.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	774	asdAsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfgaacsusu	874	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479427.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	775	asdAsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfguuaacsusu	875	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479428.1	usgsnuucaCfaAfUfUfaagcuccuuuL96	776	asdAsagdGa(G2p)cuuuauUfgUfguuaacsusu	876	AAUGUUCACAAUUAAAGCUCCUUC	509
AD-1479429.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsasa	877	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479430.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsasa	878	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479431.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsosg	879	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479432.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	778	usdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsosg	880	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479433.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsosg	881	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479434.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsusu	882	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479435.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	778	usdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsusu	883	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513
AD-1479436.1	csascaauuaAfGfCfuccuccuuuL96	777	asdAasaadGadAggagdCuUfaauugugsusu	884	UUCACAAUUAAAGCUCCUUCUUUU	513

AD-1479437.1	csasauuaAfGfCfuccuucuuuuL96	779	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugsusg	885	CACAAUUAAGCUCUUCUUUU	981
AD-1479438.1	csasauuaAfGfCfuccuucuuuuL96	779	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugsusg	886	CACAAUUAAGCUCUUCUUUU	981
AD-1479439.1	csascauuuaAfGfCfuccuucuuuuL96	780	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugugscsu	887	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479440.1	csascauuuaAfGfCfuccuucuuuuL96	781	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugugscsu	888	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479441.1	csasgaauuaAfGfCfuccuucuuuuL96	782	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugugscsu	889	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479442.1	csascauuuaAfGfCfuccuucuuuuL96	783	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugugscsu	882	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479443.1	csascauuuaAfGfCfuccuucuuuuL96	784	asdA saadGadA ggagdCuUfaauugugscsu	882	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479444.1	csascauuuaAfGfCfuccuucuuuuL96	777	asdA saadGa(A2p)ggagdCuUfaAfuugugscsu	890	UUCACAAUUAAGCUCUUCUUUU	513
AD-1479445.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	785	asdTsaadAadA gaagdGaGfcuuuaauugsu	891	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479446.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	786	usdTsaadAadA gaagdGaGfcuuuaauugsu	892	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479447.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	785	asdTsaadAadA gaagdGadGcdTuaauugsu	893	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479448.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	786	usdTsaadAadA gaagdGadGcdTuaauugsu	894	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479449.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	785	asdTsaadAa(A2p)gaagdGaGfcuuuaauugsu	895	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479450.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	785	asdTsaadAa(A2p)gaagdGaGfcUfaauugsu	896	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516
AD-1479451.1	ususaagcUfCfCfuccuucuuuuL96	787	asdTsaadAadA gaagdGaGfcuuuaasusu	897	AAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	982
AD-1479452.1	ususaagcUfCfCfuccuucuuuuL96	787	asdTsaadAadA gaagdGadGcdTuaasusu	898	AAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	982
AD-1479453.1	ususaagcUfCfCfuccuucuuuuL96	787	asdTsaadAa(A2p)gaagdGaGfcuuuaasusu	899	AAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	982
AD-1479454.1	ususaagcUfCfCfuccuucuuuuL96	787	asdTsaadAa(A2p)gaagdGadGcdTuaasusu	900	AAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	982
AD-1479455.1	asasuuuagcUfCfCfuccuucuuuuL96	788	asdTsaadAadA gaagdGaGfcuuuaauugsu	901	ACAAUUUAAGCUCUUCUUUUUAU	516

AD-1479456.1	asasuaagcUfCfCfuuuuuuuuuL96	789	asdTsaadAadAgaagdGafCfuuuuuuuuu	902	ACAUUUAAGCUCUUCUUUUUUUU	516
AD-1479457.1	asasuaagcUfCfCfuuuuuuuuuL96	790	asdTsaadAadAgaagdGafCfuuuuuuuuu	903	ACAUUUAAGCUCUUCUUUUUUUU	516
AD-1479458.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asUfscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	904	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479459.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	791	usUfscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	905	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479460.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	906	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479461.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	907	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479462.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	908	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479463.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	791	usdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	909	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479464.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	910	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479465.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	911	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479466.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	309	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	912	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479467.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	792	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	913	AUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	983
AD-1479468.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	793	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	914	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479469.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	794	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	914	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479470.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	795	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	915	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479471.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	796	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	916	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479472.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	797	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	917	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479473.1	ususugauCfaGfUfCfuuuuuuuuuL96	798	asdTscadTa(A2p)aaagAcUfgAfucuaasug	918	UAUUUGAUCAGUCUUUUUUUAUGAU	549
AD-1479474.1	csasgaagUfaAfCfufucacuuuuuuL96	334	usdTsuudAa(G2p)ugaaguUfaCfuuuuuuuuu	919	CCCAGAAAGUAACUUCACUUAAAA	574

AD-1479475.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfaCfuucugsgsg	920	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479476.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479477.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGudTadCinucugsgsg	922	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479478.1	gsasagUfaAfcUfucacuuaaaL96	799	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucisig	923	CAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	984
AD-1479479.1	csasgaagUfadAcUfucacuuaaaL96	800	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479480.1	csasgaagUfadAcUfucacuuaaaL96	801	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479481.1	csasgaagUadAcUfucacuuaaaL96	802	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479482.1	csasgaagUadAcUfucacuuaaaL96	803	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479483.1	csasgaagUadAcUfucacuuaaaL96	804	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfacuucugsgsg	921	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479484.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGu(U2p)aCfuucugsgsg	924	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479485.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfaCfuucugsgsg	925	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479486.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfa(C2p)uucugsgsg	926	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479487.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	334	usdTsuudAa(G2p)jugaadGuUfaCf(U2p)uucugsgsg	927	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479488.1	csasgaagUfaAfcUfucacuuaaaL96	805	usdTsuudAadGugaadGuUfacuucugsgsg	928	CCCAGAAAGUAAACUUCACUUAAAA	574
AD-1479489.1	ascscagaaGfUfaAfcUfucacuuuuL96	806	asAfsagdTg(Agn)aguuacUfuCfuggugsgsu	929	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUUA	571
AD-1479490.1	ascscagaaGfUfaAfcUfucacuuuuL96	806	asAfsagdTg(A2p)aguuacUfuCfuggugsgsu	930	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUUA	571
AD-1479491.1	ascscagaaGfUfaAfcUfucacuuuaL96	807	usAfsagdTg(Agn)aguuacUfuCfuggugsgsu	931	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUUA	571
AD-1479492.1	ascscagaaGfUfaAfcUfucacuuuaL96	807	usAfsagdTg(A2p)aguuacUfuCfuggugsgsu	932	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUUA	571
AD-1479493.1	ascscagaaGfUfaAfcUfucacuuuuL96	808	asAfsagdTadAaguuacUfuCfuggugsgsu	933	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUUA	571

AD-1479494.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asdAsagdTg(Agn)agunacUfuCfugggusgsu	934	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479495.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	935	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479496.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asdAsagdTg(Agn)agunacUfuCfuggguscsu	936	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479497.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfuggguscsu	937	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479498.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asAfsagdTg(A2p)agunacUfuCfuggguscsu	938	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479499.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	806	asdAsagdTg(A2p)agunadAcUfuCfuggguscsu	939	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479500.1	cscsagaaGfUfAfacuucacuuuL96	809	asdAsagdTg(Agn)agunacUfuCfugggusgsu	940	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	985
AD-1479501.1	cscsagaaGfUfAfacuucacuuuL96	809	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	941	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	985
AD-1479502.1	cscsagaaGfUfAfacuucacuuuL96	809	asAfsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	942	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	985
AD-1479503.1	cscsagaaGfUfAfacuucacuuuL96	809	asdAsagdTg(A2p)agunadAcUfuCfugggusgsu	943	ACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	985
AD-1479504.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	810	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	944	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479505.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	811	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	945	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479506.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	812	asdAsagdTg(A2p)agunacUfuCfugggusgsu	946	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479507.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	813	asdAsagdTg(Agn)agunacUfuCfugggusgsu	934	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479508.1	asccagaaGfUfAfacuucacuuuL96	813	asdAsagdTg(A2p)agunadAcUfuCfugggusgsu	935	ACACCCAGAAAGUAAACUUCACUUA	571
AD-1479509.1	asgsaanguaaCfUfUfcacuuuaaaauL96	814	asUfsuudTa(Agn)gugagUfuAfcuucusgsu	947	CCAGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479510.1	asgsaanguaaCfUfUfcacuuuaaaauL96	814	asUfsuudTa(A2p)gugagUfuAfcuucusgsu	948	CCAGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479511.1	asgsaanguaaCfUfUfcacuuuaaaauL96	814	asUfsuudTa(Agn)gugadAgUfuAfcuucusgsu	949	CCAGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479512.1	asgsaanguaaCfUfUfcacuuuaaaauL96	814	asUfsuudTa(A2p)gugadAgUfuAfcuucusgsu	950	CCAGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575

AD-1479513.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	815	usUfsuudTa(Agn)gugadAgUfuAfcuucusgsg	951	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479514.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	815	usUfsuudTa(A2p)gugadAgUfuAfcuucusgsg	952	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479515.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asUfsuudTa(Agn)gugadAgUfuacuuucsgsg	953	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479516.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asUfsuudTa(A2p)gugadAgUfuacuuucsgsg	954	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479517.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(Agn)gugadAgUfuAfcuucusgsg	955	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479518.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuAfcuucusgsg	956	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479519.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(Agn)gugadAgUfuacuuucsgsg	957	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479520.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuacuuucsgsg	958	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479521.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuAfcuucuscsu	959	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479522.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	814	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuacuuucscsu	960	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479523.1	asasguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	816	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuAfcuucscsu	961	AGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	986
AD-1479524.1	asasguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	816	asdTsuudTa(A2p)gugadAgUfuacuuucscsu	962	AGAAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	986
AD-1479525.1	asgsaaacuuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	817	asUfsuudTa(A2p)gugaagUfuAfcuucusgsg	963	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479526.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	818	asUfsuudTa(A2p)gugaagUfuAfcuucusgsg	964	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479527.1	asgsaaaguuaaCfUfUfcacuuaaaaaL96	819	asUfsuudTa(A2p)gugaagUfuAfcuucusgsg	965	CCAGAAGUAAACUUCACUUA AAAAC	575
AD-1479528.1	asusnuugcuaUfGfUfuagacgaugL96	349	asdCsaudCg(Tgn)cuaadCaUfadGcaaaucsu	966	AGAUUUGCUAUGUUAAGACCGAUGU	589
AD-1479529.1	asusnuugcuaUfGfUfuagacgaugL96	349	asdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGcaaaucsu	967	AGAUUUGCUAUGUUAAGACCGAUGU	589
AD-1479530.1	asusnuugcuaUfGfUfuagacgaugL96	820	usdCsaudCg(Tgn)cuaadCaUfadGcaaaucsu	968	AGAUUUGCUAUGUUAAGACCGAUGU	589
AD-1479531.1	asusnuugcuaUfGfUfuagacgaugL96	820	usdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGcaaaucsu	969	AGAUUUGCUAUGUUAAGACCGAUGU	589

AD-1479532.1	asusungcuaUfGfUfuagacgaugL.96	820	usdCsaudCg(Tgm)cuaadCaUfagcaaauscsu	970	AGAUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	589
AD-1479533.1	asusungcuaUfGfUfuagacgaugL.96	820	usdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfagcaaauscsu	971	AGAUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	589
AD-1479534.1	ususgcuaUfGfUfuagacgaugL.96	821	asdCsaudCg(Tgm)cuaadCaUfadGcaasgsu	972	AUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	26
AD-1479535.1	ususgcuaUfGfUfuagacgaugL.96	821	asdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGcaasgsu	973	AUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	26
AD-1479536.1	asusnuccuaUfGfUfuagacgaugL.96	822	asdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGgaauscsu	974	AGAUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	589
AD-1479537.1	asusnagcuaUfGfUfuagacgaugL.96	823	asdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGcauauscsu	975	AGAUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	589
AD-1479538.1	asusaugcuaUfGfUfuagacgaugL.96	824	asdCsaudCg(U2p)cuaadCaUfadGcauauscsu	976	AGAUUUGCUAUGUUAGACCGAUGU	589

【0643】表 9: 初代食蟹獼猴肝細胞(PCH)中的 ANGPTL3 劑量篩選

雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1331203.3	21.83	3.88	37.26	10.35	63.40	6.85
AD-1331206.3	26.97	6.93	36.84	0.72	63.76	8.49
AD-1331209.3	29.11	6.54	47.11	9.54	69.87	10.35
AD-1331212.3	20.51	1.87	32.34	3.79	64.22	4.01
AD-1331213.3	24.52	6.06	54.62	13.41	79.48	4.89
AD-1331240.3	23.28	2.48	39.36	12.24	61.69	2.10
AD-1331262.3	21.78	4.54	36.65	10.43	34.32	6.45
AD-1331264.3	30.25	4.78	42.15	9.57	73.71	7.94
AD-1331265.3	15.48	6.76	23.56	9.61	58.07	11.35
AD-1331266.3	22.04	6.40	37.66	7.86	76.54	13.10
AD-1331329.3	27.51	4.89	48.91	13.92	80.66	18.31
AD-1479370.1	21.73	4.33	30.33	5.56	48.74	4.38
AD-1479371.1	31.70	5.00	45.03	9.50	75.21	6.98
AD-1479372.1	24.67	4.69	31.62	5.49	48.74	11.67
AD-1479373.1	24.70	5.31	42.70	11.47	55.73	7.91
AD-1479374.1	20.99	5.74	39.52	8.56	53.59	9.84
AD-1479375.1	34.71	4.39	42.32	8.36	68.22	7.34
AD-1479376.1	27.40	3.28	39.83	8.85	75.37	7.01
AD-1479377.1	23.02	6.24	28.41	4.55	46.53	3.65
AD-1479378.1	19.86	2.91	35.90	5.17	65.17	6.57
AD-1479379.1	40.95	9.09	45.69	7.59	91.98	9.04
AD-1479380.1	33.08	3.69	41.27	4.32	77.14	6.74
AD-1479381.1	59.79	5.80	58.68	11.10	97.26	18.01
AD-1479382.1	54.83	6.34	69.58	12.85	106.90	10.18
AD-1479383.1	26.82	7.80	39.42	5.78	66.74	13.93
AD-1479384.1	31.41	9.09	42.81	8.93	77.27	6.47
AD-1479385.1	23.53	2.60	42.30	6.40	63.42	5.36
AD-1479386.1	58.87	11.25	63.77	6.47	82.82	7.42
AD-1479387.1	28.69	6.25	40.57	7.31	66.99	5.01
AD-1479388.1	44.77	1.46	71.86	11.05	102.85	5.40



雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479389.1	33.00	3.97	59.97	7.53	76.18	7.92
AD-1479390.1	63.21	14.55	94.18	30.48	110.96	4.78
AD-1479391.1	19.40	2.17	32.29	10.49	48.57	6.14
AD-1479392.1	61.28	6.41	77.43	17.86	100.18	14.53
AD-1479393.1	96.38	5.44	123.77	19.35	131.27	5.92
AD-1479394.1	75.77	11.27	84.31	5.24	125.94	10.43
AD-1479395.1	84.00	3.40	110.51	15.20	135.40	22.27
AD-1479396.1	20.02	5.37	32.81	7.36	56.85	11.34
AD-1479397.1	13.38	2.73	26.07	1.29	42.37	9.09
AD-1479398.1	18.15	3.78	37.73	7.00	51.52	7.54
AD-1479399.1	26.26	3.82	66.97	14.01	76.11	13.57
AD-1479400.1	26.46	3.84	50.16	7.83	77.00	16.24
AD-1479401.1	14.67	3.25	36.91	7.56	60.75	9.50
AD-1479402.1	18.55	2.16	40.23	6.63	65.32	9.53
AD-1479403.1	18.00	1.15	38.70	3.77	58.14	12.26
AD-1479404.1	21.38	2.80	29.69	4.16	56.93	14.45
AD-1479405.1	15.85	4.03	28.15	5.44	44.64	8.56
AD-1479406.1	16.92	0.29	36.24	5.32	53.50	2.57
AD-1479407.1	23.54	1.76	21.01	4.97	56.23	8.47
AD-1479408.1	21.03	1.82	30.88	6.36	56.85	6.10
AD-1479409.1	22.92	3.73	44.89	5.55	68.09	6.93
AD-1479410.1	18.25	4.82	39.37	4.09	61.13	10.17
AD-1479411.1	14.08	2.22	42.44	1.98	47.58	10.60
AD-1479412.1	36.87	5.55	42.48	3.19	81.01	5.10
AD-1479413.1	36.52	7.54	37.35	7.69	64.91	4.50
AD-1479414.1	23.48	2.64	45.97	10.29	60.47	1.44
AD-1479415.1	25.78	3.27	42.28	8.67	67.23	8.22
AD-1479416.1	32.26	0.81	52.88	3.11	85.61	9.71
AD-1479417.1	25.89	4.12	57.24	10.15	73.76	12.58
AD-1479418.1	50.84	5.51	84.77	11.67	86.23	9.86
AD-1479419.1	81.24	13.71	86.77	18.63	109.03	3.82

雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479420.1	33.82	4.30	48.85	7.44	55.89	4.72
AD-1479421.1	27.81	2.72	55.22	13.15	71.11	7.85
AD-1479422.1	24.35	3.45	46.73	12.34	72.10	8.19
AD-1479423.1	38.85	8.70	69.75	11.36	94.64	10.27
AD-1479424.1	60.95	9.16	84.22	24.95	100.52	8.74
AD-1479425.1	49.93	5.03	81.50	3.59	106.39	17.05
AD-1479426.1	64.96	3.02	107.97	24.24	111.97	10.08
AD-1479427.1	53.66	9.36	49.75	1.44	83.24	4.12
AD-1479428.1	54.54	13.38	61.03	10.13	95.32	5.55
AD-1479429.1	28.06	0.11	34.65	13.04	68.26	6.60
AD-1479430.1	41.79	7.33	34.04	2.47	85.11	12.69
AD-1479431.1	41.03	5.73	40.66	14.93	79.67	8.18
AD-1479432.1	24.77	2.72	39.12	12.26	62.46	10.43
AD-1479433.1	22.76	4.25	39.21	7.40	55.17	1.73
AD-1479434.1	22.41	3.01	30.94	4.88	67.71	2.90
AD-1479435.1	46.22	2.94	37.66	6.83	70.31	12.03
AD-1479436.1	53.57	9.68	66.50	11.98	93.07	6.61
AD-1479437.1	30.05	2.19	31.48	7.94	81.65	10.22
AD-1479438.1	32.45	5.46	31.69	8.74	80.44	7.35
AD-1479439.1	31.32	4.75	42.83	8.67	75.05	12.99
AD-1479440.1	24.78	3.63	34.04	6.04	59.37	4.97
AD-1479441.1	19.12	1.68	24.28	6.41	56.31	11.28
AD-1479442.1	32.17	3.43	38.40	4.55	64.80	4.34
AD-1479443.1	30.40	1.97	41.56	10.74	78.97	13.24
AD-1479444.1	53.81	9.16	69.98	18.91	99.85	14.28
AD-1479445.1	35.46	6.89	45.54	8.33	71.44	7.16
AD-1479446.1	31.98	4.88	22.01	3.01	61.20	13.17
AD-1479447.1	24.59	1.80	21.52	2.02	59.10	3.71
AD-1479448.1	20.40	1.50	32.92	4.93	60.39	9.30
AD-1479449.1	38.49	4.54	34.93	4.00	73.51	6.96
AD-1479450.1	30.67	5.77	28.39	3.06	65.84	4.88

雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479451.1	32.03	1.24	54.77	8.19	66.14	6.03
AD-1479452.1	47.19	8.86	70.69	2.08	86.72	21.00
AD-1479453.1	62.14	2.67	67.53	3.34	113.26	3.76
AD-1479454.1	109.81	13.06	93.99	2.92	58.69	2.73
AD-1479455.1	32.58	10.08	39.20	10.59	42.16	4.54
AD-1479456.1	34.33	2.41	38.06	8.00	45.02	8.84
AD-1479457.1	26.03	8.91	33.26	9.15	51.76	4.91
AD-1479458.1	38.72	5.70	61.21	7.99	72.12	10.10
AD-1479459.1	31.06	2.30	46.84	10.36	64.49	8.60
AD-1479460.1	36.10	0.53	38.93	11.60	46.56	9.61
AD-1479461.1	49.69	14.23	64.11	10.16	64.82	10.62
AD-1479462.1	38.10	4.32	53.00	5.77	51.24	8.83
AD-1479463.1	29.29	3.76	41.94	8.30	61.26	10.42
AD-1479464.1	48.97	4.76	66.96	17.46	109.86	17.74
AD-1479465.1	98.84	16.78	105.30	11.34	113.42	18.73
AD-1479466.1	39.24	7.52	67.82	6.21	106.86	10.90
AD-1479467.1	65.56	13.36	89.24	24.01	128.50	14.14
AD-1479468.1	36.93	5.50	52.51	18.31	69.18	9.94
AD-1479469.1	57.21	6.51	86.69	11.17	69.71	10.74
AD-1479470.1	86.09	12.11	88.91	15.03	96.18	15.66
AD-1479471.1	64.25	8.99	70.62	9.85	119.81	12.25
AD-1479472.1	42.02	5.71	69.00	7.98	102.53	23.14
AD-1479473.1	24.01	6.34	60.89	3.70	79.05	6.27
AD-1479474.1	13.49	2.03	28.93	9.44	35.40	5.48
AD-1479475.1	20.47	1.73	42.26	8.24	30.02	8.45
AD-1479476.1	18.07	6.80	37.75	14.77	42.84	8.79
AD-1479477.1	27.36	6.67	54.67	11.39	79.19	18.42
AD-1479478.1	28.06	7.96	32.84	6.87	83.29	17.40
AD-1479479.1	26.54	6.18	48.54	10.73	83.40	6.36
AD-1479480.1	23.79	4.31	40.17	13.79	79.79	14.19
AD-1479481.1	19.44	4.33	34.39	10.89	39.32	7.47

雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479482.1	20.96	1.55	41.32	11.54	29.05	1.65
AD-1479483.1	21.13	3.90	38.58	7.09	48.12	8.51
AD-1479484.1	26.29	5.13	46.10	12.66	55.17	8.09
AD-1479485.1	36.56	8.06	47.42	4.42	68.70	5.47
AD-1479486.1	26.10	8.69	47.98	4.74	91.73	17.12
AD-1479487.1	27.49	7.14	57.39	4.76	83.07	12.31
AD-1479488.1	12.46	3.09	22.12	2.70	65.46	13.64
AD-1479489.1	23.50	4.20	43.78	3.19	26.93	2.48
AD-1479490.1	24.91	4.58	36.16	2.50	38.67	8.14
AD-1479491.1	17.96	0.44	37.69	7.51	52.46	14.94
AD-1479492.1	17.16	5.40	23.26	3.68	53.32	11.48
AD-1479493.1	39.85	5.04	43.16	14.17	103.09	8.75
AD-1479494.1	24.55	10.40	44.63	6.21	64.10	7.84
AD-1479495.1	26.79	9.37	45.44	7.49	68.61	12.47
AD-1479496.1	37.70	5.80	79.45	5.42	52.05	2.04
AD-1479497.1	19.94	2.51	55.28	9.15	67.55	13.60
AD-1479498.1	23.47	7.35	38.30	6.65	75.40	9.32
AD-1479499.1	22.56	4.30	50.37	6.18	103.58	26.12
AD-1479500.1	36.43	8.14	42.46	19.64	112.00	12.08
AD-1479501.1	19.57	5.58	39.48	13.76	65.35	5.54
AD-1479502.1	21.52	7.06	40.25	10.08	82.14	3.92
AD-1479503.1	25.61	4.21	35.97	9.20	42.53	6.68
AD-1479504.1	44.17	3.59	85.62	11.11	74.61	20.24
AD-1479505.1	35.41	6.70	67.31	11.33	90.56	25.07
AD-1479506.1	40.57	4.91	75.46	3.63	77.84	13.98
AD-1479507.1	36.24	1.16	57.87	11.93	90.58	15.11
AD-1479508.1	26.26	1.96	41.71	3.04	87.84	20.80
AD-1479509.1	36.83	3.05	61.90	4.66	98.42	19.40
AD-1479510.1	34.79	2.17	45.38	10.17	82.24	10.05
AD-1479511.1	35.10	6.24	49.37	11.18	37.46	9.73
AD-1479512.1	25.99	5.51	54.32	6.33	53.60	13.57

雙鏈體	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479513.1	21.56	6.48	25.88	15.98	73.48	16.15
AD-1479514.1	19.43	6.82	44.34	10.63	64.34	8.45
AD-1479515.1	25.18	8.67	39.57	16.86	85.87	8.35
AD-1479516.1	38.16	5.84	53.95	7.12	96.45	9.65
AD-1479517.1	39.56	10.21	51.49	8.41	59.11	9.25
AD-1479518.1	33.94	7.42	53.59	12.98	31.54	2.94
AD-1479519.1	43.12	8.26	63.00	10.67	64.42	9.27
AD-1479520.1	22.82	6.08	41.72	16.75	80.11	19.91
AD-1479521.1	26.02	2.29	48.99	9.22	91.48	14.66
AD-1479522.1	43.26	6.15	61.44	16.38	79.92	15.83
AD-1479523.1	44.07	3.24	66.18	5.97	103.15	9.97
AD-1479524.1	63.42	9.40	76.50	13.58	93.92	20.94
AD-1479525.1	61.13	7.14	74.69	10.00	55.51	5.76
AD-1479526.1	45.18	6.46	66.41	9.41	56.67	4.28
AD-1479527.1	39.53	5.39	55.03	9.70	55.04	2.46
AD-1479528.1	42.61	14.62	63.30	6.12	89.09	17.17
AD-1479529.1	40.15	6.52	55.13	6.97	91.58	18.95
AD-1479530.1	43.63	1.77	55.22	5.79	91.83	11.83
AD-1479531.1	35.71	4.54	43.24	7.42	64.00	12.70
AD-1479532.1	37.43	7.12	44.99	3.16	51.75	4.05
AD-1479533.1	31.71	5.48	49.18	5.98	54.17	7.90
AD-1479534.1	75.18	5.91	80.12	9.23	69.93	6.07
AD-1479535.1	43.87	2.79	53.58	7.92	44.33	9.04
AD-1479536.1	56.99	11.10	67.52	13.00	76.03	17.66
AD-1479537.1	43.81	2.50	57.35	9.20	71.02	15.35
AD-1479538.1	35.44	1.57	51.51	6.24	72.09	11.75

表 10: Hep3B 細胞中的 ANGPTL3 劑量篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1331203.3	2.56	1.05	5.78	1.82	10.71	1.51
AD-1331206.3	1.59	0.49	3.68	1.19	19.15	7.31
AD-1331209.3	1.89	1.43	2.94	0.99	10.29	3.96
AD-1331212.3	0.82	0.21	2.92	1.20	12.51	3.50
AD-1331213.3	0.97	0.25	3.01	1.07	4.87	1.01
AD-1331240.3	2.30	0.82	2.72	1.01	9.26	2.42
AD-1331262.3	1.68	0.65	2.74	1.49	6.89	2.53
AD-1331264.3	1.26	0.68	2.09	0.53	4.45	0.98
AD-1331265.3	1.22	0.69	1.39	0.24	4.62	0.78
AD-1331266.3	1.45	0.45	2.81	1.69	8.40	3.51
AD-1331329.3	1.87	0.47	3.71	0.62	9.98	3.76
AD-1479370.1	0.70	0.26	1.70	0.37	6.01	2.25
AD-1479371.1	1.24	0.34	3.32	0.89	8.65	2.31
AD-1479372.1	0.74	0.32	2.21	0.66	7.22	1.47
AD-1479373.1	1.62	0.72	3.18	1.07	8.00	3.21
AD-1479374.1	0.82	0.55	1.90	0.84	3.94	1.09
AD-1479375.1	1.23	0.43	2.97	0.94	6.46	2.32
AD-1479376.1	0.71	0.47	0.98	0.40	1.63	0.98
AD-1479377.1	1.27	0.28	3.78	0.97	13.89	3.72
AD-1479378.1	1.27	0.25	3.99	1.54	5.86	0.67
AD-1479379.1	2.66	0.73	9.10	4.04	20.53	3.84
AD-1479380.1	1.87	0.74	7.68	4.32	20.84	7.70
AD-1479381.1	4.42	0.26	16.16	3.26	36.78	6.88
AD-1479382.1	4.57	0.62	13.52	5.37	32.46	5.88
AD-1479383.1	0.84	0.31	2.35	0.81	1.67	1.12
AD-1479384.1	1.93	0.64	5.83	2.83	14.73	4.19
AD-1479385.1	1.08	0.37	4.13	1.65	6.43	2.09
AD-1479386.1	2.83	0.83	8.74	4.58	19.64	9.39
AD-1479387.1	1.10	0.14	4.44	1.43	6.84	4.38

表 10: Hep3B 細胞中 的 ANGPTL3 劑量 篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留 平均%	STDEV	訊息殘留 平均%	STDEV	訊息殘留 平均%	STDEV
AD-1479388.1	2.99	0.86	10.08	3.07	29.02	7.17
AD-1479389.1	1.54	0.11	4.33	1.51	8.33	5.53
AD-1479390.1	10.13	3.41	16.53	6.45	23.79	9.14
AD-1479391.1	1.17	0.38	3.09	1.06	10.15	3.02
AD-1479392.1	7.63	1.83	31.21	15.94	57.54	10.66
AD-1479393.1	52.13	15.03	69.88	13.74	91.32	19.61
AD-1479394.1	9.00	2.71	22.63	2.67	51.95	6.90
AD-1479395.1	40.22	7.66	52.41	18.64	96.34	3.49
AD-1479396.1	1.07	0.46	1.70	1.35	6.63	6.58
AD-1479397.1	0.86	0.36	3.53	1.18	5.91	1.45
AD-1479398.1	1.50	0.90	6.42	3.46	10.99	3.66
AD-1479399.1	3.54	0.92	8.49	2.78	27.55	7.38
AD-1479400.1	1.11	0.24	3.20	0.78	12.77	7.00
AD-1479401.1	1.95	0.33	4.82	1.58	13.65	4.06
AD-1479402.1	1.34	0.38	3.79	0.76	5.90	2.65
AD-1479403.1	1.52	0.34	3.81	2.15	8.67	3.83
AD-1479404.1	1.39	0.75	2.32	1.87	5.86	2.43
AD-1479405.1	1.34	0.06	4.79	1.59	10.28	2.81
AD-1479406.1	1.23	0.43	7.02	3.49	14.07	1.53
AD-1479407.1	1.16	0.10	3.91	1.77	10.39	3.52
AD-1479408.1	1.49	0.35	4.94	0.91	11.23	2.72
AD-1479409.1	1.99	0.80	4.21	0.91	9.22	3.17
AD-1479410.1	1.42	0.58	3.36	1.67	9.71	0.44
AD-1479411.1	1.35	0.56	2.50	0.93	7.70	3.21
AD-1479412.1	3.89	2.46	13.62	4.70	28.28	8.42
AD-1479413.1	1.62	0.66	7.37	3.37	19.00	8.01
AD-1479414.1	1.40	0.28	4.70	2.02	9.41	5.26
AD-1479415.1	2.41	1.04	4.57	2.30	13.68	5.43
AD-1479416.1	2.20	0.48	4.53	2.94	24.63	9.63

表 10: Hep3B 細胞中的 ANGPTL3 劑量篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479417.1	2.25	1.02	3.34	0.57	7.95	3.77
AD-1479418.1	39.69	14.09	45.94	2.87	48.92	7.24
AD-1479419.1	75.56	19.77	79.76	10.85	110.17	27.25
AD-1479420.1	2.52	1.06	8.41	3.93	18.16	10.80
AD-1479421.1	2.74	0.57	5.73	2.36	15.54	5.49
AD-1479422.1	2.10	0.48	5.58	2.03	18.31	3.85
AD-1479423.1	3.82	2.55	7.74	3.06	25.71	11.02
AD-1479424.1	4.02	1.23	9.16	2.94	37.90	13.00
AD-1479425.1	2.85	0.89	7.17	3.66	25.10	6.27
AD-1479426.1	55.96	15.59	61.93	8.78	49.65	5.04
AD-1479427.1	10.33	3.51	22.90	9.60	49.16	20.17
AD-1479428.1	9.77	2.51	25.64	11.07	56.36	12.52
AD-1479429.1	1.49	0.59	3.54	1.79	12.59	5.62
AD-1479430.1	1.62	0.43	4.61	1.88	9.64	4.08
AD-1479431.1	1.35	0.44	2.44	0.54	8.11	2.77
AD-1479432.1	1.62	0.72	2.38	1.34	6.91	2.49
AD-1479433.1	0.99	0.21	1.94	0.86	7.22	1.09
AD-1479434.1	0.90	0.25	5.97	2.64	12.11	5.31
AD-1479435.1	1.73	0.73	6.13	3.34	14.69	4.81
AD-1479436.1	1.05	0.20	3.67	0.65	11.24	2.31
AD-1479437.1	0.95	0.27	2.17	0.44	4.90	1.31
AD-1479438.1	1.42	0.49	1.92	0.28	6.34	1.69
AD-1479439.1	2.21	1.72	2.95	1.13	10.06	5.02
AD-1479440.1	0.97	0.44	4.16	2.40	5.58	2.58
AD-1479441.1	1.43	0.24	5.17	2.44	10.85	5.96
AD-1479442.1	1.71	0.82	7.03	2.96	15.78	1.59
AD-1479443.1	1.99	0.15	4.20	1.76	15.11	6.13
AD-1479444.1	3.76	2.20	9.85	1.92	33.56	2.89
AD-1479445.1	1.33	0.41	3.61	0.56	9.38	3.59



表 10: Hep3B 細胞中的 ANGPTL3 劑量篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479446.1	0.83	0.13	2.52	0.88	5.05	3.97
AD-1479447.1	0.65	0.24	2.33	1.08	6.13	3.55
AD-1479448.1	1.00	0.37	2.35	0.92	3.72	2.25
AD-1479449.1	1.50	0.31	10.17	1.89	18.74	1.57
AD-1479450.1	1.21	0.36	5.21	2.18	10.41	5.80
AD-1479451.1	0.66	0.12	3.73	1.58	13.22	3.90
AD-1479452.1	2.08	0.55	9.13	2.38	22.72	0.97
AD-1479453.1	15.54	5.16	32.78	10.94	71.93	22.57
AD-1479454.1	65.02	10.00	91.33	19.38	90.24	26.68
AD-1479455.1	1.57	0.66	2.83	0.87	7.39	1.03
AD-1479456.1	2.22	0.41	2.75	0.92	6.08	2.03
AD-1479457.1	1.72	0.69	2.71	0.39	4.41	1.23
AD-1479458.1	1.95	0.95	2.25	0.58	9.40	1.30
AD-1479459.1	1.44	0.47	2.75	1.38	7.52	3.58
AD-1479460.1	1.25	0.79	1.62	0.62	3.19	1.13
AD-1479461.1	15.71	6.42	40.90	1.81	70.79	13.15
AD-1479462.1	2.69	0.63	5.07	1.15	14.25	1.23
AD-1479463.1	1.93	0.40	3.44	0.69	13.10	4.65
AD-1479464.1	21.21	2.94	37.83	9.54	55.70	10.96
AD-1479465.1	94.02	21.46	89.76	13.33	84.42	8.02
AD-1479466.1	2.97	0.43	5.33	0.78	20.98	3.01
AD-1479467.1	34.59	8.40	56.36	9.71	65.42	7.49
AD-1479468.1	3.55	1.69	6.16	2.61	23.62	6.69
AD-1479469.1	7.19	2.25	31.75	8.89	59.45	14.83
AD-1479470.1	34.57	7.26	71.66	16.04	77.20	20.04
AD-1479471.1	19.71	6.12	42.15	7.03	62.85	10.38
AD-1479472.1	3.25	0.90	8.58	1.59	22.27	2.50
AD-1479473.1	1.94	0.35	2.95	0.97	7.67	2.15
AD-1479474.1	0.72	0.16	0.91	0.41	1.81	0.86

表 10: Hep3B 細胞中的 ANGPTL3 劑量篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479475.1	1.03	0.29	1.51	0.75	6.54	1.76
AD-1479476.1	1.69	0.23	2.37	0.53	6.27	1.89
AD-1479477.1	2.10	0.47	4.60	1.46	8.94	2.45
AD-1479478.1	1.41	0.53	2.68	0.61	5.84	1.48
AD-1479479.1	1.23	0.26	1.92	1.14	4.62	0.98
AD-1479480.1	1.13	0.18	1.77	0.21	5.83	0.97
AD-1479481.1	0.71	0.20	1.14	0.53	2.83	0.33
AD-1479482.1	1.17	0.57	1.42	0.61	4.95	3.07
AD-1479483.1	1.59	0.19	2.93	0.55	6.52	2.36
AD-1479484.1	1.95	0.62	5.28	0.79	16.09	4.36
AD-1479485.1	10.21	3.88	24.41	3.03	46.43	8.45
AD-1479486.1	1.26	0.18	3.37	1.25	9.94	2.95
AD-1479487.1	1.24	0.41	2.37	0.59	6.36	0.97
AD-1479488.1	0.94	0.36	1.17	0.17	2.68	0.88
AD-1479489.1	1.24	0.48	4.32	2.08	8.54	1.70
AD-1479490.1	1.48	0.43	3.10	1.01	12.12	3.82
AD-1479491.1	2.94	0.42	8.38	1.49	16.68	0.57
AD-1479492.1	2.73	0.80	5.36	2.91	16.03	2.29
AD-1479493.1	2.21	0.39	7.03	1.87	21.40	3.70
AD-1479494.1	2.24	0.67	5.00	1.88	17.67	5.78
AD-1479495.1	1.15	0.26	2.50	1.01	11.45	2.94
AD-1479496.1	3.36	1.10	9.57	2.48	21.08	7.08
AD-1479497.1	1.81	0.10	4.07	2.09	14.57	6.34
AD-1479498.1	2.36	0.60	3.43	1.71	12.93	4.00
AD-1479499.1	1.44	0.31	3.14	1.38	8.29	1.30
AD-1479500.1	2.29	0.42	5.32	2.50	17.09	5.09
AD-1479501.1	1.53	0.34	2.65	0.72	10.66	2.02
AD-1479502.1	1.11	0.23	3.36	1.32	10.09	3.35
AD-1479503.1	1.14	0.79	1.38	0.84	3.36	2.03

表 10: Hep3B 細胞中 的 ANGPTL3 劑量 篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留 平均%	STDEV	訊息殘留 平均%	STDEV	訊息殘留 平均%	STDEV
AD-1479504.1	2.25	0.35	8.68	2.33	21.53	8.29
AD-1479505.1	1.71	0.54	4.90	2.53	10.14	3.64
AD-1479506.1	2.09	0.75	4.57	1.13	12.90	1.93
AD-1479507.1	4.54	0.69	13.63	2.25	33.97	4.86
AD-1479508.1	1.82	0.53	6.13	0.67	23.73	4.03
AD-1479509.1	4.80	1.98	8.33	0.80	29.49	14.92
AD-1479510.1	0.58	0.21	1.25	0.52	3.52	0.80
AD-1479511.1	1.36	0.36	3.50	2.20	9.28	2.77
AD-1479512.1	1.11	0.44	2.19	0.76	6.64	2.72
AD-1479513.1	3.46	0.90	7.66	2.66	20.30	8.67
AD-1479514.1	1.35	0.42	2.47	1.68	5.16	2.20
AD-1479515.1	11.22	1.44	36.27	10.10	57.69	8.34
AD-1479516.1	2.03	0.53	4.16	0.78	17.23	8.59
AD-1479517.1	1.80	0.62	3.09	1.42	11.87	2.55
AD-1479518.1	0.76	0.24	2.07	0.76	4.62	1.33
AD-1479519.1	8.53	1.62	17.79	1.36	56.60	18.23
AD-1479520.1	2.94	0.56	4.64	2.17	15.83	5.06
AD-1479521.1	1.67	0.50	4.71	1.84	12.38	5.24
AD-1479522.1	6.66	2.45	19.95	1.02	42.74	9.16
AD-1479523.1	1.45	0.27	2.25	0.82	5.24	1.59
AD-1479524.1	3.72	1.08	5.93	2.08	24.05	11.86
AD-1479525.1	1.49	0.65	7.18	2.11	18.32	7.26
AD-1479526.1	2.83	0.37	6.65	1.60	21.57	10.68
AD-1479527.1	2.15	0.29	5.42	0.58	13.22	3.12
AD-1479528.1	1.50	0.31	4.55	0.92	11.97	0.58
AD-1479529.1	4.69	5.91	3.30	1.22	6.02	1.83
AD-1479530.1	1.82	0.62	3.38	1.07	9.22	1.73
AD-1479531.1	1.07	0.33	1.21	0.88	3.29	1.85
AD-1479532.1	1.03	0.14	2.26	1.22	8.37	2.27

表 10: Hep3B 細胞中的 ANGPTL3 劑量篩選	10 nM		1 nM		0.1 nM	
	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV	訊息殘留平均%	STDEV
AD-1479533.1	0.78	0.11	1.87	0.38	3.90	1.94
AD-1479534.1	3.57	1.37	5.74	1.72	19.59	8.15
AD-1479535.1	1.43	0.36	2.32	0.56	5.13	1.48
AD-1479536.1	1.40	0.38	4.19	0.79	11.84	0.61
AD-1479537.1	1.11	0.34	2.44	0.79	6.02	1.66
AD-1479538.1	0.75	0.11	1.46	0.32	4.69	1.79

**【0644】 實例 5：小鼠 dsRNA 雙鏈體體的體內篩選**

**【0645】** 從上述體外研究中確定的感興趣的雙相體在體內進行評估。特別是，用含有 hANGPTL3（全長人）的 AAV 轉導小鼠，每隻小鼠 2e11 病毒顆粒。轉導後四周，將小鼠皮下注射單次 3mg/kg 劑量的雙鏈體目標。在給藥後的第 7 天和第 14 天，收集血清，並藉由 ELISA (R&D System shANPTL3 ELISA, DANL30) 測定 hANGPTL3 蛋白的水平，這些分析的結果在下面的表 11 中提供。每個時間點平均使用三隻小鼠，並且與第 7 天和第 14 天的 PBS 對照樣品相比，hANGPTL3 蛋白的百分比在表 11 中表示。

【0646】表 11: 體內 ANGPTL3 dsRNA 篩選

	相較於 PBS 對照的平均 第 7 日	相較於 PBS 對照的平均 第 14 日
<b>PBS</b>	100	100
<b>Naïve</b>	99.77	69.34
<b>AD-1331203.2</b>	44.24	33.25
<b>AD-1331206.2</b>	15.05	7.72
<b>AD-1331209.2</b>	19.34	17.56
<b>AD-1331212.2</b>	11.85	17.54
<b>AD-1331213.2</b>	14.41	18.03
<b>AD-1331329.2</b>	29.39	30.07
<b>AD-1331237.2</b>	30.52	46.84
<b>AD-1331238.2</b>	31.11	66.36
<b>AD-1331240.2</b>	17.48	36.42
<b>AD-1331244.2</b>	22.35	75.83
<b>AD-1331256.2</b>	43.7	33.75
<b>AD-1331262.2</b>	30.91	47.3
<b>AD-1331264.2</b>	18.46	36.5
<b>AD-1331265.2</b>	15.2	48.17
<b>AD-1331266.2</b>	24.28	33.19
<b>AD-1331316.2</b>	56.1	58.06
<b>AD-1331338.2</b>	36.89	57.43
<b>AD-74757.13</b>	14.5	18.42

## 【0647】實例 6：體內所選 dsRNA 雙鏈體體的 SAR 分析

【0648】結構-活性-關係 (SAR) 分析也以類似如上所述在體內進行評估。簡而言之，用含有 hANGPTL3 的 AAV 轉導小鼠，每隻小鼠  $2 \times 10^{11}$  病毒顆粒。轉導後兩周，將小鼠皮下注射感興趣的雙鏈體體，並在第 0 天 (給藥日)，第 7 天，第 14 天和第 28 天收集血清。hANGPTL3 蛋白水平由 ELISA 測定，如上所述。結果以與第 0 天相比的平均百分比表示，如表 12 和表 13 所示。

【0649】表 12: 體內 ANGPTL3 dsRNAs 的結構-活性-相關性(SAR) – 第 7

日及第 14 日的結果

處理	親代	變化平均百分比 第 7 日	變化平均百分比 第 14 日
PBS	n/a	152.8	151.2
Naïve	n/a	147.2	77.2
AD-1331212.4	親代	16.3	5.9
AD-1479372.2	AD-1331212.4	18	8.3
AD-1479374.2	AD-1331212.4	23.4	15.3
AD-1479378.2	AD-1331212.4	31.5	36.2
AD-1331213.4	親代	22.1	16.6
AD-1479385.2	AD-1331213.4	21.7	33.3
AD-1479391.2	AD-1331213.4	59.1	50
AD-1479397.2	AD-1331264	31.5	39.2
AD-1331206.4	親代	13.4	11.4
AD-1479440.2	AD-1331206.4	30.1	50.7
AD-1479460.2	AD-1331240	92.9	131.5
AD-1479481.2	AD-1331265	21.2	44.1
AD-1479482.2	AD-1331265	63.2	58.9
AD-1479489.2	AD-1331262	21.2	30.7
AD-1479511.2	AD-1331266	51.5	128.6
AD-1479533.2	AD-1331329	22.8	24.3
AD-74757.14	基準	62.3	49.6

【0650】表 13: 體內 ANGPTL3 siRNAs 的結構-活性-相關性(SAR) – 第 28

日的結果

處理	親代	變化平均百分比 第 28 日	STDEV 第 28 日
PBS	n/a	58.8	4.3
Naïve	n/a	66.7	
AD-1331212.4	親代	7.5	2.7
AD-1479372.2	AD-1331212.4	22.2	2.1
AD-1479374.2	AD-1331212.4	26.2	7.3
AD-1479378.2	AD-1331212.4	51.2	15.1
AD-1331213.4	親代	14	2.3
AD-1479385.2	AD-1331213.4	59	14
AD-1479391.2	AD-1331213.4	77.3	
AD-1479397.2	AD-1331264	56.2	21.3
AD-1331206.4	親代	20.2	3.2
AD-1479440.2	AD-1331206.4	71.2	6.4
AD-1479460.2	AD-1331240	80.1	24.7
AD-1479481.2	AD-1331265	44.3	11.6
AD-1479482.2	AD-1331265	71.6	18.4
AD-1479489.2	AD-1331262	119.6	
AD-1479511.2	AD-1331266	90.5	22.1
AD-1479533.2	AD-1331329	24.4	8.4
AD-74757.14	基準	16.7	11.4

【0651】實例 7：siRNA-GalNAC 接合物在非人靈長類動物研究中的影響

【0652】來自上述體內研究的主要候選藥物 AD-1331212，AD-1331213 和 AD-1479372，進一步研究了它們在非人靈長類動物中的有效性。具體而言，將 3mg/kg 或 10mg/kg 的單劑量 AD-1331212，AD-1331213 和 AD-1479372 皮下施用於嗜臭猴。每周從動物身上採集血清，並藉由 ELISA 測定 ANGPTL3 蛋白的血清水平。結果以 ANGPTL3 與給藥日（第 0 天）水平相比的百分比變化表示，如圖 3 所示。

均等物

【0653】本領域技術人員將認識到，或者能夠確定使用不超過常規實驗的、許多等同於本文所描述的具體實施方式和方法。此類等同物旨在包含在以下權利要求的範圍中。



## 【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種用於抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含形成雙股區域的正義股和反義股，其中，該反義股包含與編碼 ANGPT3 的 mRNA 互補的區域，且其中，該互補區域包含至少 15 個連續核苷酸，其與表 2 至 3 和表 7 至 8 中任一者的任一反義核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸。

【請求項2】 一種用於抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含形成雙股區域的正義股和反義股，其中，該正義股包含至少 15 個連續的核苷酸，其與 SEQ ID NO: 1 的核苷酸 58-80、73-102、73-124、80-114、291-320、291-342、307-336、540-567、540-589 和 545-577 的核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸，以及該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與 SEQ ID NO: 2 的相應核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸。

【請求項3】 一種用於抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含形成雙股區域的正義股和反義股，其中，該正義股包含至少 15 個連續的核苷酸，其與 SEQ ID NO: 1 的核苷酸 58-80、80-102；84-106；87-109；91-113；92-114；186-208；307-329；308-330；310-332；314-336；545-567；551-573；553-575；554-576；555-577；1133-1155；或 1140-1162 的核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸，以及該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與 SEQ ID NO: 2 的相應核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸。

**【請求項4】** 一種用於抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含形成雙股區域的正義股和反義股，其中，該正義股包含至少 15 個連續的核苷酸，其與 SEQ ID NO: 1 的核苷酸 58-80、91-113 或 92-114 的核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸，以及該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與 SEQ ID NO: 2 的相應核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸。

**【請求項5】** 一種用於抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的雙股核糖核酸 (dsRNA) 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含形成雙股區域的正義股和反義股，其中，該正義股包含至少 15 個連續的核苷酸，其與 SEQ ID NO: 1 的核苷酸 58-80 的核苷酸序列相差不超過三個核苷酸，以及該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與 SEQ ID NO: 2 的相應核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸。

**【請求項6】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與選自由 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；AD-1331329.1；AD-1331237.1；AD-1331238.1；AD-1331240.1；AD-1331244.1；AD-1331256.1；AD-1331262.1；AD-1331264.1；AD-1331265.1；AD-1331266.1；AD-1331316.1；AD-1331338.1；和 AD-1479372 所組成之群組的雙鏈體之反義核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸。

**【請求項7】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與選自由 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；AD-1331329.1；AD-1331240.1；AD-

1331262.1；AD-1331264.1；AD-1331265.1；AD-1331266.1；和 AD-1479372 所組成之群組的雙鏈體之反義核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸。

**【請求項8】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與選自由 AD-1331203.1；AD-1331206.1；AD-1331209.1；AD-1331212.1；AD-1331213.1；和 AD-1479372 所組成之群組的雙鏈體之反義核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸。

**【請求項9】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與選自由 AD-1331212.1；AD-1331213.1；和 AD-1479372 所組成之群組的雙鏈體之反義核苷酸序列之任一者相差不超過三個核苷酸。

**【請求項10】** 如請求項 1 至 5 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該反義股包含至少 15 個連續核苷酸，其與 AD-1479372 的反義股核苷酸序列相差不超過三個核苷酸。

**【請求項11】** 如請求項 1 至 10 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該 dsRNA 試劑包含至少一種修飾的核苷酸。

**【請求項12】** 如請求項 1 至 11 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，實質上該正義股的所有核苷酸包含修飾；實質上該反義股的所有核苷酸包含修飾；或者實質上該正義股的所有核苷酸和實質上該反義股的所有核苷酸包含修飾。

**【請求項13】** 如請求項 1 至 12 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的所有核苷酸包含修飾；該反義股的所有核苷酸包含修飾；或該正義股的所有核苷酸和該反義股的所有核苷酸包含修飾。

【請求項14】如請求項 11 至 13 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該修飾之核苷酸中的至少一者選自由去氧核苷酸、3'-末端去氧胸苷（dT）核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸、構形受限核苷酸、拘束之乙基核苷酸、無鹼基核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-O-烯丙基修飾之核苷酸、2'-C-烷基修飾之核苷酸、2'-羥基修飾之核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾之核苷酸、2'-O-烷基修飾之核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫吡喃修飾之核苷酸、1,5-脫水己糖醇修飾之核苷酸、環己烯基修飾之核苷酸、包含硫代磷酸酯基團的核苷酸、包含甲基膦酸酯基團的核苷酸、包含 5'-磷酸酯的核苷酸、包含 5'-磷酸酯模擬物的核苷酸、熱去穩定核苷酸、二醇修飾之核苷酸（GNA）、包含 2'磷酸酯的核苷酸和 2-O-（N-甲基乙醯胺）修飾之核苷酸；及其組合所組成之群組。

【請求項15】如請求項 11 至 13 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該核苷酸的修飾選自由 LNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-氟、2'-去氧、2'-羥基和乙二醇；及其組合所組成的群組。

【請求項16】如請求項 11 至 13 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該修飾之核苷酸的至少一者選自由去氧核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、二醇修飾之核苷酸（GNA）、包含 2'磷酸酯的核苷酸和乙烯基膦酸酯核苷酸；及其組合所組成的群組。

【請求項17】如請求項 11 至 13 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該核苷酸的至少一個修飾是熱去穩定核苷酸修飾。

【請求項18】如請求項 17 所述的 dsRNA 試劑，其中，該熱去穩定核苷酸修飾選自由無鹼基修飾；與雙鏈體中相反核苷酸的誤配；和去穩定的糖修飾、2'-去氧修飾、無環核苷酸、未鎖核酸（UNA）和甘油核酸（GNA）所組成的群組。

【請求項19】如請求項 1 至 18 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙股區域的長度為 19-30 個核苷酸對。

【請求項20】如請求項 19 所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙股區域的長度為 19-25 個核苷酸對。

【請求項21】如請求項 19 所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙股區域的長度為 19-23 個核苷酸對。

【請求項22】如請求項 19 所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙股區域的長度為 23-27 個核苷酸對。

【請求項23】如請求項 19 所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙股區域的長度為 21-23 個核苷酸對。

【請求項24】如請求項 1 至 23 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，各股獨立地為長度不超過 30 個核苷酸。

【請求項25】如請求項 1 至 24 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的長度為 21 個核苷酸，以及該反義股的長度為 23 個核苷酸。

【請求項26】如請求項 1 至 25 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該互補區域的長度至少為 17 個核苷酸。

【請求項27】如請求項 1 至 26 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該互補區域的長度在 19 至 23 個核苷酸之間。

【請求項28】如請求項 1 至 27 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該互補區域的長度為 19 個核苷酸。

【請求項29】如請求項 1 至 28 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，至少一股包含至少 1 個核苷酸的 3' 突出。

【請求項30】如請求項 1 至 28 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3' 突出。

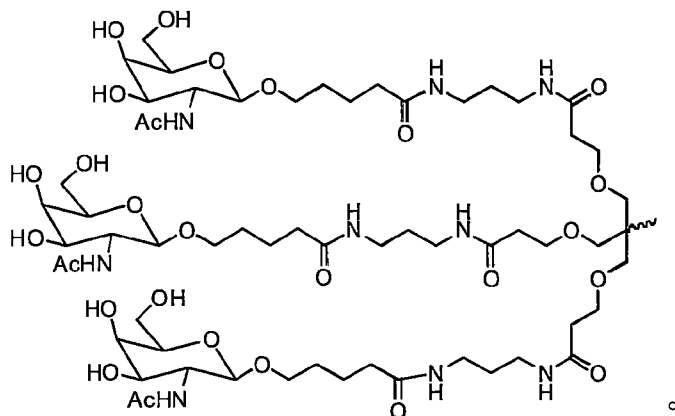
【請求項31】如請求項 1 至 30 中任一項所述的 dsRNA 試劑，還包含配體。

【請求項32】如請求項 31 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體與該 dsRNA 試劑的 3' 末端的該正義股接合。

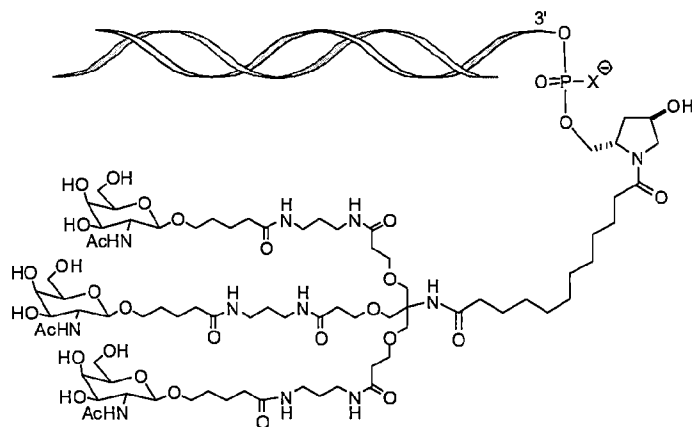
【請求項33】如請求項 31 或 32 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物。

【請求項34】如請求項 31 至 33 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體是藉由單價、二價或三價支鏈連結子連接的一種或多種 GalNAc 衍生物。

【請求項35】如請求項 33 或 34 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為



【請求項36】如請求項 35 所述的 dsRNA 試劑，其中，該 dsRNA 試劑與該配體接合如以下方案所示



且其中，X是O或S。

【請求項37】如請求項36所述的dsRNA試劑，其中，該X為O。

【請求項38】如請求項1至37中任一項所述的dsRNA試劑，其中，該dsRNA試劑還包含至少一種硫代磷酸酯或甲基磷酸酯的核苷酸間鏈結。

【請求項39】如請求項38所述的dsRNA試劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結在一股的3'-末端。

【請求項40】如請求項39所述的dsRNA試劑，其中，該股為該反義股。

【請求項41】如請求項39所述的dsRNA試劑，其中，該股為該正義股。

【請求項42】如請求項38所述的dsRNA試劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結在一股的5'-末端。

【請求項43】如請求項42所述的dsRNA試劑，其中，該股為該反義股。

【請求項44】如請求項42所述的dsRNA試劑，其中，該股為該正義股。

【請求項45】如請求項38所述的dsRNA試劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸間鏈結在一股的5'-和3'-末端。

【請求項46】如請求項45所述的dsRNA試劑，其中，該股為該反義股。

【請求項47】如請求項 1 至 46 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該雙鏈體的該反義股的 5'-末端位置 1 的鹼基對為 AU 鹼基對。

【請求項48】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 18) 相差不超過 4 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3' (SEQ ID NO : 19)相差不超過 4 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項49】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 18) 相差不超過 3 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3' (SEQ ID NO : 19)相差不超過 3 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項50】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 18) 相差不超過 2 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asdAscadAudAaaaadGafggagcuusgsg-3' (SEQ ID NO : 19) 相差不超過 2 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。



【請求項51】 如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 18) 相差不超過 1 個鹼基 (SEQ ID NO : 18) 和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg-3' (SEQ ID NO : 19)相差不超過 1 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項52】 如請求項 1 至 47 任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 18 ) 和反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg-3' (SEQ ID NO : 19)，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

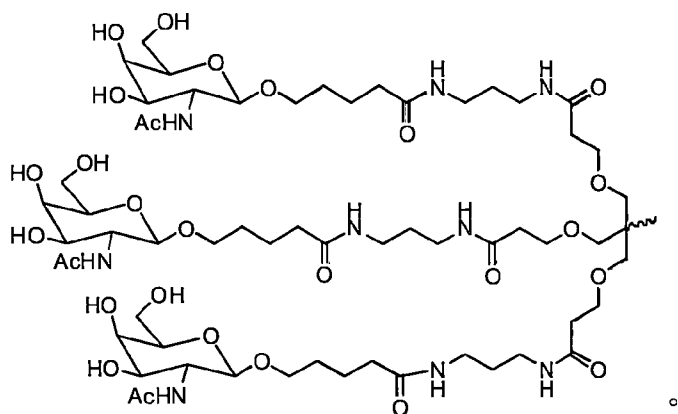
【請求項53】 如請求項 48 至 52 中任一項所述的 dsRNA 試劑，還包括配體。

【請求項54】 如請求項 53 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體與該 dsRNA 試劑的 3'端的正義股接合。

【請求項55】 如請求項 53 或 54 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物。

【請求項56】 如請求項 53 至 55 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體是藉由單價、二價或三價支鏈連接子連接的一種或多種 GalNAc 衍生物。

【請求項57】 如請求項 53 至 56 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為



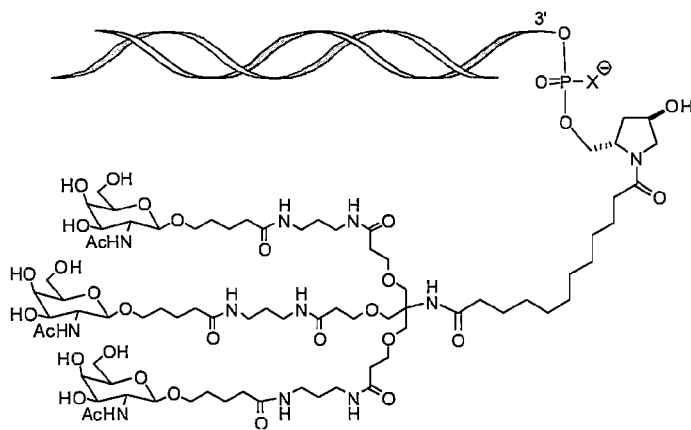
【請求項58】 如請求項 48 至 57 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu*L96-3' (SEQ ID NO : 20) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO : 19)，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；s 為硫代磷酸酯鏈結，以及 L96 為 N-[三 (GalNAc-烷基)-醯胺基]-4-脛脯胺酸。

【請求項59】 如請求項 47 至 58 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-*asasgcuccuUfCfUfuuuuauuguu*-3' (SEQ ID NO : 18) 和該反義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-*asdAscadAudAaaaadGaAfggagcuusgsg*-3' (SEQ ID NO : 19)，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；dA 和 dG 是 2'-去氧 A 和 G；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；s 是硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體與該正義股的 3'-端接合，如以下方案所示



，其中，X 為 O。

【請求項60】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asascucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 4 個鹼基 (SEQ ID NO: 21) 和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa-3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 4 個鹼基；或

其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuuauuguuu-3' (SEQ ID NO: 23 相差不超過 4 個鹼基) 和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa-3' (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 4 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項61】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asascucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 3 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa-3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 3 個鹼基；或

其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuuuuguuu-3' (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 3 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa -3' (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 3 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項62】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 2 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa-3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 2 個鹼基；或

其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuuauuguuu-3' (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 2 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa -3' (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 2 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項63】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO: 21) 相差不超過 1 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa-3' (SEQ ID NO: 22) 相差不超過 1 個鹼基；或

其中，該正義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu-3' (SEQ ID NO: 23) 相差不超過 1 個鹼基和該反義股的核苷酸序列與核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa-3' (SEQ ID NO: 24) 相差不超過 1 個鹼基，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；和 s 是硫代磷酸酯鏈結。

【請求項64】如請求項 1 至 47 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO: 21) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa-3' (SEQ ID NO: 22)；或

其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu-3' (SEQ ID NO: 23) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcususa-3' (SEQ ID NO: 24)，

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U；Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U；s 是硫代磷酸酯鏈結。

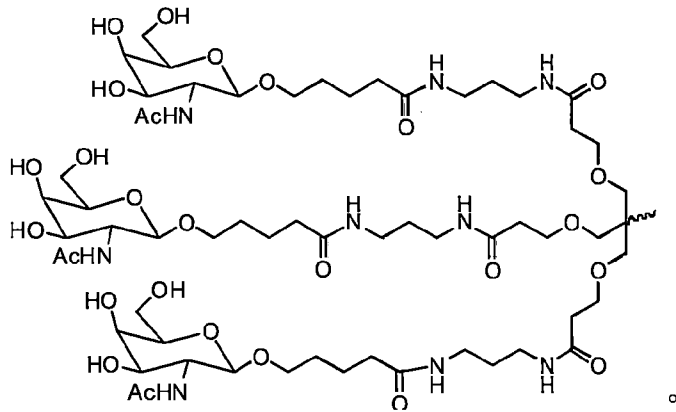
【請求項65】如請求項 60 至 64 中任一項所述的 dsRNA 試劑，還包括配體。

【請求項66】如請求項 65 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體與該 dsRNA 試劑的 3'末端的正義股接合。

【請求項67】如請求項 65 或 66 所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為 N-乙酰半乳糖胺 (GalNAc) 衍生物。

【請求項68】如請求項 65 至 67 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體是藉由單價、二價或三價支鏈連接子連接的一種或多種 GalNAc 衍生物。

【請求項69】如請求項 65 至 68 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該配體為



【請求項70】如請求項 60 至 69 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguuL96-3' (SEQ ID NO : 25) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa -3' (SEQ ID NO : 22) ; 或

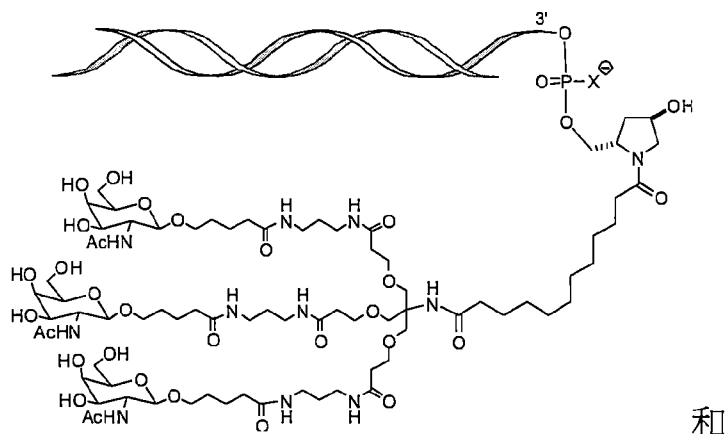
其中，該正義股的核苷酸序列包括核苷酸序列 5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuuL96-3' (SEQ ID NO : 281) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asAfsacaAfuaaaagAfaGfgagcususa -3' (SEQ ID NO : 24)

其中，a、g、c 和 u 是 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、G、C 和 U ; Cf 和 Uf 是 2'-去氧-2'-氟 (2'-F) C 和 U ; s 為硫代磷酸酯鍵結，以及 L96 為 N-[三 (GalNAc-烷基)-醯胺基] -4-脛脯胺酸。

【請求項71】如請求項 60 至 70 中任一項所述的 dsRNA 試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asasgcucCfuUfCfUfuuuuauuguu-3' (SEQ ID NO : 21) 和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列 5'-asAfscaaUfaaaaagaAfgGfagcuusasa -3' (SEQ ID NO : 22) ;

其中，a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-OMe) A、G、C和U；Cf和Uf是2'-去氧-2'-氟(2'-F) C和U；s是硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體與該正義股的3'-端接合，如以下方案所示

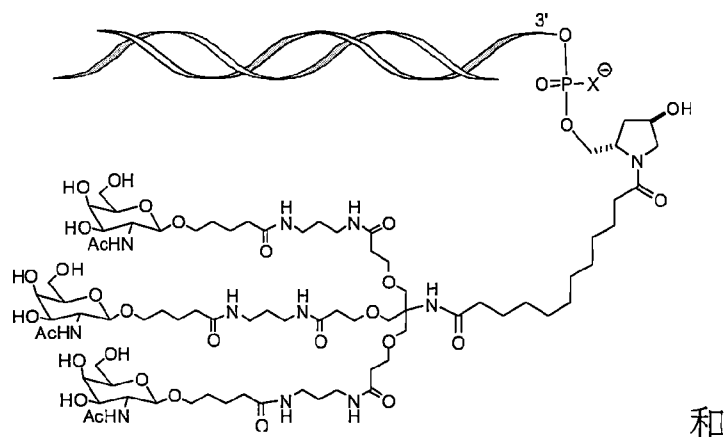


其中，X為O。

【請求項72】如請求項60至70中任一項所述的dsRNA試劑，其中，該正義股的核苷酸序列包含核苷酸序列5'-asgscuccUfuCfUfUfuuuauuguuu-3'(SEQ ID NO: 23)和該反義股的核苷酸序列包含核苷酸序列5'-asAfsacaAfuaaaaagAfaGfgagcusa-3'(SEQ ID NO: 24)

其中，a、g、c和u是2'-O-甲基(2'-OMe) A、G、C和U；Cf和Uf是2'-去氧-2'-氟(2'-F) C和U；s是硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體與該正義股的3'-端接合，如以下方案所示



其中，X 為 O。

【請求項73】 一種細胞，其含有如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑。

【請求項74】 一種醫藥組成物，用於抑制編碼類血管生成素 3 (ANGPTL3) 的基因表現，其包含如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑。

【請求項75】 如請求項 74 所述的醫藥組成物，其中，該 dsRNA 試劑在未緩衝溶液中。

【請求項76】 如請求項 75 的醫藥組成物，其中，該未緩衝溶液為生理鹽水或水。

【請求項77】 如請求項 74 所述的醫藥組成物，其中，該 dsRNA 試劑在緩衝液中。

【請求項78】 如請求項 77 所述的醫藥組成物，其中，該緩衝液包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任意組合。

【請求項79】 如請求項 78 所述的醫藥組成物，其中，該緩衝溶液為磷酸鹽緩衝鹽水 (PBS)。

【請求項80】 一種抑制細胞中的類血管生成素 3 (ANGPTL3) 基因表現的方法，該方法包括將細胞與如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑或如請求項 74 至 79 中任一項的醫藥組成物接觸，從而抑制細胞中 ANGPTL3 基因的表現。

【請求項81】 如請求項 80 所述的方法，其中，該細胞位於個體內。

【請求項82】 如請求項 81 所述的方法，其中，該個體是人。



【請求項83】如請求項 82 所述的方法，其中，該個體具有 ANGPTL3 相關病症。

【請求項84】如請求項 83 所述的方法，其中，該 ANGPTL3 相關病症是脂質代謝紊亂。

【請求項85】如請求項 84 所述的方法，其中，該脂質代謝紊亂為高脂血症或高三酸甘油酯血症。

【請求項86】如請求項 80 至 85 中任一項所述的方法，其中，將該細胞與該 dsRNA 試劑接觸可抑制 ANGPTL3 的表現至少 50%、60%、70%、80%、90%或 95%。

【請求項87】如請求項 80 至 86 中任一項所述的方法，其中，該抑制 ANGPTL3 的表現可使該個體血清中的 ANGPTL3 蛋白水平降低至少 50%、60%、70%、80%、90%或 95%。

【請求項88】一種治療具有有利於類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現減少的疾病的個體的方法，包括向該個體施用治療有效量的如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑，或如請求項 74 至 79 中任一項所述的醫藥組成物，從而治療具有將受益於 ANGPTL3 表現減少的疾病的該個體。

【請求項89】一種在具有疾病的個體中預防至少一種癥狀的方法，該疾病將受益於類血管生成素 3 (ANGPTL3) 表現的減少，包括向該個體施用預防性有效量的如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑，或如請求項 74 至 79 中任一項所述的醫藥組成物，從而預防具有該疾病的該個體中至少一種癥狀，該疾病將受益於 ANGPTL3 表現的減少。

【請求項90】如請求項 88 或 89 所述的方法，其中，該疾病是 ANGPTL3 相關病症。

【請求項91】如請求項 90 所述的方法，其中，該 ANGPTL3 相關病症是脂質代謝紊亂。

【請求項92】如請求項 91 所述的方法，其中，該脂質代謝紊亂為高脂血症或高三酸甘油酯血症。

【請求項93】如請求項 88 至 92 中任一項所述的方法，其中，該個體為人。

【請求項94】如請求項 88 至 93 中任一項所述的方法，其中，向該個體施用該試劑可引起一種或多種血清脂質的降低和/或 ANGPTL3 蛋白積累的減少。

【請求項95】如請求項 88 至 94 中任一項所述的方法，其中，該 dsRNA 試劑以約 0.01mg/kg 至約 50mg/kg 的劑量施用給該個體。

【請求項96】如請求項 88 至 95 中任一項所述的方法，其中，該 dsRNA 試劑被皮下注射給該個體。

【請求項97】如請求項 88 至 96 中任一項所述的方法，還包括從該個體的樣品中測定 ANGPTL3 的水平。

【請求項98】如請求項 97 所述的方法，其中，該個體樣品中 ANGPTL3 的水平為血液或血清樣品中 ANGPTL3 蛋白的水平。

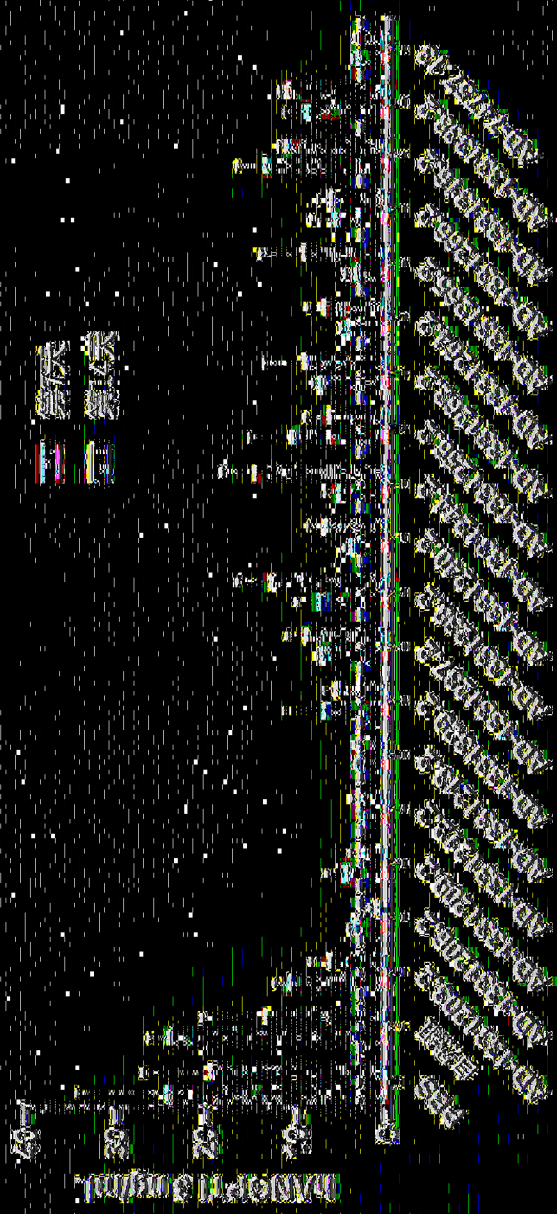
【請求項99】如請求項 88 至 98 中任一項所述的方法，還包括向該個體施用用於治療 ANGPTL3 相關病症的附加治療劑。

【請求項100】一種套組，包含如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑或如請求項 74 至 79 中任一項所述的醫藥組成物。

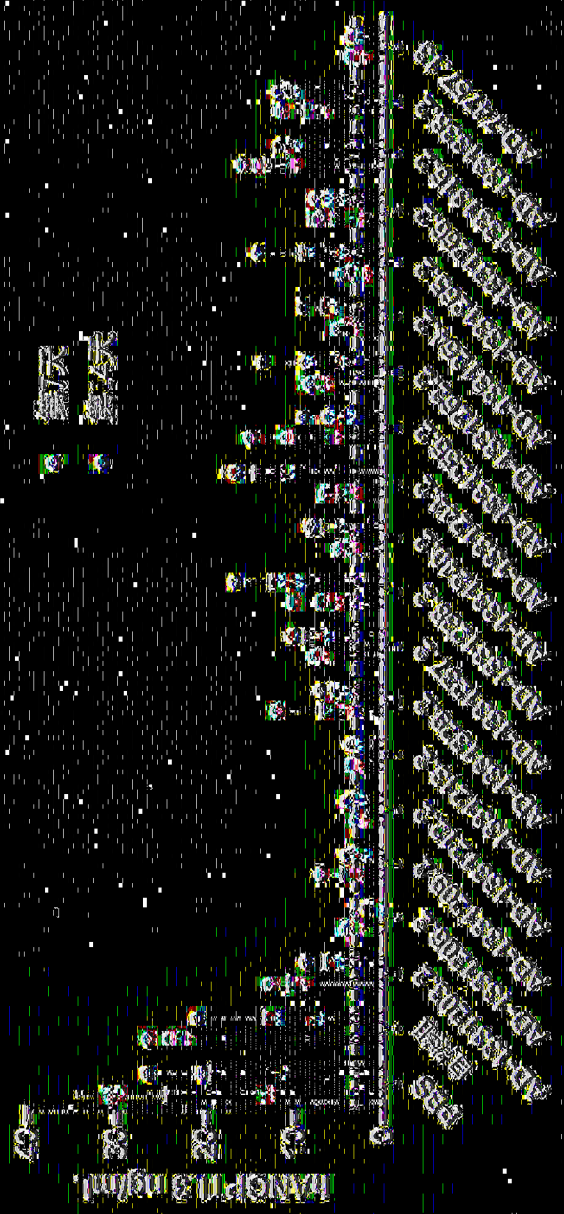
【請求項101】 一種小瓶，包含如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑或如請求項 74 至 79 中任一項所述的醫藥組成物。

【請求項102】 一種注射器，包含如請求項 1 至 72 中任一項所述的 dsRNA 試劑或如請求項 74 至 79 中任一項所述的醫藥組成物。

【發明圖式】



(圖1)

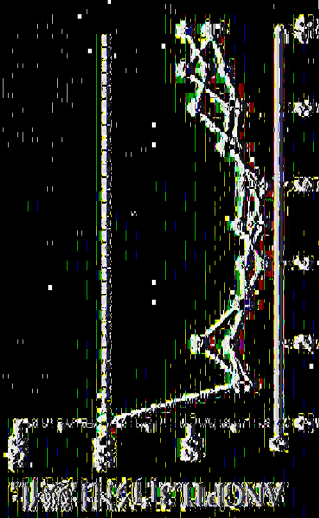
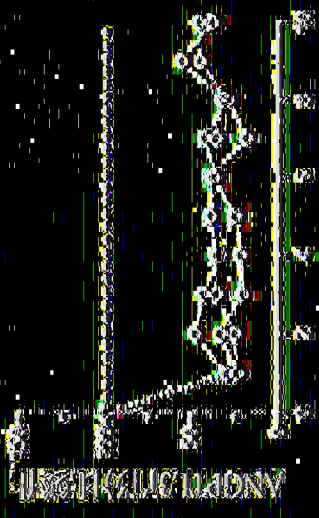


(圖2)

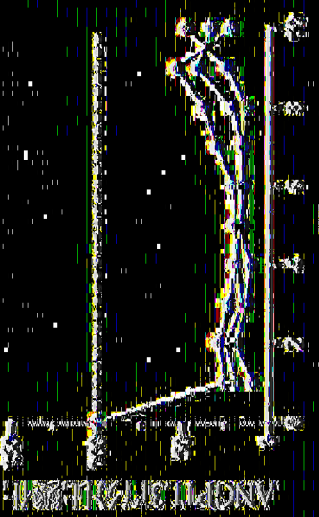
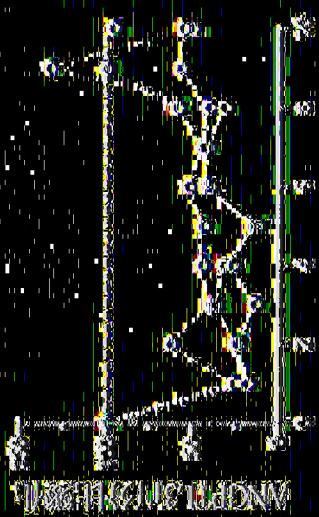
1998 AUGUST 312  
SOLYAC  
D74 5708



AD-1470372



AD-1381723



AD-1381722

