

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **201991675** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2020.01.17

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)

(22) Дата подачи заявки  
2018.01.10

---

(54) **СРЕДСТВА ДЛЯ РНКи АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА (ААТ), КОМПОЗИЦИИ,  
СОДЕРЖАЩИЕ СРЕДСТВА ДЛЯ РНКи ААТ, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 62/444,452; 62/486,720; 62/596,232

(32) 2017.01.10; 2017.04.18; 2017.12.08

(33) US

(86) PCT/US2018/013102

(87) WO 2018/132432 2018.07.19

(71) Заявитель:  
ЭРРОУХЕД ФАРМАСЬЮТИКАЛС,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Ли Чжэнь, Чжу Жуй, Вудделл  
Кристин И., Пэй Тао (US)

(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

(57) Описаны средства для РНКи для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина (ААТ), композиции, включающие средства для РНКи ААТ, и способы их применения. Описаны также фармацевтические композиции, включающие одно или более средств для РНКи ААТ вместе с одним или более эксципиентами, способными доставлять средство(средства) для РНКи в клетку печени *in vivo*. Доставка средства(средств) для РНКи ААТ в клетки печени *in vivo* ингибирует экспрессию гена ААТ и осуществляет лечение заболеваний, ассоциированных с недостаточностью ААТ, таких как хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточная карцинома, трансаминит, холестаза, фиброз и фульминантная печеночная недостаточность.

**201991675**  
**A1**

**201991675**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-557066EA/011

### **СРЕДСТВА ДЛЯ РНКИ АЛЬФА-1-АНТИТРИПСИНА (ААТ), КОМПОЗИЦИИ, СОДЕРЖАЩИЕ СРЕДСТВА ДЛЯ РНКИ ААТ, И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ**

По настоящей заявке испрашивается приоритет временной заявки на патент США No. 62/444452, поданной 10 января 2017 г., временной заявки на патент США No. 62/486720, поданной 18 апреля 2017 г., и временной заявки на патент США No. 62/596232, поданной 8 декабря 2017 г., содержание каждой из которых приведено в настоящем описании в качестве ссылки в полном объеме.

### **ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ**

Настоящее изобретение относится к средствам для РНК-интерференции (РНКи) для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина, к композициям, содержащим средства для РНКи альфа-1-антитрипсина, и к способам их применения.

### **УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ**

Недостаточность альфа-1-антитрипсина (ААТ,  $\alpha$ 1-антитрипсина, или A1AT) представляет собой наследственное, ауточомное кодоминантное генетическое нарушение, которое вызывает неправильное сворачивание белка ААТ и плохую секрецию неправильно свернутого белка, приводящие к заболеваниям легкого и печени. Недостаточность ААТ (AATD) возникает с частотой приблизительно 1 на каждые 1500-3500 индивидуумы и наиболее часто поражает индивидуумов европеоидного происхождения.

Альфа-1-антитрипсин представляет собой ингибитор протеаз, принадлежащий к суперсемейству серпина. Нормальный белок ААТ представляет собой циркулирующий гликопротеин ингибитор протеаз, первоначально синтезируемый гепатоцитами в печени и секретируемый в кровь. Известной физиологической функцией ААТ является протеаза нейтрофилов, которая служит для защиты тканей хозяина от неспецифического повреждения во время периодов воспаления.

Наиболее клинически значимая форма ААТD, генетическое

нарушение, ассоциированное с заболеванием печени у детей и взрослых, и заболеванием легких у взрослых, вызвано Z-мутацией. Z-мутантный аллель (PiZ), посредством одиночной точечной мутации, делает мутантную Z-форму белка ААТ («белок Z-ААТ») подверженной аномальному сворачиванию, вызывающему внутриклеточное удержание. Мономеры мутантного белка Z-ААТ являются способными формировать цепи полимеров, которые накапливаются в агрегатах, которые иногда обозначают как «глобулы». Неправильно свернутый белок Z-ААТ является неэффективным для прохождения секреторного пути, и вместо этого, полимеризуется и накапливается в эндоплазматическом ретикулуме (ER) гепатоцитов. Массы полимерных глобул вызывают стресс ER и запускают непрерывное повреждение гепатоцитов, приводящее к фиброзу, циррозу и увеличенному риску печеночно-клеточной карциномы. Кроме того, отсутствие активности в кровотоке против протеаз оставляет легкое уязвимым для повреждения эластазой нейтрофилов, приводя к развитию осложнений в дыхательных путях, таких как эмфизема.

Индивидуумы с гомозиготным генотипом PiZZ имеют тяжелую недостаточность функционального ААТ, приводящую к заболеванию легких. Еженедельное использование восполняющей ААТ терапии, с использованием очищенного человеческого ААТ, приводит к почти нормальным уровням ААТ в плазме у пациентов с ААТД и помогает предотвращать повреждение легких у пораженных индивидуумов. Однако, в то время как введение очищенного ААТ может облегчать или помогать предотвращать повреждение легких, вызванное отсутствием эндогенно секретируемого ААТ, пациенты с ААТД остаются уязвимыми для болезни накопления эндоплазматического ретикулума в печени, вызванной депонированием и накоплением избытка аномально свернутого белка ААТ. Накопленный белок Z-ААТ в глобулярной конформации в гепатоцитах является хорошо известной характеристикой заболевания печени ААТД, и считают, что он приводит к протеотоксическим эффектам, ответственным за индукцию повреждения печени, включая повреждение клеток печени, и гибель и хроническое повреждение печени, у индивидуумов с ААТД. (см., например, D. Lindblad et al., *Hepatology* 2007, 46:

1228-1235). У пациентов с ААТD часто развивается заболевание печени, которое может являться тяжелым или летальным, даже в младенчестве. Клинические проявления повреждения печени включают хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточную карциному, трансаминаит, холестаза, фиброз и даже фульминантную печеночную недостаточность.

В настоящее время не существует клинически апробированного лечения для предотвращения начала или замедления прогрессирования заболевания печени из-за ААТD. Кроме того, хотя в Публикации заявки на патент США No. 2015/0361427 описаны конкретные средства для РНКи, способные к ингибированию экспрессии гена ААТ, остается необходимость в новых и эффективных ААТ средствах для РНКи, имеющих улучшенную активность, которые могут избирательно, эффективно и безопасно ингибировать экспрессию гена ААТ, таким образом, предотвращая и потенциально обращая связанное с Z-ААТ повреждение печени и фиброз. Подобным образом, хотя в Публикации заявки на патент США No. 2015/0011607 от Brown et al. («Brown '607») описаны различные последовательности для ингибирования экспрессии гена ААТ, в Brown объясняют использование более длинных двухцепочечных конструкций (обозначенных в Brown как DsiRNA (дцмиРНК)), для которых, в соответствии с Brown, обнаружено получение «неожиданных эффективных результатов в отношении активности и продолжительности действия» по сравнению с 19-23-членными средствами для миРНК. (см., например, Brown '607 в абзаце [0376]). Кроме того, многие из последовательностей, описанных в Brown '607, разработаны для использования в конструкциях дцмиРНК, разработанных для нацеливания на отличные локализации мРНК ААТ по сравнению с последовательностями, описанными по настоящему изобретению. Такие различия приводят к отличной аффинности связывания с мРНК ААТ и образуют отличный участок расщепления, который может вносить вклад в ингибирующий эффект соединения, в то же время потенциально приводя также к дополнительным проблемам из-за неспецифического взаимодействия (см., например, Piotr J. Kamola et al., *PLoS Comput Biol*, 2015, 11(12):e1004656

на фиг. 1 (иллюстрирующей механизм опосредованного мРНК выключения гена)). Например, ничего в Brown '607 не объясняет или не предполагает дизайн средства для РНКи (любой длины), где 5'-концевое нуклеиновое основание или нуклеотид антисмысловой цепи можно выравнивать с положением, на 19 нуклеотидов ниже (по направлению к 3'-концу) положения 1000 в гене ААТ (SEQ ID NO: 1). Иными словами, и опять же, исключительно в качестве примера, включающего последовательность одного такого потенциального средства для РНКи ААТ, ничего в Brown '607 не объясняет или не предполагает дизайн средства для РНКи, где 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи средства для РНКи соответствует положению 1018 в гене ААТ (SEQ ID NO: 1). Кроме того, ничего в Brown '607 не объясняет или не предполагает модифицированных конструкций средства для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании.

#### **СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ**

Существует необходимость в новых специфических для ААТ средствах для РНК-интерференции (РНКи) (также названных в настоящем описании как средство для РНКи, средство для запуска РНКи или триггер), которые способны избирательно и эффективно ингибировать экспрессию гена ААТ. Кроме того, существует необходимость в композициях новых специфических для ААТ средств для РНКи для лечения заболеваний, ассоциированных с недостаточностью ААТ.

Поскольку повреждение печени, возникающее в результате ААТD, возникает посредством механизма с приобретением функции, ингибирование ААТ можно использовать для предотвращения накопления белка Z-ААТ в печени. Кроме того, уменьшение или удаление агрегатов полимера Z-ААТ уменьшает стресс ER в гепатоцитах и обеспечивает дополнительные преимущества в уменьшении вероятности возникновения повреждения клеток печени и помощи в лечении повреждения клеток печени и хронического повреждения печени, такого как фиброз, цирроз, печеночно-клеточная карцинома, и другие состояния и заболевания, вызванные ААТD. Уменьшение уровня воспалительного белка Z-ААТ, который

явно определен как причина прогрессирующего заболевания печени у пациентов с ААТD, является важным, поскольку оно может замедлять или останавливать прогрессирующее заболевание печени и позволять репарацию фиброзной ткани.

В общем, описание относится к новым средствам для РНКи ААТ, композициям, содержащим средства для РНКи ААТ, и к способам ингибирования экспрессии гена ААТ *in vivo* и/или *in vitro* с использованием средств для РНКи ААТ и композиций, включающих средства для РНКи ААТ. Кроме того, в настоящем описании описаны способы лечения связанных с ААТD заболеваний с использованием средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании, и композиций, включающих средства для РНКи ААТ.

Средства и способы для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, могут обеспечивать лечение ААТD, включая лечение состояний и заболеваний, вызванных ААТD, таких как хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточная карцинома и фульминантная печеночная недостаточность. Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, при введении пациенту, могут предотвращать и/или обращать связанное с накоплением Z-ААТ повреждение печени и фиброз. Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, можно вводить пациенту, например, человеку или животному, любыми подходящими способами, известными в данной области, такими как подкожная инъекция или внутривенное введение.

В одном аспекте описание относится к средствам для РНКи для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина (ААТ), где средство для РНКи содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. В настоящем описании также описаны композиции, содержащие средство для РНКи, способное к ингибированию экспрессии гена альфа-1-антитрипсина, содержащее смысловую цепь и антисмысловую цепь, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

Каждое средство для РНКи ААТ, описанное в настоящем описании, включает смысловую цепь и антисмысловую цепь. Смысловая цепь и антисмысловая цепь могут являться в основном или полностью комплементарными друг другу. Длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей средства для РНКи, описанного в

настоящем описании, может составлять 16-30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют длину 17-26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют длину 21-26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи независимо имеют длину 21-24 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и/или антисмысловая цепи независимо имеют длину 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи могут иметь либо одинаковую, либо различную длину. Средства для РНКи, описанные в настоящем описании, при доставке в клетку, экспрессирующую ААТ, ингибируют экспрессию одного или нескольких генов ААТ *in vivo* или *in vitro*.

Средство для РНКи ААТ включает смысловую цепь (также обозначаемую как пассажирскую цепь) и антисмысловую цепь (также обозначаемую как направляющая цепь). Смысловая цепь средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании, включает нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% идентичность корового фрагмента из по меньшей мере 16 последовательных нуклеотидов с последовательностью в мРНК ААТ. В некоторых вариантах осуществления, коровый фрагмент смысловой цепи, имеющий по меньшей мере 85% идентичность с последовательностью в мРНК ААТ, имеет длину 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов. Антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ включает нуклеотидную последовательность, имеющую по меньшей мере 85% комплементарность на протяжении корового фрагмента из по меньшей мере 16 последовательных нуклеотидов с последовательностью в мРНК ААТ, и соответствующую смысловую цепь. В некоторых вариантах осуществления, коровый фрагмент антисмысловой цепи, имеющий по меньшей мере 85% комплементарность с последовательностью в мРНК ААТ или соответствующей смысловой цепи, имеет длину 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, нацелены на часть гена ААТ, имеющую последовательность из любой из последовательностей,

описанных в таблице 1.

Примеры смысловых цепей и антисмысловых цепей средства для РНКи ААТ, которые можно использовать в средствах для РНКи ААТ, представлены в таблицах 2, 3, 4 и 5. Примеры дуплексов, включающих средство для РНКи ААТ, представлены в таблице 6. Примеры 19-нуклеотидных последовательностей корового фрагмента, которые могут состоять из или могут быть включены в смысловые цепи и антисмысловые цепи конкретных средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании, представлены в таблице 2.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способам доставки средств для РНКи ААТ в клетки печени пациента, такого как млекопитающее, *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления, одно или более средств для РНКи ААТ доставляют в клетки или ткани - мишени с использованием любого способа доставки олигонуклеотидов, известного в данной области. Способы доставки нуклеиновой кислоты включают, но без ограничения, инкапсуляцию в липосомы, ионтофорез или включение в другие носители, такие как гидрогели, циклодекстрины, биоразлагаемые нанокапсулы и биоадгезивные микросферы, белковые векторы, или динамические поликонъюгаты<sup>TM</sup> (DPC) (см., например, WO2000/053722, WO2008/0022309, WO2011/104169 и WO2012/083185, содержание каждого из которых приведено в настоящем описании в качестве ссылки). В некоторых вариантах осуществления, носитель для доставки, такой как полимер, амфипатический полимер, активный по отношению к мембране полимер, пептид, такой как меллитин или меллитиноподобный пептид, обратимо модифицированный полимер или пептид, или липид, можно использовать вместе со средствами для РНКи ААТ, описанными в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ доставляют в клетки или ткани - мишени посредством ковалентного связывания или конъюгации средства для РНКи с нацеливающей группой, такой как лиганд рецептора асиалогликопротеина. В некоторых вариантах осуществления, лиганд рецептора асиалогликопротеина включает, состоит из или в основном состоит из кластера галактозы или производного галактозы. В некоторых

вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ связано с нацеливающим лигандом, содержащим производное галактозы N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы включает тример N-ацетилгалактозамина или тетрамер N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы представляет собой тример N-ацетилгалактозамина или тетрамер N-ацетилгалактозамина. Примеры нацеливающих групп, которые можно использовать для доставки средства для РНКи, описаны, например, в Патентной заявке США No. 15/452,324 и WO 2017/156012, полное содержание которой приведено в настоящем описании в качестве ссылки.

Нацеливающая группа может быть связана с 3'- или 5'-концом смысловой цепи или антисмысловой цепи средства для РНКи ААТ. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа связана с 3'- или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа связана с 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа связана с внутренним нуклеотидом на смысловой цепи и/или антисмысловой цепи средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа связана со средством для РНКи посредством линкера.

Нацеливающая группа, с линкером или без линкера, может быть связана с 5'- или 3'-концом любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, описанных в таблицах 2, 3, 4 и 5. Линкер, с нацеливающей группой или без нацеливающей группы, может быть присоединен к 5'- или 3'-концу любой из смысловых и/или антисмысловых цепей, описанных в таблицах 2, 3, 4 и 5.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к композициям, включающим одно или более средств для РНКи ААТ, имеющих дуплексные структуры, описанные в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к композициям, включающим комбинацию или коктейль по меньшей мере из двух средств для РНКи ААТ, имеющих различные нуклеотидные последовательности. В некоторых вариантах осуществления, каждое из двух или более различных средств для РНКи ААТ отдельно и независимо связано с нацеливающим группами.

В некоторых вариантах осуществления, каждое из двух или более различных средств для РНКи ААТ связано с нацеливающим группами, включающими или состоящими из нацеливающих лигандов, включающих одну или более групп, нацеленных на рецептор асиалогликопротеина. В некоторых вариантах осуществления, каждое из двух или более различных средств для РНКи ААТ связано с нацеливающим группами, включающими или состоящими из нацеливающих лигандов, включающих один или более производных галактозы. В некоторых вариантах осуществления, каждое из двух или более различных средств для РНКи ААТ связано с нацеливающим группами, включающими или состоящими из нацеливающих лигандов, включающих один или более N-ацетилгалактозаминов. В некоторых вариантах осуществления, когда два или более средств для РНКи включены в композицию, каждое из средств для РНКи независимо связаны с одинаковыми нацеливающими группами. В некоторых вариантах осуществления, когда два или более средств для РНКи включены в композицию, каждое из средств для РНКи независимо связаны с различными нацеливающими группами, такими как нацеливающие группы, имеющие различные химические структуры.

В некоторых вариантах осуществления, нацеливающие группы связаны со средствами для РНКи ААТ без использования дополнительного линкера. В некоторых вариантах осуществления, разработана нацеливающая группа, имеющая уже присутствующий линкер, для облегчения связывания со средством для РНКи ААТ. В некоторых вариантах осуществления, когда два или более средств для РНКи включены в композицию, два или более средств для РНКи могут быть связаны с соответствующими им нацеливающими группами с использованием одинаковых линкеров. В некоторых вариантах осуществления, когда два или более средств для РНКи включены в композицию, два или более средств для РНКи связаны с соответствующими им нацеливающими группами с использованием различных линкеров.

В другом аспекте настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина у пациента, включающим введение пациенту количества средства для РНКи ААТ, способного к ингибированию экспрессии гена ААТ, где средство для

РНКи ААТ содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь.

Настоящее изобретение относится также к способам лечения состояния или заболевания, вызванного ААТD, включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи, описанного в настоящем описании. Кроме того, описаны способы ингибирования экспрессии гена ААТ, включающие введение в клетку средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения ААТD (включая лечение состояния или заболевания, вызванного ААТD), включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи, имеющего антисмысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 4.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ, включающим введение в клетку средства для РНКи ААТ, содержащего антисмысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3, или 4.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения ААТD (включая лечение состояния или заболевания, вызванного ААТD), включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи, содержащего смысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 5.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ, включающим введение в клетку средства для РНКи ААТ, содержащего смысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 5.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения ААТD (включая лечение состояния или заболевания, вызванного ААТD), включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи, содержащего смысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблице 5, и антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ, включающим введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи, содержащего смысловую цепь, содержащую последовательность из любой из последовательностей в таблице 5, и антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ, включающим введение пациенту средства для РНКи ААТ, включающего смысловую цепь, состоящую из последовательности нуклеиновых оснований из любой из последовательностей в таблице 5, и антисмысловую цепь, состоящую из последовательности нуклеиновых оснований из любой из последовательностей в таблице 4. В других вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ, включающим введение пациенту средства для РНКи ААТ, включающего смысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 5, и антисмысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ в клетке, включающим введение одного или нескольких средств для РНКи ААТ имеющих дуплексную структуру, указанную в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, имеют структуры, включающие, состоящие или в основном состоящие из структуры, показанной на любой из фигуры 1, фигуры 2, фигуры 3, фигуры 4, фигуры 5, фигуры 6, фигуры 7 или фигуры 8.

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, разработаны для нацеливания на специфические положения в гене ААТ (SEQ ID NO:1). Как определено в настоящем описании, последовательность антисмысловой цепи разработана для нацеливания на ген ААТ в данном положении гена, когда 5'-

концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи выравнивают с положением, которое находится на 19 нуклеотидов ниже (по направлению к 3'-концу) положения в гене, при спаривании оснований с геном. Например, как проиллюстрировано в таблицах 1, 2 и 3 в настоящем описании, последовательность антисмысловой цепи, разработанной для нацеливания на ген ААТ в положении 1000, требует, чтобы при спаривании оснований с геном, 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи выравнивали с положением 1018 гена ААТ. Как представлено в настоящем описании, средство для РНКи ААТ не требует, чтобы нуклеиновое основание в положении 1 (5' → 3') антисмысловой цепи являлось комплементарным гену, при условии, что присутствует по меньшей мере 85% комплементарность (например, по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и гена на протяжении последовательности корового фрагмента по меньшей мере из 16 последовательных нуклеотидов. Например, для средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, разработанного для нацеливания на положение 1000 гена ААТ, 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи средства для РНКи ААТ должно выравниваться с положением 1018 гена; однако, 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи может являться, но не обязательно должно являться комплементарным положению 1018 гена ААТ, при условии, что присутствует по меньшей мере 85% комплементарность (например, по меньшей мере 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и гена на протяжении последовательности корового фрагмента по меньшей мере из 16 последовательных нуклеотидов. Как показано, среди прочего, в примерах, описанных в настоящем описании, специфический участок связывания гена посредством антисмысловой цепи средства для РНКи ААТ (например, независимо от того, разработано ли средство для РНКи ААТ для нацеливания на ген ААТ в положении 1000, в положении 1142 или в каком-либо другом положении) является очень важным для уровня ингибирования, достигаемого посредством средства для РНКи ААТ.

В некоторых вариантах осуществления, последовательность

антисмысловой цепи разработана для наличия последовательности, нацеленной на положение 1000 гена ААТ (SEQ ID NO: 1).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют

собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 80), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 80), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 81), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 81), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 429), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 429), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACU (SEQ ID NO: 430), где

один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACU (SEQ ID NO: 430), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 429), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 80), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACU (SEQ ID NO: 430), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 81), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 857).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 885).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 864).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 866).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 857), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 885), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере

один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 864), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 866), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04824.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04825.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04826.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04827.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04828.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04829.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04830.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ

содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04831.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплекса AD04832.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04833.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04834.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04835.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04836.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит, состоит из или в основном состоит из дуплексной структуры из AD04837.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 80), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 80 локализована в положениях 1-19 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 80), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 80 локализована в положениях 1-19 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGUUAAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 81), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный

нуклеотид, и где SEQ ID NO: 81 локализована в положениях 1-19 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGUUAACAUGCCUAAACG (SEQ ID NO: 81), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 81 локализована в положениях 1-19 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 429), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где положение 19 из SEQ ID NO: 429 формирует пару оснований с нуклеотидом, локализованным на 5'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 429), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где положение 19 из SEQ ID NO: 429 формирует пару оснований с нуклеотидом, локализованным на 5'-конце антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACU (SEQ ID NO: 430), где один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где положение 19 из SEQ ID NO: 430 формирует пару оснований с нуклеотидом, локализованным на 5'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACU (SEQ ID NO: 430), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где положение 19 из SEQ ID NO: 430 формирует пару оснований с нуклеотидом, локализованным на 5'-конце антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности

нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 794 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 794 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 839 локализована в положениях 1-22 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 839 локализована в положениях 1-22 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 800 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 800 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь

средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 801 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 801 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 794 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и где смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 857).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 839 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 885).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 800 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности

нуклеиновых оснований CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 864).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 801 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 866).

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 794 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 857), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 839 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 885), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 800 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ

содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 864), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов, где по меньшей мере один или более нуклеотидов представляют собой модифицированный нуклеотид, и где SEQ ID NO: 801 локализована на 5'-конце антисмысловой цепи, и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности нуклеиновых оснований AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 866), отличающейся на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов.

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, могут включать один или более модифицированных нуклеотидов. Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, могут также включать одну или более фосфоротиоатных межнуклеозидных связей.

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, могут также включать одну или более нацеливающих групп или связывающих групп. В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, включают одну или более нацеливающих групп. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающие группы состоят из лиганда рецептора асиалогликопротеина. В некоторых вариантах осуществления, лиганд рецептора асиалогликопротеина содержит галактозу или кластер производного галактозы. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы содержит N-ацетилгалактозамин. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающий лиганд содержит тример N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа конъюгирована со смысловой цепью средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgusu (SEQ ID NO: 913), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -

цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgcusu (SEQ ID NO: 958), где a, c, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsg (SEQ ID NO: 959), где a, c, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfgCfsu (SEQ ID NO: 960), где a, c, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь, и смысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgsusu (SEQ ID NO: 913), и

смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') cguuuuGfGfCfauguuuuacausu (SEQ ID NO: 1276), где а, с, г и и представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где на смысловой цепи, необязательно, присутствуют одна, две или более инвертированных лишенных азотистого основания дезоксирибозы (инв.Ab); и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfucusu (SEQ ID NO: 958), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') gcguuuuGfGfCfauguuuuacausu (SEQ ID NO: 1277), где а, с, г и и представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где на смысловой цепи, необязательно, присутствуют одна, две или более инвертированных лишенных азотистого основания дезоксирибозы (инв.Ab); и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgsCfsg (SEQ ID NO: 959), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') gcsguuuGfGfCfauguuuuaca (SEQ ID NO: 1278), где а, с, г и и представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где на смысловой цепи, необязательно,

присутствуют одна, две или более инвертированных лишенных азотистого основания дезоксирибозы (инв.Ab); и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfgCfsu (SEQ ID NO: 960), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') agcguuuuaGfGfCfauguuuuааса (SEQ ID NO: 1279), где а, с, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где на смысловой цепи, необязательно, присутствуют одна, две или более инвертированных лишенных азотистого основания дезоксирибозы (инв.Ab); и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfгусu (SEQ ID NO: 913), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из (5' → 3') (NAG37) s (инв.Ab) scguuuuaGfGfCfauguuuuаасаусu (инв.Ab) (SEQ ID NO: 1028), где а, с, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; (инв.Ab) представляет собой инвертированную лишенную азотистого основания дезоксирибозу (инв.Ab); и (NAG37) представляет собой нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин, имеющий структуру, показанную в таблице 7 в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfгсусu (SEQ ID NO: 958),

и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') (NAG37) s (инв. Ab) sgcsguuuaGfGfCfauguuuuacausu (инв. Ab) (SEQ ID NO: 1030), где а, с, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; (инв. Ab) представляет собой инвертированную лишенную азотистого основания дезоксирибозу (инв. Ab); и (NAG37) представляет собой нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин, имеющий структуру, показанную в таблице 7 в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsg (SEQ ID NO: 959), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') (NAG37) s (инв. Ab) scgsguuuaGfGfCfauguuuuacac (инв. Ab) (SEQ ID NO: 1024), где а, с, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; (инв. Ab) представляет собой инвертированную лишенную азотистого основания дезоксирибозу (инв. Ab); и (NAG37) представляет собой нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин, имеющий структуру, показанную в таблице 7 в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfsgCfsg (SEQ ID NO: 960), и смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из последовательности (5' → 3') (NAG37) s (инв. Ab) sagsguuuaGfGfCfauguuuuacac (инв. Ab) (SEQ ID NO: 1033), где а, с, g и u представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf

представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; (инв.Аб) представляет собой инвертированную лишнюю азотистого основания дезоксирибозу (инв.Аб); и (NAG37) представляет собой нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин, имеющий структуру, показанную в таблице 7 в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, могут включать одну или более нацеливающих групп, имеющих структуру (PAZ), (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s, как определено в настоящем описании в таблице 7.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, включают одну нацеливающую группу на 5'-конце смысловой цепи, имеющую структуру (PAZ), (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s, как определено в настоящем описании в таблице 7.

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, можно включать в композицию, содержащую одно или более описанных средств для РНКи ААТ и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент. В некоторых вариантах осуществления, композиция, описанная в настоящем описании, содержащая одно или более описанных средств для РНКи ААТ и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, представляет собой фармацевтическую композицию.

Фармацевтические композиции, содержащие одно или более средств для РНКи ААТ, можно вводить рядом способов, в зависимости от того, местное или системное введение является

желательным. Введение может представлять собой, но без ограничения, внутривенное, внутриартериальное, подкожное, внутривнутрибрюшинное, субдермальное (например, посредством имплантированного устройства) и интрапаренхимальное введение. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, вводят посредством подкожной инъекции.

В некоторых вариантах осуществления, композиции, содержащие одно или более описанных средств для РНКи ААТ и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент, могут, кроме того, содержать одно или более дополнительных терапевтических или лекарственных средств.

В некоторых вариантах осуществления, композиции, описанные в настоящем описании, содержащие одно или более средств для РНКи ААТ, упакованы в набор, контейнер, упаковку, дозатор, предварительно заполненные шприцы или флаконы. В некоторых вариантах осуществления, композиции, описанные в настоящем описании, вводят парентерально.

Средства для РНКи ААТ и композиции, содержащие их, описанные в настоящем описании, можно вводить пациенту для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина у пациента. В некоторых вариантах осуществления, пациент представляет собой человека. В некоторых вариантах осуществления, пациент представляет собой человека, у которого диагностировано наличие ААТД.

В некоторых вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам ингибирования экспрессии гена ААТ в клетке, включающим введение средства для РНКи ААТ, имеющего антисмысловую цепь, по меньшей мере частично комплементарную части мРНК ААТ, имеющей любую из последовательностей, перечисленных в таблице 1.

Средства для РНКи ААТ и содержащие их композиции, описанные в настоящем описании, можно вводить пациенту для лечения ААТД (включая состояние или заболевание, вызванное недостаточностью альфа-1-антитрипсина). Состояние или заболевание, которое можно подвергать лечению, предотвращению и/или управлению течением

посредством введения средств для РНКи ААТ и содержащих их композиций, описанных в настоящем описании, включают хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточную карциному, трансаминаит, холестаза, фиброз или фульминантную печеночную недостаточность.

В рамках изобретения, термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» обозначают полимер из связанных нуклеозидов, каждый из которых может независимо являться модифицированным или немодифицированным.

В рамках изобретения, «средство для РНКи» или «средство для запуска РНКи» обозначает композицию, содержащую молекулу олигонуклеотида РНК или подобного РНК олигонуклеотида (например, химически модифицированной РНК), которая является способной к деградации или ингибированию трансляции транскриптов матричной РНК (мРНК) для мРНК-мишени, специфическим для последовательности образом. В рамках изобретения, средства для РНКи могут действовать посредством механизма РНК-интерференции (т.е., индукции РНК-интерференции посредством взаимодействия с аппаратом пути РНК-интерференции (индуцированным РНК комплексом молчания или RISC) клеток млекопитающих), или посредством альтернативного механизма (механизмов) или пути (путей). В то время как считают, что средства для РНКи, как этот термин применяют в настоящем описании, действует в первую очередь посредством механизма РНК-интерференции, описанные средства для РНКи не связаны или не ограничены посредством любого конкретного пути или механизма действия. Средства для РНКи, описанные в настоящем описании, состоят из смысловой цепи и антисмысловой цепи, и включают, но без ограничения: малые интерферирующие РНК (миРНК), двухцепочечные РНК (дцРНК), микро-РНК (мкРНК), короткошпилечные РНК (кшРНК) и субстраты для dicer. Антисмысловая цепь средств для РНКи, описанных в настоящем описании, является по меньшей мере частично комплементарной мРНК, подвергаемой нацеливанию (например, мРНК ААТ). Средства для РНКи могут включать один или более модифицированных нуклеотидов и/или одну или более не относящихся к фосфодиэфирным связей.

В рамках изобретения, термины «вызывать молчание»,

«уменьшать», «ингибировать», «осуществлять понижающую регуляцию» или «вызывать нокдаун», применительно к экспрессии данного гена, означают, что экспрессия гена, как измерено по уровню РНК, транскрибированной с гена, или уровню полипептида, белка или субъединицы белка, транслированных с мРНК, в клетке, группе клеток, ткани, органе или у пациента, в которых транскрибируется ген, уменьшена, когда клетку, группу клеток, ткань, орган или пациента подвергают обработке с использованием средств для РНКи, описанных в настоящем описании, по сравнению с второй клеткой, группой клеток, тканью, органом или пациентом, которых не подвергают или не подвергали такой обработке.

В рамках изобретения, термины «последовательность» и «нуклеотидная последовательность» обозначают последовательность или порядок нуклеиновых оснований или нуклеотидов, описанные с использованием последовательности букв с использованием стандартной номенклатуры.

В рамках изобретения, «основание», «нуклеотидное основание» или «нуклеиновое основание», представляет собой гетероциклическое пиримидиновое или пуриновое соединение, которое является стандартным составляющим всех нуклеиновых кислот и включает основания, формирующие нуклеотиды аденин (А), гуанин (G), цитозин (С), тимин (Т) и урацил (U). Нуклеиновое основание может быть дополнительно модифицировано для включения, без ограничения, универсальные основания, гидрофобные основания, смешанные основания, основания увеличенного размера и фторированные основания. В рамках изобретения, термин «нуклеотид» может включать модифицированный нуклеотид (например, такой как нуклеотидный миметик, лишенный азотистого основания остаток (Ab) или суррогатную замещающую группу).

В рамках изобретения, и если не указано иное, термин «комплементарный», при использовании для описания первой последовательности нуклеиновых оснований или нуклеотидов (например, смысловой цепи средства для РНКи или мРНК-мишени) по отношению к второй последовательности нуклеиновых оснований или нуклеотидов (например, антисмысловая цепь средства для РНКи или одноцепочечный антисмысловой олигонуклеотид), обозначает

способность олигонуклеотида или полинуклеотида, включающего первую нуклеотидную последовательность, гибридизоваться (формировать пары оснований посредством водородных связей в физиологических условиях у млекопитающих (или в сходных условиях *in vitro*)) и формировать дуплекс или двухспиральную структуру в определенных стандартных условиях с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, включающим вторую нуклеотидную последовательность. Комплементарные последовательности включают пары оснований по Уотсону-Крику или пары оснований не по Уотсону-Крику и включают природные или модифицированные нуклеотиды или нуклеотидные миметики, по меньшей мере в такой степени, что удовлетворяются вышеуказанные требования гибридизации. Идентичность или комплементарность последовательности не зависит от модификации. Например, а и Af, в рамках изобретения, являются комплементарными U (или T) и идентичными A для целей определения идентичности или комплементарности.

В рамках изобретения, «точно комплементарный» или «полностью комплементарный» означает, что все (100%) из нуклеиновых оснований или нуклеотидов в непрерывной последовательности первого полинуклеотида могут гибридизоваться с таким же количеством нуклеиновых оснований или нуклеотидов в непрерывной последовательности второго полинуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

В рамках изобретения, «частично комплементарный» означает, что в гибридизующейся паре последовательностей нуклеиновых оснований, по меньшей мере 70%, но не все, из оснований в непрерывной последовательности первого полинуклеотида могут гибридизоваться с таким же количеством оснований в непрерывной последовательности второго полинуклеотида.

В рамках изобретения, «в основном комплементарный» означает, что в гибридизующейся паре последовательностей нуклеиновых оснований, по меньшей мере 85%, но не все, из оснований в непрерывной последовательности первого полинуклеотида могут гибридизоваться с таким же количеством

оснований в непрерывной последовательности второго полинуклеотида. Термины «комплементарный», «полностью комплементарный», «частично комплементарный» и «в основном комплементарный» в настоящем описании используют применительно к совпадению нуклеинового основания или нуклеотида между смысловой цепью и антисмысловой цепью средства для РНКи, или между антисмысловой цепью средства для РНКи и последовательностью мРНК ААТ.

В рамках изобретения, термин «в основном идентичный» или «идентичность по существу», применительно к последовательности нуклеиновой кислоты, означает, что последовательность нуклеиновой кислоты содержит последовательность, имеющую по меньшей мере приблизительно 85% идентичность последовательности или более, например, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, или по меньшей мере 99% идентичность, по сравнению с эталонной последовательностью. Процент идентичности последовательностей определяют посредством сравнения двух оптимально выровненных последовательностей на протяжении окна сравнения. Процент рассчитывают посредством определения количества положений, в которых идентичное основание нуклеиновой кислоты встречается в обеих последовательностях с получением количества совпавших положений, деления количества совпавших положений на общее количество положений в окне сравнения и умножения результата на 100 с получением процента идентичности последовательностей. Изобретения, описанные в настоящем описании, включают нуклеотидные последовательности, в основном идентичные последовательностям, описанным в настоящем описании.

В рамках изобретения, термины «лечить», «лечение» и т.п., обозначают способы или стадии, принятые для обеспечения облегчения или смягчения количества, тяжести и/или частоты одного или нескольких симптомов заболевания у пациента. В рамках изобретения, «лечить» и «лечение» могут включать предотвращение, управление течением, профилактическое лечение и/или ингибирование количества, тяжести и/или частоты одного или нескольких симптомов заболевания у пациента.

В рамках изобретения, фраза «введение в клетку»,

применительно к средству для РНКи, обозначает функциональную доставку средства для РНКи в клетку. Фраза «функциональная доставка», обозначает доставку средства для РНКи в клетку способом, позволяющим средству для РНКи иметь ожидаемую биологическую активность, например, специфическое для последовательности ингибирование экспрессии гена.

Если не указано иное, использование символа , в рамках изобретения, означает, что с ним могут быть связаны любая группа или группы, соответствующие объему изобретения, описанного в настоящем описании.

В рамках изобретения, термин «изомеры» относится к соединениям, которые имеют идентичные молекулярные формулы, но которые отличаются по характеру или последовательности связывания их атомов или по расположению их атомов в пространстве. Изомеры, которые отличаются по расположению их атомов в пространстве, называют «стереоизомерами». Стереоизомеры, которые не являются зеркальными изображениями друг друга, называют «диастереоизомерами», и стереоизомеры, представляющие собой несовпадающие при наложении зеркальные изображения, называют «энантиомерами» или, иногда, оптическими изомерами. Атом углерода, связанный с четырьмя неидентичными заместителями, называют «хиральным центром».

В рамках изобретения, если структура конкретно не указана как имеющая конкретные конформации, для каждой структуры, в которой присутствуют асимметричные центры, и таким образом, приводят к образованию энантиомеров, диастереомеров или других стереоизомерных конфигураций, каждая структура, описанная в настоящем описании, предназначена для представления всех возможных изомеров, включая их оптически чистые и рацемические формы. Например, структуры, описанные в настоящем описании, предназначены для включения смесей диастереомеров, так же как отдельных стереоизомеров.

В формуле изобретения фраза «состоящий из» исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанный в пункте формулы изобретения. При использовании в пункте формулы изобретения

фраза «в основном состоящий из» ограничивает пункт формулы изобретения указанными материалами или стадиями и теми, которые не оказывают существенного влияния на основную и новую характеристику (характеристики) заявленного изобретения.

Специалисту в данной области ясно понятно, что соединения и композиции, описанные в настоящем описании, могут иметь конкретные атомы (например, атомы N, O или S) в протонированном или депротонированном состоянии, в зависимости от окружающей среды, в которую помещают соединение или композицию. Соответственно, в рамках изобретения, структуры, описанные в настоящем описании, предусматривают, что конкретные функциональные группы, например, такие как OH, SH или NH, могут являться протонированными или депротонированными. Описание в настоящем описании включает описанные соединения и композиции, вне зависимости от их состояния протонирования на основании условий окружающей среды (таких как pH), как понятно специалисту в данной области.

Если не определено иное, все технические и научные термины в рамках изобретения имеют такое же значение, которое является общепринятым для специалиста в данной области. Несмотря на то, что способы и материалы, сходные или эквивалентные описанным в настоящем описании, можно использовать в практическом осуществлении или тестировании настоящего изобретения, пригодные способы и материалы описаны ниже. Полное содержание всех публикаций, патентных заявок, патентов и других ссылок, упомянутых в настоящем описании, приведено в качестве ссылки. В случае несоответствия, настоящее описание, включая определения, имеет преимущество. Кроме того, материалы, способы и примеры являются только иллюстративными и не являются ограничивающими.

Другие объекты, признаки, аспекты и преимущества изобретения очевидны из следующего подробного описания, сопровождающих фигур и из формулы изобретения.

#### **КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ**

**ФИГ. 1А-1Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04828, показанную в форме натриевой соли.

**ФИГ. 2А-2Е** представляют химическую дуплексную структуру

AD04828, показанную в форме свободной кислоты.

**ФИГ. 3А-3Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04831, показанную в форме натриевой соли.

**ФИГ. 4А-4Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04831, показанную в форме свободной кислоты.

**ФИГ. 5А-5Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04836, показанную в форме натриевой соли.

**ФИГ. 6А-6Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04836, показанную в форме свободной кислоты.

**ФИГ. 7А-7Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04837, показанную в форме натриевой соли.

**ФИГ. 8А-8Е** представляют химическую дуплексную структуру AD04837, показанную в форме свободной кислоты.

**ФИГ. 9** представляет собой столбчатую диаграмму, показывающую средние нормализованные уровни ААТ в сыворотке яванского макака (супо) (сААТ) у яванских макаков (n=3) после однократного подкожного введения 3 мг/кг любого из AD04824, AD04825, AD04826 или AD04827, в соответствии с примером 4. Уровни ААТ в сыворотке нормализовали по средним значениям до обработки. Экспериментальная ошибка показана как стандартное отклонение.

**ФИГ. 10** представляет собой столбчатую диаграмму, показывающую средние нормализованные уровни сААТ в сыворотке у яванских макаков (n=2 или n=3) после однократного подкожного введения 3 мг/кг любого из AD04828, AD04836, AD04831 или AD04837, в соответствии с примером 5. Уровни ААТ в сыворотке нормализовали по средним значениям до обработки. Экспериментальная ошибка показана как стандартное отклонение.

**ФИГ. 11.** представляет собой столбчатую диаграмму, показывающую результаты анализа Вестерн-блоттинга растворимой фракции (мономера Z-ААТ) из печени мышей PiZ после дозирования либо солевого раствора, либо конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ, имеющего дуплексную структуру AD04837, дозированного в течение 8 недель q2w, нормализованные по фоновому контролю, в соответствии с примером 7. Измерения для индивидуальных мышей показаны сгруппированными по группам обработки, и

экспериментальная ошибка показана как стандартное отклонение.

**ФИГ. 12.** представляет собой столбчатую диаграмму, показывающую результаты анализа Вестерн-блоттинга нерастворимой фракции (Z-ААТ полимера) из печени мышей PiZ после дозирования либо солевого раствора, либо конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ, имеющего дуплексную структуру AD04837, в соответствии с примером 7. Измерения для индивидуальных мышей показаны сгруппированными по группам обработки, и экспериментальная ошибка показана как стандартное отклонение.

#### **ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ**

##### **Средства для РНКи**

Настоящее изобретение относится к средствам для РНКи для ингибирования экспрессии гена ААТ (обозначенным в настоящем описании как средства для РНКи ААТ или средства для запуска РНКи ААТ). Каждое средство для РНКи ААТ содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей может составлять 16-30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей может составлять 17-26 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи либо могут иметь одинаковую длину, либо они могут иметь различную длину. В некоторых вариантах осуществления, длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей может независимо составлять 17-21 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей составляет 21-26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, длина каждой из смысловой и антисмысловой цепей составляет 21-24 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет длину приблизительно 19 нуклеотидов, в то время как антисмысловая цепь имеет длину приблизительно 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет длину приблизительно 21 нуклеотид, в то время как антисмысловая цепь имеет длину приблизительно 23 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет длину 23 нуклеотида, и антисмысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой

цепей имеет длину 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет длину 22 нуклеотида, и антисмысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь имеет длину 19 нуклеотидов, и антисмысловая цепь имеет длину 21 нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления, каждая из смысловой и антисмысловой цепей средства для РНКи независимо имеют длину 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, двухцепочечное средство для РНКи имеет длину дуплекса приблизительно 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, область точной или значительной комплементарности между смысловой цепью и антисмысловой цепью имеет длину 16-26 (например, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26) нуклеотидов и возникает на 5'-конце или около 5'-конца антисмысловой цепи (например, эта область может быть отделена от 5'-конца антисмысловой цепи 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотидами, не являющимися точно или значительно комплементарными).

Каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи содержит последовательность корового фрагмента, имеющего длину 16-23 нуклеиновых оснований. Последовательность корового фрагмента антисмысловой цепи является на 100% (точно) комплементарной или по меньшей мере приблизительно на 85% (значительно) комплементарной нуклеотидной последовательности (иногда обозначаемой, например, как последовательность-мишень), присутствующей в мРНК-мишени ААТ. Последовательность корового фрагмента смысловой цепи является на 100% (точно) комплементарной или по меньшей мере приблизительно на 85% (значительно) комплементарной последовательности корового фрагмента в антисмысловой цепи, и таким образом, последовательность корового фрагмента смысловой цепи является точно идентичной или по меньшей мере приблизительно на 85% идентичной нуклеотидной последовательности (последовательности-мишени), присутствующей в мРНК-мишени ААТ. Последовательность

корового фрагмента смысловой цепи может иметь такую же длину, что и соответствующая коровая последовательность антисмысловой цепи, или они могут быть различной длины. В некоторых вариантах осуществления, последовательность корового фрагмента антисмысловой цепи имеет длину 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, последовательность корового фрагмента смысловой цепи имеет длину 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов.

Примеры нуклеотидных последовательностей, используемых для получения средств для РНКи ААТ, представлены в таблицах 2, 3, 4 и 5. Примеры дуплексов средства для РНКи ААТ, включающих последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи в таблицах 2, 3, 4 и 5, показаны в таблице 6.

Смысловая и антисмысловая цепи средства для РНКи ААТ гибридизуются с формированием дуплекса. Смысловая цепь и антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ могут быть частично, в основном или полностью комплементарными друг другу. Внутри комплементарной области дуплекса, последовательность корового фрагмента смысловой цепи является по меньшей мере на 85% комплементарной или на 100% комплементарной антисмысловой последовательности корового фрагмента. В некоторых вариантах осуществления, последовательность корового фрагмента смысловой цепи содержит последовательность из по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, или по меньшей мере 23 нуклеотидов, являющихся по меньшей мере на 85% или 100% комплементарными соответствующей 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23-нуклеотидной последовательности из последовательности корового фрагмента антисмысловой цепи (т.е., последовательности корового фрагмента смысловой и антисмысловой цепи средства для РНКи ААТ имеют область из по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22 или по меньшей мере 23 нуклеотидов, в которой спарены по меньшей мере 85% оснований или спарены 100% оснований.)

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь

средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

Смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может необязательно и независимо содержать дополнительные 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов (удлинение) на 3'-конце, 5'-конце, или как на 3'-, так и 5'-концах последовательностей корового фрагмента. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если присутствуют, могут являться или могут не являться комплементарными соответствующей последовательности в мРНК ААТ. Дополнительные нуклеотиды смысловой цепи, если присутствуют, могут являться или могут не являться идентичными соответствующей последовательности в мРНК ААТ. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если присутствуют, могут являться или могут не являться комплементарными соответствующим дополнительным нуклеотидам смысловой цепи, если они присутствуют.

В рамках изобретения, удлинение содержит 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов на 5'- и/или 3'-конце последовательности корового фрагмента смысловой цепи и/или последовательности корового фрагмента антисмысловой цепи. Нуклеотиды удлинения на смысловой цепи могут являться или могут не являться комплементарными нуклеотидам, либо нуклеотидам последовательности корового фрагмента, либо нуклеотидам удлинения, в соответствующей антисмысловой цепи. И наоборот, нуклеотиды удлинения на антисмысловой цепи могут являться или могут не являться комплементарными нуклеотидам, либо нуклеотидам корового фрагмента, либо нуклеотидам удлинения, в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь средства для РНКи содержат 3'- и 5'-удлинения. В некоторых вариантах осуществления, один или более из нуклеотидов 3'-удлинения одной

цепи образуют пары оснований с одним или более нуклеотидами 5'-удлинения другой цепи. В других вариантах осуществления, один или более из нуклеотидов 3'-удлинения одной цепи не образуют пары оснований с одним или более нуклеотидами 5'-удлинения другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ имеет антисмысловую цепь, имеющую 3'-удлинение, и смысловую цепь, имеющую 5' удлинение.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь, имеющую 3'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В других вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь, имеющую 3'-удлинение длиной 1, 2 или 3 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, один или более из нуклеотидов удлинения антисмысловой цепи содержат урациловые или тимидиновые нуклеотиды, или нуклеотиды, комплементарные соответствующей последовательности мРНК ААТ. В некоторых вариантах осуществления, 3'-удлинение антисмысловой цепи включает или состоит из одной из следующих последовательностей, но без ограничения: AUA, UGCUU, CUG, UG, UGCC, CUGCC, CGU, CUU, UGCCUA, CUGCCU, UGCCU, UGAUU, GCCUAU, T, TT, U, UU (каждая перечислена 5' → 3').

В некоторых вариантах осуществления, 3'-конец антисмысловой цепи может включать дополнительные лишённые азотистого основания остатки (Ab). «Лишённый азотистого основания остаток» или «лишённый азотистого основания участок» представляет собой нуклеотид или нуклеозид, лишённый нуклеинового основания в 1'-положении сахара. В некоторых вариантах осуществления, Ab или AbAb можно добавлять к 3'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, лишённый азотистого основания остаток (остатки) можно добавлять в форме инвертированных лишённых азотистого основания остатков (инв.Ab) (см. таблицу 7). (см., например, F. Czauderna, *Nucleic Acids Res.*, 2003, 31(11), 2705-16).

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит смысловую цепь, имеющую 3'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4 или 5 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, один или

более нуклеотидов удлинения смысловой цепи содержат аденозиновые, урациловые или тимидиновые нуклеотиды, динуклеотид АТ или нуклеотиды, соответствующие нуклеотидам в последовательности мРНК ААТ. В некоторых вариантах осуществления, 3'-удлинение смысловой цепи включает или состоит из одной из следующих последовательностей, но без ограничения: Т, УТ, ТТ, УУ, УУТ, ТТТ, или ТТТТ (каждая перечислена от 5' до 3').

В некоторых вариантах осуществления, 3'-конец смысловой цепи может включать дополнительные лишённые азотистого основания остатки. В некоторых вариантах осуществления, UUAб, UAб или Ab добавляют к 3'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, один или более лишённых азотистого основания остатков, добавленных к 3'-концу смысловой цепи, являются инвертированными (инв.Ab). В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных лишённых азотистого основания остатков или лишённых азотистого основания участков можно вставлять между нацеливающим лигандом и последовательностью нуклеиновых оснований смысловой цепи средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, включение одного или нескольких инвертированных лишённых азотистого основания остатков или лишённых азотистого основания участков на конце или около конца или концов смысловой цепи средства для РНКи обеспечивает улучшенную активность или другие желательные свойства средства для РНКи.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит смысловую цепь, имеющую 5'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов удлинения смысловой цепи содержат урациловые или аденозиновые нуклеотиды, или нуклеотиды, соответствующие нуклеотидам в последовательности мРНК ААТ. В некоторых вариантах осуществления, 5'-удлинение смысловой цепи представляет собой одну из следующих последовательностей, но без ограничения: СА, AUAGGC, AUAGG, AUAG, AUA, А, AA, AC, GCA, GGCA, GGC, UAUCA, UAUC, UCA, UAU, U, UU (каждая перечислена от 5' до 3'). Смысловая цепь может иметь 3'-удлинение и/или 5'-удлинение.

В некоторых вариантах осуществления, 5'-конец смысловой цепи может включать один или более дополнительных лишенных азотистого основания остатков (например, (Ab) или (AbAb)). В некоторых вариантах осуществления, один или более лишенных азотистого основания остатков, добавленных к 5'-концу смысловой цепи, могут являться инвертированными (например, инв.Ab). В некоторых вариантах осуществления, один или более инвертированных лишенных азотистого основания остатков можно вставлять между нацеливающим лигандом и последовательностью нуклеиновых оснований смысловой цепи средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, включение одного или нескольких инвертированных лишенных азотистого основания остатков на конце или около конца или концов смысловой цепи средства для РНКи может обеспечивать улучшенную активность или другие желательные свойства средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, лишенный азотистого основания остаток (дезоксирибозы) можно заменять на остаток рибита (лишенной азотистого основания рибозы).

В некоторых вариантах осуществления, 3'-конец последовательности корового фрагмента антисмысловой цепи, или 3'-конец последовательности антисмысловой цепи, может включать инвертированный лишенный азотистого основания остаток (инв.Ab (см. таблицу 7)).

Примеры последовательностей, используемых для получения средств для РНКи ААТ, представлены в таблицах 2, 3, 4 и 5. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ включает последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 4. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ включает последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24 или 2-24, из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В конкретных вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 4. В некоторых

вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ включает последовательность из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 5. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ включает последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 1-22, 1-23, 1-24, 2-19, 2-20, 2-21, 2-22, 2-23, 2-24, 3-20, 3-21, 3-22, 3-23, 3-24, 4-21, 4-22, 4-23, 4-24, 5-22, 5-23, 5-24, 6-23, 6-24, 7-24, из любой из последовательностей в таблицах 2, 3 или 5. В конкретных вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи средств для РНКи, описанных в настоящем описании, содержат одинаковое количество нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, смысловая и антисмысловая цепи средств для РНКи, описанных в настоящем описании, содержат различное количество нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой цепи средства для РНКи формируют тупой конец. В некоторых вариантах осуществления, 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи средства для РНКи формируют тупой конец. В некоторых вариантах осуществления, оба конца средства для РНКи формируют тупые концы. В некоторых вариантах осуществления, ни один конец средства для РНКи не является тупым. В рамках изобретения, тупой конец обозначает конец двухцепочечного средства для РНКи, в котором концевые нуклеотиды двух гибридизующихся цепей являются комплементарными (формируют пару комплементарных оснований).

В некоторых вариантах осуществления, 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой цепи средства для РНКи формируют расплетенный конец. В некоторых вариантах осуществления, 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи средства для РНКи формируют расплетенный конец. В некоторых вариантах осуществления, оба конца средства для РНКи формируют расплетенный конец. В некоторых вариантах осуществления, ни один

конец средства для РНКи не представляет собой расплетенный конец. В рамках изобретения, расплетенный конец обозначает конец двухцепочечного средства для РНКи, в котором концевые нуклеотиды двух гибридизирующихся цепей формируют пару (т.е., не формируют выступающий конец), но не являются комплементарными (т.е. формируют некомплементарную пару). В рамках изобретения, выступающий конец представляет собой отрезок из одного или нескольких неспаренных нуклеотидов на конце одной цепи двухцепочечного средства для РНКи. Неспаренные нуклеотиды могут находиться на смысловой цепи или антисмысловой цепи, образуя либо 3'-, либо 5'-выступающие концы. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи содержит: тупой конец и расплетенный конец, тупой конец и 5'-выступающий конец, тупой конец и 3'-выступающий конец, расплетенный конец и 5'-выступающий конец, расплетенный конец и 3'-выступающий конец, два 5'-выступающих конца, два 3'-выступающих конца, 5'-выступающий конец и 3'-выступающий конец, два расплетенных конца или два тупых конца.

Модифицированные нуклеотиды, при использовании в различных полинуклеотидных или олигонуклеотидных конструкциях, могут сохранять активность соединения в клетках, в то же время увеличивая стабильность этих соединений в сыворотке, и могут также минимизировать возможность активации активности интерферона у человека при введении полинуклеотидной или олигонуклеотидной конструкции.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ получают или предоставляют в форме соли, смешанной соли или свободной кислоты. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ получают в форме натриевой соли. Такие формы входят в объем изобретения, описанного в настоящем описании.

#### **Модифицированные нуклеотиды**

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит один или более модифицированных нуклеотидов. В рамках изобретения, «модифицированный нуклеотид» представляет собой нуклеотид, отличный от рибонуклеотида (2'-гидроксил-нуклеотида). В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере 50%

(например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды. В рамках изобретения, модифицированные нуклеотиды включают, но без ограничения, дезоксирибонуклеотиды, нуклеотидные миметики, лишенные азотистого основания нуклеотиды (представленные в настоящем описании как Ab), 2'-модифицированные нуклеотиды, имеющие 3'-3'-связи (инвертированные) нуклеотиды (представленные в настоящем описании как инв.dN, инв.N, инв.n), содержащие модифицированное нуклеиновое основание нуклеотиды, соединенные мостиком нуклеотиды, пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК), 2',3'-секонуклеотидные миметики (незапертые аналоги нуклеиновых оснований, представленные в настоящем описании как N<sub>ННК</sub> или NННК), запертые нуклеотиды (представленные в настоящем описании как N<sub>ЗНК</sub> или NЗНК), 3'-O-метокси- (имеющие 2'-межнуклеозидные связи) нуклеотиды (представленные в настоящем описании как 3'-OMe), 2'-F-арабинонуклеотиды (представленные в настоящем описании как NfАНК или Nf<sub>АНК</sub>), 5'-Me, 2'-фторнуклеотиды (представленные в настоящем описании как 5Me-Nf), морфолинонуклеотиды, винилфосфонатдезоксирибонуклеотиды (представленные в настоящем описании как vpdN), содержащие винилфосфонат нуклеотиды и содержащие циклопропилфосфонат нуклеотиды (cPrpN). 2'-модифицированные нуклеотиды (т.е., нуклеотид с группой, отличной от гидроксильной группы, в 2'-положении пятичленного сахарного кольца) включают, но без ограничения, 2'-O-метилнуклеотиды (представленные в настоящем описании как строчная буква «n» в нуклеотидной последовательности), 2'-дезоксид-2'-фторнуклеотиды (представленные в настоящем описании как Nf, также представленные в настоящем описании как 2'-фторнуклеотид), 2'-дезоксинуклеотиды (представленные в настоящем описании как dN), 2'-метоксиэтил- (2'-O-2-метоксиэтил) нуклеотиды (представленные в настоящем описании как NM или 2'-MOE), 2'-аминонуклеотиды и 2'-алкилнуклеотиды. Не является необходимым, чтобы все положения в данном соединении являлись единообразно модифицированными. Наоборот, более одной модификации можно включать в одно средство

для РНКи ААТ или даже в один его нуклеотид. Смысловые цепи и антисмысловые цепи средства для РНКи ААТ можно синтезировать и/или модифицировать способами, известными в данной области. Модификация одного нуклеотида является независимой от модификации другого нуклеотида.

Модифицированные нуклеиновые основания включают синтетические и природные нуклеиновые основания, такие как 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2-, N-6- и O-6-замещенные пурины, (например, 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил или 5-пропинилцитозин), 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, инозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-алкил- (например, 6-метил, 6-этил, 6-изопропил или 6-n-бутил) производные аденина и гуанина, 2-алкил- (например, 2-метил, 2-этил, 2-изопропил, или 2-n-бутил) и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин, 2-тиоцитозин, 5-галоурацил, цитозин, 5-пропинилурацил, 5-пропинилцитозин, 6-азоурацил, 6-азоцитозин, 6-азотимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-гало-, 8-амино-, 8-сульфгидрил-, 8-тиоалкил-, 8-гидроксил- и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-гало- (например, 5-бром-), 5-трифторметил- и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-деазагуанин, 7-деазааденин, 3-деазагуанин и 3-деазааденин.

В некоторых вариантах осуществления, все или в основном все из нуклеотидов средства для РНКи представляют собой модифицированные нуклеотиды. В рамках изобретения, средство для РНКи, где в основном все из присутствующих нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, представляет собой средство для РНКи, имеющее четыре или менее (т.е., 0, 1, 2, 3 или 4) нуклеотидов как в смысловой цепи, так и в антисмысловой цепи, являющихся рибонуклеотидами (т.е., немодифицированными). В рамках изобретения, смысловая цепь, где в основном все из присутствующих нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, представляет собой смысловую цепь, имеющую два или менее (т.е., 0, 1 или 2) нуклеотидов в смысловой цепи, являющихся рибонуклеотидами. В рамках изобретения,

антисмысловая цепь, где в основном все из присутствующих нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, представляет собой антисмысловую цепь, имеющую два или менее (т.е., 0, 1 или 2) нуклеотидов в антисмысловой цепи, являющихся рибонуклеотидами. В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов средства для РНКи представляют собой рибонуклеотид.

#### **Модифицированные межнуклеозидные связи**

В некоторых вариантах осуществления, один или более нуклеотидов средства для РНКи ААТ связаны посредством нестандартных связей или остовов (т.е., модифицированных межнуклеозидных связей или модифицированных остовов). Модифицированные межнуклеозидные связи или остовы включают, но без ограничения, 5'-фосфоротиоатные группы (представленные в настоящем описании как строчные «s»), хиральные фосфоротиоаты, тиофосфаты, фосфородитиоаты, фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, алкилфосфонаты (например, метилфосфонаты или 3'-алкиленфосфонаты), хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты (например, 3'-аминофосфорамидат, аминоалкилфосфорамидаты или тионофосфорамидаты), тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры, морфолиновые связи, боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, 2'-5'-связанные аналоги боранофосфатов или боранофосфаты, имеющие инвертированную полярность, где соседние пары нуклеозидных звеньев связаны 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. В некоторых вариантах осуществления, модифицированные межнуклеозидная связь или остов лишены атома фосфора. Модифицированные межнуклеозидные связи, лишенные атома фосфора, включают, но без ограничения, короткоцепочечные алкильные или циклоалкильные межсахарные связи, смешанные гетероатомные и алкильные или циклоалкильные межсахарные связи, или одну или более короткоцепочечных гетероатомных или гетероциклических межсахарных связей. В некоторых вариантах осуществления, модифицированные межнуклеозидные остовы включают, но без ограничения, силоксановые остовы, сульфидные остовы, сульфоксидные остовы,

сульфоновые остовы, формацетильные и тиоформацетильные остовы, метилен-формацетильные и -тиоформацетильные остовы, содержащие алкен остовы, сульфаматные остовы, метилениминовые и метиленгидразиновые остовы, сульфонатные и сульфонамидные остовы, амидные остовы и другие остовы, имеющие смешанные компоненты N, O, S и CH<sub>2</sub>.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей, или как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатных связей, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатных связей, или как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3, или 4 фосфоротиоатных связей.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи находятся между нуклеотидами в положениях 1-3 от 3'-конца смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи находятся между нуклеотидами в положениях 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 4-5, или 6-8 от 5'-конца смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах осуществления, четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи находятся между нуклеотидами в положениях 1-3 от 5'-конца антисмысловой цепи и между нуклеотидами в положениях 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25 или 24-26 от 5'-конца. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит по меньшей мере две

фосфоротиоатные межнуклеозидные связи в смысловой цепи и три или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи в антисмысловой цепи.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит один или более модифицированных нуклеотидов и одну или более модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах осуществления, 2'-модифицированный нуклеозид комбинируют с модифицированной межнуклеозидной связью.

#### **Средства для РНКи ААТ**

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, нацелены на ген ААТ в положениях или около положений ААТ в геноме, показанных в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, включает последовательность корового фрагмента, которая является полностью, в основном или по меньшей мере частично комплементарной 19-членной последовательности-мишени ААТ, описанной в таблице 1.

**Таблица 1.** 19-мерные последовательности-мишени мРНК ААТ (полученные из кДНК ААТ человека, GenBank NM\_000295.4 (SEQ ID NO:1))

<b>SEQ ID NO:</b>	<b>19-мерные последовательности-мишени ААТ (5' → 3')</b>	<b>Соответствующее положение в геноме (полученное из SEQ ID NO: 1)</b>
2	CGUUUAGGCAUGUUUACA	1000-1018
3	AACAGCACCAUAUCUUCU	469-487
4	AUAUCAUCACCAAGUCCU	1142-1160
5	AGAUGCUGCCCAGAAAGACA	348-366
6	CUGGCACACCAGUCCAACA	454-472
7	UGGCACACCAGUCCAACAG	455-473
8	GCACACCAGUCCAACAGCA	457-475
9	CAGUCCAACAGCACCAUA	463-481
10	AGUCCAACAGCACCAUAU	464-482
11	GUCCAACAGCACCAUAUC	465-483
12	CCAACAGCACCAUAUCUU	467-485
13	CCCCAGUGAGCAUCGCUAC	491-509
14	GAGCAUCGCUACAGCCUUU	498-516
15	GCAUCGCUACAGCCUUUGC	500-518
16	CAUCGCUACAGCCUUUGCA	501-519
17	UCGCUACAGCCUUUGCAAU	503-521
18	CUACAGCCUUUGCAAUGCU	506-524
19	ACAGCCUUUGCAAUGCUCU	508-526

SEQ ID NO:	19-мерные последовательности-мишени ААТ (5' → 3')	Соответствующее положение в геноме (полученное из SEQ ID NO: 1)
20	GAAGGCUUCCAGGAACUCC	613-631
21	UAGUGGAUAAGUUUUUGGA	710-728
22	UGUACCACUCAGAAGCCUU	743-761
23	GUACCACUCAGAAGCCUUC	744-762
24	ACACCGAAGAGGCCAAGAA	779-797
25	ACCGAAGAGGCCAAGAAAC	781-799
26	AGGCCAAGAAAACAGAUCAA	788-806
27	GGCCAAGAAACAGAUCAAC	789-807
28	GCCAAGAAAACAGAUCAACG	790-808
29	UACUCAAGGGAAAAUUGUG	825-843
30	CUCAAGGGAAAAUUGUGGA	827-845
31	UCAAGGGAAAAUUGGGAU	828-846
32	UUGGUCAAGGAGCUUGACA	847-865
33	AGGAGCUUGACAGAGACAC	854-872
34	AGCUUGACAGAGACACAGU	857-875
35	UUUGCUCUGGUGAAUUACA	877-895
36	AGCGUUUAGGCAUGUUUAA	998-1016
37	GCGUUUAGGCAUGUUUAAAC	999-1017
38	UUAGGCAUGUUUAAACAUC	1003-1021
39	UGGGUGCUGCUGAUGAAAU	1045-1063
40	UGCCACCGCCAUCUUCUUC	1074-1092
41	CCUGGAAAAUGAACUCACC	1119-1137
42	CGAUUAUCAUCACCAAGUUC	1140-1158
43	ACCAAGUUCUGGAAAAUG	1150-1168
44	UCCAUUACUGGAACCUAUG	1207-1225
45	CCAUUACUGGAACCUAUGA	1208-1226
46	ACUGGAACCUAUGAUCUGA	1213-1231
47	GGAACCUAUGAUCUGAAGA	1216-1234
48	GAACCUAUGAUCUGAAGAG	1217-1235
49	CAGCAAUGGGGCGUACCUC	1269-1287
50	GCAAUGGGGCGUACCUCUC	1271-1289
51	AGAGGAGGCACCCUGAAG	1299-1317
52	AGGCACCCUGAAGCUCUC	1304-1322
53	UCUCCAAGGCCGUGCAUAA	1319-1337
54	UCCAAGGCCGUGCAUAAGG	1321-1339
55	CCAAGGCCGUGCAUAAGGC	1322-1340
56	CAAGGCCGUGCAUAAGGCU	1323-1341
57	AAGGCUGUGCUGACCAUCG	1336-1354
58	GGCUGUGCUGACCAUCGAC	1338-1356
59	CUGCUGGGGCCAUGUUUUU	1373-1391
60	GCUGGGGCCAUGUUUUUAG	1375-1393
61	CUGGGGCCAUGUUUUUAGA	1376-1394
62	GGGGCCAUGUUUUUAGAGG	1378-1396
63	GGGCAUGUUUUUAGAGGC	1379-1397
64	GAGGCCAUACCCAUGUCUA	1393-1411
65	GGCCAUAACCCAUGUCUAUC	1395-1413

SEQ ID NO:	19-мерные последовательности-мишени ААТ (5' → 3')	Соответствующее положение в геноме (полученное из SEQ ID NO: 1)
66	CCCGAGGUCAAGUUCAACA	1417-1435
67	AGGUCAAGUUCAACAAACC	1421-1439
68	CAAGUUCAACAAACCCUUU	1425-1443
69	AGUUCAACAAACCCUUUGU	1427-1445
70	GUUCAACAAACCCUUUGUC	1428-1446
71	UCAACAAACCCUUUGUCUU	1430-1448
72	ACCCUUUGUCUUCUUA AUG	1437-1455
73	CCUUUGUCUUCUUA AUGAU	1439-1457
74	UACCAAGUCUCCCCUCUUC	1467-1485
75	AAGUCUCCCCUCUUCAUGG	1471-1489
76	AGUCUCCCCUCUUCAUGGG	1472-1490
77	UCUCCCCUCUUCAUGGGAA	1474-1492
78	CUCCCCUCUUCAUGGGAAA	1475-1493
79	AUGACA UUAAGAAGGGUU	1569-1587

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает антисмысловую цепь, где положение 19 антисмысловой цепи (5' → 3') является способным формировать пару оснований с положением 1 из 19-мерной последовательности-мишени, описанной в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает антисмысловую цепь, где положение 1 антисмысловой цепи (5' → 3') является способным формировать пару оснований с положением 19 из 19-мерной последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает антисмысловую цепь, где положение 2 антисмысловой цепи (5' → 3') является способным формировать пару оснований с положением 18 из 19-мерной последовательности-мишени, описанной в таблице 1. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает антисмысловую цепь, где положения 2-18 антисмысловой цепи (5' → 3') являются способными формировать пары оснований с каждым из соответствующих комплементарных оснований, локализованных в положениях 18-2 из 19-мерной последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

Для средств для РНКи, описанных в настоящем описании, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) может являться точно комплементарным гену ААТ, или может не являться комплементарным гену ААТ. В некоторых вариантах

осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) представляет собой U, A или dT. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) формирует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19 из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17, 1-18 или 2-18 из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ состоит из (i) антисмысловой цепи, содержащей последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19 из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4, и (ii) смысловой цепи, содержащей последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18 из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ включают коровые 19-членные нуклеотидные последовательности, показанные в следующей таблице 2.

**Таблица 2.** Пример последовательностей оснований корового фрагмента антисмысловой цепи и смысловой цепи средства для РНКи ААТ (N=любое нуклеиновое основание)

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
80	UGUUAAACAUGCCUAAACG	429	CGUUUAGGCAUGUUUAAACA	1000-1018
81	AGUUAAACAUGCCUAAACG	430	CGUUUAGGCAUGUUUAAACU	1000-1018
82	NGUUAAACAUGCCUAAACG	431	CGUUUAGGCAUGUUUAAACN	1000-1018
83	NGUUAAACAUGCCUAAACN	432	NGUUUAGGCAUGUUUAAACN	1000-1018
84	AGAAGAUAUUGGUGCUGUU	433	AACAGCACCAAUAUCUUCU	469-487
85	UGAAGAUAUUGGUGCUGUU	434	AACAGCACCAAUAUCUUCA	469-487
86	NGAAGAUAUUGGUGCUGUU	435	AACAGCACCAAUAUCUUCN	469-487
87	NGAAGAUAUUGGUGCUGUN	436	NACAGCACCAAUAUCUUCN	469-487
88	AGGAACUUGGUGAUGAUAU	437	AUAUCAUCACCAAGUUCU	1142-1160
89	UGGAACUUGGUGAUGAUAU	438	AUAUCAUCACCAAGUUCU	1142-1160
90	NGGAACUUGGUGAUGAUAU	439	AUAUCAUCACCAAGUUCN	1142-1160
91	NGGAACUUGGUGAUGAUAN	440	NUAUCAUCACCAAGUUCN	1142-1160
92	UGUCUUCUGGGCAGCAUCU	441	AGAUGCUGCCCAGAAGACA	348-366
93	AGUCUUCUGGGCAGCAUCU	442	AGAUGCUGCCCAGAAGACU	348-366
94	NGUCUUCUGGGCAGCAUCU	443	AGAUGCUGCCCAGAAGACN	348-366
95	NGUCUUCUGGGCAGCAUCN	444	NGAUGCUGCCCAGAAGACN	348-366
96	UGUUGGACUGGUGUGCCAG	445	CUGGCACACCAGUCCAACA	454-472
97	AGUUGGACUGGUGUGCCAG	446	CUGGCACACCAGUCCAACU	454-472
98	NGUUGGACUGGUGUGCCAG	447	CUGGCACACCAGUCCAACN	454-472
99	NGUUGGACUGGUGUGCCAN	448	NUGGCACACCAGUCCAACN	454-472
100	CUGUUGGACUGGUGUGCCA	449	UGGCACACCAGUCCAACAG	455-473
101	UUGUUGGACUGGUGUGCCA	450	UGGCACACCAGUCCAACAA	455-473
102	AUGUUGGACUGGUGUGCCA	451	UGGCACACCAGUCCAACAU	455-473
103	NUGUUGGACUGGUGUGCCA	452	UGGCACACCAGUCCAACAN	455-473
104	NUGUUGGACUGGUGUGCCN	453	NGGCACACCAGUCCAACAN	455-473
105	UGCUGUUGGACUGGUGUGC	454	GCACACCAGUCCAACAGCA	457-475
106	AGCUGUUGGACUGGUGUGC	455	GCACACCAGUCCAACAGCU	457-475

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
107	NGCUGUUGGACUGGUGUGC	456	GCACACCAGUCCAACAGCN	457-475
108	NGCUGUUGGACUGGUGUGN	457	NCACACCAGUCCAACAGCN	457-475
109	UAUUGGUGCUGUUGGACUG	458	CAGUCCAACAGCACCAAUA	463-481
110	AAUUGGUGCUGUUGGACUG	459	CAGUCCAACAGCACCAAUU	463-481
111	NAUUGGUGCUGUUGGACUG	460	CAGUCCAACAGCACCAAUN	463-481
112	NAUUGGUGCUGUUGGACUN	461	NAGUCCAACAGCACCAAUN	463-481
113	AUAUUGGUGCUGUUGGACU	462	AGUCCAACAGCACCAAUAU	464-482
114	UUAUUGGUGCUGUUGGACU	463	AGUCCAACAGCACCAAUAA	464-482
115	NUAUUGGUGCUGUUGGACU	464	AGUCCAACAGCACCAAUAN	464-482
116	NUAUUGGUGCUGUUGGACN	465	NGUCCAACAGCACCAAUAN	464-482
117	GAUAUUGGUGCUGUUGGAC	466	GUCCAACAGCACCAAUAUC	465-483
118	UAUAUUGGUGCUGUUGGAC	467	GUCCAACAGCACCAAUAUA	465-483
119	AAUAUUGGUGCUGUUGGAC	468	GUCCAACAGCACCAAUAUU	465-483
120	NAUAUUGGUGCUGUUGGAC	469	GUCCAACAGCACCAAUAUN	465-483
121	NAUAUUGGUGCUGUUGGAN	470	NUCCAACAGCACCAAUAUN	465-483
122	AAGAUUUGGUGCUGUUGG	471	CCAACAGCACCAAUAUCUU	467-485
123	UAGAUUUGGUGCUGUUGG	472	CCAACAGCACCAAUAUCUA	467-485
124	NAGAUUUGGUGCUGUUGG	473	CCAACAGCACCAAUAUCUN	467-485
125	NAGAUUUGGUGCUGUUGN	474	NCAACAGCACCAAUAUCUN	467-485
126	GUAGCGAUGCUCACUGGGG	475	CCCCAGUGAGCAUCGCUAC	491-509
127	UUAGCGAUGCUCACUGGGG	476	CCCCAGUGAGCAUCGCUAA	491-509
128	AUAGCGAUGCUCACUGGGG	477	CCCCAGUGAGCAUCGCUAU	491-509
129	NUAGCGAUGCUCACUGGGG	478	CCCCAGUGAGCAUCGCUAN	491-509
130	NUAGCGAUGCUCACUGGGN	479	NCCCAGUGAGCAUCGCUAN	491-509
131	AAAGGCUGUAGCGAUGCUC	480	GAGCAUCGCUACAGCCUUU	498-516
132	UAAGGCUGUAGCGAUGCUC	481	GAGCAUCGCUACAGCCUUA	498-516
133	NAAGGCUGUAGCGAUGCUC	482	GAGCAUCGCUACAGCCUUN	498-516
134	NAAGGCUGUAGCGAUGCUN	483	NAGCAUCGCUACAGCCUUN	498-516
135	GCAAAGGCUGUAGCGAUGC	484	GCAUCGCUACAGCCUUUGC	500-518

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
136	UCAAAGGCUGUAGCGAUGC	485	GCAUCGCUACAGCCUUUGA	500-518
137	ACAAAGGCUGUAGCGAUGC	486	GCAUCGCUACAGCCUUUGU	500-518
138	NCAAAGGCUGUAGCGAUGC	487	GCAUCGCUACAGCCUUUGN	500-518
139	NCAAAGGCUGUAGCGAUGN	488	NCAUCGCUACAGCCUUUGN	500-518
140	UGCAAAGGCUGUAGCGAUG	489	CAUCGCUACAGCCUUUGCA	501-519
141	AGCAAAGGCUGUAGCGAUG	490	CAUCGCUACAGCCUUUGCU	501-519
142	NGCAAAGGCUGUAGCGAUG	491	NAUCGCUACAGCCUUUGCN	501-519
143	NGCAAAGGCUGUAGCGAUN	492	NAUCGCUACAGCCUUUGCN	501-519
144	AUUGCAAAGGCUGUAGCGA	493	UCGCUACAGCCUUUGCAAU	503-521
145	UUUGCAAAGGCUGUAGCGA	494	UCGCUACAGCCUUUGCAAA	503-521
146	NUUGCAAAGGCUGUAGCGA	495	UCGCUACAGCCUUUGCAAN	503-521
147	NUUGCAAAGGCUGUAGCGN	496	NCGCUACAGCCUUUGCAAN	503-521
148	AGCAUUGCAAAGGCUGUAG	497	CUACAGCCUUUGCAAUGCU	506-524
149	UGCAUUGCAAAGGCUGUAG	498	CUACAGCCUUUGCAAUGCA	506-524
150	NGCAUUGCAAAGGCUGUAG	499	CUACAGCCUUUGCAAUGCN	506-524
151	NGCAUUGCAAAGGCUGUAN	500	NUACAGCCUUUGCAAUGCN	506-524
152	AGAGCAUUGCAAAGGCUGU	501	ACAGCCUUUGCAAUGCUCU	508-526
153	UGAGCAUUGCAAAGGCUGU	502	ACAGCCUUUGCAAUGCUCA	508-526
154	NGAGCAUUGCAAAGGCUGU	503	ACAGCCUUUGCAAUGCUCN	508-526
155	NGAGCAUUGCAAAGGCUGU	504	NCAGCCUUUGCAAUGCUCN	508-526
156	GGAGUUCCUGGAAGCCUUC	505	GAAGGCUUCCAGGAACUCC	613-631
157	UGAGUUCCUGGAAGCCUUC	506	GAAGGCUUCCAGGAACUCA	613-631
158	AGAGUUCCUGGAAGCCUUC	507	GAAGGCUUCCAGGAACUCU	613-631
159	NGAGUUCCUGGAAGCCUUC	508	GAAGGCUUCCAGGAACUCN	613-631
160	NGAGUUCCUGGAAGCCUUN	509	NAAGGCUUCCAGGAACUCN	613-631
161	UCCAAAAACUUAUCCACUA	510	UAGUGGAUAAGUUUUUGGA	710-728
162	ACCAAAAAACUUAUCCACUA	511	UAGUGGAUAAGUUUUUGGU	710-728
163	NCCAAAAACUUAUCCACUA	512	UAGUGGAUAAGUUUUUGGN	710-728
164	NCCAAAAACUUAUCCACUN	513	NAGUGGAUAAGUUUUUGGN	710-728

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
165	AAGGCUUCUGAGUGGUACA	514	UGUACCACUCAGAAGCCUU	743-761
166	UAGGCUUCUGAGUGGUACA	515	UGUACCACUCAGAAGCCUA	743-761
167	NAGGCUUCUGAGUGGUACA	516	UGUACCACUCAGAAGCCUN	743-761
168	NAGGCUUCUGAGUGGUACN	517	NGUACCACUCAGAAGCCUN	743-761
169	GAAGGCUUCUGAGUGGUAC	518	GUACCACUCAGAAGCCUUC	744-762
170	UAAGGCUUCUGAGUGGUAC	519	GUACCACUCAGAAGCCUUA	744-762
171	AAAGGCUUCUGAGUGGUAC	520	GUACCACUCAGAAGCCUUU	744-762
172	NAAGGCUUCUGAGUGGUAC	521	GUACCACUCAGAAGCCUUN	744-762
173	NAAGGCUUCUGAGUGGUAN	522	NUACCACUCAGAAGCCUUN	744-762
174	UUCUUGGCCUCUUCGGUGU	523	ACACCGAAGAGGCCAAGAA	779-797
175	AUCUUGGCCUCUUCGGUGU	524	ACACCGAAGAGGCCAAGAU	779-797
176	NUCUUGGCCUCUUCGGUGU	525	ACACCGAAGAGGCCAAGAN	779-797
177	NUCUUGGCCUCUUCGGUGN	526	NCACCGAAGAGGCCAAGAN	779-797
178	GUUUCUUGGCCUCUUCGGU	527	ACCGAAGAGGCCAAGAAAC	781-799
179	UUUUCUUGGCCUCUUCGGU	528	ACCGAAGAGGCCAAGAAAA	781-799
180	AUUUCUUGGCCUCUUCGGU	529	ACCGAAGAGGCCAAGAAAU	781-799
181	NUUUCUUGGCCUCUUCGGU	530	ACCGAAGAGGCCAAGAAAN	781-799
182	NUUUCUUGGCCUCUUCGGN	531	NCCGAAGAGGCCAAGAAAN	781-799
183	UGAUCUGUUUCUUGGCCU	532	AGGCCAAGAAACAGAUCAA	788-806
184	AUGAUCUGUUUCUUGGCCU	533	AGGCCAAGAAACAGAUCAU	788-806
185	NUGAUCUGUUUCUUGGCCU	534	AGGCCAAGAAACAGAUCAN	788-806
186	NUGAUCUGUUUCUUGGCCN	535	NGGCCAAGAAACAGAUCAN	788-806
187	GUUGAUCUGUUUCUUGGCC	536	GGCCAAGAAACAGAUCAAC	789-807
188	UUUGAUCUGUUUCUUGGCC	537	GGCCAAGAAACAGAUCAAA	789-807
189	AUUGAUCUGUUUCUUGGCC	538	GGCCAAGAAACAGAUCAAU	789-807
190	NUUGAUCUGUUUCUUGGCC	539	GGCCAAGAAACAGAUCAAN	789-807
191	NUUGAUCUGUUUCUUGGCN	540	NGCCAAGAAACAGAUCAAN	789-807
192	CGUUGAUCUGUUUCUUGGC	541	GCCAAGAAACAGAUCAACG	790-808
193	UGUUGAUCUGUUUCUUGGC	542	GCCAAGAAACAGAUCAACA	790-808

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
194	AGUUGAUCUGUUUCUUGGC	543	GCCAAGAAACAGAUCAACU	790-808
195	NGUUGAUCUGUUUCUUGGC	544	GCCAAGAAACAGAUCAACN	790-808
196	NGUUGAUCUGUUUCUUGGN	545	NCCAAGAAACAGAUCAACN	790-808
197	CACAAUUUUCCCUUGAGUA	546	UACUCAAGGGGAAAAUUGUG	825-843
198	UACAAUUUUCCCUUGAGUA	547	UACUCAAGGGGAAAAUUGUA	825-843
199	AACAAUUUUCCCUUGAGUA	548	UACUCAAGGGGAAAAUUGUU	825-843
200	NACAAUUUUCCCUUGAGUA	549	UACUCAAGGGGAAAAUUGUN	825-843
201	NACAAUUUUCCCUUGAGUN	550	NACUCAAGGGGAAAAUUGUN	825-843
202	UCCACAAUUUUCCCUUGAG	551	CUCAAGGGGAAAAUUGUGGA	827-845
203	ACCACAAUUUUCCCUUGAG	552	CUCAAGGGGAAAAUUGUGGU	827-845
204	NCCACAAUUUUCCCUUGAG	553	CUCAAGGGGAAAAUUGUGGN	827-845
205	NCCACAAUUUUCCCUUGAN	554	NUCAAGGGGAAAAUUGUGGN	827-845
206	AUCCACAAUUUUCCCUUGA	555	UCAAGGGGAAAAUUGUGGAU	828-846
207	UUCCACAAUUUUCCCUUGA	556	UCAAGGGGAAAAUUGUGGAA	828-846
208	NUCCACAAUUUUCCCUUGA	557	UCAAGGGGAAAAUUGUGGAN	828-846
209	NUCCACAAUUUUCCCUUGN	558	NCAAGGGGAAAAUUGUGGAN	828-846
210	UGUCAAGCUCCUUGACCAA	559	UUGGUCAAGGAGCUUGACA	847-865
211	AGUCAAGCUCCUUGACCAA	560	UUGGUCAAGGAGCUUGACU	847-865
212	NGUCAAGCUCCUUGACCAA	561	NUGGUCAAGGAGCUUGACA	847-865
213	NGUCAAGCUCCUUGACCAA	562	NUGGUCAAGGAGCUUGACN	847-865
214	GUGUCUCUGUCAAGCUCCU	563	AGGAGCUUGACAGAGACAC	854-872
215	UUGUCUCUGUCAAGCUCCU	564	AGGAGCUUGACAGAGACAA	854-872
216	AUGUCUCUGUCAAGCUCCU	565	AGGAGCUUGACAGAGACAU	854-872
217	NUGUCUCUGUCAAGCUCCU	566	AGGAGCUUGACAGAGACAN	854-872
218	NUGUCUCUGUCAAGCUCCN	567	NGGAGCUUGACAGAGACAN	854-872
219	ACUGUGUCUCUGUCAAGCU	568	AGCUUGACAGAGACACAGU	857-875
220	UCUGUGUCUCUGUCAAGCU	569	AGCUUGACAGAGACACAGA	857-875
221	NCUGUGUCUCUGUCAAGCU	570	AGCUUGACAGAGACACAGN	857-875
222	NCUGUGUCUCUGUCAAGCN	571	NGCUUGACAGAGACACAGN	857-875

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
223	UGUAAUUCACCAGAGCAAA	572	UUUGCUCUGGUGAAUUACA	877-895
224	AGUAAUUCACCAGAGCAAA	573	UUUGCUCUGGUGAAUUACU	877-895
225	NGUAAUUCACCAGAGCAAA	574	UUUGCUCUGGUGAAUUACN	877-895
226	NGUAAUUCACCAGAGCAAN	575	NUUGCUCUGGUGAAUUACN	877-895
227	UUAACAUGCCUAAACGCU	576	AGCGUUUAGGCAUGUUUAA	998-1016
228	AUAACAUGCCUAAACGCU	577	AGCGUUUAGGCAUGUUUAU	998-1016
229	NUAACAUGCCUAAACGCU	578	AGCGUUUAGGCAUGUUUAN	998-1016
230	NUAACAUGCCUAAACGCN	579	NGCGUUUAGGCAUGUUUAN	998-1016
231	GUUAAACAUGCCUAAACGC	580	GCGUUUAGGCAUGUUUAAAC	999-1017
232	UUUAAACAUGCCUAAACGC	581	GCGUUUAGGCAUGUUUAAA	999-1017
233	AUUAAACAUGCCUAAACGC	582	GCGUUUAGGCAUGUUUAAU	999-1017
234	NUUAAACAUGCCUAAACGC	583	GCGUUUAGGCAUGUUUAAN	999-1017
235	NUUAAACAUGCCUAAACGN	584	NCGUUUAGGCAUGUUUAAN	999-1017
236	GGAGUUUAAACAUGCCUAA	585	UUAGGCAUGUUUAAACAUC	1003-1021
237	UGAGUUUAAACAUGCCUAA	586	UUAGGCAUGUUUAAACAUC	1003-1021
238	AGAUGUUUAAACAUGCCUAA	587	UUAGGCAUGUUUAAACAUCU	1003-1021
239	NGAUGUUUAAACAUGCCUAA	588	UUAGGCAUGUUUAAACAUCN	1003-1021
240	NGAUGUUUAAACAUGCCUAN	589	NUAGGCAUGUUUAAACAUCN	1003-1021
241	AUUUCAUCAGCAGCACCCA	590	UGGGUGCUGCUGAUGAAAU	1045-1063
242	UUUUCAUCAGCAGCACCCA	591	UGGGUGCUGCUGAUGAAAA	1045-1063
243	NUUUCAUCAGCAGCACCCA	592	UGGGUGCUGCUGAUGAAAN	1045-1063
244	NUUUCAUCAGCAGCACCCN	593	NGGGUGCUGCUGAUGAAAN	1045-1063
245	GAAGAAGAUGGCGGUGGCA	594	UGCCACCGCCAUCUUCUUC	1074-1092
246	UAAGAAGAUGGCGGUGGCA	595	UGCCACCGCCAUCUUCUUA	1074-1092
247	AAAGAAGAUGGCGGUGGCA	596	UGCCACCGCCAUCUUCUUU	1074-1092
248	NAAGAAGAUGGCGGUGGCA	597	UGCCACCGCCAUCUUCUUN	1074-1092
249	NAAGAAGAUGGCGGUGGCN	598	NGCCACCGCCAUCUUCUUN	1074-1092
250	GGUGAGUUCAUUUUCCAGG	599	CCUGGAAAAUGAACUCACC	1119-1137
251	UGUGAGUUCAUUUUCCAGG	600	CCUGGAAAAUGAACUCACA	1119-1137

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
252	AGUGAGUUCAUUUUCAGG	601	CCUGGAAAAUGAACUCACU	1119-1137
253	NGUGAGUUCAUUUUCAGG	602	CCUGGAAAAUGAACUCACN	1119-1137
254	NGUGAGUUCAUUUUCAGN	603	NCUGGAAAAUGAACUCACN	1119-1137
255	GAACUUGGUGAUGAUUCG	604	CGAUAUCAUCACCAAGUUC	1140-1158
256	UAACUUGGUGAUGAUUCG	605	CGAUAUCAUCACCAAGUUA	1140-1158
257	AAACUUGGUGAUGAUUCG	606	CGAUAUCAUCACCAAGUUU	1140-1158
258	NAACUUGGUGAUGAUUCG	607	CGAUAUCAUCACCAAGUUN	1140-1158
259	NAACUUGGUGAUGAUUCN	608	NGAUAUCAUCACCAAGUUN	1140-1158
260	CAUUUUCAGGAACUUGGU	609	ACCAAGUUCCUGGAAAAUG	1150-1168
261	UAUUUUCAGGAACUUGGU	610	ACCAAGUUCCUGGAAAAUA	1150-1168
262	AAUUUUCAGGAACUUGGU	611	ACCAAGUUCCUGGAAAAUU	1150-1168
263	NAUUUUCAGGAACUUGGU	612	ACCAAGUUCCUGGAAAAUN	1150-1168
264	NAUUUUCAGGAACUUGGN	613	NCCAAGUUCCUGGAAAAUN	1150-1168
265	CAUAGGUUCCAGUAAUGGA	614	UCCAUAUCUGGAACCUAUG	1207-1225
266	UAUAGGUUCCAGUAAUGGA	615	UCCAUAUCUGGAACCUAUA	1207-1225
267	AAUAGGUUCCAGUAAUGGA	616	UCCAUAUCUGGAACCUAAU	1207-1225
268	NAUAGGUUCCAGUAAUGGA	617	UCCAUAUCUGGAACCUAUN	1207-1225
269	NAUAGGUUCCAGUAAUGGN	618	NCCAUAUCUGGAACCUAUN	1207-1225
270	UCAUAGGUUCCAGUAAUGG	619	CCAUAUCUGGAACCUAUGA	1208-1226
271	ACAUAGGUUCCAGUAAUGG	620	CCAUAUCUGGAACCUAUGU	1208-1226
272	NCAUAGGUUCCAGUAAUGG	621	CCAUAUCUGGAACCUAUGN	1208-1226
273	NCAUAGGUUCCAGUAAUGN	622	NCAUAUCUGGAACCUAUGN	1208-1226
274	UCAGAUCAUAGGUUCCAGU	623	ACUGGAACCUAUGAUCUGA	1213-1231
275	ACAGAUCAUAGGUUCCAGU	624	ACUGGAACCUAUGAUCUGU	1213-1231
276	NCAGAUCAUAGGUUCCAGU	625	ACUGGAACCUAUGAUCUGN	1213-1231
277	NCAGAUCAUAGGUUCCAGN	626	NCUGGAACCUAUGAUCUGN	1213-1231
278	UCUUCAGAUCAUAGGUUCC	627	GGAACCUAUGAUCUGAAGA	1216-1234
279	ACUUCAGAUCAUAGGUUCC	628	GGAACCUAUGAUCUGAAGU	1216-1234
280	NCUUCAGAUCAUAGGUUCC	629	GGAACCUAUGAUCUGAAGN	1216-1234

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
281	NCUUCAGAUCAUAGGUUCN	630	NGAACCUAUGAUCUGAAGN	1216-1234
282	CUCUUCAGAUCAUAGGUUC	631	GAACCUAUGAUCUGAAGAG	1217-1235
283	UUCUUCAGAUCAUAGGUUC	632	GAACCUAUGAUCUGAAGAA	1217-1235
284	AUCUUCAGAUCAUAGGUUC	633	GAACCUAUGAUCUGAAGAU	1217-1235
285	NUCUUCAGAUCAUAGGUUC	634	GAACCUAUGAUCUGAAGAG	1217-1235
286	NUCUUCAGAUCAUAGGUUN	635	NAACCUAUGAUCUGAAGAN	1217-1235
287	GAGGUCAGCCCCAUUGCUG	636	CAGCAAUGGGGCUGACCUC	1269-1287
288	UAGGUCAGCCCCAUUGCUG	637	CAGCAAUGGGGCUGACCUA	1269-1287
289	AAGGUCAGCCCCAUUGCUG	638	CAGCAAUGGGGCUGACCUU	1269-1287
290	NAGGUCAGCCCCAUUGCUG	639	CAGCAAUGGGGCUGACCUN	1269-1287
291	NAGGUCAGCCCCAUUGCUN	640	NAGCAAUGGGGCUGACCUN	1269-1287
292	GAGAGGUCAGCCCCAUUGC	641	GCAAUGGGGCUGACCUCUC	1271-1289
293	UAGAGGUCAGCCCCAUUGC	642	GCAAUGGGGCUGACCUCUA	1271-1289
294	AAGAGGUCAGCCCCAUUGC	643	GCAAUGGGGCUGACCUCUU	1271-1289
295	NAGAGGUCAGCCCCAUUGC	644	GCAAUGGGGCUGACCUCUN	1271-1289
296	NAGAGGUCAGCCCCAUUGN	645	NCAAUGGGGCUGACCUCUN	1271-1289
297	CUUCAGGGGUGCCUCCUCU	646	AGAGGAGGCACCCUGAAG	1299-1317
298	UUUCAGGGGUGCCUCCUCU	647	AGAGGAGGCACCCUGAAA	1299-1317
299	AUUCAGGGGUGCCUCCUCU	648	AGAGGAGGCACCCUGAAU	1299-1317
300	NUUCAGGGGUGCCUCCUCU	649	AGAGGAGGCACCCUGAAN	1299-1317
301	NUUCAGGGGUGCCUCCUCN	650	NGAGGAGGCACCCUGAAN	1299-1317
302	GAGAGCUUCAGGGGUGCCU	651	AGGCACCCUGAAGCUCUC	1304-1322
303	UAGAGCUUCAGGGGUGCCU	652	AGGCACCCUGAAGCUCUA	1304-1322
304	AAGAGCUUCAGGGGUGCCU	653	AGGCACCCUGAAGCUCUU	1304-1322
305	NAGAGCUUCAGGGGUGCCU	654	AGGCACCCUGAAGCUCUN	1304-1322
306	NAGAGCUUCAGGGGUGCCN	655	NGGCACCCUGAAGCUCUN	1304-1322
307	UUAUGCACGGCCUUGGAGA	656	UCUCCAAGGCCGUGCAUAA	1319-1337
308	AUAUGCACGGCCUUGGAGA	657	UCUCCAAGGCCGUGCAUUA	1319-1337
309	NUAUGCACGGCCUUGGAGA	658	UCUCCAAGGCCGUGCAUAN	1319-1337

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
310	NUAUGCACGGCCUUGGAGN	659	NCUCCAAGGCCGUGCAUAN	1319-1337
311	CCUUAUGCACGGCCUUGGA	660	UCCAAGGCCGUGCAUAAGG	1321-1339
312	UCUUAUGCACGGCCUUGGA	661	UCCAAGGCCGUGCAUAAGA	1321-1339
313	ACUUAUGCACGGCCUUGGA	662	UCCAAGGCCGUGCAUAAGU	1321-1339
314	NCUUAUGCACGGCCUUGGA	663	UCCAAGGCCGUGCAUAAGN	1321-1339
315	NCUUAUGCACGGCCUUGGN	664	NCCAAGGCCGUGCAUAAGN	1321-1339
316	GCCUUAUGCACGGCCUUGG	665	CCAAGGCCGUGCAUAAGGC	1322-1340
317	UCCUUAUGCACGGCCUUGG	666	CCAAGGCCGUGCAUAAGGA	1322-1340
318	ACCUUAUGCACGGCCUUGG	667	CCAAGGCCGUGCAUAAGGU	1322-1340
319	NCCUUAUGCACGGCCUUGG	668	CCAAGGCCGUGCAUAAGGN	1322-1340
320	NCCUUAUGCACGGCCUUGN	669	NCAAGGCCGUGCAUAAGGN	1322-1340
321	AGCCUUAUGCACGGCCUUG	670	CAAGGCCGUGCAUAAGGCU	1323-1341
322	UGCCUUAUGCACGGCCUUG	671	CAAGGCCGUGCAUAAGGCA	1323-1341
323	NGCCUUAUGCACGGCCUUG	672	CAAGGCCGUGCAUAAGGCN	1323-1341
324	NGCCUUAUGCACGGCCUUN	673	NAAGGCCGUGCAUAAGGCN	1323-1341
325	CGAUGGUCAGCACAGCCUU	674	AAGGUCUGUGCUGACCAUCG	1336-1354
326	UGAUGGUCAGCACAGCCUU	675	AAGGUCUGUGCUGACCAUCA	1336-1354
327	AGAUGGUCAGCACAGCCUU	676	AAGGUCUGUGCUGACCAUCU	1336-1354
328	NGAUGGUCAGCACAGCCUU	677	AAGGUCUGUGCUGACCAUCN	1336-1354
329	NGAUGGUCAGCACAGCCUN	678	NAGGUCUGUGCUGACCAUCN	1336-1354
330	GUCGAUGGUCAGCACAGCC	679	GGCUGUGCUGACCAUCGAC	1338-1356
331	UUCGAUGGUCAGCACAGCC	680	GGCUGUGCUGACCAUCGAA	1338-1356
332	AUCGAUGGUCAGCACAGCC	681	GGCUGUGCUGACCAUCGAU	1338-1356
333	NUCGAUGGUCAGCACAGCC	682	GGCUGUGCUGACCAUCGAN	1338-1356
334	NUCGAUGGUCAGCACAGCN	683	NGCUGUGCUGACCAUCGAN	1338-1356
335	AAAAACAUGGCCCCAGCAG	684	CUGCUGGGGGCCAUGUUUUU	1373-1391
336	UAAAAACAUGGCCCCAGCAG	685	CUGCUGGGGGCCAUGUUUUA	1373-1391
337	NAAAAACAUGGCCCCAGCAG	686	CUGCUGGGGGCCAUGUUUUN	1373-1391
338	NAAAAACAUGGCCCCAGCAN	687	NUGCUGGGGGCCAUGUUUUN	1373-1391

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
339	CUAAAAACAUGGCCCCAGC	688	GCUGGGGCCAUGUUUUUAG	1375-1393
340	UUAAAAACAUGGCCCCAGC	689	GCUGGGGCCAUGUUUUUAA	1375-1393
341	AUAAAAACAUGGCCCCAGC	690	GCUGGGGCCAUGUUUUUAU	1375-1393
342	NUAAAAACAUGGCCCCAGC	691	GCUGGGGCCAUGUUUUUAN	1375-1393
343	NUAAAAACAUGGCCCCAGN	692	NCUGGGGCCAUGUUUUUAN	1375-1393
344	UCUAAAAACAUGGCCCCAG	693	CUGGGGCCAUGUUUUUAGA	1376-1394
345	ACUAAAAACAUGGCCCCAG	694	CUGGGGCCAUGUUUUUAGU	1376-1394
346	NCUAAAAACAUGGCCCCAG	695	CUGGGGCCAUGUUUUUAGN	1376-1394
347	NCUAAAAACAUGGCCCCAN	696	NUGGGGCCAUGUUUUUAGN	1376-1394
348	CCUCUAAAAACAUGGCCCC	697	GGGGCCAUGUUUUUAGAGG	1378-1396
349	UCUCUAAAAACAUGGCCCC	698	GGGGCCAUGUUUUUAGAGA	1378-1396
350	ACUCUAAAAACAUGGCCCC	699	GGGGCCAUGUUUUUAGAGU	1378-1396
351	NCUCUAAAAACAUGGCCCC	700	GGGGCCAUGUUUUUAGAGN	1378-1396
352	NCUCUAAAAACAUGGCCCN	701	NGGGCCAUGUUUUUAGAGN	1378-1396
353	GCCUCUAAAAACAUGGCCCC	702	GGGCCAUGUUUUUAGAGGC	1379-1397
354	UCCUCUAAAAACAUGGCCCC	703	GGGCCAUGUUUUUAGAGGA	1379-1397
355	ACCUCUAAAAACAUGGCCCC	704	GGGCCAUGUUUUUAGAGGU	1379-1397
356	NCCUCUAAAAACAUGGCCCC	705	GGGCCAUGUUUUUAGAGGN	1379-1397
357	NCCUCUAAAAACAUGGCCN	706	NGGCCAUGUUUUUAGAGGN	1379-1397
358	UAGACAUGGGUAUGGCCUC	707	GAGGCCAUACCCAUGUCUA	1393-1411
359	AAGACAUGGGUAUGGCCUC	708	GAGGCCAUACCCAUGUCUU	1393-1411
360	NAGACAUGGGUAUGGCCUC	709	GAGGCCAUACCCAUGUCUN	1393-1411
361	NAGACAUGGGUAUGGCCUN	710	NAGGCCAUACCCAUGUCUN	1393-1411
362	GAUAGACAUGGGUAUGGCC	711	GGCCAUACCCAUGUCUAUC	1395-1413
363	UAUAGACAUGGGUAUGGCC	712	GGCCAUACCCAUGUCUAUA	1395-1413
364	AAUAGACAUGGGUAUGGCC	713	GGCCAUACCCAUGUCUAUU	1395-1413
365	NAUAGACAUGGGUAUGGCC	714	GGCCAUACCCAUGUCUAUN	1395-1413
366	NAUAGACAUGGGUAUGGCN	715	NGCCAUACCCAUGUCUAUN	1395-1413
367	UGUUGAACUUGACCUCGGG	716	CCCGAGGUCAAGUUCAACA	1417-1435

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
368	AGUUGAACUUGACCUCGGG	717	CCCGAGGUCAAGUUCAACU	1417-1435
369	NGUUGAACUUGACCUCGGG	718	CCCGAGGUCAAGUUCAACN	1417-1435
370	NGUUGAACUUGACCUCGGN	719	NCCGAGGUCAAGUUCAACN	1417-1435
371	GGUUUGUUGAACUUGACCU	720	AGGUCAAGUUCAACAAACC	1421-1439
372	UGUUUGUUGAACUUGACCU	721	AGGUCAAGUUCAACAAACA	1421-1439
373	AGUUUGUUGAACUUGACCU	722	AGGUCAAGUUCAACAAACU	1421-1439
374	NGUUUGUUGAACUUGACCU	723	AGGUCAAGUUCAACAAACN	1421-1439
375	NGUUUGUUGAACUUGACCN	724	NGGUCAAGUUCAACAAACN	1421-1439
376	AAAGGGUUUGUUGAACUUG	725	CAAGUUCAACAAACCCUUU	1425-1443
377	UAAGGGUUUGUUGAACUUG	726	CAAGUUCAACAAACCCUUA	1425-1443
378	NAAGGGUUUGUUGAACUUG	727	CAAGUUCAACAAACCCUUN	1425-1443
379	NAAGGGUUUGUUGAACUUN	728	NAAGUUCAACAAACCCUUN	1425-1443
380	ACAAAGGGUUUGUUGAACU	729	AGUUCAACAAACCCUUUGU	1427-1445
381	UCAAGGGUUUGUUGAACU	730	AGUUCAACAAACCCUUUGA	1427-1445
382	NCAAAGGGUUUGUUGAACU	731	AGUUCAACAAACCCUUUGN	1427-1445
383	NCAAAGGGUUUGUUGAACN	732	NGUUCAACAAACCCUUUGN	1427-1445
384	GACAAAGGGUUUGUUGAAC	733	GUUCAACAAACCCUUUGUC	1428-1446
385	UACAAAGGGUUUGUUGAAC	734	GUUCAACAAACCCUUUGUA	1428-1446
386	AACAAAGGGUUUGUUGAAC	735	GUUCAACAAACCCUUUGUU	1428-1446
387	NACAAAGGGUUUGUUGAAC	736	GUUCAACAAACCCUUUGUN	1428-1446
388	NACAAAGGGUUUGUUGAAN	737	NUUCAACAAACCCUUUGUN	1428-1446
389	AAGACAAAGGGUUUGUUGA	738	UCAACAAACCCUUUGUCUU	1430-1448
390	UAGACAAAGGGUUUGUUGA	739	UCAACAAACCCUUUGUCUA	1430-1448
391	NAGACAAAGGGUUUGUUGA	740	UCAACAAACCCUUUGUCUN	1430-1448
392	NAGACAAAGGGUUUGUUGN	741	NCAACAAACCCUUUGUCUN	1430-1448
393	CAUUAAGAAGACAAAGGGU	742	ACCCUUUGUCUUCUUA AUG	1437-1455
394	UAUUAAGAAGACAAAGGGU	743	ACCCUUUGUCUUCUUAUA	1437-1455
395	AAUUAAGAAGACAAAGGGU	744	ACCCUUUGUCUUCUUAUU	1437-1455
396	NAUUAAGAAGACAAAGGGU	745	ACCCUUUGUCUUCUUAUN	1437-1455

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
397	NAUUAAGAAGACAAAGGGN	746	NCCCUUUGUCUUCUAAUN	1437-1455
398	AUCAUUAAGAAGACAAAGG	747	CCUUUGUCUUCUAAUGAU	1439-1457
399	UUCAUUAAGAAGACAAAGG	748	CCUUUGUCUUCUAAUGAA	1439-1457
400	NUCAUUAAGAAGACAAAGG	749	CCUUUGUCUUCUAAUGAN	1439-1457
401	NUCAUUAAGAAGACAAAGN	750	NCUUUGUCUUCUAAUGAN	1439-1457
402	GAAGAGGGGAGACUUGGUA	751	UACCAAGUCUCCCCUCUUC	1467-1485
403	UAAGAGGGGAGACUUGGUA	752	UACCAAGUCUCCCCUCUUA	1467-1485
404	AAAGAGGGGAGACUUGGUA	753	UACCAAGUCUCCCCUCUUU	1467-1485
405	NAAGAGGGGAGACUUGGUA	754	UACCAAGUCUCCCCUCUUN	1467-1485
406	NAAGAGGGGAGACUUGGUN	755	NACCAAGUCUCCCCUCUUN	1467-1485
407	CCAUGAAGAGGGGAGACUU	756	AAGUCUCCCCUCUUCAUGG	1471-1489
408	UCAUGAAGAGGGGAGACUU	757	AAGUCUCCCCUCUUCAUGA	1471-1489
409	ACAUGAAGAGGGGAGACUU	758	AAGUCUCCCCUCUUCAUGU	1471-1489
410	NCAUGAAGAGGGGAGACUU	759	AAGUCUCCCCUCUUCAUGN	1471-1489
411	NCAUGAAGAGGGGAGACUN	760	NAGUCUCCCCUCUUCAUGN	1471-1489
412	CCAUGAAGAGGGGAGACU	761	AGUCUCCCCUCUUCAUGGG	1472-1490
413	UCCAUGAAGAGGGGAGACU	762	AGUCUCCCCUCUUCAUGGA	1472-1490
414	ACCAUGAAGAGGGGAGACU	763	AGUCUCCCCUCUUCAUGGU	1472-1490
415	NCCAUGAAGAGGGGAGACU	764	AGUCUCCCCUCUUCAUGGN	1472-1490
416	NCCAUGAAGAGGGGAGACN	765	NGUCUCCCCUCUUCAUGGN	1472-1490
417	UCCAUGAAGAGGGGAGA	766	UCUCCCCUCUUCAUGGGAA	1474-1492
418	AUCCAUGAAGAGGGGAGA	767	UCUCCCCUCUUCAUGGGAU	1474-1492
419	NUCCAUGAAGAGGGGAGA	768	UCUCCCCUCUUCAUGGGAN	1474-1492
420	NUCCAUGAAGAGGGGAGN	769	NCUCCCCUCUUCAUGGGAN	1474-1492
421	UUCCAUGAAGAGGGGAG	770	CUCCCCUCUUCAUGGGAAA	1475-1493
422	AUCCAUGAAGAGGGGAG	771	CUCCCCUCUUCAUGGGAAU	1475-1493
423	NUCCAUGAAGAGGGGAG	772	CUCCCCUCUUCAUGGGAAU	1475-1493
424	NUCCAUGAAGAGGGGAN	773	NUCCCCUCUUCAUGGGAAU	1475-1493
425	AACCCUUCUUAUGUCAU	774	AUGACAUUAAGAAGGGUU	1569-1587

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3') (19-членники)	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3') (19- членники)	Положение в геноме из SEQ ID NO: 1
426	UACCCUUCUUUAAUGUCAU	775	AUGACAUUAAAGAAGGGUA	1569-1587
427	NACCCUUCUUUAAUGUCAU	776	AUGACAUUAAAGAAGGGUN	1569-1587
428	NACCCUUCUUUAAUGUCAN	777	NUGACAUUAAAGAAGGGUN	1569-1587

**Таблица 3.** Пример последовательностей оснований антисмысловой цепи и смысловой цепи средства для РНКи ААТ

<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3')</b>	<b>SEQ ID NO:</b>	<b>Смысловая последовательность оснований (5' → 3')</b>
778	GGAACUUGGUGAUGAUAU	840	AUAUCAUCACCAAGUUC
779	GAUCAUAGGUUCCAGUAA	841	UUACUGGAACCUAUGAUC
780	ACAGCCUUAUGCACGGCC	842	GGCCGUGCAUAAGGCUGU
781	UCGAUGGUCAGCACAGCC	843	GGCUGUGCUGACCAUCGA
782	CAAAGGGUUUGUUGAACU	844	AGUUCAACAAACCCUUUG
783	TGGAACUUGGUGAUGAUAUTT	845	UAUAUAUCAUCACCAAGUCCAT
783	TGGAACUUGGUGAUGAUAUTT	846	AUAUCAUCACCAAGUCCAT
784	TGGAACUUGGUGAUGAUUCGUG	847	CGAUAUCAUCACCAAGUCCA
785	ACUUGGUGAUGAUAUTT	848	UAUCAUCACCAAGUCCAT
786	TGGAACTTGGTGATGATATTT	849	TATATATCATCACCAAGTTCAT
787	UUUAAAACAUGCCUAAACGCUU	850	GCGUUUAGGCAUGUUAAAUU
788	UGCAUUGCCCAGGUUUUCUU	851	GAAAUACCGGGCAAUGCAUU
789	UGGAACUUGGUGAUGAUUUU	852	AUAUCAUCACCAAGUCCAUU
790	UGAUCAUAGGUUCCAGUAAUU	853	UUACUGGAACCUAUGAUCUU
791	UACAGCCUUAUGCACGGCCUU	854	GGCCGUGCAUAAGGCUGUAUU
792	UUCGAUGGUCAGCACAGCCUU	855	GGCUGUGCUGACCAUCGAAUU
793	UCAAAGGGUUUGUUGAACUUU	856	AGUUCAACAAACCCUUUGAUU
794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU	857	CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU
795	UUUAAACGUGCCUAAACGUG	858	CAGCGUUUAGGCAUGUUAAA
796	UGCAUUGCCCAGGUUUUCAG	859	CUGAAAUACCGGGCAAUGCA
797	UGGAACUUGGUGAUGAUUCG	847	CGAUAUCAUCACCAAGUCCA
798	UGAUCAUAGGUUCCAGUAAUG	860	CAUUACUGGAACCUAUGAUCA
791	UACAGCCUUAUGCACGGCCUU	861	AAGGCCGUGCAUAAGGCUGUA
792	UUCGAUGGUCAGCACAGCCUU	862	AAGGCUGUGCUGACCAUCGAA
799	UCAAAGGGUUUGUUGAACUUG	863	CAAGUUCAACAAACCCUUUGA
800	UGUUAAACAUGCCUAAACGCG	864	CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU	857	CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3')
794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU	1265	CGUUUAGGCAUGUUUAACA
801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU	1265	CGUUUAGGCAUGUUUAACA
794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU	865	AACGUUUAGGCAUGUUUAACA
801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
802	UGUUAAACAUGCCUAAACGCUUC	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
803	UGCUGUUGGACUGGUGUGCUU	1266	GCACACCAGUCCAACAGCA
804	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCA	1266	GCACACCAGUCCAACAGCA
804	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCA	867	UGGCACACCAGUCCAACAGCA
803	UGCUGUUGGACUGGUGUGCUU	868	AAGCACACCAGUCCAACAGCA
805	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCAUU	867	UGGCACACCAGUCCAACAGCA
806	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCAGC	867	UGGCACACCAGUCCAACAGCA
807	UAAGGCUUCUGAGUGGUACUU	1267	GUACCACUCAGAAGCCUUA
808	UAAGGCUUCUGAGUGGUACAA	1267	GUACCACUCAGAAGCCUUA
808	UAAGGCUUCUGAGUGGUACAA	869	UUGUACCACUCAGAAGCCUUA
809	UAAGGCUUCUGAGUGGUACAACU	869	UUGUACCACUCAGAAGCCUUA
810	GAAGGCUUCUGAGUGGUACUU	1268	GUACCACUCAGAAGCCUUC
811	AAGACAAAGGGUUUGUUGAUU	1269	UCAACAAACCCUUUGUCUU
812	AAGACAAAGGGUUUGUUGAAC	1269	UCAACAAACCCUUUGUCUU
812	AAGACAAAGGGUUUGUUGAAC	870	GUUCAACAAACCCUUUGUCUU
813	UAGACAAAGGGUUUGUUGAAC	871	GUUCAACAAACCCUUUGUCUA
814	AAGACAAAGGGUUUGUUGAACUU	870	GUUCAACAAACCCUUUGUCUU
815	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUU	1270	GAGGCCAUACCCAUGUCUA
816	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUA	1270	GAGGCCAUACCCAUGUCUA
816	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUA	872	UAGAGGCCAUACCCAUGUCUA
817	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUAAA	872	UAGAGGCCAUACCCAUGUCUA
818	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUAUU	872	UAGAGGCCAUACCCAUGUCUA
819	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU	1271	GGCCAAGAAACAGAUCAAA
820	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUC	1271	GGCCAAGAAACAGAUCAAA
820	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUC	873	GAGGCCAAGAAACAGAUCAAA
821	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUCUU	873	GAGGCCAAGAAACAGAUCAAA

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность оснований (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность оснований (5' → 3')
822	UGUUGGACUGGUGUGCCAGUU	1272	CUGGCACACCAGUCCAACA
823	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCU	874	AGCUGGCACACCAGUCCAACA
824	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCUGG	874	AGCUGGCACACCAGUCCAACA
825	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCUG	875	GCUGGCACACCAGUCCAACA
826	AAAGGGUUUGUUGAACUUGUU	1273	CAAGUUCAACAAACCCUUU
827	AAAGGGUUUGUUGAACUUGAC	876	GUCAAGUUCAACAAACCCUUU
828	UAAGGGUUUGUUGAACUUGACCU	877	GUCAAGUUCAACAAACCCUUA
829	UAAGGGUUUGUUGAACUUGAC	877	GUCAAGUUCAACAAACCCUUA
830	UAUUGGUGCUGUUGGACUGUU	1274	CAGUCCAACAGCACCAUA
831	UAUUGGUGCUGUUGGACUGGU	878	ACCAGUCCAACAGCACCAUA
832	UAUUGGUGCUGUUGGACUGGUU	879	CCAGUCCAACAGCACCAUA
833	UUGUUGGACUGGUGUGCCAG	880	CUGGCACACCAGUCCAACAA
834	UUGUUGGACUGGUGUGCCAGCU	880	CUGGCACACCAGUCCAACAA
835	UAUAGACAUGGGUAUGGCCUC	1275	GGCCAUACCCAUGUCUAUA
835	UAUAGACAUGGGUAUGGCCUC	881	GAGGCCAUACCCAUGUCUAUA
836	UCAAAAGGGUUUGUUGAACUUGAC	882	GUCAAGUUCAACAAACCCUUUGA
836	UCAAAAGGGUUUGUUGAACUUGAC	863	CAAGUUCAACAAACCCUUUGA
837	UUAUUGGUGCUGUUGGACUGG	883	CCAGUCCAACAGCACCAUA
838	UGUUAACAUGCCUAAACGC	884	GCGUUUAGGCAUGUUUAACA
839	UGUUAACAUGCCUAAACGCUU	884	GCGUUUAGGCAUGUUUAACA
839	UGUUAACAUGCCUAAACGCUU	885	GCGUUUAGGCAUGUUUAACA
800	UGUUAACAUGCCUAAACGCG	886	CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
801	UGUUAACAUGCCUAAACGCU	887	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
838	UGUUAACAUGCCUAAACGC	885	GCGUUUAGGCAUGUUUAACA

Смысловая цепь и антисмысловая цепь средств для РНКи ААТ, содержащие или состоящие из нуклеотидных последовательностей в таблице 2 или таблице 3, могут представлять собой модифицированные нуклеотиды или немодифицированные нуклеотиды. В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, имеющие последовательности смысловой и антисмысловой цепи, содержащие или состоящие из любой из нуклеотидных последовательностей в таблице 2 или таблице 3, представляют собой все или в основном все модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности антисмысловой цепи в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности смысловой цепи в таблице 2 или таблице 3.

В рамках изобретения, каждый N, перечисленный в последовательности, описанной в таблице 2, может быть выбран независимо. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид N, перечисленный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеиновое основание, которое является комплементарным нуклеотиду N в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид N, перечисленный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеиновое основание, которое не является комплементарным нуклеотиду N в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид N, перечисленный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеиновое основание, которое является таким же, как нуклеотид N в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид N, перечисленный в последовательности, описанной в таблице 2, имеет нуклеиновое основание, которое отличается от нуклеотида N в соответствующем положении на другой цепи.

Смысловые и антисмысловые цепи конкретных модифицированных средств для РНКи ААТ представлены в таблице 4 и таблице 5.

Модифицированные антисмысловые цепи средств для РНКи ААТ, так же как лежащие в их основе немодифицированные последовательности нуклеиновых оснований, представлены в таблице 4. Модифицированные смысловые цепи средств для РНКи ААТ, так же как лежащие в их основе немодифицированные последовательности, представлены в таблице 5. При получении средств для РНКи ААТ, каждый из нуклеотидов в каждой из немодифицированных последовательностей, перечисленных в таблицах 4 и 5, так же как в таблице 2 и таблице 3, выше, может представлять собой модифицированный нуклеотид.

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, получают посредством гибридизации антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловую цепь, содержащую последовательность, перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 5, можно подвергать гибридизации с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 4, при условии, что две последовательности имеют область по меньшей мере 85% комплементарности на протяжении непрерывной последовательности из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит или состоит из дуплекса, имеющего последовательности нуклеиновых оснований смысловой цепи и антисмысловой цепи из любой из последовательностей в таблице 2 или таблице 3.

Примеры антисмысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблице 4. Примеры смысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблице 5.

Как используют в таблицах 4 и 5, следующие обозначения использованы для указания модифицированных нуклеотидов, нацеливающих групп и связывающих групп. Специалисту в данной области хорошо понятно, что, если в последовательности не указано иное, когда они присутствуют в олигонуклеотиде, мономеры

взаимно связаны посредством 5'-3'-фосфодиэфирных связей:

A=аденозин-3'-фосфат;

C=цитидин-3'-фосфат;

G=гуанозин-3'-фосфат;

U=уридин-3'-фосфат

n=любой 2'-Оме-модифицированный нуклеотид

a=2'-О-метиладенозин-3'-фосфат

as=2'-О-метиладенозин-3'-фосфоротиоат

c=2'-О-метилцитидин-3'-фосфат

cs=2'-О-метилцитидин-3'-фосфоротиоат

g=2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат

gs=2'-О-метилгуанозин-3'-фосфоротиоат

t=2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат

ts=2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат

u=2'-О-метилуридин-3'-фосфат

us=2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат

Nf=любой 2'-фтор-модифицированный нуклеотид

Af=2'-фтораденозин-3'-фосфат

Afs=2'-фтораденозин-3'-фосфоротиоат

Cf=2'-фторцитидин-3'-фосфат

Cfs=2'-фторцитидин-3'-фосфоротиоат

Gf=2'-фторгуанозин-3'-фосфат

Gfs=2'-фторгуанозин-3'-фосфоротиоат

Tf=2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфат

Tfs=2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфоротиоат

Uf=2'-фторуридин-3'-фосфат

Ufs=2'-фторуридин-3'-фосфоротиоат

dN=любой 2'-дезоксирибонуклеотид

dT=2'-дезокситимидин-3'-фосфат

$N_{\text{HНК}}=2', 3'$ -секонуклеотидные миметики (незапертые аналоги нуклеиновых оснований) -3'-фосфат

$N_{\text{HНКs}}=2', 3'$ -секонуклеотидные миметики (незапертые аналоги нуклеиновых оснований) -3'-фосфоротиоат

$U_{\text{HНК}}=2', 3'$ -секоуридин-3'-фосфат

$U_{\text{HНКs}}=2', 3'$ -секоуридин-3'-фосфоротиоат

$a_{2N}$ =см. таблицу 7

$a_{2Ns}$ =см. таблицу 7

$pu_{2N}$ =см. таблицу 7

$pu_{2Ns}$ =см. таблицу 7

$Npu$ =см. таблицу 7

$Nus$ =см. таблицу 7

$N_{знк}$ =запертый нуклеотид

$Nf_{анк}$ =2'-F-арабинонуклеотид

$NM$ =2'-метоксиэтилнуклеотид

$AM$ =2'-метоксиэтиладенозин-3'-фосфат

$AMs$ =2'-метоксиэтиладенозин-3'-фосфоротиоат

$TM$ =2'-метоксиэтилтимидин-3'-фосфат

$TMs$ =2'-метоксиэтилтимидин-3'-фосфоротиоат

$R$ =рибит

(инв.dN)=любой инвертированн дезоксирибонуклеотид (3'-3'-связанный нуклеотид)

(инв.Ab)=инвертированный (3'-3'-связанный) лишенный азотистого основания дезоксирибонуклеотид, см. таблицу 7

(инв.Ab)s=инвертированн (3'-3'-связанный) лишенный азотистого основания дезоксирибонуклеотид-5'-фосфоротиоат, см. таблицу 7

(инв.n)=любой инвертированн 2'-OMe-нуклеотид (3'-3'-связанный нуклеотид)

s=фосфоротиоатная связь

$vpdN$ =винилфосфонатдезоксирибонуклеотид

(5Me-Nf)=5'-Me, 2'-фторнуклеотид

$cPrp$ =циклопропилфосфонат, см. таблицу 7

$epTcPr$ =см. таблицу 7

$epTM$ =см. таблицу 7

(Chol-TEG)=см. таблицу 7

(TEG-биотин)=см. таблицу 7

(PEG-C3-SS)=см. таблицу 7

(Alk-SS-C6)=см. таблицу 7

(C6-SS-Alk)=см. таблицу 7

(C6-SS-Alk-Me)=см. таблицу 7

Специалисту в данной области хорошо понятно, что концевой

нуклеотид на 3'-конце данной олигонуклеотидной последовательности, как правило, имеет гидроксильную группу (-ОН) в соответствующем 3'-положении данного мономера вместо фосфатной группы *ex vivo*. Если в настоящем описании явно не указано иное, такое понимание специалиста в данной области используют при описании средств для РНКи ААТ и композиций средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании, .

Нацеливающие группы и связывающие группы включают следующие, химические структуры для которых представлены ниже в таблице 7: (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s. Каждая смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может иметь любые нацеливающие группы или связывающие группы, перечисленные выше, так же как другие нацеливающие или связывающие группы, конъюгированные с 5'- и/или 3'-концом последовательности.

Таблица 4. Последовательности антисмысловой цепи средства для РНКи ААТ

ID антисмысловой цепи:	SEQ ID NO.	Антисмысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM00516-AS	888	dTGfgAfaCfUUNAUfgGfuGfaUfgAfuAfudTsdT	783	TGGAACUUGGUGAUGAUAUTT
AM02129-AS	889	dTsGfsgAfaCfUUNAUfgGfuGfaUfgAfuAfudTsdT	783	TGGAACUUGGUGAUGAUAUTT
AM02130-AS	890	dTsGfsgAfaCfUUNAUfgGfuGfaUfgAfuAfuCfsgsusg	784	TGGAACUUGGUGAUGAUAUUCGUG
AM04786-AS	891	aCfUUNAUfgGfuGfaUfgAfuAfudTsdT	785	ACUUGGUGAUGAUAUTT
AM05303-AS	892	dTdGdGdAdAdCdTdTdGdGdTdGdAdTdGdAdTdAdTdTsdT	786	TGGAACTTGGTGATGATATTT
AM05643-AS	893	usUfsusAfaAfcAfUfGfcCfuAfaAfcGfcusu	787	UUUAAACAUGCCUAAACGCUU
AM05645-AS	894	usGfscsAfuUfgCfCfCfaGfgUfaUfuUfcusu	788	UGCAUUGCCCAGGUUUUUCUU
AM05647-AS	895	usGfsgsAfaCfuUfGfGfuGfaUfgAfuAfuusu	789	UGGAACUUGGUGAUGAUUUUU
AM05649-AS	896	usGfsasUfcAfuAfGfGfuucCfaGfuAfausu	790	UGAUCAUAGGUUCCAGUAAUU
AM05651-AS	897	usAfsacsAfgCfcUfUfAfuGfcAfcGfgCfcusu	791	UACAGCCUU AUGCACGGCCUU
AM05653-AS	898	usUfscsGfaUfgGfUfCfaGfcAfcAfgCfcusu	792	UUCGAUGGUCAGCACAGCCUU
AM05655-AS	899	usCfsasAfaGfgGfUfUfGfuUfgAfaCfuusu	793	UCAAGGGUUUGUUGAACUUU
AM05657-AS	900	usGfsusUfaAfaCfAfUfgCfcUfaAfaCfsgusu	794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU
AM05659-AS	901	usUfuAfaAfcgugcCfuAfaAfcGfcsUfsg	795	UUUAAACGUGCCUAAACGCUG
AM05661-AS	902	usGfscAfuUfgcccaGfgUfaUfuUfcsAfsG	796	UGCAUUGCCCAGGUUUUUCAG
AM05663-AS	903	usGfsgAfaCfuugguGfaUfgAfuAfusCfsg	797	UGGAACUUGGUGAUGAUUCG
AM05665-AS	904	usGfsaUfcAfuagguUfcCfaGfuAfasUfsg	798	UGAUCAUAGGUUCCAGUAAUG
AM05667-AS	905	usAfsaAfgCfcuuauGfcAfcGfgCfcsUfsu	791	UACAGCCUU AUGCACGGCCUU
AM05669-AS	906	usUfscGfaUfggucaGfcAfcAfgCfcsUfsu	792	UUCGAUGGUCAGCACAGCCUU
AM05671-AS	907	usCfsaAfaGfgguuuGfuUfgAfaCfusUfsg	799	UCAAGGGUUUGUUGAACUUG
AM05673-AS	908	usGfsuUfaAfaCaugCfcUfaAfaCfsgCfsg	800	UGUUAAACAUGCCUAAACGCG
AM05677-AS	909	usUfsuAfaAfcgugcCfuAfaAfcGfcsUfsg	795	UUUAAACGUGCCUAAACGCUG
AM05884-AS	910	vpusGfsusUfaAfaCfAfUfgCfcUfaAfaCfsgusu	794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU
AM05885-AS	911	cPrpusGfsusUfaAfaCfAfUfgCfcUfaAfaCfsgusu	794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU
AM05886-AS	912	usGfsusUfaAfaCfAfUfgCfcUfaAfaCfsgcsu	801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU
AM05887-AS	913	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgusu	794	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU
AM05888-AS	914	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgcsu	801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU
AM05889-AS	915	usGfsusUfaAfaCfAfUfgCfcUfaAfaCfsgCfsu	801	UGUUAAACAUGCCUAAACGCU

ID антисмысловой цепи :	SEQ ID NO.	Антисмысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM05890-AS	916	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgCfuusc	802	UGUUAACAUGCCUAAACGCUUC
AM05891-AS	917	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgCfsu	801	UGUUAACAUGCCUAAACGCU
AM05892-AS	918	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgCfuusc	802	UGUUAACAUGCCUAAACGCUUC
AM05900-AS	919	cPrpusGfsuUfaAfaCaugCfcUfaAfaCfgsCfsg	800	UGUUAACAUGCCUAAACGCG
AM05901-AS	920	usGfsgsAfaCfUUNAUFgGfuGfaUfgAfuAfuusu	789	UGGAACUUGGUGAUGAUUUU
AM05954-AS	921	usGfscsUfgUfuggacUfgGfuGfuGfcusu	803	UGCUGUUGGACUGGUGUCUU
AM05955-AS	922	usGfscsUfgUfuggacUfgGfuGfuGfccsa	804	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCA
AM05956-AS	923	usGfscsUfgUfuggacUfgGfuGfuGfccausu	805	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCAUU
AM05957-AS	924	usGfscsUfgUfuggacUfgGfuGfuGfccagsc	806	UGCUGUUGGACUGGUGUGCCAGC
AM05961-AS	925	usAfsasGfgCfuUfcUfgAfgUfgGfuAfcusu	807	UAAGGCUUCUGAGUGGUACUU
AM05962-AS	926	usAfsasGfgCfuUfcUfgAfgUfgGfuAfcasa	808	UAAGGCUUCUGAGUGGUACAA
AM05963-AS	927	usAfsasGfgCfuUfcUfgAfgUfgGfuAfcacsu	809	UAAGGCUUCUGAGUGGUACAACU
AM05964-AS	928	gsAfsasGfgCfuUfcUfgAfgUfgGfuAfcusu	810	GAAGGCUUCUGAGUGGUACUU
AM05969-AS	929	asAfsagsAfcAfaAfgGfgUfuUfgUfuGfausu	811	AAGACAAAGGGUUUGUUGAUU
AM05970-AS	930	asAfsagsAfcAfaAfgGfgUfuUfgUfuGfaasc	812	AAGACAAAGGGUUUGUUGAAC
AM05973-AS	931	usAfsagsAfcAfaAfgGfgUfuUfgUfuGfaasc	813	UAGACAAAGGGUUUGUUGAAC
AM05974-AS	932	asAfsagsAfcAfaAfgGfgUfuUfgUfuGfaacusu	814	AAGACAAAGGGUUUGUUGAACUU
AM05976-AS	933	usAfsagsAfcAfuGfgGfuAfuGfgCfcUfcusu	815	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUU
AM05977-AS	934	usAfsagsAfcAfuGfgGfuAfuGfgCfcUfcusa	816	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUA
AM05979-AS	935	usAfsagsAfcAfuGfgGfuAfuGfgCfcUfcuaasa	817	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUAAA
AM05980-AS	936	usAfsagsAfcAfuGfgGfuAfuGfgCfcUfcuausu	818	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUAUU
AM05982-AS	937	usUfsusGfaUfcUfgUfuUfcUfuGfgCfcusu	819	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU
AM05983-AS	938	usUfsusGfaUfcUfgUfuUfcUfuGfgCfcusc	820	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUC
AM05985-AS	939	usUfsusGfaUfcUfgUfuUfcUfuGfgCfcucusu	821	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUCUU
AM05987-AS	940	usGfsusUfgGfacuggUfgUfgCfcAfgusu	822	UGUUGGACUGGUGUGCCAGUU
AM05989-AS	941	usGfsusUfgGfacuggUfgUfgCfcAfgcsu	823	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCU
AM05990-AS	942	usGfsusUfgGfacuggUfgUfgCfcAfgcugsg	824	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCUGG
AM05992-AS	943	usGfsusUfgGfacuggUfgUfgCfcAfgcusg	825	UGUUGGACUGGUGUGCCAGCUG
AM05994-AS	944	asAfsasGfgGfuUfuGfuUfgAfaCfuUfgusu	826	AAAGGGUUUGUUGAACUUGUU

ID антисмысловой цепи:	SEQ ID NO.	Антисмысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM05996-AS	945	asAfsasGfgGfuUfuGfuUfgAfaCfuUfgasc	827	AAAGGGUUUGUUGAACUUGAC
AM05998-AS	946	usAfsasGfgGfuUfuGfuUfgAfaCfuUfgaccsu	828	UAAGGGUUUGUUGAACUUGACCU
AM05999-AS	947	usAfsasGfgGfuUfuGfuUfgAfaCfuUfgasc	829	UAAGGGUUUGUUGAACUUGAC
AM06124-AS	948	usAfsusUfgGfuGfcUfgUfuGfgAfcUfgusu	830	UAUUGGUGCUGUUGGACUGUU
AM06125-AS	949	usAfsusUfgGfuGfcUfgUfuGfgAfcUfggsu	831	UAUUGGUGCUGUUGGACUGGU
AM06126-AS	950	usAfsusUfgGfuGfcUfgUfuGfgAfcUfggsu	832	UAUUGGUGCUGUUGGACUGGUU
AM06130-AS	951	usUfsgsUfuGfgacugGfuGfuGfcCfasc	833	UUGUUGGACUGGUGGCCAG
AM06131-AS	952	usUfsgsUfuGfgacugGfuGfuGfcCfagsu	834	UUGUUGGACUGGUGGCCAGCU
AM06133-AS	953	usAfsusAfgAfcAfuGfgGfuAfuGfgCfcusc	835	UAUAGACAUGGGUAUGGCCUC
AM06134-AS	954	usAfsusAfgAfcacuggGfuAfuGfgCfcusc	835	UAUAGACAUGGGUAUGGCCUC
AM06137-AS	955	usCfsasAfaGfgGfuUfuGfuUfgAfaCfuugasc	836	UCAAGGGUUUGUUGAACUUGAC
AM06140-AS	956	usUfsasUfuGfgugcuGfuUfgGfaCfugsg	837	UUAUUGGUGCUGUUGGACUGG
AM06227-AS	957	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgc	838	UGUUAACAUGCCUAAACGC
AM06228-AS	958	usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgcusu	839	UGUUAACAUGCCUAAACGCUU
AM06234-AS	959	usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsg	800	UGUUAACAUGCCUAAACGCG
AM06235-AS	960	usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsu	801	UGUUAACAUGCCUAAACGCU
AM06237-AS	961	usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsg	800	UGUUAACAUGCCUAAACGCG
AM06238-AS	962	NpusGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgsu	794	UGUUAACAUGCCUAAACGUU
AM06261-AS	963	NusGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgsu	794	UGUUAACAUGCCUAAACGUU

Таблица 5. Последовательности смысловой цепи средства для РНКи ААТ

ID смысловой цепи:	SEQ ID NO.	Смысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM01887-SS	964	(Chol-TEG) uAuAfuAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (инв. dT) (TEG-биотин)	845	UAUAUAUCAUCACCAAGUCCAT
AM01888-SS	965	(Chol-TEG) uAuAfuAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (инв. dT) (PEG-C3-SS)	845	UAUAUAUCAUCACCAAGUCCAT
AM01855-SS	966	(Alk-SS-C6) AfuAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (инв. dT)	846	AUAUCAUCACCAAGUCCAT
AM02132-SS	967	CfsgsAfuAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (C6-SS-Alk)	847	CGAUAUCAUCACCAAGUCCA
AM02390-SS	968	CfsgsAfuAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (C6-SS-Alk-Me)	847	CGAUAUCAUCACCAAGUCCA
AM04785-SS	969	uAfuCfaUfcAfcCfaAfgUfuCfcAf (инв. dT)	848	UAUCAUCACCAAGUCCAT

ID смысловой цепи:	SEQ ID NO.	Смысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM05304-SS	970	(Chol-TEG) dTdAdTdAdTdAdTdCdAdTdCdAdCdCdAdAdGdTdTdCdCs dA (инв. dT) (TEG-биотин)	849	TATATATCATCACCAAGTTCCAT
AM05599-SS	971	(Chol-TEG) dTdAdTdAdTdAdTdCdAdTdCdAdCdCdAdAdGdTdTdCdCs dA (инв. dT)	849	TATATATCATCACCAAGTTCCAT
AM05642-SS	972	(NAG25) (инв. Ab) GfcGfuUfuAfGfGfcAfuGfuUfuAfaausu (инв. Ab)	850	GCGUUUAGGCAUGUUUAAAUU
AM05644-SS	973	(NAG25) (инв. Ab) GfaAfaUfaCfCfUfgGfgCfaAfuGfcausu (инв. Ab)	851	GAAAUACCUGGGCAAUGCAUU
AM05646-SS	974	(NAG25) (инв. Ab) AfuAfuCfaUfCfAfcCfaAfgUfuCfcausu (инв. Ab)	852	AUAUCAUCACCAAGUUCCAUU
AM05648-SS	975	(NAG25) (инв. Ab) UfuAfcUfgGfAfaCfuAfuGfaUfcausu (инв. Ab)	853	UUACUGGAACCUAUGAUCAUU
AM05650-SS	976	(NAG25) (инв. Ab) GfgCfcGfuGfCfAfuAfaGfgCfuGfuausu (инв. Ab)	854	GGCCGUGCAUAAGGCUGUAUU
AM05652-SS	977	(NAG25) (инв. Ab) GfgCfuGfuGfCfUfgAfcCfaUfcGfaausu (инв. Ab)	855	GGCUGUGCUGACCAUCGAAUU
AM05654-SS	978	(NAG25) (инв. Ab) AfgUfuCfaAfcAfaAfcCfcUfuUfgausu (инв. Ab)	856	AGUUCAACAAACCCUUUGAUU
AM05656-SS	979	(NAG25) (инв. Ab) CfgUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcusu (инв. Ab)	857	CGUUUAGGCAUGUUUACAUU
AM05658-SS	980	(NAG25) scsagcguuuAfGfGfcauguuuuasa (инв. Ab)	858	CAGCGUUUAGGCAUGUUUAAA
AM05660-SS	981	(NAG25) scsugaaauaCfCfUfgggcaaugcsa (инв. Ab)	859	CUGAAAUACCUGGGCAAUGCA
AM05662-SS	982	(NAG25) scsgauaucaUfCfAfcCaaguuccsa (инв. Ab)	847	CGAUUAUCAUCACCAAGUUCCA
AM05664-SS	983	(NAG25) scsauuacugGfAfaFcuaugaucsa (инв. Ab)	860	CAUUACUGGAACCUAUGAUC
AM05666-SS	984	(NAG25) sasaggccguGfCfAfuaggcugusa (инв. Ab)	861	AAGGCCGUGCAUAAGGCUGUA
AM05668-SS	985	(NAG25) sasaggcuguGfCfUfgaccaucgasa (инв. Ab)	862	AAGGCUGUGCUGACCAUCGAA
AM05670-SS	986	(NAG25) scsaaguucaAfcAfaaccuuugsa (инв. Ab)	863	CAAGUUCAACAAACCCUUUGA
AM05672-SS	987	(NAG25) scsgcguuuGfGfCfauguuuuacsa (инв. Ab)	864	CGCGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05658-SS	988	(NAG25) scsagcguuuAfGfGfcauguuuuasa (инв. Ab)	858	CAGCGUUUAGGCAUGUUUAAA
AM05893-SS	989	(NAG25) s (инв. Ab) scguuuGfGfCfauguuuuacausu (инв. Ab)	857	CGUUUAGGCAUGUUUACAUU
AM05894-SS	990	(NAG25) s (инв. Ab) sCfGfUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcas (инв. Ab)	429	CGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05895-SS	991	(NAG25) s (инв. Ab) scguuuGfGfCfauguuuuacac (инв. Ab)	429	CGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05896-SS	992	(NAG25) s (инв. Ab) saaCfGfUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcas (инв. Ab)	865	AACGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05897-SS	993	(NAG25) s (инв. Ab) sagCfGfUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcas (инв. Ab)	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05898-SS	994	(NAG25) s (инв. Ab) saacguuuGfGfCfauguuuuacac (инв. Ab)	865	AACGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05899-SS	995	(NAG25) s (инв. Ab) sagcguuuGfGfCfauguuuuacac (инв. Ab)	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUACA
AM05958-SS	996	(NAG37) s (инв. Ab) sgcacacCfAfgfucsaacagcas (инв. Ab)	454	GCACACCAGUCCAACAGCA
AM05959-SS	997	(NAG37) s (инв. Ab) suggcacacCfAfgfucsaacagcas (инв. Ab)	867	UGGCACACCAGUCCAACAGCA

ID смысловой цепи:	SEQ ID NO.	Смысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')	SEQ ID NO.	Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')
AM05960-SS	998	(NAG37) s (инв. Ab) saagcacacCfAfGfuccaaccagcas (инв. Ab)	868	AAGCACACCAGUCCAACAGCA
AM05965-SS	999	(NAG37) s (инв. Ab) sguaccaCfUfCfagaagccuuas (инв. Ab)	519	GUACCACUCAGAAGCCUUA
AM05966-SS	1000	(NAG37) s (инв. Ab) suuguaccaCfUfCfagaagccuuas (инв. Ab)	869	UUGUACCACUCAGAAGCCUUA
AM05967-SS	1001	(NAG37) s (инв. Ab) sguaccaCfUfCfagaagccuucs (инв. Ab)	518	GUACCACUCAGAAGCCUUC
AM05968-SS	1002	(NAG37) s (инв. Ab) sucaacaAfAfCfccuuugucuuus (инв. Ab)	738	UCAACAAAACCCUUUGUCUU
AM05971-SS	1003	(NAG37) s (инв. Ab) sguucaacaAfAfCfccuuugucuuus (инв. Ab)	870	GUUCAACAAAACCCUUUGUCUU
AM05972-SS	1004	(NAG37) s (инв. Ab) sguucaacaAfAfCfccuuugucuuas (инв. Ab)	871	GUUCAACAAAACCCUUUGUCUA
AM05975-SS	1005	(NAG37) s (инв. Ab) sgaggccAfUfAfcccaugucuuas (инв. Ab)	707	GAGGCCAUACCCAUGUCUA
AM05978-SS	1006	(NAG37) s (инв. Ab) suagaggccAfUfAfcccaugucuuas (инв. Ab)	872	UAGAGGCCAUACCCAUGUCUA
AM05981-SS	1007	(NAG37) s (инв. Ab) sggccaaGfAfAfacagaucuaaas (инв. Ab)	537	GGCCAAGAAAACAGAUCAAA
AM05984-SS	1008	(NAG37) s (инв. Ab) sgaggccaaGfAfAfacagaucuaaas (инв. Ab)	873	GAGGCCAAGAAAACAGAUCAAA
AM05986-SS	1009	(NAG37) s (инв. Ab) scuggcaCfAfCfcaguccaacas (инв. Ab)	445	CUGGCACACCAGUCCAACA
AM05988-SS	1010	(NAG37) s (инв. Ab) sagcuggcaCfAfCfcaguccaacas (инв. Ab)	874	AGCUGGCACACCAGUCCAACA
AM05991-SS	1011	(NAG37) s (инв. Ab) sgcuggcaCfAfCfcaguccaacas (инв. Ab)	875	GCUGGCACACCAGUCCAACA
AM05993-SS	1012	(NAG37) s (инв. Ab) scaaguuCfAfAfcaaacccuuus (инв. Ab)	725	CAAGUUCAACAAAACCCUUU
AM05995-SS	1013	(NAG37) s (инв. Ab) sgucaaguuCfAfAfcaaacccuuus (инв. Ab)	876	GUCAAGUUCAACAAAACCCUUU
AM05997-SS	1014	(NAG37) s (инв. Ab) sgucaaguuCfAfAfcaaacccuuas (инв. Ab)	877	GUCAAGUUCAACAAAACCCUUA
AM06127-SS	1015	(NAG37) s (инв. Ab) scaguccAfAfCfagcassaauas (инв. Ab)	458	CAGUCCAACAGCACCAAUA
AM06128-SS	1016	(NAG37) s (инв. Ab) saccaguccAfAfCfagcassaauas (инв. Ab)	878	ACCAGUCCAACAGCACCAAUA
AM06129-SS	1017	(NAG37) s (инв. Ab) sccaguccAfAfCfagcassaauas (инв. Ab)	879	CCAGUCCAACAGCACCAAUA
AM06132-SS	1018	(NAG37) s (инв. Ab) scuggcacAfCfCfcaguccaacaas (инв. Ab)	880	CUGGCACACCAGUCCAACAA
AM06135-SS	1019	(NAG37) s (инв. Ab) sggccauAfCfCfcaugucuuauas (инв. Ab)	712	GGCCAUACCCAUGUCUUAUA
AM06136-SS	1020	(NAG37) s (инв. Ab) sgaggccauAfCfCfcaugucuuauas (инв. Ab)	881	GAGGCCAUACCCAUGUCUUAUA
AM06138-SS	1021	(NAG37) s (инв. Ab) sgucaaguucaAfCfAfaaacccuuugas (инв. Ab)	882	GUCAAGUUCAACAAAACCCUUUGA
AM06139-SS	1022	(NAG37) s (инв. Ab) scaaguucaAfCfAfaaacccuuugas (инв. Ab)	863	CAAGUUCAACAAAACCCUUUGA
AM06141-SS	1023	(NAG37) s (инв. Ab) sccaguccaAfCfAfgcassaauaas (инв. Ab)	883	CCAGUCCAACAGCACCAAUAA
AM06195-SS	1024	(NAG37) s (инв. Ab) scgCGUUUAfGfGfCfauguuuuacaas (инв. Ab)	864	CGCGUUUAGGCAUGUUUAAACA
AM06223-SS	1025	(NAG37) s (инв. Ab) scguuuuGfGfCfauguuuuacaas (инв. Ab)	429	CGUUUAGGCAUGUUUAAACA
AM06224-SS	1026	(NAG37) s (инв. Ab) scsgCGUUUAfGfGfCfauguuuuacsa (инв. Ab)	864	CGCGUUUAGGCAUGUUUAAACA

<b>ID смысловой цепи:</b>	<b>SEQ ID NO.</b>	<b>Смысловая последовательность (модифицированная) (5' → 3')</b>	<b>SEQ ID NO.</b>	<b>Лежащая в основе последовательность оснований (5' → 3')</b>
AM06225-SS	1027	(NAG37) s (инв. Ab) sagCfgUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcas (инв. Ab)	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
AM06226-SS	1028	(NAG37) s (инв. Ab) scguuuuGfGfCfauguuuacausu (инв. Ab)	857	CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU
AM06229-SS	1029	(NAG37) s (инв. Ab) sgcguuuaGfGfCfauguuuacac (инв. Ab)	884	GCGUUUAGGCAUGUUUAACA
AM06230-SS	1030	(NAG37) s (инв. Ab) sgcguuuaGfGfCfauguuuacausu (инв. Ab)	885	GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU
AM06231-SS	1031	(NAG37) s (инв. Ab) scgcuuuuGfGfCfauguuuacsausu (инв. Ab)	886	CGCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU
AM06232-SS	1032	(NAG37) s (инв. Ab) sagCfgUfuUfaGfGfCfaUfgUfuUfaAfcasu (инв. Ab)	887	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU
AM06236-SS	1033	(NAG37) s (инв. Ab) sagcguuuuGfGfCfauguuuacac (инв. Ab)	866	AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA
AM06239-SS	1034	(NAG37) s (инв. Ab) scgcuuuuGfGfCfauguuuacscas (инв. Ab)	864	CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, получают посредством гибридизации антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловую цепь, содержащую последовательность, перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 5, можно подвергать гибридизации с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 4, при условии, что две последовательности имеют область по меньшей мере 85% комплементарности на протяжении непрерывной последовательности из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидов.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности антисмысловой цепи в таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ, описанного в настоящем описании, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотидов от любой последовательности смысловой цепи в таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24 или 2-24, из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В конкретных вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 4.

В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 5. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17, 2-17, 3-17, 4-17, 1-18, 2-18, 3-18,

4-18, 1-19, 2-19, 3-19, 4-19, 1-20, 2-20, 3-20, 4-20, 1-21, 2-21, 3-21, 4-21, 1-22, 2-22, 3-22, 4-22, 1-23, 2-23, 3-23, 4-23, 1-24, 2-24, 3-24 или 4-24 из любой из последовательностей в таблице 2, таблице 3 или таблице 5. В конкретных вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит или состоит из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 5.

Для средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) может являться точно комплементарным гену ААТ, или может не являться комплементарным гену ААТ. В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) представляет собой U, A или dT (или модифицированный вариант U, A или dT). В некоторых вариантах осуществления, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5'-конец → 3'-конец) формирует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления, антисмысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19 из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4. В некоторых вариантах осуществления, смысловая цепь средства для РНКи ААТ содержит последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18 из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает (i) антисмысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 2-18 или 2-19 из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4, и (ii) смысловую цепь, содержащую последовательность нуклеотидов (5'-конец → 3'-конец) 1-17 или 1-18 из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

Смысловую цепь, содержащую последовательность,

перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 5, можно подвергать гибридизации с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, перечисленную в таблице 2, таблице 3 или таблице 5, при условии, что две последовательности имеют область по меньшей мере 85% комплементарности на протяжении непрерывной последовательности из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ имеет смысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 5, и антисмысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности из любой из модифицированных последовательностей в таблице 4. Репрезентативные спаривания последовательностей проиллюстрированы номерами ID дуплекса, показанными в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит любой из дуплексов, представленный любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ состоит из любого из дуплексов, представленного любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи из любого из дуплексов, представленного любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи из любого из дуплексов, представленного любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании, и нацеливающую группу и/или связывающую группу, где нацеливающая группа и/или связывающая группа является ковалентно связанной (т.е., конъюгированной) со смысловой цепью или антисмысловой цепью. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ включает модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи из любого из дуплексов, представленного любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит

модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи из любого из дуплексов, представленного любым из номеров ID дуплекса, представленных в настоящем описании, и нацеливающую группу и/или связывающую группу, где нацеливающая группа и/или связывающая группа является ковалентно связанной со смысловой цепью или антисмысловой цепью.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие нуклеотидные последовательности из любого из дуплексов антисмысловой цепи/смысловой цепи из таблицы 2, таблицы 3 или таблицы 6, и содержит нацеливающую группу лиганд рецептора асиалогликопротеина.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие нуклеотидные последовательности из любого из дуплексов антисмысловой цепи/смысловой цепи из таблицы 2 или таблицы 5, и дополнительно содержит нацеливающую группу, выбранную из группы, состоящей из (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа представляет собой (NAG25) или (NAG25)s, как определено в таблице 7. В других вариантах осуществления, нацеливающая группа представляет собой (NAG37) или (NAG37)s, как определено в таблице 7.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие модифицированную нуклеотидную последовательность из любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи и/или смысловой цепи из любого из дуплексов из таблицы 6.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, имеющие модифицированную нуклеотидную последовательность из любой из

нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи и/или смысловой цепи из любого из дуплексов из таблицы 6, и содержит нацеливающую группу лиганд рецептора асиалогликопротеина.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит дуплексную структуру из любого из дуплексов в таблице 6.

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ состоит из дуплексной структуры из любого из дуплексов в таблице 6.

**Таблица 6.** Средства для РНКи ААТ, идентифицированные по номеру ID дуплекса, с соответствующими смысловыми и антисмысловыми цепями

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD01131	AM00516-AS	AM01887-SS
AD01132	AM00516-AS	AM01888-SS
AD01174	AM00516-AS	AM01855-SS
AD01286	AM02129-AS	AM01855-SS
AD01287	AM02130-AS	AM02132-SS
AD01442	AM02130-AS	AM02390-SS
AD03752	AM04786-AS	AM04785-SS
AD04156	AM05303-AS	AM05304-SS
AD04406	AM05303-AS	AM05599-SS
AD04444	AM05643-AS	AM05642-SS
AD04445	AM05645-AS	AM05644-SS
AD04446	AM05647-AS	AM05646-SS
AD04447	AM05649-AS	AM05648-SS
AD04448	AM05651-AS	AM05650-SS
AD04449	AM05653-AS	AM05652-SS
AD04450	AM05655-AS	AM05654-SS
AD04451	AM05657-AS	AM05656-SS
AD04452	AM05659-AS	AM05658-SS
AD04453	AM05661-AS	AM05660-SS
AD04454	AM05663-AS	AM05662-SS
AD04455	AM05665-AS	AM05664-SS
AD04456	AM05667-AS	AM05666-SS
AD04457	AM05669-AS	AM05668-SS
AD04458	AM05671-AS	AM05670-SS
AD04459	AM05673-AS	AM05672-SS

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD04464	AM05677-AS	AM05658-SS
AD04601	AM05884-AS	AM05656-SS
AD04602	AM05885-AS	AM05656-SS
AD04603	AM05886-AS	AM05656-SS
AD04604	AM05887-AS	AM05893-SS
AD04605	AM05888-AS	AM05893-SS
AD04606	AM05657-AS	AM05894-SS
AD04607	AM05886-AS	AM05894-SS
AD04608	AM05887-AS	AM05895-SS
AD04609	AM05888-AS	AM05895-SS
AD04610	AM05657-AS	AM05896-SS
AD04611	AM05889-AS	AM05897-SS
AD04612	AM05890-AS	AM05897-SS
AD04613	AM05887-AS	AM05898-SS
AD04614	AM05891-AS	AM05899-SS
AD04615	AM05892-AS	AM05899-SS
AD04616	AM05900-AS	AM05672-SS
AD04617	AM05901-AS	AM05646-SS
AD04652	AM05954-AS	AM05958-SS
AD04653	AM05955-AS	AM05958-SS
AD04654	AM05955-AS	AM05959-SS
AD04655	AM05954-AS	AM05960-SS
AD04656	AM05956-AS	AM05959-SS
AD04657	AM05957-AS	AM05959-SS
AD04658	AM05961-AS	AM05965-SS

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD04659	AM05962-AS	AM05965-SS
AD04660	AM05962-AS	AM05966-SS
AD04661	AM05963-AS	AM05966-SS
AD04662	AM05964-AS	AM05967-SS
AD04663	AM05969-AS	AM05968-SS
AD04664	AM05970-AS	AM05968-SS
AD04665	AM05970-AS	AM05971-SS
AD04666	AM05973-AS	AM05972-SS
AD04667	AM05974-AS	AM05971-SS
AD04668	AM05976-AS	AM05975-SS
AD04669	AM05977-AS	AM05975-SS
AD04670	AM05977-AS	AM05978-SS
AD04671	AM05979-AS	AM05978-SS
AD04672	AM05980-AS	AM05978-SS
AD04673	AM05982-AS	AM05981-SS
AD04674	AM05983-AS	AM05981-SS
AD04675	AM05983-AS	AM05984-SS
AD04676	AM05985-AS	AM05984-SS
AD04677	AM05987-AS	AM05986-SS
AD04678	AM05989-AS	AM05988-SS
AD04679	AM05990-AS	AM05988-SS
AD04680	AM05992-AS	AM05991-SS
AD04681	AM05994-AS	AM05993-SS
AD04682	AM05996-AS	AM05995-SS
AD04683	AM05998-AS	AM05997-SS
AD04684	AM05999-AS	AM05997-SS
AD04761	AM06124-AS	AM06127-SS
AD04762	AM06125-AS	AM06128-SS

ID дуплекса	ID антисмысловой цепи	ID смысловой цепи
AD04763	AM06126-AS	AM06129-SS
AD04764	AM06130-AS	AM06132-SS
AD04765	AM06131-AS	AM06132-SS
AD04766	AM06133-AS	AM06135-SS
AD04767	AM06134-AS	AM06136-SS
AD04768	AM06137-AS	AM06138-SS
AD04769	AM06137-AS	AM06139-SS
AD04770	AM06140-AS	AM06141-SS
AD04805	AM05673-AS	AM06195-SS
AD04824	AM05887-AS	AM06223-SS
AD04825	AM05900-AS	AM06224-SS
AD04826	AM05889-AS	AM06225-SS
AD04827	AM05888-AS	AM06223-SS
AD04828	AM05887-AS	AM06226-SS
AD04829	AM06227-AS	AM06229-SS
AD04830	AM06228-AS	AM06229-SS
AD04831	AM06228-AS	AM06230-SS
AD04832	AM05673-AS	AM06231-SS
AD04833	AM05889-AS	AM06232-SS
AD04834	AM06227-AS	AM06230-SS
AD04836	AM06234-AS	AM06195-SS
AD04837	AM06235-AS	AM06236-SS
AD04838	AM06237-AS	AM06239-SS
AD04839	AM05673-AS	AM06239-SS
AD04840	AM06238-AS	AM06223-SS
AD04857	AM06261-AS	AM06223-SS

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ получают или предоставляют в форме соли, смешанной соли или свободной кислоты. Средства для РНКи, описанные в настоящем описании, при доставке в клетку, экспрессирующую ген ААТ, осуществляют ингибирование или нокдаун экспрессии одного или нескольких генов ААТ *in vivo*.

#### **Нацеливающие группы, связывающие группы и носители для доставки**

В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ является конъюгированным с одной или несколькими не относящимися

к нуклеотидам группами, включая, но без ограничения, нацеливающую группу, связывающую группу, полимер для доставки или носитель для доставки. Не относящаяся к нуклеотидам группа может улучшать нацеливание, доставку или присоединение средства для РНКи. Примеры нацеливающих групп и связывающих групп представлены в таблице 7. Не относящаяся к нуклеотидам группа может являться ковалентно связанной с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи и/или антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, средство для РНКи ААТ содержит не относящуюся к нуклеотидам группу, связанную с 3'- и/или 5'-концом смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления, не относящаяся к нуклеотидам группа связана с 5'-концом смысловой цепи средства для РНКи ААТ. Не относящаяся к нуклеотидам группа может быть связана напрямую или опосредованно со средством для РНКи посредством линкера/связывающей группы. В некоторых вариантах осуществления, не относящаяся к нуклеотидам группа связана со средством для РНКи посредством лабильных, расщепляемых или обратимых связи или линкера.

В некоторых вариантах осуществления, не относящаяся к нуклеотидам группа улучшает свойства фармакокинетики или биораспределения средства для РНКи или конъюгата, с которым она связана, для улучшения специфического для клетки или ткани распределения и специфического для клетки поглощения средства для РНКи или конъюгата. В некоторых вариантах осуществления, не относящаяся к нуклеотидам группа улучшает эндоцитоз средства для РНКи.

Нацеливающие группы или нацеливающие мотивы могут улучшать свойства фармакокинетики или биораспределения конъюгата или средства для РНКи, с которым они связаны, для улучшения специфического для клетки распределения и специфического для клетки поглощения конъюгата или средства для РНКи. Нацеливающая группа может являться одновалентной, двухвалентной, трехвалентной, тетравалентной, или иметь более высокую валентность для мишени, на которую она направлена. Репрезентативные нацеливающие группы включают, без ограничения,

соединения с аффинностью для молекул поверхности клетки, лиганды клеточных рецепторов, гаптены, антитела, моноклональные антитела, фрагменты антител и миметики антител с аффинностью для молекул поверхности клетки. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа является связанной со средством для РНКи с использованием линкера, такого как линкер PEG, или одного, двух или трех лишенных азотистого основания остатков и/или остатков рибита (лишенной азотистого основания рибозы), которые в некоторых случаях могут служить в качестве линкеров. В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа содержит кластер производного галактозы.

Можно синтезировать средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, имеющие реакционноспособную группу, такую как аминогруппа, на 5'-конце. Реакционноспособную группу можно использовать для последующего присоединения нацеливающей группы с использованием способов, типичных в данной области.

В некоторых вариантах осуществления, нацеливающая группа содержит лиганд рецептора асиалогликопротеина. В некоторых вариантах осуществления, лиганд рецептора асиалогликопротеина включает или состоит из одного или нескольких производных галактозы. В рамках изобретения, термин производное галактозы включает как галактозу, так и производные галактозы, имеющие аффинность для рецептора асиалогликопротеина, равную или выше аффинности галактозы. Производные галактозы включают, но без ограничения: галактозу, галактозамин, N-формилгалактозамин, N-ацетилгалактозамин, N-пропионилгалактозамин, N-n-бутаноилгалактозамин, и N-изобутаноилгалактозамин (см., например: S.T. Iobst and K. Drickamer, J.B.C., 1996, 271, 6686). Производные галактозы и кластеры производных галактозы, которые можно использовать для нацеливания *in vivo* олигонуклеотидов и других молекул на печень, известны в данной области (см., например, Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945).

Производные галактозы использовали для нацеливания молекул на гепатоциты *in vivo* посредством их связывания с рецептором

асиалогликопротеина, экспрессированным на поверхности гепатоцитов. Связывание лигандов рецепторов асиалогликопротеина с рецептором (рецепторами) асиалогликопротеина облегчает специфическое для клетки нацеливание на гепатоциты и эндоцитоз молекулы в гепатоциты. Лиганды рецепторов асиалогликопротеина могут являться мономерными (например, имеющими одно производное галактозы) или мультимерными (например, имеющими множество производных галактозы). Производное галактозы или кластер производного галактозы можно присоединять к 3'- или 5'-концу смысловой или антисмысловой цепи средства для РНКи с использованием способов, известных в данной области. Получение нацеливающих групп, таких как кластеры производного галактозы, описано, например, в Патентной заявке США серийный No. 15/452324 и Публикации патента США No. US 2017/0253875, полное содержание обоих из которых приведено в настоящем описании в качестве ссылки.

В рамках изобретения, кластер производного галактозы содержит молекулу, имеющую от двух до четырех концевых производных галактозы. Концевое производное галактозы присоединено к молекуле через ее атом углерода C-1. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы представляет собой тример производного галактозы (также обозначаемый как трехантенное производное галактозы или трехвалентное производное галактозы). В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы содержит N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы содержит три N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы представляет собой тетрамер производного галактозы (также обозначаемый как тетраантенное производное галактозы или тетравалентное производное галактозы). В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы содержит четыре N-ацетилгалактозамина.

В рамках изобретения, тример производного галактозы содержит три производных галактозы, где каждое связано с

центральной точкой ветвления. В рамках изобретения, тетрамер производного галактозы содержит четыре производных галактозы, где каждое связано с центральной точкой ветвления. Производные галактозы могут быть связаны с центральной точкой ветвления через атомы углерода C-1 сахаридов. В некоторых вариантах осуществления, производные галактозы связаны с точкой ветвления посредством линкеров или спейсеров. В некоторых вариантах осуществления, линкер или спейсер представляет собой гибкий гидрофильный спейсер, такой как группа PEG (см., например, Патент США No. 5885968; Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546). В некоторых вариантах осуществления, спейсер PEG представляет собой спейсер PEG<sub>3</sub>. Точка ветвления может представлять собой любую небольшую молекулу, которая позволяет присоединение трех производных галактозы, и кроме того, позволяет присоединение точки ветвления к средству для РНКи. Примером группы точки ветвления является дилизин или диглутамат. Присоединение точки ветвления к средству для РНКи можно осуществлять посредством линкера или спейсера. В некоторых вариантах осуществления, линкер или спейсер содержит гибкий гидрофильный спейсер, такой как, но без ограничения, спейсер PEG. В некоторых вариантах осуществления, линкер содержит жесткий линкер, такой как циклическая группа. В некоторых вариантах осуществления, производное галактозы содержит или состоит из N-ацетилгалактозамина. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы состоит из тетрамера производного галактозы, который может представлять собой, например, тетрамер N-ацетилгалактозамина.

Варианты осуществления по настоящему описанию относятся к фармацевтическим композициям для доставки средства для РНКи ААТ в клетку печени *in vivo*. Такие фармацевтические композиции могут включать, например, средство для РНКи ААТ, конъюгированное с кластером производного галактозы. В некоторых вариантах осуществления, кластер производного галактозы состоит из тримера производного галактозы, который может представлять собой, например, тример N-ацетилгалактозамина, или тетрамера

производного галактозы, который может представлять собой, например, тетрамер N-ацетилгалактозамина.

Нацеливающие группы включают, но без ограничения, (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39) и (NAG39)s, как определено в таблице 7. Другие нацеливающие группы, включающие нацеливающие лиганды из кластера галактозы, известны в данной области.

В некоторых вариантах осуществления, связывающая группа является конъюгированной со средством для РНКи. Связывающая группа облегчает ковалентное связывание средства с нацеливающей группой или полимером для доставки, или носителем для доставки. Связывающая группа может являться связанной с 3'- или 5'-концом смысловой цепи или антисмысловой цепи средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, связывающая группа связана со смысловой цепью средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, связывающая группа является конъюгированной с 5'- или 3'-концом смысловой цепи средства для РНКи. В некоторых вариантах осуществления, связывающая группа является конъюгированной с 5'-концом смысловой цепи средства для РНКи. Примеры связывающих групп могут включать, но без ограничения: реакционноспособные группы, такие как первичные амины и алкины, алкильные группы, лишенные азотистого основания нуклеотиды, рибит (лишенную азотистого основания рибозу) и/или группы PEG.

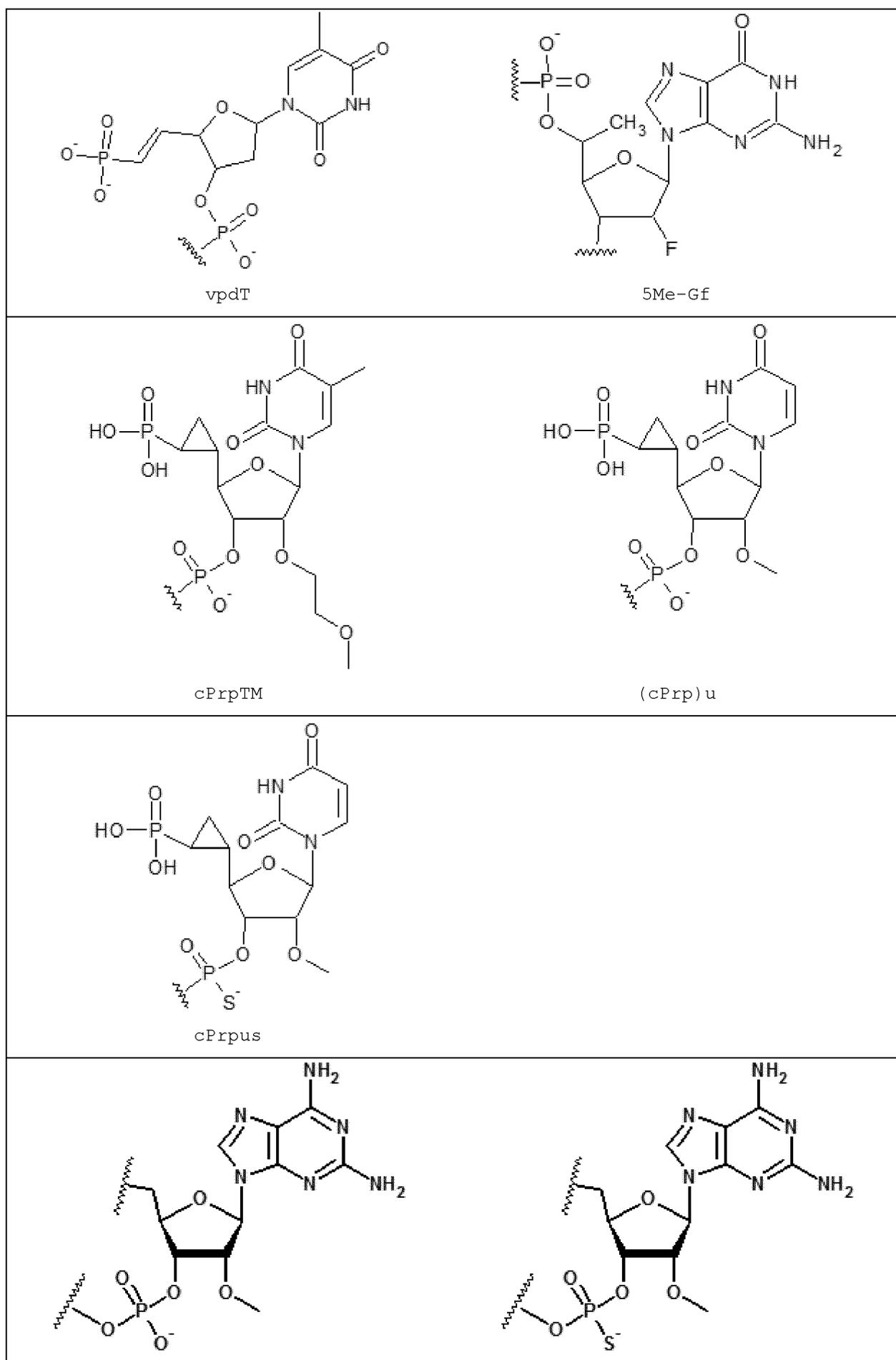
Линкер или связывающая группа представляет собой соединение между двумя атомами, которое связывает одну представляющую интерес химическую группу (такую как средство для РНКи) или фрагмент с другой представляющей интерес химической группой (такой как нацеливающая группа или полимер для доставки) или фрагментом посредством одной или нескольких ковалентных связей. Лабильное присоединение содержит лабильную связь. Присоединение

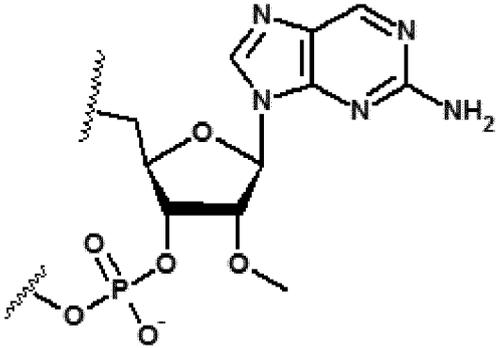
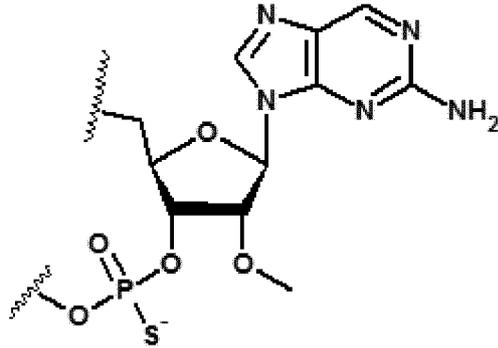
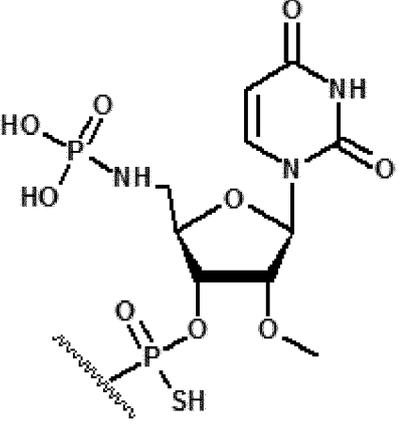
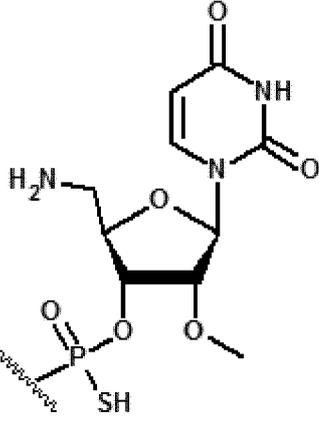
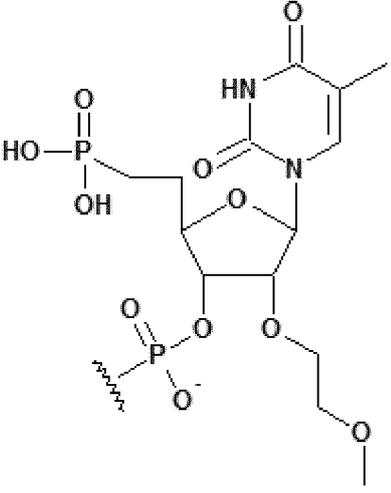
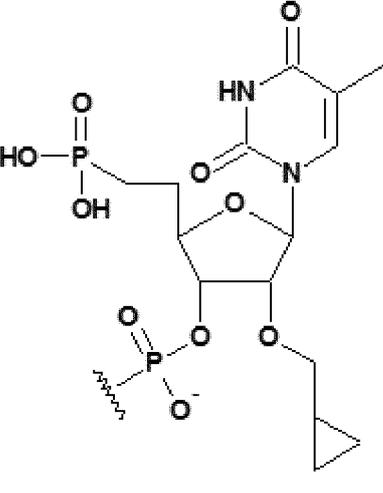
может, необязательно, включать спейсер, который увеличивает расстояние между двумя соединенными атомами. Спейсер может дополнительно добавлять связи гибкость и/или длину. Спейсеры могут включать, но без ограничения, алкильные группы, алкенильные группы, алкинильные группы, арильные группы, аралкильные группы, аралкенильные группы и аралкинильные группы; каждая из которых может содержать один или более гетероатомов, гетероциклов, аминокислот, нуклеотидов и сахаридов. Спейсерные группы хорошо известны в данной области, и предшествующий список не предназначен для ограничения объема описания.

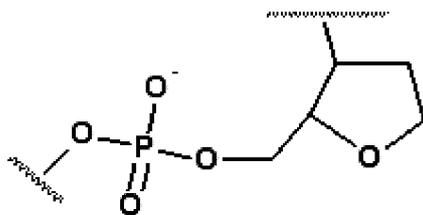
Любые нуклеотидные последовательности средства для РНКи ААТ, перечисленные в таблицах 2, 3, 4 или 5, модифицированные или немодифицированные, могут содержать 3'- или 5'-нацеливающие группы или связывающие группы. Любые последовательности средства для РНКи ААТ, перечисленные в таблицах 4 или 5, содержащие 3'- или 5'-нацеливающую группу или связывающую группу, могут, альтернативно, не содержать 3'- или 5'-нацеливающую группу или связывающую группу, или могут содержать другую 3'- или 5'-нацеливающую группу или связывающую группу, включая, но без ограничения, группы, показанные в таблице 7. Любые дуплексы средств для РНКи ААТ, перечисленные в таблице 2, таблице 3 или таблице 6, модифицированные или немодифицированные, могут дополнительно содержать нацеливающую группу или связывающую группу, включая, но без ограничения, группы, показанные в таблице 7, и нацеливающая группа или связывающая группа может быть присоединена к 3'- или 5'-концу либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи дуплекса средства для РНКи ААТ.

Примеры нацеливающих групп и связывающих групп представлены в таблице 7. В таблице 5 представлено несколько вариантов осуществления смысловых цепей средств для РНКи ААТ, имеющих нацеливающую группу или связывающую группу, связанную с 5'- или 3'-концом.

**Таблица 7.** Структуры, представляющие различные модифицированные нуклеотиды, нацеливающие группы и связывающие группы



<p>a_2N</p>  <p>pu_2N</p>	<p>a_2Ns</p>  <p>pu_2Ns</p>
 <p>Npus</p>	 <p>Nus</p>
 <p>epTM</p>	 <p>epTcPr</p>
<p>При расположении во внутренней части олигонуклеотида:</p> <p style="text-align: center;">связь в направлении 5'-конца олигонуклеотида</p>	

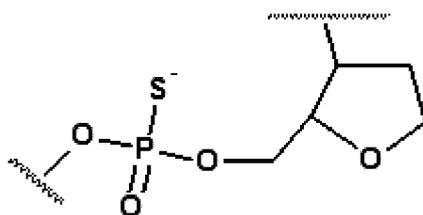


связь в направлении 3'-конца  
олигонуклеотида

(инв. Ab)

При расположении во внутренней части олигонуклеотида:

связь в направлении 5'-конца  
олигонуклеотида

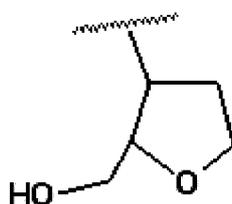


связь в направлении 3'-конца  
олигонуклеотида

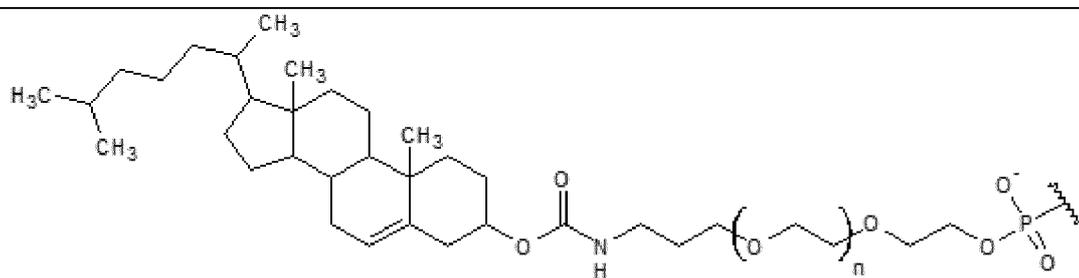
(инв. Ab) s

При расположении на 3'-конце олигонуклеотида:

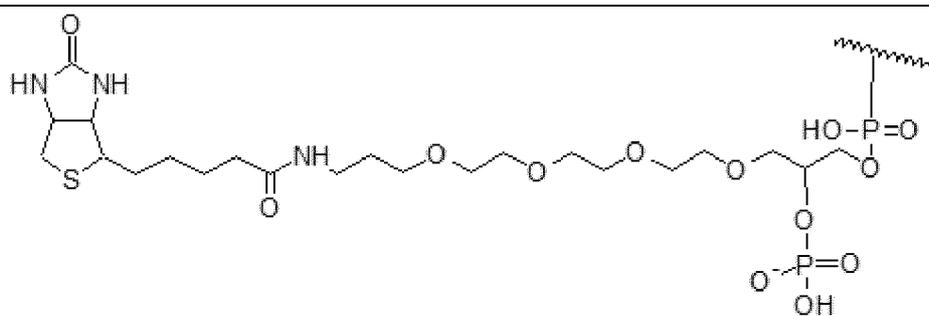
связь в направлении 5'-конца олигонуклеотида



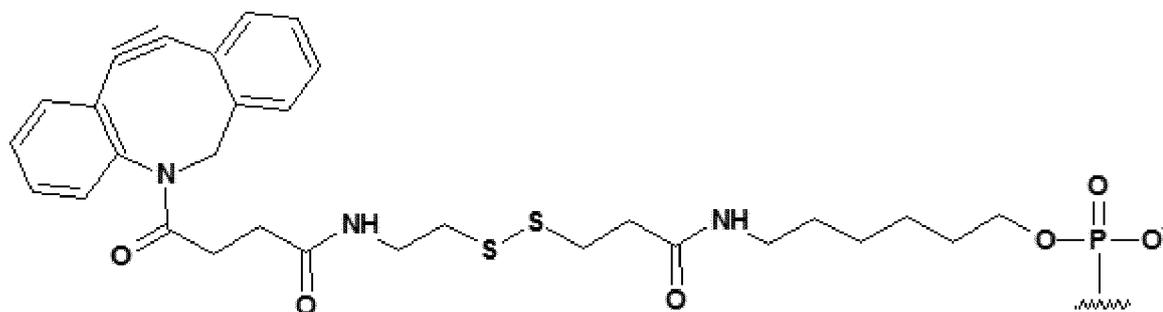
(инв. Ab)



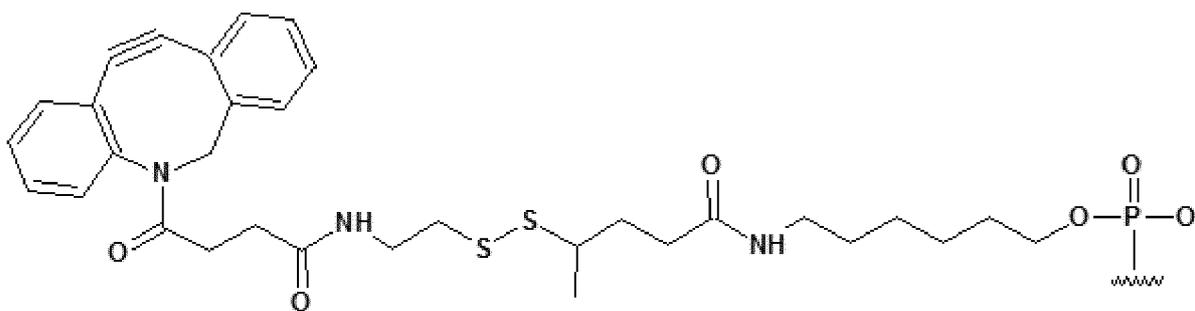
(Chol-TEG)



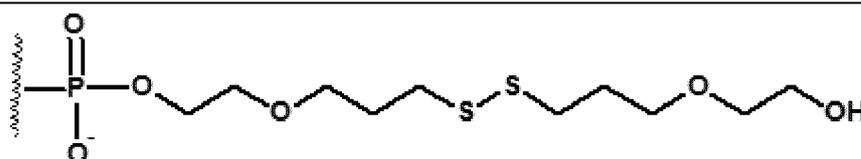
(ТЕG-биотин)



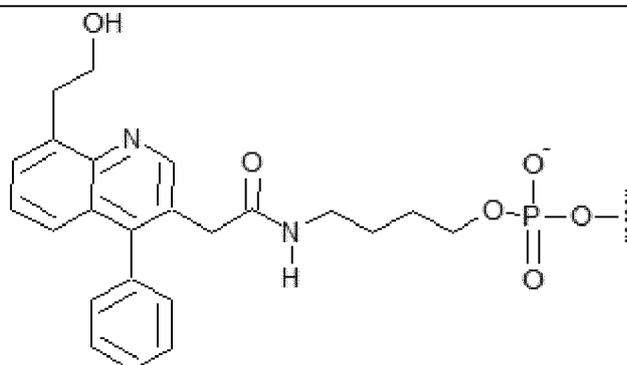
(C6-SS-Alk) или (Alk-SS-C6)



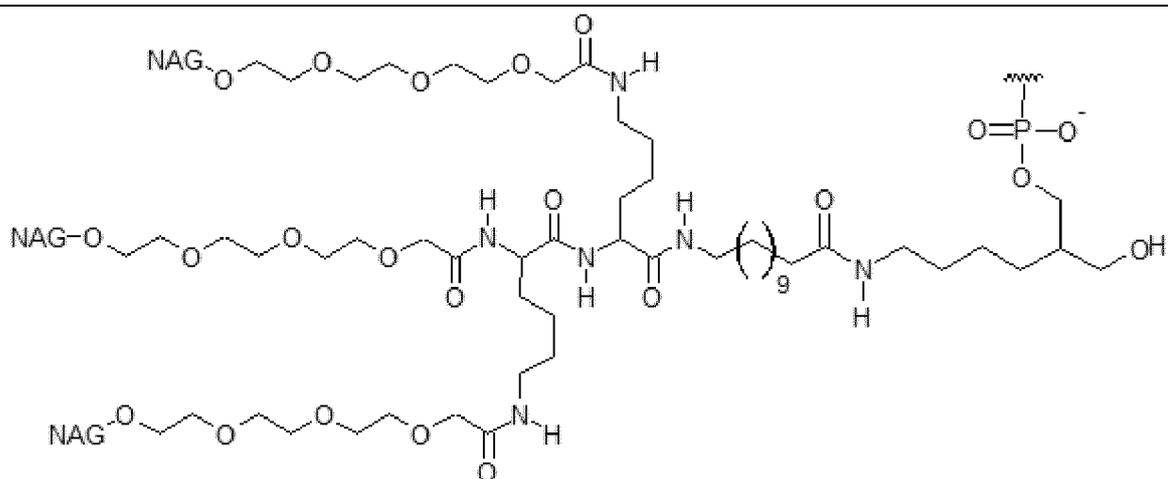
(C6-SS-Alk-Me)



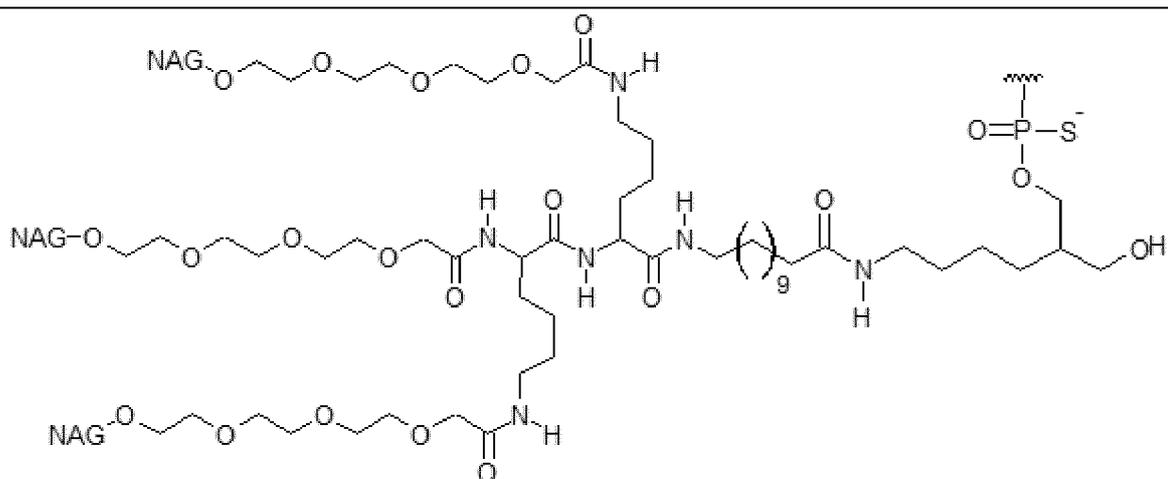
(PEG-C3-SS)



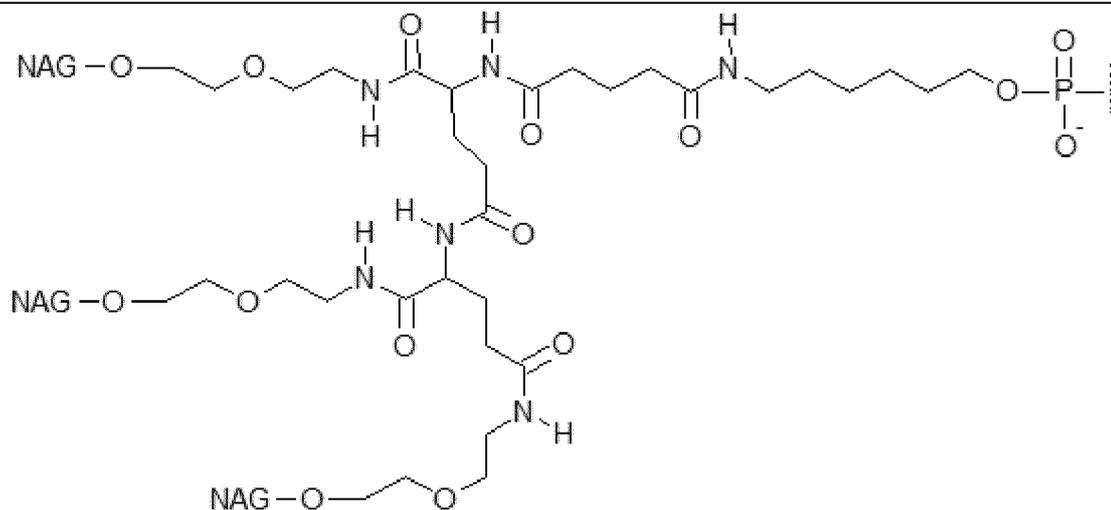
(PAZ)



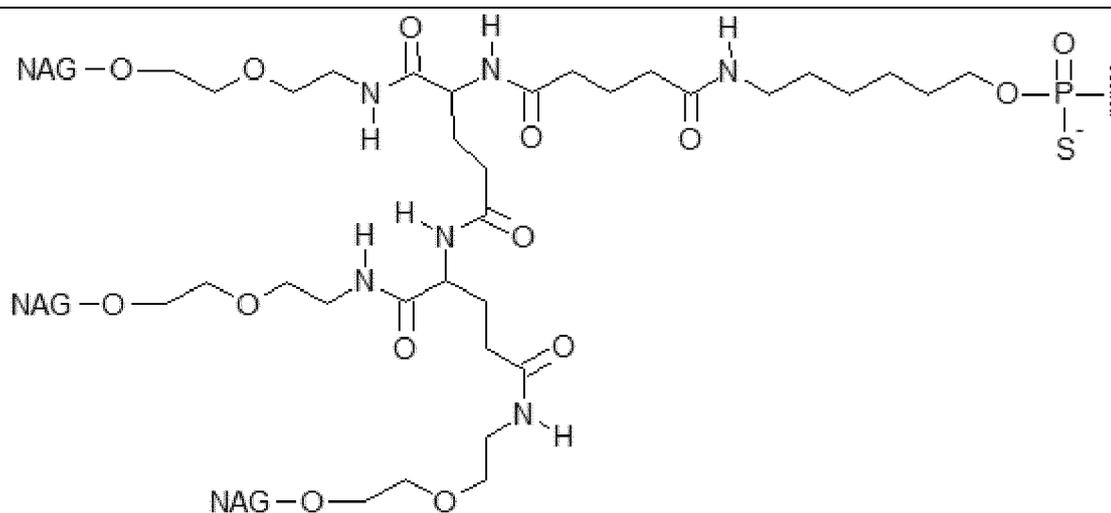
(NAG13)



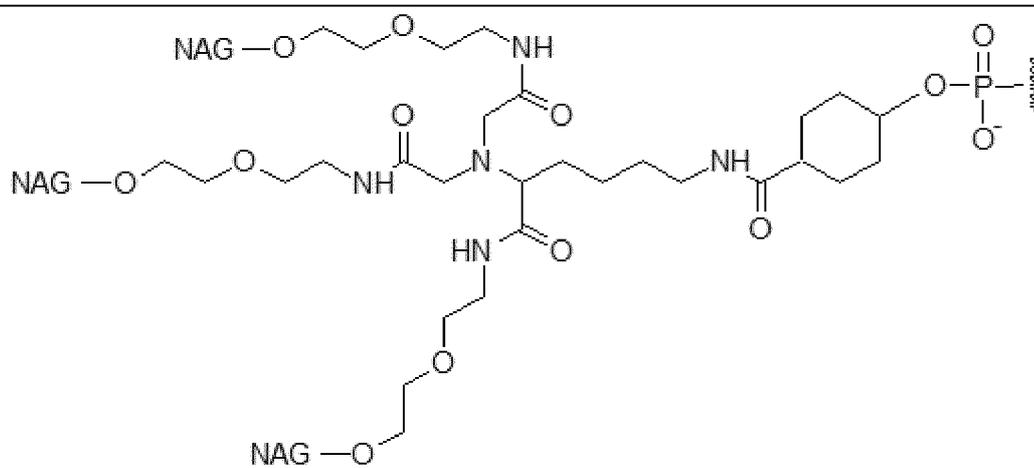
(NAG13) s



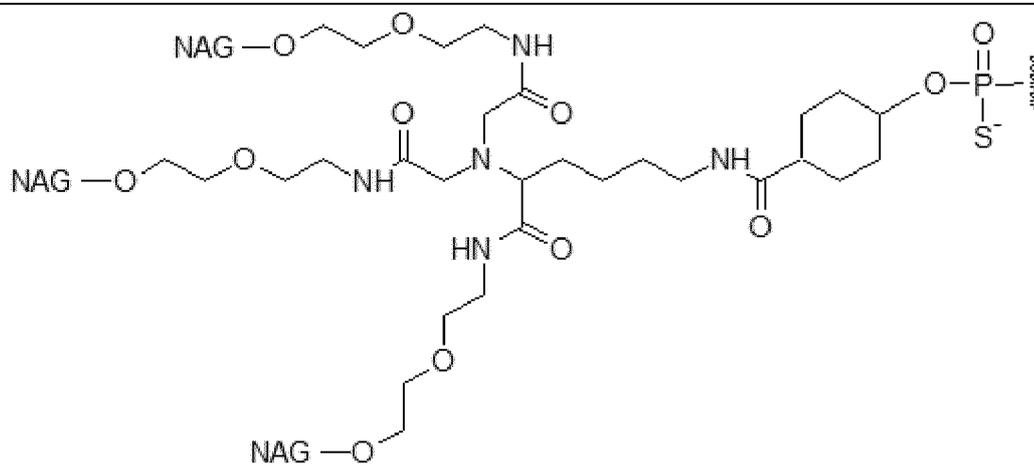
(NAG18)



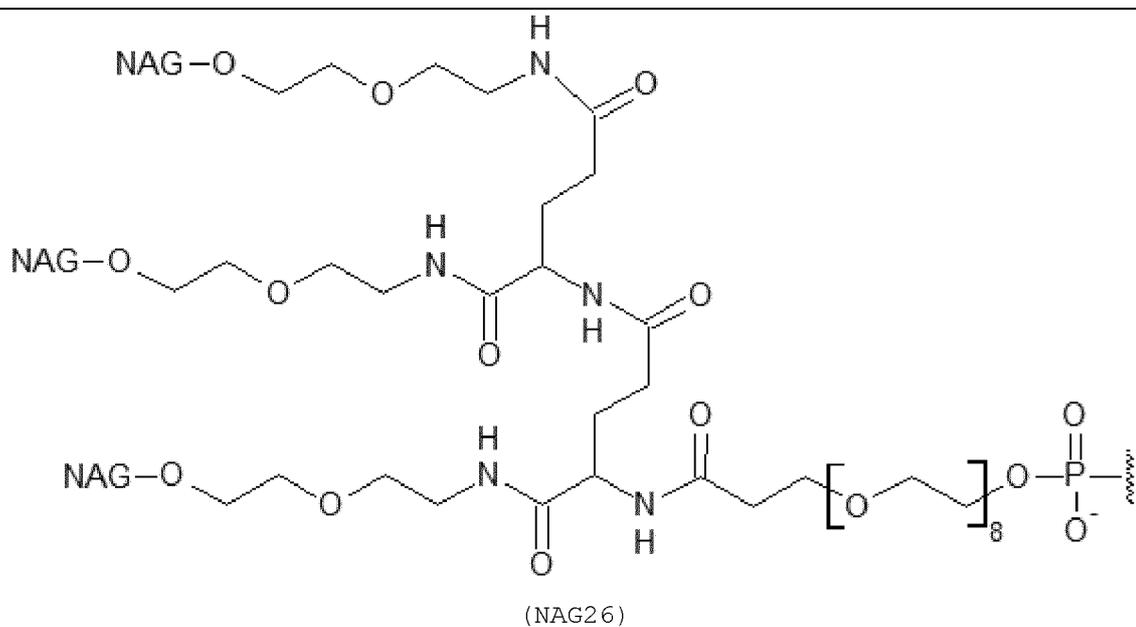
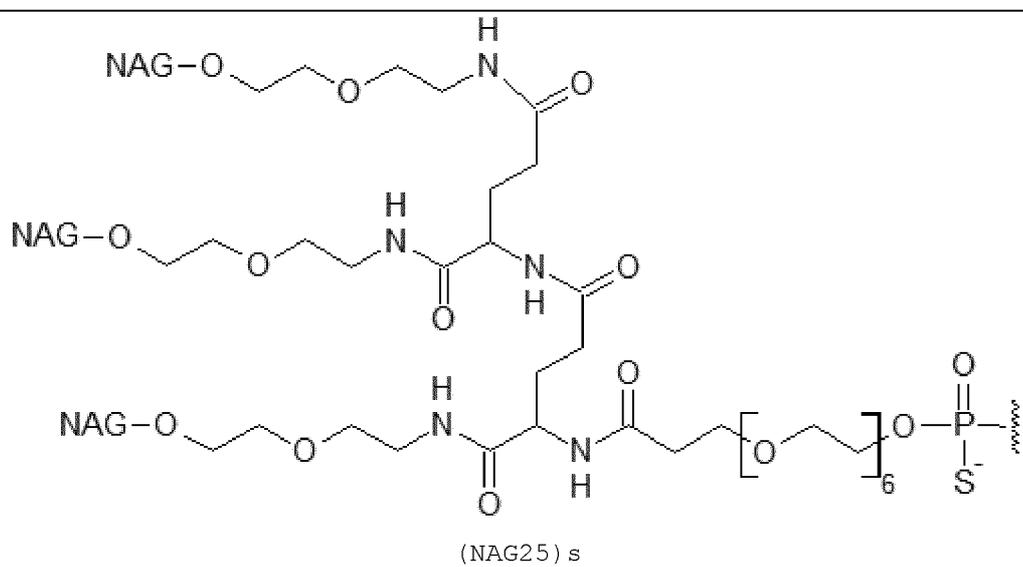
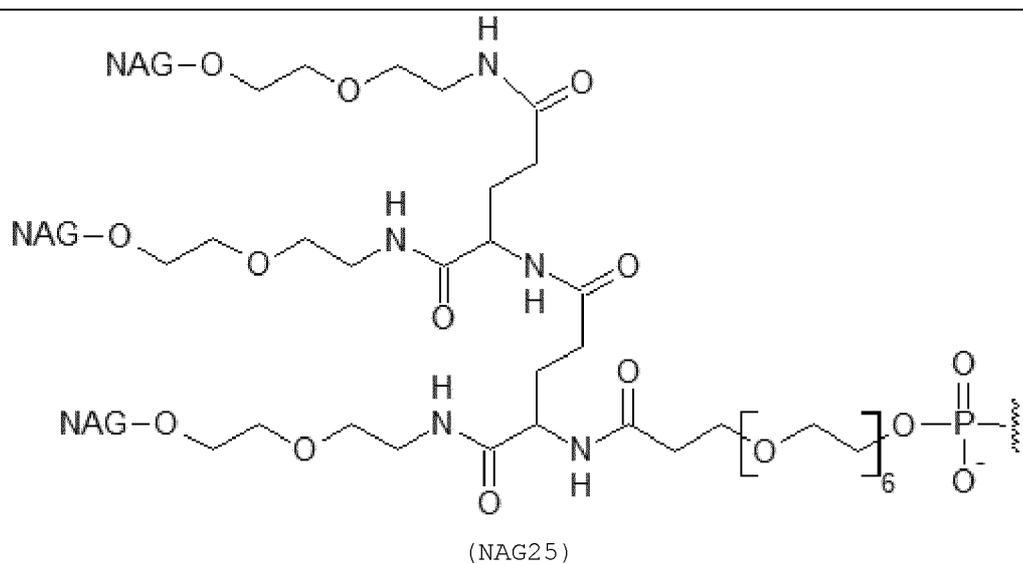
(NAG18) s

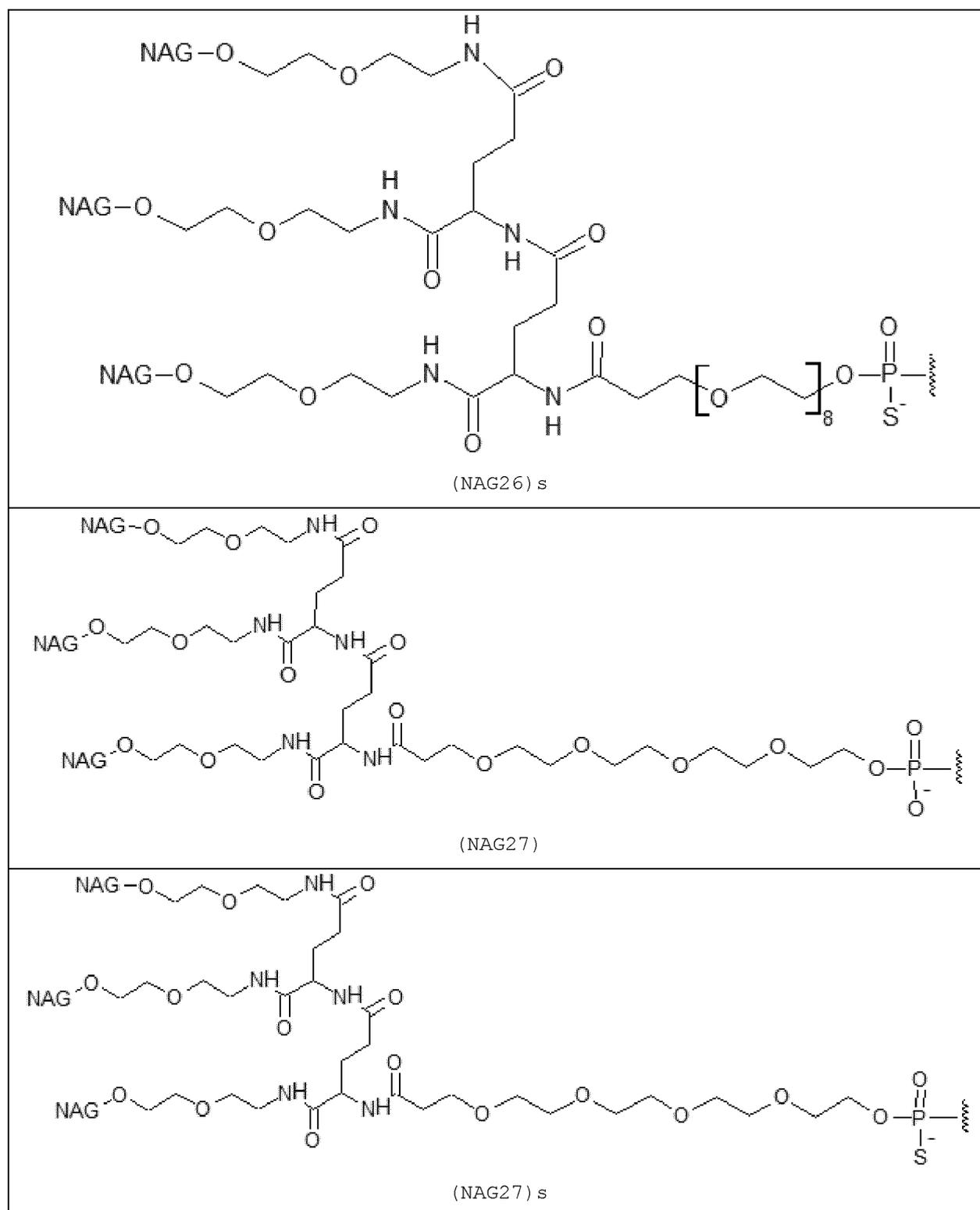


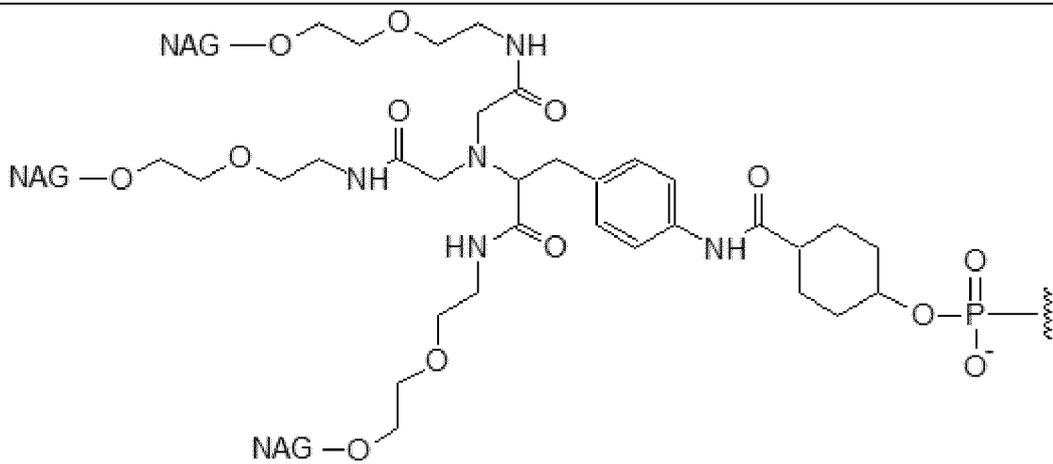
(NAG24)



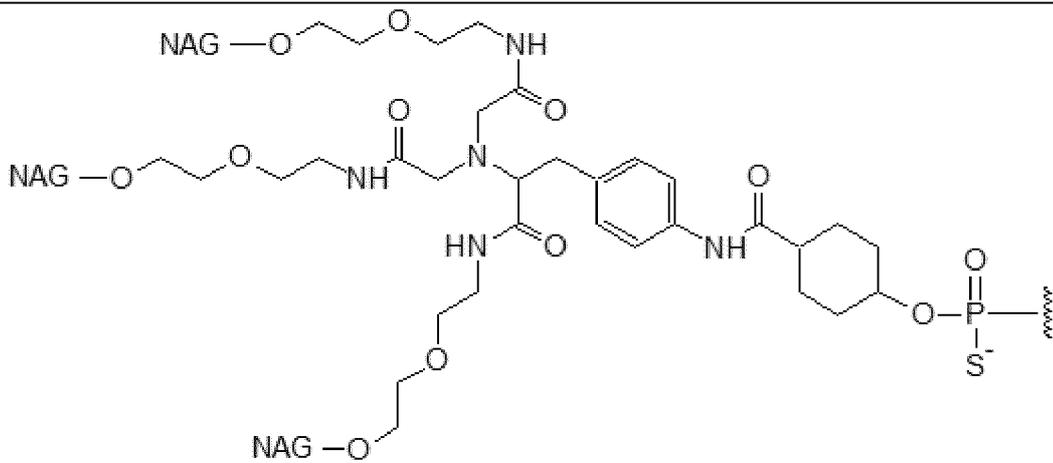
(NAG24) s



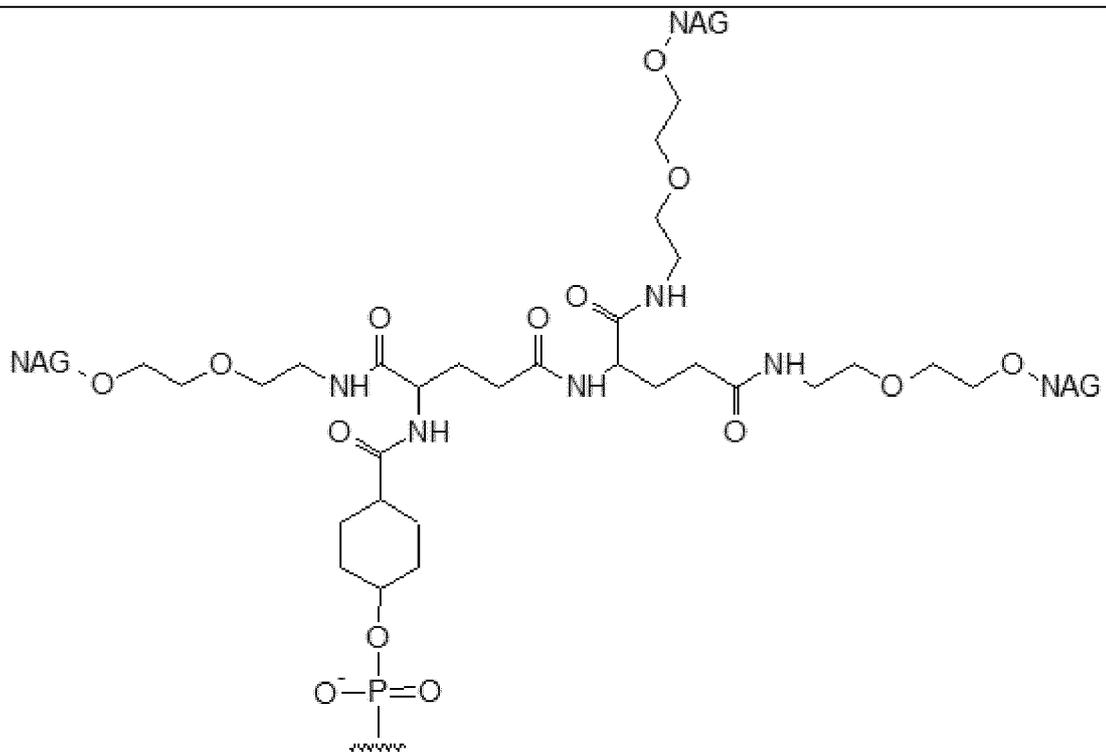




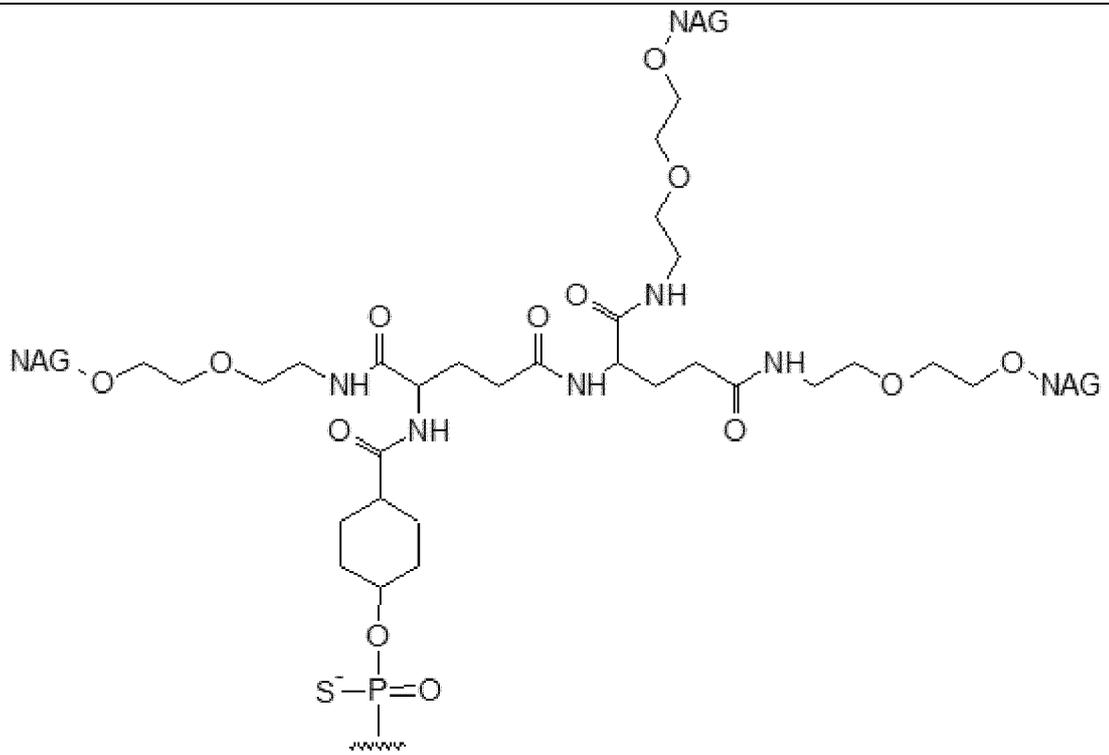
(NAG28)



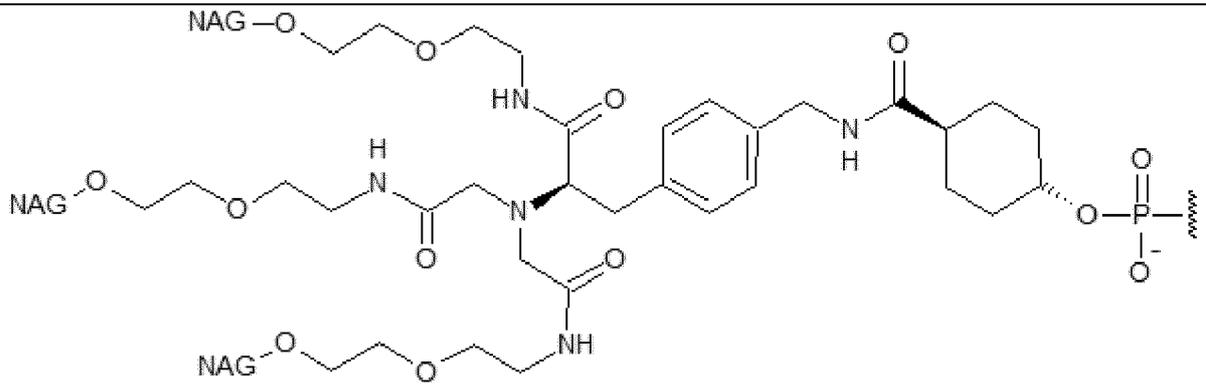
(NAG28) s



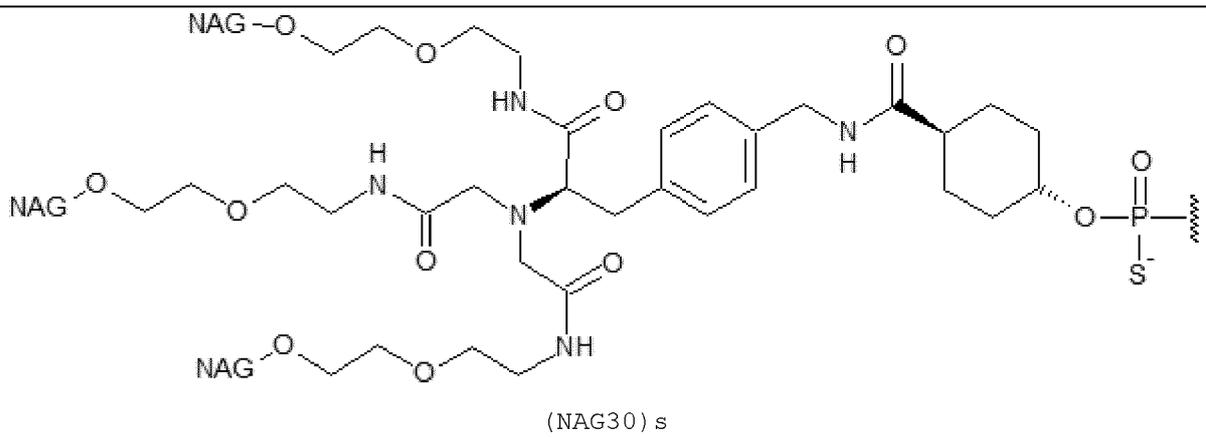
(NAG29)



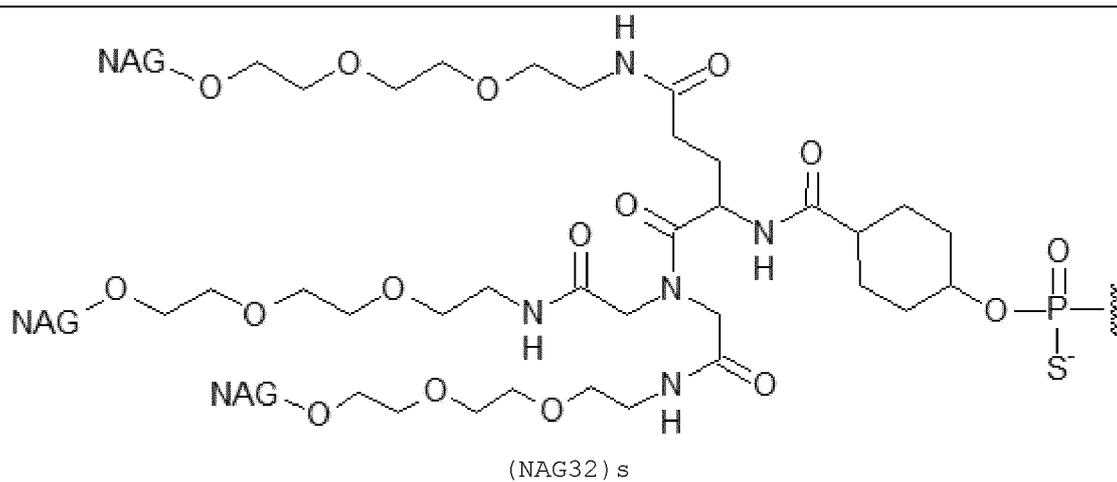
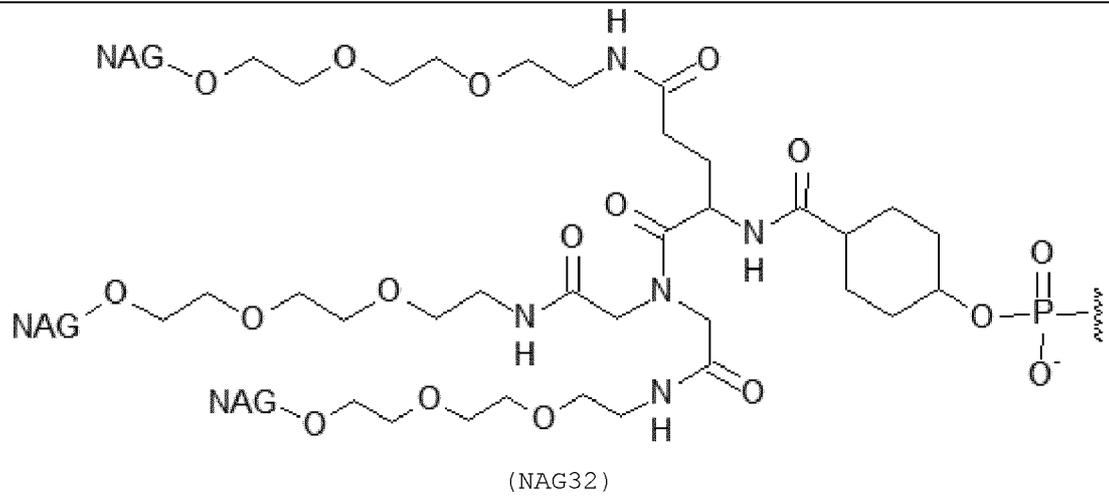
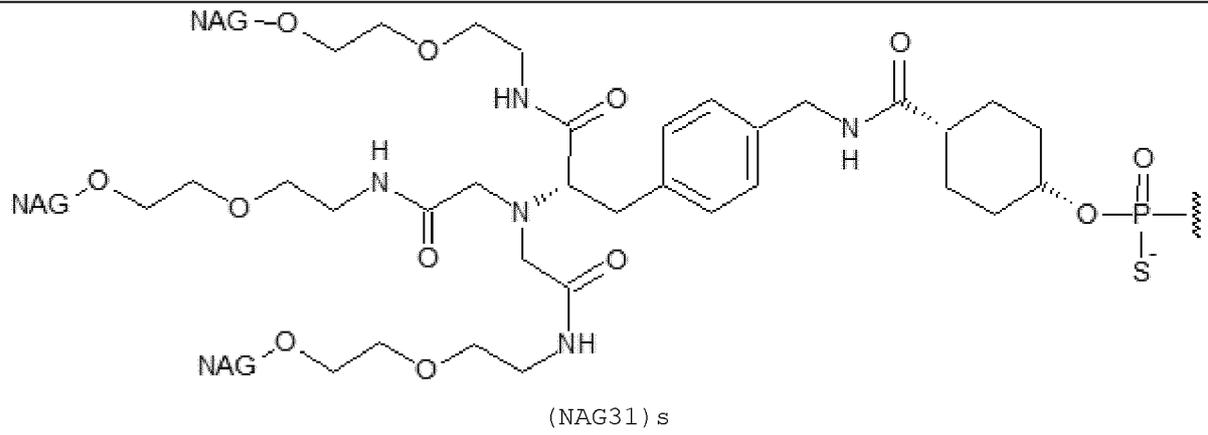
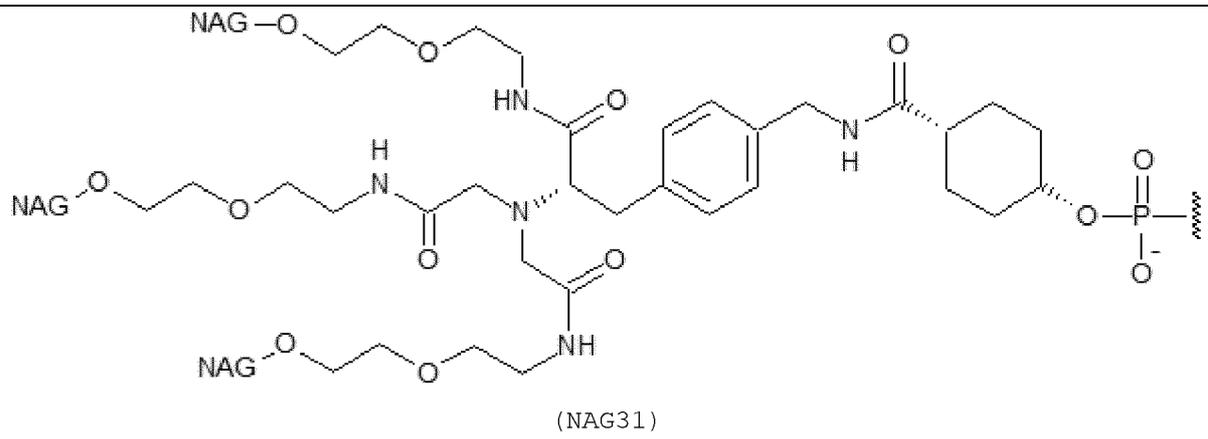
(NAG29) s

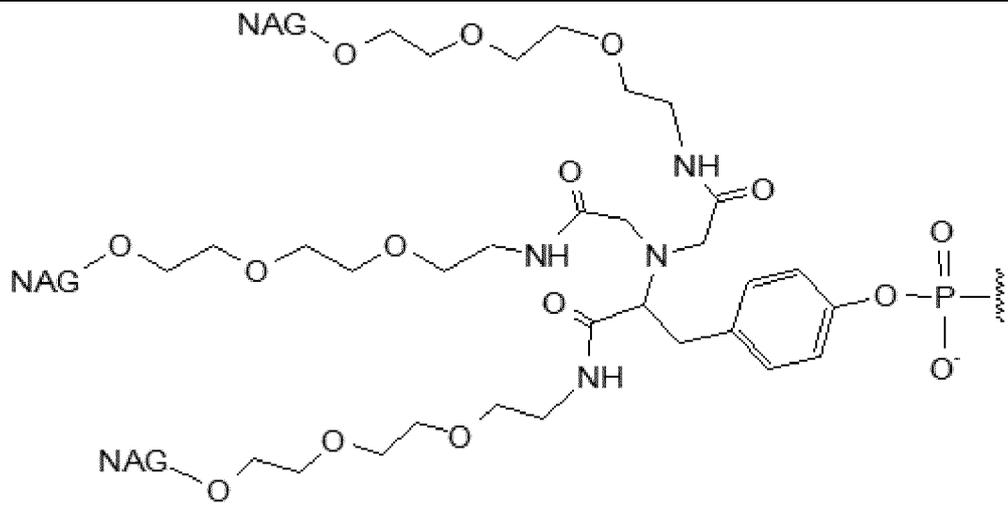


(NAG30)

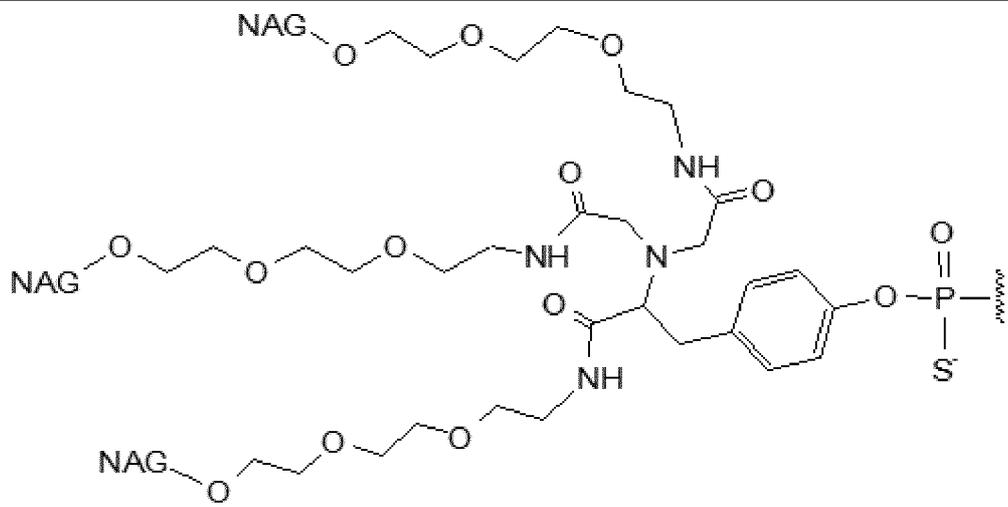


(NAG30) s

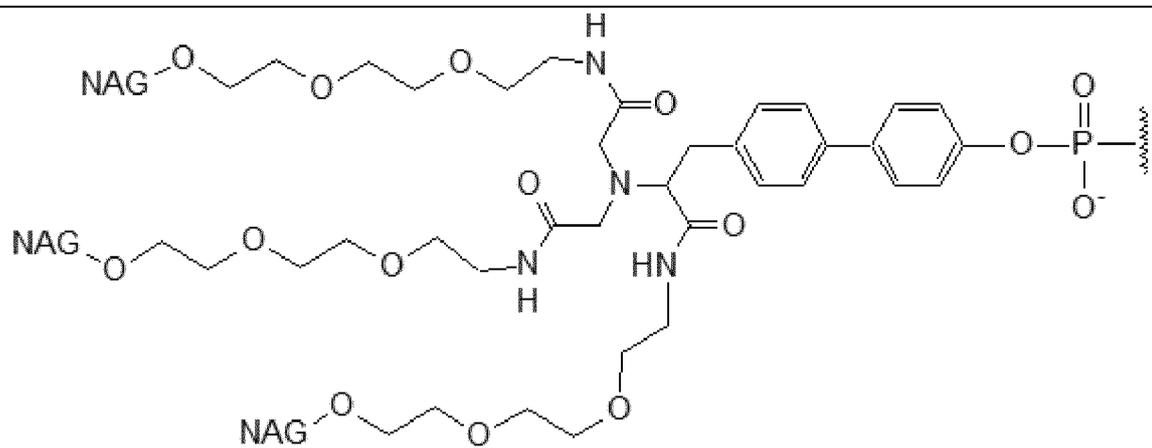




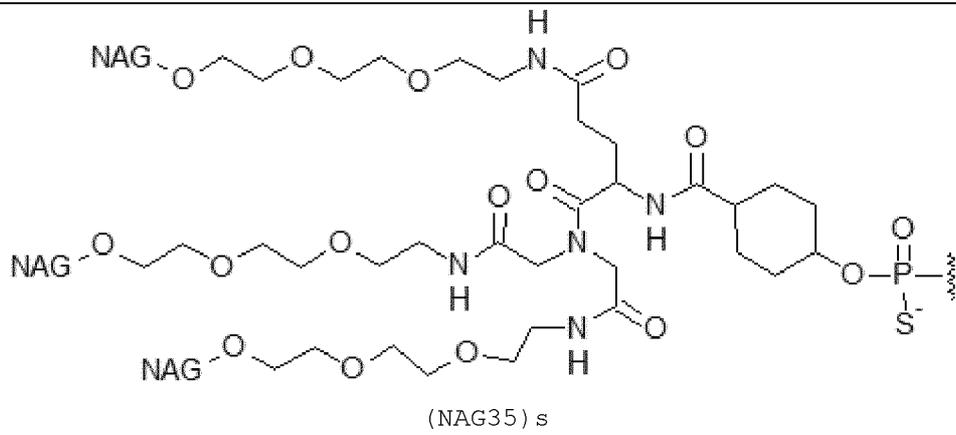
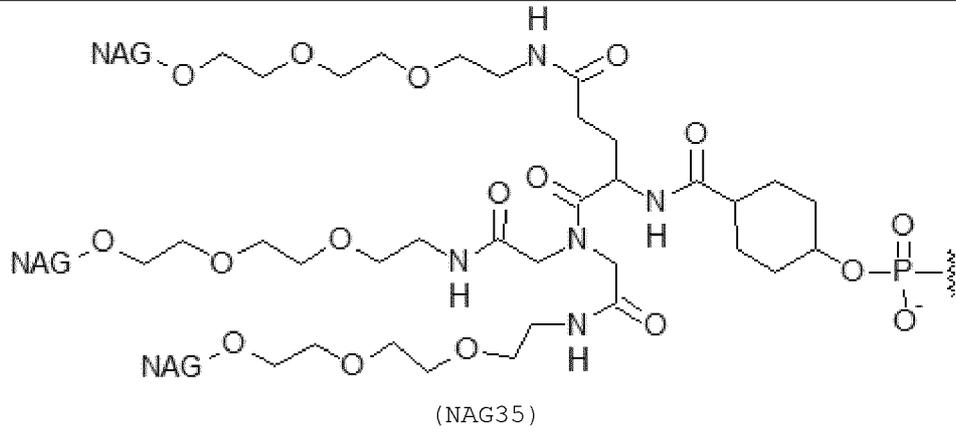
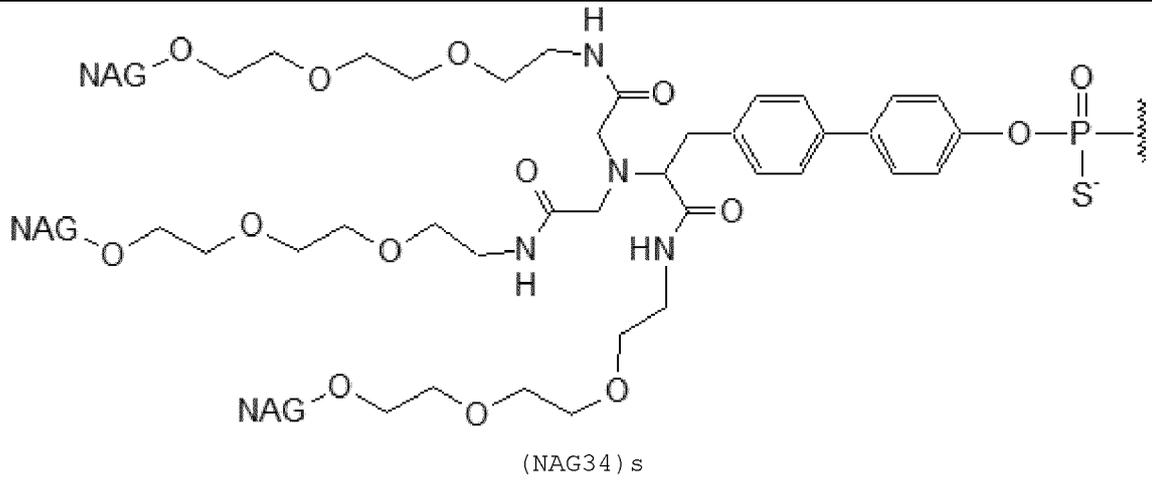
(NAG33)

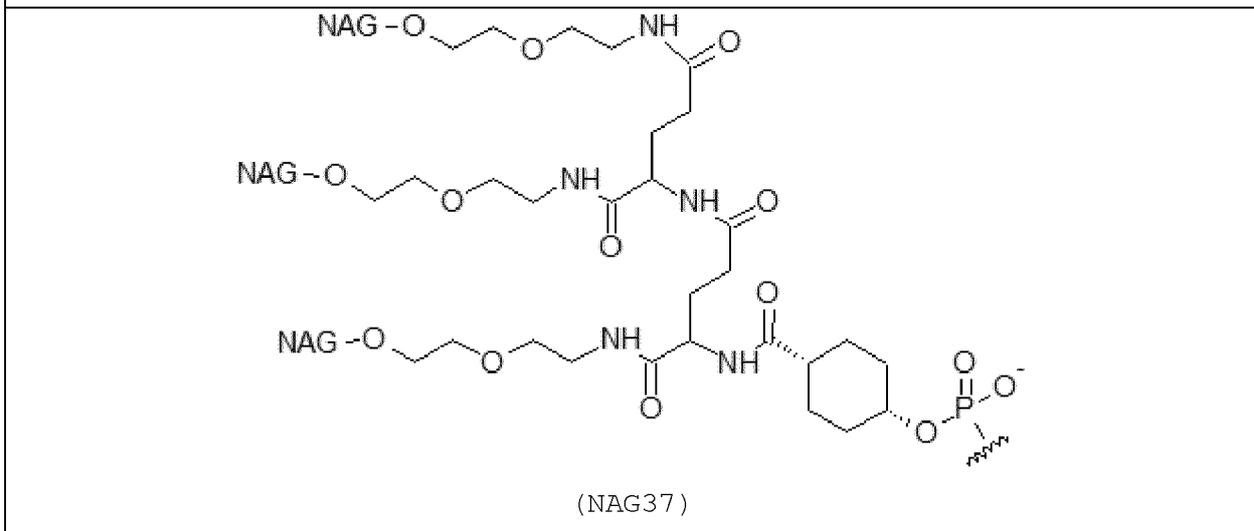
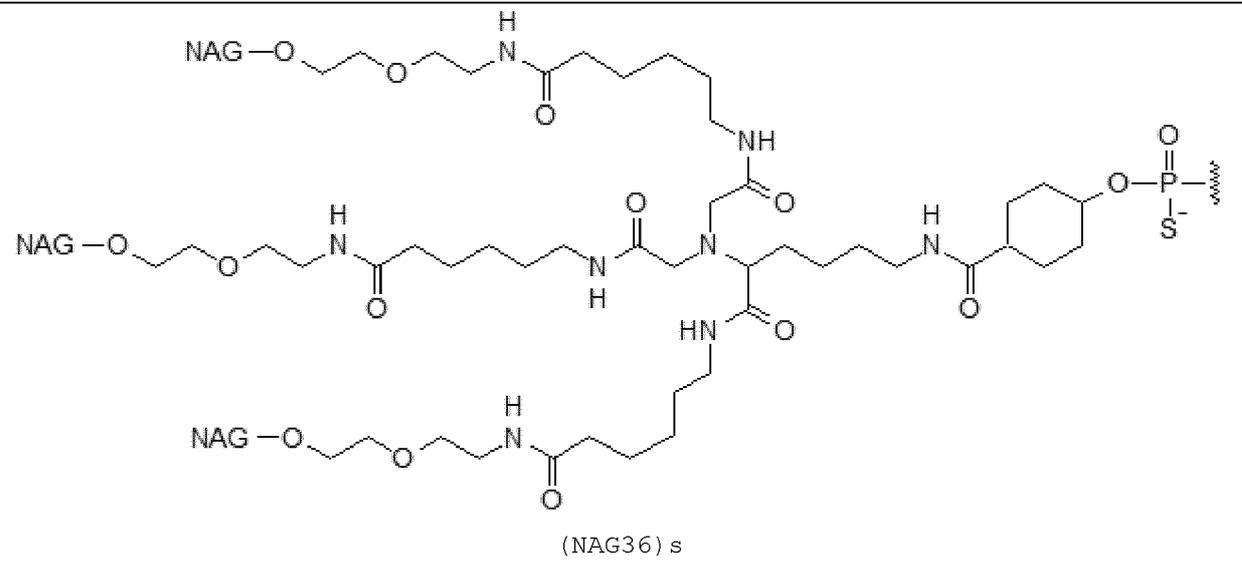
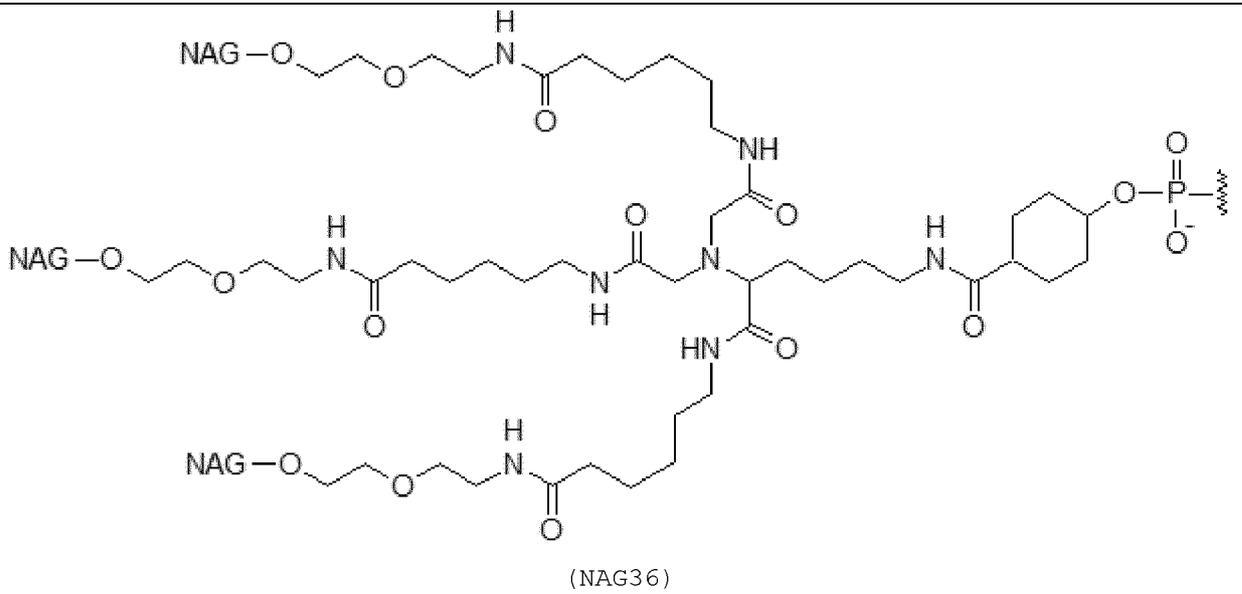


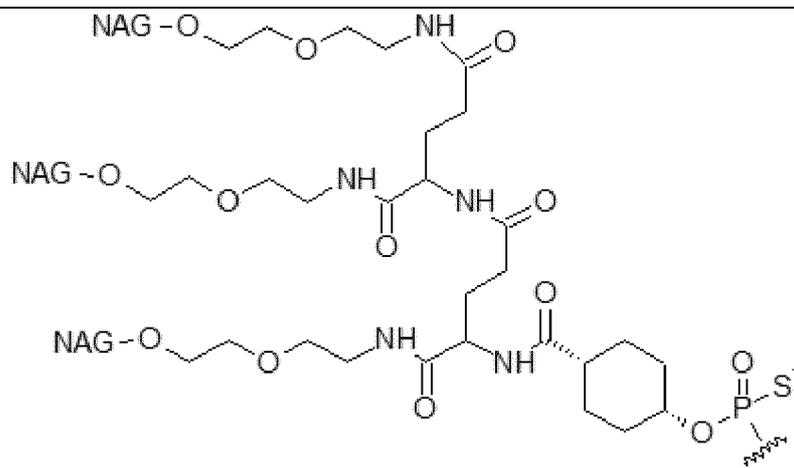
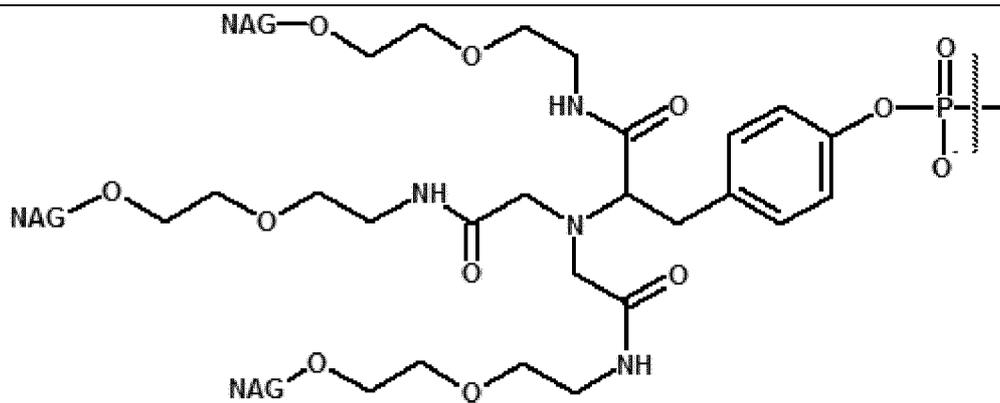
(NAG33) s



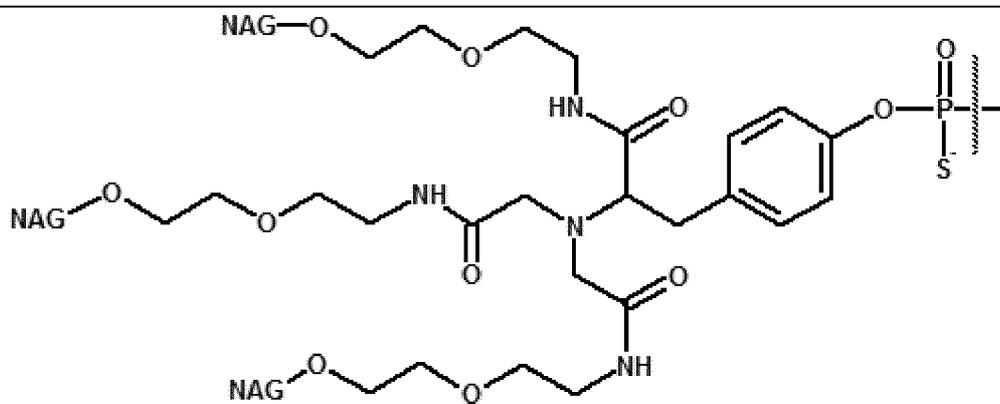
(NAG34)

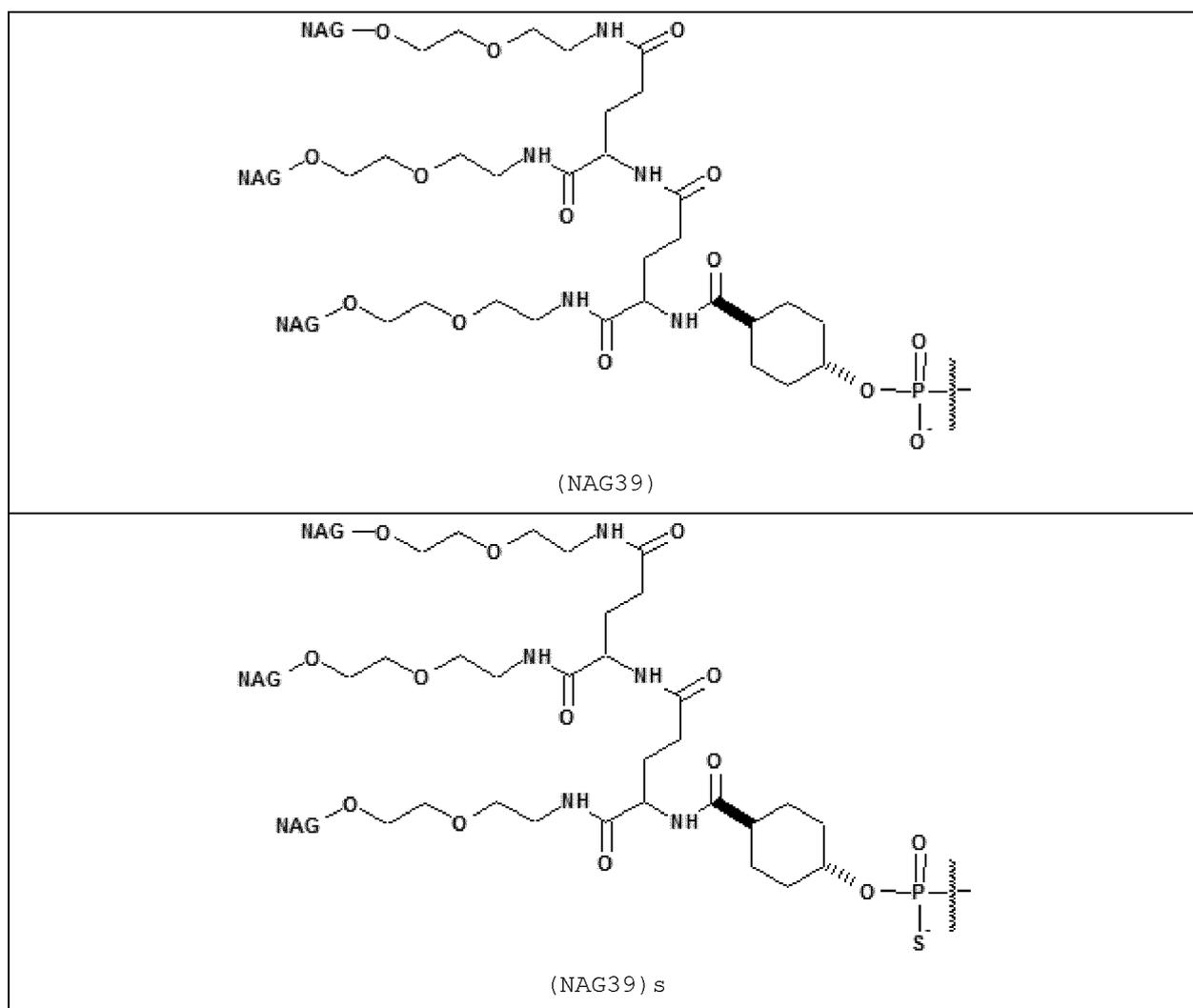




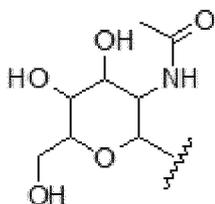
(NAG37) *s*

(NAG 38)

(NAG 38) *s*

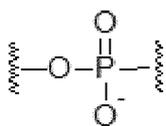


В каждой из вышеуказанных структур в таблице 7, NAG содержит N-ацетилгалактозамин или другой лиганд рецептора асиалогликопротеина, для присоединения, как понятно специалисту в данной области с учетом вышеуказанных структур и описания, представленного в настоящем документе. Например, в некоторых вариантах осуществления, NAG в структурах, представленных в таблице 7, представлен следующей структурой:

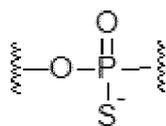


(N-ацетилгалактозамин)

Каждый (NAGx) может быть присоединен к средству для РНКи ААТ посредством фосфатной группы (как (NAG25), (NAG30) и (NAG31)) или фосфототиоатной группы (как (NAG25)s, (NAG29)s, (NAG30)s, (NAG31)s или (NAG37)s), или другой связывающей группы.



Фосфатная группа



Фосфотиоатная группа

Можно использовать другие связывающие группы, известные в данной области.

В некоторых вариантах осуществления, носитель для доставки можно использовать для доставки средства для РНКи в клетку или ткань. Носитель для доставки представляет собой соединение, улучшающее доставку средства для РНКи в клетку или ткань. Носитель для доставки может включать или состоять из, но без ограничения: полимера, такого как амфипатический полимер, мембраноактивного полимера, пептида, пептида меллитина, подобного меллитину пептида (MLP), липида, обратимо модифицированного полимера или пептида, или обратимо модифицированного мембраноактивного полиамина. В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи можно комбинировать с липидами, наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, DPC или другими системами для доставки, доступными в данной области. Средства для РНКи можно также химически конъюгировать с нацеливающими группами, липидами (включая, но без ограничения, холестерин и производные холестерина), наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, DPC (см., например, WO 2000/053722, WO 2008/0022309, WO 2011/104169, и WO 2012/083185, WO 2013/032829, WO 2013/158141, содержание каждого из которых приведено в настоящем описании в качестве ссылки), или с другими системами для доставки, доступными в данной области.

#### **Фармацевтические композиции и составы**

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, можно получать в форме фармацевтических композиций или составов. В некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции включают по меньшей мере одно средство для РНКи ААТ. Эти фармацевтические композиции являются особенно полезными для ингибирования экспрессии мРНК-мишени в являющихся мишенью клетке, группе клеток, ткани или организме. Фармацевтические композиции можно использовать для лечения пациента, имеющего

заболевание или нарушение, при котором можно обеспечивать преимущества от уменьшения уровня мРНК-мишени или ингибирования экспрессии гена-мишени. Фармацевтические композиции можно использовать для лечения пациента, подверженного риску развития заболевания или нарушения, при котором можно обеспечивать преимущества от уменьшения уровня мРНК-мишени или ингибирования экспрессии гена-мишени. В одном варианте осуществления, способ включает введение средства для РНКи ААТ, связанного с нацеливающим лигандом, как описано в настоящем описании, пациенту, подлежащему лечению. В некоторых вариантах осуществления, один или более фармацевтически приемлемых наполнителей (включая переносчики, носители, разбавители и/или полимеры для доставки) добавляют в фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, таким образом, получая фармацевтический состав, пригодный для доставки *in vivo* пациенту, включая человека.

Фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, и способы, описанные в настоящем описании, уменьшают уровень мРНК-мишени в клетке, в группе клеток, в ткани или у пациента, включая: введение пациенту терапевтически эффективного количества описанного в настоящем описании средства для РНКи ААТ, таким образом, ингибирование экспрессии мРНК ААТ у пациента.

В некоторых вариантах осуществления, описанные фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, используют для лечения или управления течением клинических проявлений у пациента с ААТД, таких как хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточная карцинома, трансаминит, холестаза, фиброз и даже фульминантная печеночная недостаточность. В некоторых вариантах осуществления, терапевтически или профилактически эффективное количество одной или нескольких из фармацевтических композиций вводят пациенту, нуждающемуся в таком лечении. В некоторых вариантах осуществления, введение любого из описанных средств для РНКи ААТ можно использовать для уменьшения количества, тяжести и/или частоты симптомов

заболевания у пациента.

Описанные фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, можно использовать для лечения по меньшей мере одного симптома у пациента, имеющего заболевание или нарушение при котором можно обеспечивать преимущества от уменьшения или ингибирования экспрессии мРНК ААТ. В некоторых вариантах осуществления, пациенту вводят терапевтически эффективное количество одной или нескольких фармацевтических композиций, включающих средство для РНКи ААТ, таким образом, осуществляя лечение симптома. В других вариантах осуществления, пациенту вводят профилактически эффективное количество одного или нескольких средств для РНКи ААТ, таким образом, предотвращая по меньшей мере один симптом.

Способ введения представляет собой путь, посредством которого средство для РНКи ААТ приводят в контакт с организмом. Как правило, способы введения лекарственных средств и нуклеиновых кислот для лечения млекопитающего хорошо известны в данной области и могут быть использованы для введения композиций, описанных в настоящем описании. Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, можно вводить любым подходящим способом в препарате, соответствующим образом скорректированном для конкретного способа. Таким образом, описанные в настоящем описании фармацевтические композиции можно вводить посредством инъекции, например, внутривенной, внутримышечной, внутрикожной, подкожной, внутрисуставной или внутрибрюшинной. В некоторых вариантах осуществления, описанные в настоящем описании фармацевтический композиции вводят посредством подкожной инъекции.

Фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, описанное в настоящем описании, можно доставлять в клетку, в группу клеток, в ткань или пациенту с использованием технологий доставки олигонуклеотидов, известных в данной области. Как правило, любой пригодный способ, известный в данной области для доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*) можно адаптировать для использования вместе с

композициями, описанными в настоящем описании. Например, доставку можно осуществлять способами локального введения, (например, прямой инъекции, имплантации или местного введения), системного введения или подкожного, внутривенного, внутрибрюшинного или парентерального введения, включая интракраниальное (например, интравентрикулярное, интрапаренхимальное и интратекальное), внутримышечное, чрескожное введение, введение в дыхательные пути (аэрозольное), интраназальное, пероральное, ректальное или местное (включая трансбуккальное и подъязычное) введение. В конкретных вариантах осуществления, композиции вводят посредством подкожной или внутривенной инфузии или инъекции.

Соответственно, в некоторых вариантах осуществления, фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, содержат один или более фармацевтически приемлемых наполнителей. фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, составляют для введения пациенту.

В рамках изобретения, фармацевтическая композиция или лекарственное средство включает фармакологически эффективное количество по меньшей мере одного из описанных средств для РНКи ААТ и один или более фармацевтически приемлемых наполнителей. Фармацевтически приемлемые наполнители (расширители) представляют собой вещества, отличные от активного фармацевтического ингредиента (АПИ, терапевтического продукта, например, средства для РНКи ААТ), которые преднамеренно включены в систему доставки лекарственного средства. Наполнители не оказывают или не предназначены для оказания терапевтического эффекта в намеченной дозе. Наполнители могут действовать для а) облегчения манипуляций с системой доставки лекарственного средства в ходе изготовления, б) защиты, поддержки или увеличения стабильности, биодоступности или переносимости АПИ для пациента, с) способствования идентификации продукта и/или d) улучшения любого другого признака общей безопасности, эффективности или доставки АПИ во время хранения или использования. Фармацевтически приемлемый эксципиент может

являться или может не являться инертным веществом.

Наполнители включают, но без ограничения: усилители абсорбции, антиадгезивные средства, средства против пенообразования, антиоксиданты, связующие вещества, забуферивающие средства, носители, покрывающие средства, окрашивающие средства, улучшающие доставку средства, полимеры для доставки, декстран, декстозу, разбавители, дезинтегрирующие средства, эмульгаторы, расширители, наполнители, ароматизаторы, вещества, способствующие скольжению, смачивающие средства, смазывающие средства, масла, полимеры, консерванты, солевой раствор, соли, растворители, сахара, суспендирующие средства, матрицы для замедленного высвобождения, подсластители, загустители, средства для придания тоничности, переносчики, водоотталкивающие средства и увлажняющие средства.

Фармацевтические композиции, пригодные для применения для инъекций, включают стерильные водные растворы (при растворимости в воде) или дисперсии, и стерильные порошки для приготовления непосредственно перед введением стерильных пригодных для инъекции растворов или дисперсии. Для внутривенного введения, пригодные носители включают физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, кремофор® ELTM (BASF, Parsippany, NJ) или фосфатно-солевой буфер (PBS). Они должны являться стабильными в условиях изготовления и хранения, и должны быть защищены против загрязняющего действия микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или диспергирующую среду, содержащие, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их подходящие смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, посредством использования покрытия, такого как лецитин, посредством поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и посредством использования поверхностно-активных веществ. Во многих случаях, может являться предпочтительным включение изотонических средств, например, сахаров, полиспиртов, таких как маннит, сорбит, и хлорида натрия в композицию. Длительную

абсорбцию пригодных для инъекции композиций можно получать посредством включения в композицию средства, замедляющего абсорбцию, например, моностеарата алюминия и желатина.

Стерильные пригодные для инъекции растворы можно получать посредством включения активного соединения в необходимом количестве в подходящем растворителе, с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, по необходимости, с последующей стерилизацией фильтрацией. Как правило, дисперсии получают посредством включения активного соединения в стерильный носитель, который содержит диспергирующую среду-основу и другие необходимые ингредиенты из перечисленных выше. В случае стерильных порошков для получения стерильных пригодных для инъекции растворов, способы получения включают вакуумную сушку и сублимационную сушку, приводящие к получению порошка активного ингредиента плюс любого дополнительного желательного ингредиента из их предварительно простерилизованного фильтрацией раствора.

Составы, пригодные для внутрисуставного введения, могут находиться в форме стерильного водного препарата лекарственного средства, которое может находиться в микрокристаллической форме, например, в форме водной микрокристаллической суспензии. Липосомные составы или системы биоразлагаемых полимеров также можно использовать для представления лекарственного средства как для внутрисуставного, так и для офтальмологического введения.

Препараты активных соединений можно получать с использованием носителей, которые могут защищать соединение против быстрого выведения из организма, таких как состав с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микроинкапсулированные системы для доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэферы и полимолочная кислота. Способы получения таких составов очевидны специалисту в данной области. Липосомные суспензии также можно использовать в качестве фармацевтически приемлемых носителей. Их можно получать в соответствии со способами, известными специалистам в данной

области, например, как описано в Патенте США No. 4522811.

Средства для РНКи ААТ можно составлять в композиции в единичной дозированной форме для простоты введения и единообразия дозирования. Единичная дозированная форма обозначает физически отдельные единицы, подходящие в качестве единичных доз для пациента, подлежащего лечению; где каждая единица содержит predetermined количество активного соединения, рассчитанное для получения желательного терапевтического эффекта, в ассоциации с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификации единичных дозированных форм по этому описанию продиктованы и напрямую зависят от уникальных характеристик активного соединения и терапевтического эффекта, подлежащего достижению, и ограничений, принятых в области получения соединений, таких как активное соединение для лечения индивидуумов.

Фармацевтическая композиция может содержать другие дополнительные компоненты, обычно обнаруживаемые в фармацевтических композициях. Такие дополнительные компоненты включают, но без ограничения: противозудные средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные средства (например, антигистамин, дифенгидрамин и т.д.). Предусматривают также, что клетки, ткани или выделенные органы, которые экспрессируют или содержат определенные в настоящем описании средства для РНКи, можно использовать в качестве «фармацевтических композиций». В рамках изобретения, «фармакологически эффективное количество», «терапевтически эффективное количество» или просто «эффективное количество» относится к количеству средства для РНКи для получения фармакологического, терапевтического или профилактического результата.

Как правило, эффективное количество активного соединения может лежать в диапазоне от приблизительно 0,1 до приблизительно 100 мг/кг массы тела/сутки, например, от приблизительно 1,0 до приблизительно 50 мг/кг массы тела/сутки. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество активного соединения может

лежать в диапазоне от приблизительно 0,25 до приблизительно 5 мг/кг массы тела на дозу. В некоторых вариантах осуществления, эффективное количество активного ингредиента может лежать в диапазоне от приблизительно 0,5 до приблизительно 4 мг/кг массы тела на дозу. Введенное количество может также, вероятно, зависеть от таких переменных, как общее состояние здоровья пациента, относительная биологическая эффективность доставляемого соединения, состав лекарственного средства, присутствие и типы наполнителей в составе, и способ введения. Следует понимать также, что исходную вводимую дозу можно, в некоторых случаях, увеличивать больше вышеуказанного верхнего уровня, для быстрого достижения желательного уровня в крови или уровня в ткани, или исходная доза может, в некоторых случаях, быть меньше оптимальной.

Для лечения заболевания или для получения состава лекарственного средства или композиции для лечения заболевания, фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, включающие средство для РНКи ААТ, можно комбинировать с наполнителем или с вторым лекарственным средством или видом лечения, включая, но без ограничения: второе или другое средство для РНКи, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела, пептид и/или аптамер.

Описанные средства для РНКи ААТ, при добавлении к фармацевтически приемлемым наполнителям или адъювантам, могут быть упакованы в наборы, контейнеры, упаковки или дозаторы. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем описании, могут быть упакованы в предварительно заполненные шприцы или флаконы.

#### **Способы лечения и ингибирования экспрессии**

Средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения пациента (например, человека или другого млекопитающего), имеющего заболевание или нарушение, при котором можно обеспечивать преимущества от введения соединения. В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи, описанные в настоящем описании, можно использовать для лечения

пациента (например, человека), имеющего ААТД или симптомы, заболевания, или нарушения, при которых можно обеспечивать преимущества от уменьшения или ингибирование экспрессии мРНК ААТ, такие как заболевание печени с ААТД. Пациенту вводят терапевтически эффективное количество любого одного или нескольких из средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании. Пациент может представлять собой человека, пациента или пациента-человека. Пациент может представлять собой взрослого, подростка, ребенка или младенца. Описанные фармацевтические композиции, включающие средство для РНКи ААТ, можно использовать для предоставления способов терапевтического лечения заболеваний, таких как ААТД. Такие способы включают введение фармацевтической композиции, описанной в настоящем описании, человеку или животному.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ, описанные в настоящем описании, используют для лечения пациента с ААТД, включая симптомы, заболевания или нарушения, связанные с ААТД. Заболевания или нарушения печени с ААТД включают, но без ограничения, хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточную карциному, трансаминит, холестаза, фиброз и фульминантную печеночную недостаточность. В некоторых вариантах осуществления, описанные средства для РНКи ААТ используют для лечения по меньшей мере одного симптома у пациента, имеющего ААТД. Пациенту вводят терапевтически эффективное количество любого одного или нескольких из описанных средств для РНКи.

В конкретных вариантах осуществления, настоящее изобретение относится к способам лечения ААТД у нуждающегося в этом пациента, включающим введение пациенту любого из средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании.

В некоторых вариантах осуществления, средства для РНКи ААТ используют для лечения или управления течением клинического проявления у пациента с заболеванием или нарушением печени с ААТД. Пациенту вводят терапевтически эффективное количество одного или нескольких средств для РНКи ААТ, или содержащих средство для РНКи ААТ композиций, описанных в настоящем

описании. В некоторых вариантах осуществления, способ включает введение композиции, содержащей средство для РНКи ААТ, описанное в настоящем описании, пациенту, подлежащему лечению.

В некоторых вариантах осуществления, уровень экспрессии гена и/или уровень мРНК гена ААТ у пациента, которому вводят описанное средство для РНКи ААТ, уменьшают по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99%, по сравнению с пациентом до введения средства для РНКи ААТ или пациентом, которому не вводили средство для РНКи ААТ. Уровень экспрессии гена и/или уровень мРНК у пациента уменьшают в клетке, группе клеток и/или ткани пациента.

В некоторых вариантах осуществления, уровень белка ААТ у пациента, которому вводят описанное средство для РНКи ААТ, уменьшают по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99%, по сравнению с пациентом до введения средства для РНКи ААТ или пациентом, которому не вводили средство для РНКи ААТ. Уровень белка у пациента уменьшают в клетке, группе клеток, ткани, крови и/или другой жидкости организма пациента.

В некоторых вариантах осуществления, уровень полимерного белка Z-ААТ у пациента, имеющего ААТD, которому вводят описанное средство для РНКи ААТ, уменьшают по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99%, по сравнению с пациентом до введения средства для РНКи ААТ или пациентом, которому не вводили средство для РНКи ААТ. В некоторых вариантах осуществления, уровень полимерного белка Z-ААТ у пациента, которому вводят описанное средство для РНКи ААТ, уменьшают по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99%, по сравнению с пациентом до введения средства для РНКи ААТ или пациентом, которому не вводили средство для РНКи ААТ.

Уменьшение уровней экспрессии гена ААТ, мРНК ААТ или белка ААТ можно оценивать и количественно оценивать посредством общих способов, известных в данной области. В примерах, описанных в настоящем описании, указаны в основном известные способы для оценки ингибирования экспрессии гена ААТ и уменьшения уровней белка ААТ. Снижение или уменьшение уровня мРНК ААТ и/или уровня белка (включая полимер и/или мономер Z-ААТ) совместно обозначают в настоящем описании как снижение или уменьшение уровня ААТ или ингибирование или уменьшение экспрессии ААТ.

#### **Клетки и ткани, и не относящиеся к человеку организмы**

Предусмотрены клетки, ткани и не относящиеся к человеку организмы, включающие по меньшей мере одно из средств для РНКи ААТ, описанных в настоящем описании. Клетку, ткань или не относящийся к человеку организм получают посредством доставки средства для РНКи в клетку, ткань или не относящийся к человеку организм.

Приведенные выше варианты осуществления и признаки в настоящее время проиллюстрированы следующими, неограничивающими примерами.

#### **ПРИМЕРЫ**

##### **Пример 1. Идентификация последовательностей средства для РНКи и синтез средств для РНКи**

Способ отбора для идентификации лидирующих последовательностей для ингибирования экспрессии гена ААТ начинали с использованием способов *in silico* для идентификации консервативных последовательностей среди вариантов гена ААТ (SEQ ID NO: 1). Сначала проводили скрининг последовательности ААТ с использованием биоинформатики по 19-нуклеотидным последовательностям, имеющим комплементарную последовательность в известных вариантах ААТ человека. Последовательности, как известно, представляющие сложность для изготовления, и последовательности, как прогнозировано, имеющие плохую активность РНКи, на основании известных параметров, исключали. Последовательности затем подвергали анализу перекрестной для видов реакционной способности, для отбора кандидатов, способных

к перекрестной реакции с ААТ яванского макака. Последовательности оценивали также по специфичности для исключения неспецифических эффектов против геномов человека и яванского макака. Сто пятнадцать (115) семейств последовательностей 19-членников выбраны в качестве кандидатов.

Дуплексы в таблице 6 в настоящем описании синтезировали в соответствии со следующими способами:

#### *Синтез*

Смысловые и антисмысловые цепи средств для РНКи ААТ синтезировали в соответствии с фосфорамидитной технологией на твердой фазе, используемой в синтезе олигонуклеотидов. В зависимости от масштаба, использовали либо MerMade96E® (Bioautomation), либо MerMade12® (Bioautomation). Синтез проводили на твердой подложке, изготовленной из стекла с контролируемым размером пор (CPG, 500 Å или 600Å, полученной из Prime Synthesis, Aston, PA, USA). Все РНК и 2'-модифицированные фосфорамидиты РНК закуплены из Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA). Конкретно, использовали следующие 2'-О-метилфосфорамидиты: (5'-О-диметокситритил-N6-(бензоил)-2'-О-метиладенозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропил-амино) фосфорамидит, 5'-О-диметокситритил-N4-(ацетил)-2'-О-метилцитидин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропил-амино) фосфорамидит, (5'-О-диметокситритил-N2-(изобутирил)-2'-О-метилгуанозин-3'-О-(2-циано-этил-N,N-диизопропиламино) фосфорамидит, и 5'-О-диметокситритил-2'-О-метил-уридин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино) фосфорамидит. 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-фосфорамидиты несли такие же защитные группы, как 2'-О-метиламидиты РНК. Использовали следующие фосфорамидиты ННК: 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-бензоил-2',3'-секоаденозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-ацетил-2',3'-секоцитозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-изобутирил-2',3'-секогуанозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидит, и 5'-

(4,4'-диметокситритил)-2',3'-секоуридин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]-фосфорамидит.

Содержащие нацеливающий лиганд фосфорамидиты растворяли в безводном дихлорметане или безводном ацетонитриле (50 мМ), в то время как все другие амидиты растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ), и добавляли молекулярные сита (3Å). 5-бензилтио-1Н-тетразол (ВТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле) использовали в качестве раствора активатора. Периоды времени связывания составляли 10 мин (РНК), 15 мин (нацеливающий лиганд), 90 с (2'ОМе), и 60 с (2'F). Для введения фосфоротиоатных связей использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, полученного из PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA) в безводном ацетонитриле.

*Отщепление и снятие защиты связанных с подложкой олигомеров.*

После окончания твердофазного синтеза, высушенную твердую подложку обрабатывали с использованием 1:1 по объему раствора 40% масс. метиламина в воде и раствора 28% гидроксида аммония (Aldrich) в течение двух часов при 30°C. Раствор выпаривали, и твердый осадок разводили в воде (см. ниже).

#### *Очистка*

Неочищенные олигомеры очищали посредством анионообменной HPLC с использованием колонки TKSgel SuperQ-5PW 13u и системы Shimadzu LC-8. Буфер А представлял собой 20 мМ Трис, 5 мМ ЭДТА, pH 9,0, и содержал 20% ацетонитрил, и буфер В являлся таким же, как буфер А, с добавлением 1,5 М хлорида натрия. Регистрировали кривые в УФ при 260 нм. Соответствующие фракции пулировали, затем подвергали эксклюзионной HPLC с использованием колонки GE Healthcare XK 16/40, набитой смолой Sephadex G-25, с использованием рабочего буфера из 100 мМ бикарбоната аммония, pH 6,7 и 20% ацетонитрила.

#### *Гибридизация*

Комплементарные цепи смешивали посредством объединения эквимоллярных растворов РНК (смысловой и антисмысловой) в 0,2× PBS (фосфатно-солевом буфере, 1×, Corning, Cellgro) для получения

средств для РНКи. Этот раствор помещали в термостатируемую мешалку при 70°C, нагревали до 95°C, инкубировали при 95°C в течение 5 мин и медленно охлаждали до комнатной температуры. Некоторые средства для РНКи лиофилизировали и хранили при -15 - -25°C. Концентрацию дуплекса определяли посредством измерения оптической плотности раствора на спектрометре УФ-видимой областей спектра в 0,2× PBS. Затем оптическую плотность раствора при 260 нм умножали на коэффициент пересчета и коэффициент разведения для определения концентрации дуплекса. Если не указано иное, все коэффициенты пересчета составляли 0,037 мг/(мл·см). Для некоторых экспериментов, коэффициент пересчета рассчитывали по экспериментально определенному коэффициент экстинкции.

**Пример 2. Тестирование *in vitro* средств для РНКи ААТ**

Последовательности дуплексов-кандидатов тестировали *in vitro*. Последовательности антисмысловой цепи и последовательности смысловой цепи гибридизовали для формирования дуплексов из 21-членных цепей (имеющих 19 пар оснований и динуклеотидный выступающий конец UU на каждом 3'-конце) для тестирования *in vitro*, как показано в следующей таблице 8:

Таблица 8. Последовательности средств для ААТ РНКи в примере 2

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность (5' → 3')	Номер ID дуплекса
1035	AGAAGAUAUUGGUGCUGUUUU	1150	AACAGCACCAUAUUCUUCUUU	D1
1036	AGGAACUUGGUGAUGAUUUU	1151	AUAUCAUCACCAAGUUCUUU	D2
1037	UGUCUUCUGGGCAGCAUCUUU	1152	AGAUGCUGCCCAGAAGACAUU	D3
1038	UGUUGGACUGGUGUGCCAGUU	1153	CUGGCACACCAGUCCAACAUU	D4
1039	CUGUUGGACUGGUGUGCCAUU	1154	UGGCACACCAGUCCAACAGUU	D5
1040	UGCUGUUGGACUGGUGUGCUU	1155	GCACACCAGUCCAACAGCAUU	D6
1041	UAUUGGUGCUGUUGGACUGUU	1156	CAGUCCAACAGCACCAUAUUU	D7
1042	AUAUUGGUGCUGUUGGACUUU	1157	AGUCCAACAGCACCAUAUUU	D8
1043	GAUAUUGGUGCUGUUGGACUU	1158	GUCCAACAGCACCAUAUCUUU	D9
1044	AAGAUAUUGGUGCUGUUGGUU	1159	CCAACAGCACCAUAUCUUUU	D10
1045	GUAGCGAUGCUCACUGGGGUU	1160	CCCCAGUGAGCAUCGCUACUU	D11
1046	AAAGGCUGUAGCGAUGCUCUU	1161	GAGCAUCGCUACAGCCUUUUU	D12
1047	GCAAAGGCUGUAGCGAUGC UU	1162	GCAUCGCUACAGCCUUUGCUU	D13
1048	UGCAAAGGCUGUAGCGAUGUU	1163	CAUCGCUACAGCCUUUGCAUU	D14
1049	AUUGCAAAGGCUGUAGCGAUU	1164	UCGCUACAGCCUUUGCAAUUU	D15
1050	AGCAUUGCAAAGGCUGUAGUU	1165	CUACAGCCUUUGCAAUGC UU	D16
1051	AGAGCAUUGCAAAGGCUGUUU	1166	ACAGCCUUUGCAAUGCUCUUU	D17
1052	GGAGUUCUGGAAGCCUUCUU	1167	GAAGGUUCUGGAAGCCUUCUU	D18
1053	UCCAAAAACUUAUCCACUAUU	1168	UAGUGGAUAAGUUUUUGGAUU	D19
1054	AAGGCUUCUGAGUGGUACA UU	1169	UGUACCACUCAGAAGCCUUUU	D20
1055	GAAGGCUUCUGAGUGGUACUU	1170	GUACCACUCAGAAGCCUUCUU	D21
1056	UUCUUGGCCUCUUCGGUGUUU	1171	ACACCGAAGAGGCCAAGAAUU	D22
1057	GUUUCUUGGCCUCUUCGGUUU	1172	ACCGAAGAGGCCAAGAAACUU	D23
1058	UUGAUCUGUUUCUUGGCCUUU	1173	AGGCCAAGAAACAGAUCAAUU	D24
1059	GUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU	1174	GGCCAAGAAACAGAUCAAACUU	D25
1060	CGUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU	1175	GCCAAGAAACAGAUCAAACGUU	D26
1061	CACAAUUUUCCCUUGAGUAUU	1176	UACUCAAGGGAAAAUUGUGUU	D27
1062	UCCACAAUUUUCCCUUGAGUU	1177	CUCAAGGGAAAAUUGUGGAUU	D28

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность (5' → 3')	Номер ID дуплекса
1063	AUCCACAUUUUUCCCUUGAUU	1178	UCAAGGGAAAAUUGUGGAUUU	D29
1064	UGUCAAGCUCCUUGACCAAUU	1179	UUGGUCAAGGAGCUUGACAUU	D30
1065	GUGUCUCUGUCAAGCUCCUUU	1180	AGGAGCUUGACAGAGACACUU	D31
1066	ACUGUGUCUCUGUCAAGCUUU	1181	AGCUUGACAGAGACACAGUUU	D32
1067	UGUAAUUCACCCAGAGCAAUU	1182	UUUGCUCUGGUGAAUUACAUU	D33
1068	UUAAACAUGCCUAAACGCUUU	1183	AGCGUUUAGGCAUGUUUAAUU	D34
1069	GUUAAACAUGCCUAAACGCUU	1184	GCGUUUAGGCAUGUUUAAUU	D35
1070	UGUUAAACAUGCCUAAACGUU	1185	CGUUUAGGCAUGUUUAAUU	D36
1071	GGAUGUUAAACAUGCCUAAUU	1186	UUAGGCAUGUUUAAACAUCUU	D37
1072	AUUUCAUCAGCAGCACCCAUU	1187	UGGGUCUGCUGAUGAAAUUU	D38
1073	GAAGAAGAUGGCGGUGGCAUU	1188	UGCCACCGCAUCUUCUUCUU	D39
1074	GGUGAGUUCAUUUUCCAGGUU	1189	CCUGGAAAAUGAACUCACUU	D40
1075	GAACUUGGUGAUGAUUUCGUU	1190	CGAUUACAUCACCAAGUUCUU	D41
1076	CAUUUUCAGGAACUUGGUUU	1191	ACCAAGUUCUGGAAAAUGUU	D42
1077	CAUAGGUUCCAGUAAUGGAUU	1192	UCCAUUACUGGAACCUAUGUU	D43
1078	UCAUAGGUUCCAGUAAUGGUU	1193	CCAUUACUGGAACCUAUGAUU	D44
1079	UCAGAUCAUAGGUUCCAGUUU	1194	ACUGGAACCUAUGAUCUGAUU	D45
1080	UCUUCAGAUCAUAGGUUCCUU	1195	GGAACCUAUGAUCUGAAGAUU	D46
1081	CUCUUCAGAUCAUAGGUUCUU	1196	GAACCUAUGAUCUGAAGAGUU	D47
1082	GAGGUCAGCCCAUUGCUGUU	1197	CAGCAAUGGGGUGACCUCUU	D48
1083	GAGAGGUCAGCCCAUUGC UU	1198	GCAAUGGGGUGACCUCUCUU	D49
1084	CUUCAGGGGUGCCUCCUCUUU	1199	AGAGGAGGCACCCUGAAGUU	D50
1085	GAGAGCUUCAGGGGUGCCUUU	1200	AGGCACCCUGAAGCUCUCUU	D51
1086	UUAUGCACGGCCUUGGAGAUU	1201	UCUCCAAGGCCGUGCAUAAUU	D52
1087	CCUUAUGCACGGCCUUGG AUU	1202	UCCAAGGCCGUGCAUAAGGUU	D53
1088	GCCUUAUGCACGGCCUUGGUU	1203	CCAAGGCCGUGCAUAAGGCUU	D54
1089	AGCCUUAUGCACGGCCUUGUU	1204	CAAGGCCGUGCAUAAGGCUUU	D55
1090	CGAUGGUCAGCACAGCCUUUU	1205	AAGGCUGUGCUGACCAUCGUU	D56
1091	GUCGAUGGUCAGCACAGCCUU	1206	GGCUGUGCUGACCAUCGACUU	D57

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность (5' → 3')	Номер ID дуплекса
1092	AAAAACAUGGCCCCAGCAGUU	1207	CUGCUGGGGCCAUGUUUUUUU	D58
1093	CUAAAAACAUGGCCCCAGCUU	1208	GCUGGGGCCAUGUUUUUAGUU	D59
1094	UCUAAAAACAUGGCCCCAGUU	1209	CUGGGGCCAUGUUUUUAGAUU	D60
1095	CCUCUAAAAACAUGGCCCCUU	1210	GGGGCCAUGUUUUUAGAGGUU	D61
1096	GCCUCUAAAAACAUGGCCCCUU	1211	GGGCCAUGUUUUUAGAGGCUU	D62
1097	UAGACAUGGGUAUGGCCUCUU	1212	GAGGCCAUACCCAUGUCUAUU	D63
1098	GAUAGACAUGGGUAUGGCCUU	1213	GGCCAUAACCCAUGUCUAUCUU	D64
1099	UGUUGAACUUGACCUCGGGUU	1214	CCCGAGGUCAAGUUCAACAUU	D65
1100	GGUUUGUUGAACUUGACCUUU	1215	AGGUCAAGUUCAACAAACCUU	D66
1101	AAAGGGUUUGUUGAACUUGUU	1216	CAAGUUCAACAAACCCUUUUU	D67
1102	ACAAAGGGUUUGUUGAACUUU	1217	AGUUCAACAAACCCUUUGUUU	D68
1103	GACAAAGGGUUUGUUGAACUU	1218	GUUCAACAAACCCUUUGUCUU	D69
1104	AAGACAAAGGGUUUGUUGAUU	1219	UCAACAAACCCUUUGUCUUUU	D70
1105	CAUUAAGAAGACAAAGGGUUU	1220	ACCCUUUGUCUUCUUAAGUU	D71
1106	AUCAUUAAGAAGACAAAGGUU	1221	CCUUUGUCUUCUUAAGAUUU	D72
1107	GAAGAGGGGAGACUUGGUUUU	1222	UACCAAGUCUCCCCUCUUCUU	D73
1108	CCAUGAAGAGGGGAGACUUUU	1223	AAGUCUCCCCUCUUCAUGGUU	D74
1109	CCCAUGAAGAGGGGAGACUUU	1224	AGUCUCCCCUCUUCAUGGGUU	D75
1110	UUCCCAUGAAGAGGGGAGAUU	1225	UCUCCCCUCUUCAUGGGAAUU	D76
1111	UUUCCCAUGAAGAGGGGAGUU	1226	CUCCCCUCUUCAUGGGAAUU	D77
1112	AACCCUUCUUUAAGUCAUUU	1227	AUGACAUUAAAGAAGGGUUUU	D78
1113	UUGUUGGACUGGUGGCCAUU	1228	UGGCACACCAGUCCAACAAUU	D79
1114	UAUAUUGGUGCUGUUGGACUU	1229	GUCCAACAGCACCAUAUAUU	D80
1115	UUAGCGAUGCUCACUGGGGUU	1230	CCCCAGUGAGCAUCGUAAUU	D81
1116	UCAAGGCUGUAGCGAUGC UU	1231	GCAUCGCUACAGCCUUUGAUU	D82
1117	UGAGUUCUGGAAGCCUUCUU	1232	GAAGGUUCCAGGAACUCAUU	D83
1118	UAAGGCUCUGAGUGGUACUU	1233	GUACCACUCAGAAGCCUUUUU	D84
1119	UUUUCUUGGCCUCUUCGGUUU	1234	ACCGAAGAGGCCAAGAAAAUU	D85
1120	UUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU	1235	GGCCAAGAAACAGAUCAAUUU	D86

SEQ ID NO:	Антисмысловая последовательность (5' → 3')	SEQ ID NO:	Смысловая последовательность (5' → 3')	Номер ID дуплекса
1121	UGUUGAUCUGUUUCUUGGCCUU	1236	GCCAAGAAACAGAUCAACAUU	D87
1122	UACAAUUUUCCCUUGAGUAUU	1237	UACUCAAGGGAAAAUUGUAUU	D88
1123	UUGUCUCUGUCAAGCUCCUUU	1238	AGGAGCUUGACAGAGACAAUU	D89
1124	UUUAAAACAUGCCUAAACGCUU	1239	GCGUUUAGGCAUGUUUAAAUU	D90
1125	UGAUGUUAAAACAUGCCUAAUU	1240	UUAGGCAUGUUUAAACAUCAUU	D91
1126	UAAGAAGAUGGCGGUGGCAUU	1241	UGCCACCGCCAUCUUCUUAUU	D92
1127	UGUGAGUUCAUUUUCCAGGUU	1242	CCUGGAAAAUGAACUCACAUU	D93
1128	UAACUUGGUGAUGAUUAUCGUU	1243	CGAUAUCAUCACCAAGUUUAUU	D94
1129	UAUUUUCCAGGAACUUGGUUU	1244	ACCAAGUUCUGGAAAAUAUU	D95
1130	UAUAGGUUCCAGUAAUGGAUU	1245	UCCAUUACUGGAACCUUAUU	D96
1131	UUCUUCAGAUCAUAGGUUCUU	1246	GAACCUAUGAUCUGAAGAAUU	D97
1132	UAGGUCAGCCCAUUGCUGUU	1247	CAGCAAUGGGGUGACCUAUU	D98
1133	UAGAGGUCAGCCCAUUGC UU	1248	GCAAUGGGGUGACCUCUAUU	D99
1134	UUUCAGGGGUGCCUCCU CUU	1249	AGAGGAGGCACCCUGAAA UU	D100
1135	UAGAGCUUCAGGGGUGCCUUU	1250	AGGCACCCUGAAGCUCUAUU	D101
1136	UCUUAUGCACGGCCUUGGAUU	1251	UCCAAGGCCGUGCAUAAGAUU	D102
1137	UCCUUAUGCACGGCCUUGGUU	1252	CCAAGGCCGUGCAUAAGGAUU	D103
1138	UGAUGGUCAGCACAGCCUUUU	1253	AAGGCUGUGCUGACCAUCAUU	D104
1139	UUCGAUGGUCAGCACAGCCUU	1254	GGCUGUGCUGACCAUCGAAUU	D105
1140	UUAAAAACAUGGCCCCAGCUU	1255	GCUGGGGCCAUGUUUUAAUU	D106
1141	UCUCUAAAAACAUGGCCCCUU	1256	GGGGCCAUGUUUUUAGAGAUU	D107
1142	UCCUCUAAAAACAUGGCCCUU	1257	GGGCCAUGUUUUUAGAGGAUU	D108
1143	UAUAGACAUGGGUAUGGCCUU	1258	GGCCAUACCCAUGUCUAUAUU	D109
1144	UGUUUGUUGAACUUGACCUUU	1259	AGGUCAAGUUCAACAAACAUU	D110
1145	UACAAAGGGUUUGUUGAACUU	1260	GUUCAACAAACCCUUUGUAUU	D111
1146	UAUUAAAGAAGACAAAGGUUU	1261	ACCCUUUGUCUUCUUAUAUU	D112
1147	UAAGAGGGGAGACUUGGUUU	1262	UACCAAGUCUCCCCUCUUAUU	D113
1148	UCAUGAAGAGGGGAGACUUUU	1263	AAGUCUCCCCUCUUCAUGAUU	D114
1149	UCCAUGAAGAGGGGAGACUUU	1264	AGUCUCCCCUCUUCAUGGAUU	D115

Средства для РНКи ААТ оценивали посредством трансфекции клеток Hep3В, линии печеночно-клеточной карциномы человека. Клетки рассеивали при ~10000 клеток на лунку в 96-луночном формате, и каждый из 115 дуплексов средств для РНКи ААТ трансфицировали в трех концентрациях (10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ), с использованием реагента для трансфекции липофектамина RNAiMax (Thermo Fisher). Относительную экспрессию каждого из 115 средств для РНКи ААТ определяли посредством qRT-ПЦР посредством сравнения уровней экспрессии мРНК ААТ с эндогенным контролем, и нормализовали по необработанным клеткам Hep3В (анализ  $\Delta\Delta C_T$ ), как показано в таблице 9.

Таблица 9. Данные *in vitro* для дуплексов из примера 2

Номер ID дуплекса (из таблицы 8)	Средн. отн. экспр., 10 нМ	Средн. отн. экспр., 1 нМ	Средн. отн. экспр., 0,1 нМ
D1	1,037	0,896	0,709
D2	0,068	0,089	0,381
D3	0,046	0,064	0,403
D4	0,075	0,090	0,391
D5	0,408	0,424	0,743
D6	0,018	0,032	0,347
D7	0,069	0,125	0,666
D8	0,092	0,193	0,794
D9	0,206	0,228	0,839
D10	0,023	0,032	0,235
D11	0,309	0,522	0,894
D12	0,049	0,092	0,732
D13	0,549	0,665	0,955
D14	0,531	0,654	0,934
D15	0,108	0,197	0,820
D16	0,558	0,516	0,834
D17	0,626	0,606	0,841
D18	0,668	0,703	0,778
D19	0,624	0,803	0,785
D20	0,071	0,080	0,506
D21	0,022	0,037	0,345
D22	0,086	0,127	0,588
D23	0,175	0,238	0,893
D24	0,134	0,078	0,368
D25	0,056	0,075	0,687

Номер ID дуплекса (из таблицы 8)	Средн. отн. экспр., 10 нМ	Средн. отн. экспр., 1 нМ	Средн. отн. экспр., 0,1 нМ
D26	0,122	0,196	0,756
D27	0,517	0,560	0,846
D28	0,801	0,838	0,884
D29	0,820	0,870	0,903
D30	0,558	0,632	0,879
D31	1,112	1,110	0,922
D32	0,246	0,359	1,041
D33	0,107	0,355	0,967
D34	0,096	0,170	0,962
D35	0,317	0,552	0,949
D36	0,064	0,134	0,873
D37	0,463	1,005	1,006
D38	0,428	0,688	0,486
D39	0,730	0,918	1,258
D40	0,059	0,067	0,912
D41	0,093	0,095	0,952
D42	0,582	0,665	0,944
D43	0,196	0,283	1,004
D44	0,195	0,278	0,860
D45	0,053	0,103	0,817
D46	0,082	0,127	1,034
D47	0,089	0,156	0,821
D48	0,735	0,695	0,838
D49	0,604	0,610	0,838
D50	0,543	0,633	0,806
D51	0,114	0,144	0,775
D52	0,108	0,203	0,836
D53	1,062	0,836	0,931
D54	0,091	0,274	1,081
D55	0,526	0,623	0,914
D56	0,500	0,588	0,884
D57	0,049	0,126	0,797
D58	0,198	0,302	0,917
D59	0,732	0,745	0,953
D60	0,389	0,580	0,897
D61	0,585	0,624	1,802
D62	0,174	0,215	1,115
D63	0,093	0,074	0,917
D64	0,133	0,133	1,055

Номер ID дуплекса (из таблицы 8)	Средн. отн. экспр., 10 нМ	Средн. отн. экспр., 1 нМ	Средн. отн. экспр., 0,1 нМ
D65	0,395	0,362	0,986
D66	0,054	0,055	1,083
D67	0,105	0,118	1,018
D68	0,106	0,122	1,290
D69	0,201	0,194	1,062
D70	0,050	0,048	0,709
D71	0,231	0,216	0,767
D72	0,046	0,030	0,737
D73	0,521	0,423	0,782
D74	0,479	0,467	0,694
D75	0,531	0,583	0,794
D76	0,210	0,285	0,924
D77	0,152	0,181	0,803
D78	0,425	0,485	0,703
D79	0,120	0,127	0,711
D80	0,203	0,167	0,672
D81	0,477	0,402	0,611
D82	0,540	0,489	0,661
D83	0,315	0,316	0,838
D84	0,135	0,118	0,375
D85	0,209	0,270	1,050
D86	0,120	0,136	0,928
D87	0,172	0,207	1,056
D88	0,218	0,308	1,006
D89	0,605	0,643	0,925
D90	0,205	0,259	0,927
D91	0,594	1,097	1,052
D92	0,337	0,887	1,015
D93	0,068	0,503	0,864
D94	0,067	0,475	0,811
D95	0,186	0,770	0,931
D96	0,062	0,389	0,550
D97	0,066	0,470	0,896
D98	0,567	0,998	1,044
D99	0,451	1,092	1,359
D100	0,292	0,745	0,875
D101	0,049	0,320	0,659
D102	0,313	0,799	0,732
D103	0,068	0,541	0,630

Номер ID дуплекса (из таблицы 8)	Средн. отн. экспр., 10 нМ	Средн. отн. экспр., 1 нМ	Средн. отн. экспр., 0,1 нМ
D104	0,077	0,552	0,682
D105	0,071	0,355	0,459
D106	1,179	1,117	1,076
D107	0,328	0,597	0,876
D108	0,125	0,467	0,573
D109	0,141	0,545	0,753
D110	0,076	0,497	0,778
D111	0,132	0,511	0,634
D112	0,216	0,586	0,784
D113	0,462	0,687	1,021
D114	0,507	0,792	1,170
D115	0,259	0,797	1,027

**Пример 3. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на мышях PiZ.**

Модель на трансгенных мышях PiZ (мышей PiZ) использовали для оценки средств для РНКи ААТ *in vivo*. Мыши PiZ несут мутантный аллель human PiZ ААТ человека и представляют собой модель ААТД человека (Carlson et al., Journal of Clinical Investigation 1989).

Конъюгированные с NAG средства для РНКи ААТ подготавливали в фармацевтически приемлемом забуференном солевом растворе и вводили мышам PiZ для оценки нокдауна экспрессии гена ААТ. На сутки 1, каждой мышши вводили однократную подкожную (SQ) дозу в оттянутую кожу на спине между плечами при 5,0 мг/кг (мг/кг массы тела) любого из AD04446, AD04447, AD04448, AD04449, AD04450, AD04451, AD04454, AD04455, AD04456, AD04457, AD04458 или AD04459. (см. в таблицах 4-7 структуры модифицированных средств для РНКи ААТ и лиганда NAG). Средства для РНКи ААТ AD04451 и AD04459 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000; средства для РНКи ААТ AD04446 и AD04454 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1142; средства для РНКи ААТ AD04447 и AD04455 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой

цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1211; средства для РНКи ААТ AD04448 и AD04456 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1326; средства для РНКи ААТ AD04449 и AD04457 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1338; и средства для РНКи ААТ AD04450 и AD04458 включали модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1427. (см. также таблицы 1 и 2). Трем мышам вводили дозы каждого средства для РНКи ААТ (n=3).

Образцы плазмы отбирали и анализировали по уровням белка ААТ (Z-ААТ) на сутки 1 (до дозирования), сутки 8, сутки 15, сутки 22, сутки 29 и сутки 36. Уровни ААТ нормализовали по уровням ААТ в плазме на сутки 1 (до дозирования). Уровни белка измеряли посредством количественной оценки уровней циркулирующего Z-ААТ человека в плазме посредством коммерчески доступного набора для ELISA, в соответствии с рекомендациями производителя. Средние нормализованные уровни ААТ (Z-ААТ) для каждого средства для РНКи приведены в следующей таблице 10:

**Таблица 10.** Средний нормализованный уровень белка ААТ (нормализованный по уровню до обработки) из примера 3

ID группы	Сутки 8		Сутки 15		Сутки 22		Сутки 29		Сутки 36	
	Средний уровень ААТ	Станд. откл. (+/-)								
Группа 1 (5,0 МГ/КГ AD04447)	1,010	0,256	1,050	0,108	1,451	0,137	1,145	0,154	1,117	0,080
Группа 2 (5,0 МГ/КГ AD04448)	0,884	0,262	0,866	0,276	1,306	0,112	1,147	0,119	1,076	0,172
Группа 3 (5,0 МГ/КГ AD04449)	0,909	0,060	0,969	0,152	1,290	0,185	1,290	0,201	1,245	0,106
Группа 4 (5,0 МГ/КГ AD04450)	0,595	0,083	0,799	0,131	1,099	0,256	1,090	0,346	1,229	0,444
Группа 5 (5,0 МГ/КГ AD04451)	0,282	0,006	0,525	0,020	1,358	0,188	1,767	0,325	1,586	0,297
Группа 6 (5,0 МГ/КГ AD04455)	0,656	0,126	0,639	0,039	0,741	0,089	0,738	0,235	0,819	0,156
Группа 7 (5,0 МГ/КГ AD04456)	0,605	0,129	0,469	0,036	0,717	0,105	0,662	0,097	0,875	0,195
Группа 8 (5,0 МГ/КГ AD04457)	0,501	0,108	0,663	0,091	1,031	0,324	1,176	0,368	1,603	0,597
Группа 9 (5,0 МГ/КГ AD04458)	0,308	0,081	0,174	0,031	0,177	0,010	0,211	0,010	0,345	0,041
Группа 10 (5,0 МГ/КГ AD04459)	0,256	0,021	0,134	0,045	0,174	0,084	0,234	0,174	0,315	0,336
Группа 11 (5,0 МГ/КГ AD04446)	0,686	0,178	0,739	0,130	0,973	0,263	0,955	0,107	0,885	0,119
Группа 12 (5,0 МГ/КГ AD04454)	0,338	0,014	0,361	0,105	0,602	0,252	0,729	0,266	0,970	0,245

Как показано из данных в таблице 10, выше, в то время как для средства для РНКи ААТ AD04447 по существу не показано уменьшение уровня белка ААТ, для средств для РНКи ААТ AD04458 (включающего модифицированную нуклеотидную последовательность, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1427) и AD04459 (включающего модифицированную нуклеотидную последовательность, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000) показано существенное уменьшение уровня белка ААТ для всех временных точек. Например, для AD04458 показан нокдаун на приблизительно 69% на сутки 8 (0,308); приблизительно на 83% на сутки 15 (0,174) и приблизительно на 82% на сутки 22 (0,177). Кроме того, например, для AD04459 показан нокдаун приблизительно на 74% на сутки 8 (0,256), приблизительно на 87% на сутки 15 (0,134) и приблизительно на 83% на сутки 22 (0,174).

**Пример 4. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на яванских макаках**

Конъюгированные с NAG средства для РНКи ААТ получали и комбинировали в фармацевтически приемлемом растворе солевого буфера, как известно в данной области, для подкожной (SC) инъекции. На сутки 1, приматам яванским макакам (*Macaca fascicularis*) (обозначенным в настоящем описании как «супо» или «обезьяны») инъецировали подкожно 3 мг/кг любого из AD04824, AD04825, AD04826 или AD04827 (см. в таблицах 4-7 структуры модифицированных средств для РНКи ААТ и лиганда NAG). Каждое из этих средств для РНКи ААТ включало модифицированную нуклеотидную последовательность, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000 и проявляло перекрестную реакционную способность по отношению к яванским макакам. Тестировали трех обезьян в каждой группе (n=3).

Образцы сыворотки от подвергаемых лечению яванских макаков отбирали на сутки -7 и сутки 1 (до дозирования), и на сутки 8, 15, 22 и 29 для мониторинга нокдауна. На сутки 36 проводили также измерения для яванских макаков, которым инъецировали AD04825 и AD04826. В указанных временных точках, образцы крови отбирали и анализировали по ААТ яванского макака (сААТ). Кровь

отбирали из бедренной вены. Уровни сААТ определяли на Cobas Integra 400 Plus (Roche Diagnostics), в соответствии с рекомендациями производителя. Уровни ААТ для каждого животного в соответствующей временной точке делили на уровень до обработки (средний для суток -7 и суток 1 (до дозирования)) экспрессии у этого животного для определения соотношения экспрессии, «нормализованного по уровню до дозирования».

Нормализованные уровни белка ААТ яванского макака (сААТ) после обработки каждым соответствующим средством для РНКи ААТ приведены в следующей таблице 11:

**Таблица 11.** Нормализованный уровень белка сААТ (нормализованный по уровню до обработки) из примера 4 у яванских макаков.

	Сутки 8	Сутки 15	Сутки 22	Сутки 29	Сутки 36
ID группы	сААТ	сААТ	сААТ	сААТ	сААТ
Группа 1, Суно А (3,0 мг/кг AD04824)	0,62	0,52	0,45	0,52	
Группа 1, Суно В (3,0 мг/кг AD04824)	0,60	0,36	0,32	0,32	
Группа 1, Суно С (3,0 мг/кг AD04824)	0,62	0,44	0,41	0,41	
Группа 2, Суно А (3,0 мг/кг AD04825)	0,58	0,33	0,24	0,24	0,22
Группа 2, Суно В (3,0 мг/кг AD04825)	0,58	0,38	0,27	0,25	0,27
Группа 2, Суно С (3,0 мг/кг AD04825)	0,79	0,58	0,43	0,43	0,44
Группа 3, Суно А (3,0 мг/кг AD04826)	0,75	0,59	0,44	0,42	0,38
Группа 3, Суно В (3,0 мг/кг AD04826)	0,66	0,43	0,30	0,26	0,24
Группа 3, Суно С (3,0 мг/кг AD04826)	0,62	0,36	0,27	0,25	0,25
Группа 4, Суно А (3,0 мг/кг AD04827)	0,57	0,38	0,26	0,26	
Группа 4, Суно В (3,0 мг/кг AD04827)	0,61	0,37	0,34	0,34	
Группа 4, Суно С (3,0 мг/кг AD04827)	0,66	0,43	0,41	0,39	

Средние нормализованные уровни сААТ для каждой из соответствующих групп обработки показаны на столбчатой диаграмме из фигуры 9. Как проиллюстрировано в таблице 11, выше, и на фигуре 9, для каждого тестируемого средства для РНКи ААТ показан существенный нокдаун сААТ у яванских макаков во всех измеренных временных точках.

**Пример 5. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на яванских макаках**

Конъюгированные с NAG средства для РНКи ААТ получали и комбинировали в фармацевтически приемлемом растворе солевого буфера, как известно в данной области, для подкожной (SC) инъекции. На сутки 1, приматам яванским макакам (*Macaca fascicularis*) инъецировали подкожно 3 мг/кг любого из AD04828, AD04831, AD04836 или AD04837 (см. в таблицах 4-7 структуры модифицированных средств для РНКи ААТ и лиганда NAG). Каждое из этих средств для РНКи ААТ включало модифицированную нуклеотидную последовательность, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000 и проявляло перекрестную реакционную способность по отношению к яванским макакам. Тестировали трех обезьян в каждой группе (n=3) для AD04828 и AD04831, и тестировали двух обезьян в каждой группе (n=2) для AD04836 и AD04837.

Образцы сыворотки от подвергаемых лечению яванских макаков отбирали на сутки -35 и сутки 1 (до дозирования), и на сутки 8, 15, 21 и 29 для мониторинга нокдауна. В указанных временных точках, образцы крови отбирали и анализировали по сААТ. Кровь отбирали из бедренной вены. Уровни сААТ определяли на Cobas Integra 400 Plus (Roche Diagnostics) в соответствии с рекомендациями производителя. Уровни сААТ для каждого животного в соответствующей временной точке делили на уровень до обработки (средний для суток -35 и суток 1 (до дозирования)) экспрессии у этого животного для определения соотношения экспрессии, «нормализованного по уровню до обработки».

Нормализованные уровни белка ААТ яванского макака (сААТ) после обработки каждым соответствующим средством для РНКи ААТ приведены в следующей таблице 12:

**Таблица 12.** Нормализованный уровень белка ААТ (нормализованный по уровню до обработки) из примера 5 у яванских макаков

	Сутки 8	Сутки 15	Сутки 22	Сутки 29
ID группы	сААТ	сААТ	сААТ	сААТ
Группа 1, Суно А (3,0 мг/кг AD04828)	0,60	0,32	0,25	0,23
Группа 1, Суно В (3,0 мг/кг AD04828)	0,67	0,59	0,61	0,76
Группа 1, Суно С (3,0 мг/кг AD04828)	0,51	0,35	0,29	0,29
Группа 2, Суно А (3,0 мг/кг AD04831)	0,68	0,43	0,32	0,28
Группа 2, Суно В (3,0 мг/кг AD04831)	0,71	0,49	0,47	0,44
Группа 2, Суно С (3,0 мг/кг AD04831)	0,61	0,43	0,34	0,30
Группа 3, Суно А (3,0 мг/кг AD04836)	0,61	0,37	0,27	0,23
Группа 3, Суно В (3,0 мг/кг AD04836)	0,67	0,43	0,32	0,27
Группа 4, Суно А (3,0 мг/кг AD04837)	0,65	0,40	0,28	0,24
Группа 4, Суно В (3,0 мг/кг AD04837)	0,55	0,29	0,20	0,17

Средние нормализованные уровни сААТ для каждой из соответствующих групп обработки показаны на столбчатой диаграмме из фигуры 10. Как показано выше в таблице 12, так же как на столбчатой диаграмме из фигуры 10, для каждого тестируемого средства для РНКи ААТ показан существенный нокдаун сААТ у яванских макак во всех измеренных временных точках.

**Пример 6. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на мышах PiZ**

Модель на трансгенных мышах PiZ (мышей PiZ), как указано в примере 3, использовали для оценки средств для РНКи ААТ *in vivo*. Конъюгированные с NAG средства для РНКи ААТ подготавливали в фармацевтически приемлемом забуференном солевом растворе и вводили мышам PiZ для оценки нокдауна экспрессии гена ААТ. На сутки 1, каждой мышке вводили однократную подкожную (SQ) дозу в оттянутую кожу на спине между плечами при 2,0 мг/кг (мг/кг массы тела) любого из AD04824, AD04828, AD04829, AD04830, AD04831, AD04832, AD04833, AD04834, AD04836, AD04837, AD04838, AD04839 или AD04857. (см. в таблицах 4-7 структуры модифицированных средств для РНКи ААТ и лиганда NAG). Каждое средство для РНКи ААТ в этом исследовании включало модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000. (см. также таблицы 1 и 2). Трём мышам вводили дозы каждого средства для РНКи ААТ (n=3).

Образцы плазмы отбирали и анализировали по уровням белка ААТ (Z-ААТ) на сутки -2, сутки 1 (до дозирования), сутки 8, сутки 15, сутки 22, сутки 29 и сутки 36. Уровни ААТ нормализовали по уровням ААТ в плазме на сутки 1 (до дозирования). Уровни белка измеряли посредством количественной оценки уровней циркулирующего Z-ААТ человека в плазме посредством коммерчески доступного набора для ELISA, в соответствии с рекомендациями производителя. Средние нормализованные уровни ААТ (Z-ААТ) для каждого средства для РНКи приведены в следующей таблице 13:

**Таблица 13.** Средний нормализованный уровень белка ААТ (нормализованный по уровню до обработки) из примера 6

ID группы	Сутки 8		Сутки 15		Сутки 22		Сутки 29		Сутки 36	
	Средний уровень ААТ	Станд. откл. (+/-)								
Группа 1 (2,0 МГ/КГ AD04824)	0,105	0,036	0,140	0,067	0,204	0,108	0,313	0,104	0,437	0,229
Группа 2 (2,0 МГ/КГ AD04828)	0,141	0,055	0,236	0,111	0,304	0,138	0,624	0,289	0,814	0,139
Группа 3 (2,0 МГ/КГ AD04829)	0,109	0,072	0,119	0,102	0,140	0,119	0,141	0,116	0,179	0,145
Группа 4 (2,0 МГ/КГ AD04830)	0,147	0,095	0,190	0,148	0,307	0,192	0,521	0,424	0,547	0,202
Группа 5 (2,0 МГ/КГ AD04831)	0,154	0,104	0,215	0,171	0,449	0,375	0,701	0,519	0,584	0,418
Группа 6 (2,0 МГ/КГ AD04832)	0,088	0,032	0,089	0,048	0,090	0,046	0,117	0,071	0,193	0,131
Группа 7 (2,0 МГ/КГ AD04833)	0,168	0,029	0,282	0,047	0,448	0,048	0,748	0,223	1,361	0,346
Группа 8 (2,0 МГ/КГ AD04834)	0,159	0,037	0,255	0,159	0,470	0,315	0,662	0,346	0,728	0,141
Группа 9 (2,0 МГ/КГ AD04836)	0,108	0,035	0,070	0,024	0,083	0,032	0,090	0,035	0,168	0,078
Группа 10 (2,0 МГ/КГ AD04837)	0,157	0,071	0,209	0,104	0,242	0,097	0,417	0,198	0,550	0,193
Группа 11 (2,0 МГ/КГ AD04838)	0,106	0,017	0,099	0,022	0,108	0,039	0,158	0,072	0,188	0,050
Группа 12 (2,0 МГ/КГ AD04839)	0,096	0,026	0,069	0,019	0,089	0,036	0,120	0,038	0,186	0,083
Группа 12 (2,0 МГ/КГ AD04857)	0,272	0,130	0,302	0,145	0,478	0,187	0,815	0,436	1,772	1,412

Как показано из данных в таблице 13, выше, для каждого средства для РНКи ААТ показано значительное уменьшение уровня белка ААТ на протяжении по меньшей мере 29 суток. Например, на сутки 15, для каждого тестируемого средства для РНКи ААТ достигали по меньшей мере приблизительно 70% нокдауна белка по сравнению с уровнями до обработки, где для многих групп достигнут 90% или лучший нокдаун.

**Пример 7. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на мышах PiZ**

Использовали модель на трансгенных мышах PiZ, описанную в примере 3. Каждая мышь была в возрасте 5 недель на начало исследования. Конъюгированные с NAG средства для РНКи ААТ подготавливали в фармацевтически приемлемом забуференном солевом растворе и вводили мышам PiZ для оценки нокдауна экспрессии гена ААТ. Начиная с суток 1, каждой мышши вводили подкожную (SQ) дозу q2w (т.е., одна инъекция каждые две недели, всего 4 инъекции) в оттянутую кожу на спине между плечами при 4,0 мг/кг (мг/кг массы тела): (1) солевого раствора-носителя; либо (2) AD04837 (см. в таблицах 4-7 структуры модифицированных средств для РНКи ААТ и лиганда NAG), которое, как отмечено ранее, включало модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000; либо (3) конъюгированного с NAG средства для РНКи, включающего нуклеотидную последовательность, нацеленную на ген HBV, для использования в качестве отрицательного контроля. Однократные подкожные инъекции для группы солевого раствора-носителя, группы средства для РНКи ААТ и группы средства для РНКи HBV проводили на сутки 1, 15, 29 и 43. Семи (7) мышам вводили дозы q2w солевого раствора-носителя (Группа 1); девяти (9) мышам вводили дозы q2w средства для РНКи ААТ (Группа 2); и шести (6) мышам вводили дозы средства для РНКи HBV (Группа 3). Мышей в трех группах обработки умерщвляли на сутки 57 (в возрасте 13 недель). В дополнение к группам обработки, семь (7) мышей умерщвляли на неделе 1 исследования (т.е., мышей в возрасте 5 недель) для использования в качестве фонового контроля.

Образцы плазмы отбирали и анализировали по уровням белка ААТ (Z-ААТ) на сутки 1 (до дозирования), сутки 8, сутки 15, сутки 22, сутки 29 и сутки 36 для всех групп. Дополнительные образцы для группы средства для РНКи ААТ и группы солевого раствора-носителя отбирали на сутки 43, сутки 50 и сутки 57. Уровни ААТ нормализовали по уровням ААТ в плазме на сутки 1 (до дозирования). Уровни белка измеряли посредством количественной оценки уровней циркулирующего Z-ААТ человека в плазме посредством коммерчески доступного набора для ELISA, в соответствии с рекомендациями производителя. Средние нормализованные уровни ААТ (Z-ААТ) для солевого раствора-носителя и каждого средства для РНКи приведены в следующей таблице

14:

**Таблица 14.** Средний нормализованный уровень белка ААТ (нормализованный по уровню до обработки) из примера 7

ID группы	Сутки 8		Сутки 15		Сутки 22		Сутки 29	
	Средний уровень ААТ	Станд. откл. (+/-)						
Группа 1 (солевой раствор-носитель) (n=7)	0,876	0,172	1,264	0,386	1,234	0,457	1,319	0,453
Группа 2 (AD04837) (n=9)	0,139	0,050	0,146	0,064	0,067	0,029	0,072	0,038
Группа 3 (средство для РНКи HBV - отрицательный контроль) (n=6)	1,212	0,360	1,019	0,201	1,540	0,155	1,585	0,640
ID группы	Сутки 36		Сутки 43		Сутки 50		Сутки 57	
	Средний уровень ААТ	Станд. откл. (+/-)						
Группа 1 (солевой раствор-носитель) (n=7)	1,267	0,491	1,441	0,416	1,172	0,340	1,058	0,299
Группа 2 (AD04837) (n=9)	0,040	0,011	0,051	0,020	0,034	0,007	0,038	0,009
Группа 3 (средство для РНКи HBV - отрицательный контроль) (n=6)	1,665	0,476	1,943	0,221	1,580	0,491	2,001	0,770

Как показано из данных в таблице 14, выше, средство для РНКи HBV успешно действовало в качестве отрицательного контроля, по существу не вызывая ингибирования ААТ. Кроме того, для конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ (AD04837) достигали значительного нокдауна экспрессии по сравнению с солевым раствором и средством для РНКи HBV – отрицательным контролем во всех временных точках. При дозировании q2w, для средства для РНКи ААТ в примере 7 показан нокдаун белка ААТ приблизительно на 96% на сутки 36 (0,040), и сохранялся сходный уровень нокдауна до суток 57.

В дополнение к мониторингованию уровней ААТ в сыворотке, гомогенизированную ткань печени от мышей PiZ, подвергнутых лечению с использованием конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ (AD04837), дополнительно анализировали для определения того, уменьшались ли эффективно уровни как растворимого Z-ААТ (как ожидают, преимущественно представляющего собой мономерный белок), так и нерастворимых полимеров Z-ААТ (как ожидают, представляющих собой полимерный белок). Модифицированный способ Вестерн-блоттинга использовали для разделения растворимых и нерастворимых фракций Z-ААТ в неденатурирующих условиях, как описано ранее и известно в данной области (см., например, Mueller et al., *Molecular Therapy*, March 2012, 20(3): 590–600).

Вестерн-блоттинг подготавливали для проверки определенных образцов печени умерщвленных мышей. Конкретно, печень проверяли у (i) 6 мышей для фона; (ii) 5 мышей для средства для РНКи ААТ; и (iii) 4 мышей для солевого раствора. (Гели, использованные для анализа Вестерн-блоттинга, включали 15 лунок). Образцы от животных, использованные для этого Вестерн-блоттинга, случайным образом выбирали из различных групп. На фигурах 11 и 12 показаны столбчатые диаграммы, отражающие уровни полимера Z-ААТ и мономера Z-ААТ, оцененные количественно по анализу Вестерн-блоттинга.

Как видно из столбчатой диаграмме на фигуре 11, представляющей уровни мономерного белка, по сравнению с фоном, для каждой из мышей, которым ввели дозы средства для РНКи ААТ, показано значимое уменьшение уровня мономерного белка ААТ во всех

временных точках, что указывает на значительное ингибирование гена. Кроме того, как показано на фигуре 12, представляющей уровни полимерного белка, животные, подвергнутые лечению солевым раствором-носителем, продолжали испытывать увеличенную нагрузку полимерного ААТ через 8 недель. И наоборот, для животных, подвергнутых лечению средством для РНКи ААТ, показано уменьшение полимерной нагрузки приблизительно на 50% в течение 8 недель, по сравнению с фоновыми мышами (в возрасте 5 недель), что указывает на то, что введение конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ (AD04837) может предотвращать и потенциально обращать продукцию полимерного белка ААТ.

**Пример 8. Тестирование *in vivo* конъюгированных с NAG средств для ААТ РНКи на мышах PiZ**

Модель на трансгенных мышах PiZ, описанную в примере 3, использовали для оценки средства для РНКи *in vivo*. Каждой мышке вводили однократную подкожную (SQ) дозу на сутки 1, в оттянутую кожу на спине между плечами: (1) солевого раствора; либо (2) 1,0 мг/кг конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ AD04837 (включающего модифицированную нуклеотидную последовательность антисмысловой цепи, разработанную для нацеливания на ген ААТ (SEQ ID NO: 1) в положении 1000); либо (3) 2,0 мг/кг AD04837; либо (4) 4,0 мг/кг AD04837; либо (5) 8,0 мг/кг AD04837. Четверем животным вводили дозы в группе 1 (солевого раствора), и всех четырех умерщвляли на сутки 43. Пятнадцати (15) животным вводили дозы в каждой из групп 2, 3, 4 и 5, и 3 животных из каждой группы умерщвляли на сутки 8, сутки 15, сутки 22, сутки 29 и сутки 43, соответственно.

Образцы плазмы отбирали и анализировали по уровням белка ААТ (Z-ААТ) на сутки 1 (до дозирования), сутки 8, сутки 15, сутки 22, сутки 29, сутки 36 и сутки 43 для всех групп. Для умерщвленных мышей, отбор крови из сердца проводили для выделения сыворотки для оценки уровня белка Z-ААТ (200 мкл плазмы). Уровни ААТ нормализовали по уровням ААТ в плазме на сутки 1 (до дозирования) ААТ. Уровни белка измеряли посредством количественной оценки уровней циркулирующего Z-ААТ человека в плазме посредством коммерчески доступного набора для ELISA, в

соответствии с рекомендациями производителя. Средние нормализованные уровни ААТ (Z-ААТ) для групп дозирования солевого раствора-носителя и каждого средства для РНКи приведены в следующей таблице 15:

**Таблица 15.** Средний нормализованный уровень белка ААТ в плазме (нормализованный по уровню до обработки) из примера 8.

ID группы	Сутки 8		Сутки 15		Сутки 22		Сутки 29	
	Средний уровень ААТ	Станд. откл. (+/-)						
Группа 1 (солевой раствор-носитель)	1,240	0,633	1,037	0,256	0,884	0,229	0,857	0,286
Группа 2 (1,0 мг/кг AD04837)	0,266	0,100	0,250	0,107	0,259	0,060	0,412	0,191
Группа 3 (2,0 мг/кг AD04837)	0,170	0,102	0,162	0,132	0,199	0,161	0,511	0,514
Группа 4 (4,0 мг/кг AD04837)	0,051	0,015	0,038	0,010	0,051	0,021	0,110	0,045
Группа 5 (8,0 мг/кг AD04837)	0,030	0,011	0,025	0,010	0,040	0,024	0,063	0,030
	Сутки 36		Сутки 43					
Группа 1 (солевой раствор-носитель)	1,485	0,431	0,932	0,243				
Группа 2 (1,0 мг/кг AD04837)	0,791	0,207	0,560	0,111				
Группа 3 (2,0 мг/кг AD04837)	0,600	0,140	0,595	0,217				
Группа 4 (4,0 мг/кг AD04837)	0,156	0,008	0,148	0,022				
Группа 5 (8,0 мг/кг AD04837)	0,239	0,183	0,202	0,119				

Как показано из данных в таблице 15, выше, для конъюгированного с NAG средства для РНКи ААТ достигали значительного нокдауна экспрессии, по сравнению с солевым раствором, во всех временных точках, измеренных при всех тестируемых уровнях дозирования.

Кроме того, уровни мРНК ААТ также оценивали для умерщвленных мышей в каждой соответствующей временной точке. Как описано выше, для групп 2-5 (т.е., групп средства для РНКи), 3 мышей умерщвляли на каждые из суток 8, 15, 22, 29 и 43; и для группы 1, всех 4 мышей умерщвляли на сутки 43. Половину левой латеральной доли печени собирали и быстро замораживали в жидком азоте для выделения РНК.

**Таблица 16.** Относительные уровни мРНК ААТ у мышей PiZ после введения однократной SQ инъекции солевого раствора или средства для ААТ РНКи

Группа обработки	Сутки	Животные	Средняя относительная экспрессия мРНК	Нижнее отклонение	Верхнее отклонение
<b>Группа 1</b> (солевой раствор-носитель)	43	n=4	1,000	0,071	0,076
<b>Группа 2</b> (1,0 мг/кг AD04837)	8	n=3	0,412	0,080	0,099
	15	n=3	0,419	0,037	0,040
	22	n=3	0,483	0,066	0,076
	29	n=3	0,696	0,069	0,076
	43	n=3	0,813	0,103	0,118
<b>Группа 3</b> (2,0 мг/кг AD04837)	8	n=3	0,272	0,101	0,160
	15	n=3	0,235	0,039	0,046
	22	n=3	0,327	0,099	0,141
	29	n=3	0,587	0,155	0,210
	43	n=3	0,845	0,123	0,145
<b>Группа 4</b> (4,0 мг/кг AD04837)	8	n=3	0,129	0,025	0,031
	15	n=3	0,161	0,017	0,020
	22	n=3	0,222	0,048	0,061
	29	n=3	0,247	0,067	0,093
	43	n=3	0,454	0,051	0,057
<b>Группа 5</b> (8,0 мг/кг AD04837)	8	n=3	0,078	0,013	0,015
	15	n=3	0,055	0,014	0,019
	22	n=3	0,077	0,009	0,010
	29	n=3	0,116	0,038	0,056

Группа обработки	Сутки	Животные	Средняя относительная экспрессия мРНК	Нижнее отклонение	Верхнее отклонение
	43	n=3	0,332	0,122	0,193

Как показано в таблице 16, выше, относительные уровни экспрессии мРНК ААТ были значительно уменьшены во всех измеренных временных точках, по сравнению с солевым раствором-носителем. Например, на сутки 15, для группы 2 (1,0 мг/кг средства для РНКи ААТ) показано уменьшение приблизительно на 58% уровней мРНК ААТ (0,419); для группы 3 (2,0 мг/кг средства для РНКи ААТ) показано уменьшение приблизительно на 67% уровней мРНК ААТ (0,327); для группы 4 (4,0 мг/кг средство для РНКи ААТ) показано уменьшение приблизительно на 84% уровней мРНК ААТ (0,161); и для группы 5 (8,0 мг/кг средство для РНКи ААТ) показано уменьшение приблизительно на 94% уровней мРНК Z-ААТ (0,055) после однократной SQ дозы на сутки 1.

#### **ДРУГИЕ ВАРИАНТЫ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ**

Следует понимать, что, в то время как изобретение описано в соответствии с его подробным описанием, приведенное выше описание предназначено для иллюстрации, а не ограничения объема изобретения, который определен объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации включены в объем следующей формулы изобретения.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Средство для РНКи для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина (ААТ), содержащее смысловую цепь и антисмысловую цепь, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2-18 из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4, и где смысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной антисмысловой цепи.

2. Средство для РНКи для ингибирования экспрессии гена альфа-1-антитрипсина (ААТ), содержащее смысловую цепь и антисмысловую цепь, где смысловая цепь содержит нуклеотиды 2-18 из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5, и где антисмысловая цепь является по меньшей мере в основном комплементарной смысловой цепи.

3. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 4.

4. Средство для РНКи по п.2, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 2, таблице 3 или таблице 5.

5. Средство для РНКи по п.1, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей смысловой цепи в таблице 5, и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность из любой из последовательностей антисмысловой цепи в таблице 4.

6. Средство для РНКи по любому из пп. 1-5, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

7. Средство для РНКи по п.6, где по меньшей мере один модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из: 2'-О-метилнуклеотида, 2'-фторнуклеотида, 2'-дезоксинуклеотида, 2',3'-секонуклеотидного миметика, запертого нуклеотида, 2'-F-арабинонуклеотида, 2'-метоксиэтилнуклеотида, лишённого азотистого основания нуклеотида, рибита, инвертированного нуклеотида, инвертированного лишённого азотистого основания нуклеотида, инвертированного 2'-ОМе-нуклеотида, инвертированного

2'-дезоксинуклеотида, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолинонуклеотида, винилфосфонатдезоксирибонуклеотида и 3'-ОМе-нуклеотида.

8. Средство для РНКи по любому из пп. 1-5, содержащее по меньшей мере одну фосфоротиоатную межнуклеозидную связь.

9. Средство для РНКи по любому из пп. 1-5, где смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфоротиоатную межнуклеозидную связь.

10. Средство для РНКи по любому из пп. 1-5, где антисмысловая цепь содержит одну, две, три или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи.

11. Средство для РНКи по любому из пп. 1-5, где все или в основном все нуклеотиды смысловой цепи и антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

12. Средство для РНКи по любому из пп. 1-11, где смысловая цепь имеет длину не более 30 нуклеотидов, и антисмысловая цепь имеет длину не более 30 нуклеотидов.

13. Средство для РНКи по любому из пп. 1-12, где смысловая цепь имеет длину не более 24 нуклеотидов, и антисмысловая цепь имеет длину не более 24 нуклеотидов.

14. Средство для РНКи по любому из пп. 1-13, где каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи имеют длину между 18 и 24 нуклеотидов.

15. Средство для РНКи по любому из пп. 1-14, где каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи имеют длину 21 нуклеотид.

16. Средство для РНКи по любому из пп. 1-15, имеющее два тупых конца.

17. Средство для РНКи по любому из пп. 1-16, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и дополнительно содержащее одну или более нацеливающих групп или связывающих групп.

18. Средство для РНКи по любому из пп. 1-17, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и дополнительно содержащее одну или более нацеливающих групп или связывающих групп, и где нацеливающие группы или связывающие группы имеют структуру из любой из структур, представленных в таблице 7.

19. Средство для РНКи по п.18, где одна или более нацеливающих групп или связывающих групп конъюгированы со смысловой цепью.

20. Средство для РНКи по любому из пп. 1-19, содержащее нацеливающую группу, включающую лиганд рецептора асиалогликопротеина.

21. Средство для РНКи по п.20, где лиганд рецептора асиалогликопротеина содержит N-ацетилгалактозамин.

22. Средство для РНКи по п.21, где лиганд рецептора асиалогликопротеина содержит тример N-ацетилгалактозамина.

23. Средство для РНКи по любому из пп. 1-22, содержащее по меньшей мере один модифицированный нуклеотид и дополнительно содержащее одну или более нацеливающих групп, где нацеливающая группа имеет структуру, выбранную из группы, состоящей из: (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s.

24. Средство для РНКи по любому из пп. 17-23, содержащее нацеливающую группу, которая конъюгирована с 5'-концом смысловой цепи.

25. Средство для РНКи по п.1 или п.2, состоящее из смысловой цепи и антисмысловой цепи, формирующих дуплекс, имеющий структуру любого из дуплексов в таблице 6.

26. Средство для РНКи по п.1 или п.2, имеющее дуплексную структуру, выбранную из группы, состоящей из: AD04824, AD04825, AD04826, AD04827, AD04828, AD04829, AD04830, AD04831, AD04832, AD04833, AD04834, AD04835, AD04836 и AD04837.

27. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где все или в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') AGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 866), где все или в основном

все нуклеотиды смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

28. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где все или в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') CGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 857), где все или в основном все нуклеотиды смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

29. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где все или в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') GCGUUUAGGCAUGUUUAACAUU (SEQ ID NO: 885), где все или в основном все нуклеотиды смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

30. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где все или в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') CGCGUUUAGGCAUGUUUAACA (SEQ ID NO: 864), где все или в основном все нуклеотиды смысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

31. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCU (SEQ ID NO: 801), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 801 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

32. Средство для РНКи по п.31, где антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность (5' → 3') usGfsuUfaAfacaugCfcUfaAfaCfgCfsu (SEQ ID NO: 960), где а, с, г и и представляют собой 2'-О-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин

или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь.

33. Средство для РНКи по п.32, где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') agcguuuuaGfGfCfauguuuuaaca (SEQ ID NO: 1279), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где, необязательно, на смысловой цепи присутствуют один или два инвертированных лишенных азотистого основания остатков дезоксирибозы (инв.Ab) и/или одна, две, три, или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи; и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

34. Средство для РНКи по п.33, имеющее дуплексную структуру AD04837 (ПАРА SEQ ID NO: 960/1033).

35. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGUU (SEQ ID NO: 794), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 794 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

36. Средство для РНКи по п.35, где антисмысловая цепь средства для РНКи содержит последовательность (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfgusu (SEQ ID NO: 913), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь.

37. Средство для РНКи по п.36, где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') cguuuuaGfGfCfauguuuuaacausu (SEQ ID NO: 1276), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой

фосфоротиоатную связь; где, необязательно, на смысловой цепи присутствуют один или два инвертированных лишенных азотистого основания остатков дезоксирибозы (инв.Ab) и/или одна, две, три, или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи; и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

38. Средство для РНКи по п.37, имеющее дуплексную структуру AD04828 (PAPA SEQ ID NO: 913/1028).

39. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCUU (SEQ ID NO: 839), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 839 локализована в положениях 1-22 (5' → 3') антисмысловой цепи.

40. Средство для РНКи по п.39, где антисмысловая цепь средства для РНКи содержит последовательность (5' → 3') usGfsusUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfucusu (SEQ ID NO: 958), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь.

41. Средство для РНКи по п.40, где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') gscguuuuGfGfCfauguuuaacausu (SEQ ID NO: 1277), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где, необязательно, на смысловой цепи присутствуют один или два инвертированных лишенных азотистого основания остатков дезоксирибозы (инв.Ab) и/или одна, две, три, или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи; и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

42. Средство для РНКи по п.41, имеющее дуплексную структуру AD04831 (PAPA SEQ ID NO: 958/1030).

43. Средство для РНКи по п.1, где антисмысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') UGUUAAACAUGCCUAAACGCG (SEQ ID NO: 800), где все или в основном все из нуклеотидов представляют собой модифицированные нуклеотиды, и где SEQ ID NO: 800 локализована в положениях 1-21 (5' → 3') антисмысловой цепи.

44. Средство для РНКи по п.43, где антисмысловая цепь средства для РНКи содержит последовательность (5' → 3') usGfsuUfaAfaCfaUfgCfcUfaAfaCfsgCfsg (SEQ ID NO: 959), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; и s представляет собой фосфоротиоатную связь.

45. Средство для РНКи по п.44, где смысловая цепь содержит последовательность (5' → 3') cgcguuuuGfGfCfauguuuuaca (SEQ ID NO: 1278), где a, c, g и u представляют собой 2'-O-метил-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтор-аденозин, -цитидин, -гуанозин или -уридин, соответственно; s представляет собой фосфоротиоатную связь; где, необязательно, на смысловой цепи присутствуют один или два инвертированных лишенных азотистого основания остатков дезоксирибозы (инв.Ab) и/или одна, две, три, или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи; и где, необязательно, с 5'-концом смысловой цепи связан нацеливающий лиганд, включающий N-ацетилгалактозамин.

46. Средство для РНКи по п.45, имеющее дуплексную структуру AD04836 (ПАРА SEQ ID NO: 959/1024).

47. Композиция, содержащая средство для РНКи по любому из пп. 1-46, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.

48. Композиция по п.47, дополнительно содержащая одно или более дополнительных терапевтических или лекарственных средств.

49. Композиция по любому из пп. 47-48, упакованная в набор, контейнер, упаковку, дозатор, предварительно заполненные шприцы или флаконы.

50. Композиция по любому из пп. 47-49, составленная для введения посредством подкожной инъекции.

51. Композиция по п.47, включающая один или более дуплексов, имеющих структуру, выбранную из группы, состоящей из: AD04824, AD04825, AD04826, AD04827, AD04828, AD04829, AD04830, AD04831, AD04832, AD04833, AD04834, AD04835, AD04836 и AD04837.

52. Способ ингибирования экспрессии гена ААТ в клетке, включающий введение эффективного количества средства для РНКи по любому из пп. 1-46.

53. Способ ингибирования экспрессии гена ААТ у пациента, включающий введение пациенту эффективного количества средства для РНКи по любому из пп. 1-46 или композиции по любому из пп. 47-51.

54. Способ лечения недостаточности альфа-1-антитрипсина (ААТД), включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи по любому из пп. 1-46 или композиции по пп. 47-51.

55. Способ лечения состояния или заболевания, вызванного недостаточностью альфа-1-антитрипсина (ААТД), включающий введение пациенту терапевтически эффективного количества средства для РНКи по любому из пп. 1-46 или композиции по пп. 47-51.

56. Способ по п.55, где состояние или заболевание, вызванное ААТ, представляет собой заболевание печени.

57. Способ по п.56, где заболевание печени представляет собой хронический гепатит, цирроз, печеночно-клеточную карциному, трансаминит, холестаза, фиброз или фульминантную печеночную недостаточность.

58. Способ снижения или уменьшения уровня нерастворимого белка ААТ у пациента, по сравнению с фоновыми уровнями до обработки, включающий введение пациенту эффективного количества средства для РНКи по любому из пп. 1-46 или композиции по пп. 47-51.

59. Способ по любому из пп. 52-58, где средство для РНКи вводят пациенту подкожно.

60. Способ по любому из пп. 52-59, дополнительно включающий

измерение уровней в сыворотке белка ААТ (растворимого и/или нерастворимого) или уровней мРНК ААТ у пациента.

61. Способ по любому из пп. 52-60, где уровни в сыворотке белка ААТ (растворимого и/или нерастворимого) и/или уровни мРНК ААТ у пациента уменьшают.

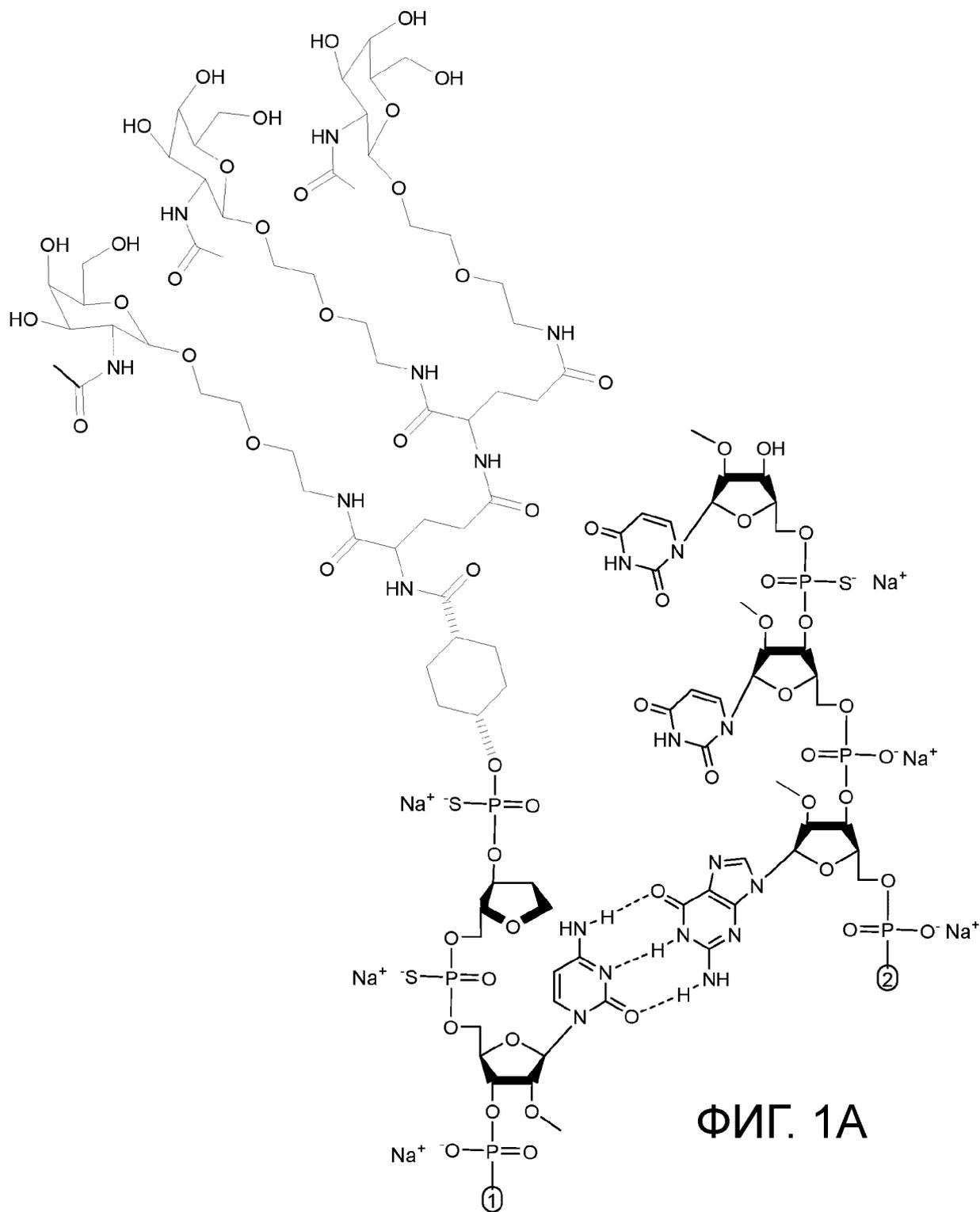
62. Средство для РНКи по любому из пп. 1-46 для применения в способе лечения пациента.

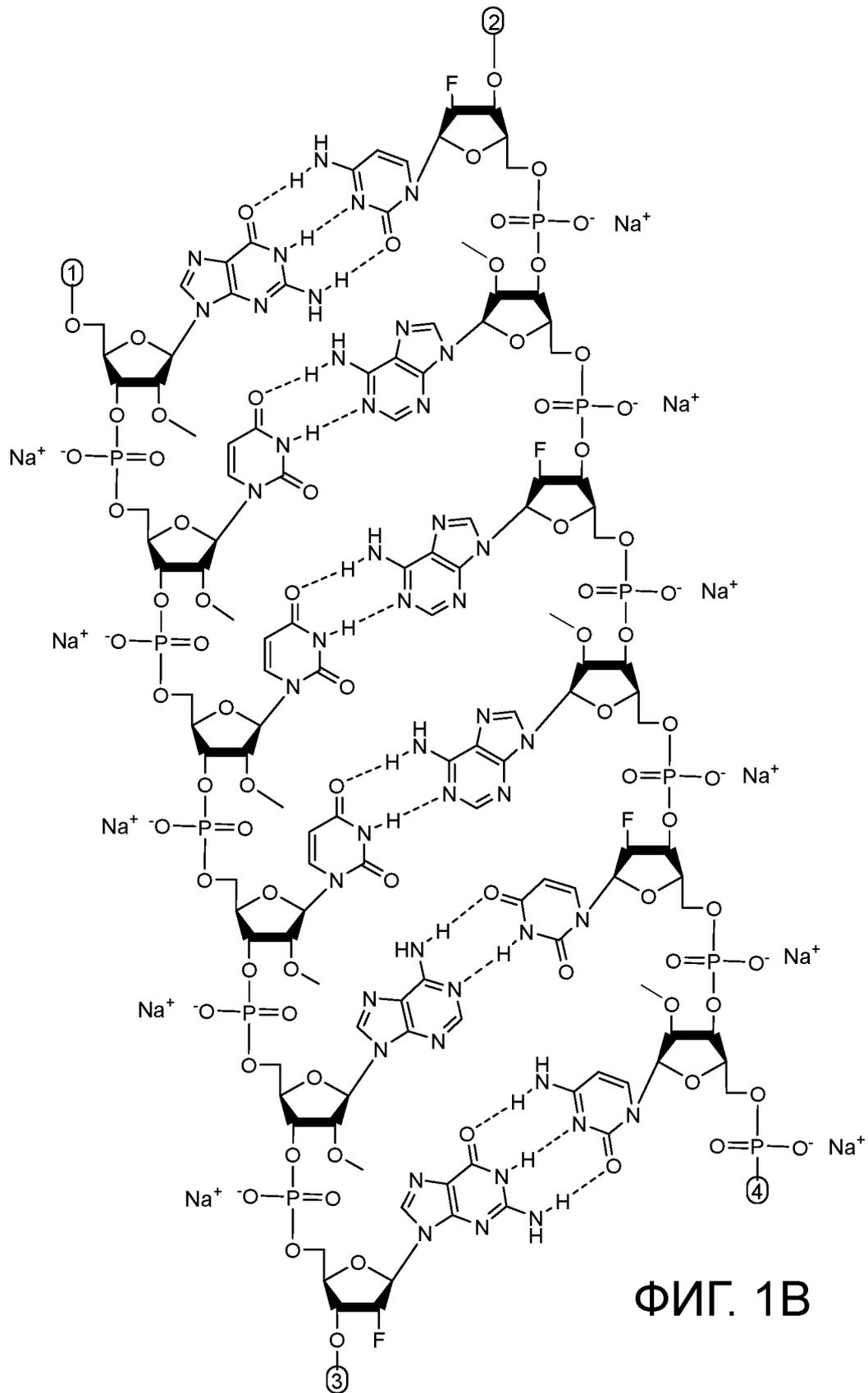
63. Средство для РНКи по любому из пп. 1-46 для применения в способе лечения пациента, имеющего ААТD.

64. Композиция по любому из пп. 47-51 для применения в способе лечения пациента.

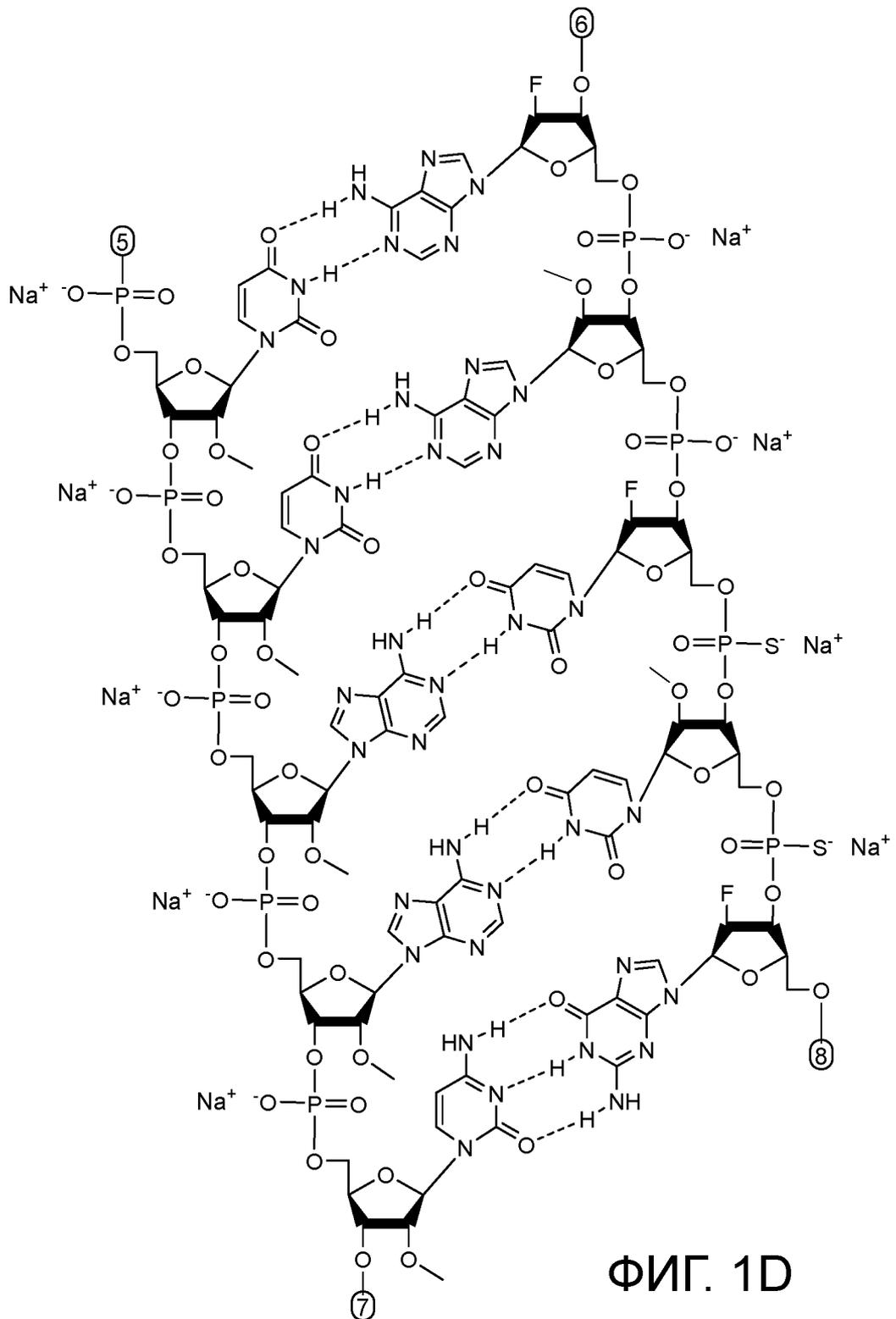
65. Композиция по любому из пп. 47-51 для применения для пациента, имеющего ААТD.

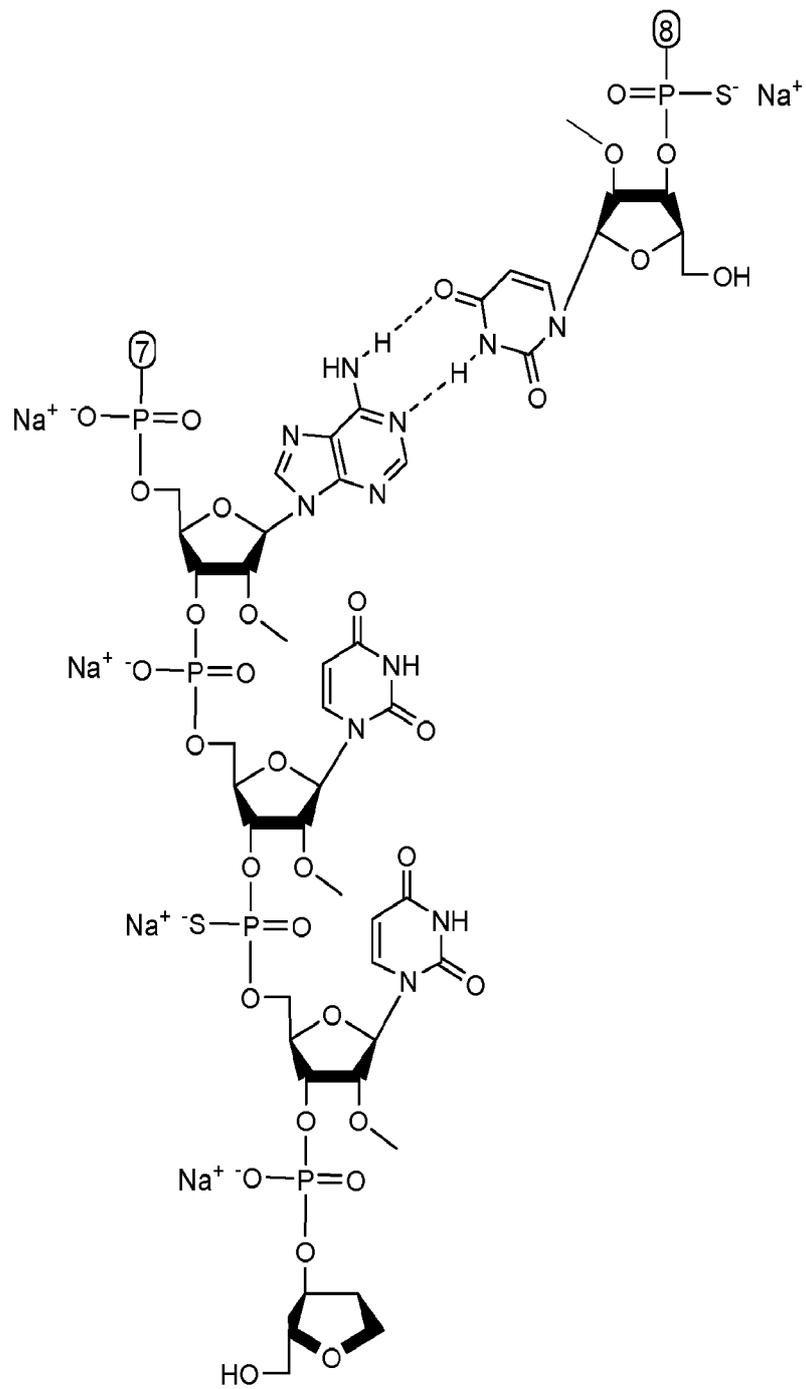
66. Средство для РНКи по любому из пп. 1-46 для применения для ингибирования экспрессии мРНК ААТ в клетке.





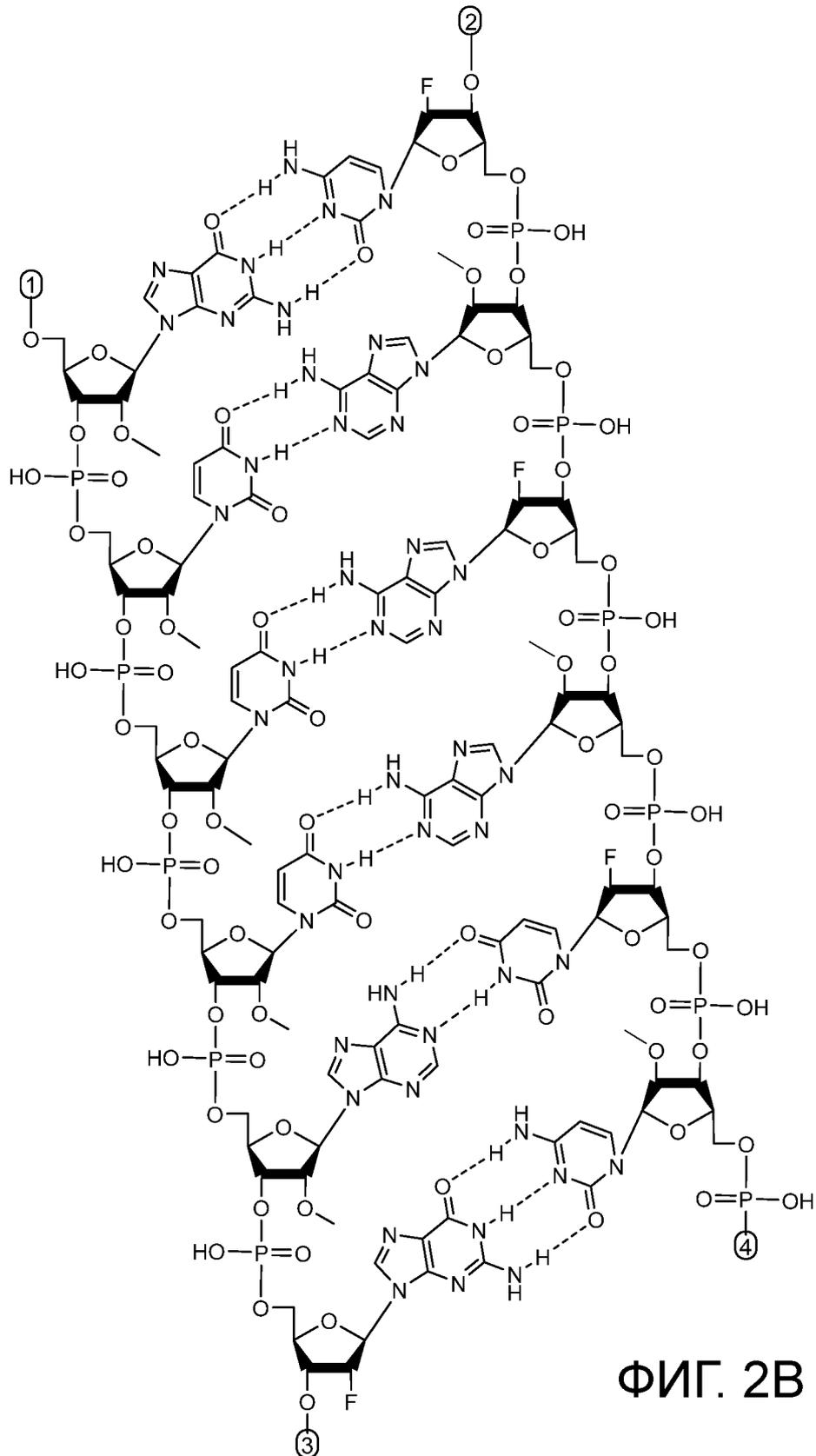




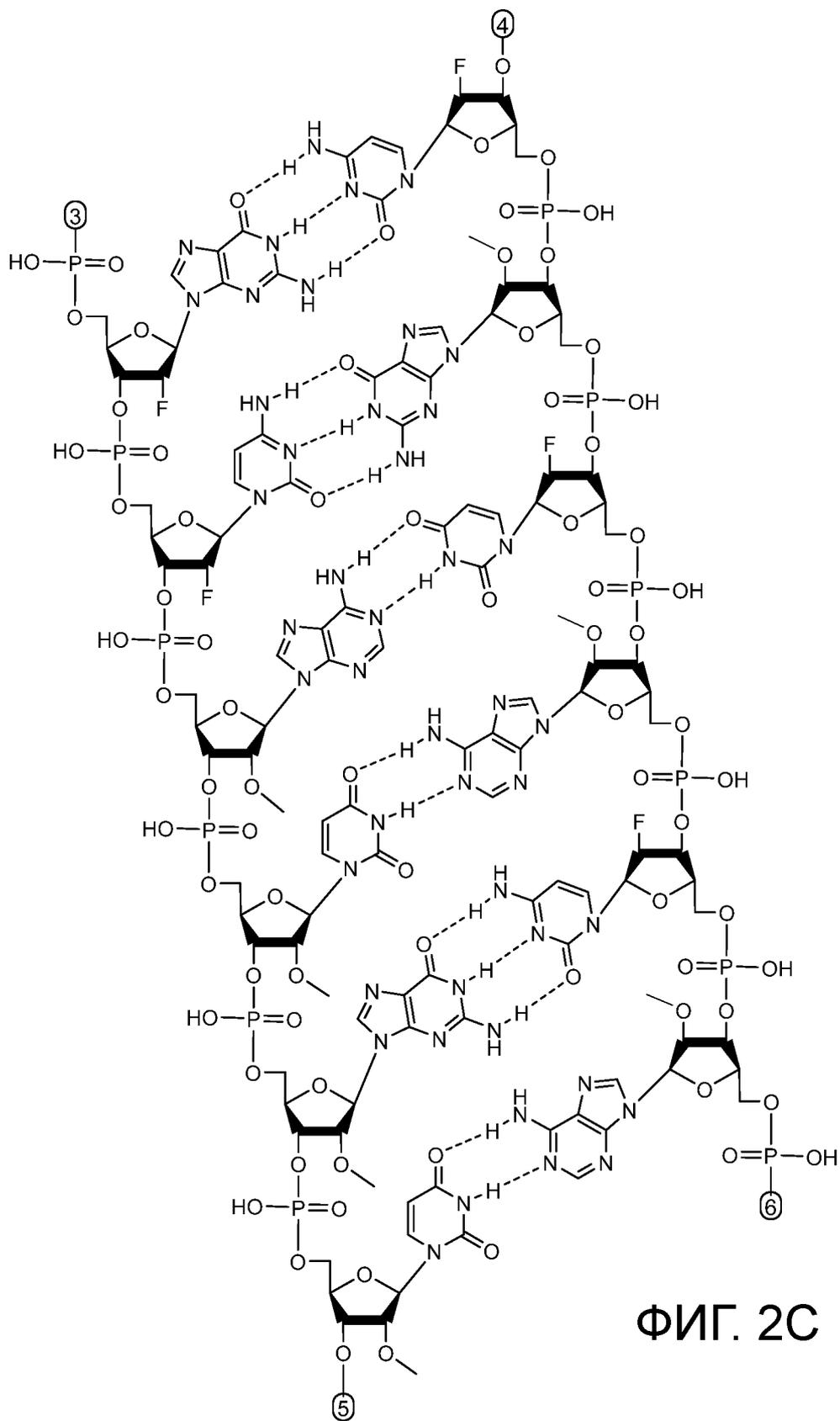


ФИГ. 1Е

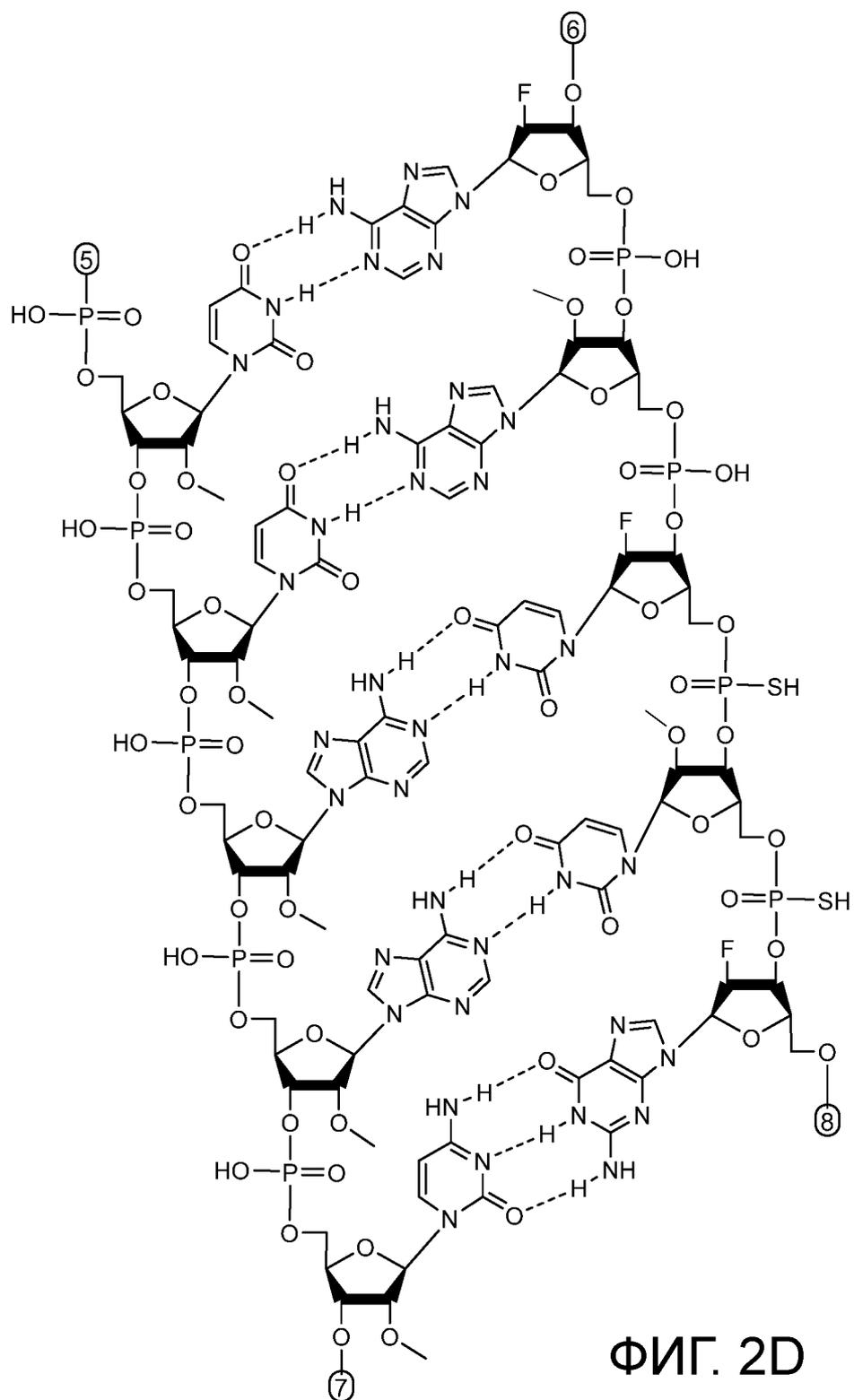




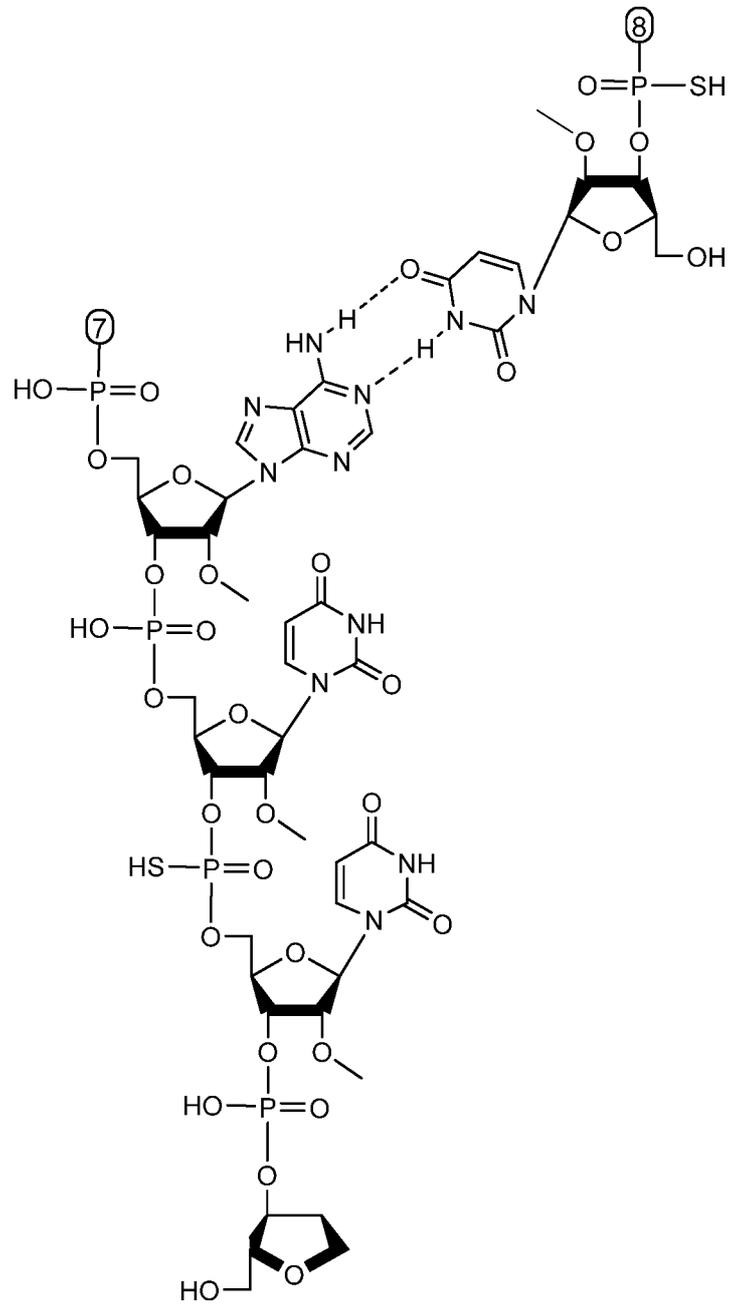
ФИГ. 2В



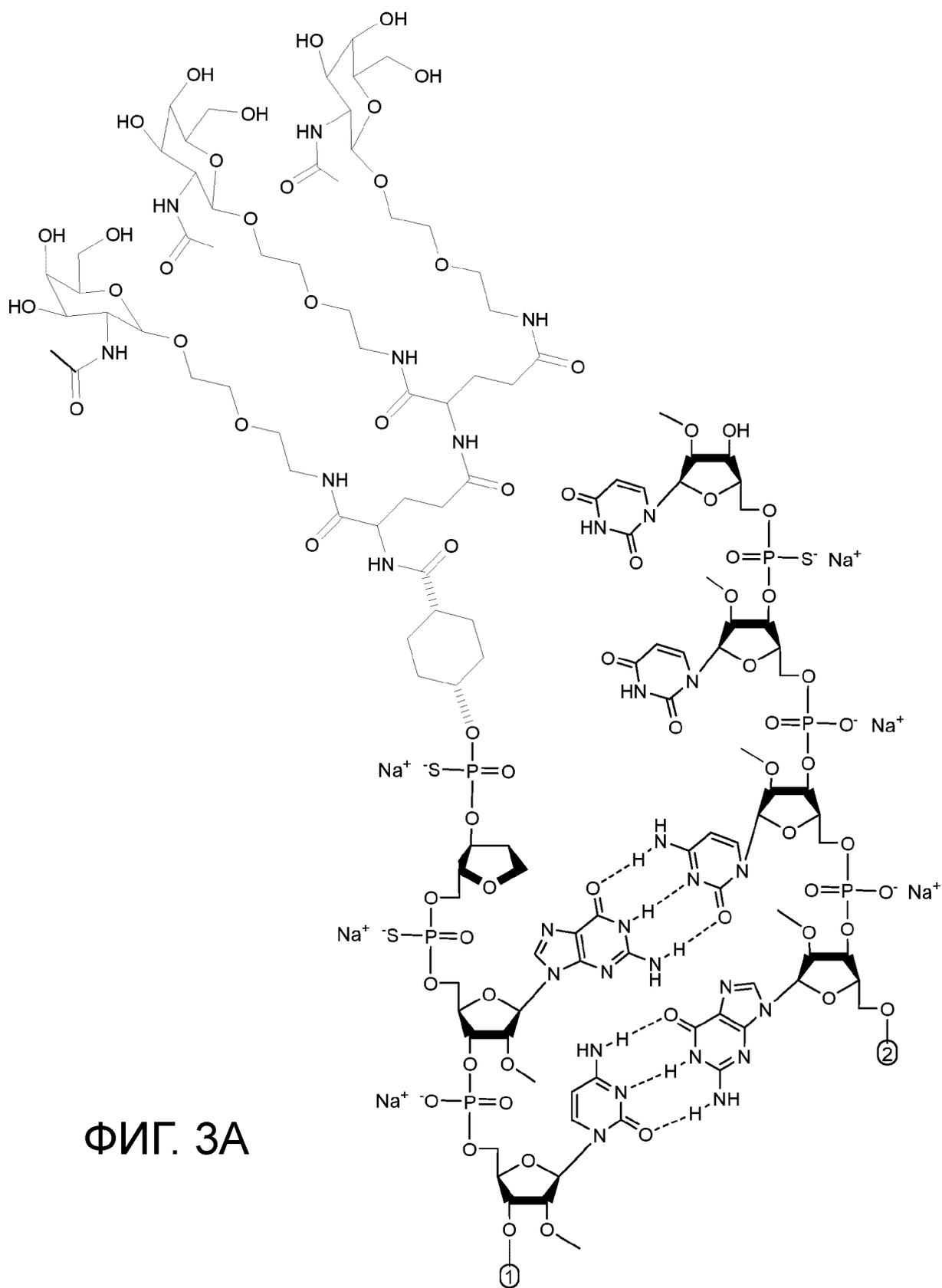
ФИГ. 2С



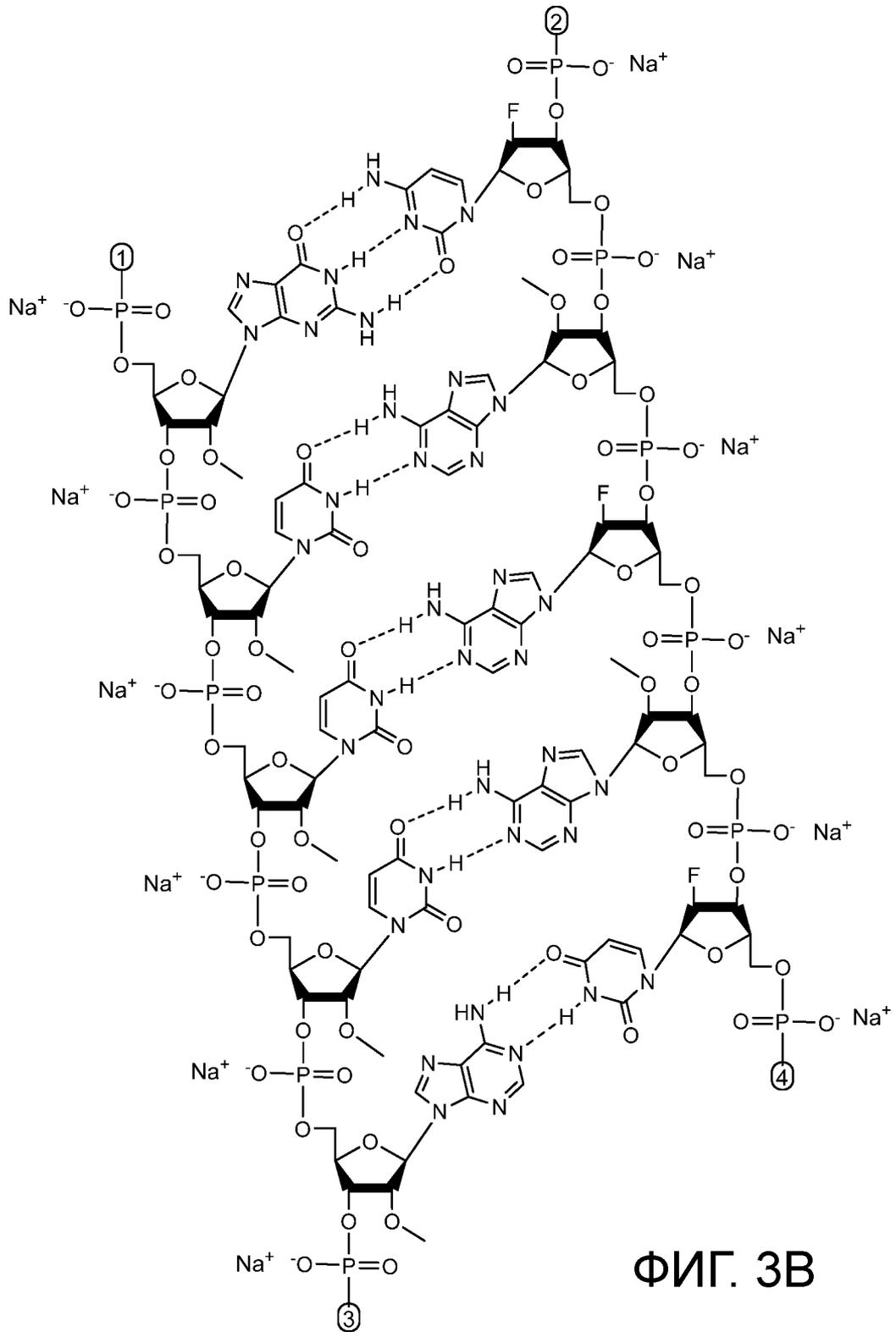
ФИГ. 2D



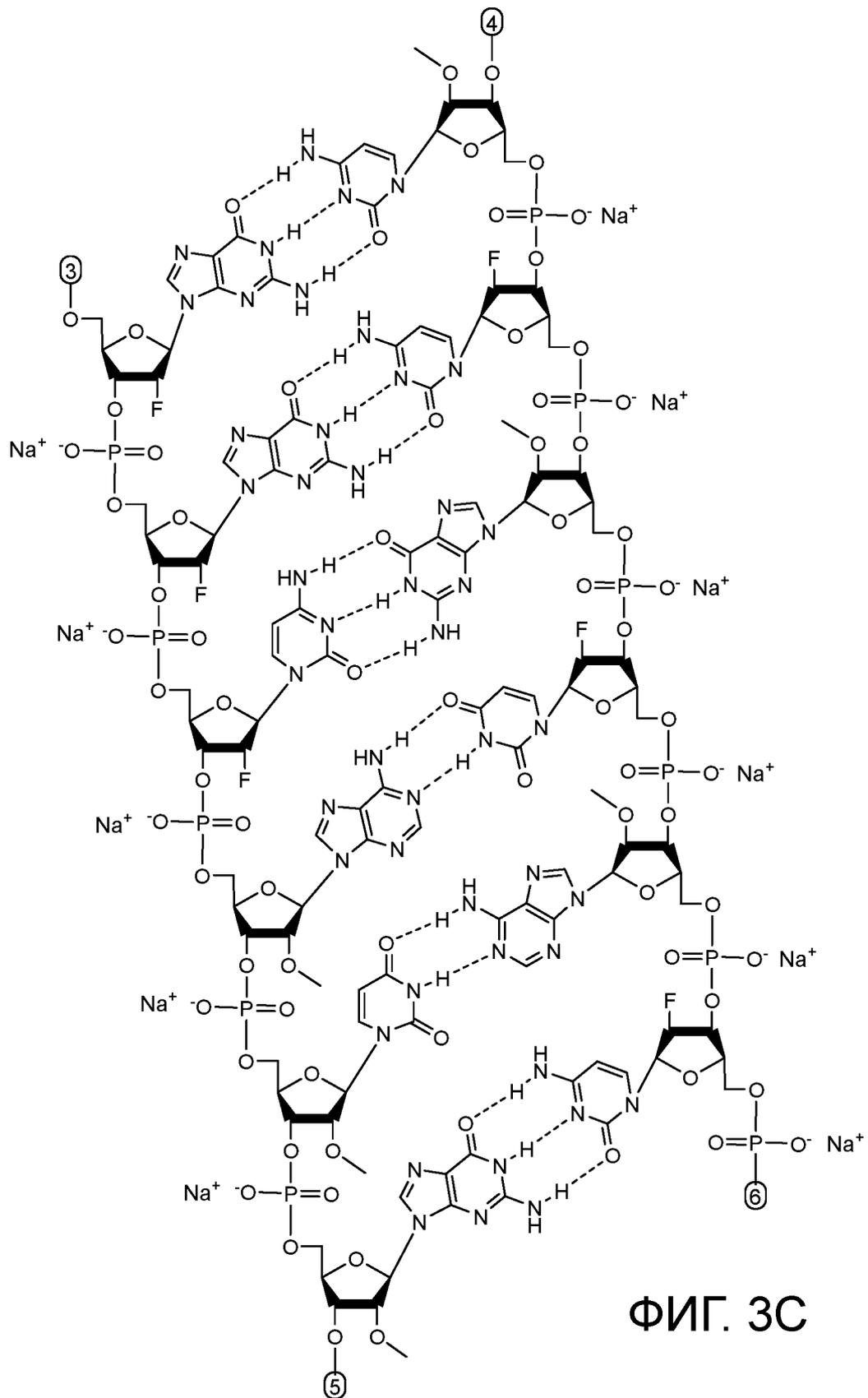
ФИГ. 2Е



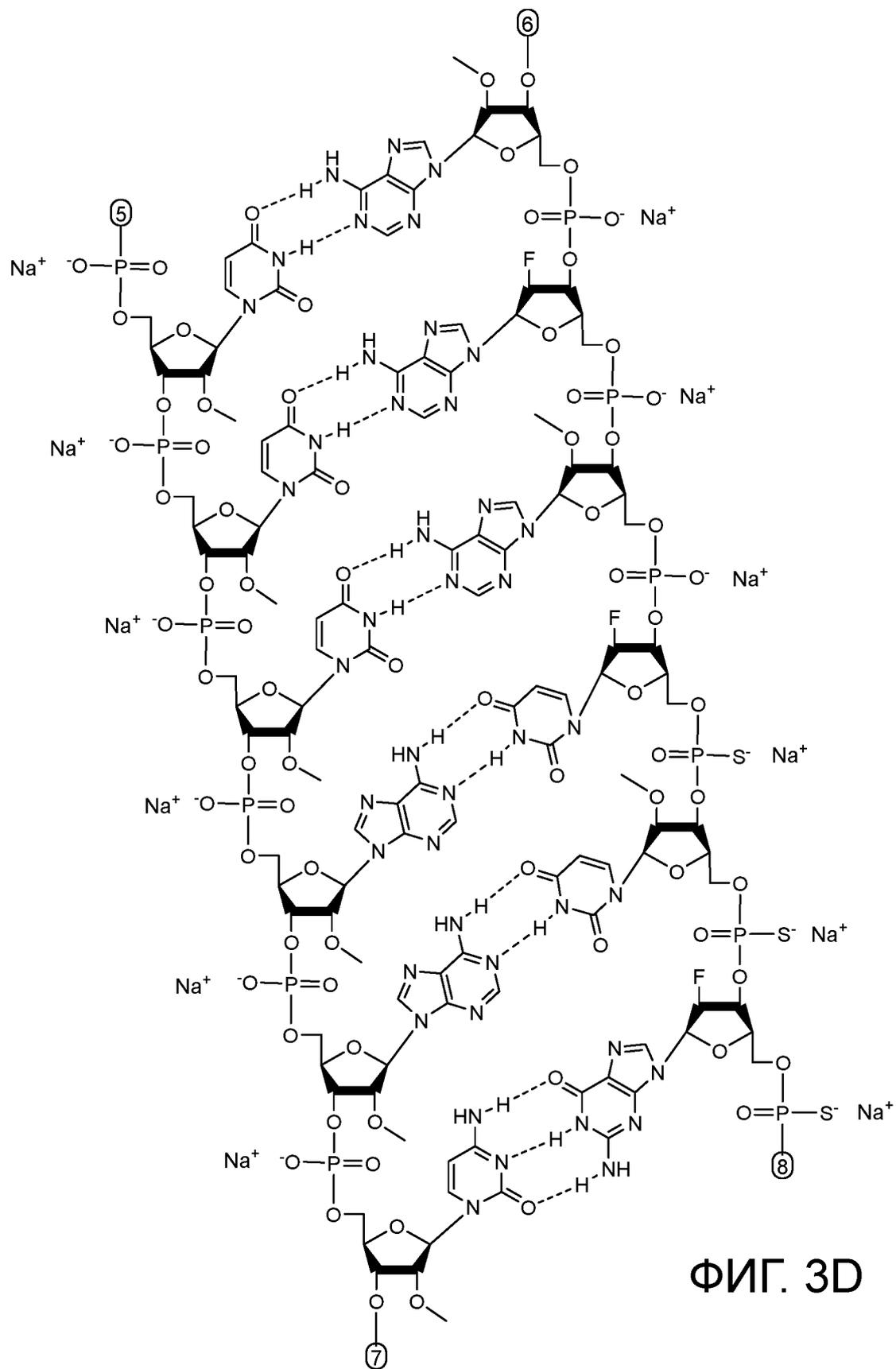
ФИГ. 3А

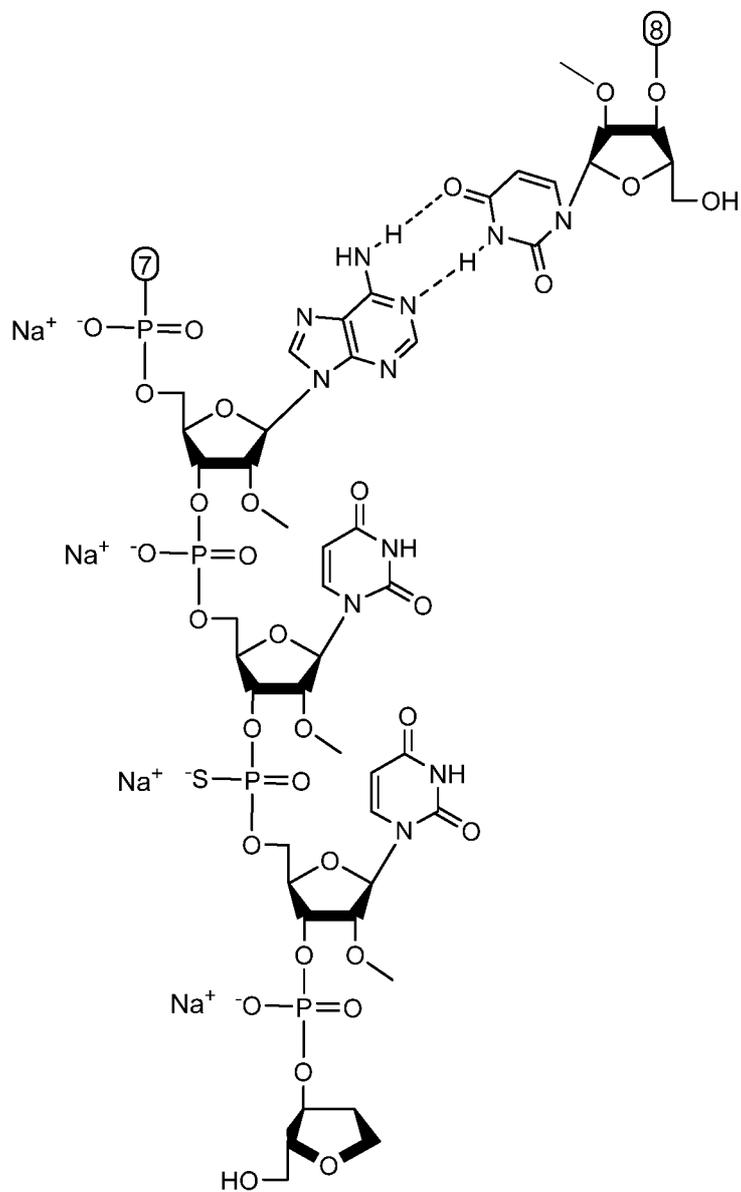


ФИГ. 3В

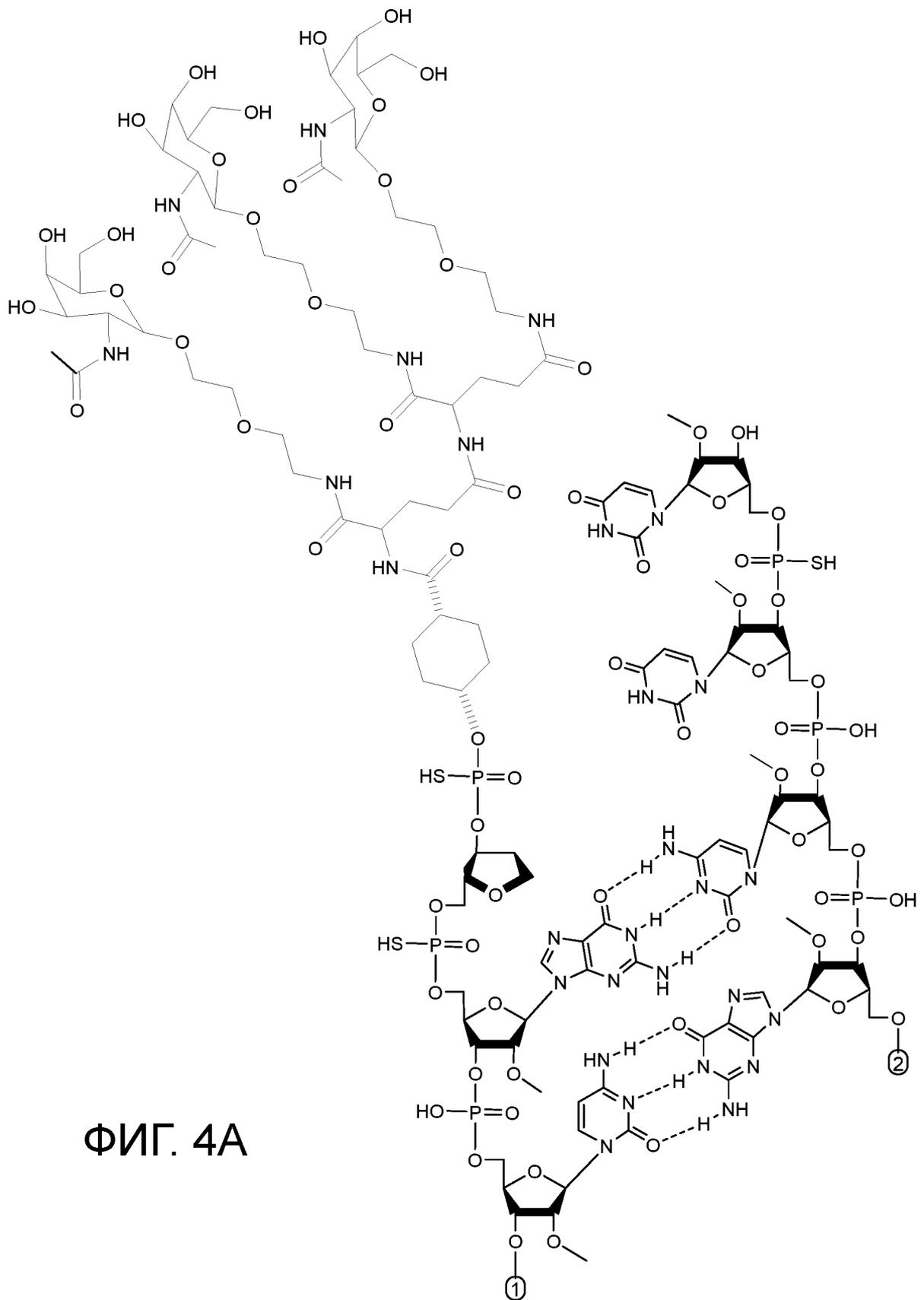


ФИГ. 3С

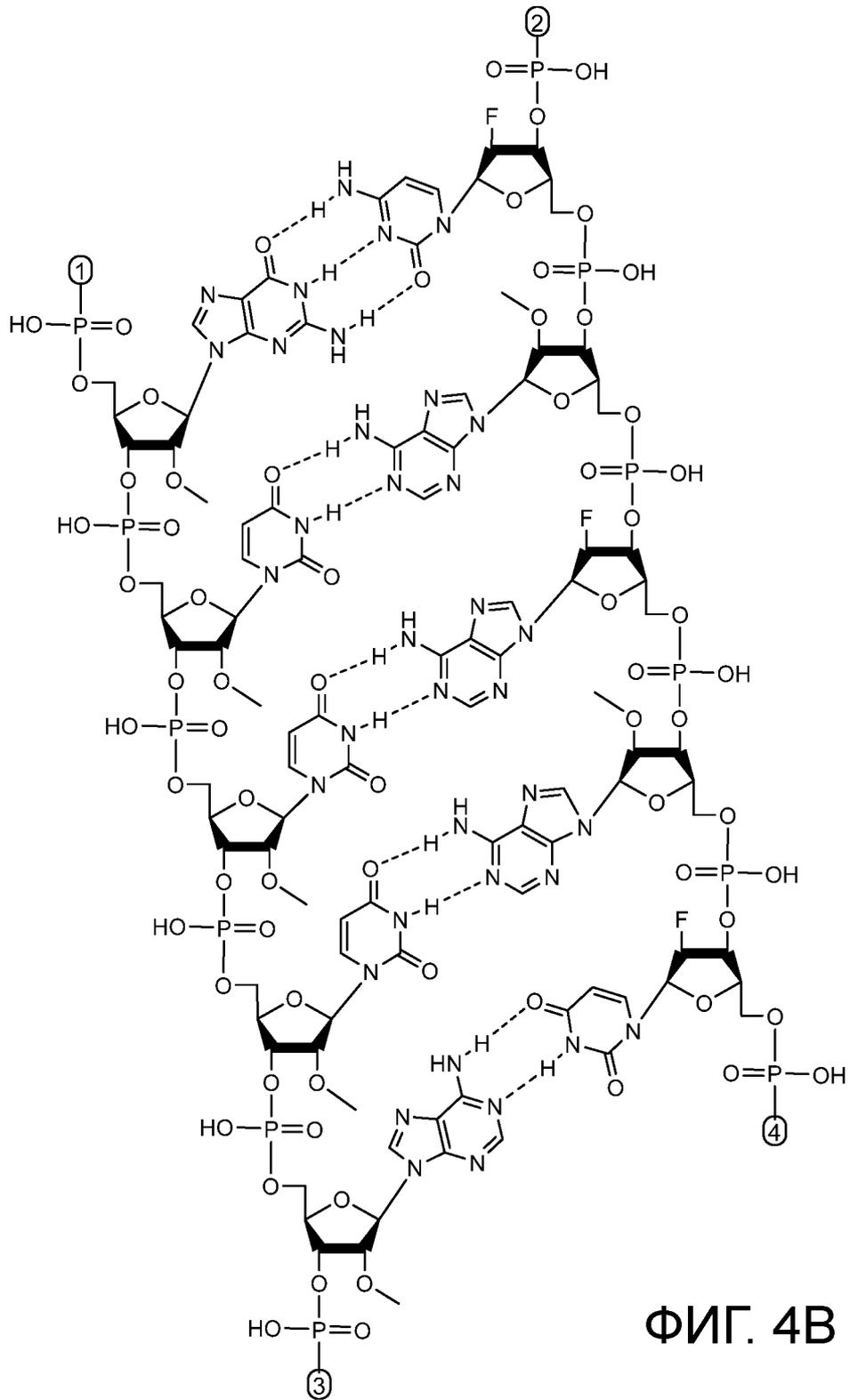




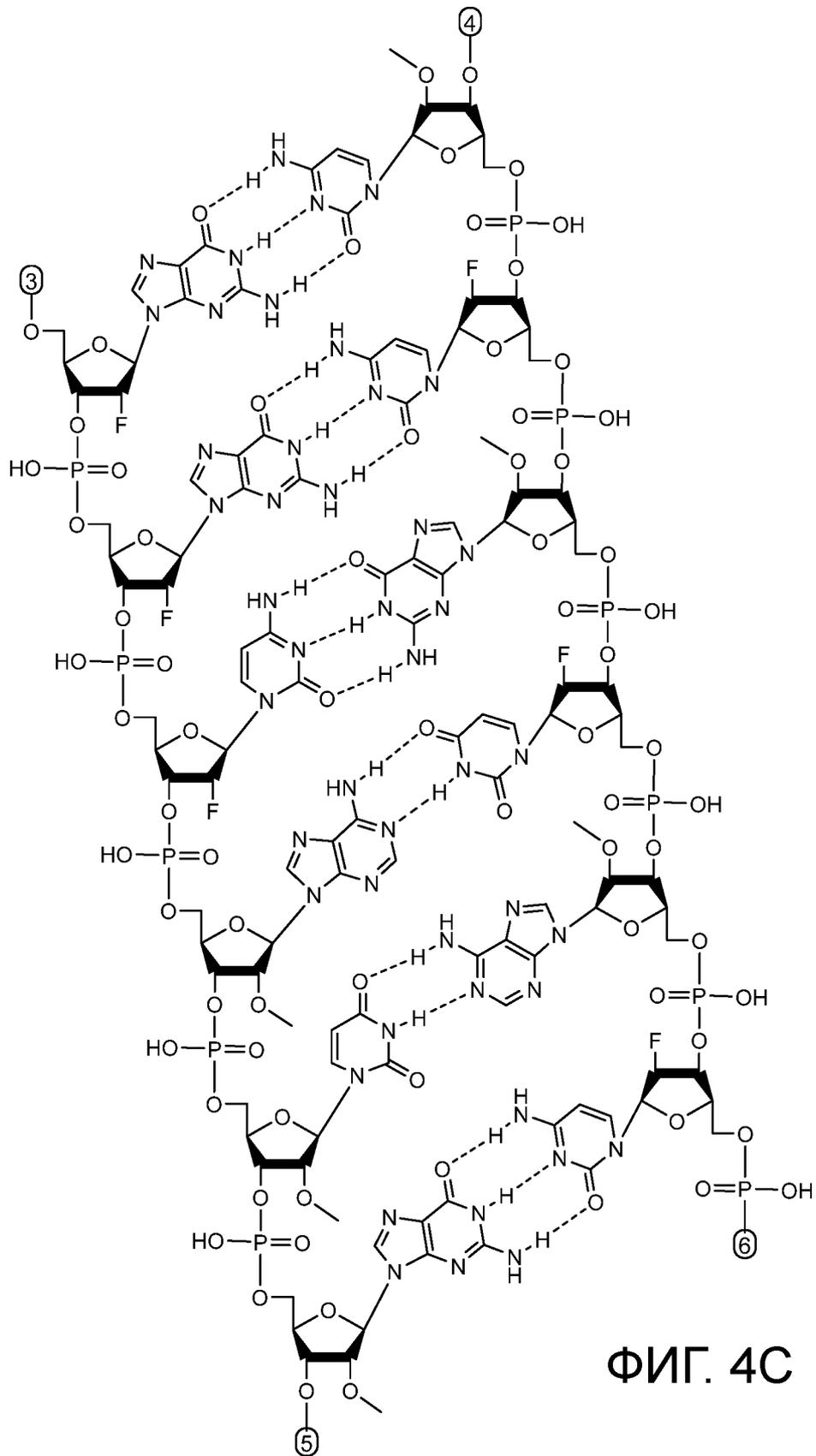
ФИГ. 3Е



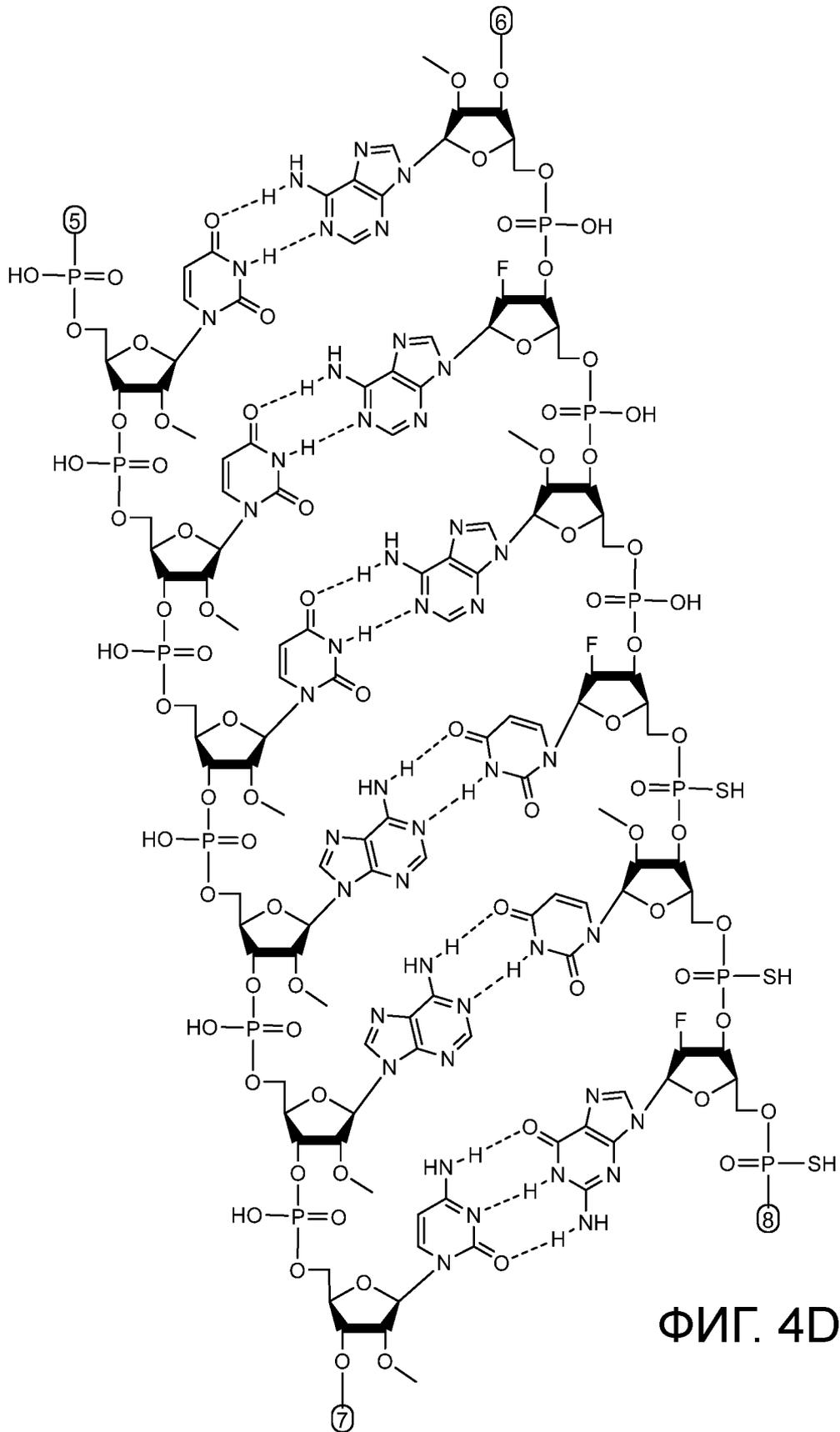
ФИГ. 4А

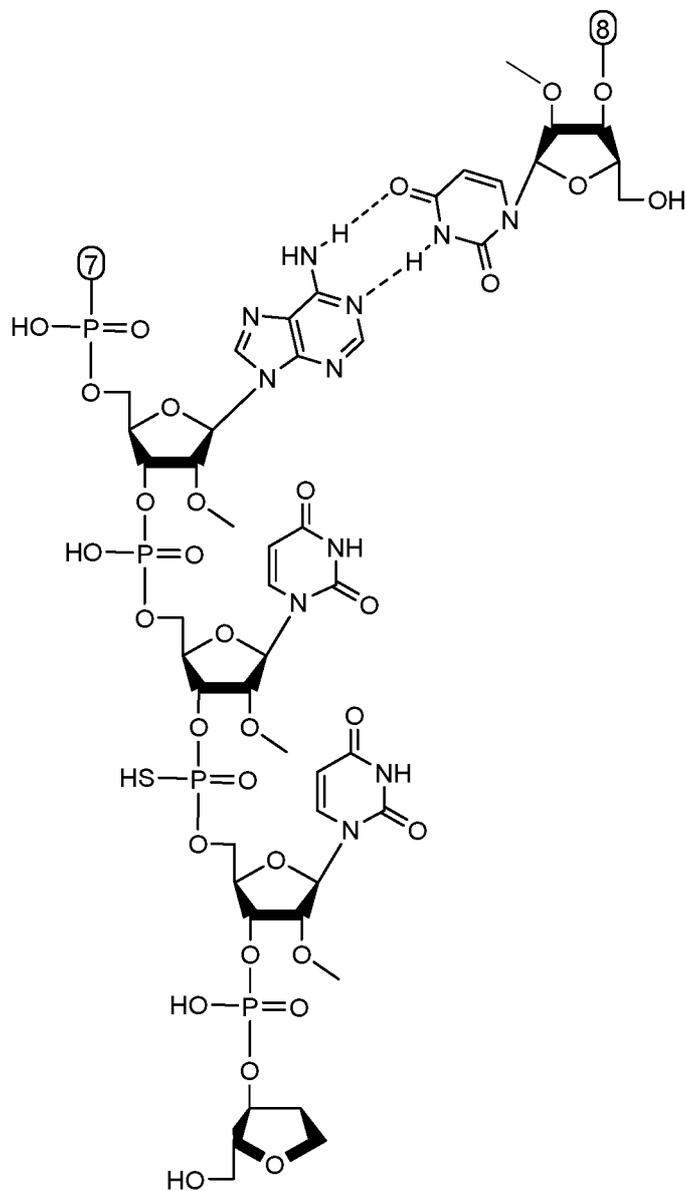


ФИГ. 4В

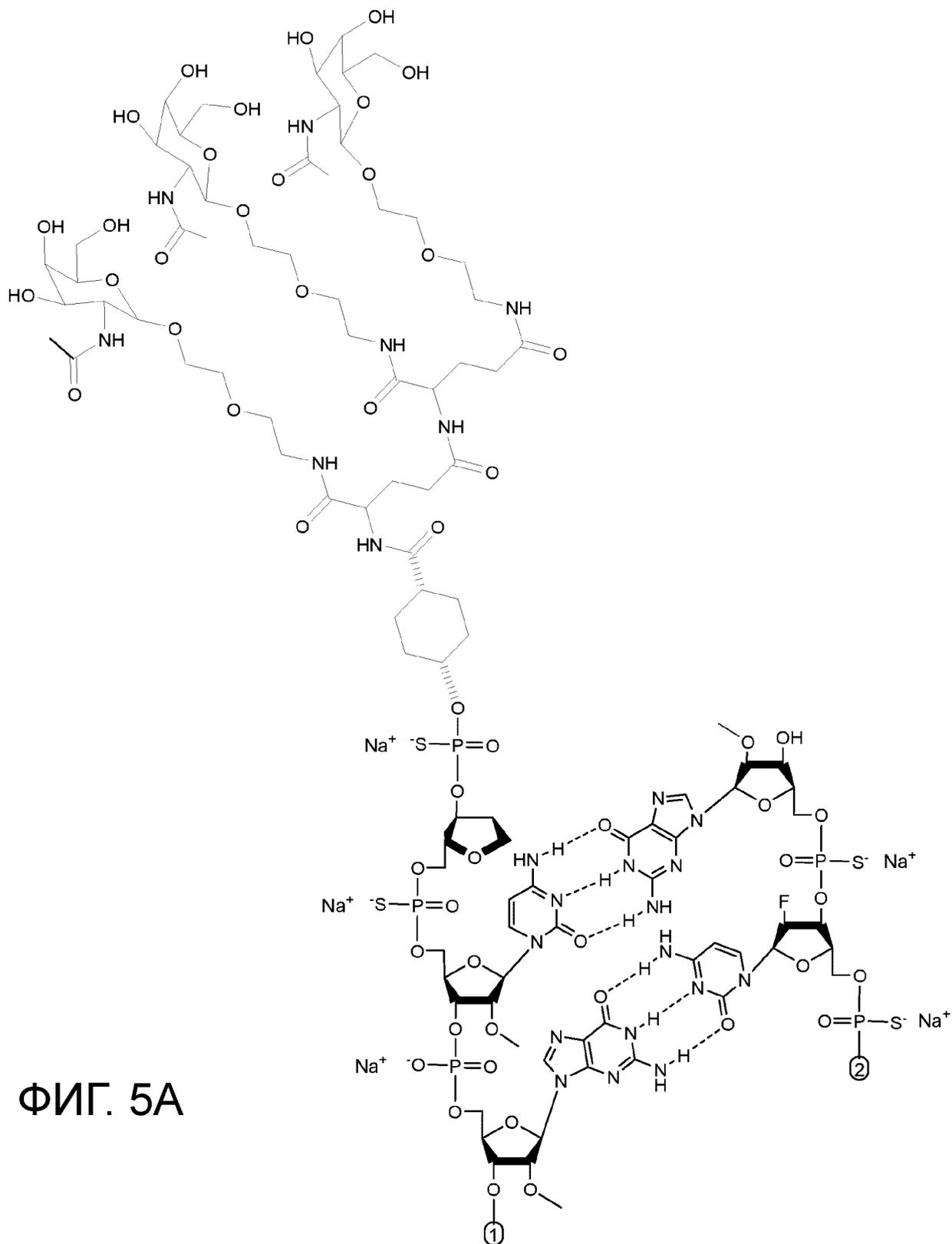


ФИГ. 4С

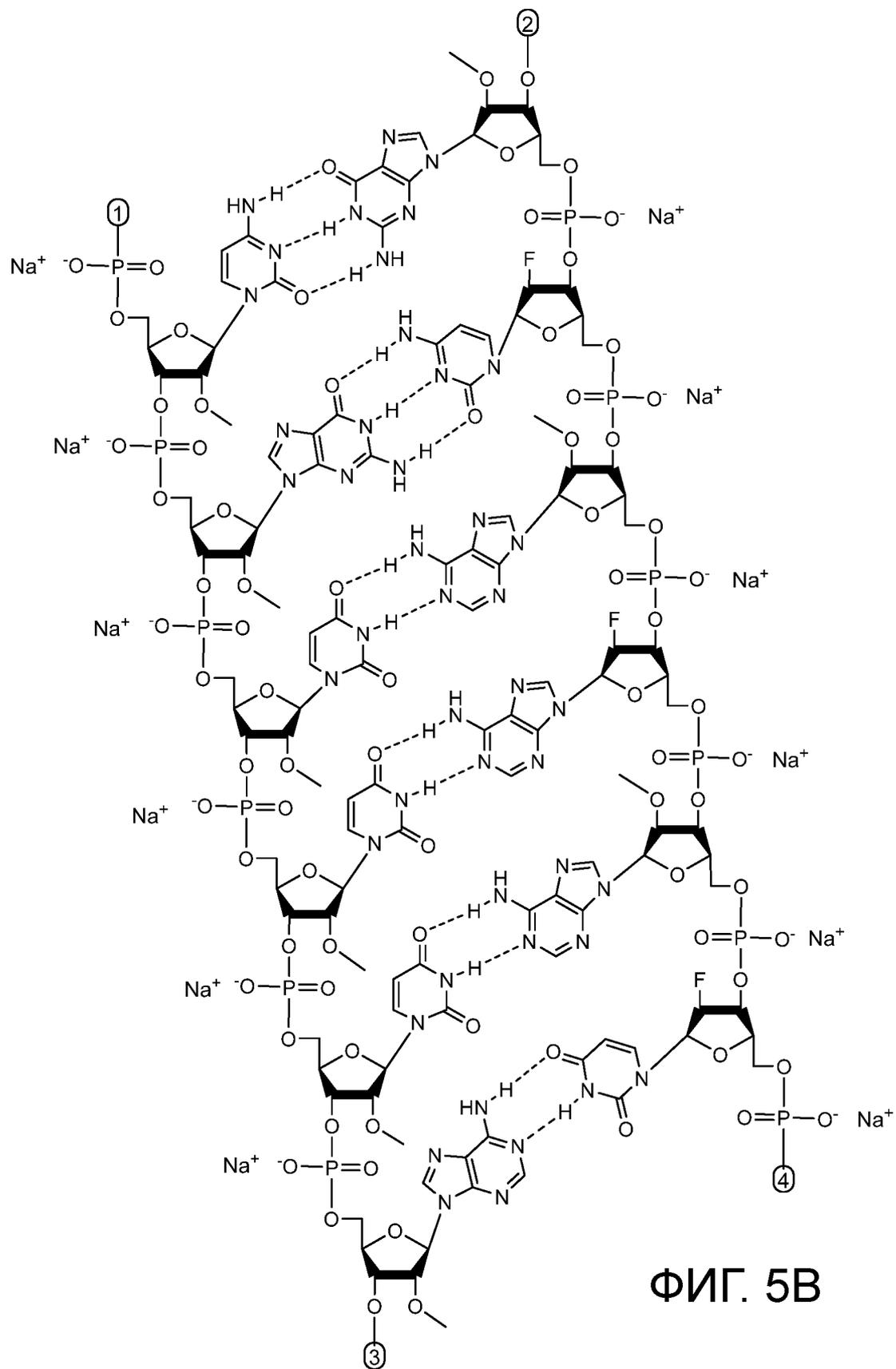




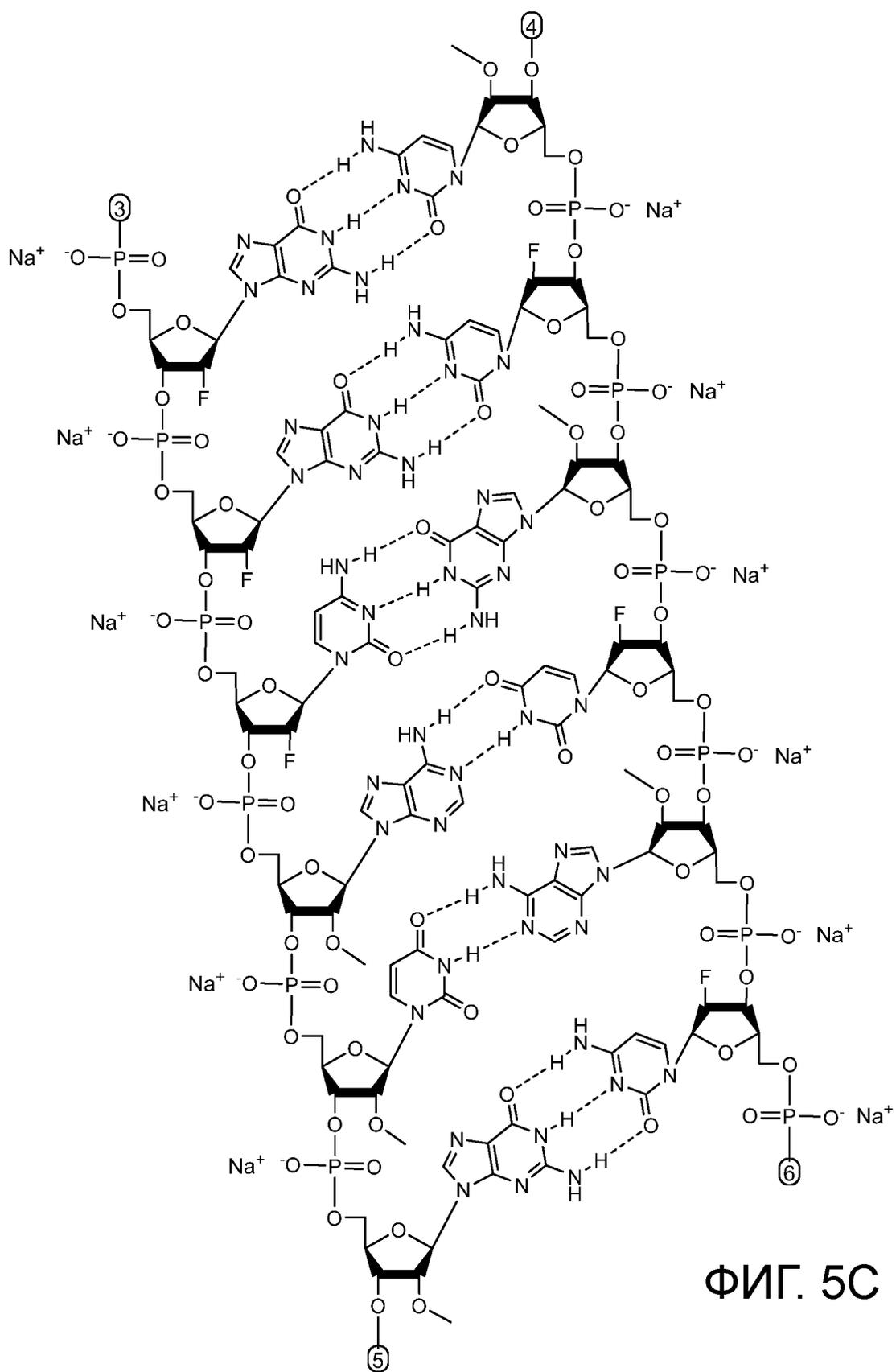
ФИГ. 4Е



ФИГ. 5А

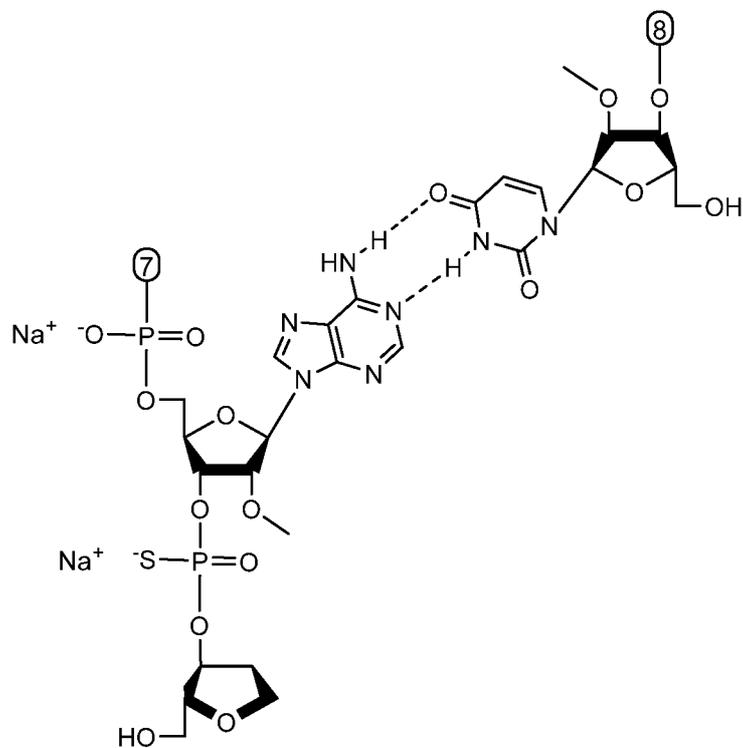


ФИГ. 5В

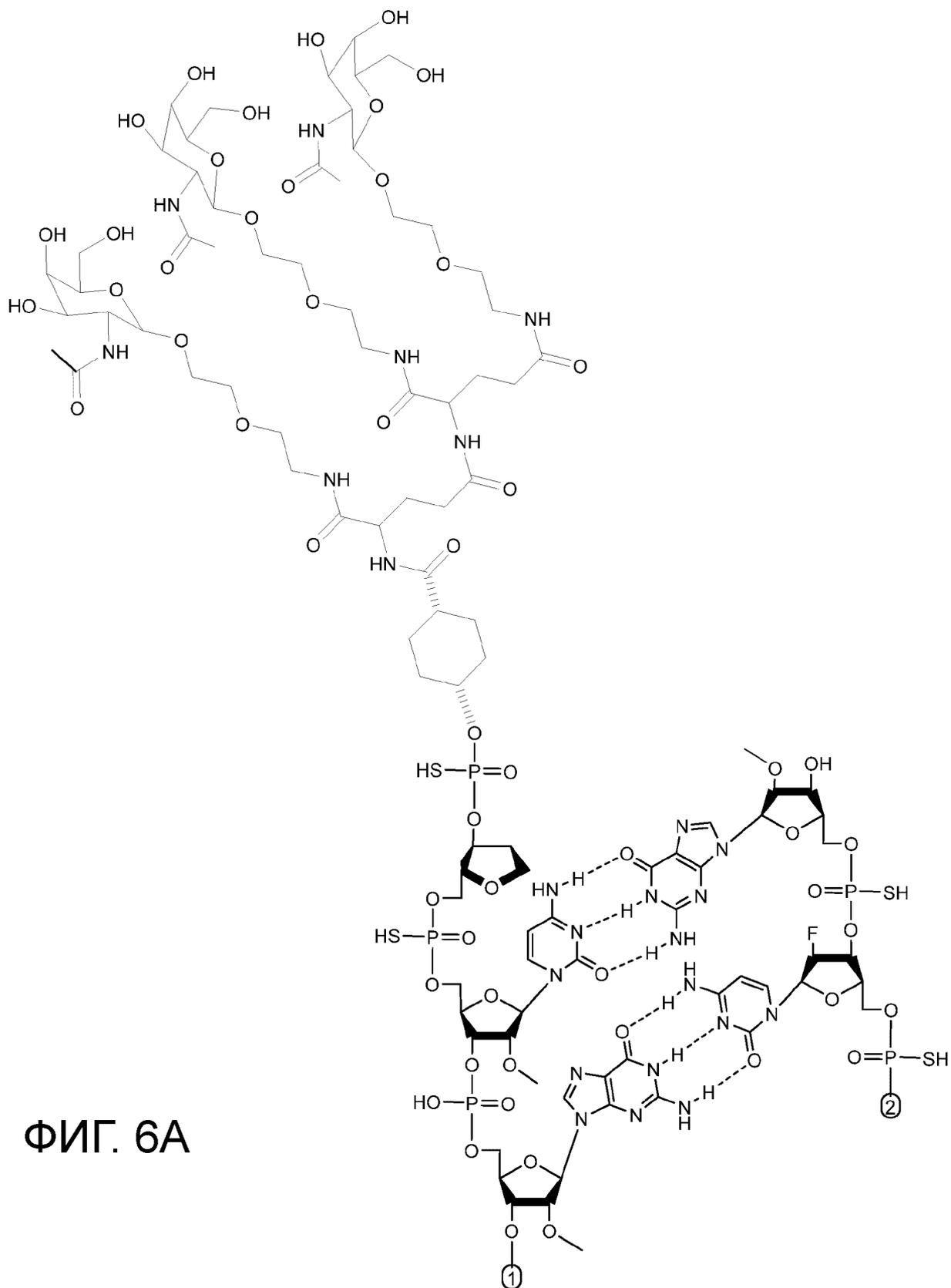


ФИГ. 5С

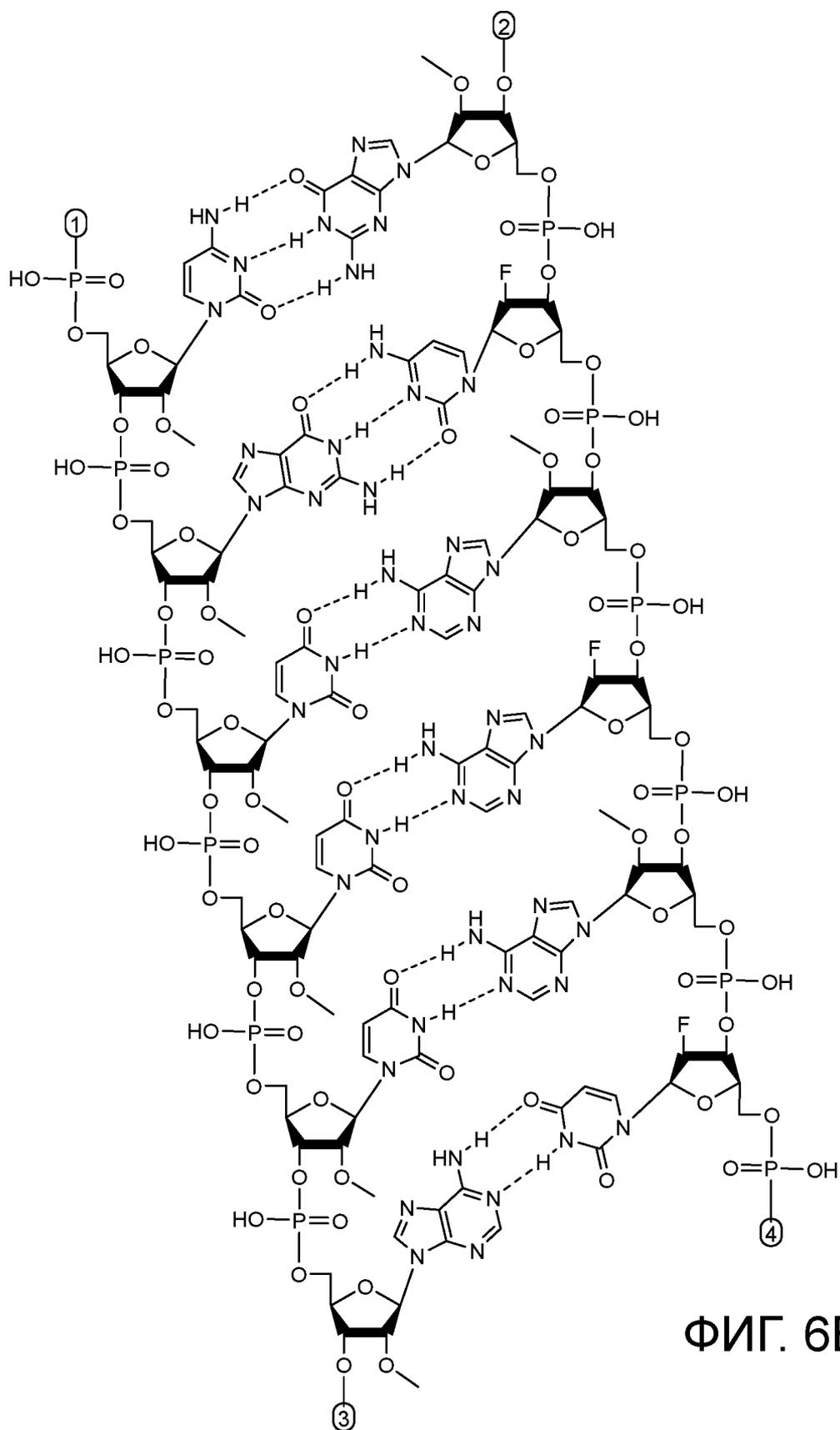




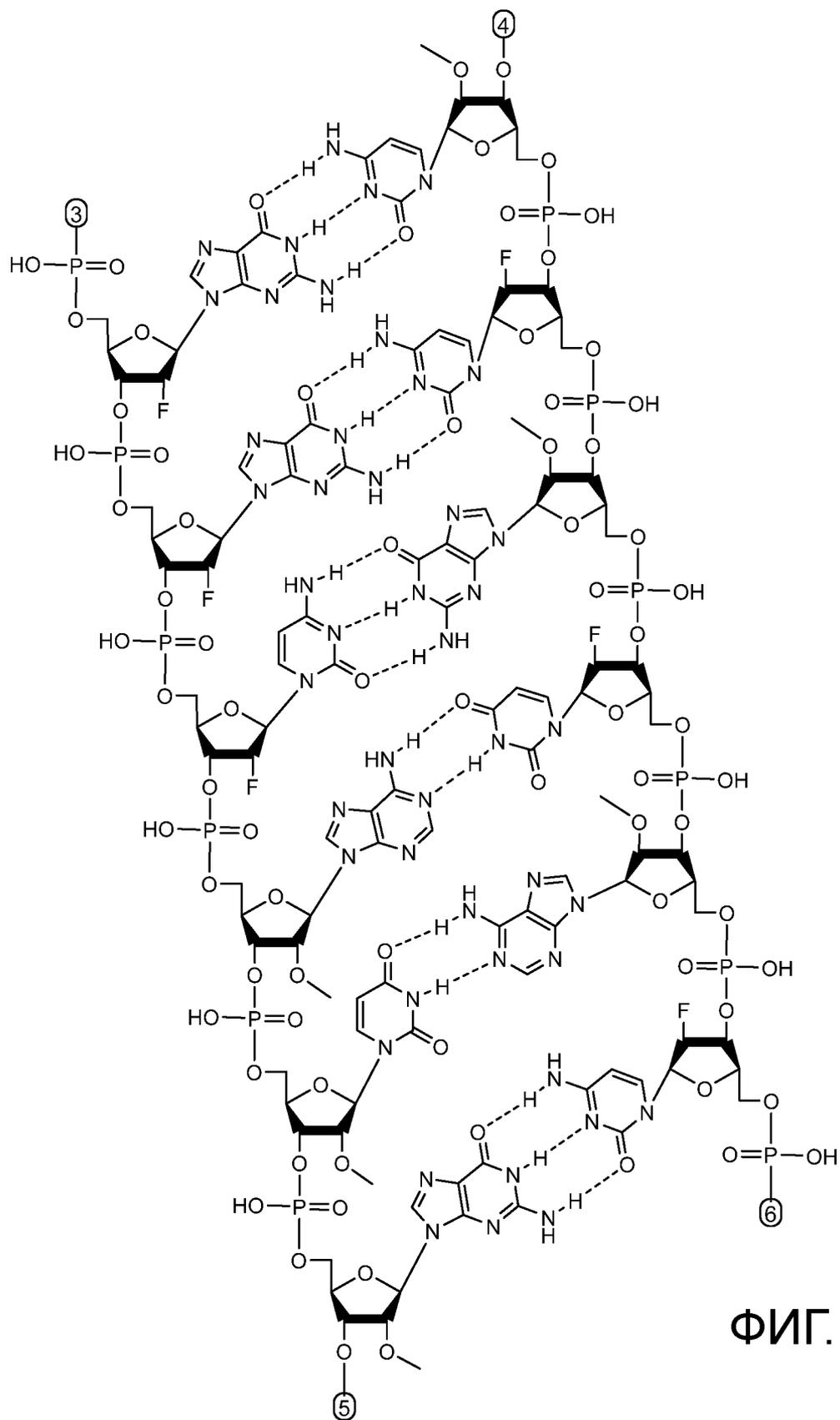
ФИГ. 5Е



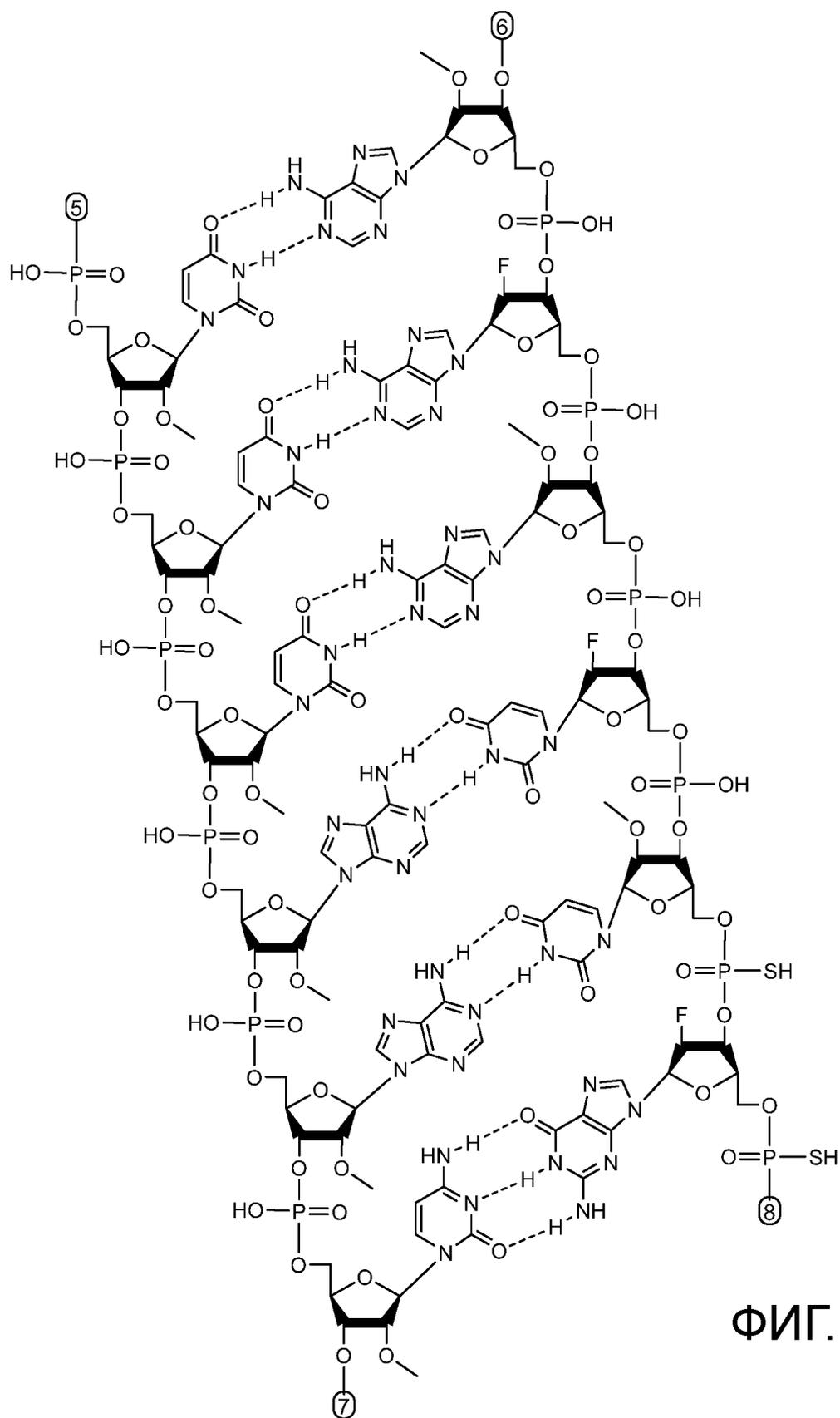
ФИГ. 6А



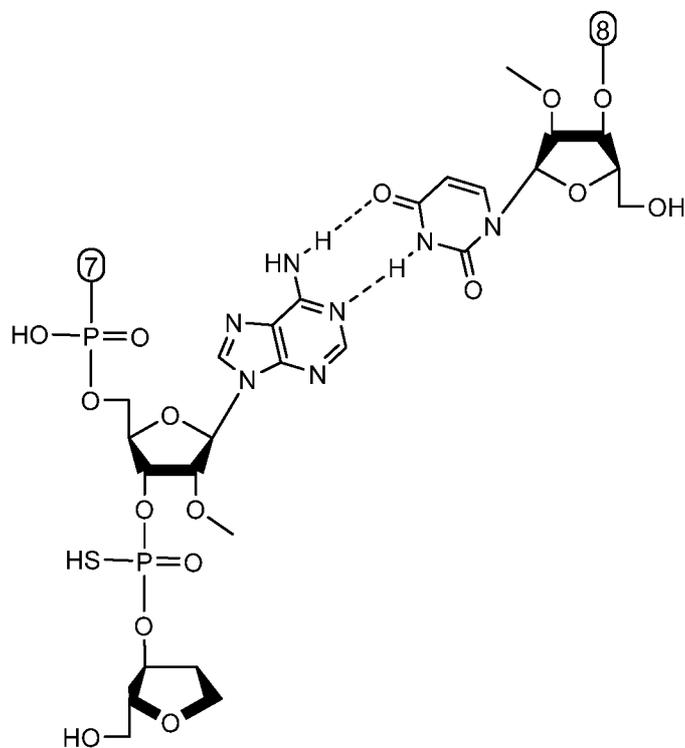
ФИГ. 6В



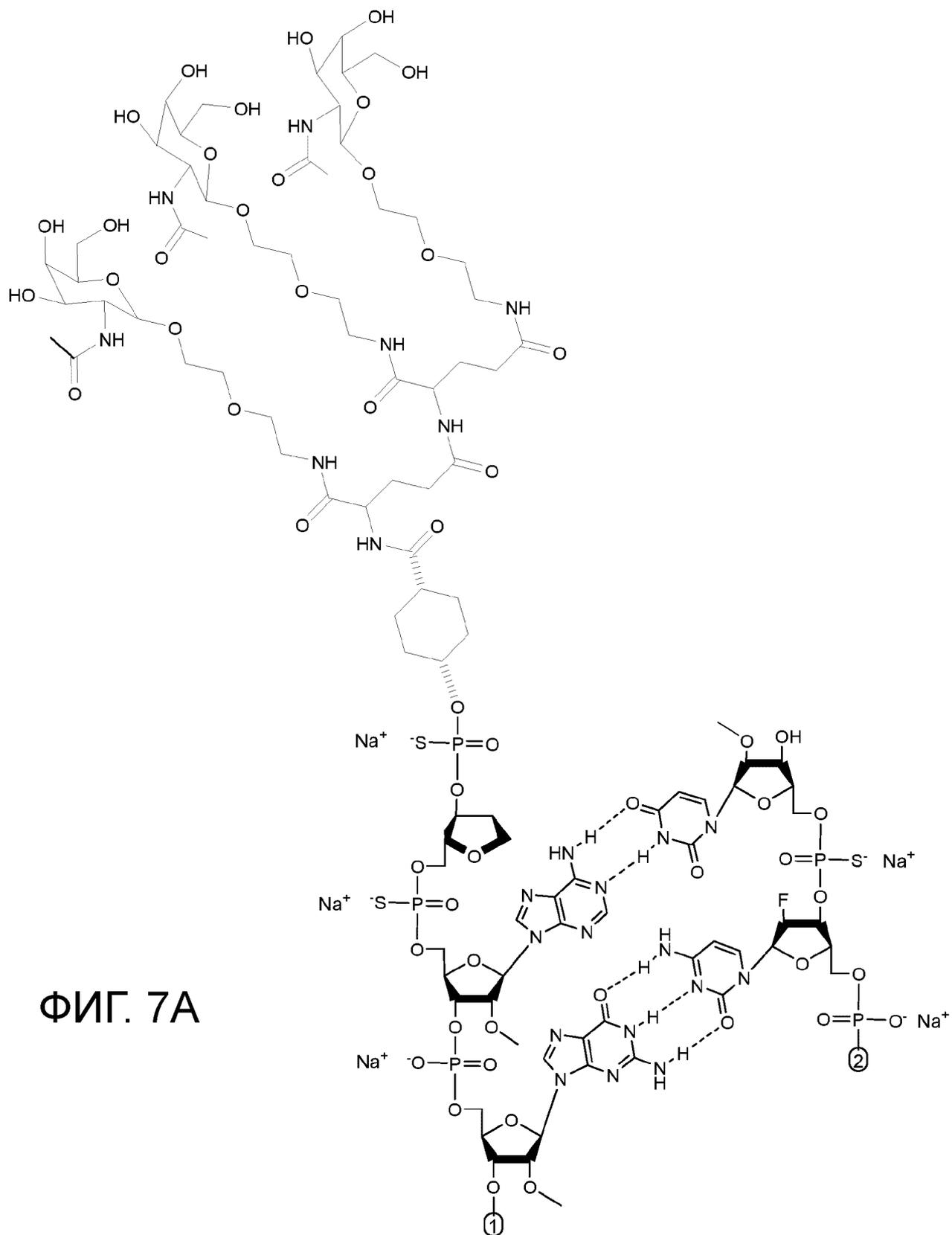
ФИГ. 6С



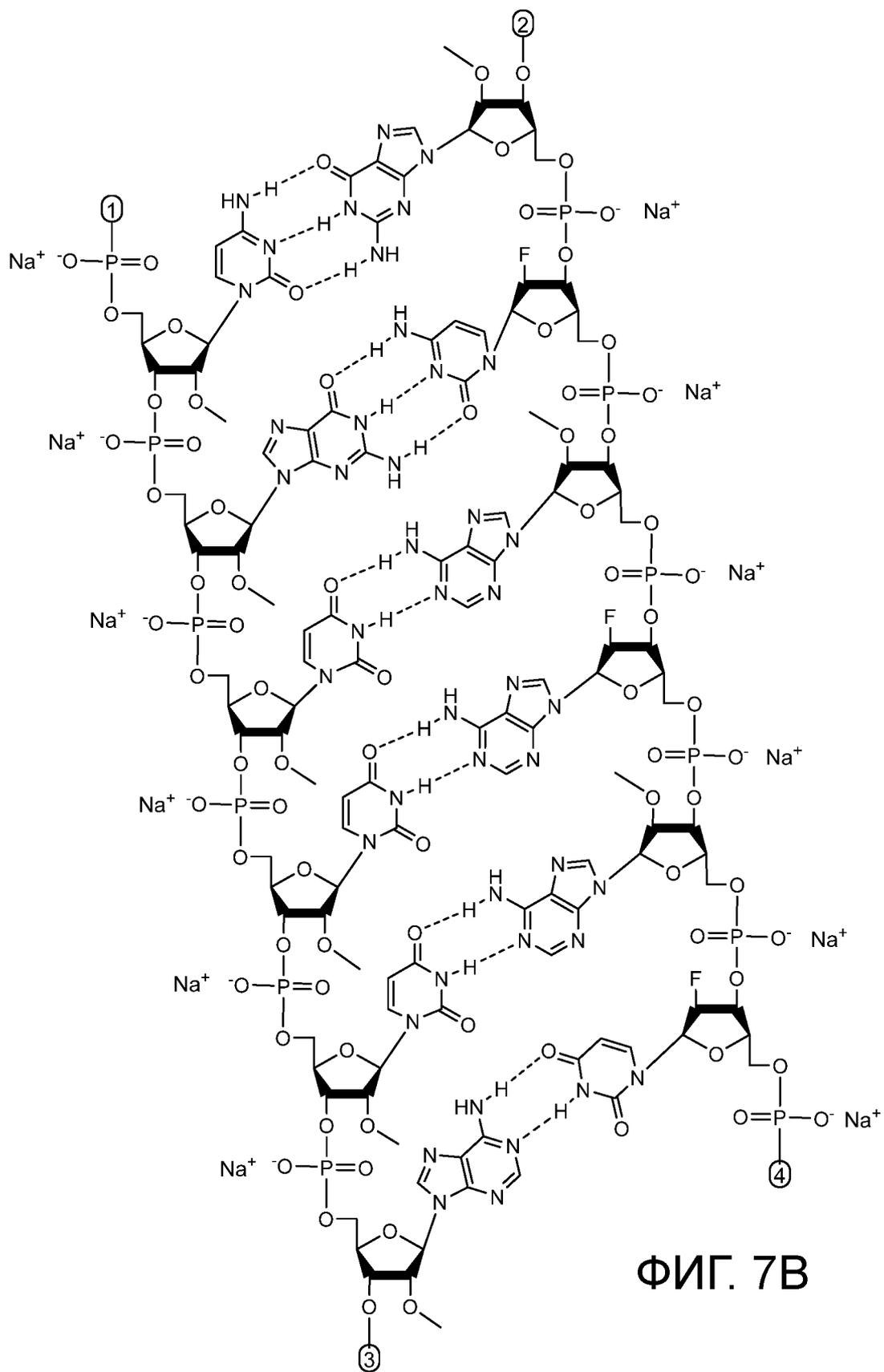
ФИГ. 6D



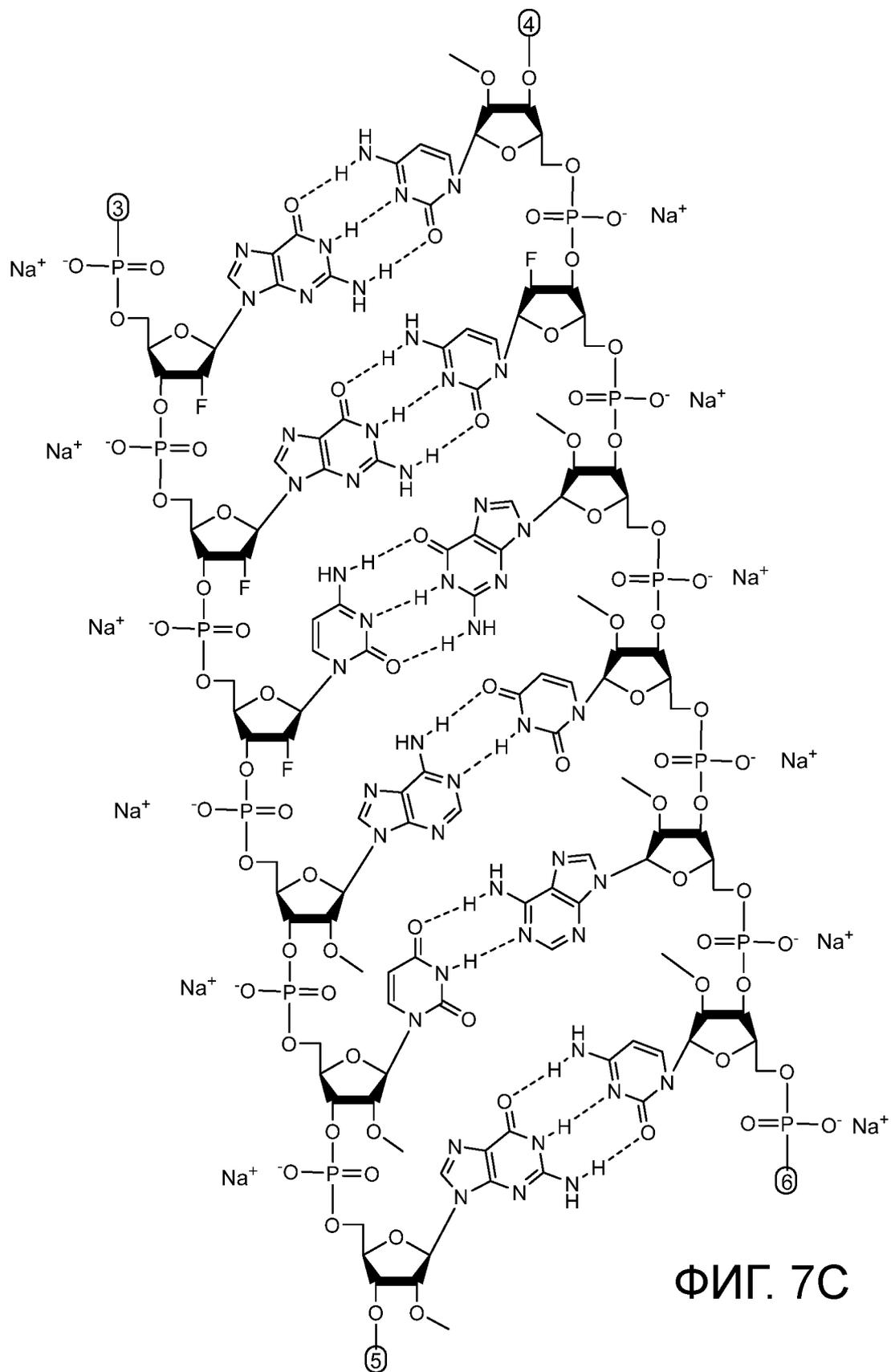
ФИГ. 6Е



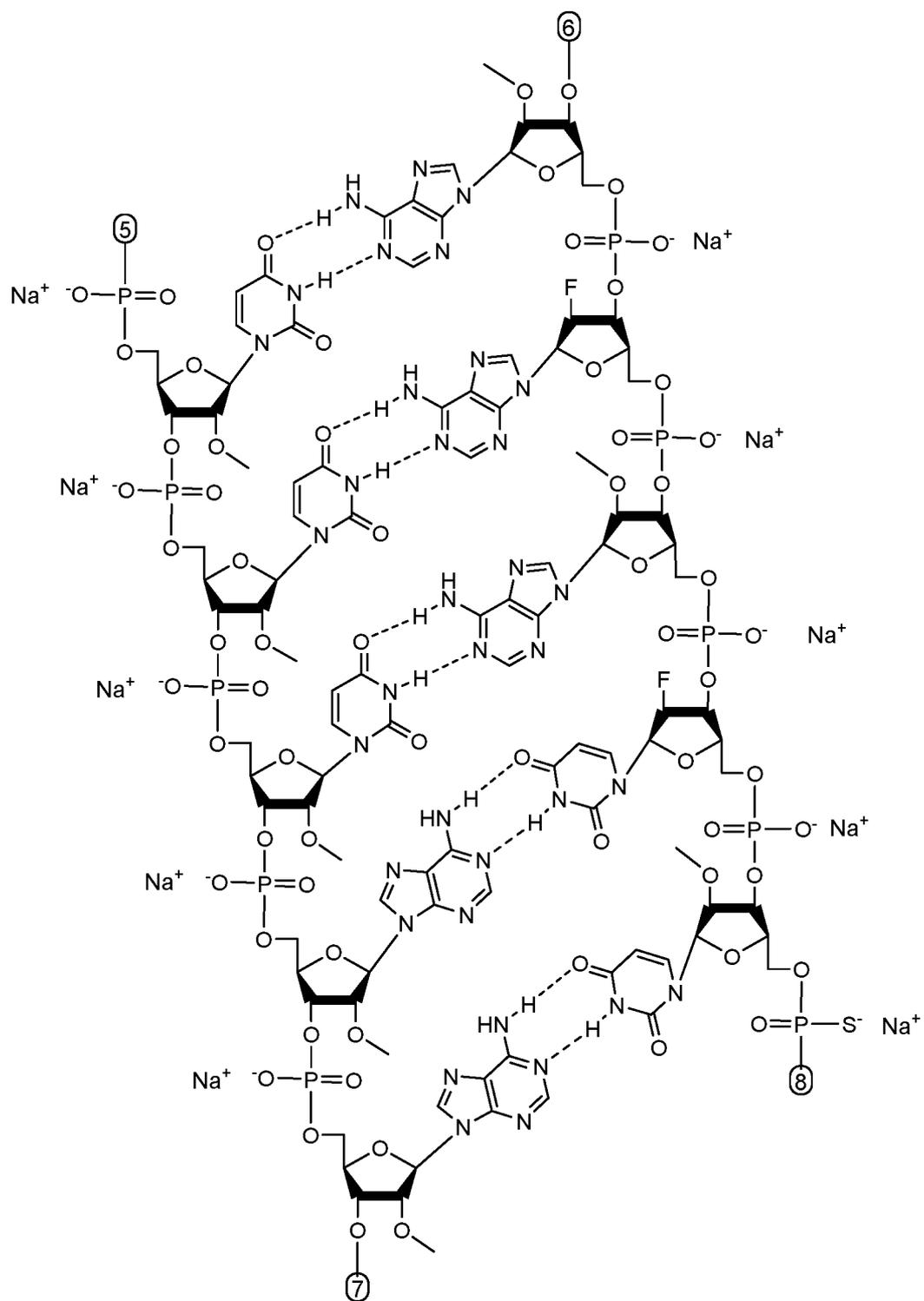
ФИГ. 7А



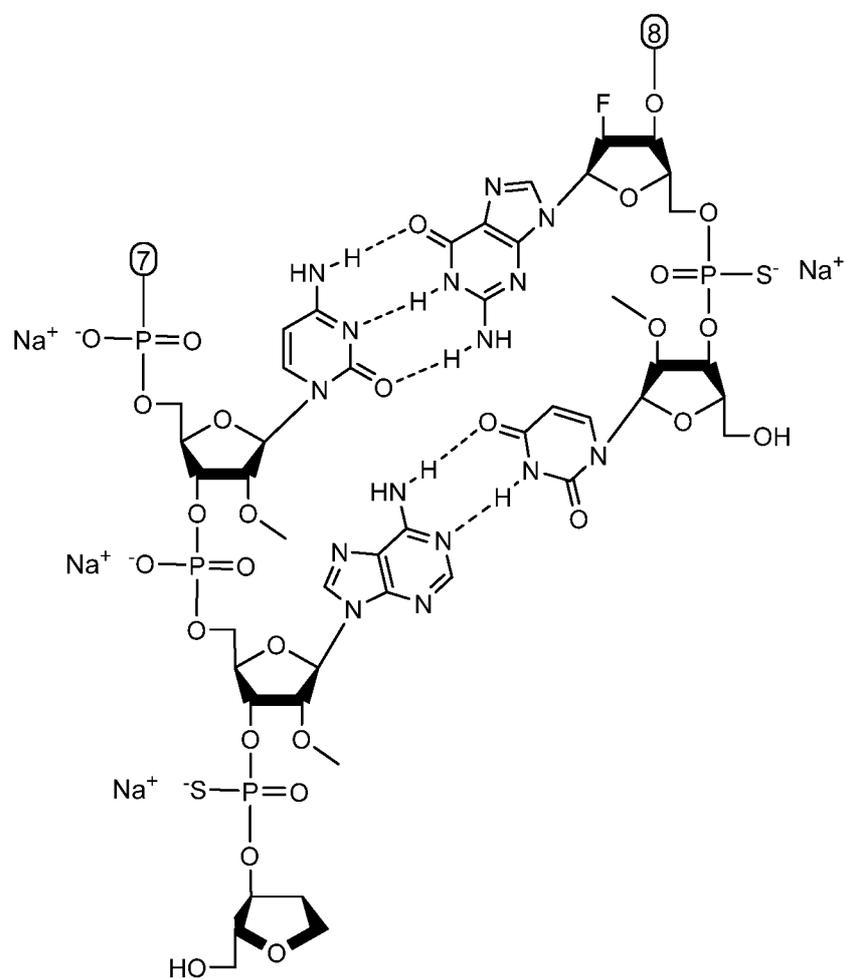
ФИГ. 7В



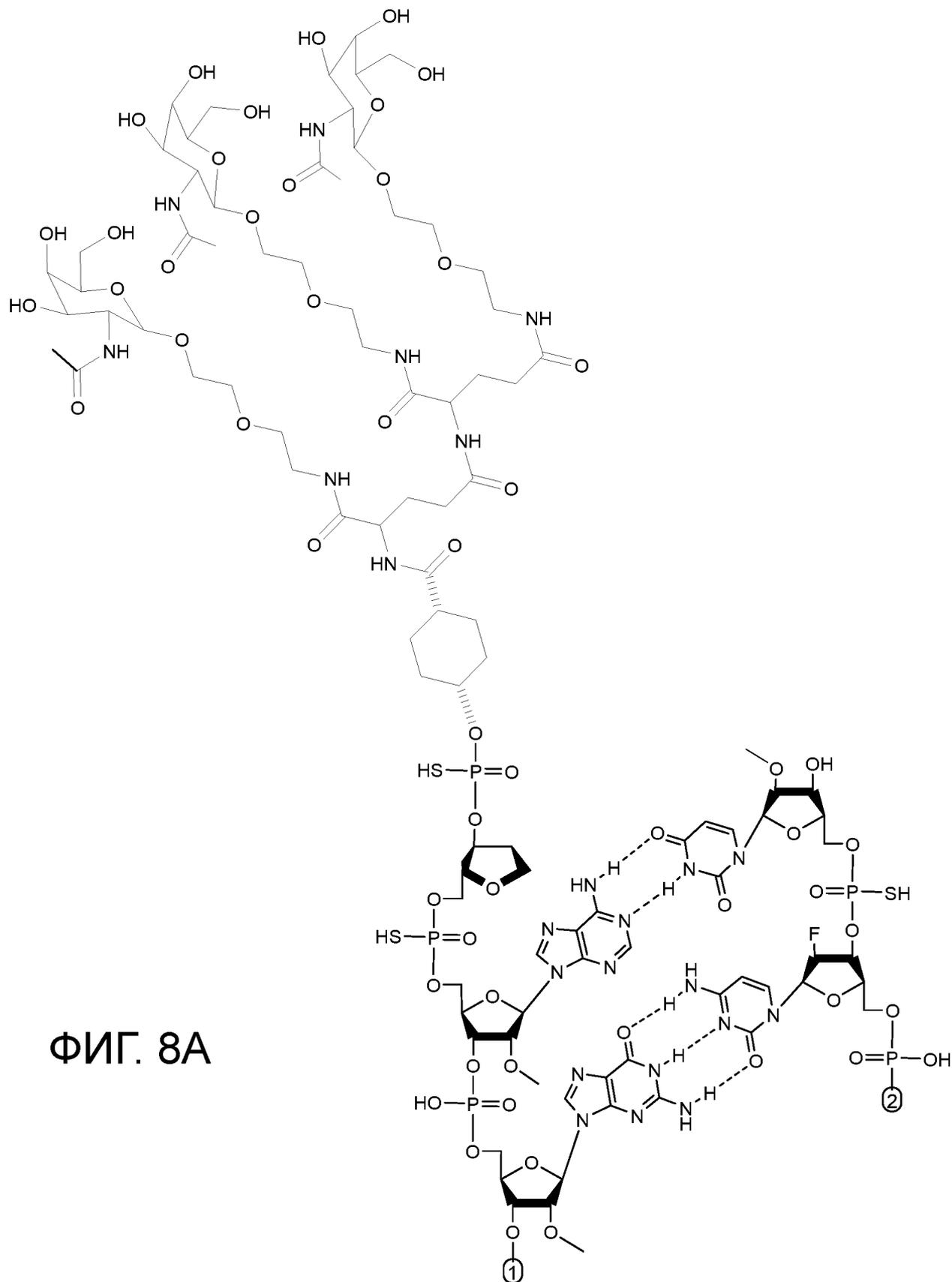
ФИГ. 7С



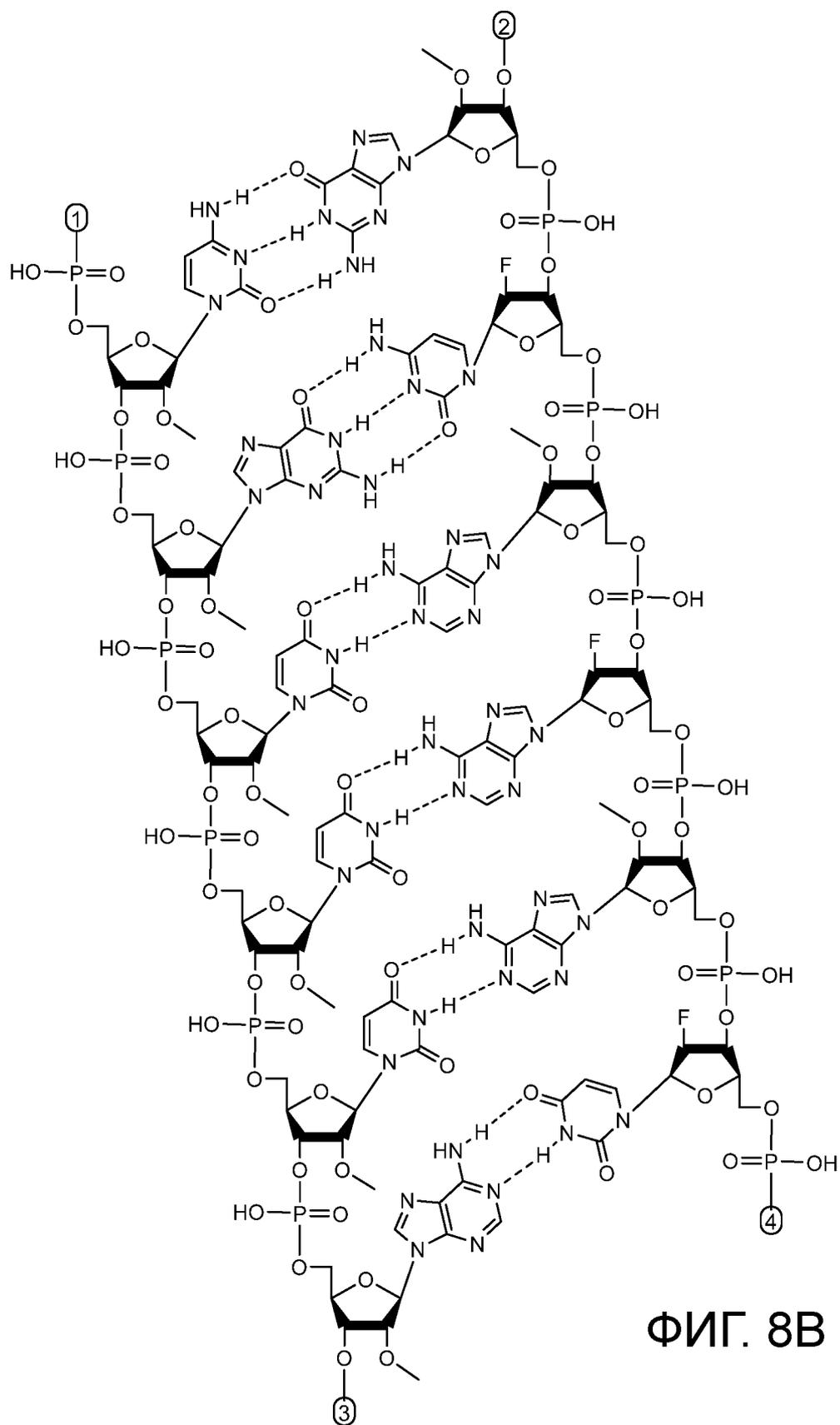
ФИГ. 7D



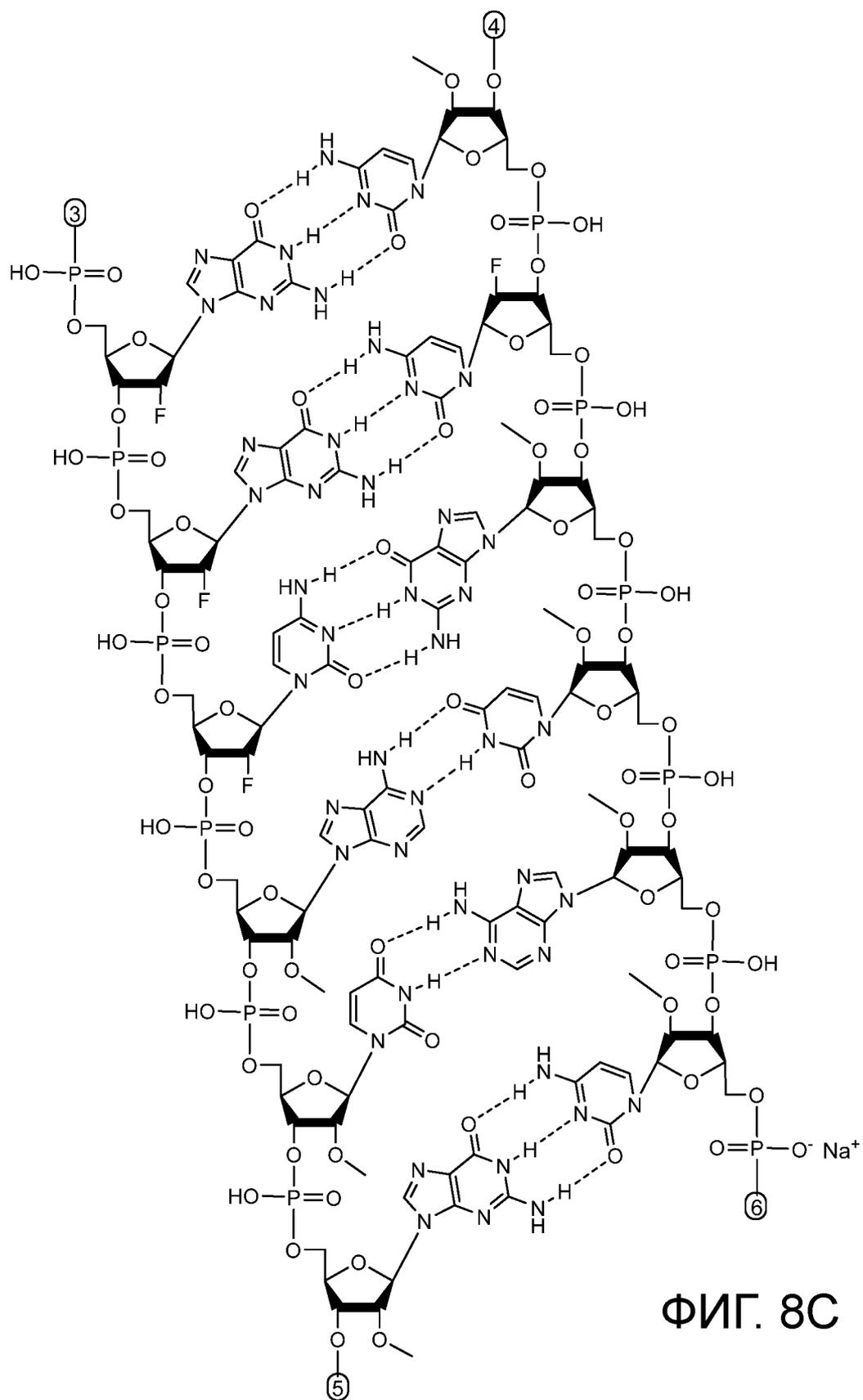
ФИГ. 7Е



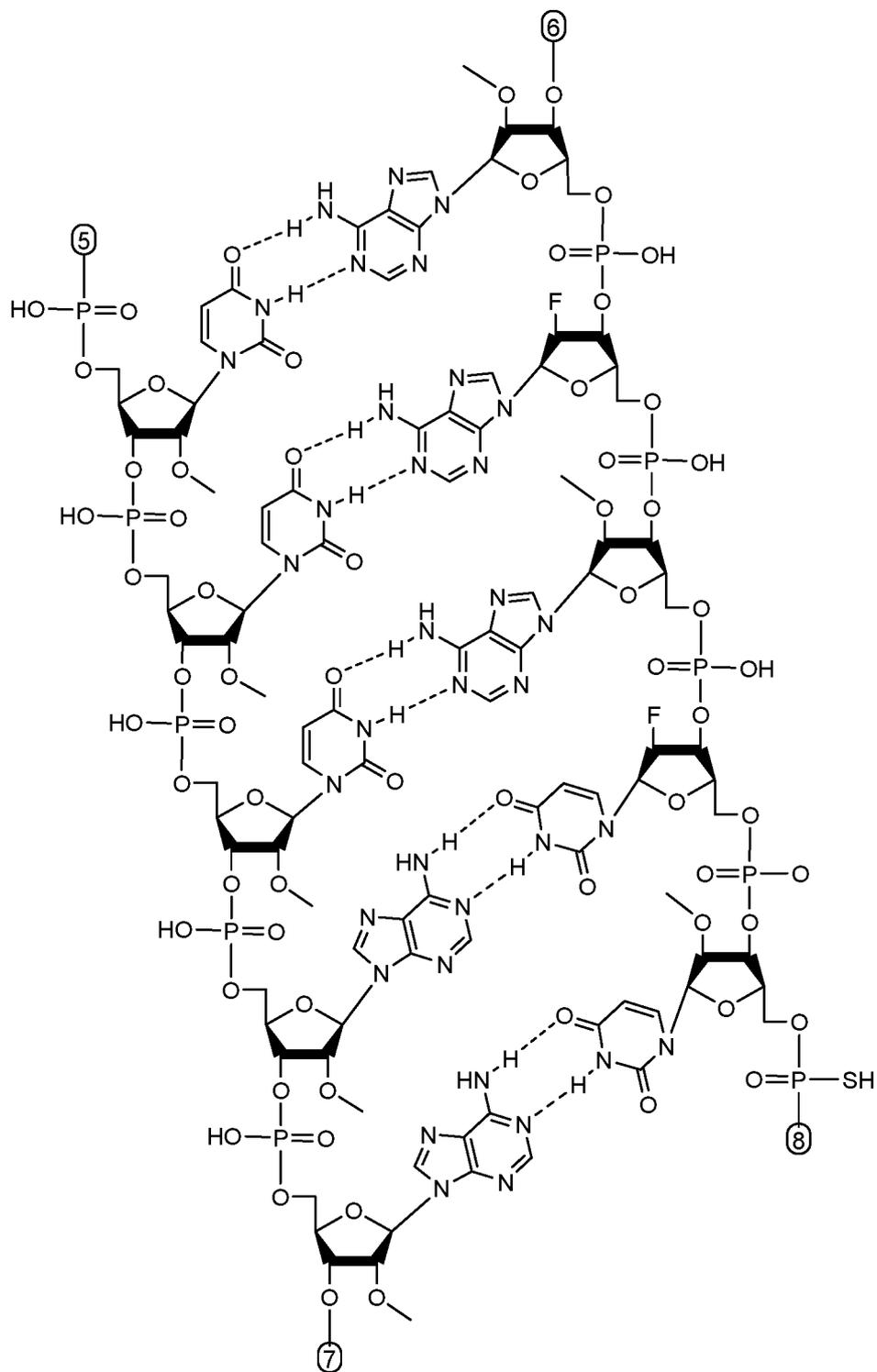
ФИГ. 8А



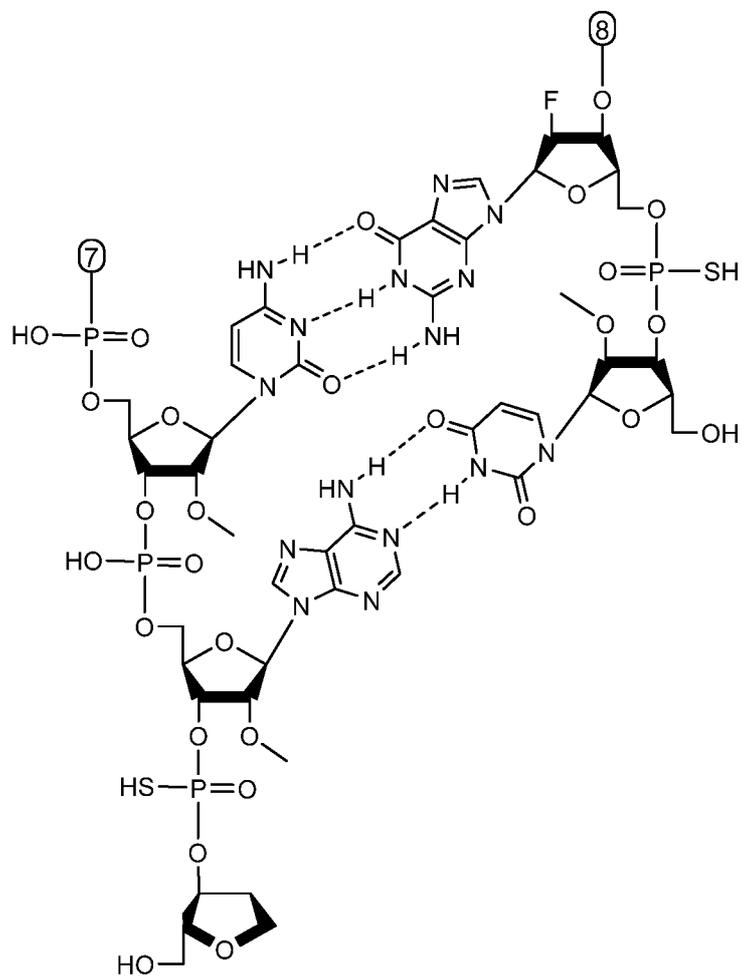
ФИГ. 8В



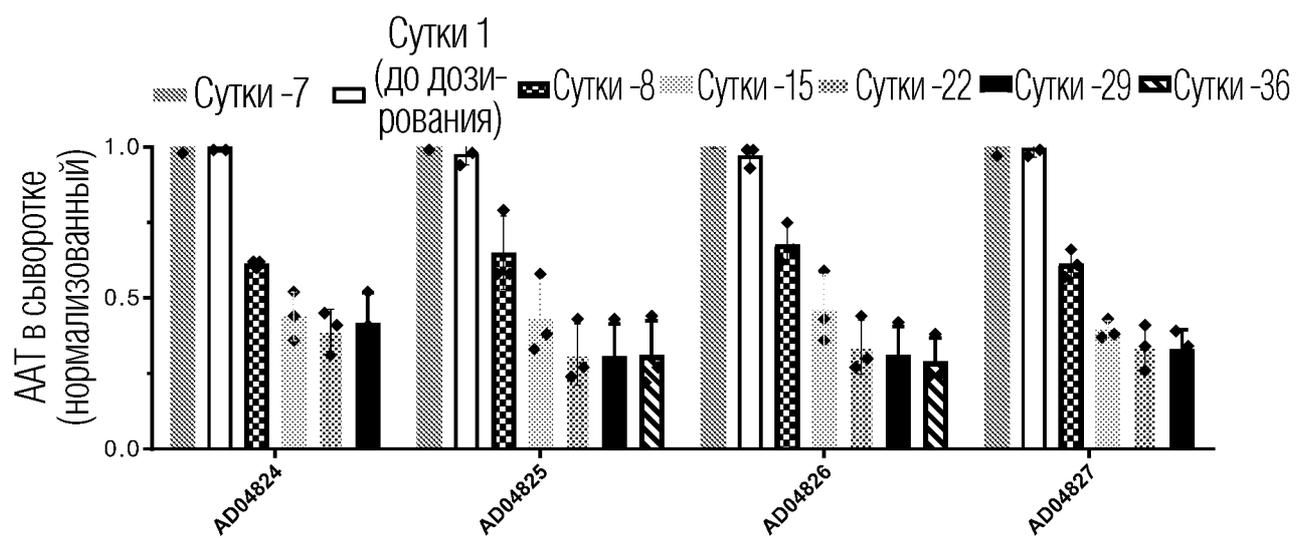
ФИГ. 8С



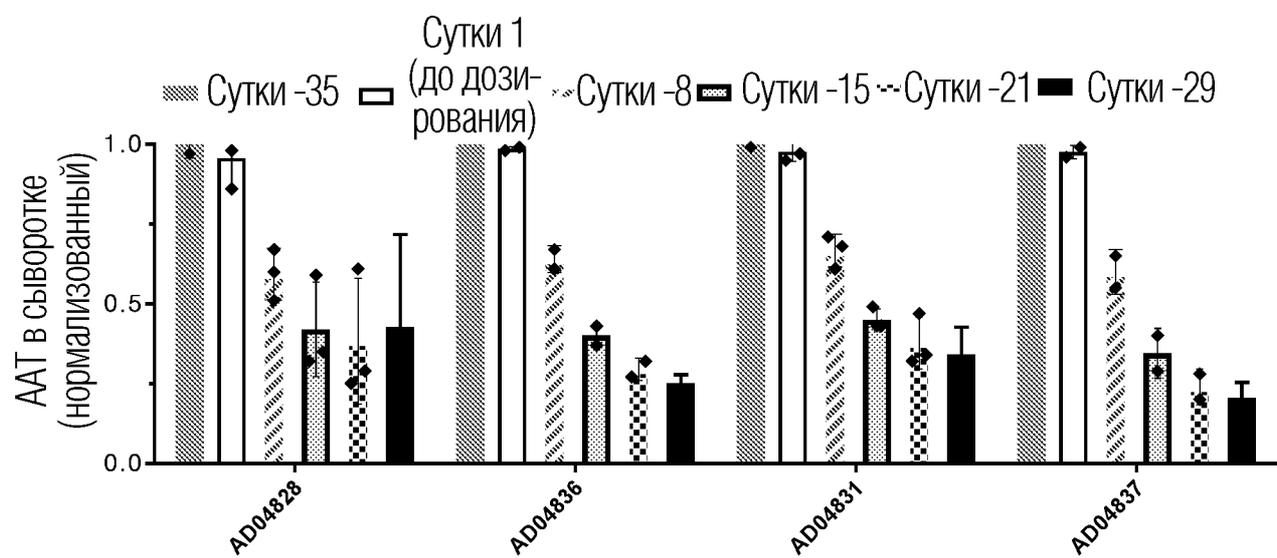
ФИГ. 8D



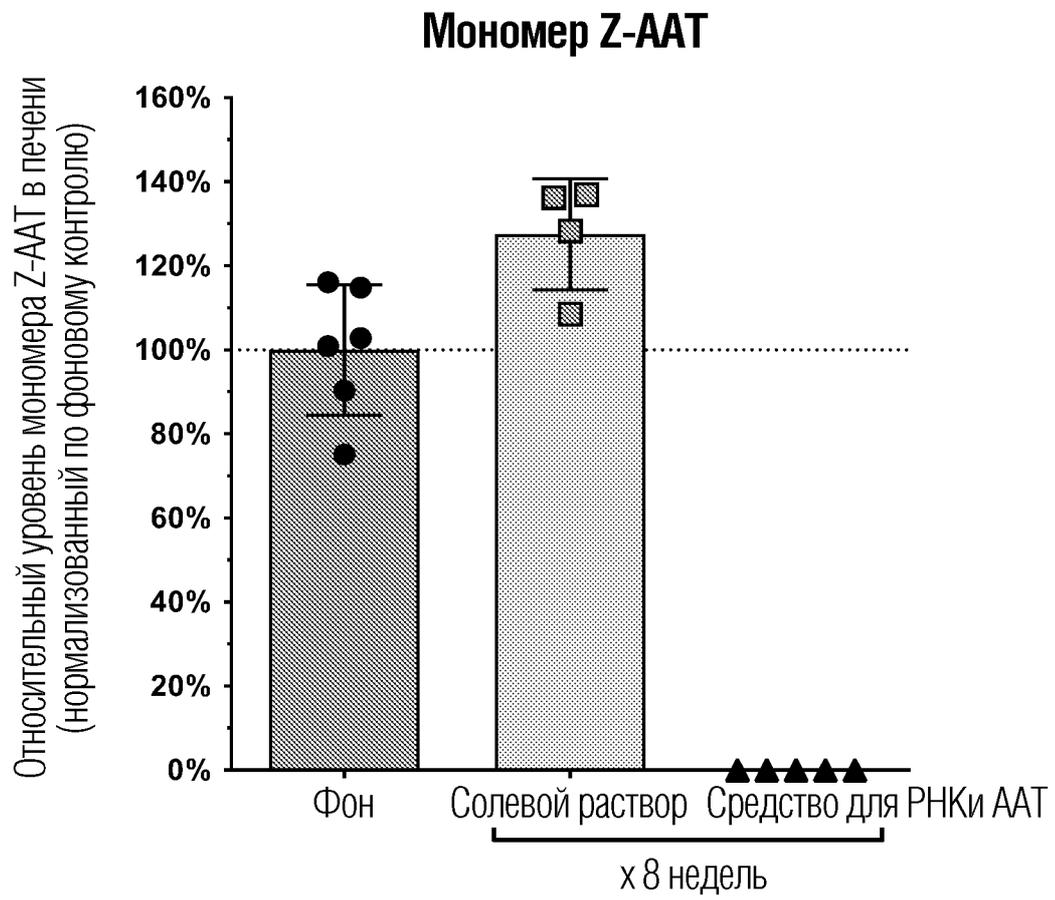
ФИГ. 8Е



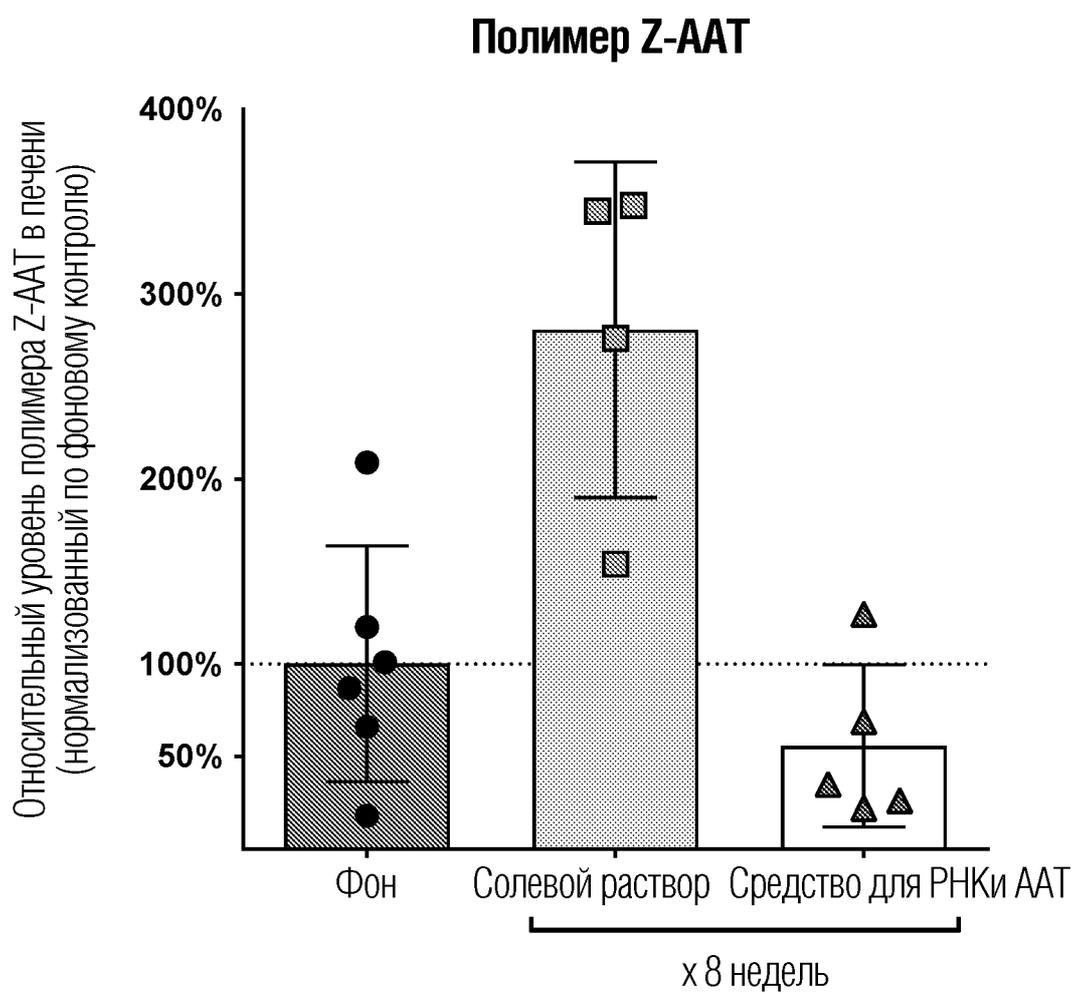
ФИГ. 9



ФИГ. 10



ФИГ. 11



ФИГ. 12