

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202393396 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.02.23

(22) Дата подачи заявки
2022.06.22

(51) Int. Cl. C12N 15/113 (2010.01)
A61K 47/54 (2017.01)
C12N 15/87 (2006.01)
A61P 3/06 (2006.01)

(54) НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РНК И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

(31) 63/214,555; 63/214,584

(32) 2021.06.24

(33) US

(86) PCT/US2022/034504

(87) WO 2022/271808 2022.12.29

(71) Заявитель:
ЭЛИ ЛИЛЛИ ЭНД КОМПАНИ (US)

(72) Изобретатель:
Беллингер Мелисса Энн, Бейер Томас
Патрик, Ченг Кристин Чих-Тао,
Эгген МариДжин, Лакнер Грегори
Лоренс, Майлз Ребекка Рут, Ван
Цзибо, Антонеллис Патрик Джозеф,
Уилсон Такако (US)

(74) Представитель:
Гизатуллин Ш.Ф., Гизатулина
Е.М., Угрюмов В.М., Строкова О.В.,
Джермакян Р.В., Костюшенкова М.Ю.
(RU)

(57) Настоящее изобретение относится к новым РНКи-агентам, предназначенным для снижения экспрессии ANGPTL8 в печени, причем РНКи-агенты содержат фрагменты для доставки, конъюгированные с олигонуклеотидами, необязательно посредством линкера. РНКи-агенты можно применять для лечения заболеваний, связанных с регуляцией экспрессии антипоэтин-подобного белка 8 (ANGPTL8).

A1

202393396

202393396

A1

НОВЫЕ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ РНК И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к новым РНКи-агентам, предназначенным для снижения экспрессии ANGPTL8 в печени, причем РНКи-агенты содержат фрагменты для доставки, конъюгированные с олигонуклеотидами, необязательно посредством линкера. РНКи-агенты можно применять для лечения заболеваний, связанных с регуляцией экспрессии антиопоэтин-подобного белка 8 (ANGPTL8).

Антиопоэтин-подобный белок 8 (ANGPTL8) в основном экспрессируется в печени и жировой ткани, и он играет важную роль в метаболизме триглицеридов. Считается, что ANGPTL8, вместе с ANGPTL3 или ANGPTL4, регулирует уровни триглицеридов путем ингибирования ферментативной активности липопротеинлипазы (LPL), которая, будучи активной, гидролизует триглицериды и снижает уровень циркулирующих триглицеридов в плазме. Повышенные уровни ANGPTL8 наблюдаются или ассоциируются с сердечно-сосудистыми заболеваниями, диабетом, дислипидемией (включая высокие уровни триглицеридов), аномальной почечной функцией, гипертензией, неалкогольной жировой болезнью печени, такой как неалкогольный стеатогепатит (NASH) и ожирение.

РНКи-агенты, такие как описанные в настоящем документе, позволяют нацеливаться на гены специфичным к последовательности образом для персонализированного лечения многих различных типов заболеваний, связанных с нарушением регуляции генов. Соединения, содержащие олигонуклеотиды, такие как РНКи-агенты в данном документе, могут работать по различным механизмам в зависимости от конкретного типа используемых олигонуклеотидов. Молекулы РНК-интерференции, включая РНКи-агенты, описанные в настоящем документе, обычно применяют для нокдауна или уменьшения экспрессии гена конкретного целевого транскрипта со снижением таким образом уровня белка. При доставке молекул РНКи, таких как РНКи-агенты, описанные в данном документе, к желаемой ткани пациента можно снизить экспрессию гена специфичным для ткани способом.

Одним из примеров являются РНКи-агенты, содержащие N-ацетилгалактозу (GalNAc), нацеливающуюся на рецептор асиалогликопротеина на клетках печени. В частности, гивосиран представляет собой одобренную FDA миРНК, нацеленную на транскрипт гена ALAS1, предназначенную для лечения острой печеночной порфирии, и в нем используют фрагмент для доставки, содержащий GalNAc, для входа в клетки печени. Инсклисиран представляет собой одобренную FDA миРНК, которая нацелена на транскрипт гена PCSK9 для понижения холестерина ЛПНП, и в нем также используют доставочный фрагмент, содержащий GalNAc для входа в клетки печени. Молекулы РНКи, содержащие миРНК, нацеленные на ANGPTL8, были описаны, например, в публикации WO2020104649. Однако только четыре молекулы миРНК одобрены для применения у людей, и пока нет одобренных терапевтических миРНК, нацеленных на ANGPTL8. Более того, имеются лишь ограниченные доклинические и клинические данные об идеальных характеристиках терапевтической миРНК *in vivo*, особенно при заболеваниях печени или заболеваниях, затрагивающих печень, таких как сердечно-сосудистые заболевания, дислипидемия, например, высокие триглицериды, и воспалительные заболевания печени.

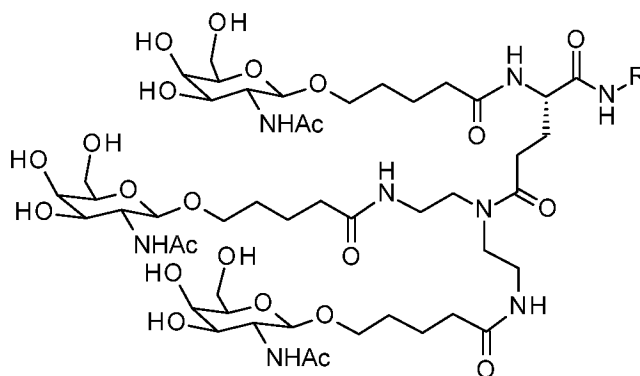
Сохраняется потребность в обеспечении альтернативных РНКи-агентов, имеющих фрагмент для доставки, содержащий GalNAc, и один или более олигонуклеотидов для снижения экспрессии ANGPTL8. Более конкретно, существует потребность в обеспечении РНКи-агентов, содержащих новый доставочный фрагмент GalNAc, а также смысловую нить и антисмысловую нить, причем антисмысловая нить комплементарна мРНК ANGPTL8, при этом такой РНКи-агент демонстрирует одну или более из следующих характеристик:

- улучшенное воздействие на ткань, подходящим образом улучшенное воздействие на печень; улучшенные соотношения воздействия на печень к воздействию на почки; улучшенный нокдаун; улучшенный длительный ответ; улучшенный фармакокинетический профиль; меньшее количество побочных эффектов; улучшенный профиль токсичности; улучшенный профиль безопасности, меньшее количество побочных эффектов, улучшенная переносимость, улучшенный контроль уровня холестерина и/или триглицеридов у пациента, улучшенный профиль риска сердечно-сосудистых заболеваний у пациента, улучшенный и/или

упрощенный синтез, способы синтеза с меньшим количеством продуктов разложения, или любая их комбинация.

Один вариант осуществления настоящего описания представляет собой агент РНК-интерференции (РНКи), содержащий доставочный фрагмент формулы I:

5



Формула I,

где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, и при этом антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, комплементарной мРНК-транскрипту ANGPTL8, причем смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 нуклеотидов, и при этом каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 15 до 30 нуклеотидов, причем необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, и при этом каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, причем R необязательно конъюгирован с формулой I посредством линкера. В другом варианте осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, комплементарной SEQ ID NO:1. В дополнительном варианте осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 18 до 23 нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления любого из этих РНКи-агентов антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с транскриптом мРНК ANGPTL8. В другом дополнительном

варианте осуществления любого из этих РНК-агентов антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с SEQ ID NO:1.

Дополнительный вариант осуществления представляет собой РНК-агент, в котором антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 нуклеотидов последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525. В еще одном дополнительном варианте осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525.

В дополнительном варианте осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405, 408, 412, 413, 414, 415, 418, 420, 425, 426, 428, 429, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 448, 449, 451, 452, 454, 457, 458, 459, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 479, 490, 491, 492, 493, 495, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508 и 509. В другом варианте осуществления антисмысловая нить выбрана из группы последовательностей антисмысловой нити в таблице 2.

В любом из вариантов осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, в любом РНК-агенте антисмысловая нить имеет длину 23 нуклеотида и/или смысловая нить имеет длину 21 нуклеотид.

В другом варианте осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, антисмысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231–361, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%. В других вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 124–230, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%.

В дополнительных вариантах осуществления любого из РНК-агентов, описанных в данном документе, область комплементарности содержит 0, 1, 2 или 3 несоответствия между смысловой нитью и антисмысловой нитью.

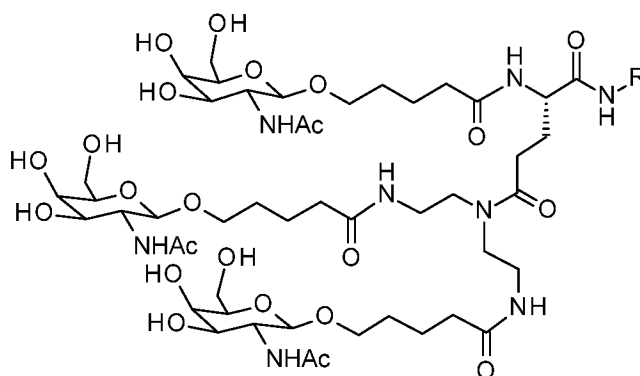
В дополнительных вариантах осуществления РНК-агентов каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более

модифицированных нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо представляют собой 2'-фтор-модифицированные нуклеотиды или 2'-О-метил-модифицированные нуклеотиды. В других вариантах осуществления каждый нуклеотид смысловой нити и каждый нуклеотид антисмысловой нити представляет собой модифицированный нуклеотид, а в дополнительном варианте осуществления каждый из модифицированных нуклеотидов независимо представляет собой 2'-фтор-модифицированный нуклеотид или 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В других вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В дополнительном варианте осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротриатную связь. В других вариантах осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит четыре фосфоротриатные связи. В дополнительных вариантах осуществления первые два 5'-нуклеотида смысловой нити и два концевых 3'-нуклеотида смысловой нити представляют собой фосфоротриатные связи. В дополнительных вариантах осуществления первые два 5'-нуклеотида антисмысловой нити и два концевых 3'-нуклеотида антисмысловой нити представляют собой фосфоротриатные связи.

В других вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, 5'-нуклеотид антисмысловой нити содержит фосфатную группу или аналог фосфата.

В другом варианте осуществления в настоящем описании предложен РНК-агент, содержащий доставочный фрагмент формулы I, конъюгированный с R:



Формула I;

где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, и при этом антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, комплементарной мРНК-транскрипту ANGPTL8, причем смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 нуклеотидов, и при этом каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 15 до 30 нуклеотидов, причем необязательно смысловая нить и антисмысловая нить независимо содержат один или более модифицированных нуклеотидов, и при этом каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, причем R необязательно конъюгирован с доставочным фрагментом D формулы I посредством линкера L. В другом варианте осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, комплементарной SEQ ID NO:1. В дополнительном варианте осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 18 до 23 нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления любого из этих РНКи-агентов антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с транскриптом мРНК ANGPTL8. В другом дополнительном варианте осуществления любого из этих РНКи-агентов антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с SEQ ID NO:1. В дополнительных вариантах осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525.

Любое из соединений, представленных в данном документе, включая РНК-агенты, описанные в настоящем документе, содержащие формулу I, может иметь модификации или добавления к формуле I, или соединения могут содержать дополнительные фрагменты. Например, одну или более алкильных цепей в формуле I можно удлинить или укоротить, или соединение, содержащее формулу I, может дополнительно содержать один или более олигонуклеотидов. Соединения, описанные в настоящем документе, содержащие формулу I, такие как РНК-агенты, описанные в настоящем документе, можно применять, например, для доставки одного или более олигонуклеотидов в клетку, которая имеет рецептор для одного или более фрагментов N-ацетилгалактозы (GalNAc, также N-GalNAc, или галнак или Galnac), такой как рецептор асиалогликопротеина (ASPGR), который обычно связывает три фрагмента GalNAc. Соответственно, соединения, содержащие формулу I, такие как РНК-агенты, описанные в настоящем документе, можно использовать для предпочтительного связывания с клетками печени, которые экспрессируют ASPGR, с облегчением таким образом проникновения соединений в клетки печени. Поскольку ASPGR также присутствует на жировой ткани, соединения, содержащие формулу I, включая РНК-агенты, описанные в данном документе, можно использовать для доставки олигонуклеотидов в жировые клетки, которые экспрессируют ASPGR.

Один вариант осуществления представляет собой соединение или РНК-агент, содержащий доставочный фрагмент и один или более олигонуклеотидов, причем доставочный фрагмент содержит формулу I, и при этом олигонуклеотиды комплементарны гену ANGPTL8 (далее – олигонуклеотиды ANGPTL8). В подходящем дополнительном варианте осуществления доставочный фрагмент, содержащий формулу I, доставляет один или более олигонуклеотидов ANGPTL8 в ткань печени путем связывания с внеклеточным рецептором ASPGR и позволяет ввести олигонуклеотиды в клетки, образующие ткань печени. Олигонуклеотиды ANGPTL8 также представлены в данном документе как R или как смысловая нить и/или антисмысловая нить, включающие, в соответствии с изложением, в смысловой и антисмысловой последовательностях последовательности, представленные SEQ ID в настоящем документе.

Доставочный фрагмент, содержащий формулу I, можно использовать для доставки любого количества олигонуклеотидов ANGPTL8, таких как РНКи-агенты, содержащие R, причем R содержит смысловую нить и/или антисмысловую нить, описанную в настоящем документе, для диагностических или, в соответствующих случаях, для терапевтических целей. Один или более олигонуклеотидов, таких как смысловые нити и антисмысловые нити, описанные в данном документе, могут содержать нуклеотиды ДНК или РНК, или нуклеозиды ДНК или РНК.

Олигонуклеотиды, описанные в данном документе, включающие антисмысловые нити, описанные в данном документе, предназначены для нацеливания, т. е. связывания или отжига, или образования областей комплементарности с последовательностями ANGPTL8 в клетке для регуляции экспрессии гена с подходящим снижением экспрессии гена ANGPTL8. В одном варианте осуществления представлено соединение или РНКи-агент, содержащий формулу I, описанную в настоящем документе, для снижения экспрессии транскрипта ANGPTL8. В дополнительном варианте осуществления соединение или РНКи-агент, содержащий формулу I, описанную в настоящем документе, для снижения экспрессии транскрипта ANGPTL8 дополнительно уменьшает экспрессию белка ANGPTL8. В другом варианте осуществления уменьшение экспрессии целевого транскрипта или целевого белка составляет около 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 85, 80, 75, 70, 65, 60, 55 или 50 процентов. В дополнительном варианте осуществления снижение экспрессии является продолжительным и составляет около трех недель, около одного месяца, около полутора месяцев, около двух месяцев, около трех месяцев, около четырех месяцев, около пяти месяцев или около шести месяцев.

Специалисту в данной области техники понятно, что возможны одно или более несоответствий между олигонуклеотидом ANGPTL8, таким как антисмысловой нуклеотид, описанный в настоящем документе, и целевой нуклеотидной последовательностью ANGPTL8, но функция регуляции экспрессии гена при этом будет работать. В другом варианте осуществления олигонуклеотид имеет 99, 98, 97, 96, 95, 94, 93, 92, 91, 90, 89, 88, 87, 86, 85, 84, 83, 82, 81, 80, 79, 78, 77, 76, 75, 74, 73, 72, 71 или 70 процентов идентичности последовательности с целевой последовательностью или последовательностью, комплементарной

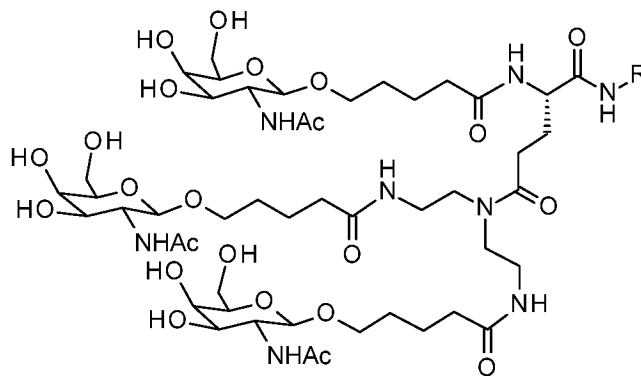
целевой последовательности. Олигонуклеотиды также могут иметь выступы в 1-10, 1-5 или 1-3, или 3, 2 или 1 остаток на 5'- или 3'-конце. 5'- или 3'-концы могут быть дополнительно модифицированы, например не имеющим основания остатком или фосфатной группой.

5 Термин «процент идентичности последовательностей» относительно референсной последовательности нуклеиновой кислоты определяется как процент нуклеотидов, нуклеозидов или нуклеотидных оснований в последовательности-кандидате, идентичных нуклеотидам, нуклеозидам или нуклеотидным основаниям в референсной нуклеотидной последовательности, после оптимального
10 выравнивания последовательностей и введения, при необходимости, зазоров или выступов для достижения максимального процента идентичности последовательности, с использованием расчета PID3, который представляет собой количество идентичных нуклеотидных остатков, деленное на общее количество нуклеотидов, нуклеозидов или нуклеотидных оснований самой короткой из двух
15 последовательностей, и умноженное на 100. См., например, Raghava, G., Barton, G.J. Quantification of the variation in percentage identity for protein sequence alignments. BMC Bioinformatics 7, 415 (2006). Специалисты в данной области могут определить соответствующие параметры для измерения выравнивания, включая любые алгоритмы, необходимые для достижения максимального выравнивания по
20 всей длине сравниваемых последовательностей.

 Специалисту в данной области понятно, что модификации РНКи-агентов (или соединений или молекул РНКи), содержащих олигонуклеотиды ANGPTL8, такие как смысловая или антисмысловая нити РНКи-агентов, описанные в настоящем документе, могут повышать их стабильность и период полужизни.
25 Модификации могут относиться к нуклеотиду или фосфодиэфирному каркасу, который представляет собой связи между двумя нуклеотидными остатками олигонуклеотида, и которые также называются межнуклеотидной связью. Например, 2'-модификации на остатке сахара, соответственно, рибозы, могут повышать стабильность и период полужизни. Эти модификации включают, без
30 ограничений, 2'-фтор- или 2'-метокси-модификацию в 2'-ОН-группе немодифицированного сахара. Модификации каркаса, также называемые

модифицированными межнуклеотидными связями, в данном документе включают замену фосфодиэфирной связи на фосфоротиоатную (PS) связь.

Дополнительные варианты осуществления РНКи-агентов, содержащих доставочный фрагмент формулы I, включают в себя такие модификации нуклеотидов и межнуклеотидных связей. Соответственно, один вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, содержащий доставочный фрагмент формулы I:



Формула I,

где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, и при этом антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525, причем смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 нуклеотидов, и при этом каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 18 до 23 нуклеотидов, причем каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, и при этом необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, причем R необязательно конъюгирован с формулой I посредством линкера, и при этом один или более модифицированных нуклеотидов независимо представляют собой 2'-фтор-модифицированные нуклеотиды или 2'-О-метил-модифицированные нуклеотиды. В дополнительных вариантах осуществления каждый нуклеотид

смысловой нити и каждый нуклеотид антисмысловой нити представляет собой модифицированный нуклеотид. В других вариантах осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В дополнительных вариантах осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь. В еще дополнительных вариантах осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит четыре фосфоротиоатные связи. В дополнительных вариантах осуществления первые два нуклеотида на 5'-конце смысловой нити и последние два нуклеотида на 3'-конце смысловой нити содержат фосфоротиоатные связи, и первые два нуклеотида на 5'-конце антисмысловой нити и последние два нуклеотида на 3'-конце антисмысловой нити содержат фосфоротиоатные связи. В любом из вариантов осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, 5'-нуклеотид антисмысловой нити содержит фосфатную группу или аналог фосфата.

Используемый в данном документе термин «олигонуклеотид» (или «мультимер» или «олигомер», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо), включающий смысловые нити и антисмысловые нити, описанные в настоящем документе, означает цепь из по меньшей мере 10 нуклеотидных или нуклеозидных остатков и может содержать модифицированные или немодифицированные основания, модифицированные или немодифицированные сахара и/или модифицированные или немодифицированные связи (также называемые в настоящем документе взаимозаменяемо каркасом или фосфодиэфирным каркасом или межнуклеотидной связью). Нуклеотидные остатки могут быть соединены фосфодиэфирными связями или модифицированными связями, также называемыми в данном документе фосфодиэфирными межнуклеотидными связями или модифицированными межнуклеотидными связями. Нуклеотидные остатки могут быть модифицированы в одном или более атомах в пиримидиновом или пуриновом кольце, или в одном или более атомах в остатке сахара, или в одном или более атомах связи между кольцевым сахаром и нуклеотидным основанием. Модификации также могут быть выполнены на 5'- или 3'-конце олигонуклеотидной цепи, и такие модифицированные олигонуклеотиды или смысловые или антисмысловые нити могут называться в настоящем документе

взаимозаменяемо олигонуклеотидом или смысловой или антисмысловой нитью, если иное не ясно из контекста. В настоящем документе нуклеозидные остатки (т. е. нуклеотиды, не содержащие одной или более фосфатных групп) могут называться модифицированными нуклеотидами/нуклеотидными остатками/нуклеотидными основаниями или просто нуклеотидами/нуклеотидными остатками/нуклеотидными основаниями.

Используемый в настоящем документе термин «комплементарный» означает структурную взаимосвязь между двумя нуклеотидами (например, на двух противолежащих нуклеиновых кислотах или противолежащих участках цепи одной нуклеиновой кислоты, например, на шпильке), которая, как ожидается, позволит двум нуклеотидам образовывать друг с другом пару оснований путем канонического образования пары Уотсона-Крика. Например, пуриновый нуклеотид одной нуклеиновой кислоты, который комплементарен пиримидиновому нуклеотиду противолежащей нуклеиновой кислоты, являются комплементарными друг другу. Например, прогнозируется, что они сформируют пару оснований путем образования водородных связей друг с другом. Аналогичным образом две антипараллельные нуклеиновые кислоты могут иметь области из множества нуклеотидов, которые комплементарны друг другу с образованием областей комплементарности, например, смысловые нити и антисмысловые нити РНК-агентов, описанных в настоящем документе.

Используемый в данном документе термин «область комплементарности» означает нуклеотидную последовательность нуклеиновой кислоты (например, дц-олигонуклеотида), которая достаточно комплементарна антипараллельной нуклеотидной последовательности, чтобы обеспечить гибридизацию между двумя нуклеотидными последовательностями в соответствующих условиях гибридизации (например, в фосфатном буфере, в клетке и т. д.). В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид в данном документе включает в себя нацеливающую последовательность, имеющую область комплементарности с целевой последовательностью мРНК.

В настоящем документе термин «дезоксирибонуклеотид» означает нуклеотид, имеющий водород вместо гидроксила в 2'-положении своего пентозного сахара, по сравнению с рибонуклеотидом. Модифицированный

дезоксирибонуклеотид имеет одну или более модификаций или замен атомов, отличных от водорода в 2'-положении сахара, включая модификации или замены в нуклеотидном основании, сахаре или фосфатной группе.

Используемый в данном документе термин «двухцепочечный олигонуклеотид» или «дц-олигонуклеотид» означает олигонуклеотид, который по существу находится в дуплексной форме. Комплементарное спаривание оснований дуплексной (-ых) области (-ей) дц-олигонуклеотида может формироваться между антипараллельными последовательностями нуклеотидов ковалентно не связанных цепей нуклеиновых кислот. Аналогичным образом комплементарное спаривание оснований дуплексной (-ых) области (-ей) дц-олигонуклеотида может формироваться между антипараллельными нуклеотидными последовательностями ковалентно-связанных нуклеиновых кислот. Более того, комплементарное спаривание оснований дуплексной (-ых) области (-ей) дц-олигонуклеотида может формироваться из одной цепи нуклеиновой кислоты, которая складывается (например, в шпильку) с обеспечением комплементарных антипараллельных последовательностей нуклеотидов, основания которых спариваются. Дц-олигонуклеотид может включать две ковалентно не связанные нити нуклеиновых кислот, которые образуют полный дуплекс друг с другом. Однако дц-олигонуклеотид может включать две ковалентно не связанные нити нуклеиновых кислот, которые образуют частичный дуплекс (например, имеют выступы на одном или обоих концах). Дц-олигонуклеотид может включать в себя антипараллельную последовательность нуклеотидов, которая является частично комплементарной, и, таким образом, может иметь одно или более несоответствий, которые могут включать внутренние несоответствия или конечные несоответствия.

Используемый в настоящем документе термин «дуплекс» и «дуплексная область» применительно к нуклеиновым кислотам (например, олигонуклеотидам) означает двухцепочечную структуру нуклеиновой кислоты, образованную путем комплементарного спаривания оснований двух антипараллельных нуклеотидных последовательностей, образованных двумя ковалентно не связанными цепями нуклеиновых кислот или одной сложенной цепью (например, в шпильку), и она может быть образована путем отжига или гибридизации в соответствующих условиях.

Используемый в настоящем документе термин «линкер» означает структуру, используемую для конъюгации нуклеотида (например, олигонуклеотида) с достаточным фрагментом. Линкер может представлять собой «лабильный» или «расщепляемый» линкер, и это означает, что линкер можно расщеплять (например, 5 посредством кислотного pH). Аналогичным образом линкер может быть «стабильным» или «нерасщепляемым», и это означает, что линкер не расщепляется в физиологических условиях.

Используемый в настоящем документе термин «модифицированная межнуклеотидная связь» означает межнуклеотидную связь, имеющую одну или 10 более химических модификаций по сравнению с референсной межнуклеотидной связью, имеющей фосфодиэфирную связь. Модифицированная межнуклеотидная связь может представлять собой не встречающуюся в природе связь.

Используемый в данном документе термин «модифицированный нуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему одну или более химических модификаций по 15 сравнению с соответствующим референсным нуклеотидом, выбранным из: аденинового рибонуклеотида, гуанинового рибонуклеотида, цитозинового рибонуклеотида, урацилового рибонуклеотида, аденинового дезоксирибонуклеотида, гуанинового дезоксирибонуклеотида, цитозинового дезоксирибонуклеотида и тимидинового дезоксирибонуклеотида. 20 Модифицированный нуклеотид может представлять собой не встречающийся в природе нуклеотид. Модифицированный нуклеотид может иметь, например, одну или более химических модификаций в его сахаре, нуклеотиде и/или фосфатной группе. Дополнительно или альтернативно модифицированный нуклеотид может содержать один или более химических фрагментов, конъюгированных с 25 соответствующим референсным нуклеотидом.

Используемый в настоящем документе термин «нуклеотид» означает органическое соединение, содержащее нуклеозид (нуклеотидное основание, например аденин, цитозин, гуанин, тимин или урацил, и сахар-пентозу, такую как, например, рибоза или 2'-дезоксирибоза) и фосфатную группу. «Нуклеотид» может 30 служить в качестве мономерного звена полимеров нуклеиновых кислот, таких как дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК).

Используемый в настоящем документе термин «выступ» означает концевой (-ые) нуклеотид(-ы) одной цепи или области, выходящий (-ие) за пределы конца комплементарной цепи, с которой (-ыми) эта одна цепь или область образуют дуплекс. Выступ может включать в себя один или более неспаренных нуклеотидов, отходящих от дуплексной области на 5'-конце или 3'-конце дц-олигонуклеотида. Выступ может представлять собой 3'- или 5'-выступ на антисмысловой нити или смысловой нити дц-олигонуклеотидов.

Используемый в настоящем документе термин «аналог фосфата» или «миметик фосфата» означает химический фрагмент, который имитирует электростатические и/или стерические свойства фосфатной группы. В некоторых вариантах осуществления аналог фосфата расположен на 5'-концевом нуклеотиде олигонуклеотида вместо 5'-фосфата. Аналог 5'-фосфата может включать в себя устойчивую к фосфатазе связь. Примеры фосфатных аналогов включают, без ограничений, 5'-фосфонаты, такие как 5'-метиленфосфонат (5'-MP) и 5'-(Е)-винилфосфонат (5'-VP). Олигонуклеотид может иметь аналог фосфата в положении 4'-углерода сахара (называется «аналогом 4'-фосфата») на 5'-концевом нуклеотиде. Примером аналога 4'-фосфата является оксиметилфосфонат, в котором атом кислорода оксиметильной группы связан с сахарным фрагментом (например, с его 4'-углеродом), или его аналог. См., например, опубликованную заявку на международный патент № WO 2018/045317.

Были разработаны другие модификации для 5'-конца олигонуклеотидов (см., например, заявку на международный патент № WO 2011/133871; патент США № 8,927,513; и публикацию Prakash et al. (2015) Nuc. Acids Res. 43:2993-3011).

«Процент комплементарности» представляет собой количество нуклеотидов, нуклеозидов или нуклеотидных оснований в двух цепях, демонстрирующих каноническое спаривание, деленное на общее число нуклеотидов, нуклеозидов или нуклеотидных оснований самой короткой из двух последовательностей, и умноженное на 100.

В настоящем документе термин «рибонуклеотид» означает нуклеотид, содержащий рибозу в качестве пентозного сахара, который имеет гидроксильную группу в своем 2'-положении. Модифицированный рибонуклеотид, также называемый в данном документе модифицированным нуклеотидом, представляет

собой рибонуклеотид, имеющий одну или более модификаций или замен атомов, отличных от гидроксила в 2'-положении, включая модификации или замены в нуклеотидном основании, сахаре или фосфатной группе.

Используемый в данном документе термин «нить» относится к одной непрерывной последовательности нуклеотидов, соединенной вместе посредством межнуклеотидных связей (например, фосфодиэфирных связей или фосфоротиоатных связей). Нить может иметь два свободных конца (например, 5'-конец и 3'-конец).

В настоящем документе «сниженная экспрессия» в отношении гена (например, ANGPTL8) означает снижение количества или уровня РНК-транскрипта (например, мРНК ANGPTL8) или белка, кодируемого геном, и/или снижение количества или уровня активности гена в клетке, популяции клеток, образце или субъекте по сравнению с соответствующим эталоном (например, эталонной клеткой, популяцией клеток, образцом или субъектом). Например, операция приведения клетки в контакт с олигонуклеотидом, описанным в данном документе (например, олигонуклеотидом, имеющим антисмысловую нить с нуклеотидной последовательностью, комплементарной нуклеотидной последовательности, включающей мРНК ANGPTL8), может приводить к снижению количества или уровня мРНК, белка и/или активности (например, посредством разрушения мРНК ANGPTL8 посредством пути РНКи) по сравнению с клеткой, которая не подвергается воздействию дц-олигонуклеотида. Аналогично, и при использовании в настоящем документе, термин «снижение экспрессии» означает действие, которое приводит к снижению экспрессии гена (например, ANGPTL8). В частности, в настоящем документе «снижение экспрессии ANGPTL8» означает снижение количества или уровня мРНК ANGPTL8, белка ANGPTL8 и/или активности ANGPTL8 в клетке, популяции клеток, образце или субъекте по сравнению с соответствующим эталоном (например, эталонной клеткой, популяцией клеток, тканью или субъектом).

В определенных вариантах осуществления один или более олигонуклеотидов содержат малую интерферирующую РНК (миРНК), мкРНК (микроРНК), короткую шпилечную РНК (кшРНК), одиночную гидовую РНК (огРНК) или антисмысловый олигонуклеотид (ASO). В подходящем варианте

осуществления один или более олигонуклеотидов ANGPTL8 содержат миРНК.

Другой подходящий вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, содержащий смысловую нить и антисмысловую нить. В другом подходящем варианте осуществления один или более олигонуклеотидов ANGPTL8

5 представляют собой миРНК, содержащую смысловую нить и антисмысловую нить.

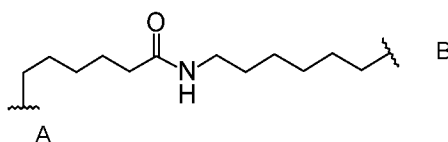
В некоторых вариантах осуществления соединение дополнительно содержит линкер, например для конъюгирования одного или более олигонуклеотидов ANGPTL8, таких как R, включая случай, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить формулы I. В других вариантах осуществления РНКи-агент, описанный в настоящем документе, содержит линкер, конъюгирующий

10 двухцепочечный олигонуклеотид, содержащий смысловую нить или антисмысловую нить. В других вариантах осуществления РНКи-агент содержит смысловую нить, конъюгированную с доставочным фрагментом формулы I посредством линкера. Подходящие линкеры известны в данной области. В одном

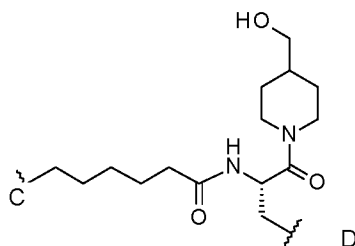
15 варианте осуществления линкер содержит алкильную цепь, подходящим вариантом является C₁₋₈. В дополнительном варианте осуществления линкер представляет собой алкильную цепь, подходящим вариантом является C₁₋₈. В дополнительном варианте осуществления линкер содержит линкер 1, показанный ниже (формула II в настоящем документе, имеет соединительные точки A и B). В дополнительном

20 варианте осуществления линкер представляет собой линкер 1. В другом варианте осуществления линкер содержит пиперидиновое кольцо. В дополнительном подходящем варианте осуществления линкер содержит линкер 2, показанный ниже (формула III в настоящем документе имеет соединительные точки A и B). В дополнительном подходящем варианте осуществления линкер представляет собой

25 линкер 2.



Линкер 1 (формула II)



Линкер 2 (формула III)

Специалисту в данной области будет понятно, что линкер может находиться
 5 на 5'- или 3'-конце олигонуклеотида ANGPTL8, включающего R, в том числе в
 случае, где R содержит смысловую или антисмысловую нить РНКи-агента согласно
 настоящему документу, или может быть присоединен к одному из внутренних
 нуклеотидов. Специалисту в данной области также будет понятно, что линкер
 может быть связан или конъюгирован с 5'- или 3'-концом олигонуклеотида
 10 ANGPTL8, включающего смысловую или антисмысловую нить в соответствии с
 данным документом. Специалисту в данной области также будет понятно, что
 размещение доставочного фрагмента, такого как доставочные фрагменты,
 включающие формулу I, посредством линкера или без него, на 5'-конце
 олигонуклеотида ANPTL8, такого как антисмысловая нить РНКи-агента согласно
 15 настоящему документу, может потребовать преодоления потенциальной
 неэффективной нагрузки загрузки Ago2 или других препятствий для активности
 комплекса RISC. Например, для доставочного фрагмента, содержащего формулу I,
 связанного или конъюгированного со смысловой или антисмысловой нитью РНКи-
 агента согласно данному документу, например, с миРНК, содержащей смысловую
 20 нить и антисмысловую нить, размещение фрагмента доставки на 5'-конце
 антисмысловой нити может создавать сложности для загрузки Ago2 и
 препятствовать эффективному нокдауну. В подходящем варианте осуществления
 один или более олигонуклеотидов ANPTL8 или РНКи-агентов содержат миРНК,
 содержащую смысловую нить и антисмысловую нить, и на 3'-конце смысловой
 25 нити присутствует доставочный фрагмент, содержащий формулу I. В
 дополнительном варианте осуществления доставочный фрагмент, содержащий
 формулу I, конъюгирован с 3'-концом смысловой нити посредством линкера. В еще
 одном дополнительном варианте осуществления линкер содержит кольцевую
 структуру, подходящей является пиперидиновое кольцо. В еще одном

дополнительном варианте осуществления линкер содержит линкер 1 (формула II). В еще одном дополнительном варианте осуществления линкер представляет собой линкер 2 (формула III). В одном варианте осуществления линкер 1, соединительная точка А, или линкер 2, соединительная точка С, конъюгирован с формулой I. В

5 одном варианте осуществления линкер 1, соединительная точка А, конъюгирован с формулой I, а соединительная точка В конъюгирован с R. В одном варианте осуществления линкер 2, соединительная точка С, конъюгирован с формулой I, а соединительная точка D конъюгирован с R. В одном варианте осуществления линкер 1, соединительная точка А, конъюгирован с формулой I, а соединительная

10 точка В конъюгирован с фосфатной группой, которая конъюгирован с R. В одном варианте осуществления линкер 2, соединительная точка С, конъюгирован с формулой I, а соединительная точка D конъюгирован с формулой I, а соединительная точка D конъюгирован с формулой I.

15 В некоторых вариантах осуществления олигонуклеотид ANPTL8, такой как антисмысловая нить, комплементарен последовательности из таблицы 1, то есть комплементарен последовательности, представленной любой из последовательностей от SEQ ID NO:3 до SEQ ID NO:123. В подходящих вариантах осуществления олигонуклеотид ANPTL8 комплементарен последовательности в

20 таблице 2, т. е. последовательность комплементарна последовательности, представленной любой из SEQ ID NO:3, 6, 10, 11, 12, 13, 16, 18, 23, 24, 26, 27, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 46, 47, 49, 50, 52, 55, 56, 57, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 77, 88, 89, 90, 91, 93, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106 или 107.

25 В дополнительных вариантах осуществления олигонуклеотид ANPTL8 или РНК-агент, описанный в данном документе, содержит миРНК, содержащую смысловую нить и антисмысловую нить. В дополнительных еще вариантах осуществления миРНК содержит смысловую нить из таблицы 2, которая представляет собой смысловую нить, содержащую или имеющую

30 последовательность, представленную любой из SEQ ID NO:124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164,

165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229 или 230. В других дополнительных вариантах осуществления олигонуклеотид ANPTL8 или РНК-агент, описанный в данном документе, содержит антисмысловую нить из таблицы 2, которая представляет собой антисмысловую нить, содержащую или имеющую последовательность, представленную одной из SEQ ID NO:231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359 или 360. В дополнительных вариантах осуществления миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить из одного ряда таблицы 11. В одном из этих дополнительных вариантов осуществления миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить из ряда 1, т. е. миРНК содержит смысловую нить, имеющую SEQ ID NO:124, и антисмысловую нить, имеющую SEQ ID NO:231. В других дополнительных вариантах осуществления миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить из ряда 2, т. е. миРНК содержит смысловую нить, имеющую SEQ ID NO:125, и антисмысловую нить, имеющую SEQ ID NO:232. В других дополнительных вариантах осуществления миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить из одной и того же ряда таблицы 11, причем ряд выбран из группы, состоящей из рядов 1–174 таблицы 11 (ряды, обозначенные от 1A до 174e5).

В дополнительных вариантах осуществления смысловая нить и антисмысловая нить являются модифицированными. В дополнительных вариантах осуществления модификация проведена на нуклеотиде, каркасе, т. е. межнуклеозидной связи (фосфодиэфирной связи), или в обоих местах. В дополнительном варианте осуществления одна или более из модифицированных межнуклеотидных связей представляет собой фосфоротриатную (PS) связь. В

других вариантах осуществления межнуклеотидная связь представляет собой модифицированную межнуклеотидную связь, которая представляет собой фосфоротиоатную (PS) связь. В дополнительных вариантах осуществления модификация представляет собой группу 2'-фтор или 2'-метокси на рибозе, или PS-связь, или и то и другое. В дополнительных вариантах осуществления присутствуют одна или более из всех трех указанных модификаций. В дополнительных вариантах осуществления миРНК содержит от одной до десяти модификаций 2'-фтор на рибозе. В других вариантах осуществления миРНК содержит от одной до десяти модификаций на нуклеотидах 2'-фтор в рибозе и остальных, т. е. нуклеотиды, которые не имеют модификации 2'-фтор, имеют модификацию с 2'-метокси-группой на рибозе.

В других вариантах осуществления соединений, таких как РНКи-агенты, описанные в настоящем документе, один или более олигонуклеотидов содержат миРНК, содержащую смысловую нить и антисмысловую нить. В дополнительном варианте осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити имеет длину от 15 до 40 нуклеотидов. В подходящих вариантах осуществления антисмысловая нить имеет длину 23 нуклеотида. В подходящих вариантах осуществления смысловая нить имеет длину 21 нуклеотид. В других подходящих вариантах осуществления антисмысловая нить имеет длину 23 нуклеотида, а смысловая нить имеет длину 21 нуклеотид. В другом варианте осуществления смысловая нить и антисмысловая нить отжигаются, и необязательно содержат один или более 5'- или 3'-нуклеотидных выступов, один или более 5'- или 3'-тупых концов или их комбинацию.

В другом варианте осуществления молекулы РНКи, включая РНКи-агенты, описанные в настоящем документе, 5'- или 3'-концы олигонуклеотидов ANGPTL8, таких как представленные как R, включая случай, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, являются дополнительно модифицированными. В дополнительном варианте осуществления 5'-конец антисмысловой нити является необязательно фосфорилированным. В дополнительном варианте осуществления нуклеотид на 5'-конце антисмысловой нити содержит 5'-винилфосфонатную модификацию. В другом варианте осуществления нуклеотид на 5'-конце антисмысловой нити содержит фосфатную группу. В другом варианте

осуществления нуклеотид на 5'-конце антисмысловой нити содержит аналог фосфата.

В других вариантах осуществления молекул РНКи, таких как РНКи-агенты, описанные в настоящем документе, содержат миРНК, которая содержит формулу I, а также смысловую или антисмысловую нить из таблицы 6 или 8. В других вариантах осуществления молекула РНКи или РНКи-агент, каждый из которых описан в данном документе, содержит формулу I и смысловую нить, содержащую последовательность из любой из SEQ ID NO:361, SEQ ID NO:362, SEQ ID NO:363, SEQ ID NO:364, SEQ ID NO:365 или SEQ ID NO:366. В других вариантах осуществления молекула РНКи или РНКи-агент, каждый из которых описан в данном документе, содержит формулу I и миРНК, содержащую антисмысловую нить, содержащую последовательность по любой из SEQ ID NO:367, SEQ ID NO:368, SEQ ID NO:369, SEQ ID NO:370, SEQ ID NO:371 или SEQ ID NO:372. В дополнительном варианте осуществления молекула РНКи или РНКи-агент, каждый из которых описан в данном документе, содержит формулу I и миРНК, содержащую смысловую нить и антисмысловую нить, выбранную из пар последовательностей, указанных в пунктах a–f:

- a. SEQ ID NO:361 и SEQ ID NO:367;
- b. SEQ ID NO:362 и SEQ ID NO:368;
- c. SEQ ID NO:363 и SEQ ID NO:369;
- d. SEQ ID NO:364 и SEQ ID NO:370;
- e. SEQ ID NO:365 и SEQ ID NO:371; или
- f. SEQ ID NO:366 и SEQ ID NO:372.

В дополнительных вариантах осуществления молекулы РНКи, включая РНКи-агент, описанный в данном документе, конъюгированы с формулой I посредством линкера формулы III (т. е. линкера 2). В дополнительных вариантах осуществления линкер формулы III конъюгирован с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления любой 5'-фосфат на антисмысловой нити отсутствует, а один или более остатков 2'-фтор на рибозе

удалены. В дополнительном варианте осуществления любые удаленные остатки 2'-фтор заменены на 2'-метокси-модификации в том же положении.

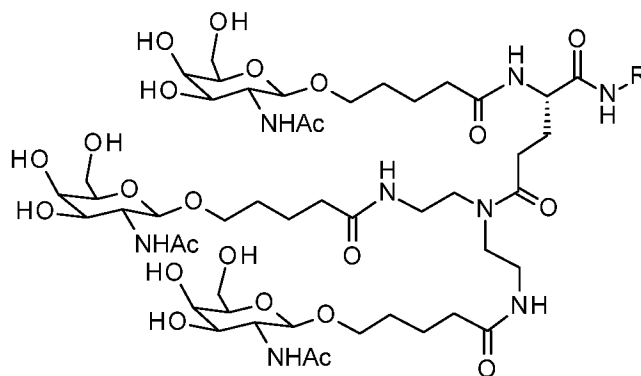
Молекулы РНКи, описанные в данном документе, содержащие формулу I и один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, например те, которые представлены R, включая случай, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, можно 5 применять в терапии заболеваний печени, затрагивающих жировую ткань. Их получают в виде фармацевтических композиций, совместимых с применением у пациентов, подходящий пример представляет собой людей. Фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, содержат один или более 10 носителей, разбавителей и эксципиентов, которые совместимы с молекулами РНКи или РНКи-агентами, описанными в данном документе, и другими компонентами композиции или состава, и не вредны для пациента. Примеры фармацевтических композиций и способов их получения приведены в Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Loyd, V., *et al.* Eds., 22nd Ed., Mack Publishing Co., 2012.

Соответственно, один вариант осуществления представляет собой 15 фармацевтическую композицию, содержащую молекулу РНКи или РНКи-агент, описанные в настоящем документе, содержащие формулу I, а также один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, например представленные как R, включая случаи, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, а также один или более 20 фармацевтически приемлемых эксципиентов. В дополнительных вариантах осуществления молекула РНК, такая как молекула РНКи или РНКи-агент, описанные в данном документе, и ее фармацевтические композиции предназначены для применения в терапии или лечении заболевания.

Другой вариант осуществления представляет собой молекулы РНКи или 25 РНКи-агенты, содержащие формулу I и один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, например представленные R, включая случаи, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, или их фармацевтические композиции для применения в терапии. Другой вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, описанный в настоящем документе, для применения в терапии. В 30 дополнительном варианте осуществления терапия включает снижение уровней экспрессии ANGPTL8, например по сравнению с не получавшими лечение

пациентами, или контрольной группой, или пациентами, получавшими терапию плацебо. Дополнительный вариант осуществления представляет собой терапию заболеваний печени или заболеваний, затрагивающих печень. Другой вариант осуществления представляет собой способ лечения заболевания печени, включающий введение молекулы РНКи, описанной в настоящем документе, 5 подходящей является молекула РНКи, содержащая формулу I, а также один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, включая R, например, в случаях, где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, описанную в настоящем документе, надлежащим образом вводимой в эффективном количестве, или 10 фармацевтической композиции с любой из вышеизложенных молекул. Другой вариант осуществления представляет собой способ лечения заболевания печени у нуждающегося в этом пациента, включающий введение РНКи-агента, описанного в настоящем документе, в подходящем эффективном количестве, или фармацевтической композиции, содержащей РНКи-агент и один или более 15 фармацевтически приемлемых эксципиентов.

Другой вариант осуществления представляет собой агент РНК-интерференции (РНКи), содержащий формулу I:



Формула I,

20

и смысловую нить и антисмысловую нить, причем антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525, и при этом смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 25 нуклеотидов, причем каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо

имеет длину от 18 до 23 нуклеотидов, и при этом необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, причем необязательно одна или более межнуклеотидных связей смысловой нити и антисмысловой нити являются модифицированными межнуклеотидными связями, и при этом смысловая нить или антисмысловая нить конъюгирована с формулой I, необязательно посредством линкера.

Олигонуклеотиды, такие как смысловые и антисмысловые нити, описанные в настоящем документе, также могут быть конъюгированы с альтернативными доставочными фрагментами, нацеленными на печень или на другие ткани, для снижения экспрессии ANGPTL8. Олигонуклеотиды, такие как смысловые и антисмысловые нити, описанные в настоящем документе, также могут быть неконъюгированными, и вместо этого они могут быть инкапсулированными или доставляться другим средством, не требующим конъюгации, к представляющей интерес ткани для снижения экспрессии ANGPTL8.

Соответственно, в других вариантах осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, РНКи-агенты, содержащие доставочный фрагмент, конъюгированный с R, необязательно посредством линкера L, имеют формулу R-L-D, причем R содержит антисмысловую и/или смысловую нить, причем антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов последовательности, которая комплементарна мРНК-транскрипту ANGPTL8, и при этом смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 нуклеотидов, причем каждая из смысловой нити и/или антисмысловой нити, если и когда они присутствуют, независимо имеет длину от 15 до 30 нуклеотидов, и при этом необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити, если и когда они присутствуют, независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, причем необязательно каждая из смысловой нити и/или антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В другом варианте осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов с последовательностью, комплементарной SEQ ID NO:1. В дополнительном варианте осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет

длину от 18 до 23 нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления любого из этих РНКи-агентов антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с транскриптом мРНК ANGPTL8. В другом дополнительном варианте осуществления любого из этих РНКи-агентов

5 антисмысловая нить образует область комплементарности из по меньшей мере 18 нуклеотидов с SEQ ID NO: 1.

Дополнительный вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, в котором антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 нуклеотидов последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525. В

10 еще одном дополнительном варианте осуществления антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525.

В дополнительном варианте осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных

15 нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405, 408, 412, 413, 414, 415, 418, 420, 425, 426, 428, 429, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 448, 449, 451, 452, 454, 457, 458, 459, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 479, 490, 491, 492, 493, 495, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508 и 509. В другом варианте

20 осуществления антисмысловая нить выбрана из группы последовательностей антисмысловой нити в таблице 2.

В другом варианте осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, антисмысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231–361, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%. В

25 других вариантах осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 124–230, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%.

В дополнительных вариантах осуществления любого из РНКи-агентов, описанных в данном документе, область комплементарности содержит 0, 1, 2 или 3

30 несоответствия между смысловой нитью и антисмысловой нитью.

В дополнительных вариантах осуществления РНКи-агентов каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более

модифицированных нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо представляют собой 2'-фтор-модифицированные нуклеотиды или 2'-О-метил-модифицированные нуклеотиды. В других вариантах осуществления каждый нуклеотид смысловой нити и каждый нуклеотид антисмысловой нити представляет собой модифицированный нуклеотид, а в дополнительном варианте осуществления каждый из модифицированных нуклеотидов независимо представляет собой 2'-фтор-модифицированный нуклеотид или 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид.

В других вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей. В дополнительном варианте осуществления каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь. В других вариантах осуществления каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит четыре фосфоротиоатные связи. В дополнительных вариантах осуществления первые два 5'-нуклеотида смысловой нити и два концевых 3'-нуклеотида смысловой нити представляют собой фосфоротиоатные связи. В дополнительных вариантах осуществления первые два 5'-нуклеотида антисмысловой нити и два концевых 3'-нуклеотида антисмысловой нити представляют собой фосфоротиоатные связи.

В других вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, 5'-нуклеотид антисмысловой нити содержит фосфатную группу или аналог фосфата.

Дополнительный вариант осуществления РНК-агента, описанного в настоящем документе, представляет собой причем антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405, 408, 412, 413, 414, 415, 418, 420, 425, 426, 428, 429, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 448, 449, 451, 452, 454, 457, 458, 459, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 479, 490, 491, 492, 493, 495, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508 и 509.

В другом дополнительном варианте осуществления РНК-агент содержит антисмысловую нить, которая имеет длину 23 нуклеотида. В еще одном дополнительном варианте осуществления РНК-агент имеет длину 21 нуклеотид. В подходящем варианте осуществления антисмысловая нить имеет длину 23 нуклеотида, а смысловая нить имеет длину 21 нуклеотид.

В другом варианте осуществления антисмысловая нить РНК-агента выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231–361, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%. В другом варианте осуществления смысловая нить РНК-агента выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 124–230, или последовательности, которая идентична ей на по меньшей мере 90%. РНК-агент по любому из предшествующих пунктов, который в области комплементарности содержит 0, 1, 2 или 3 несоответствия между смысловой нитью и антисмысловой нитью.

В дополнительных вариантах осуществления РНК-агент содержит смысловую или антисмысловую нить, содержащие один или более модифицированных нуклеотидов. В дополнительном варианте осуществления один или более модифицированных нуклеотидов независимо представляют собой нуклеотид, имеющий 2'-фторную группу или имеющую 2'-О-метильную группу на рибозе. В дополнительном варианте осуществления каждый нуклеотид смысловой нити и антисмысловой нити представляет собой модифицированный нуклеотид.

В другом варианте осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, каждый из двух нуклеотидов на 5'- и 3'-конце каждой смысловой нити и антисмысловой нити имеет модифицированную межнуклеотидную связь. В дополнительном варианте осуществления модифицированная межнуклеотидная связь, при наличии, представляет собой фосфоротиоатную связь.

В другом варианте осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, нуклеотид на 5'-конце антисмысловой нити имеет модификацию или дополнительную модификацию, которая представляет собой фосфатную группу или аналог фосфата.

В дополнительных вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, антисмысловая нить содержит последовательность, выбранную

из группы, состоящей из SEQ ID NO: 367–372 и 389–404, или последовательность, которая идентична ей на по меньшей мере 90%.

В других дополнительных вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в данном документе, смысловая нить содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 361–366 и 373–388, или последовательность, которая идентична ей на по меньшей мере 90%.

В других дополнительных вариантах осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- c. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- d. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- e. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по

- [illegible]

последовательность, представленную в SEQ ID NO:393, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

- [illegible]

- г. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:384, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:399, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- 5
- с. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:385, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:400, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- 10
- т. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:386, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:401, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- 15
- и. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:387, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:402, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- 20
- в. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:388, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:403, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и
- 25
- w. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:389, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:404, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- 30

Соответственно, РНК-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах

осуществления РНКи-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера. В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

В других вариантах осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих:

- 10 a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- 15 b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- 20 c. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- 25 d. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- 30 e. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей

- [illegible]

- [illegible]

меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:399, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

s. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:385, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:400, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

t. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:386, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:401, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

u. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:387, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:402, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

v. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:388, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:403, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и

w. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:389, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:404, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

Соответственно, РНК-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах осуществления РНК-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула

I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера. В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

- В других вариантах осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих:
- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
 - b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
 - c. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
 - d. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и
 - e. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

Соответственно, РНК-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах осуществления РНК-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера. В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

В дополнительном варианте осуществления РНК-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих:

- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- c. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- d. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и

- е. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или
- 5 последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

Соответственно, РНК-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах осуществления РНК-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула

10 I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера. В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

В другом варианте осуществления РНК-агент, описанный в настоящем документе, представляет собой РНК-агент, в котором смысловая нить и

15 антисмысловая нить являются парой олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей
- 20 последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и
- b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей
- 25 последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

Соответственно, РНК-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах осуществления РНК-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула

30 I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера.

В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

В других вариантах осуществления РНКи-агентов, описанных в настоящем документе, смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из следующих:

- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и
- b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

Соответственно, РНКи-агенты, содержащие пару указанных олигонуклеотидных последовательностей, имеют формулу I. В дополнительных подходящих вариантах осуществления РНКи-агенты имеют формулу I, конъюгированную с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити. В дополнительных вариантах осуществления формула I конъюгирована с нуклеотидом на 3'-конце смысловой нити посредством линкера. В дополнительных вариантах осуществления линкер представляет собой линкер формулы III:

В других вариантах осуществления, описанных в данном документе, РНКи-агент способен снижать экспрессию гена ANGPTL8 в клетке печени.

В других вариантах осуществления РНКи-агент, описанный в настоящем документе, предназначен для применения в терапии.

Другой вариант осуществления представляет собой молекулу РНКи или РНКи-агент, описанный в настоящем документе, подходящим образом содержащий формулу I и один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, включая R, например, где R содержит смысловую нить и/или антисмысловую нить, описанную в настоящем документе, или содержащую такую молекулу фармацевтическую

композицию для применения в производстве лекарственного средства, подходящего для лечения заболевания печени или заболевания, затрагивающего печень, к которым относятся дислипидемия, сердечно-сосудистое заболевание и неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). Другой вариант осуществления

5 представляет собой применение молекулы РНКи или РНКи-агента, описанных в настоящем документе, подходящим образом содержащих формулу I и один или более олигонуклеотидов ANGPTL8, включая R, например, где R содержит смысловую нить и/или антисмысловую нить, описанную в настоящем документе, или содержащей такую молекулу фармацевтической композиции в производстве

10 лекарственного средства, подходящего для лечения заболевания печени или заболевания, затрагивающего печень, к которым относятся дислипидемия, сердечно-сосудистое заболевание и неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD). В дополнительном варианте осуществления NAFLD представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH). Другой вариант осуществления

15 представляет собой РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или содержащую его фармацевтическую композицию для применения в производстве лекарственного средства, подходящего для лечения заболевания печени или заболевания, затрагивающего печень, к которым относятся дислипидемия, сердечно-сосудистое заболевание и неалкогольная жировая болезнь печени

20 (NAFLD). В дополнительном варианте осуществления NAFLD представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH).

В других вариантах осуществления предложены способы лечения дислипидемии, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, описанной в настоящем документе, или содержащей ее фармацевтической

25 композиции нуждающемуся в этом пациенту. Другой вариант осуществления представляет собой молекулу РНКи, описанную в настоящем документе, или содержащую ее фармацевтическую композицию для применения в лечении дислипидемии. В других вариантах осуществления предложены способы лечения дислипидемии, включающие введение эффективного количества РНКи-агента,

30 описанного в настоящем документе, или содержащей его фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Другой вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или

содержащую его фармацевтическую композицию для применения в лечении дислипидемии.

В других вариантах осуществления предложены способы лечения сердечно-сосудистого заболевания, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, описанной в настоящем документе, или содержащей ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Другой вариант осуществления представляет собой молекулу РНКи, описанную в настоящем документе, или содержащую ее фармацевтическую композицию для применения при лечении сердечно-сосудистого заболевания, необязательно и в соответствующих случаях оцениваемом по снижению частоты госпитализации и/или сердечно-сосудистых явлений и/или риска любого или обоих из них. В других вариантах осуществления предложены способы лечения сердечно-сосудистого заболевания, включающие введение эффективного количества РНКи-агента, описанного в настоящем документе, или содержащей его фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Другой вариант осуществления представляет собой РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или содержащую его фармацевтическую композицию для применения при лечении сердечно-сосудистого заболевания, необязательно и в соответствующих случаях оцениваемом по снижению частоты госпитализации и/или сердечно-сосудистых явлений и/или риска любого или обоих из них.

В других вариантах осуществления предложены способы профилактики сердечно-сосудистого явления, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, описанной в настоящем документе, или содержащей ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. В других вариантах осуществления предложены способы профилактики сердечно-сосудистого явления, включающие введение эффективного количества РНКи-агента, описанного в настоящем документе, или содержащей его фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. В дополнительных вариантах осуществления сердечно-сосудистое явление представляет собой инфаркт миокарда.

В других вариантах осуществления предложены способы снижения частоты госпитализаций, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями или явлениями,

включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, описанной в настоящем документе, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

В других вариантах осуществления предложены способы лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту. Другой вариант осуществления представляет собой молекулу РНКи, такую как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтическую композицию для применения в лечении NAFLD. В дополнительных вариантах осуществления NAFLD представляет собой NASH.

В других вариантах осуществления предложены способы снижения уровня триглицеридов, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

В других вариантах осуществления предложены способы ингибирования липопротеинлипазы (LPL), включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или его фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

В других вариантах осуществления предложены способы повышения катаболизма богатых триглицеридами липопротеинов, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

В других вариантах осуществления изобретения предложены способы лечения заболевания печени у пациента, который может получить пользу от снижения уровней экспрессии ANGPTL8, включающие введение эффективного количества молекулы РНКи, такой как РНКи-агент, описанный в настоящем документе, или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

В контексте настоящего документа термин «эффективное количество» относится к количеству, которое является эффективным при лечении расстройства или заболевания.

Используемый в настоящем документе термин «лечить» или «лечение» означает операцию по обеспечению ухода за нуждающимся в этом индивидом, например путем введения терапевтического средства (например, олигонуклеотида, описанного в данном документе) этому индивиду для улучшения здоровья и/или благополучия индивида применительно к имеющемуся состоянию (например, заболеванию, расстройству) или для профилактики или уменьшения вероятности возникновения состояния. Лечение также может включать уменьшение частоты или тяжести по меньшей мере одного признака, симптома или фактора, способствующего состоянию (например, заболеванию, расстройству), испытываемому индивидом.

РНК-агенты дополнительно описаны в не имеющих ограничительного характера примерах в данном документе.

ПРИМЕР 1

Таблица 1. Целевые и антисмысловые последовательности сконструированных миРНК

SEQ ID NO (ПОСЛЕД. ДНК)	Начальное положение на ДНК	Конечное положение на ДНК	18-мерная последовательность ДНК-мишени (5'-3')	SEQ ID NO (ПОСЛЕД. РНК)	18-мерная последовательность антисмысловой РНК (5'-3')
3	120	137	AGCTGACCCTGCTCTTCC	405	GGAAGAGCAGGGUCAGCU
4	141	158	GGACCCTGCAGCTGGGCC	406	GGCCCAGCUGCAGGGUCC
5	150	167	AGCTGGGCCAGGCCCTCA	407	UGAGGGCCUGGCCCAGCU
6	185	202	ACGGAGGGACGGCTGACA	408	UGUCAGCCGUCCCUCGU
7	186	203	CGGAGGGACGGCTGACAA	409	UUGUCAGCCGUCCCUCCG
8	191	208	GGACGGCTGACAAAGGCC	410	GGCCUUUGUCAGCGUCC
9	194	211	CGGCTGACAAAGGCCAGG	411	CCUGGCCUUUGUCAGCCG
10	195	212	GGCTGACAAAGGCCAGGA	412	UCCUGGCCUUUGUCAGCC
11	197	214	CTGACAAAGGCCAGGAAC	413	GUUCCUGGCCUUUGUCAG
12	210	227	GGAACAGCCTGGG	414	AGAGACCCAGGCU

			TCTCT		GUUCC
13	211	228	GAACAGCCTGGGT CTCTA	415	UAGAGACCCAGGC UGUUC
14	215	232	AGCCTGGGTCTCT ATGGC	416	GCCAUAGAGACCC AGGCU
15	217	234	CCTGGGTCTCTAT GGCCG	417	CGGCCAUAGAGAC CCAGG
16	218	235	CTGGGTCTCTATG GCCGC	418	GCGGCCAUAGAGA CCCAG
17	219	236	TGGGTCTCTATGG CCGCA	419	UGCGGCCAUAGAG ACCCA
18	220	237	GGGTCTCTATGGC CGCAC	420	GUGCGGCCAUAGA GACCC
19	259	276	GGTCAGCCGGGGC CGGGA	421	UCCCGGCCCCGGC UGACC
20	267	284	GGGGCCGGGATGC AGCCC	422	GGGCUGCAUCCCG GCCCC
21	270	287	GCCGGGATGCAGC CCAGG	423	CCUGGGCUGCAUC CCGGC
22	271	288	CCGGGATGCAGCC CAGGA	424	UCCUGGGCUGCAU CCCGG
23	273	290	GGGATGCAGCCCA GGAAC	425	GUUCCUGGGCUGC AUCCC
24	274	291	GGATGCAGCCCAG GAACT	426	AGUUCCUGGGCUG CAUCC
25	281	298	GCCCAGGAACTTC GGGCA	427	UGCCCGAAGUUCC UGGGC
26	282	299	CCCAGGAACTTCG GGCAA	428	UUGCCCGAAGUUC CUGGG
27	283	300	CCAGGAACTTCGG GCAAG	429	CUUGCCCGAAGUU CCUGG
28	284	301	CAGGAACTTCGGG CAAGC	430	GCUUGCCCGAAGU UCCUG
29	285	302	AGGAACTTCGGGC AAGCC	431	GGCUUGCCCGAAG UUCCU
30	286	303	GGA ACTTCGGGCA AGCCT	432	AGGCUUGCCCGAA GUUCC
31	287	304	GAACTTCGGGCAA GCCTG	433	CAGGCUUGCCCGA AGUUC
32	290	307	CTTCGGGCAAGCC TGTTG	434	CAACAGGCUUGCC CGAAG
33	291	308	TTCGGGCAAGCCT GTTGG	435	CCAACAGGCUUGC CCGAA
34	293	310	CGGGCAAGCCTGT TGGAG	436	CUCCAACAGGCUU GCCCC
35	297	314	CAAGCCTGTTGGA	437	GAGUCUCCAACAG

			GACTC		GCUUG
36	299	316	AGCCTGTTGGAGA CTCAG	438	CUGAGUCUCCAAC AGGCU
37	300	317	GCCTGTTGGAGAC TCAGA	439	UCUGAGUCUCCA CAGGC
38	303	320	TGTTGGAGACTCA GATGG	440	CCAUCUGAGUCUC CAACA
39	304	321	GTTGGAGACTCAG ATGGA	441	UCCAUCUGAGUCU CCAAC
40	309	326	AGACTCAGATGGA GGAGG	442	CCUCCUCCAUCUG AGUCU
41	310	327	GACTCAGATGGAG GAGGA	443	UCCUCCUCCAUCU GAGUC
42	311	328	ACTCAGATGGAGG AGGAT	444	AUCCUCCUCCAUC UGAGU
43	312	329	CTCAGATGGAGGA GGATA	445	UAUCCUCCUCCA CUGAG
44	313	330	TCAGATGGAGGAG GATAT	446	AUAUCCUCCUCCA UCUGA
45	314	331	CAGATGGAGGAG GATATT	447	AAUAUCCUCCUCC AUCUG
46	315	332	AGATGGAGGAGG ATATTC	448	GAAUAUCCUCCUC CAUCU
47	316	333	GATGGAGGAGGAT ATTCT	449	AGAAUAUCCUCCU CCAUC
48	317	334	ATGGAGGAGGATA TTCTG	450	CAGAAUAUCCUCC UCCAUC
49	319	336	GGAGGAGGATATT CTGCA	451	UGCAGAAUAUCCU CCUCC
50	321	338	AGGAGGATATTCT GCAGC	452	GCUGCAGAAUAUC CUCCU
51	372	389	AGGTGGCCCAGGC ACAGA	453	UCUGUGCCUGGGC CACCU
52	379	396	CCAGGCACAGAAG GTGCT	454	AGCACCUUCUGUG CCUGG
53	411	428	AGCGGCTAGAAGT CCAGC	455	GCUGGACUUCUAG CCGCU
54	412	429	GCGGCTAGAAGTC CAGCT	456	AGCUGGACUUCUA GCCGC
55	413	430	CGGCTAGAAGTCC AGCTG	457	CAGCUGGACUUCU AGCCG
56	414	431	GGCTAGAAGTCCA GCTGA	458	UCAGCUGGACUUC UAGCC
57	415	432	GCTAGAAGTCCAG CTGAG	459	CUCAGCUGGACUU CUAGC
58	420	437	AAGTCCAGCTGAG	460	CGCUCCUCAGCUG

			GAGCG		GACUU
59	421	438	AGTCCAGCTGAGG AGCGC	461	GCGCUCCUCAGCU GGACU
60	438	455	CCTGGCTGGGCCC TGCCT	462	AGGCAGGGGCCAG CCAGG
61	459	476	GAGAATTTGAGGT CTTAA	463	UUAAGACCUCAAA UUCUC
62	460	477	AGAATTTGAGGTC TTAAA	464	UUUAAGACCUCAA AUUCU
63	462	479	AATTTGAGGTCTT AAAGG	465	CCUUUAAGACCUC AAAUU
64	463	480	ATTTGAGGTCTTA AAGGC	466	GCCUUUAAGACCU CAAAU
65	464	481	TTTGAGGTCTTAA AGGCT	467	AGCCUUUAAGACC UCAA
66	465	482	TTGAGGTCTTAAA GGCTC	468	GAGCCUUUAAGAC CUCAA
67	466	483	TGAGGTCTTAAAG GCTCA	469	UGAGCCUUUAAG ACCUCA
68	467	484	GAGGTCTTAAAGG CTCAC	470	GUGAGCCUUUAA GACCUC
69	469	486	GGTCTTAAAGGCT CACGC	471	GCGUGAGCCUUUA AGACC
70	471	488	TCTTAAAGGCTCA CGCTG	472	CAGCGUGAGCCUU UAAGA
71	472	489	CTTAAAGGCTCAC GCTGA	473	UCAGCGUGAGCCU UUAAG
72	473	490	TTAAAGGCTCACG CTGAC	474	GUCAGCGUGAGCC UUUAA
73	474	491	TAAAGGCTCACGC TGACA	475	UGUCAGCGUGAGC CUUUA
74	475	492	AAAGGCTCACGCT GACAA	476	UUGUCAGCGUGA GCCUUU
75	476	493	AAGGCTCACGCTG ACAAG	477	CUUGUCAGCGUGA GCCUU
76	477	494	AGGCTCACGCTGA CAAGC	478	GCUUGUCAGCGUG AGCCU
77	479	496	GCTCACGCTGACA AGCAG	479	CUGCUUGUCAGCG UGAGC
78	480	497	CTCACGCTGACAA GCAGA	480	UCUGCUUGUCAGC GUGAG
79	481	498	TCACGCTGACAAG CAGAG	481	CUCUGCUUGUCAG CGUGA
80	482	499	CACGCTGACAAGC AGAGC	482	GCUCUGCUUGUCA GCGUG
81	483	500	ACGCTGACAAGCA	483	GGCUCUGCUUGUC

			GAGCC		AGCGU
82	485	502	GCTGACAAGCAGA GCCAC	484	GUGGCUCUGCUUG UCAGC
83	513	530	CCCTCACAGGCCA CGTGC	485	GCACGUGGCCUGU GAGGG
84	514	531	CCTCACAGGCCAC GTGCA	486	UGCACGUGGCCUG UGAGG
85	520	537	AGGCCACGTGCAG CGGCA	487	UGCCGCUGCACGU GGCCU
86	521	538	GGCCACGTGCAGC GGCAG	488	CUGCCGCUGCACG UGGCC
87	524	541	CACGTGCAGCGGC AGAGG	489	CCUCUGCCGCUGC ACGUG
88	530	547	CAGCGGCAGAGGC GGGAG	490	CUCCCGCCUCUGC CGCUG
89	534	551	GGCAGAGGCGGG AGATGG	491	CCAUCUCCCGCCU CUGCC
90	540	557	GGCGGGAGATGGT GGCAC	492	GUGCCACCAUCUC CCGCC
91	543	560	GGGAGATGGTGGC ACAGC	493	GCUGUGCCACCAU CUCCC
92	546	563	AGATGGTGGCACA GCAGC	494	GCUGCUGUGCCAC CAUCU
93	553	570	GGCACAGCAGCAT CGGCT	495	AGCCGAUGCUGCU GUGCC
94	555	572	CACAGCAGCATCG GCTGC	496	GCAGCCGAUGCUG CUGUG
95	557	574	CAGCAGCATCGGC TGCGA	497	UCGCAGCCGAUGC UGCUG
96	558	575	AGCAGCATCGGCT GCGAC	498	GUCGCAGCCGAUG CUGCU
97	559	576	GCAGCATCGGCTG CGACA	499	UGUCGCAGCCGAU GCUGC
98	560	577	CAGCATCGGCTGC GACAG	500	CUGUCGCAGCCGA UGCUG
99	561	578	AGCATCGGCTGCG ACAGA	501	UCUGUCGCAGCCG AUGCU
100	562	579	GCATCGGCTGCGA CAGAT	502	AUCUGUCGCAGCC GAUGC
101	563	580	CATCGGCTGCGAC AGATC	503	GAUCUGUCGCAGC CGAUG
102	564	581	ATCGGCTGCGACA GATCC	504	GGAUCUGUCGCAG CCGAU
103	565	582	TCGGCTGCGACAG ATCCA	505	UGGAUCUGUCGCA GCCGA
104	567	584	GGCTGCGACAGAT	506	CCUGGAUCUGUCG

			CCAGG		CAGCC
105	569	586	CTGCGACAGATCC AGGAG	507	CUCCUGGAUCUGU CGCAG
106	570	587	TGCGACAGATCCA GGAGA	508	UCUCCUGGAUCUG UCGCA
107	571	588	GCGACAGATCCAG GAGAG	509	CUCUCCUGGAUCU GUCGC
108	607	624	CCCAGCCTGAATC TGCCT	510	AGGCAGAUUCAG GCUGGG
109	610	627	AGCCTGAATCTGC CTGGA	511	UCCAGGCAGAUUC AGGCU
110	611	628	GCCTGAATCTGCC TGGAT	512	AUCCAGGCAGAUU CAGGC
111	619	636	CTGCCTGGATGGA ACTGA	513	UCAGUUCCAUCCA GGCAG
112	644	661	TCATGCTGCAAGG AACAC	514	GUGUUCCUUGCAG CAUGA
113	652	669	CAAGGAACACTTC CACGC	515	GCGUGGAAGUGU UCCUUG
114	655	672	GGAACACTTCCAC GCCCC	516	GGGGCGUGGAAG UGUUCC
115	698	715	TGCCTGTTCCTG GGATC	517	GAUCCCAGUGAAC AGGCA
116	699	716	GCCTGTTCCTGG GATCA	518	UGAUCCCAGUGAA CAGGC
117	701	718	CTGTTCCTGGGA TCAGC	519	GCUGAUCCCAGUG AACAG
118	702	719	TGTTCCTGGGAT CAGCC	520	GGCUGAUCCCAGU GAACA
119	709	726	TGGGATCAGCCAG GGCGC	521	GCGCCCUGGCUGA UCCCA
120	710	727	GGGATCAGCCAGG GCGCC	522	GGCGCCCUGGCUG AUCCC
121	847	864	CATTAAAGCAGAG TCGTG	523	CACGACUCUGCUU UAAUG
122	848	865	ATTAAAGCAGAGT CGTGG	524	CCACGACUCUGCU UUAU
123	850	867	TAAAGCAGAGTCG TGGCA	525	UGCCACGACUCUG CUUUA

Разработаны миРНК, которые комплементарны 18-мерным областям транскрипта ANGPTL8 NM_(SEQ ID NO: 1), как показано выше в таблице 1.

Смысловые нити и антисмысловые нити РНК-олигонуклеотидов имеют длину в

5 диапазоне от 18 до 23 нуклеотидов, с необязательными выступами от 1 до 5

рибонуклеотидов, с 1–10 добавленными атомами фтора в 2'-положении рибозы, а остальные остатки метилированы в 2'-положении рибозы (с образованием 2'-метокси, т. е. 2'-О-метил-модификации). Некоторые антисмысловые нити фосфорилированы в положении 5'. Каждая миРНК конъюгирована с доставочным фрагментом, содержащим 3 группу GalNAc; выбранные доставочные фрагменты содержат формулу I, тогда как другие содержат контрольный фрагмент. Присутствуют одна или более фосфодиэфирных связей на 5'- и 3'-концах.

Нокдаун экспрессии ANGPTL8 этими миРНК анализировали с использованием следующей процедуры: первичные гепатоциты мыши (MPH), свежевыделенные из гуманизированной мыши AAV-ANGPTL8, наносили на планшеты Corning в количестве 15 тыс. на лунку, и миРНК добавляли непосредственно в лунку. Для единичных измерений использовали концентрацию 1 мкМ (1000 нМ); для получения кривых концентрации/дозозависимый ответ использовали конечные концентрации конъюгированной с GalNAc миРНК 1000, 333, 111, 37, 12, 4, 1,37, 0,46, 0,15, 0,05 и 0,017 нМ.

Обработанные клетки лизировали и выделяли РНК с использованием набора Quick-RNA 96 Kit (Zymo Research) непосредственно в 96-луночном планшете. Элюированную РНК использовали немедленно или хранили в замороженном виде. кДНК синтезировали с использованием мастер-микса Fast Advanced RT Master Mix (Invitrogen) и использовали следующие стадии в термоциклере: 37 С в течение 30 минут, 95 С в течение 5 минут и выдерживание при 4 С. Полимеразную цепную реакцию (ПЦР) проводили с помощью TaqMan RT PCR (Life Technologies), используя следующие температурные циклы и сроки: 50 С в течение 2 минут, 95 С в течение 10 минут, 40 циклов при 95 С в течение 15 секунд и 60 С в течение 1 минуты.

Уровни ANGPTL8 человека нормализовали к мышинному Rplp0 (Life Technologies), и они представляют относительный нокдаун экспрессии мРНК ANGPTL8 человека по сравнению с контрольными клетками, обработанными носителем. Значения IC50 рассчитывали с использованием 4-параметрической аппроксимирующей модели с использованием XLFit.

Целевые области на ANGPTL8 для миРНК, которые демонстрировали более чем 50% нокдаун, показаны ниже в таблице 2.

Таблица 2.

SEQ ID NO (ПОСЛЕД. ДНК)	Начальное положение на ДНК	Конечное положение на ДНК	18-мерная последовательность ДНК (5'-3')	SEQ ID NO (ПОСЛЕД. РНК)	Антисмысловая последовательность РНК (5'-3')
3	120	137	AGCTGACCCTGCTCTTCC	405	GGAAGAGCAGGGUCAGCU
6	185	202	ACGGAGGGACGGCTGACA	408	UGUCAGCCGUCCCUGCGU
10	195	212	GGCTGACAAAGGCCAGGA	412	UCCUGGCCUUUGUCAGCC
11	197	214	CTGACAAAGGCCAGGAAC	413	GUUCCUGGCCUUUGUCAG
12	210	227	GGAACAGCCTGGGTCTCT	414	AGAGACCCAGGCUGUUCC
13	211	228	GAACAGCCTGGGTCTCTA	415	UAGAGACCCAGGCUUGUUC
16	218	235	CTGGGTCTCTATGGCCGC	418	GCGGCCAUAGAGACCCAG
18	220	237	GGGTCTCTATGGCCGCAC	420	GUGCGGCCAUAGAGACCC
23	273	290	GGGATGCAGCCCAAGAAC	425	GUUCCUGGGCUGCAUCCC
24	274	291	GGATGCAGCCCAGGAAC	426	AGUUCCUGGGCUGCAUCC
26	282	299	CCCAGGAACTTCGGGCAA	428	UUGCCCGAAGUUCUGGG
27	283	300	CCAGGAACTTCGGGCAAG	429	CUUGCCCGAAGUUCUGG
30	286	303	GGAACCTTCGGGCAAGCCT	432	AGGCUUGCCCGAAGUUC
31	287	304	GAACCTTCGGGCAAGCCTG	433	CAGGCUUGCCCGAAGUUC
32	290	307	CTTCGGGCAAGCCGTGTG	434	CAACAGGCUUGCCCGAAG
33	291	308	TTCGGGCAAGCCTGTTGG	435	CCAACAGGCUUGCCCGAA
34	293	310	CGGGCAAGCCTGTGAG	436	CUCCAACAGGCUUGCCCG
35	297	314	CAAGCCTGTTGGAGACTC	437	GAGUCUCCAACAGGCUUG
36	299	316	AGCCTGTTGGAGACTCAG	438	CUGAGUCUCCAACAGGCU
37	300	317	GCCTGTTGGAGAC	439	UCUGAGUCUCCAAC

			TCAGA		CAGGC
38	303	320	TGTTGGAGACTCA GATGG	440	CCAUCUGAGUCUC CAACA
39	304	321	GTTGGAGACTCAG ATGGA	441	UCCAUCUGAGUCU CCAAC
40	309	326	AGACTCAGATGGA GGAGG	442	CCUCCUCCAUCUG AGUCU
41	310	327	GACTCAGATGGAG GAGGA	443	UCCUCCUCCAUCU GAGUC
42	311	328	ACTCAGATGGAGG AGGAT	444	AUCCUCCUCCAUC UGAGU
43	312	329	CTCAGATGGAGGA GGATA	445	UAUCCUCCUCCA CUGAG
44	313	330	TCAGATGGAGGAG GATAT	446	AUAUCCUCCUCCA UCUGA
46	315	332	AGATGGAGGAGG ATATTC	448	GAAUAUCCUCCUC CAUCU
47	316	333	GATGGAGGAGGAT ATTCT	449	AGAAUAUCCUCCU CCAUC
49	319	336	GGAGGAGGATATT CTGCA	451	UGCAGAAUAUCCU CCUCC
50	321	338	AGGAGGATATTCT GCAGC	452	GCUGCAGAAUAUC CUCCU
52	379	396	CCAGGCACAGAAG GTGCT	454	AGCACCUUCUGUG CCUGG
55	413	430	CGGCTAGAAGTCC AGCTG	457	CAGCUGGACUUCU AGCCG
56	414	431	GGCTAGAAGTCCA GCTGA	458	UCAGCUGGACUUC UAGCC
57	415	432	GCTAGAAGTCCAG CTGAG	459	CUCAGCUGGACUU CUAGC
61	459	476	GAGAATTTGAGGT CTTAA	463	UUAAGACCUCAAA UUCUC
62	460	477	AGAATTTGAGGTC TTAAA	464	UUUAAGACCUCAA AUUCU
63	462	479	AATTTGAGGTCTT AAAGG	465	CCUUUAAGACCUC AAAUU
64	463	480	ATTTGAGGTCTTA AAGGC	466	GCCUUUAAGACCU CAAU
65	464	481	TTTGAGGTCTTAA AGGCT	467	AGCCUUUAAGACC UCAAA
66	465	482	TTGAGGTCTTAAA GGCTC	468	GAGCCUUUAAGAC CUCAA
67	466	483	TGAGGTCTTAAAG GCTCA	469	UGAGCCUUUAAG ACCUCA
69	469	486	GGTCTTAAAGGCT	471	GCGUGAGCCUUUA

			CACGC		AGACC
70	471	488	TCTTAAAGGCTCA CGCTG	472	CAGCGUGAGCCUU UAAGA
71	472	489	CTTAAAGGCTCAC GCTGA	473	UCAGCGUGAGCCU UUAAG
72	473	490	TTAAAGGCTCACG CTGAC	474	GUCAGCGUGAGCC UUUAA
73	474	491	TAAAGGCTCACGC TGACA	475	UGUCAGCGUGAGC CUUUA
74	475	492	AAAGGCTCACGCT GACAA	476	UUGUCAGCGUGA GCCUUU
77	479	496	GCTCACGCTGACA AGCAG	479	CUGCUUGUCAGCG UGAGC
88	530	547	CAGCGGCAGAGGC GGGAG	490	CUCCCGCCUCUGC CGCUG
89	534	551	GGCAGAGGCGGG AGATGG	491	CCAUCUCCCGCCU CUGCC
90	540	557	GGCGGGAGATGGT GGCAC	492	GUGCCACCAUCUC CCGCC
91	543	560	GGGAGATGGTGGC ACAGC	493	GCUGUGCCACCAU CUCCC
93	553	570	GGCACAGCAGCAT CGGCT	495	AGCCGAUGCUGCU GUGCC
97	559	576	GCAGCATCGGCTG CGACA	499	UGUCGCAGCCGAU GCUGC
98	560	577	CAGCATCGGCTGC GACAG	500	CUGUCGCAGCCGA UGCUG
99	561	578	AGCATCGGCTGCG ACAGA	501	UCUGUCGCAGCCG AUGCU
100	562	579	GCATCGGCTGCGA CAGAT	502	AUCUGUCGCAGCC GAUGC
101	563	580	CATCGGCTGCGAC AGATC	503	GAUCUGUCGCAGC CGAUG
102	564	581	ATCGGCTGCGACA GATCC	504	GGAUCUGUCGCAG CCGAU
103	565	582	TCGGCTGCGACAG ATCCA	505	UGGAUCUGUCGCA GCCGA
104	567	584	GGCTGCGACAGAT CCAGG	506	CCUGGAUCUGUCG CAGCC
105	569	586	CTGCGACAGATCC AGGAG	507	CUCCUGGAUCUGU CGCAG
106	570	587	TGCGACAGATCCA GGAGA	508	UCUCCUGGAUCUG UCGCA
107	571	588	GCGACAGATCCAG GAGAG	509	CUCUCCUGGAUCU GUCGC

ПРИМЕР 2

МиРНК ANGPTL8, конъюгированную с контрольным доставочным фрагментом (cntrl-GalNAc), содержащим 3 группы GalNAc, сравнивали с такой же миРНК, конъюгированной с доставочным фрагментом формулы I, сравнивали с

5 миРНК, не содержащей 5'-фосфата на антисмысловой нити, и анализировали, как описано в данном примере 2. Смысловые и антисмысловые нити трех миРНК показаны ниже в таблице 3; каждая из трех миРНК имеет одну из следующих пар из смысловой и антисмысловой нитей соответственно: SEQ ID NO: 381 и 397; или 382 и 398; или 366 и 372. Модификации отмечены непосредственно перед

10 соответствующим модифицированным нуклеотидом. Р означает фосфорилирование, m — метилирование группы OH с образованием 2'-метокси-модификации на рибозе; f — 2'-фтор-модификация рибозы, * — фосфоротиоатная модификация фосфодиэфирной связи каркаса).

Таблица 3.

SEQ ID NO	Смысловая или антисмысловая	Смысловая или антисмысловая с модификациями (от	Доставочный фрагмент
381	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG	Контроль GalNAc
397	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU	
382	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG	Формула I
398	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU	
366	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG	Формула I
372	Антисмысловая	mC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU	

Для сравнения вышеуказанных миРНК, провели три анализа для оценки уровней ANGPTL3/8, уровней триглицеридов и нокдауна экспрессии ANGPTL8, измеренного по уровням мРНК (%KD).

Конъюгированные миРНК проверяли на самцах мышей трансгенных по
 человеческому белку-переносчику сложных эфиров холестерина (CETP) и
 апополипротеину A1 (Taconic farms). Мышам делали ретроорбитальную инъекцию
 двух аденоассоциированных вирусных (AAV) векторов. Первый вектор содержал
 5 плазмиду с промотором альбумина и кодирующей последовательностью ANGPTL3
 человека (NM_018687.7) SEQ ID NO:1. Второй вектор содержал оптимизированную
 по кодонам мыши последовательность человеческого ANGPTL3 (NP_055310.1)
 SEQ ID NO:2. Животных взвешивали и брали у них кровь в сроки от 3 до 5 недель
 после введения AAV. Это считали забором крови до исследования. Из крови
 10 получали сыворотку, измеряли триглицериды с использованием клинического
 биохимического анализатора COBAS (Roche) и измеряли уровни белка ANGPTL3/8
 с помощью ELISA (Meso Scale Diagnostics). Мышей распределяли по группам со
 сходной массой тела, уровнями триглицеридов в сыворотке и уровнями
 ANGPTL3/8 ($n = 6$). Кровь собирали в день 0 исследования, и этот сбор считали
 15 исходным уровнем. Мышам в 0 день исследования подкожно вводили PBS или
 тестируемые миРНК в дозах 3 и 10 мг/кг. У мышей брали кровь через 1 и 2 недели
 после введения миРНК под изофлурановой анестезией. Из крови получали
 сыворотку и измеряли триглицериды с использованием клинического
 биохимического анализатора COBAS (Roche). Уровни ANGPTL3/8 в сыворотке
 20 измеряли с помощью ELISA (Meso Scale Diagnostics). Триглицериды как процент
 изменения относительно исходного уровня на 1 неделе рассчитывали следующим
 образом: $((\text{триглицериды через одну неделю} - \text{триглицериды на исходном уровне}) / (\text{триглицериды на исходном уровень})) * 100$. Триглицериды как процент
 изменения относительно исходного уровня через 2 недели рассчитывали
 25 аналогичным образом. ANGPTL3/8 как процент изменения относительно исходного
 уровня на 1 неделе рассчитывали следующим образом: $((\text{ANGPTL3/8 через одну} - \text{ANGPTL3/8 на исходном уровне}) / (\text{ANGPTL3/8 на исходном уровень})) * 100$. ANGPTL3/8 как процент изменения относительно исходного уровня через 2
 недели рассчитывали аналогичным образом. Данные о триглицеридах и
 30 ANGPTL3/8 в сыворотке анализировали на статистически значимое отличие от
 группы PBS в соответствующей временной точке с использованием ANOVA и
 метода Даннета, где $p < 0,05$ считали статистически значимым (SAS Institute).

Для измерения нокдауна *in vitro* мышей умерщвляли под изофлурановой анестезией через две недели после подкожной инъекции. У мышей собирали печень и замораживали в жидком азоте. Печень гомогенизировали в TriZol (Invitrogen) с использованием пробирок с гранулами Lysing Matrix D на устройстве FastPrep-24 (MP Bio) и РНК очищали и ресуспендировали в не содержащей нуклеаз воде. РНК количественно определяли на устройстве NanoDrop (ThermoFisher). Равные количества РНК подвергали обратной транскрипции в кДНК с использованием набора для обратной транскрипции High-Capacity cDNA Reverse Transcription kit (Life Technologies) на термоциклере ProFlex (Thermo Fisher). Параметры термоциклера были следующими: 25 °C в течение 10 минут, 37 °C в течение 2 часов, затем 85 °C в течение 5 мин. Шаблон кДНК объединяли с универсальным мастер-миксом Taqman Universal Master Mix и специализированными наборами праймеров/зондов Assays on Demand и ОТ-ПЦР выполняли на системе QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR (Applied Biosystems) со следующими параметрами: 50 °C в течение 2 мин, 95 °C в течение 10 мин, затем 40 циклов 95 °C в течение 15 с и 60 °C в течение 1 мин. Кратность изменения (FC) рассчитывали следующим образом: значение порогового цикла (CT) мышиногo Rplp0 вычитали из значения CT человеческого ANGPTL8 для получения дельта-CT. Значение дельта-CT рассчитывали путем вычитания среднего значения дельта-CT для необработанного образца (PBS-контроль) для каждого гена из значения дельта-CT каждого исследуемого образца. Кратность изменения рассчитывали путем взятия логарифма по основанию 2 для отрицательного значения дельта-CT. Процент нокдауна (%KD) рассчитывали путем вычитания значения FC из единицы и умножения на 100. Данные представлены в таблице 4. Две миРНК, содержащие доставочный фрагмент формулы I, работали лучше, чем контрольный доставочный фрагмент, и демонстрировали более низкие уровни ANGPTL8, более низкие уровни триглицеридов и более высокий процент нокдауна мРНК ANGPTL8.

Таблица 4

Смысл о-вая SEQ ID NO	Антисмысл о-вая SEQ ID NO	Доза (мг/кг)	1 неделя ANGPTL3/8	2 неделя ANGPTL3 /8	1 неделя ТРИГЛ .	2 недел я ТРИГ	% KD мРНК ANGP TL8
--------------------------------	---------------------------------	-----------------	-----------------------	---------------------------	---------------------------	-------------------------	-----------------------------

						Л.	
381	397	3	-57*	-71*	-44*	-49*	84*
		10	-87*	-93*	-73*	-77*	97*
382	398	3	-70*	-82*	-56*	-61*	97*
		10	-93*	-96*	-74*	-77*	96*
366	372	3	-81*	-87*	-65*	-61*	96*
		10	-89*	-94*	-71*	-73*	98*

*обозначает $p < 0,05$ по ANOVA с критерием Даннета

ПРИМЕР 3

Были созданы примеры миРНК, которые комплементарны вышеуказанным 18-мерным областям транскрипта ANGPTL8 NM_(SEQ ID NO:1) (таблица 1), и они показаны в перечне последовательностей ниже в соответствии с базовой нуклеотидной последовательностью, где каждый ряд представляет миРНК, имеющую данные смысловую и антисмысловую нить. Как показано, базовые смысловая и антисмысловая нити РНК-олигонуклеотидов имеют длину от 18 до 23 нуклеотидов и с необязательными выступами от 1 до 5 рибонуклеотидов. Показанная базовая нуклеотидная последовательность модифицирована добавлением 1–10 атомов фтора в 2'-положении рибозы, а остальные остатки метилированы в 2'-положении рибозы (с получением 2'-метокси-модификации). Некоторые антисмысловые нити фосфорилированы в положении 5'. Каждая миРНК конъюгирована с доставочным фрагментом, содержащим 3 группы GalNAc; выбранные доставочные фрагменты содержат формулу I, тогда как другие содержат контрольный фрагмент. Присутствуют одна или более фосфодиэфирных связей на 5'- и 3'-концах. Контрольная группа GalNAc присоединена к 3'-концу смысловой нити. Подгруппы таких миРНК протестировали в анализе нокдауна *in vivo*.

Для анализа нокдауна *in vivo* выбранные миРНК тестировали на самцах мышей C57bl/6 (Taconic farms). Мышам ретроорбитально вводили инъекцию аденоассоциированного вирусного (AAV) вектора, содержащего плазмиду с промотором альбумина и кодирующей последовательностью ANGPTL8 человека (SEQ ID NO:1 (NCBI Reference Sequence NM_018687.7) (Vector BioLabs). Мышей взвешивали через две недели после введения AAV. Мышей распределяли по группам со сходной массой тела ($n = 5$). Мышам подкожно вводили либо PBS, либо

исследуемую миРНК в дозе 10 мг/кг. Через семь дней после подкожной инъекции мышей умерщвляли под изофлурановой анестезией. У мышей собирали печень и замораживали в жидком азоте. РНК выделяли и очищали из собранной печени и использовали для синтеза кДНК и количественно определяли с помощью ОТ-ПЦР.

- 5 Кратность изменения (FC) рассчитывали следующим образом: значение порогового цикла (CT) мышиногo Rplp0 вычитали из значения CT человеческого ANGPTL8 для получения дельта-CT. Относительное количество рассчитывали путем взятия логарифма по основанию 2 для отрицательного значения дельта-CT. Кратность изменения рассчитывали путем деления относительного количества для
- 10 каждого образца на среднее значение для контрольной группы. Процент нокдауна (%KD) рассчитывали путем вычитания значения FC из единицы и умножения на 100. Данные представлены в таблице 5.

15 **Таблица 5**

миРНК (номер ряда из таблицы 11)	Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая SEQ ID NO	%KD
1A	124	231	64,9
3C	126	233	63,6
5E	128	235	80,6
7G	130	237	59,2
10J	133	240	71,1
40NN	151	270	72,7
43QQ	154	273	55,7
44RR	155	274	51,1
49WW	160	279	67,6
52ZZ	163	282	75,5
62D3	167	286	73,7
64F3	169	288	72,5
91P#	177	292	50,2
98V3	183	298	75,2
116f4	193	308	53,2
118h4	195	310	71,8

150H5	200	336	57,1
161S5	217	347	81,4
162TS	218	348	69,2
165W5	221	351	72,2

- Те же процедуры, описанные выше для дозы 10 мг/кг, проводили для дозы 3 мг/кг для измерения нокдауна *in vivo* следующих миРНК, указанных в таблице 6. (каждая миРНК имеет смысловую и антисмысловую нити указанные по вертикали, где первая протестированная миРНК содержит первые два ряда таблицы, SEQ ID NO 373 и 389, следующая миРНК содержит 3-й и 4-ый ряды таблицы, SEQ ID NO 374 и 390, и т. д. Контрольная группа GalNAc присоединена к 3'-концу смысловой нити каждой миРНК.) Сокращения для модификаций такие же, как показано выше в примере 3. Результаты для выбранных РНК представлены ниже в таблице 7.

10

Таблица 6

SEQ ID NO	Смысловая или антисмысловая	Смысловая или антисмысловая с модификациями (от 5' к 3')
373	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUmGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
389	Антисмысловая	PmA*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
374	Смысловая	mG*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmU*mC*mA
390	Антисмысловая	PmU*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmC*mG*mU
375	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
391	Антисмысловая	PmA*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
376	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmU*mC*mC
392	Антисмысловая	PmG*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
377	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
393	Антисмысловая	PmA*fG*mAmAmUmAmUmCmCmUmCmCmUfCmCmAmUmC

	ая	mUmGmA*mG*mU
378	Смысловая	mC*mA*mGmAmUmGfGmAfGfGfAmGmGmAmUmAmUmUmC*mU*mA
394	Антисмысловая	PmU*fA*mGmAmAfUmAmUmCmCmUmCmCfUmCfCmAmUmCmUmG*mA*mG
379	Смысловая	mA*mU*mGmGmAmGfGmAfGfGfAmUmAmUmUmCmUmGmC*mA*mA
395	Антисмысловая	PmU*fU*mGmCmAfGmAmAmUmAmUmCmCfUmCfCmUmCmCmAmU*mC*mU
380	Смысловая	mC*mC*mGmAmGmAfAmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmA*mA*mA
396	Антисмысловая	PmU*fU*mUmAmAfGmAmCmCmUmCmAmAfAmUfUmCmUmCmGmG*mU*mA
381	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG
397	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
382	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG
398	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
383	Смысловая	mG*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mA
399	Антисмысловая	PmU*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmC*mG*mU
384	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mA
400	Антисмысловая	PmU*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
385	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
401	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
386	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAmUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
402	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
387	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
403	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAmAmGmAmCmCmUmCmAfAmAmUmUmCmUmCmG*mG*mU
388	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAmUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
404	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAmAmGmAmCmCmUmCmAfAmAmUmUmCmUmCmG*mG*mU

Таблица 7

Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая SEQ ID NO	% KD мРНК ANGPTL8
381	397	49,8
380	396	69,2
376	392	44,3
388	404	38,9
374	390	44,7
387	403	37,9
377	393	39,1
383	399	44,9
384	400	57,8
385	401	53,8
379	395	65,1
373	389	51,8
375	391	52,7
386	402	58,9
378	394	56,8

ПРИМЕР 5

- 5 GalNAc-миРНК тестировали на самцах мышей, трансгенных по
 человеческому белку-переносчику сложных эфиров холестерина (СЕТР) и
 аполипопротеину A1 (Taconic farms). миРНК разделяли и тестировали в 3
 исследованиях (n = 2, n = 2 и n = 2). Мышам делали ретроорбитальную инъекцию
 двух аденоассоциированных вирусных (AAV) векторов. Один вектор содержал
 10 плазмиду с промотором альбумина и кодирующей последовательностью
 человеческого ANGPTL8 SEQ ID NO:1. Второй вектор содержал
 оптимизированную по кодонам мыши последовательность человеческого
 ANGPTL3 (SEQ ID NO:2)(NP_055310.1). Образец крови исходного уровня
 собирали у мышей в срок от 4 до 6,5 недели после введения AAV. Из крови

получали сыворотку, измеряли триглицериды с использованием клинического биохимического анализатора COBAS (Roche) и измеряли уровни ANGPTL3/8 с помощью ELISA (Meso Scale Diagnostics). Мышей распределяли по группам с аналогичными уровнями триглицеридов и ANGPTL3/8 в сыворотке. Созданные

5 миРНК показаны в таблице 8. Каждая миРНК конъюгирована с доставочным фрагментом формулы I. Мышам подкожно вводили либо PBS, либо миРНК в дозах 0,3, 1, 3 и 10 мг/кг. У мышей брали кровь через 3, 6 и 9 недель после введения миРНК под изофлурановой анестезией. Из крови получали сыворотку и измеряли триглицериды с использованием клинического биохимического анализатора

10 COBAS (Roche).

Триглицериды как процент изменения относительно исходного уровня на 3 неделе рассчитывали следующим образом: $((\text{триглицериды через три недели} - \text{триглицериды на исходном уровне}) / (\text{триглицериды на исходном уровню})) * 100$.

Триглицериды как процент изменения относительно исходного уровня через 6 и 9

15 недель рассчитывали аналогичным образом. Данные о триглицеридах анализировали на статистически значимое отличие от группы PBS в соответствующей временной точке с использованием ANOVA и метода Даннета, где $p < 0,05$ считали статистически значимым (SAS Institute). Данные показаны в таблице 9.

20 Соответствующий процентный нокдаун in vitro при концентрации 1000 нМ для каждой из молекул показан в таблице 10.

Таблица 8

Смысловая SEQ ID NO	Последовательность смысловой нити с модификациями (от 5' к 3')	Антисмысловая SEQ ID NO	Последовательность антисмысловой нити с модификациями (от 5' к 3')
361	mA*mU*mGmGmAmGfGmAfGfGfAmUmAmUmUmCmUmGmC*mA*mA	367	[Phos]mU*fU*mGmCmAfGmAmAmUmAmUmCmCfUmCfCmUmCmCmAUm*mC*mU
362	mC*mC*mGmAmGmAfAmUfUfUfGmAmGmGmUmCmUmUmA*mA*mA	368	[Phos]mU*fU*mUmAmAfmAmCmCmUmCmAfAmUfUmCmUmCmGmG*mU*mA
363	mA*mU*mGmGmAmGfGmAf	369	mU*fU*mGmCmAfGmAmAmUm

	GfGfAmUmAmUmUmCmUm GmC*mA*mA		AmUmCmCfUmCfCmUmCmCmA mU*mC*mU
364	mG*mG*mUmCmUmUfAmAf AfGfGmCmUmCmAmCmGmC mU*mG*mA	370	mU*fC*mAmGmCfGmUmGmAm GmCmCmUfUmUfAmAmGmAm CmC*mU*mC
365	mA*mU*mGmGmAmGfGmAf GfGfAmUmAmUmUmCmUm GmC*mA*mG	371	mC*fU*mGmCmAfGmAmAmUm AmUmCmCfUmCfCmUmCmCmA mU*mC*mU
366	mC*mG*mAmGmAmAfUmUf UfGfAmGmGmUmCmUmUm AmA*mA*mG	372	mC*fU*mUmUmAfAmGmAmCm CmUmCmAfAmAfUmUmCmUmC mG*mG*mU

Таблица 9

миРНК	SEQ ID NO для смысловой	SEQ ID NO для антисмысловой	Доза (мг/кг)	3 недели, %изм.	6 недель, %изм.	9 недель, %изм.	12 недель, %изм.	15 недель, %изм.
i	361	367	0,3	5	-4	10	-9	-13
			1	-29*	-21*	-20*	-38*	-32
			3	-62*	-56*	-45*	-50*	-50*
			10	-86*	-85*	-78*	-75*	-74*
ii	362	368	0,3	-24*	-10	-14	-33*	-19
			1	-44*	-31*	-13	-27*	-25
			3	-53*	-48*	-28*	-38*	-30
			10	-65*	-64*	-54*	-51*	-35
iii	365	371	0,3	-27	-27	-24	-41	-35
			1	-48*	-39	-38	-45	-41
			3	-81*	-72*	-72*	-73*	-64*
			10	-87*	-84*	-80*	-83*	-79*
iv	366	372	0,3	-24	-33	-27	-42	-42
			1	-57*	-51*	-46*	-56*	-48
			3	-65*	-61*	-48*	-52*	-43
			10	-76*	-73*	-60*	-61*	-55
v	363	369	0,3	-4	-8	-4	-2	-17
			1	-51*	-37*	-27*	-8	-31
			3	-73*	-66*	-55*	-60*	-50*
			10	-88*	-86*	-86*	-81*	-79*
vi	364	370	0,3	21	9	4	-5	-19
			1	-23*	-18	-16	-11	-30
			3	-42*	-34*	-23	-18	-25
			10	-72*	-63*	-54*	-42*	-50*

Таблица 10

миРНК	Смысловая	Антисмысловая	% KD при
-------	-----------	---------------	----------

	SEQ ID NO	SEQ ID NO	1000 нМ
i	361	367	92,1
ii	362	368	93,7
iii	363	369	92,4
iv	364	370	77,4
v	365	371	81,0
vi	366	372	93,4

Таблица 11

Ряд	Смысловая последовательность	Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность	Антисмысловая SEQ ID NO
1A	GGAGCUGACCCUGC UCUCCA	124	UGGAAGAGCAGGGUC AGCUCCUC	231
2B	CCACGGAGGGACGG CUGACAA	125	UUGUCAGCCGUCCCUC CGUGGUC	232
3C	ACGGCUGACAAAGG CCAGGAA	126	UUCCUGGCCUUUGUCA GCCGUCC	233
4D	GGCUGACAAAGGCC AGGAACA	127	UGUCCUGGCCUUUGU CAGCCGU	234
5E	CAGGAACAGCCUGG GUCUCUA	128	UAGAGACCCAGGCUGU UCCUGGC	235
6F	CAGGAACAGCCUGG GUCUCUC	129	GAGAGACCCAGGCUGU UCCUGGC	236
7G	AGGAACAGCCUGGG UCUCUAU	130	AUAGAGACCCAGGCUG UCCUGG	237
8H	AGGAACAGCCUGGG UCUCUAA	131	UUAGAGACCCAGGCUG UCCUGG	238
9I	GCCUGGGUCUCUAU GGCCGCA	132	UGC GGCCA UAGAGACC CAGGCUG	239
10J	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGGC	240
11K	CUUGGUCUCUAUGG CCGCACA	134	UGUGCGGCCAUAGAG ACCAAGGC	241
12L	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGUG	242
13M	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGCC	243
14N	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGUU	244
15O	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGAG	245
16P	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGAU	246

17Q	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGGU	247
18R	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGAA	248
19S	CUAGGUCUCUAUGG CCGCACA	135	UGUGCGGCCAUAGAG ACCUAGGC	249
20T	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGCG	250
21U	CAAGGUCUCUAUGG CCGCACA	136	UGUGCGGCCAUAGAG ACCUUGGC	251
22V	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGCA	252
23 W	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGAC	253
24X	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGCU	254
25Y	CCCGGUCUCUAUGG CCGCACA	137	UGUGCGGCCAUAGAG ACCGGGGC	255
26Z	CUGGGUCUCUAUGG CCGCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCAGUA	256
27A A	CAUGGUCUCUAUGG CCGCACA	138	UGUGCGGCCAUAGAG ACCAUGGC	257
28B B	CAGGGUCUCUAUGG CCGCACA	139	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCUGGC	258
29C C	CGAGGUCUCUAUGG CCGCACA	140	UGUGCGGCCAUAGAG ACCUCGGC	259
30D D	CGGGGUCUCUAUGG CCGCACA	141	UGUGCGGCCAUAGAG ACCCCGGC	260
31E E	CCAGGUCUCUAUGG CCGCACA	142	UGUGCGGCCAUAGAG ACCUGGGC	261
32F F	CCGGGAUGCAGCCC AGGAACU	143	AGUUCCUGGGCUGCAU CCCGGCC	262
33G G	CGGGAUGCAGCCCA GGAACUU	144	AAGUUCCUGGGCUGCA UCCCGGC	263
34H H	AGCCAGGAACUUC GGGCAAA	145	UUUGCCC GAAGUCCU GGGCUGC	264
35I I	GCCCAGGAACUUCG GGCAAGA	146	UCUUGCCC GAAGUCC UGGGCUG	265
36J J	CAGGAACUUCGGGC AAGCCUA	147	UAGGCUUGCCC GAAGU UCCUGGG	266
37K K	AGGAACUUCGGGCA AGCCUGA	148	UCAGGCUUGCCC GAAG UCCUGG	267
38L L	AACUUCGGGCAAGC CUGUUGA	149	UCAACAGGCUUGCCCG AAGUCC	268
39M M	ACUUCGGGCAAGCC UGUUGGA	150	UCCAACAGGCUUGCCC GAAGUUC	269

40N N	UUCGGGCAAGCCUG UUGGAGA	151	UCUCCAACAGGCUUGC CCGAAGU	270
41O O	GGCAAGCCUGUUGG AGACUCA	152	UGAGUCUCCAACAGGC UUGCCCG	271
42P P	CAAGCCUGUUGGAG ACUCAGA	153	UCUGAGUCUCCAACAG GCUUGCC	272
43Q Q	AAGCCUGUUGGAGA CUCAGAU	154	AUCUGAGUCUCCAACA GGCUUGC	273
44R R	CCUGUUGGAGACUC AGAUGGA	155	UCCAUCUGAGUCUCCA ACAGGCU	274
45S S	CUGUUGGAGACUCA GAUGGAA	156	UCCAUCUGAGUCUCC AACAGGC	275
46T T	GGAGACUCAGAUGG AGGAGGA	157	UCCUCCUCCAUCUGAG UCUCCAA	276
47U U	GAGACUCAGAUGGA GGAGGAU	158	AUCCUCCUCCAUCUGA GUCUCCA	277
48V V	AGACUCAGAUGGAG GAGGAUA	159	UAUCCUCCUCCAUCUG AGUCUCC	278
49 WW	GACUCAGAUGGAGG AGGAUUAU	160	AUAUCCUCCUCCAUCU GAGUCUC	279
50X X	ACUCAGAUGGAGGA GGAUUAU	161	AAUAUCCUCCUCCAUC UGAGUCU	280
51Y Y	ACUCAGAUGGAGGA GGAUAUA	162	UAUAUCCUCCUCCAUC UGAGUCU	281
52Z Z	UCAGAUGGAGGAGG AUAUUCU	163	AGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	282
54A 3	GCAGAUGGAGGAGG AUAUUCA	164	UGAAUAUCCUCCUCCA UCUGCGU	283
56B 3	UCAGAUGGAGGAGG AUAUUCA	165	UGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	284
57C 3	UCAGAUGGAGGAGG AUAUUCC	166	GGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	285
62D 3	CAGAUGGAGGAGGA UAUUCUG	167	CAGAAUAUCCUCCUCC AUCUGAG	286
63E 3	CAGAUGGAGGAGGA UAUUCUA	168	UAGAAUAUCCUCCUCC AUCUGAG	287
64F 3	AUGGAGGAGGAUAU UCUGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
65G 3	AUGGAGGAGGAUAU UCUGCAA	170	UUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	289
69H 3	AUGGAGGAGGCUAU UCUGCAG	171	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
74I3	AUGGAGGAGGUUAU UCUGCAG	172	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
80J3	AUGGAGGAGGAUAU UCUGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCUTTT	290

81K 3	AUGGAGGAGGGUAU UCUGCAG	173	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
82L 3	AUGGAGGAGGAUAU UCUGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCUTT	291
86M 3	AGAUGGAGGAGGAU AUUCUGCAG	174	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
89N 3	CAGAUGGAGGAGGA UAUUCUGCAG	175	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
90O 3	CCAGAUGGAGGAGG AUAUUCUGCAG	176	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
91P 3	GGAGGAGGAUAUUC UGCAGCU	177	AGCUGCAGAAUAUCCU CCUCCA	292
92Q 3	GCCCAGGCACAGAA GGUGCUA	178	UAGCACCUUCUGUGCC UGGGCCA	293
93R 3	AGCGGCUAGAAGUC CAGCUGA	179	UCAGCUGGACUUCUAG CCGCUGC	294
94S 3	GCGGCUAGAAGUCC AGCUGAA	180	UUCAGCUGGACUUCUA GCCGCUG	295
95T 3	CGGCUAGAAGUCCA GCUGAGA	181	UCUCAGCUGGACUUCU AGCCGCU	296
96U 3	CCGAGAAUUUGAGG UCUUA	182	UUUAAGACCUCAAU UCUCGGUA	297
98V 3	CGAGAAUUUGAGGU CUUAAAG	183	CUUUAAGACCUCAAU UCUCGGU	298
99 W3	GGAGAAUUUGAGGU CUUAA	184	UUUUAAGACCUCAA UUCUCCGU	299
100 X3	CGAGAAUUUGAGGU CUUAA	185	UUUUAAGACCUCAA UUCUCGGU	300
109 Y3	AGAAUUUGAGGUCU UAAAGGA	186	UCCUUUAAGACCUCAA AUUCUCG	301
110 Z3	GAAUUUGAGGUCUU AAAGGCA	187	UGCCUUUAAGACCUCAA AAUUCUC	302
111 a4	AAUUUGAGGUCUUA AAGGCUA	188	UAGCCUUUAAGACCUC AAAUUCU	303
112 b4	AUUUGAGGUCUUA AGGCUCA	189	UGAGCCUUUAAGACCU CAAUUC	304
113 c4	AUCUGAGGUCUUA AGGCUCA	190	UGAGCCUUUAAGACCU CAGAUUC	305
114 d4	ACCUGAGGUCUUA AGGCUCA	191	UGAGCCUUUAAGACCU CAGGUUC	306
115 e4	UUUGAGGUCUUA GGCUCAA	192	UUGAGCCUUUAAGACC UCAAAU	307
116f 4	GAGGUCUUAAGGC UCACGCU	193	AGCGUGAGCCUUUA GACCUCAA	308
117 g4	GAGGUCUUAAGGC UCACGCA	194	UGCGUGAGCCUUUA GACCUCAA	309

118 h4	GGUCUAAAAGGCUC ACGCUGA	195	UCAGCGUGAGCCUUA AGACCUC	310
124i 4	UGUCUAAAAGGCUC ACGCUGC	196	GCAGCGUGAGCCUUA AGACAUC	311
126j 4	GUCUAAAAGGCUCA CGCUGAA	197	UUCAGCGUGAGCCUU AAGACCU	312
127 k4	UCUAAAAGGCUCAC GCUGACA	198	UGUCAGCGUGAGCCU UAAGACC	313
128l 4	CCGAAAGGCUCACG CUGACAA	199	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCGGAC	314
129 m4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAA	315
130 n4	CACAAAGGCUCACG CUGACAA	201	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGUGAC	316
131 o4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGU	317
132 p4	CCUAAAGGCUCACG CUGACAA	202	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAGGAC	318
133 q4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCA	319
134r 4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAG	320
135s 4	CUGAAAGGCUCACG CUGACAA	203	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCAGAC	321
136t 4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGG	322
137 u4	CUCAAAGGCUCACG CUGACAA	204	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGAGAC	323
138 v4	CCAAAAGGCUCACG CUGACAA	205	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUGGAC	324
139 w4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUA	325
140 x4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGC	326
141 y4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCU	327
142 z4	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGA	328
143 A5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUG	329
144 B5	CAAAAAGGCUCACG CUGACAA	206	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUUGAC	330
145 C5	CGCAAAGGCUCACG CUGACAA	207	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGCGAC	331
146 D5	CGAAAAGGCUCACG CUGACAA	208	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUCGAC	332

147 E5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCG	333
148 F5	CAGAAAGGCUCACG CUGACAA	209	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCUGAC	334
149 G5	CCCAAAGGCUCACG CUGACAA	210	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGGGAC	335
150 H5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAC	336
151I 5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCC	337
152J 5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAU	338
153 K5	CGUAAAGGCUCACG CUGACAA	211	UUGUCAGCGUGAGCCU UUACGAC	339
154 L5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUC	340
155 M5	CUUAAAGGCUCACG CUGACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUU	341
156 N5	CGGAAAGGCUCACG CUGACAA	212	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCCGAC	342
157 O5	UUAAGGCUCACGC UGACAAA	213	UUUGUCAGCGUGAGCC UUUAAGA	343
158 P5	AGGCUCACGCUGAC AAGCAGA	214	UCUGCUUGUCAGCGUG AGCCUUU	344
159 Q5	UGCAGCGGCAGAGG CGGGAGA	215	UCUCCCGCCUCUGCCG CUGCACG	345
160 R5	GCGGCAGAGGCGGG AGAUGGU	216	ACCAUCUCCCGCCUCU GCCGCUG	346
161 S5	GAGGCGGGAGAUGG UGGCACA	217	UGUGCCACCAUCUCCC GCCUCUG	347
162 T5	GCGGGAGAUGGUGG CACAGCA	218	UGCUGUGCCACCAUCU CCCGCCU	348
163 U5	GUGGCACAGCAGCA UCGGCUA	219	UAGCCGAUGCUGCUGU GCCACCA	349
164 V5	CAGCAGCAUCGGCU GCGACAA	220	UUGUCGCAGCCGAUGC UGCUGUG	350
165 W5	AGCAGCAUCGGCUG CGACAGA	221	UCUGUCGCAGCCGAUG CUGCUGU	351
166 X5	GCAGCAUCGGCUGC GACAGAA	222	UUCUGUCGCAGCCGAU GCUGCUG	352
167 Y5	CAGCAUCGGCUGCG ACAGAU	223	UAUCUGUCGCAGCCGA UGCUGCU	353
168 Z5	AGCAUCGGCUGCGA CAGAUCA	224	UGAUCUGUCGCAGCCG AUGCUGC	354
169 a6	GCAUCGGCUGCGAC AGAUGCA	225	UGGAUCUGUCGCAGCC GAUGCUG	355

170 b6	CAUCGGCUGCGACA GAUCCAA	226	UUGGAUCUGUCGCAGC CGAUGCU	356
171 c6	UCGGCUGCGACAGA UCCAGGA	227	UCCUGGAUCUGUCGCA GCCGAUG	357
172 d6	GGCUGCGACAGAUCC CAGGAGA	228	UCUCCUGGAUCUGUCG CAGCCGA	358
173 e6	GCUGCGACAGAUCC AGGAGAA	229	UUCUCCUGGAUCUGUC GCAGCCG	359
174 e7	CUGCGACAGAUCCA GGAGAGA	230	UCUCUCCUGGAUCUGU CGCAGCC	360

ПРИМЕР 6

- 5 Для количественного определения в образцах тканей уровней конъюгированных с формулой 1 нитей миРНК из таблицы 13, образцы тканей гомогенизировали в буфере для лизиса клеток Clarity OTX (Phenomenex) до конечной концентрации ткани 100 мг/мл. (Для смысловых нитей количественно определяли метаболит ОН вследствие быстрого дефосфорилирования *in vivo*).
- 10 Образцы плазмы разбавляли буфером Clarity OTX 1:10 (об./об.). Образцы подвергали экстракции на твердой фазе с использованием слабой ионообменной смолы (Waters, Oasis μ Elution SPE plate). Образцы элюировали и подвергали жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией высокого разрешения (ЖХ-МС/МС), как описано в публикации ASSAY and Drug Development Technologies, 15 10(3), стр. 278-288 (2012).

Уровень воздействия в плазме у мышей или яванских макаков измеряли после подкожного введения через 6 часов и через 24 часа у обезьян. Уровень воздействия в печени определяли у мышей через 6, 24, 72, 168, 336 и 1343 часа. Результаты подвергали некомпартментному анализу с использованием программного пакета 20 Phoenix NCA. Значения $C_{\text{макс}}$, $t_{1/2}$ и AUC определяли в плазме у обоих биологических видов, значения $C_{\text{макс}}$, $t_{1/2}$ и AUC в печени определяли у мышей, и значения $t_{1/2}$ и AUC определяли у обезьян.

В таблице 13 показан уровень воздействия в печени для 6 конъюгированных миРНК у яванских макаков. Печень собирали и подвергали описанному выше 25 способу определения с использованием ЖХ/МС через около 2 и 12 недель после

лечения подкожным введением 3 мг/кг перечисленных миРНК к ANGPTL8, конъюгированных (на 3'-конце нуклеотида смысловой нити) с содержащим GalNac фрагментом формулы I посредством линкера 2 (имеющего формулу III).

В таблицах 12a и 12b показаны два примера экспериментов по процентному нокдауну мРНК ANGPTL8, определяемому с помощью ОТ-ПЦР в гомогенате печени, взятом у яванских макаков до (1 обезьяна) и после введения дозы (несколько обезьян, как указано ниже, каждая доза 3 мг/кг) конъюгированных миРНК к ANGPTL8, где GalNac-содержащий фрагмент формулы I конъюгирован с 3'-концевым нуклеотидом смысловой нити посредством линкера 2 (имеющего формулу III).

Таблица 12a

Яванский макак

Эффективность и стойкость

Конъюгат миРНК	Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая SEQ ID NO	15 дней ANGPTL8 мРНК (%KD $\pm$ std.ош. относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг	57 дней ANGPTL8 мРНК (%KD относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг	85 дней ANGPTL8 мРНК (%KD относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг
iii#	363	369	34	40	5
iv#	364	370	21	19	45
v*	365	371	89	79	57
vi*	366	372	69	63	12.

n = 4

* n = 5

Таблица 12b

Яванский макак

Эффективность и стойкость

Конъюгат миРНК	Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая SEQ ID NO	15 дней ANGPTL8 мРНК (%KD относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг	57 дней ANGPTL8 мРНК (%KD относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг	85 дней ANGPTL8 мРНК (%KD относительно взятого до введения биоптата) 3 мг/кг
i	361	367	88 $\pm$ 5***	74 $\pm$ 10**	63 $\pm$ 37*

ii	362	368	69 ± 31	54 ± 18	25 ± 30
----	-----	-----	---------	---------	---------

n = 6

*P ≤ 0,05, **P ≤ 0,01, ***P ≤ 0,005 по сравнению со взятым до введения биоптатом является статистически значимым по MMRM

5

Таблица 13

Яванский макак

ФК-параметры

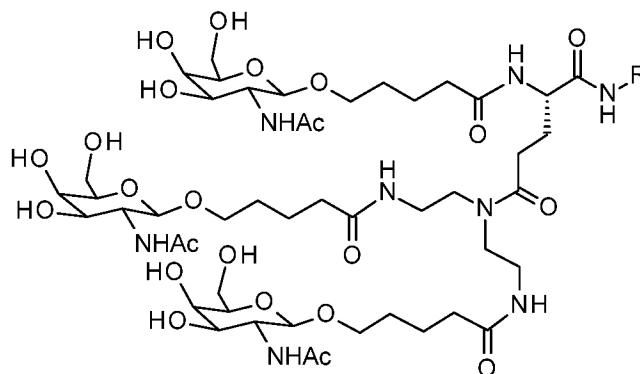
Конъюгат миРНК	Смысловая SEQ ID NO	Антисмысловая SEQ ID NO	2 недели, уровень воздействия в печени (мкг/г)	12 недель, уровень воздействия в печени (мкг/г)	Печень t _{1/2} (дни)
i	361	367	22,0	1,9	33
ii	362	368	4,6	< 0,1	< 9
iii	363	369	9,0	0,1	15
iv	364	370	5,9	0,3	29
v	365	371	11,0	0,8	25
vi	366	372	5,4	0,4	30

10

Следующие пронумерованные абзацы представляют дополнительные варианты осуществления РНКи-агентов и молекул РНКи, описанных в настоящем документе.

15

1. Молекула РНК-интерференции (РНКи) или РНКи-агент, содержащий формулу I:



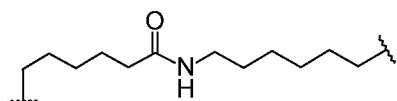
Формула I

и один или более олигонуклеотидов, содержащих от 15 до 40 нуклеотидов, которые связываются с SEQ ID NO:1, и R конъюгирован с олигонуклеотидом, необязательно посредством линкера.

- 5 2. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 1, причем один или более олигонуклеотидов связываются с одной или более последовательностями, представленными в таблице 1 или таблице 2.
- 10 3. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 1, причем один или более олигонуклеотидов содержат последовательность, представленную в таблице 2.
- 15 4. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–3, причем один или более олигонуклеотидов содержат один или более модифицированных нуклеотидов.
- 20 5. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 4, причем один или более модифицированных нуклеотидов модифицированы в 2'-положении сахара, и/или в пиримидиновом или пуриновом кольце.
- 25 6. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 4 или 5, причем один или более модифицированных нуклеотидов представляет собой модифицированный нуклеотид, содержащий 2'-галогенированную сахарную группу, модифицированный нуклеотид, содержащий 2'-метилированную сахарную группу, модифицированный нуклеотид, содержащий 2'-метоксированную сахарную группу, модифицированный нуклеотид, содержащий метилированный пурин, или модифицированный нуклеотид, содержащий метилированное пиримидиновое кольцо, или любую их комбинацию.
- 30 7. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 4–6, причем один или более модифицированных нуклеотидов модифицированы в 2'-

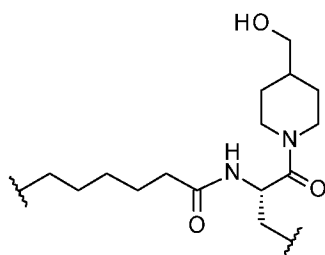
положении сахара, и модификация содержит одну или более 2'-фтор-групп и/или одну или более 2'-метокси-групп.

- 5 8. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 4–7, причем один или более модифицированных нуклеотидов модифицированы в 2'-положении сахара, а сахар представляет собой рибозу.
- 10 9. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–8, причем один или более олигонуклеотидов содержат одну или более модифицированных связей, и при этом одна или более модифицированных связей представляет собой фосфотиоатную связь.
- 15 10. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–9, причем один или более олигонуклеотидов содержат миРНК, и при этом миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить.
- 20 11. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 10, причем каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 15 до 40 нуклеотидов.
12. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–11, дополнительно содержащая линкер.
- 25 13. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 12, причем линкер содержит одно из следующего:



Формула II

или



Формула III

14. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из параграфов 1–13, причем
 5 один или более олигонуклеотидов содержат миРНК.

15. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 14, причем миРНК содержит
 смысловую нить и антисмысловую нить.

- 10 16. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 15, причем каждая из смысловой
 нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 15 до 40
 нуклеотидов.

- 15 17. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 14–16, причем
 каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину
 от 18 до 25 нуклеотидов.

- 20 18. Молекула РНКи или РНКи-агент по параграфу 17, причем смысловая нить и
 антисмысловая нить отжигаются и необязательно содержат один или более
 5'- или 3'-нуклеотидных выступов.

19. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 14–18, причем 5'-
 конец антисмысловой нити необязательно является фосфорилированным.

20. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–19, содержащая соединение формулы I и один или более олигонуклеотидов, которые связываются с любой из последовательностей от SEQ ID NO:3 до SEQ ID NO:123, показанных в таблице 1.
- 5
21. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–20, содержащая соединение формулы I и один или более олигонуклеотидов, которые связываются с любой из последовательностей, показанных в таблице 2.
- 10
22. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из предыдущих абзацев, причем один или более нуклеотидов модифицированы в 2'-положении рибозы.
23. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из предыдущих абзацев, причем рибоза по меньшей мере одного нуклеотида модифицирована 2'-фтор-группой или 2'-метокси-группой.
- 15
24. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из предыдущих абзацев, причем миРНК содержит одну или более модифицированных связей.
- 20
25. Молекула РНКи или РНКи-агент по абзацу 24, причем одна или более модифицированных связей представляет собой фосфоротиоатную связь.
26. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–25, причем миРНК содержит смысловую нить, содержащую последовательность по любой из SEQ ID NO:361, SEQ ID NO:362, SEQ ID NO:363, SEQ ID NO:364, SEQ ID NO:365 или SEQ ID NO:366.
- 25
27. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–25, причем миРНК содержит антисмысловую нить, содержащую последовательность по любой

из SEQ ID NO:367, SEQ ID NO:368, SEQ ID NO:369, SEQ ID NO:370, SEQ ID NO:371 или SEQ ID NO:372.

- 5 28. Молекула РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–27, причем миРНК содержит смысловую нить и антисмысловую нить, выбранные из пар последовательностей, указанных в a–f:
- a. SEQ ID NO: 361 и SEQ ID NO: 367;
 - b. SEQ ID NO:362 и SEQ ID NO:368;
 - 10 c. SEQ ID NO: 363 и SEQ ID NO: 369;
 - d. SEQ ID NO: 364 и SEQ ID NO: 370;
 - e. SEQ ID NO: 365 и SEQ ID NO: 371; или
 - f. SEQ ID NO: 366 и SEQ ID NO: 372.
- 15 29. Фармацевтическая композиция, содержащая молекулу РНКи или РНКи-агент по любому из абзацев 1–28, и по меньшей мере один фармацевтически приемлемый эксципиент.
- 20 30. Способ лечения дислипидемии, включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.
- 25 31. Способ лечения сердечно-сосудистого заболевания, включающий введение эффективного количества молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

32. Способ профилактики сердечно-сосудистого явления, включающий введение эффективного количества молекулы РНКи или РНКи по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.
- 5
33. Способ по абзацу 32, в котором сердечно-сосудистое явление представляет собой инфаркт миокарда.
34. Способ снижения частоты госпитализаций, связанных с сердечно-сосудистыми заболеваниями или явлениями, включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.
- 10
35. Способ лечения неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.
- 15
36. Способ по абзацу 35, в котором NAFLD представляет собой неалкогольный стеатогепатит (NASH).
- 20
37. Способ снижения уровней триглицеридов, включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.
- 25
38. Способ снижения ингибирования липопротеинлипазы (LPL), включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

39. Способ повышения катаболизма богатых триглицеридами липопротеинов, включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

5

40. Способ лечения заболевания печени у пациента, который может получить пользу от снижения уровней экспрессии ANGPTL8, включающий введение молекулы РНКи или РНКи-агента по любому из абзацев 1–28 или ее фармацевтической композиции нуждающемуся в этом пациенту.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

SEQ ID NO: 1

Номо sapiens, ангиопозтин-подобный белок 8 (ANGPTL8)

5 Эталонная последовательность NCBI: NM_018687.7

ATACCTTAGA CCCTCAGTCA TGCCAGTGCC TGCTCTGTGC CTGCTCTGGG
 CCCTGGCAAT GGTGACCCGG CCTGCCTCAG CGGCCCCCAT GGGCGGCCCA
 GAACTGGCAC AGCATGAGGA GCTGACCCTG CTCTTCCATG GGACCCTGCA
 GCTGGGCCAG GCCCTCAACG GTGTGTACAG GACCACGGAG GGACGGCTGA
 10 CAAAGGCCAG GAACAGCCTG GGTCTCTATG GCCGCACAAT AGAACTCCTG
 GGGCAGGAGG TCAGCCGGGG CCGGGATGCA GCCCAGGAAC TTCGGGCAAG
 CCTGTTGGAG ACTCAGATGG AGGAGGATAT TCTGCAGCTG CAGGCAGAGG
 CCACAGCTGA GGTGCTGGGG GAGGTGGCCC AGGCACAGAA GGTGCTACGG
 GACAGCGTGC AGCGGCTAGA AGTCCAGCTG AGGAGCGCCT GGCTGGGCCC
 15 TGCCTACCGA GAATTTGAGG TCTTAAAGGC TCACGCTGAC AAGCAGAGCC
 ACATCCTATG GGCCCTCACA GGCCACGTGC AGCGGCAGAG GCGGGAGATG
 GTGGCACAGC AGCATCGGCT GCGACAGATC CAGGAGAGAC TCCACACAGC
 GGCGCTCCCA GCCTGAATCT GCCTGGATGG AACTGAGGAC CAATCATGCT
 GCAAGGAACA CTTCACGCC CCGTGAGGCC CCTGTGCAGG GAGGAGCTGC
 20 CTGTTCACTG GGATCAGCCA GGGCGCCGGG CCCCATTCT GAGCACAGAG
 CAGAGACAGA CGCAGGCGGG GACAAAGGCA GAGGATGTAG CCCCATTGGG
 GAGGGGTGGA GGAAGGACAT GTACCCTTTC ATGCCTACAC ACCCCTCATT
 AAAGCAGAGT CGTGGCATCT CA

25 SEQ ID NO: 2

Последовательность ANGPTL3, используемая для экспрессии у мышей

ATGTTCACCATCAAGCTGCTGCTGTTTCATCGTGCCCTCGTGATCAGCAGCAG
 AATCGACCAGGACAACAGCAGCTTCGACAGCCTGAGCCCCGAGCCCAAGAGC
 AGATTCGCCATGCTGGACGACGTGAAGATCCTGGCCAACGGCCTGCTGCAGC
 30 TGGGCCACGGCCTGAAGGATTTCTGTCACAAGACCAAGGGCCAGATCAACGA
 CATCTTCCAGAAGCTGAACATCTTCGACCAGAGCTTCTACGACCTGAGCCTGC
 AGACCAGCGAGATCAAAGAGGAAGAGAAAGAGCTGCGGAGGACCACCTACA
 AGCTGCAAGTGAAGAACGAGGAAGTGAAAAACATGAGCCTGGAAGTGAACA
 GCAAGCTGGAAGCCTGCTGGAAGAAAAGATTCTGCTGCAGCAGAAAGTGA
 35 AGTACCTGGAAGAACAGCTGACCAACCTGATCCAGAACCAGCCCGAGACACC
 CGAGCACCCCGAAGTGACCAGCCTGAAAACCTTCGTGGAAAAGCAGGACAAC
 TCCATCAAGGACCTGCTGCAGACCGTGGAAGATCAGTACAAGCAGCTGAACC
 AGCAGCACTCCCAGATCAAAGAAATCGAGAACCAGCTGAGGCGGACCAGCA
 TCCAGGAACCCACCGAGATCAGCCTGTCCAGCAAGCCCAGAGCCCCCAGAAC
 40 AACCCCATTCCTGCAGCTGAATGAGATCCGGAACGTGAAGCACGACGGCATC
 CCTGCCGAGTGCAACCATCTACAACAGAGGCGAGCACACCAGCGGGATGT
 ACGCCATCAGACCCAGCAACAGCCAGGTGTTCCACGTGTACTGCGACGTGAT
 CAGCGGCAGCCCCTGGACACTGATCCAGCACAGAATCGATGGCAGCCAGAAC
 TTCAACGAGACATGGGAGAACTATAAGTACGGCTTCGGCAGACTGGACGGCG
 45 AGTTTTGGCTGGGCCTGGAAAAGATCTACAGCATCGTGAAGCAGAGCAACTA
 CGTGCTGAGAATCGAGCTGGAAGATTGGAAGGACAACAAGCACTACATCGAG
 TACAGCTTCTACCTGGGCAACCACGAGACAACTACACCCTGCACCTGGTGG

5 CCATCACCGGCAACGTGCCAAACGCCATCCCCGAGAACAAGGATCTGGTGT
 CAGCACCTGGGACCACAAGGCTAAGGGCCACTTCAACTGCCCCGAGGGCTAC
 TCTGGCGGCTGGTGGTGGCATGATGAGTGCGGCGAGAACAACCTGAACGGCA
 AGTACAACAAGCCCAGGGCCAAGAGCAAGCCTGAGAGAAGAAGAGGCCTGT
 CCTGGAAGTCCCAGAACGGCAGGCTGTACTCTATCAAGAGCACCAAGATGCT
 GATCCACCCACCGACAGCGAGAGCTTCGAGTGATAA

Таблица 1. Целевые и антисмысловые последовательности
 сконструированных миРНК

SEQ ID NO (ПОСЛ ЕД. ДНК)	Началь ное положе ние на ДНК	Конечн ое положе ние на ДНК	18-мерная последовательность ДНК-мишени (5'-3')	SEQ ID NO (ПОСЛ ЕД. РНК)	18-мерная последовательность антисмысловой РНК (5'-3')
3	120	137	AGCTGACCCTGCT CTTCC	405	GGAAGAGCAGGGU CAGCU
4	141	158	GGACCCTGCAGCT GGGCC	406	GGCCCAGCUGCAG GGUCC
5	150	167	AGCTGGGCCAGGC CCTCA	407	UGAGGGCCUGGCC CAGCU
6	185	202	ACGGAGGGACGGC TGACA	408	UGUCAGCCGUCCC UCCGU
7	186	203	CGGAGGGACGGCT GACAA	409	UUGUCAGCCGUCC CUCCG
8	191	208	GGACGGCTGACAA AGGCC	410	GGCCUUUGUCAGC CGUCC
9	194	211	CGGCTGACAAAGG CCAGG	411	CCUGGCCUUUGUC AGCCG
10	195	212	GGCTGACAAAGGC CAGGA	412	UCCUGGCCUUUGU CAGCC
11	197	214	CTGACAAAGGCCA GGAAC	413	GUUCCUGGCCUUU GUCAG
12	210	227	GGAACAGCCTGGG TCTCT	414	AGAGACCCAGGCU GUUCC
13	211	228	GAACAGCCTGGGT CTCTA	415	UAGAGACCCAGGC UGUUC
14	215	232	AGCCTGGGTCTCT ATGGC	416	GCCAUAGAGACCC AGGCU
15	217	234	CCTGGGTCTCTAT GGCCG	417	CGGCCAUAGAGAC CCAGG
16	218	235	CTGGGTCTCTATG GCCGC	418	GCGGCCAUAGAGA CCAG
17	219	236	TGGGTCTCTATGG CCGCA	419	UGCGGCCAUAGAG ACCCA
18	220	237	GGGTCTCTATGGC CGCAC	420	GUGCGGCCAUAGA GACCC

19	259	276	GGTCAGCCGGGGC CGGGA	421	UCCCGGCCCGGC UGACC
20	267	284	GGGGCCGGGATGC AGCCC	422	GGGUGCAUCCCG GCCCC
21	270	287	GCCGGGATGCAGC CCAGG	423	CCUGGGCUGCAUC CCGGC
22	271	288	CCGGGATGCAGCC CAGGA	424	UCCUGGGCUGCAU CCCGG
23	273	290	GGGATGCAGCCCA GGAAC	425	GUUCCUGGGCUGC AUCCC
24	274	291	GGATGCAGCCCAG GAACT	426	AGUUCCUGGGCUG CAUCC
25	281	298	GCCCAGGAACTTC GGGCA	427	UGCCCGAAGUUC UGGGC
26	282	299	CCCAGGAACTTCG GGCAA	428	UUGCCCGAAGUUC CUGGG
27	283	300	CCAGGAACTTCGG GCAAG	429	CUUGCCCGAAGUU CCUGG
28	284	301	CAGGAACTTCGGG CAAGC	430	GCUUGCCCGAAGU UCCUG
29	285	302	AGGAACTTCGGGC AAGCC	431	GGCUUGCCCGAAG UUCCU
30	286	303	GGAAGCTTCGGGCA AGCCT	432	AGGCUUGCCCGAA GUUCC
31	287	304	GAAGCTTCGGGCAA GCCTG	433	CAGGCUUGCCCGA AGUUC
32	290	307	CTTCGGGCAAGCC TGTTG	434	CAACAGGCUUGCC CGAAG
33	291	308	TTCGGGCAAGCCT GTTGG	435	CCAACAGGCUUGC CCGAA
34	293	310	CGGGCAAGCCTGT TGGAG	436	CUCCAACAGGCUU GCCCC
35	297	314	CAAGCCTGTTGGA GACTC	437	GAGUCUCCAACAG GCUUG
36	299	316	AGCCTGTTGGAGA CTCAG	438	CUGAGUCUCCAAC AGGCU
37	300	317	GCCTGTTGGAGAC TCAGA	439	UCUGAGUCUCCAA CAGGC
38	303	320	TGTTGGAGACTCA GATGG	440	CCAUCUGAGUCUC CAACA
39	304	321	GTTGGAGACTCAG ATGGA	441	UCCAUCUGAGUCU CCAAC
40	309	326	AGACTCAGATGGA GGAGG	442	CCUCCUCCAUCUG AGUCU
41	310	327	GACTCAGATGGAG GAGGA	443	UCCUCCUCCAUCU GAGUC

42	311	328	ACTCAGATGGAGG AGGAT	444	AUCCUCCUCCAUC UGAGU
43	312	329	CTCAGATGGAGGA GGATA	445	UAUCCUCCUCCA CUGAG
44	313	330	TCAGATGGAGGAG GATAT	446	AUAUCCUCCUCCA UCUGA
45	314	331	CAGATGGAGGAGG ATATT	447	AAUAUCCUCCUCC AUCUG
46	315	332	AGATGGAGGAGGA TATTC	448	GAAUAUCCUCCUC CAUCU
47	316	333	GATGGAGGAGGAT ATTCT	449	AGAAUAUCCUCCU CCAUC
48	317	334	ATGGAGGAGGATA TTCTG	450	CAGAAUAUCCUCC UCCAUC
49	319	336	GGAGGAGGATATT CTGCA	451	UGCAGAAUAUCCU CCUCC
50	321	338	AGGAGGATATTCT GCAGC	452	GCUGCAGAAUAUC CUCCU
51	372	389	AGGTGGCCCAGGC ACAGA	453	UCUGUGCCUGGGC CACCU
52	379	396	CCAGGCACAGAAG GTGCT	454	AGCACCUUCUGUG CCUGG
53	411	428	AGCGGCTAGAAGT CCAGC	455	GCUGGACUUCUAG CCGCU
54	412	429	GCGGCTAGAAGTC CAGCT	456	AGCUGGACUUCUA GCCGC
55	413	430	CGGCTAGAAGTCC AGCTG	457	CAGCUGGACUUCU AGCCG
56	414	431	GGCTAGAAGTCCA GCTGA	458	UCAGCUGGACUUC UAGCC
57	415	432	GCTAGAAGTCCAG CTGAG	459	CUCAGCUGGACUU CUAGC
58	420	437	AAGTCCAGCTGAG GAGCG	460	CGCUCCUCAGCUG GACUU
59	421	438	AGTCCAGCTGAGG AGCGC	461	GCGCUCCUCAGCU GGACU
60	438	455	CCTGGCTGGGCCC TGCCT	462	AGGCAGGGCCCAG CCAGG
61	459	476	GAGAATTTGAGGT CTTAA	463	UUAAGACCUCAAA UUCUC
62	460	477	AGAATTTGAGGTC TTAAA	464	UUUAAGACCUCAA AUUCU
63	462	479	AATTTGAGGTCTT AAAGG	465	CCUUUAAGACCUC AAAUU
64	463	480	ATTTGAGGTCTTA AAGGC	466	GCCUUUAAGACCU CAAUU

65	464	481	TTTGAGGTCTTAA AGGCT	467	AGCCUUUAAGACC UCAAA
66	465	482	TTGAGGTCTTAAA GGCTC	468	GAGCCUUUAAGAC CUCAA
67	466	483	TGAGGTCTTAAAG GCTCA	469	UGAGCCUUUAAGA CCUCA
68	467	484	GAGGTCTTAAAGG CTCAC	470	GUGAGCCUUUAAG ACCUC
69	469	486	GGTCTTAAAGGCT CACGC	471	GCGUGAGCCUUUA AGACC
70	471	488	TCTTAAAGGCTCA CGCTG	472	CAGCGUGAGCCUU UAAGA
71	472	489	CTTAAAGGCTCAC GCTGA	473	UCAGCGUGAGCCU UUAAG
72	473	490	TTAAAGGCTCACG CTGAC	474	GUCAGCGUGAGCC UUUAA
73	474	491	TAAAGGCTCACGC TGACA	475	UGUCAGCGUGAGC CUUUA
74	475	492	AAAGGCTCACGCT GACAA	476	UUGUCAGCGUGAG CCUUU
75	476	493	AAGGCTCACGCTG ACAAG	477	CUUGUCAGCGUGA GCCUU
76	477	494	AGGCTCACGCTGA CAAGC	478	GCUUGUCAGCGUG AGCCU
77	479	496	GCTCACGCTGACA AGCAG	479	CUGCUUGUCAGCG UGAGC
78	480	497	CTCACGCTGACAA GCAGA	480	UCUGCUUGUCAGC GUGAG
79	481	498	TCACGCTGACAAG CAGAG	481	CUCUGCUUGUCAG CGUGA
80	482	499	CACGCTGACAAGC AGAGC	482	GCUCUGCUUGUCA GCGUG
81	483	500	ACGCTGACAAGCA GAGCC	483	GGCUCUGCUUGUC AGCGU
82	485	502	GCTGACAAGCAGA GCCAC	484	GUGGCUCUGCUUG UCAGC
83	513	530	CCCTCACAGGCCA CGTGC	485	GCACGUGGCCUGU GAGGG
84	514	531	CCTCACAGGCCAC GTGCA	486	UGCACGUGGCCUG UGAGG
85	520	537	AGGCCACGTGCAG CGGCA	487	UGCCGCUGCACGU GGCCU
86	521	538	GGCCACGTGCAGC GGCAG	488	CUGCCGCUGCACG UGGCC
87	524	541	CACGTGCAGCGGC AGAGG	489	CCUCUGCCGCUGC ACGUG

88	530	547	CAGCGGCAGAGGC GGGAG	490	CUCCCGCCUCUGC CGCUG
89	534	551	GGCAGAGGCGGGA GATGG	491	CCAUCUCCCGCCU CUGCC
90	540	557	GGCGGGAGATGGT GGCAC	492	GUGCCACCAUCUC CCGCC
91	543	560	GGGAGATGGTGGC ACAGC	493	GCUGUGCCACCAU CUCCC
92	546	563	AGATGGTGGCACA GCAGC	494	GCUGCUGUGCCAC CAUCU
93	553	570	GGCACAGCAGCAT CGGCT	495	AGCCGAUGCUGCU GUGCC
94	555	572	CACAGCAGCATCG GCTGC	496	GCAGCCGAUGCUG CUGUG
95	557	574	CAGCAGCATCGGC TGCGA	497	UCGCAGCCGAUGC UGCUG
96	558	575	AGCAGCATCGGCT GCGAC	498	GUCGCAGCCGAUG CUGCU
97	559	576	GCAGCATCGGCTG CGACA	499	UGUCGCAGCCGAU GCUGC
98	560	577	CAGCATCGGCTGC GACAG	500	CUGUCGCAGCCGA UGCUG
99	561	578	AGCATCGGCTGCG ACAGA	501	UCUGUCGCAGCCG AUGCU
100	562	579	GCATCGGCTGCGA CAGAT	502	AUCUGUCGCAGCC GAUGC
101	563	580	CATCGGCTGCGAC AGATC	503	GAUCUGUCGCAGC CGAUG
102	564	581	ATCGGCTGCGACA GATCC	504	GGAUCUGUCGCAG CCGAU
103	565	582	TCGGCTGCGACAG ATCCA	505	UGGAUCUGUCGCA GCCGA
104	567	584	GGCTGCGACAGAT CCAGG	506	CCUGGAUCUGUCG CAGCC
105	569	586	CTGCGACAGATCC AGGAG	507	CUCCUGGAUCUGU CGCAG
106	570	587	TGCGACAGATCCA GGAGA	508	UCUCCUGGAUCUG UCGCA
107	571	588	GCGACAGATCCAG GAGAG	509	CUCUCCUGGAUCU GUCGC
108	607	624	CCCAGCCTGAATC TGCCT	510	AGGCAGAUUCAGG CUGGG
109	610	627	AGCCTGAATCTGC CTGGA	511	UCCAGGCAGAUUC AGGCU
110	611	628	GCCTGAATCTGCC TGGAT	512	AUCCAGGCAGAUU CAGGC

111	619	636	CTGCCTGGATGGA ACTGA	513	UCAGUUCCAUCCA GGCAG
112	644	661	TCATGCTGCAAGG AACAC	514	GUGUCCUUGCAG CAUGA
113	652	669	CAAGGAACACTTC CACGC	515	GCGUGGAAGUGUU CCUUG
114	655	672	GGAACACTTCCAC GCCCC	516	GGGGCGUGGAAGU GUUCC
115	698	715	TGCCTGTTCACTG GGATC	517	GAUCCCAGUGAAC AGGCA
116	699	716	GCCTGTTCACTGG GATCA	518	UGAUCCCAGUGAA CAGGC
117	701	718	CTGTTCACTGGGA TCAGC	519	GCUGAUCCCAGUG AACAG
118	702	719	TGTTCACTGGGAT CAGCC	520	GGCUGAUCCCAGU GAACA
119	709	726	TGGGATCAGCCAG GGCGC	521	GCGCCCUGGCUGA UCCCA
120	710	727	GGGATCAGCCAGG GCGCC	522	GGCGCCCUGGCUG AUCCC
121	847	864	CATTAAAGCAGAG TCGTG	523	CACGACUCUGCUU UAAUG
122	848	865	ATTAAAGCAGAGT CGTGG	524	CCACGACUCUGCU UUAU
123	850	867	TAAAGCAGAGTCG TGGCA	525	UGCCACGACUCUG CUUUA

Таблица 2.

SEQ ID NO (ПОСЛ ЕД. ДНК)	Началь ное положе ние на ДНК	Конечн ое положе ние на ДНК	18-мерная последовательность ДНК (5'-3')	SEQ ID NO (ПОСЛ ЕД. РНК)	Антисмысловая последовательность РНК (5'-3')
3	120	137	AGCTGACCCTGCT CTTCC	405	GGAAGAGCAGGGU CAGCU
6	185	202	ACGGAGGGACGGC TGACA	408	UGUCAGCCGUCCC UCCGU
10	195	212	GGCTGACAAAGGC CAGGA	412	UCCUGGCCUUUGU CAGCC
11	197	214	CTGACAAAGGCCA GGAAC	413	GUUCCUGGCCUUU GUCAG
12	210	227	GGAACAGCCTGGG TCTCT	414	AGAGACCCAGGCU GUUCC
13	211	228	GAACAGCCTGGGT CTCTA	415	UAGAGACCCAGGC UGUUC

16	218	235	CTGGGTCTCTATG GCCGC	418	GCGGCCAUAGAGA CCAG
18	220	237	GGGTCTCTATGGC CGCAC	420	GUGCGGCCAUAGA GACCC
23	273	290	GGGATGCAGCCCA GGAAC	425	GUUCCUGGGCUGC AUCCC
24	274	291	GGATGCAGCCCAG GAACT	426	AGUUCCUGGGCUG CAUCC
26	282	299	CCCAGGAACTTCG GGCAA	428	UUGCCCGAAGUUC CUGGG
27	283	300	CCAGGAACTTCGG GCAAG	429	CUUGCCCGAAGUU CCUGG
30	286	303	GGAAGTTCGGGCA AGCCT	432	AGGCUUGCCCGAA GUUCC
31	287	304	GAACTTCGGGCAA GCCTG	433	CAGGCUUGCCCGA AGUUC
32	290	307	CTTCGGGCAAGCC TGTG	434	CAACAGGCUUGCC CGAAG
33	291	308	TTCGGGCAAGCCT GTTGG	435	CCAACAGGCUUGC CCGAA
34	293	310	CGGGCAAGCCTGT TGGAG	436	CUCCAACAGGCUU GCCCC
35	297	314	CAAGCCTGTTGGA GACTC	437	GAGUCUCCAACAG GCUUG
36	299	316	AGCCTGTTGGAGA CTCAG	438	CUGAGUCUCCAAC AGGCU
37	300	317	GCCTGTTGGAGAC TCAGA	439	UCUGAGUCUCCAA CAGGC
38	303	320	TGTTGGAGACTCA GATGG	440	CCAUCUGAGUCUC CAACA
39	304	321	GTTGGAGACTCAG ATGGA	441	UCCAUCUGAGUCU CCAAC
40	309	326	AGACTCAGATGGA GGAGG	442	CCUCCUCCAUCUG AGUCU
41	310	327	GACTCAGATGGAG GAGGA	443	UCCUCCUCCAUCU GAGUC
42	311	328	ACTCAGATGGAGG AGGAT	444	AUCCUCCUCCAUC UGAGU
43	312	329	CTCAGATGGAGGA GGATA	445	UAUCCUCCUCCA CUGAG
44	313	330	TCAGATGGAGGAG GATAT	446	AUAUCCUCCUCCA UCUGA
46	315	332	AGATGGAGGAGGA TATTC	448	GAAUAUCCUCCUC CAUCU
47	316	333	GATGGAGGAGGAT ATTCT	449	AGAAUAUCCUCCU CCAUC

49	319	336	GGAGGAGGATATT CTGCA	451	UGCAGAAUAUCCU CCUCC
50	321	338	AGGAGGATATTCT GCAGC	452	GCUGCAGAAUAUC CUCCU
52	379	396	CCAGGCACAGAAG GTGCT	454	AGCACCUUCUGUG CCUGG
55	413	430	CGGCTAGAAGTCC AGCTG	457	CAGCUGGACUUCU AGCCG
56	414	431	GGCTAGAAGTCCA GCTGA	458	UCAGCUGGACUUC UAGCC
57	415	432	GCTAGAAGTCCAG CTGAG	459	CUCAGCUGGACUU CUAGC
61	459	476	GAGAATTTGAGGT CTTAA	463	UUAAGACCUCAAA UUCUC
62	460	477	AGAATTTGAGGTC TTAAA	464	UUUAAGACCUCAA AUUCU
63	462	479	AATTTGAGGTCTT AAAGG	465	CCUUUAAGACCUC AAAUU
64	463	480	ATTTGAGGTCTTA AAGGC	466	GCCUUUAAGACCU CAAU
65	464	481	TTTGAGGTCTTAA AGGCT	467	AGCCUUUAAGACC UCAA
66	465	482	TTGAGGTCTTAAA GGCTC	468	GAGCCUUUAAGAC CUCAA
67	466	483	TGAGGTCTTAAAG GCTCA	469	UGAGCCUUUAAGA CCUCA
69	469	486	GGTCTTAAAGGCT CACGC	471	GCGUGAGCCUUUA AGACC
70	471	488	TCTTAAAGGCTCA CGCTG	472	CAGCGUGAGCCUU UAAGA
71	472	489	CTTAAAGGCTCAC GCTGA	473	UCAGCGUGAGCCU UUAAG
72	473	490	TTAAAGGCTCACG CTGAC	474	GUCAGCGUGAGCC UUUAA
73	474	491	TAAAGGCTCACGC TGACA	475	UGUCAGCGUGAGC CUUUA
74	475	492	AAAGGCTCACGCT GACAA	476	UUGUCAGCGUGAG CCUUU
77	479	496	GCTCACGCTGACA AGCAG	479	CUGCUUGUCAGCG UGAGC
88	530	547	CAGCGGCAGAGGC GGGAG	490	CUCCCGCCUCUGC CGCUG
89	534	551	GGCAGAGGCGGGA GATGG	491	CCAUCUCCGCCU CUGCC
90	540	557	GGCGGGAGATGGT GGCAC	492	GUGCCACCAUCUC CCGCC

91	543	560	GGGAGATGGTGGC ACAGC	493	GCUGUGCCACCAU CUCCC
93	553	570	GGCACAGCAGCAT CGGCT	495	AGCCGAUGCUGCU GUGCC
97	559	576	GCAGCATCGGCTG CGACA	499	UGUCGCAGCCGAU GCUGC
98	560	577	CAGCATCGGCTGC GACAG	500	CUGUCGCAGCCGA UGCUG
99	561	578	AGCATCGGCTGCG ACAGA	501	UCUGUCGCAGCCG AUGCU
100	562	579	GCATCGGCTGCGA CAGAT	502	AUCUGUCGCAGCC GAUGC
101	563	580	CATCGGCTGCGAC AGATC	503	GAUCUGUCGCAGC CGAUG
102	564	581	ATCGGCTGCGACA GATCC	504	GGAUCUGUCGCAG CCGAU
103	565	582	TCGGCTGCGACAG ATCCA	505	UGGAUCUGUCGCA GCCGA
104	567	584	GGCTGCGACAGAT CCAGG	506	CCUGGAUCUGUCG CAGCC
105	569	586	CTGCGACAGATCC AGGAG	507	CUCCUGGAUCUGU CGCAG
106	570	587	TGCGACAGATCCA GGAGA	508	UCUCCUGGAUCUG UCGCA
107	571	588	GCGACAGATCCAG GAGAG	509	CUCUCCUGGAUCU GUCGC

Таблица 3.

SE Q ID NO	Смысловая или антисмысло вая	Смысловая или антисмысловая с модификациями (3')	Достав очный фрагмен
381	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmC mUmUmAmA*mA*mG	Контрол ьный GalNAc
397	Антисмыслов ая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAm AfUmUmCmUmCmG*mG*mU	
382	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmC mUmUmAmA*mA*mG	Формул а I
398	Антисмыслов ая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAm AfUmUmCmUmCmG*mG*mU	
366	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmC mUmUmAmA*mA*mG	Формул а I
372	Антисмыслов ая	mC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAf UmUmCmUmCmG*mG*mU	

Таблица 6

SE Q ID NO	Смысловая или антисмысло вая	Смысловая или антисмысловая с модификациями (от 5' к 3')
37 3	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUmGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
38 9	Антисмысл овая	PmA*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
37 4	Смысловая	mG*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmU*mC*mA
39 0	Антисмысл овая	PmU*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmC*mG*mU
37 5	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
39 1	Антисмысл овая	PmA*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
37 6	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmU*mC*mC
39 2	Антисмысл овая	PmG*fG*mAmAmUfAmUmCmCmUmCmCmUfCmCfAmUmCmUmGmA*mG*mU
37 7	Смысловая	mU*mC*mAmGmAmUfGmGfAfGfGmAmGmGmAmUmAmUmUmCmU
39 3	Антисмысл овая	PmA*fG*mAmAmUmAmUmCmCmUmCmCmUfCmCmAmUmCmUmGmA*mG*mU
37 8	Смысловая	mC*mA*mGmAmUmGfGmAfGfGfAmGmGmAmUmAmUmUmC*mU*mA
39 4	Антисмысл овая	PmU*fA*mGmAmAfUmAmUmCmCmUmCmCfUmCfCmAmUmCmUmG*mA*mG
37 9	Смысловая	mA*mU*mGmGmAmGfGmAfGfGfAmUmAmUmUmCmUmGmC*mA*mA
39 5	Антисмысл овая	PmU*fU*mGmCmAfGmAmAmUmAmUmCmCfUmCfCmUmCmCmAmU*mC*mU
38 0	Смысловая	mC*mC*mGmAmGmAfAmUfUfUfGmAmGmGmUmCmUmUmA*mA*mA
39 6	Антисмысл овая	PmU*fU*mUmAmAfGmAmCmCmUmCmAmAfAmUfUmCmUmCmGmG*mU*mA
38 1	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG
39 7	Антисмысл овая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
38 2	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mG
39	Антисмысл	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCm

8	овая	UmCmG*mG*mU
383	Смысловая	mG*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mA
399	Антисмысловая	PmU*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmC*mG*mU
384	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmA*mA*mA
400	Антисмысловая	PmU*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
385	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
401	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
386	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAmUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
402	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAfAmGmAmCmCmUmCmAfAmAfUmUmCmUmCmG*mG*mU
387	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAfUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
403	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAmAmGmAmCmCmUmCmAfAmAmUmUmCmUmCmG*mG*mU
388	Смысловая	mC*mG*mAmGmAmAmUmUfUfGfAmGmGmUmCmUmUmAmAmAmG
404	Антисмысловая	PmC*fU*mUmUmAmAmGmAmCmCmUmCmAfAmAmUmUmCmUmCmG*mG*mU

Таблица 8

Смысловая SEQ ID NO	Последовательность смысловой нити с модификациями (от 5' к 3')	Антисмысловая SEQ ID NO	Последовательность антисмысловой нити с модификациями (от 5' к 3')
361	mA*mU*mGmGmAmGfGmAfGfGfAmUmAmUmUmCmUmGmC*mA*mA	367	[Phos]mU*fU*mGmCmAfGmAmAmUmAmUmCmCfUmCfCmUmCmAmU*mC*mU
362	mC*mC*mGmAmGmAfAmUfUfUfGmAmGmGmUmCmUmUmA*mA*mA	368	[Phos]mU*fU*mUmAmAfGmAmCmCmUmCmAfAmUfUmCmUmCmGmG*mU*mA
363	mA*mU*mGmGmAmGfGmAfGfGfAmUmAmUmUmCmUmGmC*mA*mA	369	mU*fU*mGmCmAfGmAmAmUmAmUmCmCfUmCfCmUmCmCmA*mU*mC*mU
364	mG*mG*mUmCmUmUfAmAfAfGfGmCmUmCmAmCmGmCmU*mG*mA	370	mU*fC*mAmGmCfGmUmGmAmGmCmCmUfUmUfAmAmGmAmCmC*mU*mC

365	mA*mU*mGmGmAmGfGmAf GfGfAmUmAmUmUmCmUm GmC*mA*mG	371	mC*fU*mGmCmAfGmAmAmUm AmUmCmCfUmCfCmUmCmCmA mU*mC*mU
366	mC*mG*mAmGmAmAfUmUf UfGfAmGmGmUmCmUmUm AmA*mA*mG	372	mC*fU*mUmUmAfAmGmAmCm CmUmCmAfAmAfUmUmCmUmC mG*mG*mU

Таблица 11

Ряд	Смысловая последовательность	Смысл овая SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность	Антисмы словая SEQ ID NO
1A	GGAGCUGACCCUGCUC UUCCA	124	UGGAAGAGCAGGGUCA GCUCCUC	231
2B	CCACGGAGGGACGGCU GACAA	125	UUGUCAGCCGUCCCUC CGUGGUC	232
3C	ACGGCUGACAAAGGCC AGGAA	126	UUCCUGGCCUUUGUCA GCCGUCC	233
4D	GGCUGACAAAGGCCAG GAACA	127	UGUUCCUGGCCUUUGU CAGCCGU	234
5E	CAGGAACAGCCUGGGU CUCUA	128	UAGAGACCCAGGCUGU UCCUGGC	235
6F	CAGGAACAGCCUGGGU CUCUC	129	GAGAGACCCAGGCUGU UCCUGGC	236
7G	AGGAACAGCCUGGGUC UCUAU	130	AUAGAGACCCAGGCUG UCCUGG	237
8H	AGGAACAGCCUGGGUC UCUAA	131	UUAGAGACCCAGGCUG UCCUGG	238
9I	GCCUGGGUCUCUAUGG CCGCA	132	UGCGGCCAUAGAGACC CAGGCUG	239
10J	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGGC	240
11K	CUUGGUCUCUAUGGCC GCACA	134	UGUGCGGCCAUAGAGA CCAAGGC	241
12L	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGUG	242
13M	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGCC	243
14N	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGUU	244
15O	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGAG	245
16P	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGAU	246
17Q	CUGGGUCUCUAUGGCC	133	UGUGCGGCCAUAGAGA	247

	GCACA		CCCAGGU	
18R	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGAA	248
19S	CUAGGUCUCUAUGGCC GCACA	135	UGUGCGGCCAUAGAGA CCUAGGC	249
20T	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGCG	250
21U	CAAGGUCUCUAUGGCC GCACA	136	UGUGCGGCCAUAGAGA CCUUGGC	251
22V	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGCA	252
23 W	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGAC	253
24X	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGCU	254
25Y	CCCGGUCUCUAUGGCC GCACA	137	UGUGCGGCCAUAGAGA CCGGGGC	255
26Z	CUGGGUCUCUAUGGCC GCACA	133	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCAGUA	256
27A A	CAUGGUCUCUAUGGCC GCACA	138	UGUGCGGCCAUAGAGA CCAUGGC	257
28B B	CAGGGUCUCUAUGGCC GCACA	139	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCUGGC	258
29C C	CGAGGUCUCUAUGGCC GCACA	140	UGUGCGGCCAUAGAGA CCUCGGC	259
30D D	CGGGGUCUCUAUGGCC GCACA	141	UGUGCGGCCAUAGAGA CCCCGGC	260
31E E	CCAGGUCUCUAUGGCC GCACA	142	UGUGCGGCCAUAGAGA CCUGGGC	261
32F F	CCGGGAUGCAGCCCAG GAACU	143	AGUUCCUGGGCUGCAU CCCGGCC	262
33G G	CGGGAUGCAGCCCAGG AACUU	144	AAGUUCCUGGGCUGCA UCCCGGC	263
34H H	AGCCAGGAACUUCGG GCAAA	145	UUUGCCCGAAGUUCU GGGCUGC	264
35I	GCCCAGGAACUUCGGG CAAGA	146	UCUUGCCCGAAGUUC UGGGCUG	265
36J	CAGGAACUUCGGGCAA GCCUA	147	UAGGCUUGCCCGAAGU UCCUGGG	266
37K K	AGGAACUUCGGGCAAG CCUGA	148	UCAGGCUUGCCCGAAG UUCUGG	267
38L L	AACUUCGGGCAAGCCU GUUGA	149	UCAACAGGCUUGCCCG AAGUUC	268
39M M	ACUUCGGGCAAGCCUG UUGGA	150	UCCAACAGGCUUGCCC GAAGUUC	269
40N	UUCGGGCAAGCCUGUU	151	UCUCCAACAGGCUUGC	270

N	GGAGA		CCGAAGU	
41O O	GGCAAGCCUGUUGGAG ACUCA	152	UGAGUCUCCAACAGGC UUGCCCG	271
42P P	CAAGCCUGUUGGAGAC UCAGA	153	UCUGAGUCUCCAACAG GCUUGCC	272
43Q Q	AAGCCUGUUGGAGACU CAGAU	154	AUCUGAGUCUCCAACA GGCUUGC	273
44R R	CCUGUUGGAGACUCAG AUGGA	155	UCCAUCUGAGUCUCCA ACAGGCU	274
45S S	CUGUUGGAGACUCAGA UGGAA	156	UCCAUCUGAGUCUCC AACAGGC	275
46T T	GGAGACUCAGAUGGAG GAGGA	157	UCCUCCUCCAUCUGAG UCUCCAA	276
47U U	GAGACUCAGAUGGAGG AGGAU	158	AUCCUCCUCCAUCUGA GUCUCCA	277
48V V	AGACUCAGAUGGAGGA GGAUA	159	UAUCCUCCUCCAUCUG AGUCUCC	278
49 WW	GACUCAGAUGGAGGAG GAUAU	160	AUAUCCUCCUCCAUCU GAGUCUC	279
50X X	ACUCAGAUGGAGGAGG AUAUU	161	AAUAUCCUCCUCCAUC UGAGUCU	280
51Y Y	ACUCAGAUGGAGGAGG AUAUA	162	UAUAUCCUCCUCCAUC UGAGUCU	281
52Z Z	UCAGAUGGAGGAGGAU AUUCU	163	AGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	282
54A 3	GCAGAUGGAGGAGGAU AUUCA	164	UGAAUAUCCUCCUCCA UCUGCGU	283
56B 3	UCAGAUGGAGGAGGAU AUUCA	165	UGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	284
57C 3	UCAGAUGGAGGAGGAU AUUCC	166	GGAAUAUCCUCCUCCA UCUGAGU	285
62D 3	CAGAUGGAGGAGGAUA UUCUG	167	CAGAAUAUCCUCCUCC AUCUGAG	286
63E 3	CAGAUGGAGGAGGAUA UUCUA	168	UAGAAUAUCCUCCUCC AUCUGAG	287
64F 3	AUGGAGGAGGAUAUUC UGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
65G 3	AUGGAGGAGGAUAUUC UGCAA	170	UUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	289
69H 3	AUGGAGGAGGCUAUUC UGCAG	171	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
74I3	AUGGAGGAGGUUAUUC UGCAG	172	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
80J3	AUGGAGGAGGAUAUUC UGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCUTTT	290
81K	AUGGAGGAGGGUAUUC	173	CUGCAGAAUAUCCUCC	288

3	UGCAG		UCCAUCU	
82L 3	AUGGAGGAGGAUAUUC UGCAG	169	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCUTT	291
86M 3	AGAUGGAGGAGGAUA UUCUGCAG	174	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
89N 3	CAGAUGGAGGAGGAUA UUCUGCAG	175	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
90O 3	CCAGAUGGAGGAGGAU AUUCUGCAG	176	CUGCAGAAUAUCCUCC UCCAUCU	288
91P 3	GGAGGAGGAUAUUCUG CAGCU	177	AGCUGCAGAAUAUCCU CCUCCA	292
92Q 3	GCCCAGGCACAGAAGG UGCUA	178	UAGCACCUCUGUGCC UGGGCCA	293
93R 3	AGCGGCUAGAAGUCCA GCUGA	179	UCAGCUGGACUUCUAG CCGCUGC	294
94S 3	GCGGCUAGAAGUCCAG CUGAA	180	UUCAGCUGGACUUCUA GCCGUG	295
95T 3	CGGCUAGAAGUCCAGC UGAGA	181	UCUCAGCUGGACUUCU AGCCGCU	296
96U 3	CCGAGAAUUUGAGGUC UAAAA	182	UUUAAGACCUCAAAU CUCGGUA	297
98V 3	CGAGAAUUUGAGGUCU UAAAG	183	CUUUAAGACCUCAAA UCUCGGU	298
99 W3	GGAGAAUUUGAGGUCU UAAAA	184	UUUUAAGACCUCAAA UCUCCGU	299
100 X3	CGAGAAUUUGAGGUCU UAAAA	185	UUUUAAGACCUCAAA UCUCGGU	300
109 Y3	AGAAUUUGAGGUCUUA AAGGA	186	UCCUUUAAGACCUCAA AUUCUCG	301
110 Z3	GAAUUUGAGGUCUUA AGGCA	187	UGCCUUUAAGACCUC AAUUCUC	302
111 a4	AAUUUGAGGUCUUA GGCUA	188	UAGCCUUUAAGACCUC AAAUUCU	303
112 b4	AUUUGAGGUCUUAAG GCUCA	189	UGAGCCUUUAAGACCU CAAAUUC	304
113 c4	AUCUGAGGUCUUAAG GCUCA	190	UGAGCCUUUAAGACCU CAGAUUC	305
114 d4	ACCUGAGGUCUUAAG GCUCA	191	UGAGCCUUUAAGACCU CAGGUUC	306
115 e4	UUUGAGGUCUUAAGG CUCAA	192	UUGAGCCUUUAAGACC UCAAUUC	307
116f 4	GAGGUCUUAAGGCUC ACGCU	193	AGCGUGAGCCUUUAAG ACCUCAA	308
117 g4	GAGGUCUUAAGGCUC ACGCA	194	UGCGUGAGCCUUUAAG ACCUCAA	309
118	GGUCUUAAGGCUCAC	195	UCAGCGUGAGCCUUUA	310

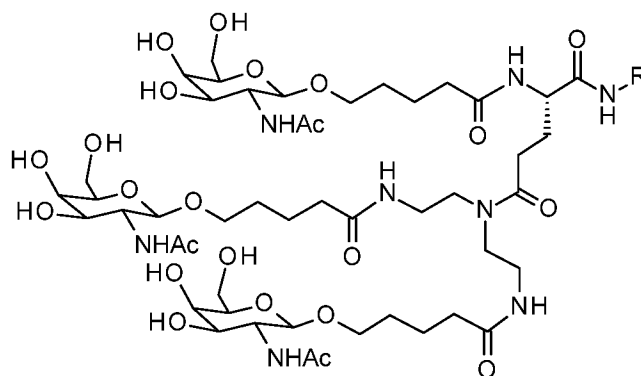
h4	GCUGA		AGACCUC	
124i 4	UGUCUUAAGGCUCAC GCUGC	196	GCAGCGUGAGCCUUA AGACAUC	311
126j 4	GUCUUAAGGCUCACG CUGAA	197	UUCAGCGUGAGCCUU AAGACCU	312
127 k4	UCUUAAGGCUCACGC UGACA	198	UGUCAGCGUGAGCCU UAAGACC	313
128l 4	CCGAAAGGCUCACGCU GACAA	199	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCGGAC	314
129 m4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAA	315
130 n4	CACAAAGGCUCACGCU GACAA	201	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGUGAC	316
131 o4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGU	317
132 p4	CCUAAAGGCUCACGCU GACAA	202	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAGGAC	318
133 q4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCA	319
134r 4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAG	320
135s 4	CUGAAAGGCUCACGCU GACAA	203	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCAGAC	321
136t 4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGG	322
137 u4	CUCAAAGGCUCACGCU GACAA	204	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGAGAC	323
138 v4	CCAAAAGGCUCACGCU GACAA	205	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUGGAC	324
139 w4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUA	325
140 x4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGC	326
141 y4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCU	327
142 z4	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGGA	328
143 A5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUG	329
144 B5	CAAAAAGGCUCACGCU GACAA	206	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUUGAC	330
145 C5	CGCAAAGGCUCACGCU GACAA	207	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGCGAC	331
146 D5	CGAAAAGGCUCACGCU GACAA	208	UUGUCAGCGUGAGCCU UUUCGAC	332
147	CUUAAAGGCUCACGCU	200	UUGUCAGCGUGAGCCU	333

E5	GACAA		UUAAGCG	
148 F5	CAGAAAGGCUCACGCU GACAA	209	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCUGAC	334
149 G5	CCCAAAGGCUCACGCU GACAA	210	UUGUCAGCGUGAGCCU UUGGGAC	335
150 H5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAC	336
151I 5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGCC	337
152J 5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGAU	338
153 K5	CGUAAAGGCUCACGCU GACAA	211	UUGUCAGCGUGAGCCU UUACGAC	339
154 L5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUC	340
155 M5	CUUAAAGGCUCACGCU GACAA	200	UUGUCAGCGUGAGCCU UUAAGUU	341
156 N5	CGGAAAGGCUCACGCU GACAA	212	UUGUCAGCGUGAGCCU UUCCGAC	342
157 O5	UUAAGGCUCACGCUG ACAAA	213	UUUGUCAGCGUGAGCC UUUAAGA	343
158 P5	AGGCUCACGCUGACAA GCAGA	214	UCUGCUUGUCAGCGUG AGCCUUU	344
159 Q5	UGCAGCGGCAGAGGCG GGAGA	215	UCUCCCGCCUCUGCCG CUGCACG	345
160 R5	GCGGCAGAGGCGGGAG AUGGU	216	ACCAUCUCCCGCCUCU GCCGCUG	346
161 S5	GAGGCGGGAGAUGGUG GCACA	217	UGUGCCACCAUCUCCC GCCUCUG	347
162 T5	GCGGGAGAUGGUGGCA CAGCA	218	UGCUGUGCCACCAUCU CCCGCCU	348
163 U5	GUGGCACAGCAGCAUC GGCUA	219	UAGCCGAUGCUGCUGU GCCACCA	349
164 V5	CAGCAGCAUCGGCUGC GACAA	220	UUGUCGCAGCCGAUGC UGCUGUG	350
165 W5	AGCAGCAUCGGCUGCG ACAGA	221	UCUGUCGCAGCCGAUG CUGCUGU	351
166 X5	GCAGCAUCGGCUGCGA CAGAA	222	UUCUGUCGCAGCCGAU GCUGCUG	352
167 Y5	CAGCAUCGGCUGCGAC AGAU	223	UAUCUGUCGCAGCCGA UGCUGCU	353
168 Z5	AGCAUCGGCUGCGACA GAUCA	224	UGAUCUGUCGCAGCCG AUGCUGC	354
169 a6	GCAUCGGCUGCGACAG AUCCA	225	UGGAUCUGUCGCAGCC GAUGCUG	355
170	CAUCGGCUGCGACAGA	226	UUGGAUCUGUCGCAGC	356

b6	UCCAA		CGAUGCU	
171 c6	UCGGCUGCGACAGAUC CAGGA	227	UCCUGGAUCUGUCGCA GCCGAUG	357
172 d6	GGCUGCGACAGAUCCA GGAGA	228	UCUCCUGGAUCUGUCG CAGCCGA	358
173 e6	GCUGCGACAGAUCCAG GAGAA	229	UUCUCCUGGAUCUGUC GCAGCCG	359
174 e7	CUGCGACAGAUCCAGG AGAGA	230	UCUCUCCUGGAUCUGU CGCAGCC	360

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Агент РНК-интерференции (РНКи), содержащий доставочный фрагмент формулы I:



Формула I,

- где R содержит смысловую нить и антисмысловую нить, причем антисмысловая нить содержит по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов последовательности, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525, и при этом смысловая нить и антисмысловая нить образуют область комплементарности из по меньшей мере 15 нуклеотидов, причем каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо имеет длину от 18 до 23 нуклеотидов, и при этом необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, причем необязательно каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, и при этом R необязательно конъюгирован с формулой I посредством линкера.
2. РНКи-агент по п. 1, в котором антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405–525.

3. РНК-агент по п. 1 или п. 2, в котором антисмысловая нить содержит по меньшей мере 18 смежных нуклеотидов с последовательностью, выбранной из группы, состоящей из SEQ ID NO: 405, 408, 412, 413, 414, 415, 418, 420, 425, 426, 428, 429, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 448, 449, 451, 452, 454, 457, 458, 459, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 479, 490, 491, 492, 493, 495, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508 и 509.
5
4. РНК-агент по любому из пп. 1–3, в котором антисмысловая нить имеет длину 23 нуклеотида.
10
5. РНК-агент по любому из пп. 1–4, в котором смысловая нить имеет длину 21 нуклеотид.
6. РНК-агент по любому из пп. 1–5, в котором антисмысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 231–361, или последовательности, идентичной ей на по меньшей мере 90%.
15
7. РНК-агент по любому из пп. 1–6, в котором смысловая нить выбрана из группы, состоящей из SEQ ID NO: 124–230, или последовательности, идентичной ей на по меньшей мере 90%.
20
8. РНК-агент по любому из пп. 1–7, который в области комплементарности содержит 0, 1, 2 или 3 несоответствия между смысловой нитью и антисмысловой нитью.
25
9. РНК-агент по любому из пп. 1–8, в котором каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит один или более модифицированных нуклеотидов, и один или более модифицированных нуклеотидов независимо представляют собой 2'-фтор-модифицированные нуклеотиды или 2'-О-метил-модифицированные нуклеотиды.
30

10. РНК-агент по любому из пп. 1–9, в котором каждый нуклеотид смысловой нити и каждый нуклеотид антисмысловой нити представляет собой модифицированный нуклеотид.

5 11. РНК-агент по любому из пп. 1–10, в котором каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит одну или более модифицированных межнуклеотидных связей, и при этом каждая модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь.

10

12. РНК-агент по п. 11, в котором каждая из смысловой нити и антисмысловой нити независимо содержит четыре фосфоротиоатные связи.

13. РНК-агент по любому из пп. 1–12, в котором 5'-нуклеотид антисмысловой нити содержит фосфатную группу или аналог фосфата.

15

14. РНК-агент по любому из пп. 1–13, в котором антисмысловая нить содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 367–372 и 389–404, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%.

20

15. РНК-агент по любому из пп. 1–13, в котором смысловая нить содержит последовательность, выбранную из группы, состоящей из SEQ ID NO: 361–366 и 373–388, или последовательности, идентичной ей на по меньшей мере 90%.

25

16. РНК-агент по любому из пп. 1–15, в котором смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

30 а. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей

- [illegible]

- [illegible]

- [illegible]

последовательность, представленную в SEQ ID NO:401, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

- и. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:387, или последовательность, идентичную ей на по

5

меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:402, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

- у. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:388, или последовательность, идентичную ей на по

10

меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:403, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и

- ф. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:389, или последовательность, идентичную ей на по

15

меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:404, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%.

17. РНК-агент по любому из пп. 1–16, в котором смысловая нить и

20

антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- а. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по

25

меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

- б. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по

30

меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или

последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

- [illegible]

- [illegible]

- v. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:388, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:403, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и
- w. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:389, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:404, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

18. РНК-агент по любому из пп. 1–16, в котором смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- a. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- b. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- c. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;
- d. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей

последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и

- е. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

19. РНК-агент по любому из пп. 1–16 или п. 18, в котором смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- а. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- б. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:362, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:368, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- в. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:363, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:369, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;
- г. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:364, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:370, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и

- е. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

20. РНК-агент по любому из пп. 1–18, в котором смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- а. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%; и
- б. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 90%;

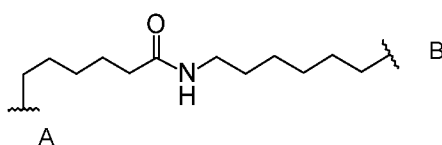
21. РНК-агент по любому из пп. 1–20, в котором смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- а. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:361, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:367, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%; и
- б. смысловой нити, имеющей последовательность, представленную в SEQ ID NO:365, или последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%, и антисмысловой нити, имеющей

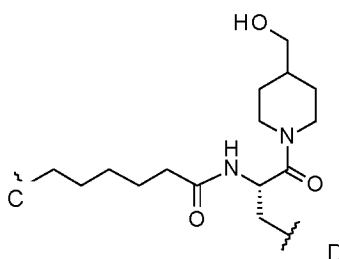
последовательность, представленную в SEQ ID NO:371, или
последовательность, идентичную ей на по меньшей мере 95%;

22. РНК-агент по любому из пп. 1–21, причем R конъюгирован с формулой I
посредством линкера.

23. РНК-агент по п. 22, в котором R конъюгирован с формулой I посредством
линкера, причем линкер содержит линкер формулы II, имеющий
соединительные точки A и B, или линкер содержит формулу III, имеющую
соединительные точки C и D, причем соединительная точка A или
соединительная точка C конъюгирована с формулой I, а соединительная
точка B или соединительная точка D конъюгирована с фосфатной группой,
которая конъюгирована с R;

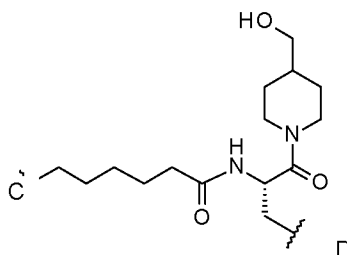


Формула II;



Формула III.

24. РНК-агент по любому из пп. 1–23, в котором R конъюгирован с формулой I
посредством линкера, и при этом линкер представляет собой линкер,
содержащий формулу III, имеющий соединительные точки C и D, причем
соединительная точка C конъюгирована с формулой I, а соединительная
точка D конъюгирована с фосфатной группой, которая конъюгирована с R;



Формула III.

5

25. РНКи-агент по любому из пп. 1–24, причем смысловая нить и антисмысловая нить представляют собой пару олигонуклеотидных последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- а. смысловой нити, состоящей из последовательности, представленной в SEQ ID NO:361, и антисмысловой нити, состоящей из последовательности, представленной в SEQ ID NO:367; и
- б. смысловой нити, состоящей из последовательности, представленной в SEQ ID NO:365, и антисмысловой нити, состоящей из последовательности, представленной в SEQ ID NO:371,

15

26. РНКи-агент по любому из пп. 1–25, который способен снижать экспрессию гена ANGPTL8 в клетке печени.

27. РНКи-агент по любому из пп. 1–26 для применения в терапии.

20

28. РНКи-агент по любому из пп. 1–26 для применения в лечении дислипидемии.

29. Фармацевтическая композиция, содержащая РНКи-агент по любому из пп. 1–26 и один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

25

30. Применение РНКи-агента по любому из пп. 1–26 для получения лекарственного средства для лечения дислипидемии.

31. Способ лечения дислипидемии у нуждающегося в этом пациента, включающий введение РНКи-агента по любому из пп. 1–26 или его фармацевтической композиции.
- 5 32. Способ снижения экспрессии ангиопоэтин-подобного белка 8 (ANGPTL8) в клетке, включающий приведение клетки в контакт с РНКи-агентом по любому из пп. 1–26 и инкубирование клетки в течение времени, достаточного для снижения уровня мРНК ANGPTL8 на по меньшей мере 50% по сравнению с необработанной клеткой или контрольной
- 10 обработанной клеткой.