(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 116096381 A
(43)申请公布日 2023.05.09

(21)申请号 202180047701.9

(22)申请日 2021.04.29

(30)优先权数据
63/017,725 2020.04.30 US
63/119,009 2020.11.30 US
63/157,899 2021.03.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2022.12.27

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2021/029872 2021.04.29

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2021/222549 EN 2021.11.04

(71)申请人 阿尔尼拉姆医药品有限公司
地址 美国马萨诸塞州

(72)发明人 J·D·马克辛尼克
A·卡斯托雷诺 M·K·施莱格尔
E·菲什列维奇 K·尤西乌斯
C·凯塔尼斯

(74)专利代理机构 北京汇知杰知识产权代理有限公司 11587
专利代理师 杨巍 柴春玲

(51)Int.Cl.
A61K 31/713(2006.01)

权利要求书6页 说明书141页
序列表（电子公布） 附图10页

(54)发明名称

补体因子B(CFB)iRNA组合物及其使用方法

(57)摘要

本发明涉及靶向补体因子B(CFB)基因的RNAi剂，例如dsRNA剂。本发明还涉及使用此类RNAi剂抑制CFB基因表达的方法，以及在受试者中治疗或预防CFB相关疾病的方法。

CN 116096381 A

1.一种双链核糖核酸(dsRNA),其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达,其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链,其中所述反义链包含编码CFB的mRNA的互补性区域,并且其中所述互补性区域包含与表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。

2.一种双链核糖核酸(dsRNA),其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达,其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链,其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸633-665、1133-1185、1133-1173、1133-1167、1143-1173、1540-1563、1976-2002、2386-2438、2386-2418、2386-2413和2389-1418的任一核苷酸序列相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,并且所述反义链包含来自SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列的至少15个连续核苷酸,其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

3.一种双链核糖核酸(dsRNA),其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达,其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链,其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸633-655、643-665、928-950、1133-1155、1140-1162、1141-1163、1143-1165、1145-1167、1148-1170、1150-1172、1151-1173、1185-1207、1306-1328、1534-1556、1540-1562、1541-1563、1976-1998、1979-2001、1980-2002、2078-2100、2386-2408、2388-2410、2389-2411、2391-2413、2393-2415、2395-2417、2396-2418、2438-2460、2602-2624的任一核苷酸序列相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,并且所述反义链包含来自SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列的至少15个连续核苷酸,其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

4.如权利要求1-3中任一项所述的dsRNA剂,其中所述反义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续的核苷酸,所述双链体选自由以下组成的组:AD-560018、AD-559375、AD-559160、AD-559374、AD-559060、AD-559721、AD-559026、AD-558225、AD-557069、AD-558068、AD-557422、AD-558063、AD-558066、AD-556701、AD-558657、AD-559020、AD-559023、AD-558860、AD-560019、AD-560016、AD-559008、AD-559717、AD-557072、AD-558097、AD-557774、AD-557070、AD-558065、AD-557853和AD-557079。

5.一种双链核糖核酸(dsRNA),其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达,其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链,其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸153-175、202-224、219-241、254-276、304-326、321-343、347-369、402-424、418-440、447-469、491-513、528-550、549-571、566-588、591-613、792-814、819-841、967-989、1042-1064、1234-1256、1250-1272、1269-1291、1335-1357、1354-1376、1372-1394、1422-1444、1496-1518、1670-1692、1716-1738、1757-1779、1774-1796、1793-1815、1844-1866、1871-1893、1909-1931、1924-1947、1947-1969、2161-2183、2310-2332、2330-2352、2355-2377、2494-2516和2527-2549的任一核苷酸序列相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,并且所述反义链包含来自SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列的至少15个连续核苷酸,其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

6.如权利要求1或5所述的dsRNA剂,其中所述反义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,所述双链体选自由以下组成的组:AD-560132.1、AD-560099.1、AD-559998.1、AD-559993.1、AD-559973.1、AD-559882.1、

AD-559706.1、AD-559704.1、AD-559688.1、AD-559668.1、AD-559641.1、AD-559609.1、AD-559590.1、AD-559573.1、AD-559532.1、AD-559486.1、AD-559330.1、AD-559274.1、AD-559226.1、AD-559208.1、AD-559189.1、AD-559124.1、AD-559105.1、AD-559089.1、AD-558935.1、AD-558879.1、AD-558777.1、AD-558750.1、AD-558637.1、AD-558612.1、AD-558595.1、AD-558574.1、AD-558555.1、AD-558511.1、AD-558482.1、AD-558466.1、AD-558450.1、AD-558424.1、AD-558407.1、AD-558393.1、AD-558378.1、AD-558361.1、AD-558312.1。

7.如权利要求1-6中任一项所述的dsRNA剂，其中所述dsRNA剂包含至少一个经修饰的核苷酸。

8.如权利要求1-7中任一项所述的dsRNA剂，其中所述有义链的基本所有核苷酸包含修饰；所述反义链的基本所有核苷酸包含修饰；或者所述有义链的基本所有核苷酸和所述反义链的基本所有核苷酸均包含修饰。

9.如权利要求1-8中任一项所述的dsRNA剂，其中所述有义链的所有核苷酸包含修饰；所述反义链的所有核苷酸包含修饰；或者所述有义链的所有核苷酸和所述反义链的所有核苷酸均包含修饰。

10.如权利要求7-9中任一项所述的dsRNA剂，其中所述经修饰的核苷酸中的至少一个选自由以下组成的组：脱氧核苷酸、3′-末端脱氧胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2′-O-甲基修饰的核苷酸、2′-氟基修饰核苷酸、2′-脱氧修饰核苷酸、锁核苷酸、未锁核苷酸、构象限制核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2′-氨基修饰核苷酸、2′-O-烯丙基修饰核苷酸、2′-C-烷基修饰核苷酸、2′-甲氧基乙基修饰核苷酸、2′-O-烷基修饰核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰核苷酸、环己烯基修饰核苷酸、包含硫代磷酸基团的核苷酸、包含甲基膦酸酯基团的核苷酸、包含2′-磷酸的核苷酸、包含5′-磷酸的核苷酸、包含5′-磷酸模拟物的核苷酸、热不稳定核苷酸、二醇修饰核苷酸(GNA)和2-O-(N-甲基乙酰胺)修饰核苷酸；及其组合。

11.如权利要求7-9中任一项所述的dsRNA剂，其中所述核苷酸上的修饰选自由以下组成的组：LNA、HNA、CeNA、2v-甲氧基乙基、2′-O-烷基、2′-O-烯丙基、2′-C-烯丙基、2′-氟基、2′-脱氧、2′-羟基和二醇修饰核苷酸(GNA)；及其组合。

12.如权利要求7-9中任一项所述的dsRNA，其中所述经修饰的核苷酸中的至少一个选自由以下组成的组：脱氧核苷酸、2′-O-甲基修饰核苷酸、2′-氟基修饰核苷酸、2′-脱氧修饰核苷酸、二醇修饰核苷酸(GNA)、包含2′-磷酸的核苷酸、乙烯基膦酸酯核苷酸和2′-O-十六烷基核苷酸修饰；及其组合。

13.如权利要求7-9中任一项所述的dsRNA，其中所述核苷酸上的至少一个修饰是热不稳定核苷酸修饰。

14.如权利要求13所述的dsRNA，其中所述热不稳定核苷酸修饰选自由以下组成的组：无碱基修饰、与所述双链体中相对核苷酸的错配、以及去稳定化糖修饰、2′-脱氧修饰、无环核苷酸、未锁核酸(UNA)和二醇修饰核酸(GNA)。

15.如权利要求1-14中任一项所述的dsRNA剂，其中所述双链区域的长度为19至30个核苷酸对。

16.如权利要求15所述的dsRNA剂，其中所述双链区域的长度为19至25个核苷酸对。

17.如权利要求15所述的dsRNA剂,其中所述双链区域的长度为19至23个核苷酸对。

18.如权利要求15所述的dsRNA剂,其中所述双链区域的长度为23至27个核苷酸对。

19.如权利要求15所述的dsRNA剂,其中所述双链区域的长度为21至23个核苷酸对。

20.如权利要求1-19中任一项所述的dsRNA剂,其中每条链的长度独立地为不超过30个核苷酸。

21.如权利要求1-20中任一项所述的dsRNA剂,其中所述有义链的长度为21个核苷酸,且所述反义链的长度为23个核苷酸。

22.如权利要求1-21中任一项所述的dsRNA剂,其中所述互补性区域的长度为至少17个核苷酸。

23.如权利要求1-22中任一项所述的dsRNA剂,其中所述互补性区域的长度为19至23个核苷酸。

24.如权利要求1-21中任一项所述的dsRNA剂,其中所述互补性区域的长度为19至21个核苷酸。

25.如权利要求1-24中任一项所述的dsRNA剂,其中至少一条链包含至少1个核苷酸的3′突出。

26.如权利要求1-24中任一项所述的dsRNA剂,其中至少一条链包含至少2个核苷酸的3′突出。

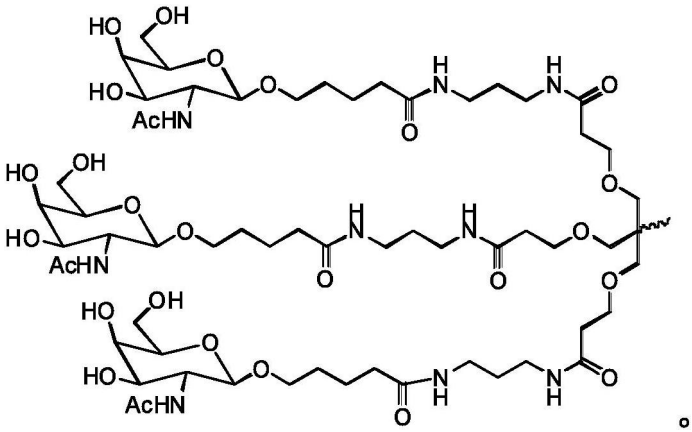
27.如权利要求1-26中任一项所述的dsRNA剂,所述dsRNA剂还包含配体。

28.如权利要求27所述的dsRNA剂,其中所述配体缀合至所述dsRNA剂的有义链的3′端。

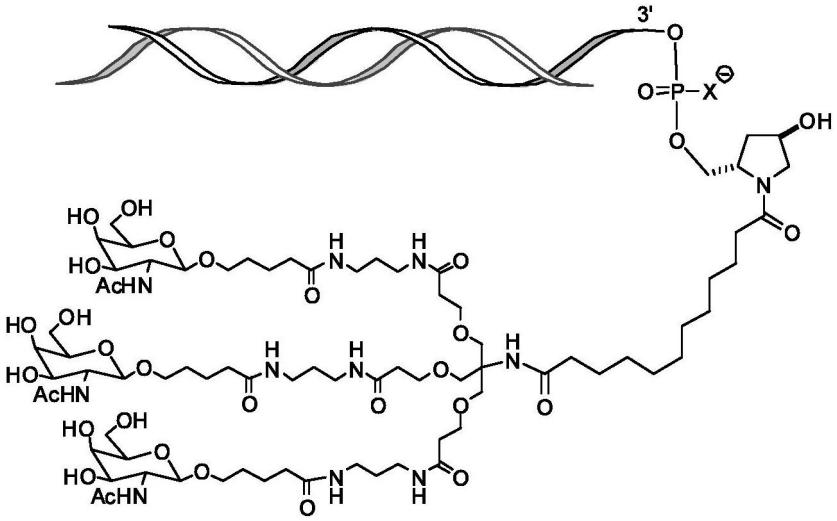
29.如权利要求27或28所述的dsRNA剂,其中所述配体是N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)衍生物。

30.如权利要求27-29中任一项所述的dsRNA剂,其中所述配体是通过单价、二价或三价分支接头所附接的一个或多个GalNAc衍生物。

31.如权利要求29或30所述的dsRNA剂,其中所述配体是



32.如权利要求31所述的dsRNA剂,其中所述dsRNA剂如以下示意图所示缀合至所述配体



并且,其中X是O或S。

33.如权利要求32所述的dsRNA剂,其中所述X是O。

34.如权利要求1-33中任一项所述的dsRNA剂,其中所述dsRNA剂还包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键。

35.如权利要求34所述的dsRNA剂,其中所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链的3′末端。

36.如权利要求35所述的dsRNA剂,其中所述链是所述反义链。

37.如权利要求35所述的dsRNA剂,其中所述链是所述有义链。

38.如权利要求34所述的dsRNA剂,其中所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链的5′末端。

39.如权利要求38所述的dsRNA剂,其中所述链是所述反义链。

40.如权利要求38所述的dsRNA剂,其中所述链是所述有义链。

41.如权利要求34所述的dsRNA剂,其中所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链的5′末端和3v末端两者。

42.如权利要求41所述的dsRNA剂,其中所述链是所述反义链。

43.如权利要求1-42中任一项所述的dsRNA剂,其中位于所述双链体的反义链的5′端的位置1的碱基对是AU碱基对。

44.一种细胞,其含有权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂。

45.一种药物组合物,其用于抑制编码补体因子B(CFB)的基因的表达,所述药物组合物包含权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂。

46.如权利要求45所述的药物组合物,其中dsRNA剂在非缓冲溶液中。

47.如权利要求46所述的药物组合物,其中所述非缓冲溶液是盐水或水。

48.如权利要求42所述的药物组合物,其中所述dsRNA剂在缓冲溶液中。

49.如权利要求48所述的药物组合物,其中所述缓冲溶液包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐或磷酸盐或其任意组合。

50.如权利要求49所述的药物组合物,其中所述缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。

51.一种抑制补体因子B(CFB)基因在细胞中的表达的方法,所述方法包括使所述细胞与权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物接

触,从而抑制CFB基因在所述细胞中的表达。

52.如权利要求51所述的方法,其中所述细胞在受试者体内。

53.如权利要求52所述的方法,其中所述受试者是人。

54.如权利要求53所述的方法,其中所述受试者患有补体因子B(CFB)相关病症。

55.如权利要求51-54中任一项所述的方法,其中使所述细胞与所述dsRNA剂接触将补体因子B的表达抑制至少50%、60%、70%、80%、90%或95%。

56.如权利要求51-55中任一项所述的方法,其中抑制补体因子B的表达使所述受试者血清中的补体因子B蛋白水平降低至少50%、60%、70%、80%、90%或95%。

57.一种治疗患有将受益于补体因子B表达降低的病症的受试者的方法,所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物,从而治疗所述患有将受益于补体因子B表达降低的病症的受试者。

58.一种预防患有将受益于补体因子B表达降低的病症的受试者的至少一个症状的方法,所述方法包括向所述受试者施用预防有效量的权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物,从而预防所述患有将受益于补体因子B表达降低的病症的受试者的至少一个症状。

59.如权利要求57或58所述的方法,其中所述病症是补体因子B相关病症。

60.如权利要求59所述的方法,其中所述补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:阵发性睡眠性血红蛋白尿症症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)、哮喘、类风湿性关节炎(RA);抗磷脂抗体综合征;狼疮性肾炎;缺血再灌注损伤;典型或传染性溶血性尿毒综合征(tHUS);致密物沉积病(DDD);视神经脊髓炎(NMO);多灶性运动神经病(MMN);多发性硬化(MS);黄斑变性(例如,年龄相关性黄斑变性(AMD));溶血、肝酶升高和低血小板(HELLP)综合征;血栓性血小板减少性紫癜(TTP);自发性流产;寡免疫血管炎;大疱性表皮松解症;复发性流产;先兆子痫、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎大疱性类天疱疮、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒综合征、C3神经病、抗中性粒细胞胞质抗体相关血管炎(例如肉芽肿性多血管炎(以前被称为韦格纳肉芽肿病)、Churg-Strauss综合征和显微镜下多血管炎)、体液和血管移植排斥、移植物功能障碍、心肌梗死(例如心肌梗死中的组织损伤和缺血)、同种异体移植、败血症(例如败血症预后不良)、冠状动脉疾病、皮肌炎、格雷夫斯病,动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、全身炎症反应性败血症、败血性休克、脊髓损伤、肾小球肾炎、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、ITP、Goodpasture综合征、Degos病、抗磷脂综合征(APS)、灾难性APS(CAPS)、心血管病症、心肌炎、脑血管病症、外周(例如肌肉骨骼)血管病症、肾血管病症、肠系膜/肠血管病症、血管炎、Henoch-Schönlein紫癜性肾炎、系统性红斑狼疮相关血管炎、类风湿性关节炎相关血管炎、免疫复合物血管炎、Takayasu病、扩张性心肌病、糖尿病血管病变、川崎病(动脉炎)、静脉气体栓塞(VGE),和支架置入、旋磨术和经皮腔内冠状动脉血管成形术(PTCA)后再狭窄。

61.如权利要求59所述的方法,其中所述补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

62.如权利要求59所述的方法,其中所述补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

63.如权利要求57-62中任一项所述的方法,其中所述受试者是人。

64.如权利要求57-63中任一项所述的方法,其中所述dsRNA剂以约0.01mg/kg至50mg/kg的剂量或以约5mg或1000mg的剂量施用于所述受试者。

65.如权利要求57-64中任一项所述的方法,其中将所述dsRNA剂皮下施用于所述受试者。

66.如权利要求57-65中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用用于治疗CFB相关疾病的剂。

67.如权利要求57-65中任一项所述的方法,所述方法还包括向所述受试者施用靶向补体成分C5的iRNA剂或靶向补体成分C3的iRNA剂。

68.如权利要求57-67中任一项所述的方法,所述方法还包括测定来自所述受试者的一个或多个样本中的补体因子B水平。

69.如权利要求68所述的方法,其中所述一个或多个受试者样本中的补体因子B水平是一个或多个血液或血清样本中的补体因子B蛋白水平。

70.一种试剂盒,其包含权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物。

71.一种小瓶,其包含权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物。

72.一种注射器,其包含权利要求1-43中任一项所述的dsRNA剂或权利要求45-50中任一项所述的药物组合物。

补体因子B(CFB)iRNA组合物及其使用方法

[0001] 相关申请

[0002] 本申请要求于2020年4月30日提交的美国临时申请第63/017,725号,2020年11月30日提交的美国临时申请第63/119,009号和2021年3月8日提交的美国临时申请第63/157,899号的优先权权益。每个前述申请的全部内容通过引用并入本文。

[0003] 序列表

[0004] 本申请包含已以ASCII格式提交的电子版序列表,并且其全部内容通过引用并入本文。该ASCII拷贝创建于2021年4月23日,名为121301_11420_SL.txt,大小为436,429字节。

背景技术

[0005] 补体在19世纪90年代首次被发现,当时发现它有助于或"补充"正常血清中存在的热稳定抗体杀死细菌(Walport,M.J.(2001)N Engl J Med.344:1058)。补体系统由超过30种蛋白质组成,这些蛋白质要么作为可溶性蛋白质存在于血液中,要么作为膜相关蛋白质存在。补体的激活导致顺序级联的酶促反应(被称为补体激活途径),从而导致强效过敏毒素C3a和C5a的形成,这些过敏毒素引发从化学吸引到细胞凋亡的大量生理反应。最初,补体被认为在先天免疫中起主要作用,在先天免疫中针对入侵的病原体产生强大而快速的反应。然而,最近越来越明显的是,补体也在有助于消除病原体的涉及T细胞和B细胞的适应性免疫中发挥重要作用(Dunkelberger JR and Song WC.(2010)Cell Res.20:34;Molina H,et al.(1996)Proc Natl Acad Sci U S A.93:3357),在维持免疫记忆以防止病原性再侵袭中发挥重要作用,并参与了许多人类病理状态(Qu,H,et al.(2009)Mol Immunol.47:185;Wagner,E.and Frank MM.(2010)Nat Rev Drug Discov.9:43)。

[0006] 已知补体激活通过三种不同途径发生:替代途径、经典途径和凝集素途径(图1),涉及主要作为非活性酶原存在的蛋白质,然后这些蛋白质随后依次被裂解并激活。

[0007] 经典途径通常通过抗体-抗原复合物或C-反应蛋白(CRP)来激活,这两者都与补体成分C1q相互作用。此外,在缺乏免疫复合物的情况下,经典途径可以通过存在于凋亡小体中的磷脂酰丝氨酸来激活。

[0008] 凝集素途径通过甘露糖结合凝集素(MBL)启动,所述甘露糖结合凝集素与病原体表面上的复合糖类残基结合。经典途径或凝集素途径的激活导致(C4b2b)C3转化酶的激活。

[0009] 替代途径通过C3b的结合而被激活,C3b是由靶向表面的C3的水解自发产生的。然后这种表面结合的C3b被B因子识别,形成复合物C3bB。C3bB复合物反过来又被D因子裂解,产生AP的C3转化酶的活性形式(C3bBb)。这两种类型的C3转化酶都会裂解C3,形成C3b。然后C3b结合更多的B因子,通过AP(所谓的替代回路或放大回路)增强补体激活,或者C3b导致活性C5转化酶(C3bBbC3b或C4bC2bC3b)的形成,其裂解C5并触发导致膜攻击复合物(MAC)(C5b-9)形成的后期事件。

[0010] 补体系统的不适当激活是在许多不同疾病中的增殖或引起病症的原因,这些疾病包括例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多

囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

[0011] 迄今为止，只有一种靶向替代途径(例如C5-C5a轴线)的治疗剂可用于补体成分相关疾病的治疗，即抗C5抗体，依库珠单抗(eculizumab, Soliris®)。尽管依库珠单抗已经显示出对于治疗阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)和重症肌无力是有效的，并且目前正在进行用于其他补体成分相关疾病的临床试验评估，但依库珠单抗疗法需要每周进行高剂量注射，然后每两周一次进行维持性注射，成本很高。此外，约50％的经依库珠单抗治疗的PNH受试者具有低水平的溶血并需要剩余输血(residual transfusion)(Hill A,et al.(2010)Haematologica 95(4):567-73)。

[0012] 因此，本领域需要通过例如激活补体因子B活性来治疗与补体激活相关的疾病、病症和病状的组合物和方法。

发明内容

[0013] 本发明提供了iRNA组合物，其引起由RNA诱导的沉默复合物(RISC)介导的编码补体因子B(CFB)的基因的RNA转录物的裂解。补体因子B(CFB)可以位于细胞内，例如受试者(如人类)受试者的细胞内。

[0014] 因此，在一个方面，本发明提供了一种双链核糖核酸(dsRNA)剂，其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达，其中所述dsRNA剂包含形成双链区域的有义链和反义链，其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，并且所述反义链包含与SEQ ID NO:8的核苷酸序列相异不超过1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含SEQ ID NO:1的核苷酸序列的至少15个连续核苷酸，并且所述反义链包含SEQ ID NO:8的核苷酸序列的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含SEQ ID NO:1的核苷酸序列的至少17个连续核苷酸，并且所述反义链包含SEQ ID NO:8的核苷酸序列的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含SEQ ID NO:1的核苷酸序列的至少19个连续核苷酸，并且所述反义链包含SEQ ID NO:8的核苷酸序列的至少19个连续核苷酸。

[0015] 在另一方面，本发明提供了一种双链核糖核酸(dsRNA)，其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达，其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链，其中所述反义链包含编码补体因子B(CFB)的mRNA的互补性区域，并且其中所述互补性区域包含与表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述互补性区域包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述互补性区域包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述互补性区域包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列的至少19个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述互补性区域包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列的至少20个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述互补性区域包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义核苷酸序列的至少21个连续核苷酸。

[0016] 在一方面，本发明提供了一种双链核糖核酸(dsRNA)，其用于抑制补体因子B(CFB)

在细胞中的表达，其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链，其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸633-665、1133-1185、1133-1173、1133-1167、1143-1173、1540-1563、1976-2002、2386-2438、2386-2418、2386-2413和2389-1418的任一核苷酸序列相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，并且所述反义链包含来自SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列的至少15个连续核苷酸，其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

[0017] 在另一方面，本发明提供了一种双链核糖核酸(dsRNA)，其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达，其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链，其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸633-655、643-665、928-950、1133-1155、1140-1162、1141-1163、1143-1165、1145-1167、1148-1170、1150-1172、1151-1173、1185-1207、1306-1328、1534-1556、1540-1562、1541-1563、1976-1998、1979-2001、1980-2002、2078-2100、2386-2408、2388-2410、2389-2411、2391-2413、2393-2415、2395-2417、2396-2418、2438-2460、2602-2624的任一核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，例如至少15个核苷酸、至少17个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸，并且所述反义链包含与来自SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，例如至少15个核苷酸、至少17个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸，其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

[0018] 在一个实施方案中，所述反义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续的核苷酸，所述双链体选自由以下组成的组：AD-560018、AD-559375、AD-559160、AD-559374、AD-559060、AD-559721、AD-559026、AD-558225、AD-557069、AD-558068、AD-557422、AD-558063、AD-558066、AD-556701、AD-558657、AD-559020、AD-559023、AD-558860、AD-560019、AD-560016、AD-559008、AD-559717、AD-557072、AD-558097、AD-557774、AD-557070、AD-558065、AD-557853和AD-557079。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少19个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少20个连续的核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少21个连续核苷酸。

[0019] 在一个实施方案中，所述有义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，所述双链体选自由以下组成的组：AD-560018、AD-559375、AD-559160、AD-559374、AD-559060、AD-559721、AD-559026、AD-558225、AD-557069、AD-558068、AD-557422、AD-558063、AD-558066、AD-556701、AD-558657、AD-559020、AD-559023、AD-558860、AD-560019、AD-560016、AD-559008、AD-559717、AD-557072、AD-558097、AD-557774、AD-557070、AD-558065、AD-557853和AD-557079。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少19个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少20个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少21个连续核苷酸。

[0020] 在一个方面，本发明提供了一种双链核糖核酸(dsRNA)，其用于抑制补体因子B(CFB)在细胞中的表达，其中所述dsRNA包含形成双链区域的有义链和反义链，其中所述有义链包含与SEQ ID NO:1的核苷酸153-175、202-224、219-241、254-276、304-326、321-343、347-369、402-424、418-440、447-469、491-513、528-550、549-571、566-588、591-613、792-814、819-841、967-989、1042-1064、1234-1256、1250-1272、1269-1291、1335-1357、1354-1376、1372-1394、1422-1444、1496-1518、1670-1692、1716-1738、1757-1779、1774-1796、1793-1815、1844-1866、1871-1893、1909-1931、1924-1947、1947-1969、2161-2183、2310-2332、2330-2352、2355-2377、2494-2516和2527-2549的任一核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，例如至少15个核苷酸、至少17个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸，并且所述反义链包含与SEQ ID NO:8的对应核苷酸序列相异不超过0、1、2或3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，例如至少15个核苷酸、至少17个核苷酸、至少19个核苷酸或至少20个核苷酸，其中在SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:8中用U替换T不算作差异。

[0021] 在一个实施方案中，所述反义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，所述双链体选自由以下组成的组：AD-560132.1、AD-560099.1、AD-559998.1、AD-559993.1、AD-559973.1、AD-559882.1、AD-559706.1、AD-559704.1、AD-559688.1、AD-559668.1、AD-559641.1、AD-559609.1、AD-559590.1、AD-559573.1、AD-559532.1、AD-559486.1、AD-559330.1、AD-559274.1、AD-559226.1、AD-559208.1、AD-559189.1、AD-559124.1、AD-559105.1、AD-559089.1、AD-558935.1、AD-558879.1、AD-558777.1、AD-558750.1、AD-558637.1、AD-558612.1、AD-558595.1、AD-558574.1、AD-558555.1、AD-558511.1、AD-558482.1、AD-558466.1、AD-558450.1、AD-558424.1、AD-558407.1、AD-558393.1、AD-558378.1、AD-558361.1、AD-558312.1。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少19个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少20个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述反义链包含任一所选双链体的至少21个连续核苷酸。

[0022] 在一个实施方案中，所述有义链包含与双链体的反义链核苷酸序列中的任一个相异不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸，所述双链体选自由以下组成的组：AD-560132.1、AD-560099.1、AD-559998.1、AD-559993.1、AD-559973.1、AD-559882.1、AD-559706.1、AD-559704.1、AD-559688.1、AD-559668.1、AD-559641.1、AD-559609.1、AD-559590.1、AD-559573.1、AD-559532.1、AD-559486.1、AD-559330.1、AD-559274.1、AD-559226.1、AD-559208.1、AD-559189.1、AD-559124.1、AD-559105.1、AD-559089.1、AD-558935.1、AD-558879.1、AD-558777.1、AD-558750.1、AD-558637.1、AD-558612.1、AD-558595.1、AD-558574.1、AD-558555.1、AD-558511.1、AD-558482.1、AD-558466.1、AD-558450.1、AD-558424.1、AD-558407.1、AD-558393.1、AD-558378.1、AD-558361.1、AD-558312.1。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少15个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少17个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有义链包含任一所选双链体的至少19个连续核苷酸。在某些实施方案中，所述有

义链包含任一所选双链体的至少20个连续核苷酸。在某些实施方案中,所述有义链包含任一所选双链体的至少21个连续核苷酸。

[0023] 在一个实施方案中,所述dsRNA剂包含至少一个经修饰的核苷酸。

[0024] 在一个实施方案中,所述有义链的基本所有核苷酸包含修饰;所述反义链的基本所有核苷酸包含修饰;或者所述有义链的基本所有核苷酸和所述反义链的基本所有核苷酸均包含修饰。

[0025] 在一个实施方案中,所述有义链的所有核苷酸包含修饰;所述反义链的所有核苷酸包含修饰;或者所述有义链的所有核苷酸和所述反义链的所有核苷酸均包含修饰。

[0026] 在一个实施方案中,所述经修饰的核苷酸中的至少一个选自由以下组成的组:脱氧核苷酸、3'-末端脱氧胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2′-氟基修饰核苷酸、2'-脱氧修饰核苷酸、锁核苷酸、未锁核苷酸、构象限制核苷酸、限制性乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2′-氨基修饰核苷酸、2'-O-烯丙基修饰核苷酸、2'-C-烷基修饰核苷酸、2′-甲氧基乙基修饰核苷酸、2′-O-烷基修饰核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含非天然碱基的核苷酸、四氢吡喃修饰核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰核苷酸、环己烯基修饰核苷酸、包含硫代磷酸基团的核苷酸、包含甲基膦酸酯基团的核苷酸、包含5'-磷酸的核苷酸、包含5'-磷酸模拟物的核苷酸、包含2'-磷酸基团(例如胞苷-2'-磷酸酯(C2p)、鸟苷-2`-磷酸(G2p)、尿苷-2`-磷酸(U2p)、腺苷-2`-磷酸(A2p))的核苷酸、热不稳定核苷酸、二醇修饰核苷酸(GNA)和2-O-(N-甲基乙酰胺)修饰核苷酸;及其组合。

[0027] 在一个实施方案中,所述核苷酸上的修饰选自由以下组成的组:LNA、HNA、CeNA、2-甲氧基乙基、2-O-烷基、2-O-烯丙基、2-C-烯丙基、2′-氟基、2′-脱氧、2'-羟基和二醇;及其组合。

[0028] 在一个实施方案中,所述经修饰的核苷酸中的至少一个选自由以下组成的组:脱氧核苷酸,2'-O-甲基修饰核苷酸,2'-氟基修饰核苷酸,2'-脱氧修饰核苷酸,二醇修饰核苷酸(GNA)(例如Ggn、Cgn、Tgn或Agn),包含2'-磷酸基团的核苷酸和乙烯基膦酸酯核苷酸;及其组合。

[0029] 在另一实施方案中,所述核苷酸上的至少一个修饰是热不稳定核苷酸修饰。

[0030] 在一个实施方案中,所述热不稳定核苷酸修饰选自由以下组成的组:无碱基修饰、与双链体中相对核苷酸的错配、以及去稳定化糖修饰(destabilizing sugar modification)、2'-脱氧修饰、无环核苷酸、未锁核酸(UNA)和甘油核酸(GNA)。

[0031] 所述双链区域的长度可以为19至30个核苷酸对、19至25个核苷酸对、19至23个核苷酸对、23至27个核苷酸对、或21至23个核苷酸对。

[0032] 在一个实施方案中,每条链的长度独立地为不超过30个核苷酸。

[0033] 在一个实施方案中,所述有义链的长度为21个核苷酸,且所述反义链长度为23个核苷酸。

[0034] 所述互补性区域的长度可以为至少17个核苷酸、19至23个核苷酸、或19个核苷酸。

[0035] 在一个实施方案中,至少一条链包含至少1个核苷酸的3'突出。在另一实施方案中,至少一条链包含至少2个核苷酸的3'突出。

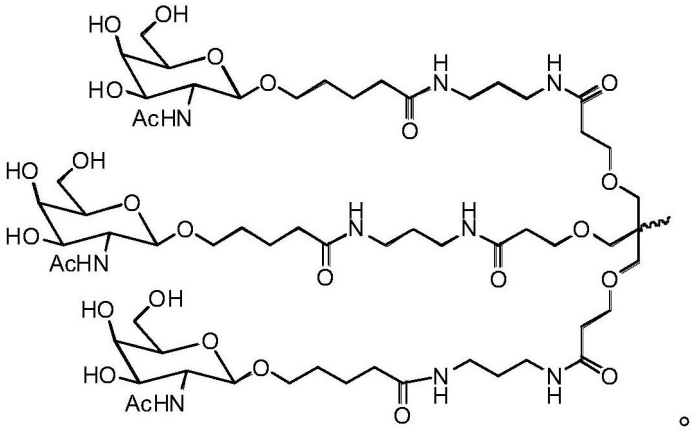
[0036] 在一个实施方案中,所述dsRNA剂还包含配体。

[0037] 在一个实施方案中,所述配体缀合至所述dsRNA剂的有义链的3'端。

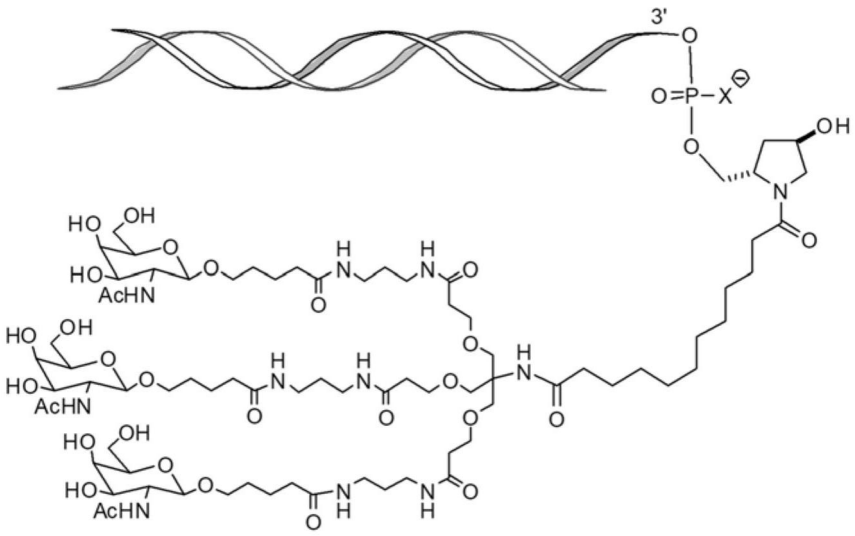
[0038] 在一个实施方案中,所述配体是N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)衍生物。

[0039] 在一个实施方案中,所述配体是通过单价、二价或三价分支接头所附接的一个或多个GalNAc衍生物。

[0040] 在一个实施方案中,所述配体是

[0041] 

[0042] 在一个实施方案中,如所述dsRNA剂如以下示意图所示缀合至所述配体

[0043] 

[0044] 并且,其中X是O或S。

[0045] 在一个实施方案中,X是O。

[0046] 在一个实施方案中,所述dsRNA剂还包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键。

[0047] 在一个实施方案中,所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链(例如所述反义链或所述有义链)的3'末端。

[0048] 在另一实施方案中,所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链(例如所述反义链或所述有义链)的5'末端。

[0049] 在一个实施方案中,所述硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键位于一条链的5'末端和3'末端两者。在一个实施方案中,所述链是反义链。

[0050] 在一个实施方案中,位于所述双链体的反义链的5'端的位置1的碱基对是AU碱基对。

[0051] 本发明还提供了含有本发明的任何dsRNA剂的细胞和包含本发明的任何dsRNA剂

的药物组合物。

[0052] 本发明的药物组合物可包含在非缓冲溶液(例如盐水或水)中的dsRNA剂,或者本发明的药物组合物可包含在缓冲溶液中的dsRNA剂,所述缓冲溶液是例如包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐或磷酸盐或其任意组合的缓冲溶液;或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。

[0053] 在一方面,本发明提供了抑制补体因子B(CFB)基因在细胞中的表达的方法。所述方法包括使所述细胞与本发明的任何dsRNA或本发明的任何药物组合物接触,从而抑制CFB基因在所述细胞中的表达。

[0054] 在一个实施方案中,所述细胞在受试者体内,所述受试者是例如人类受试者,例如患有补体因子B相关病症的受试者。此类病症通常与炎症或免疫系统激活有关,例如膜攻击复合物介导的溶解、过敏反应或溶血。补体因子B相关病症的非限制性实例包括阵发性睡眠性血红蛋白尿症症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)、哮喘、类风湿性关节炎(RA);抗磷脂抗体综合征;狼疮性肾炎;缺血再灌注损伤;典型或传染性溶血性尿毒综合征(tHUS);致密物沉积病(DDD);视神经脊髓炎(NMO);多灶性运动神经病(MMN);多发性硬化(MS);黄斑变性(例如,年龄相关性黄斑变性(AMD));溶血、肝酶升高和低血小板(HELLP)综合征;血栓性血小板减少性紫癜(TTP);自发性流产;寡免疫血管炎(Pauci-immune vasculitis);大疱性表皮松解症;复发性流产;先兆子痫、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎大疱性类天疱疮、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒综合征、C3神经病、抗中性粒细胞胞质抗体相关血管炎(例如肉芽肿性多血管炎(以前被称为韦格纳肉芽肿病)、Churg-Strauss综合征和显微镜下多血管炎)、体液和血管移植排斥、移植物功能障碍、心肌梗死(例如心肌梗死中的组织损伤和缺血)、同种异体移植、败血症(例如败血症预后不良)、冠状动脉疾病、皮肌炎、格雷夫斯病,动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、全身炎症反应性败血症、败血性休克、脊髓损伤、肾小球肾炎、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、ITP、Goodpasture综合征、Degos病、抗磷脂综合征(APS)、灾难性APS(CAPS)、心血管病症、心肌炎、脑血管病症、外周(例如肌肉骨骼)血管病症、肾血管病症、肠系膜/肠血管病症、血管炎、Henoch-Schönlein紫癜性肾炎、系统性红斑狼疮相关血管炎、类风湿性关节炎相关血管炎、免疫复合物血管炎、Takayasu病、扩张性心肌病、糖尿病血管病变、川崎病(动脉炎)、静脉气体栓塞(VGE),和支架置入、旋磨术和经皮腔内冠状动脉成形术(PTCA)后再狭窄(参见例如Holers(2008)Immunological Reviews223:300-316;Holers和Thurman(2004)Molecular Immunology41:147-152;美国专利公布第20070172483号)。

[0055] 在一个实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

[0056] 在另一实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0057] 在一个实施方案中,将所述细胞与所述dsRNA剂接触以将CFB的表达抑制至少50%、60%、70%、80%、90%或95%。

[0058] 在一个实施方案中,抑制CFB的表达使所述受试者血清中的CFB蛋白水平降低至少50%、60%、70%、80%、90%或95%。

[0059] 在一方面,本发明提供了一种治疗患有将受益于补体因子B(CFB)表达降低的病症的受试者的方法。所述方法包括向所述受试者施用治疗有效量的本发明的任何dsRNA或本发明的任何药物组合物,从而治疗所述患有将受益于CFB表达降低的病症的受试者。

[0060] 在另一方面,本发明提供了一种在受试者中预防将受益于补体因子B(CFB)表达降低的病症进展的方法,所述受试者具有病症的至少一个体征或症状但还不符合该病症的诊断标准。所述方法包括向所述受试者施用预防有效量的本发明的任何dsRNA或本发明的任何药物组合物,从而防止所述受试者进展到符合将受益于CFB表达降低的病症的诊断标准。

[0061] 在一个实施方案中,所述病症是补体因子B(CFB)相关病症。

[0062] 在一个实施方案中,所述受试者是人。

[0063] 在一个实施方案中,所述dsRNA剂以约0.01mg/kg至约50mg/kg的剂量施用于受试者。

[0064] 在一个实施方案中,将所述dsRNA剂皮下施用于所述受试者。

[0065] 在一个实施方案中,所述一个或多个受试者样本中的CFB水平是一个或多个血液或血清样本中的CFB蛋白水平。

[0066] 在一个实施方案中,向所述受试者施用所述剂导致溶血减少或CFB蛋白积累减少。

[0067] 在某些实施方案中,本发明的方法还包括向所述受试者施用另外的治疗剂。

[0068] 在一些方面,所述另外的治疗剂是靶向C5基因的iRNA剂,例如描述于美国专利第9,249,415号中的那些,该专利的全部内容通过引用并入本文。

[0069] 在其他方面,所述另外的治疗剂是靶向补体因子B(CFB)基因的iRNA剂,例如描述于美国专利第10,465,194号中的那些,该专利的全部内容通过引用并入本文。

[0070] 在其他方面,所述另外的治疗剂是C5抑制剂,例如抗补体成分C5抗体或其抗原结合片段(例如,依库珠单抗(eculizumab)、ravulizumab-cwvz或pozelimab(REGN3918))或C5肽抑制剂(例如,zilucoplan)。依库珠单抗是一种人源化单克隆IgG2/4,κ轻链抗体,其以高亲和力特异性结合补体成分C5,并抑制C5裂解为C5a和C5b,从而抑制末端补体复合物C5b-9的生成。在美国专利第6,355,245号中描述了依库珠单抗,该专利的全部内容通过引用并入本文。Ravulizumab-cwvz是一种人源化IgG2/4单克隆抗体,其以高亲和力特异性结合补体成分C5,并抑制C5裂解为C5a和C5b,从而抑制末端补体复合物C5b-9的生成。在WO2015134894中描述了Ravulizumab-cwvz,该专利的全部内容通过引用并入本文。Pozelimab(也被称为H4H12166P,描述于US20170355757中,该专利的全部内容通过引用并入本文)是设计用于阻断补体因子C5的全人IgG4单克隆抗体。Zilucoplan是一种合成的大环肽,其以亚纳摩尔级亲和力结合补体成分5(C5),并在经典途径、替代途径或凝集素途径激活时变构抑制C5裂解为C5a和C5b(参见例如WO2017105939,该专利的全部内容通过引用并入本文)。

[0071] 在其他方面,所述另外的治疗剂是C3肽抑制剂或其类似物。在一个实施方案中,所述C3肽抑制剂是compstatin。Compstatin是一种具有强效的和选择性的C3抑制活性的环状十三肽。Compstatin及其类似物描述于美国专利第7,888,323号、第7,989,589号和第8,442,776号、美国专利公布2012/0178694和2013/0053302以及PCT公布WO2012/174055、WO2012/2178083、WO 2013/036302中,每个专利的全部内容均通过引用并入本文。

[0072] 在某些实施方案中,将本领域已知的各种CFB相关疾病的治疗方法与本发明的

RNAi剂联合使用。

[0073] 本发明还提供了试剂盒,其包含本发明的任何dsRNA或本发明的任何药物组合物,以及可选的使用说明书。

附图说明

[0074] 图1描述了三种补体途径:替代途径、经典途径和凝集素途径。

[0075] 图2A是描绘了C3和CFB的双重靶向对体外人血清中替代溶血活性的影响的热图。

[0076] 图2B是描绘了C3和C5的双重靶向对体外人血清中替代溶血活性的影响的热图。

[0077] 图2C是描绘了C3和C5的双重靶向对体外人血清中经典溶血活性的影响的热图。

[0078] 图2D是描绘了C3和C5的双重靶向对体外人血清中的由Wieslab®补体经典途径(CCP)所测定的经典溶血活性的影响的热图。

[0079] 图3A是描绘了施用以下剂对非人灵长类动物血清中C3蛋白水平、CFB蛋白水平或C5蛋白水平的影响的图:单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂、或靶向CFB的dsRNA剂、或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或者单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。

[0080] 图3B是描绘了施用以下剂对非人灵长类动物血清中的替代溶血活性的影响的图:单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂;或靶向CFB的dsRNA剂;或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。

[0081] 图3C是描绘了施用以下剂对非人灵长类动物血清中的经典溶血活性的影响的图:单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂、或靶向CFB的dsRNA剂、或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。

[0082] 图3D是描绘了施用以下剂对非人灵长类动物的血清中的由Wieslab®补体替代途径(CAP)所测定的替代溶血活性的影响的图:单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂的、或靶向CFB的dsRNA剂、或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。

[0083] 图3E是描绘了施用以下剂对非人灵长类动物的血清中的由Wieslab®补体经典途径(CCP)所测定的经典溶血活性的影响的图:单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂、或靶向CFB的dsRNA剂、或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和单次6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。

具体实施方式

[0084] 本发明提供了iRNA组合物，其引起由RNA诱导的沉默复合物(RISC)介导的补体因子B(CFB)基因的RNA转录物的裂解。所述基因可以位于细胞内，例如受试者(如人类)的细胞内。使用这些iRNA能够靶向降解哺乳动物中相应基因(补体因子B基因)的mRNA。

[0085] 本发明的iRNA已被设计成靶向人补体因子B基因，包括在其他哺乳动物物种的补体因子B直系同源物中保守的基因部分。不希望受理论束缚，据信这些iRNA的前述性质和具体靶位点或具体修饰的组合或子组合赋予了本发明的iRNA以改善的功效、稳定性、效力、持久性和安全性。

[0086] 因此，本发明提供了使用引起由RNA诱导的沉默复合物(RISC)介导的补体因子B基因的RNA转录物裂解的iRNA组合物来治疗和预防补体因子B相关病症、疾病或病状的方法，所述病症、疾病或病状是例如具有炎症或免疫系统激活的病症、疾病或病状，例如膜攻击复合物介导的溶解、过敏反应或溶血，例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)如狼疮肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0087] 本发明的iRNA包含RNA链(所述反义链)，所述RNA链具有长度最多为约30个核苷酸或更少的区域，例如长度为19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个核苷酸的区域，所述区域与补体因子B基因的mRNA转录物的至少一部分是基本互补的。在某些实施方案中，本公开的RNAi剂包含具有长度为约21至23个核苷酸的区域的RNA链(所述反义链)，所述区域与补体因子B基因的mRNA转录物的至少一部分是基本互补的。

[0088] 在某些实施方案中，本发明的双链RNAi剂的一条或两条链具有最多达66个核苷酸的长度，例如36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53个核苷酸的长度，具有与补体因子B基因的mRNA转录物的至少一部分基本互补的至少19个连续核苷酸的区域。在一些实施方案中，此类具有较长反义链的iRNA剂可包括长度为20至60个核苷酸的第二RNA链(有义链)，其中所述有义链和所述反义链形成18至30个连续核苷酸的双链体。

[0089] 使用本发明的iRNA能够靶向降解哺乳动物中相应基因(补体因子B基因)的mRNA。使用体外和体内试验，本发明人已经证明靶向补体因子B基因的iRNA可以有效地介导RNAi，导致对补体因子B基因的表达的显著抑制。因此，包含这些iRNA的方法和组合物可用于治疗患有补体因子B相关病症的受试者，所述病症是例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0090] 因此，本发明提供了使用引起由RNA诱导的沉默复合物(RISC)介导的CFB基因的RNA转录物裂解的iRNA组合物来治疗患有将受益于补体因子B基因表达的抑制或降低的病症的受试者的方法和联合疗法，所述病症是例如补体因子B相关疾病，如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0091] 本发明还提供了用于预防患有将受益于补体因子B基因表达的抑制或降低的病症的受试者的至少一个症状的方法，所述病症是例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0092] 在某些实施方案中，向受试者施用dsRNA导致以下水平的降低:CFB mRNA水平、CFB蛋白水平、CH_{50}活性(总溶血补体的量度)、AH_{50}(补体替代途径的溶血活性的量度)、乳酸脱

氢酶(LDH)(血管内溶血的量度)、血红蛋白水平;C3、C9、C5、C5a、C5b和可溶性C5b-9复合物中任何一种或多种的水平。

[0093] 以下详细描述公开了如何制备和使用包含iRNA的组合物以抑制补体因子B基因的表达,以及用于治疗将受益于补体因子B基因表达的抑制或降低的受试者(例如,易患补体因子B相关病症或被诊断为患有补体因子B相关病症的受试者)的组合物、用途和方法。

[0094] I.定义

[0095] 为了更容易地理解本发明,首先定义某些术语。此外,应当注意,每当列举参数的值或值的范围时,其意图是介于所列举的值的中间的值和范围也旨在成为本发明的一部分。

[0096] 冠词“a”和“an”在本文中用于指代冠词的语法对象中的一个或多于一个(即,至少一个)。举例来说,“要素”是指一个要素或多于一个要素,例如,多个要素。

[0097] 术语“包括”在本文中用于表示短语“包括但不限于”,并且可与短语“包括但不限于”互换使用。

[0098] 除非上下文另有明确说明,术语“或”在本文中用于表示术语“和/或”并且可与术语“和/或”互换使用。例如,“有义链或反义链”被理解为“有义链或反义链,或有义链和反义链”

[0099] 术语“约”在本文中用于表示在本领域的典型公差范围内。例如,“约”可以理解为与平均值相差约2个标准差。在某些实施方案中,约是指±10%。在某些实施方案中,约是指±5%。当约出现在一系列数字或范围之前时,应当理解,“约”可以修饰该系列或范围中的每个数字。

[0100] 在数字或一系列数字之前的术语“至少”、“不少于”或“或更多”被理解为包括与术语“至少”相邻的数字,以及在逻辑上可包括的所有后续数字或整数,如从上下文中可以清楚看出的。例如,核酸分子中的核苷酸数必须是整数。例如,“21个核苷酸的核酸分子的至少19个核苷酸”是指19、20或21个核苷酸具有指定的性质。当至少出现在一系列数字或范围之前时,应当理解,“至少”可以修饰该系列或范围中的每个数字。

[0101] 如本文所用,“不超过”或“或小于”被理解为从上下文来看符合逻辑的与短语相邻的值和在逻辑上较小的值或整数,到零为止。例如,具有“不超过2个核苷酸”的突出的双链体具有2、1或0个核苷酸突出。当“不超过”出现在一系列数字或范围之前时,应当理解,“不超过”可以修饰该系列或范围中的每个数字。如本文所用,范围包括上限和下限。

[0102] 如本文所用,检测方法可以包括确定存在的分析物的量低于该方法的检测水平。

[0103] 在指定的靶位点和有义链或反义链的核苷酸序列之间存在矛盾的情况下,以所指定的序列优先。

[0104] 在序列与其在转录本或其他序列上的所指定的位点之间存在矛盾的情况下,以说明书中所提及的核苷酸序列优先。

[0105] 如本文所用,术语“补体因子B”,可与术语“CFB”互换使用,指众所周知的基因和多肽,在本领域中也被称为AHUS、BF、CFAB、BFD、FB、GBG、FBI12、B因子、备解素、H2-Bf、富含甘氨酸的β糖蛋白、C3前加速因子(Proaccelerator)、备解素因子2B、C3前激活因子、PBF2、富含甘氨酸的β糖蛋白、C3/C5转化酶、EC 3.4.21和EC 3.4.21.473。

[0106] 术语“CFB”包括人CFB,其氨基酸和核苷酸序列可见于例如GenBank登录号GI:

189181756;小鼠CFB,其氨基酸和核苷酸序列可见于例如GenBank登录号GI:218156288和GI:218156290;大鼠CFB,其氨基酸和核苷酸序列可见于例如GenBank登录号GI:218156284;以及黑猩猩CFB,其氨基酸和核苷酸序列可见于例如GenBank登录号GI:57114201。术语"CFB"还包括食蟹猴(Macaca fascicularis)CFB,其氨基酸和核苷酸序列可见于例如GenBank登录号GI:544428919和猕猴属(Macaca)基因组计划网站(macaque.genomics.org.cn/page/species/index.jsp)的基因条目,ENSMMUP00000000985(基因座=scaffold3881:47830:53620)。使用例如GenBank、UniProt、OMIM和猕猴属基因组计划网站,可以容易地获得CFB mRNA序列的其他实例。

[0107] 示例性的CFB核苷酸序列也可见于SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:7中。SEQ ID NO:8至SEQ ID NO:14分别是SEQ ID NO:1至SEQ ID NO:7的反义序列。

[0108] 如本文所用,术语"CFB"也指CFB基因中自然发生的DNA序列变异。CFB基因内序列变异的非限制性实例包括外显子12中的1598A>G,这导致氨基酸残基533处的赖氨酸变为精氨酸;外显子6中的858C>G,这导致氨基酸残基286处的苯丙氨酸变为亮氨酸;和外显子7中的967A>G,这导致氨基酸残基323处的赖氨酸变为丙氨酸(Tawadrous H.et al.(2010)Pediatr Nephrol.25:947;Goicoechea de Jorge E et al.(2007)Proc Natl Acad Sci.USA 104:240)。如本文所用,术语"CFB"也指CFB基因中的单核苷酸多态性。已经鉴定出CFB基因中的许多序列变异,并可见于例如NCBI dbSNP和UniProt中(参见例如ncbi.nlm.nih.gov/snp)。

[0109] 更多有关CFB的信息可见于www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/629。

[0110] CFB mRNA序列的其他实例可通过公开数据库例如GenBank、UniProt、OMIM和猕猴属基因组计划网站容易地获得。

[0111] 截至本申请的提交日,上述GenBank登录号和基因数据库号的全部内容均通过引用并入本文。

[0112] 如本文所用,"靶序列"指在补体因子B基因转录期间形成的mRNA分子的核苷酸序列的连续部分,包括作为初级转录产物的RNA加工产物的mRNA。序列的靶部分至少足够长以在CFB基因转录过程中形成的mRNA分子的核苷酸序列部分或其附近用作iRNA引导裂解的底物。在一个实施方案中,靶序列在CFB的蛋白质编码区域内。

[0113] 靶序列的长度可以是约19至36个核苷酸,例如约19至30个核苷酸。例如,靶序列的长度可以是约19至30个核苷酸、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个核苷酸。在一些实施方案中,靶序列的长度为约19至约30个核苷酸。在其他实施方案中,靶序列的长度为约19至约25个核苷酸。在其他实施方案中,靶序列的长度为约19至约23个核苷酸。在一些实施方案中,靶序列的长度为约21至约23个核苷酸。介于上文列举的范围及长度之间的范围及长度也被认为是本发明的一部分。

[0114] 如本文所用,术语"包含序列的链"指包含核苷酸链的寡核苷酸,通过参照使用标准核苷酸命名法的序列来描述。

[0115] 通常,"G"、"C"、"A"、"T"和"U"各自分别代表含有鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶和尿嘧啶作为碱基的核苷酸。然而,应当理解,术语"核糖核苷酸"或"核苷酸"亦可指经修

饰的核苷酸,如下文进一步详述的,或代理替换部分(surrogate replacement moiety)(参见,例如表1)。技术人员熟知,鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤及尿嘧啶可以被其他部分替换而基本上不改变包含带有此替换部分的核苷酸的寡核苷酸的碱基配对特性。例如但不限于,包含肌苷作为其碱基的核苷酸可与含有腺嘌呤、胞嘧啶或鸟嘌呤的核苷酸进行碱基配对。因此,本发明表征的dsRNA的核苷酸序列中的含有尿嘧啶、鸟嘌呤或腺嘌呤的核苷酸可被替换为含有例如肌苷的核苷酸。在另一实例中,寡核苷酸中任意位置的腺嘌呤及胞嘧啶可分别被替换为鸟嘌呤及尿嘧啶,以与靶mRNA形成G-U摇摆(Wobble)碱基配对。含有此类替换部分的序列适用于本发明表征的组合物和方法。

[0116] 如本文中可互换使用的,术语“iRNA”、“RNAi剂”、“iRNA剂”、“RNA干扰剂”是指含有如本文中术语所定义的RNA的剂,其通过RNA诱导的沉默复合物(RISC)途径介导RNA转录本的靶向裂解。iRNA通过被称为RNA干扰(RNAi)的过程引导mRNA的序列特异性降解。iRNA调节(例如抑制)补体因子B基因在细胞中例如受试者(如哺乳动物受试者)体内的细胞中的表达。

[0117] 在一个实施方案中,本发明的RNAi剂包括单链RNA,其与靶RNA序列(例如补体因子B靶mRNA序列)相互作用,以引导该靶RNA的裂解。不希望受理论束缚,据信,被引入细胞内的长双链RNA通过被称为Dicer的III型核酸内切酶分解成siRNA(Sharp et al.(2001)Genes Dev.15:485)。Dicer,一种核糖核酸酶III样酶,其将dsRNA加工成19至23个碱基对的短干扰RNA,该短干扰RNA具有特征性的二碱基3’突出(Bernstein,et al.,(2001)Nature 409:363)。然后将siRNA整合到RNA诱导的沉默复合物(RISC)中,在其中一种或多种解旋酶解开siRNA双链体,使得互补的反义链能够引导靶向识别(Nykanen,et al.,(2001)Cell 107:309)。在与合适的靶mRNA结合后,RISC内的一种或多种核酸内切酶裂解靶标以诱导沉默(Elbashir,et al.,(2001)Genes Dev.15:188)。因此,在一个方面,本发明涉及一种在细胞内产生的单链RNA(siRNA),其促进RISC复合物的形成以有效沉默靶基因,即补体因子B(CFB)基因。因此,术语“siRNA”在本文中也用于指代如上所述的iRNA。

[0118] 在某些实施方案中,RNAi剂可以是被引入细胞或生物体中以抑制靶mRNA的单链siRNA(ssRNAi)。单链RNAi剂与RISC核酸内切酶Argonaute 2结合,然后后者裂解靶mRNA。单链siRNA通常为15至30个核苷酸且经化学修饰。单链siRNA的设计及测试描述于美国专利第8,101,348号及Lima et al.,(2012)Cell 150:883-894中,这些文献各自的全部内容通过引用而并入本文。本文中描述的任意反义核苷酸序列可用作本文所述单链siRNA或通过由Lima et al.,(2012)Cell 150:883-894中描述的方法进行化学修饰后再使用。

[0119] 在某些实施方案中,用于本发明的组合物、用途和方法中的“iRNA”是双链RNA,并且在本文中被称为“双链RNA剂”、“双链RNA(dsRNA)分子”、“dsRNA剂”或“dsRNA”。术语“dsRNA”是指核糖核酸分子的复合体,具有包含两条反向平行且基本互补的核酸链的双链体结构,这两条核酸链是指具有相对于靶RNA即补体因子B(CFB)基因的“有义”定向及“反义”定向。在本发明的一些实施方案中,双链RNA(dsRNA)通过转录后基因沉默机制(在本文中被称为RNA干扰或RNAi)触发靶RNA(例如mRNA)的降解。

[0120] 如本文所用,术语“经修饰的核苷酸”是指独立地具有经修饰的糖部分、经修饰的核苷酸间键、或经修饰的核碱基、或其任意组合的核苷酸。因此,术语“经修饰的核苷酸”包括核苷酸间键、糖部分或核碱基的例如官能团或原子的替换、添加或移除。适用于本发明的

剂中的修饰包括本文公开的或本领域已知的所有类型的修饰。出于本说明书和权利要求书的目的，用于siRNA型分子中的任何此类修饰都包括在“iRNA”或“RNAi剂”中。

[0121] 在本公开的某些实施方案中，将脱氧核苷酸(其被认为是核苷酸的天然存在形式)(如果存在)包含在RNAi剂中可以被认为构成了经修饰的核苷酸。

[0122] 双链体区域可以是允许所需的靶RNA通过RISC途径特异性降解的任何长度，并且长度可以为约19至36个碱基对，例如，约19至30个碱基对的长度，例如，约9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、或36个碱基对的长度，例如约19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个碱基对的长度。在某些实施方案中，双链体区域长度为19至21个碱基对，例如长度为21个碱基对。介于上文列举的范围及长度的间的范围及长度亦被认为是本发明的一部分。

[0123] 形成双链体结构的两条链可以是一个较大RNA分子的不同部分，或者它们可以是分别的RNA分子。当两条链是一个较大分子的一部分并因此而通过在一条链的3’端与相对的另一条链的5’端的之间的不间断核苷酸链相连接形成双链体结构时，则该连接RNA链被称为“发夹环”。发夹环可以包含至少一个未配对的核苷酸。在一些实施方案中，发夹环可包含至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少20个、至少23个或更多个未配对的核苷酸。在一些实施方案中，发夹环可以是10个或更少个核苷酸。在一些实施方案中，发夹环可以是8个或更少个未配对的核苷酸。在一些实施方案中，发夹环可以是4至10个未配对的。在一些实施方案中，发夹环可以是4至8个核苷酸。

[0124] 在某些实施方案中，双链寡聚化合物的两条链可以连接在一起。两条链可以在两端相互连接，也可以只在一端相互连接。通过一端连接是指第一条链的5’端连接到第二条链的3’端，或者第一条链的3’端连接到第二条链的5’端。当两条链在两端相互连接时，第一条链的5’端连接到第二条链的3’端，第一条链的3’端连接到第二条链的5’端。这两条链可以通过寡核苷酸接头连接在一起，所述寡核苷酸接头包括但不限于(N)n；其中N独立地是经修饰的核苷酸或未修饰的核苷酸，n是3至23。在一些实施方案中，n是3至10，例如3、4、5、6、7、8、9或10。在一些实施方案中，寡核苷酸接头选自由GNRA、(G)4、(U)4和(dT)4组成的组，其中N是经修饰的核苷酸或未修饰的核苷酸，R是经修饰的嘌呤核苷酸或未修饰的嘌呤核苷酸。接头中的一些核苷酸可以参与到与接头中的其他核苷酸的碱基对相互作用中。两条链也可以通过非核苷接头例如本文所述的接头连接在一起。本领域技术人员将会理解，本文所述的任意寡核苷酸化学修饰或变体都可以用于寡核苷酸接头。

[0125] 发夹和哑铃型寡聚化合物将具有等于或至少14、15、15、16、17、18、19、29、21、22、23、24或25个核苷酸对的双链体区域。双链体区域的长度可以等于或小于200、100或50。在一些实施方案中，双链体区域的长度范围为15至30、17至23、19至23和19至21个核苷酸对。

[0126] 发夹寡聚化合物可以具有单链突出或末端未配对区域，在一些实施方案中，所述单链突出或末端未配对区域是在3’端，在一些实施方案中，所述单链突出或末端未配对区域是在发夹的反义侧。在一些实施方案中，突出的长度为1至4个，更通常为2至3个核苷酸。在本文中，可诱导RNA干扰的发夹寡聚化合物也被称为“shRNA”。

[0127] 当dsRNA的两条基本互补的链是由分别的RNA分子构成时，这些分子不必是共价连

接的，但可以是共价连接的。当两条链通过一条链的3’端与相对的另一条链的5’端之间的未中断核苷酸链来形成双链体结构以外的方式进行共价连接时，则该连接结构被称为“接头”。RNA链可具有相同或不同数目的核苷酸。碱基对的最大数目是dsRNA的最短链中的核苷酸数减去双链体中存在的任何突出的数目。除了双链体结构外，RNAi可包含一个或多个核苷酸突出。在RNAi剂的一个实施方案中，至少一条链包含至少1个核苷酸的3’突出。在另一实施方案中，至少一条链包含至少2个核苷酸的3’突出，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸的3’突出。在其他实施方案中，RNAi剂的至少一条链包含至少1个核苷酸的5’突出。在某些实施方案中，至少一条链包含至少2个核苷酸的5’突出，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸的5’突出。在其他实施方案中，RNAi剂一条链的3’端和5’端都包含至少1个核苷酸的突出。

[0128] 在某些实施方案中，本发明的iRNA剂是dsRNA，其每条链包含19至23个核苷酸，其与靶RNA序列例如补体因子B(CFB)基因相互作用以引导靶RNA的裂解。

[0129] 在一些实施方案中，本发明的iRNA是24至30个核苷酸的dsRNA，其与靶RNA序列例如CFB靶mRNA序列相互作用以引导靶RNA的裂解。

[0130] 如本文所用，术语“核苷酸突出”是指从双链iRNA的双链体结构凸出的至少一个未配对的核苷酸。例如，当dsRNA的一条链的3’端延伸到超过另一条链的5’端时，或当dsRNA的一条链的3’端延伸到不超过另一条链的5’端时，则存在核苷酸突出。dsRNA可以包含至少一个核苷酸的突出；或者，该突出可以包含至少两个核苷酸、至少三个核苷酸、至少四个核苷酸、至少五个核苷酸或更多。核苷酸突出可以包含或由核苷酸/核苷类似物或由核苷酸/核苷类似物组成，该核苷酸/核苷类似物包括脱氧核苷酸/核苷。一个或多个突出可位于有义链、反义链或其任意组合上。此外，突出的一个或多个核苷酸可存在于dsRNA的反义链或有义链的5’端、3’端或两端。

[0131] 在dsRNA的一个实施方案中，至少一条链包含至少1个核苷酸的3’突出。在另一实施方案中，至少一条链包含至少2个核苷酸的3’突出，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸的3’突出。在其他实施方案中，RNAi剂的至少一条链包含至少1个核苷酸的5’突出。在某些实施方案中，至少一条链包含至少2个核苷酸的5’突出，例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸的5’突出。在其他实施方案中，RNAi剂一条链的3’端和5’端都包含至少1个核苷酸的突出。

[0132] 在一个实施方案中，dsRNA的反义链在3’-端或5’-端具有1至10个核苷酸的突出，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出。在一个实施方案中，dsRNA的有义链在3’-端或5’-端具有1至10个核苷酸的突出，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出。在另一实施方案中，该突出中的一个或多个核苷酸被核苷硫代磷酸酯替换。

[0133] 在某些实施方案中，dsRNA的反义链在3’-端或5’-端具有1至10个核苷酸的突出，例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出。在某些实施方案中，位于有义链或反义链或两者中的突出可包括大于10个核苷酸的延伸长度，例如，1至30个核苷酸、2至30个核苷酸、10至30个核苷酸、10至25个核苷酸、10至20个核苷酸或10至15个核苷酸的长度。在某些实施方案中，延伸的突出位于双链体的有义链上。在某些实施方案中，延伸的突出存在于双链体的有义链的3’端。在某些实施方案中，延伸的突出存在于双链体的有义链的5’端。在某些实施方案中，延伸的突出位于双链体的反义链上。在某些实施方案中，延伸的突出存在于双链

体反义链的3'端。在某些实施方案中，延伸的突出存在于双链体反义链的5'端。在某些实施方案中，延伸的突出中的一个或多个核苷酸被替换为核苷硫代磷酸酯。在某些实施方案中，突出包括自我互补的部分，使得该突出能够形成在生理条件下稳定的发夹结构。

[0134] “钝的”或“钝端”是指在双链RNA剂的末端没有未配对的核苷酸，即没有核苷酸突出。“钝端的”双链RNA剂在其整个长度上都是双链的，即在分子的任一端都没有核苷酸突出。本发明的RNAi剂包括在一端没有核苷酸突出的RNAi剂(即具有一个突出和一个钝端的剂)或在两端都没有核苷酸突出的RNAi剂。大多数情况下，此类分子将于其整个长度上都是双链的。

[0135] 术语“反义链”或“引导链”是指iRNA例如dsRNA的链，其包括与靶序列(例如CFB mRNA)基本互补的区域。

[0136] 如本文所用，术语“互补性区域”指反义链上的与序列如本文所定义的靶序列(如补体因子B核苷酸序列)基本互补的区域。如果互补性区域与靶序列不完全互补，则错配可存在于分子的内部区域或末端区域。通常，最耐受的错配存在于末端区域内，例如在iRNA的5'-端或3'-端的5、4或3个核苷酸内。在一些实施方案中，本发明的双链RNA剂包括反义链中的核苷酸错配。在一些实施方案中，本发明的双链RNA剂的反义链包括不超过4个与靶mRNA的错配，例如，反义链包括4、3、2、1或0个与靶mRNA的错配。在一些实施方案中，本发明的反义链双链RNA剂包括不超过4个与有义链的错配，例如，反义链包括4、3、2、1或0个与有义链的错配。在一些实施方案中，本发明的双链RNA剂包括有义链中的核苷酸错配。在一些实施方案中，本发明的双链RNA剂的有义链包括不超过4个与反义链的错配，例如，有义链包括4、3、2、1或0个与反义链的错配。在一些实施方案中，核苷酸错配例如在iRNA 3'-端的5、4、3个核苷酸内。在另一实施方案中，核苷酸错配例如在iRNA剂的3'末端核苷酸中。在一些实施方案中，错配不在种子区域中。

[0137] 因此，本文所述的RNAi剂可以含有与靶序列的一个或多个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过3个错配(即3、2、1或0个错配)。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过2个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过1个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含0个错配。在某些实施方案中，如果RNAi剂的反义链含有与靶序列的错配，则可以任选地将该错配限制在互补性区域的5'端或3'端的最后5个核苷酸内。例如，在此类实施方案中，对于23个核苷酸的RNAi剂，与CFB基因区域互补的链通常在中心的13个核苷酸内不含任何错配。本文描述的方法或本领域已知的方法可用于确定含有与靶序列错配的RNAi剂是否能有效抑制CFB基因的表达。考虑具有错配的RNAi剂在抑制CFB基因表达中的功效是重要的，尤其是如果已知CFB基因中特定的互补性区域在群体中具有多态性序列变异。

[0138] 如本文所用，术语“有义链”或“过客链”是指iRNA的包含与本文定义的反义链区域基本互补的区域的链。

[0139] 如本文所用，“基本上所有的核苷酸都经修饰”是大部分但不是全部都经修饰，可以包括不超过5、4、3、2或1个未修饰的核苷酸。

[0140] 如本文所用，术语“裂解区域”是指紧邻裂解位点的区域。裂解位点是靶标上发生裂解的位点。在一些实施方案中，裂解区域包含位于裂解位点任一端且紧邻该裂解位点的三个碱基。在一些实施方案中，裂解区域包含位于裂解位点任一端且紧邻该裂解位点的两

个碱基。在一些实施方案中，裂解位点特异性地出现在反义链的核苷酸10和11所结合的位点，且裂解区域包含核苷酸11、12及13。

[0141] 如本文所用，除非另有说明，当术语“互补”被用来描述第一核苷酸序列和第二核苷酸序列的关系时，正如技术人员所理解的那样，其是指包含该第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在特定条件下与包含该第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交并形成双链体结构的能力。此类条件可以是，例如，“严格条件”，其中严格条件可以包括：400mM NaCl，40mM PIPES pH 6.4，1mM EDTA，50℃或70℃，持续12至16小时，然后洗涤(参见，例如“Molecular Cloning:A Laboratory Manual，Sambrook，et al.(1989)Cold Spring Harbor Laboratory Press)。可以应用其他条件例如可在生物体内遇到的生理学相关条件。技术人员将能够根据所杂交的核苷酸的最终应用来确定最适用于两个序列的互补性测试的条件设置。

[0142] 如本文所述的iRNA如dsRNA内的互补序列包括包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一个或两个核苷酸序列的全长上的碱基配对。在本文中，此类序列可被称为彼此是“完全互补的”。然而，在本文中，如果第一序列相对于第二序列被称为是“基本互补的”，则这两个序列可以是完全互补的，或在杂交形成多达30个碱基对的双链体时，它们可形成一个或多个但通常不超过5、4、3或2个错配的碱基对，同时保留在最适于其最终应用(例如在体外或体内抑制基因的表达)的条件下杂交的能力。然而，如果两个寡核苷酸被设计为在杂交时形成一个或多个单链突出，则就确定互补性而言，此类突出不应被视为错配。例如，包含一个长度为21个核苷酸的寡核苷酸和另一个长度为23个核苷酸的寡核苷酸的dsRNA，其中较长的核苷酸包含一个与较短的核苷酸完全互补的21个核苷酸的序列，出于本文所述目的，其仍可被称为是“完全互补的”。

[0143] 如本文所用，“互补的”序列也可包括非Watson-Crick碱基对或由非天然核苷酸及经修饰的核苷酸形成的碱基对，或完全由非Watson-Crick碱基对或由非天然核苷酸及经修饰的核苷酸形成的碱基对形成，只要满足上述关于它们的杂交能力的要求。此类非Watson-Crick碱基对包括但不限于G:U摇摆或Hoogsteen碱基配对。

[0144] 在本文中，术语“互补的”、“完全互补的”及“基本互补的”可用于描述dsRNA的有义链与反义链之间的碱基匹配，或两个寡核苷酸或多核苷酸(如双链RNA剂的反义链和靶序列)之间的碱基匹配，如可从其使用的上下文中将理解的。

[0145] 如本文所用，与信使RNA(mRNA)的“至少一部分是基本上互补”的多核苷酸是指与感兴趣的mRNA(例如，编码补体因子B基因的mRNA)的连续部分基本上互补的多核苷酸。例如，如果多核苷酸序列与编码补体因子B基因的mRNA的不间断部分是基本互补的，则该多核苷酸与补体因子B mRNA的至少一部分是互补的。

[0146] 因此，在一些实施方案中，本文公开的反义多核苷酸与靶CFB序列是完全互补的。

[0147] 在其他实施方案中，本文公开的反义多核苷酸与靶CFB序列是基本互补的，并且包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:35中任一个的核苷酸序列或SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、

SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:31、SEQ ID NO:33或SEQ ID NO:35的中任一个的片段的等同区域是至少80％互补的，例如是约85％、约90％、约91％、约92％、约93％、约94％、约95％、约96％、约97％、约98％或约99％互补的。

[0148] 在一些实施方案中，本文公开的反义多核苷酸与靶CFB序列的片段是基本互补的，并且包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与选自SEQ ID NO:1的核苷酸943-965、788-810、734-756、1016-1038、1013-1035、1207-1229、1149-1171、574-596、1207-1229或828-850的组的SEQ ID NO:1的片段是至少80％互补的，例如是约85％、约90％、约95％互补的或完全互补的。

[0149] 在一些实施方案中，本文公开的反义多核苷酸与靶CFB序列的片段是基本互补的，并且包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与选自SEQ ID NO:1的核苷酸153-175、202-224、219-241、254-276、304-326、321-343、347-369、402-424、418-440、447-469、491-513、528-550、549-571、566-588、591-613、792-814、819-841、967-989、1042-1064、1234-1256、1250-1272、1269-1291、1335-1357、1354-1376、1372-1394、1422-1444、1496-1518、1670-1692、1716-1738、1757-1779、1774-1796、1793-1815、1844-1866、1871-1893、1909-1931、1924-1947、1947-1969、2161-2183、2310-2332、2330-2352、2355-2377、2494-2516和2527-2549的组的SEQ ID NO:1的片段是至少80％互补的，例如是约85％、约90％、约95％互补的或完全互补的。

[0150] 在其他实施方案中，本文公开的反义多核苷酸与靶CFB序列是基本互补的，并且包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一有义链核苷酸序列或表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一有义链核苷酸序列的片段是至少约80％互补的，例如是约85％、约90％、约95％互补的或完全互补的。

[0151] 在一个实施方案中，本公开的RNAi剂包括与反义多核苷酸基本互补的有义链，所述反义多核苷酸又与靶CFB序列相同，并且其中所述有义链多核苷酸包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:36中任一个的核苷酸序列或SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:36中任一个的片段的等同区域是至少约80％互补的，例如是约85％、约90％、约95％互补的或完全互补的。

[0152] 在一些实施方案中，本发明的iRNA包括与反义多核苷酸基本互补的有义链，所述反义多核苷酸又与靶补体因子B序列互补，并且其中所述有义链多核苷酸包含连续核苷酸序列，所述连续核苷酸序列在其全长上与表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中的任一反义链核苷酸序列或表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中任一反义链核苷酸序列的片段是至少约80％互补的，例如是约85％、约90％、约95％互补的或完全互补的。

[0153] 在某些实施方案中，有义链和反义链选自以下任一经化学修饰的双链体：AD-

560018、AD-559375、AD-559160、AD-559374、AD-559060、AD-559721、AD-559026、AD-558225、AD-557069、AD-558068、AD-557422、AD-558063、AD-558066、AD-556701、AD-558657、AD-559020、AD-559023、AD-558860、AD-560019、AD-560016、AD-559008、AD-559717、AD-557072、AD-558097、AD-557774、AD-557070、AD-558065、AD-557853、AD-557079。

[0154] 在某些实施方案中，有义链和反义链选自以下任一经化学修饰的双链体：AD-560132.1、AD-560099.1、AD-559998.1、AD-559993.1、AD-559973.1、AD-559882.1、AD-559706.1、AD-559704.1、AD-559688.1、AD-559668.1、AD-559641.1、AD-559609.1、AD-559590.1、AD-559573.1、AD-559532.1、AD-559486.1、AD-559330.1、AD-559274.1、AD-559226.1、AD-559208.1、AD-559189.1、AD-559124.1、AD-559105.1、AD-559089.1、AD-558935.1、AD-558879.1、AD-558777.1、AD-558750.1、AD-558637.1、AD-558612.1、AD-558595.1、AD-558574.1、AD-558555.1、AD-558511.1、AD-558482.1、AD-558466.1、AD-558450.1、AD-558424.1、AD-558407.1、AD-558393.1、AD-558378.1、AD-558361.1、AD-558312.1。

[0155] 在一些实施方案中，双链iRNA剂的双链区域的长度等于或至少为17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29、30或更多个核苷酸对。

[0156] 在一些实施方案中，双链iRNA剂的反义链的长度等于或至少为17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。

[0157] 在一些实施方案中，双链iRNA剂的有义链的长度等于或至少为17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。

[0158] 在一个实施方案中，双链iRNA剂的有义链和反义链的长度各自为18至30个核苷酸。

[0159] 在一个实施方案中，双链iRNA剂的有义链和反义链的长度各自为19至25个核苷酸。

[0160] 在一个实施方案中，双链iRNA剂的有义链和反义链的长度各自为21至23个核苷酸。

[0161] 在一个实施方案中，iRNA剂的有义链的长度为21个核苷酸，反义链的长度为23个核苷酸，其中所述链形成21个连续碱基对的双链区域，其在3'端具有2个核苷酸长的单链突出。

[0162] 在一些实施方案中，每条链的大多数核苷酸是核糖核苷酸，但是如本文详细描述的，每条链或两条链也可以包括一个或多个非核糖核苷酸例如脱氧核糖核苷酸或经修饰的核苷酸。此外，“iRNA”可以包括具有化学修饰的核糖核苷酸。此类修饰可包括本文公开的或本领域已知的所有类型的修饰。出于本说明书和权利要求书的目的，用于iRNA分子中的任何此类修饰都涵盖在“iRNA”中。

[0163] 在本公开的某些实施方案中，将脱氧核苷酸(如果存在)包含在RNAi剂中可以被认为构成了经修饰的核苷酸。

[0164] 在一个实施方案中，对CFB基因的表达的至少部分抑制是通过第一细胞或第一组细胞(在其中CFB基因被转录，并且已经被处理使得CFB基因的表达被抑制)中分离或检测到的CFB mRNA的量相对于组的量相对于基本上与第一细胞或第一组细胞相同但未经如是处理的第二细胞或第二组细胞(对照细胞)的减少来评估的。抑制程度可以表示为：

[0165] $$\frac{(\text{对照细胞中的mRNA})-(\text{经处理细胞中的mRNA})}{(\text{对照细胞中的mRNA})}\bullet 100\%$$

[0166] 如本文所用,短语“使细胞与iRNA接触”,例如dsRNA,包括通过任何可能的方式与细胞接触。使细胞与iRNA接触包括使细胞与iRNA在体外接触或使细胞与iRNA在体内接触。接触可以直接或间接地完成。因此,例如,iRNA可通过方法实施人使其与细胞进行物理接触,或者,可将iRNA置于将允许或导致其随后与细胞接触的条件下。

[0167] 体外与细胞接触的完成可以通过例如将细胞与iRNA一起孵育来完成。体内与细胞接触的完成可以例如通过将iRNA注射至细胞所在的组织内或邻近该组织处,或通过将iRNA注射至另一区域,例如注射至血流或皮下空间内,使得该剂将随后到达待接触的细胞所在的组织。例如,iRNA可以包含配体(例如GalNAc)或与配体偶联,所述配体引导iRNA至感兴趣的部位例如肝脏。体外接触方法和体内接触方法的组合也是可以的。例如,细胞也可以在体外与iRNA接触,并随后移植到受试者体内。

[0168] 在某些实施方案中,使细胞与iRNA接触包括通过促进或影响细胞的摄取或吸收而“将iRNA引入细胞”或“将iRNA递送至细胞”。iRNA的吸收或摄取可以通过无辅助的扩散或主动的细胞过程发生,或通过辅助剂或辅助装置发生。将iRNA引入细胞可以是体外的或体内的。例如,对于体内引入,可以将iRNA注射到组织部位或将其全身性施用。体外引入细胞包括本领域中已知的方法,如电穿孔和脂质转染。更多方法描述于下文中或在本领域中是已知的。

[0169] 术语“脂质纳米颗粒”或“LNP”是包含脂质层的囊泡,所述脂质层封装有药物活性分子例如核酸分子,例如iRNA或转录iRNA的质粒。LNP描述于例如美国专利第6,858,225号、第6,815,432号、第8,158,601号和第8,058,069号中,这些专利的全部内容均通过引用并入本文。

[0170] 如本文所用,“受试者”是内源性地或异源性地表达靶基因的动物如哺乳动物,包括灵长类动物(例如人、非人灵长类动物例如猴和黑猩猩),非灵长类动物(诸如兔、绵羊、仓鼠、豚鼠、狗、大鼠、或小鼠)或禽类。在一个实施方案中,受试者是人,例如因将受益于CFB表达的降低的疾病或病症正接受治疗或正被评估的人;处于将受益于CFB表达的降低的疾病或病症的风险中的人;患有将受益于CFB表达的降低的疾病或病症的人;或因将受益于如本文所述的CFB表达的降低的疾病或病症而正在进行治疗的人。在一些实施方案中,受试者是女性。在其他实施方案中,受试者是男性。在一个实施方案中,受试者是成人受试者。在另一实施方案中,受试者是儿童受试者。

[0171] 如本文所用,术语“治疗/处理(treating)”或“治疗/处理(treatment)”是指有益的或期望的结果,例如减少受试者中CFB相关病症的至少一个体征或症状。治疗/处理还包括减少与不希望的CFB表达相关的一个或多个体征或症状;减少不希望的CFB活化或稳定的程度;改善或减轻不希望的CFB活化或稳定。“治疗/处理”也可以指与未进行治疗/处理时的预期生存期相比,延长生存期。

[0172] 在受试者的CFB水平或疾病标志物或症状的上下文中,术语“较低”是指该水平在统计学上的显著降低。降低可以是例如至少10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。在某些实施方案中,降低

是至少20％。在某些实施方案中，疾病标志物例如蛋白质或基因表达水平的降低是至少50％。在受试者的CFB水平的上下文中，“较低”是指降低到对于未患此类病症的个体而言正常范围内可接受的水平。在某些实施方案中，靶标的表达被正常化，即，朝着对于未患此类病症的个体而言正常范围内可接受的水平降低或降低到对于未患此类病症的个体而言正常范围内可接受的水平，例如体重、血压或血清脂质水平的正常化。如本文所用，在受试者中的“较低”可指受试者细胞中基因表达或蛋白质产生的降低，而不要求在受试者所有细胞或组织中表达的降低。例如，如本文所用，在受试者中的降低可包括受试者肝脏中基因表达或蛋白质产生的降低。

[0173] 术语“较低”也可用于使疾病或病状的症状正常化，即降低患有CFB相关疾病的受试者的水平与未患有CFB相关疾病的正常受试者的水平之间的差异。例如，如果正常体重为70公斤的受试者在治疗前的体重为90公斤(超重20公斤)，治疗后体重为80公斤(超重10公斤)，则受试者的体重向正常体重降低了50％(10/20×100％)。类似地，如果女性的HDL水平从50mg/dL(差)增加到57mg/dL，而正常水平为60mg/dL，则受试者先前水平和正常水平之间的差异减少了70％(受试者水平和正常水平之间的10mg/dL的差异减少了7mg/dL，7/10×100％)。如本文所用，如果疾病与症状的升高值有关，“正常”被认为是正常的上限。如果疾病与症状的降低值有关，“正常”被认为是正常的下限。

[0174] 如本文所用，当用于涉及将受益于CFB基因表达的降低或CFB蛋白产生的减少的疾病、病症或其病状时，“预防”或“防止”是指防止具有疾病的至少一种体征或症状的受试者发展出进一步的体征和症状而符合该疾病的诊断标准。在某些实施方案中，预防包括与通过自然史研究或疾病的典型进展所预测的相比，延迟的(延迟数天、数周、数月或数年)进展至符合疾病的诊断标准。

[0175] 如本文所用，术语“补体因子B疾病”或“CFB相关疾病”是由补体激活引起的或与之相关的疾病或病症。术语“CFB相关疾病”包括将受益于CFB基因表达、复制或蛋白质活性的降低的疾病、病症或病状。CFB相关疾病的非限制性实例包括，例如阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)、哮喘、类风湿性关节炎(RA)；抗磷脂抗体综合征；狼疮性肾炎；缺血再灌注损伤；典型或传染性溶血性尿毒综合征(tHUS)；致密物沉积病(DDD)；视神经脊髓炎(NMO)；多灶性运动神经病(MMN)；多发性硬化(MS)；黄斑变性(例如，年龄相关性黄斑变性(AMD))；溶血、肝酶升高和低血小板(HELLP)综合征；血栓性血小板减少性紫癜(TTP)；自发性流产；寡免疫血管炎；大疱性表皮松解症；复发性流产；先兆子痫、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎大疱性类天疱疮、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒综合征、C3神经病、抗中性粒细胞胞质抗体相关血管炎(例如肉芽肿性多血管炎(以前被称为韦格纳肉芽肿病)、Churg-Strauss综合征和显微镜下多血管炎)、体液和血管移植排斥、移植物功能障碍、心肌梗死(例如心肌梗死中的组织损伤和缺血)、同种异体移植、败血症(例如败血症预后不良)、冠状动脉疾病、皮肌炎、格雷夫斯病，动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、全身炎症反应性败血症、败血性休克、脊髓损伤、肾小球肾炎、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、ITP、Goodpasture综合征、Degos病、抗磷脂综合征(APS)、灾难性APS(CAPS)、心血管病症、心肌炎、脑血管病症、外周(例如肌肉骨骼)血管病症、肾血管病症、肠系膜/肠血管病症、血管炎、Henoch-Schönlein紫癜性肾炎、系统性红斑狼疮相关血管炎、类风湿性关节炎相关血管炎、免疫复合物血管炎、

Takayasu病、扩张性心肌病、糖尿病血管病变、川崎病(动脉炎)、静脉气体栓塞(VGE),和支架置入、旋磨术和经皮腔内冠状动脉血管成形术(PTCA)后再狭窄(参见例如Holers(2008)Immunological Reviews 223:300-316;Holers和Thurman(2004)Molecular Immunology 41:147-152;美国专利公布第20070172483号)。

[0176] 在一个实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

[0177] 在另一实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0178] 本文提供了关于各种疾病或病症的体征和症状的更多细节,并且这些细节在本领域是众所周知的。

[0179] 如本文所用,“治疗有效量”旨在包括当将RNAi剂施用给患有CFB相关疾病的受试者时,足以有效治疗该疾病的量(例如,通过减轻、改善或维持现有疾病或疾病的一个或多个症状)。“治疗有效量”可以根据RNAi剂、剂的施用方式、疾病及其严重程度和待治疗的受试者的病史、年龄、体重、家族病史、遗传构成、既往治疗或伴随治疗的类型(如果有)、以及其他个体特征而变化。

[0180] 如本文所用,“预防有效量”旨在包括当将RNAi剂施用给具有CFB相关疾病的至少一个体征或症状的受试者时,足以防止或延迟受试者进展到符合该疾病的全部诊断标准的量。疾病的预防包括减缓疾病发展到全面爆发的进程。“预防有效量”可以根据RNAi剂、剂的施用方式、疾病的风险程度和待治疗的受试者的病史、年龄、体重、家族病史、遗传构成、既往治疗或伴随治疗的类型(如果有)、以及其他个体特征而变化。

[0181] “治疗有效量”或“预防有效量”还包括以适用于任何治疗的合理效益/风险比率产生一些期望效果的RNAi剂的量。本发明方法中使用的iRNA可以以足以产生适用于这种治疗的合理效益/风险比率的量来施用。

[0182] 如本文所用,短语“药学上可接受的”是指,在合理的医学判断范围内,那些适用于与人类受试者和动物受试者的组织接触而无过度毒性、刺激性、过敏反应或其他问题或并发症即符合合理效益/风险比率的化合物、材料、组合物或剂型。

[0183] 如本文所用,短语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组合物或媒介物(vehicle),如液体填充剂或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、制造助剂(例如,润滑剂、滑石粉、硬脂酸镁、硬脂酸钙或硬脂酸锌、或硬脂酸)、或溶剂封装材料,涉及将受试化合物从一个器官或身体的一部分携带或运送至另一器官或身体的另一部分。就与制剂的其他成分兼容且不损害被治疗的受试者而言,每种载体必须是“可接受的”。此类载体是本领域已知的。药学上可接受的载体包括用于注射施用的载体。

[0184] 如本文所用,术语“样本”包括从受试者分离出的相似的体液、细胞或组织,以及存在于受试者体内的体液、细胞或组织的集合。生物体液的实例包括血液、血清及浆膜液、血浆、脑脊液、眼液、淋巴液、尿液、唾液等。组织样本可包括源自组织、器官或局部区域的样本。例如,样本可源自特定的器官、器官的一部分、或那些器官内的体液或细胞。在某些实施方案中,样本可以源自肝脏(例如,整个肝脏或肝脏的某些片段或肝脏中的某些类型的细

胞，例如肝细胞)。在一些实施方案中，“源自受试者的样本”是指从受试者获得的尿液。“源自受试者的样本”可以指受试者的血液或源自受试者血液的血浆或血清。

[0185] II.本发明的iRNA

[0186] 本发明提供了抑制补体因子B基因表达的iRNA。在某些实施方案中，iRNA包括用于抑制CFB基因在细胞中的表达的双链核糖核酸(dsRNA)分子，所述细胞是例如受试者体内的细胞，所述受试者是例如哺乳动物，例如易患补体因子B相关病症的人。dsRNAi剂包含具有互补性区域的反义链，所述互补性区域与在CFB基因的表达中形成的mRNA的至少一部分是互补的。所述互补性区域的长度为约19至30个核苷酸(例如，长度为约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20或19个核苷酸)。当与表达CFB基因的细胞接触时，iRNA将CFB基因(例如，人CFB基因、灵长类动物CFB基因、非灵长类动物CFB基因或大鼠CFB基因)的表达抑制至少约50％，如通过例如PCR或基于分支DNA(bDNA)的方法所测定的，或通过基于蛋白质的方法例如通过免疫荧光分析，使用例如蛋白质印迹法或流式细胞术所测定的。在某些实施方案中，通过本文实施例中提供的qPCR方法，用例如10nM浓度的siRNA，在实施例中提供的合适生物细胞系中测定表达的抑制。在某些实施方案中，通过敲低表达人基因的啮齿类动物(例如表达人靶基因的小鼠或表达人靶基因的AAV感染的小鼠)体内的人基因来测定体内表达的抑制，例如当在RNA表达的最低点以单剂量例如以3mg/kg施用时。

[0187] dsRNA包括两条互补的RNA链，这两条RNA链在将使用该dsRNA的条件下杂交以形成双链体结构。dsRNA的一条链(反义链)包括与靶序列基本互补且通常是完全互补的互补性区域。靶序列可以来源于CFB基因表达过程中形成的mRNA序列。另一条链(有义链)包括与反义链互补的区域，使得两条链在合适的条件下结合时杂交并形成双链体结构。如本文其他地方所述和本领域已知的，dsRNA的互补序列也可以作为单个核酸分子的自身互补性区域而不是在分别的寡核苷酸上而被包含。

[0188] 通常，双链体结构的长度为15至30个碱基对，例如长度为15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23、或21至22个碱基对。在某些实施方案中，双链体结构的长度为18至25个碱基对，例如长度为18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至25、21至24、21至23、21至22、22至25、22至24、22至23、23至25、23至24或24至25个碱基对，例如，长度为19至21个碱基对。介于上文列举的范围和长度之间的范围和长度也被认为是本公开的一部分。。

[0189] 类似地，与靶序列互补的互补性区域的长度为15至30个核苷酸，例如长度为15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23、或21至22个核苷酸，

例如，长度为19至23个核苷酸或长度为21至23个核苷酸。介于上文列举的范围及长度之间的范围及长度也被认为是本公开的一部分。

[0190] 在一些实施方案中，双链体结构的长度为19至30个碱基对。类似地，与靶序列互补的互补性区域的长度为19至30个核苷酸。

[0191] 在一些实施方案中，dsRNA的长度为约19至约23个核苷酸，或约25至约30个核苷酸。通常，dsRNA足够长以用作Dicer酶的底物。例如，如本领域中众所周知的，长度大于约21至23个核苷酸的dsRNA可以用作Dicer的底物。本领域技术人员还应认识到，靶向裂解的RNA区域通常是较大RNA分子(通常是mRNA分子)的一部分。在相关的情况下，mRNA靶标的“一部分”是mRNA靶标的长度足以允许其成为RNAi引导的裂解(即通过RISC途径的裂解)的底物的连续序列。

[0192] 本领域技术人员还应认识到，双链体区域是dsRNA的主要功能部分，例如，约19至约30个碱基对的双链体区域，例如，约19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个碱基对的双链体区域。因此，在一个实施方案中，就其被加工为靶向所期望用于裂解的RNA的例如15至30个碱基对的功能性双链体而言，具有超过30个碱基对的双链体区域的RNA分子或RNA分子的复合体是dsRNA。因此，本领域普通技术人员将认识到，在一个实施方案中，miRNA是dsRNA。在另一实施方案中，dsRNA不是天然存在的miRNA。在另一实施方案中，可用于靶向补体因子B基因表达的iRNA剂并非是在靶细胞内通过较大dsRNA的裂解生成的。

[0193] 本文所述的dsRNA还可以包括一个或多个单链核苷酸突出，其具有例如1至4、2至4、1至3、2至3、1、2、3或4个核苷酸。具有至少一个核苷酸突出的dsRNA相对于它们的钝端的对应物具有更好的抑制特性。核苷酸突出可以包含核苷酸/核苷类似物或由核苷酸/核苷类似物组成，其中该核苷酸/核苷类似物包括脱氧核苷酸/核苷。所述一个或多个突出可位于有义链、反义链或其任何组合上。此外，突出的一个或多个核苷酸可存在于dsRNA的反义链或有义链的5’-端、3’-端或两端。

[0194] dsRNA可以通过本领域已知的标准方法合成。本发明的双链RNAi化合物可以用两步法来制备。首先，分别制备双链RNA分子的各条链。随后，将组成链退火。siRNA化合物的各条链可使用溶液相有机合成、固相有机合成或两者来制备。有机合成的优点是：可容易地制备包含非天然或经修饰的核苷酸的寡核苷酸链。类似地，本发明的单链寡核苷酸可以使用溶液相有机合成、固相有机合成或两者来制备。

[0195] 不管合成方法如何，siRNA制品都可以在适于制剂的溶液(例如，水溶液或有机溶液)中制备。例如，siRNA制品可以沉淀并重新溶解在纯双蒸水中，然后冻干。然后可以将干燥的siRNA重新悬浮在适用于预期制剂工艺的溶液中。

[0196] 在一个方面，本发明的dsRNA包括至少两个核苷酸序列，有义序列和反义序列。有义链选自表2至表7、表13、表16、表19和表20的任一表中提供的序列的组，所述有义链的对应反义链选自表2至表7、表13、表16、表19和表20任一表中的序列的组。在这方面，两个序列中的一个序列与这两个序列中的另一个序列是互补的，其中一个序列与在补体因子B基因表达中产生的mRNA序列是基本互补的。因此，在这方面，dsRNA将包括两个寡核苷酸，其中一

个寡核苷酸在表2至表7、表13、表16、表19和表20的任一表中被描述为有义链，而第二个寡核苷酸在表2至表7、表13、表16、表19和表20的任一表中被描述为所述有义链的对应反义链。

[0197] 在某些实施方案中，dsRNA的基本互补序列包含在分别的寡核苷酸上。在其他实施方案中，dsRNA的基本互补序列包含在单个寡核苷酸上。

[0198] 在某些实施方案中，有义链或反义链选自以下任一双链体的有义链或反义链：AD-560018、AD-559375、AD-559160、AD-559374、AD-559060、AD-559721、AD-559026、AD-558225、AD-557069、AD-558068、AD-557422、AD-558063、AD-558066、AD-556701、AD-558657、AD-559020、AD-559023、AD-558860、AD-560019、AD-560016、AD-559008、AD-559717、AD-557072、AD-558097、AD-557774、AD-557070、AD-558065、AD-557853或AD-557079。

[0199] 应当理解，尽管表2、表4、表6和表19中的序列没有被描述为经修饰的或缀合的序列，但是本发明的iRNA的RNA，例如本发明的dsRNA，可以包含表2至表7、表13、表16、表19和表20中的任一表中列出的序列中的任一未修饰的、未缀合的、或与其中所述不同的经修饰的或缀合的序列。换句话说，本发明包括如本文所述的未修饰的、未缀合的、经修饰的或缀合的表2至表7、表13、表16、表19和表20的dsRNA。

[0200] 技术人员已知，具有约20至23个碱基对(如21个碱基对)的双链体结构的dsRNA被认为在诱导RNA干扰中特别有效(Elbashir et al.,EMBO 2001,20:6877-6888)。然而，其他人已经发现，较短或较长的RNA双链体结构也可以是有效的(Chu and Rana(2007)RNA14:1714-1719;Kim et al.(2005)Nat Biotech 23:222-226)。在上述实施方案中，由于表2至表7、表13、表16、表19和表20中的任一表提供的寡核苷酸序列的性质，本文描述的dsRNA可以包括至少一条长度为最少21个核苷酸的链。可以合理地预期，与上述dsRNA相比，具有表2至表7、表13、表16、表19和表20中任一表中任一序列并在一端或两端仅减去几个核苷酸的较短双链体同样有效。因此，具有源自表2至表7、表13、表16、表19和表20中的任一表的任一序列的至少19、20或更多个连续核苷酸的序列、并且与包含完整序列的dsRNA相比的抑制补体因子B基因表达的能力相差不超过约5％、10％、15％、20％、25％或30％的dsRNA，预期被包括在本发明的范围内。

[0201] 此外，表2至表7、表13、表16、表19和表20中提供的RNA能识别补体因子B转录本中对RISC介导的裂解敏感的一个或多个位点。因此，本发明还描述了靶向这些位点之一的iRNA。如本文所用，如果iRNA促进在特定位点内任意处的转录本的裂解，则称该iRNA靶向该特定位点内。此类iRNA通常包括来自表2至表7、表13、表16、表19和表20中的任一表中提供的任一序列的至少约19个连续核苷酸，该连续核苷酸与取自补体因子B基因中所选序列相邻的区域的其他核苷酸序列偶联。

[0202] 本文所述的RNAi剂可以含有与靶序列的一个或多个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过3个错配(即3、2、1或0个错配)。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过2个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含不超过1个错配。在一个实施方案中，本文所述的RNAi剂包含0个错配。在某些实施方案中，如果RNAi剂的反义链含有与靶序列的错配，则可任选地将该错配限制在距互补性区域的5'端或3'端的最后5个核苷酸内。例如，在此类实施方案中，对于23个核苷酸的RNAi剂，与CFB基因区域互补的链通常在中心的13个核苷酸内不含任何错配。本文描述的方法或本领域已知的方法可用于确

定含有与靶序列错配的RNAi剂是否能有效抑制CFB基因的表达。考虑具有错配的RNAi剂在抑制CFB基因表达中的功效是重要的，特别是如果已知CFB基因中特定的互补性区域在群体中具有多态性序列变异。

[0203] III.本发明的经修饰的iRNA

[0204] 在某些实施方案中，本发明的iRNA的RNA例如dsRNA是未修饰的，并且不包含例如本领域已知的和本文描述的化学修饰或缀合。在其他实施方案中，本发明的iRNA的RNA例如dsRNA，经化学修饰以增强稳定性或其他有益特征。在本发明的某些实施方案中，本发明的iRNA的基本上所有核苷酸都经修饰。在本发明的其他实施方案中，iRNA的所有核苷酸或iRNA的基本上所有核苷酸都经修饰，即在iRNA的链中存在不超过5、4、3、2或1个未修饰的核苷酸。

[0205] 本发明中的核酸可以通过本领域已完善建立的方法来合成或修饰，例如在“Current protocols in nucleic acid chemistry,”Beaucage,S.L.et al.(Edrs.),John Wiley&Sons,Inc.,New York,NY,USA中所描述的哪些方法，该文献通过引用并入本文。修饰包括：例如末端修饰，例如5’-端修饰(磷酸化、缀合、反向连接)或3’-端修饰(缀合、DNA核苷酸、反向连接等)；碱基修饰，例如，用以下碱基进行替换：稳定碱基、去稳定碱基、或与扩展的配偶体库进行碱基配对的碱基、移除碱基(无碱基核苷酸)或缀合碱基；糖修饰(例如，在2’-位置或4′-位置)或糖替换；或主链修饰，包括磷酸二酯键的修饰或替换。可用于本文所述实施方案的iRNA化合物的具体实例包括但不限于含有经修饰主链或不含天然核苷间键的RNA。具有经修饰主链的RNA除此之外还包括那些在主链中不具有磷原子的RNA。出于本说明书的目的，并且如本领域中有时提到的，在其核苷间主链中不具有磷原子的经修饰的RNA也可被认为是寡核苷酸。在一些实施方案中，经修饰的iRNA将在其核苷间主链中具有磷原子。

[0206] 经修饰的RNA主链包括，例如，具有正常3’-5′键的硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、包括3′-亚烷基磷酸酯和手性磷酸酯的甲基磷酸酯和其他烷基磷酸酯、亚膦酸酯、包括3′-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯的氨基磷酸酯、硫羰基氨基磷酸酯、硫羰基烷基膦酸酯、硫羰基烷基磷酸三酯、以及硼磷酸酯，这些的2’-5’连接类似物，以及其中相邻的核苷单元对是以3’-5’连接至5′-3′或以2’-5’连接至5’-2’的具有反向极性的那些。各种盐、混合盐和游离酸形式也包括在其中。在本发明的一些实施方案中，本发明的dsRNA剂是游离酸形式。在本发明的其他实施方案中，本发明的dsRNA剂是盐的形式。在一个实施方案中，本发明的dsRNA剂是钠盐形式。在某些实施方案中，当本发明的dsRNA剂为钠盐形式时，钠离子作为剂中存在的基本上所有磷酸二酯或硫代磷酸酯基团的抗衡离子而存在于该剂中。其中基本上所有的磷酸二酯键或硫代磷酸酯键都具有钠抗衡离子的剂包括不超过5、4、3、2或1个不具有钠抗衡离子的磷酸二酯键或硫代磷酸酯键。在一些实施方案中，当本发明的dsRNA剂为钠盐形式时，钠离子作为剂中存在的所有磷酸二酯或硫代磷酸酯基团的抗衡离子而存在于该剂中。

[0207] 教导制备上述含磷键的代表性美国专利包括但不限于美国专利第3,687,808号、第4,469,863号、第4,476,301号、第5,023,243号、第5,177,195号、第5,188,897号、第5,264,423号、第5,276,019号、第5,278,302号、第5,286,717号、第5,321,131号、第5,399,676号、第5,405,939号、第5,453,496号、第5,455,233号、第5,466,677号、第5,476,925号、第5,

519,126号、第5,536,821号、第5,541,316号、第5,550,111号、第5,563,253号、第5,571,799号、第5,587,361号、第5,625,050号、第6,028,188号、第6,124,445号、第6,160,109号、第6,169,170号、第6,172,209号、第6,239,265号、第6,277,603号、第6,326,199号、第6,346,614号、第6,444,423号、第6,531,590号、第6,534,639号、第6,608,035号、第6,683,167号、第6,858,715号、第6,867,294号、第6,878,805号、第7,015,315号、第7,041,816号、第7,273,933号、第7,321,029号、以及美国专利RE39464,每个专利的全部内容通过引用并入本文。

[0208] 其中不包含磷原子的经修饰的RNA主链具有通过短链烷基或环烷基的核苷间键、混合杂原子和烷基或环烷基的核苷间键、或一个或多个短链杂原子或杂环的核苷间键形成的主链。这些包括具有吗啉基键(部分地由核苷的糖部分形成)的那些主链;硅氧烷主链;硫化物、亚砜和砜主链;甲酰乙酰基(formacetyl)和硫代甲酰乙酰基主链;亚甲基甲乙酰基及硫代甲酰乙酰基主链;含有烯烃的主链;氨基磺酸酯主链;亚甲基亚氨基和亚甲基肼基主链;磺酸盐及磺酰胺主链;酰胺主链;以及具有混合了N、O、S和CH_2组成成分的其他主链。

[0209] 教导制备上述寡核苷酸的代表性美国专利包括但不限于,美国专利第5,034,506号、第5,166,315号、第5,185,444号、第5,214,134号、第5,216,141号、第5,235,033号、第5,64,562号、第5,264,564号、第5,405,938号、第5,434,257号、第5,466,677号、第5,470,967号、第5,489,677号、第5,541,307号、第5,561,225号、第5,596,086号、第5,602,240号、第5,608,046号、第5,610,289号、第5,618,704号、第5,623,070号、第5,663,312号、第5,633,360号、第5,677,437号、和第5,677,439号,每个专利的全部内容通过引用并入本文。

[0210] 预期将合适的RNA模拟物用于本文提供的iRNA中,其中核苷酸单位的糖和核苷间键即主链均被新基团所替换。碱基单元维持不变以便与适当的核酸靶化合物杂交。一种此类寡聚化合物被称为肽核酸(PNA),其中的RNA模拟物已经显示出具有优异杂交特性。在PNA化合物中,RNA的糖主链被替换为含有酰胺的主链,尤其是氨基乙基甘氨酸主链。核碱基得以保留,且直接或间接地结合至主链的酰胺部分的氮杂氮原子上。教导制备PNA化合物的代表性美国专利包括但不限于美国专利第5,539,082号、第5,714,331号、和第5,719,262号,每个专利的全部内容通过引用并入本文。适用于本发明的iRNA的其他PNA化合物描述于例如Nielsen et al.,Science,1991,254,1497-1500中。

[0211] 本发明的一些实施方案包括具有硫代磷酸酯主链的RNA和具有杂原子主链的寡核苷,特别是上文引用的美国专利第5,489,677号的--CH_2--NH--CH_2--、--CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--[被称为亚甲基(甲基亚氨基)或MMI主链]、--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--、--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2--和--N(CH_3)--CH_2--CH_2--和上文提及的美国专利第5,602,240号的酰胺主链。在一些实施方案中,本文提出的RNA具有上文提及的美国专利第5,034,506号的吗啉基主链结构。天然磷酸二酯主链可以表示为O-P(O)(OH)-OCH_2-。

[0212] 经修饰的RNA也可以含有一个或多个取代的糖部分。本文提出的iRNA例如dsRNA,可以在2'-位置处包含以下之一:OH;F;O-烷基、S-烷基或N-烷基;O-烯基、S-烯基或N-烯基;O-炔基、S-炔基或N-炔基;或O-烷基-O-烷基,其中烷基、烯基和炔基可以是取代的或未取代的C_1至C_{10}烷基或C_2至C_{10}烯基和炔基。合适的示例性修饰包括O[$(CH_2)_nO$]$_m$$CH_3$、O$(CH_2)_nOCH_3$、O$(CH_2)_nNH_2$、O$(CH_2)_nCH_3$、O$(CH_2)_nONH_2$和O$(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3)]_2$,其中n和m是1至约10。在其他实施方案中,dsRNA在2'位置处包含以下之一:C_1至C_{10}低碳数烷基、取代的低碳数烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基、SH、SCH_3、OCN、Cl、Br、CN、CF_3、OCF_3、$SOCH_3$、SO_2CH_3、ONO_2、

NO_2、N_3、NH_2、杂环烷基、杂环烷基芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基、取代的甲硅烷基、RNA裂解基团、报告基团、嵌入剂、用于改善iRNA药代动力学特性的基团、或用于改善iRNA药效动力学特性的基团，以及其他具有类似特性的取代基团。在一些实施方案中，修饰包括2'-甲氧基乙氧基(2'-O--$CH_2CH_2OCH_3$，也被称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin et al.,Helv.Chim.Acta,1995,78:486-504)，即烷氧基-烷氧基基团。另一示例性修饰是2′-二甲基氨基氧基乙氧基，即O$(CH_2)_2$ON$(CH_3)_2$基团，也被称为2'-DMAOE，如下文实施例中所述，和2'-二甲基氨基乙氧基乙氧基(在本领域中也被称为2'-O-二甲基氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE)，即2'-O--CH_2--O--CH_2--N$(CH_2)_2$。更多的示例性修饰包括:5'-Me-2'-F核苷酸、5'-Me-2'-OMe核苷酸、5'-Me-2'-脱氧核苷酸(在这三个家族中的R异构体和S异构体);2'-烷氧基烷基;和2'-NMA(N-甲基乙酰胺)。

[0213] 其他修饰包括2'-甲氧基(2'-OCH_3)、2'-氨基丙氧基(2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$)和2'-氟基(2'-F)。。也可以在iRNA的RNA的其他位置进行类似的修饰，特别是3'末端核苷酸的糖的3'位置或2'-5'连接的dsRNA中以及5'末端核苷酸的5'位置。iRNA也可以具有替代呋喃戊糖基糖的糖模拟物如环丁基部分。教导制备此类经修饰的糖结构的代表性美国专利包括但不限于，美国专利第4,981,957号、第5,118,800号、第5,319,080号、第5,359,044号、第5,393,878号、第5,446,137号、第5,466,786号、第5,514,785号、第5,519,134号、第5,567,811号、第5,576,427号、第5,591,722号、第5,597,909号、第5,610,300号、第5,627,053号、第5,639,873号、第5,646,265号、第5,658,873号、第5,670,633号和第5,700,920号，其中某些为与本申请所共有的，前述每个专利的全部内容通过引用并入本文。

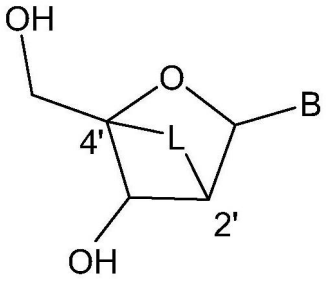
[0214] iRNA还可以包括核碱基(在本领域中通常简称为“碱基”)的修饰或取代。如本文所用，“未修饰的”或“天然的”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)，以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。经修饰的核碱基包括其他合成的和天然的核碱基，例如脱氧胸苷(dT)，5-甲基胞嘧啶(5-me-C)，5-羟甲基胞嘧啶，黄嘌呤，次黄嘌呤，2-氨基腺嘌呤，腺嘌呤和鸟嘌呤的6-甲基和其他烷基衍生物，腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其他烷基衍生物，2-硫尿嘧啶，2-硫代胸腺嘧啶和2-硫代胞嘧啶，5-卤代尿嘧啶和5-卤代胞嘧啶，5-丙炔基尿嘧啶和5-丙炔基胞嘧啶，6-偶氮尿嘧啶，6-偶氮胞嘧啶和6-偶氮胸腺嘧啶，5-尿嘧啶(假尿嘧啶)，4-硫脲嘧啶，8-卤代、8-氨基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羟基及其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤，5-卤代特别是5-溴代、5-三氟甲基及其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶，7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤，8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤，7-脱氮鸟嘌呤和7-脱氮腺嘌呤以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮杂腺嘌呤。更多的核碱基包括在美国专利第3,687,808号中公开的那些、Modified Nucleosides in Biochemistry,Biotechnology and Medicine,Herdewijn,P.ed.Wiley-VCH,2008中公开的那些、The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering,pages 858-859,Kroschwitz,J.L,ed.John Wiley&Sons,1990中公开的那些、Englisch et al.,Angewandte Chemie,International Edition,1991,30,613公开的那些、以及Sanghvi,Y S.,Chapter 15,dsRNA Research and Applications,pages 289-302,Crooke,S.T.and Lebleu,B.,Ed.,CRC Press,1993中公开的那些。这些核碱基中的某些对于增加本发明提出的寡聚化合物的结合亲和力尤其有用。这些核碱基包括5-取代的嘧啶，6-氮杂嘧啶以及N-2、N-6及O-6取代的嘌呤，包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙基尿嘧啶以及5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代已经显示出将核酸双链体的稳定性提高

0.6℃至1.2℃(Sanghvi,Y.S.,Crooke,S.T.and Lebleu,B.,Eds.,dsRNAResearch and Applications,CRC Press,Boca Raton,1993,pp.276-278)并且是示例性的碱基取代,尤其是当与2'-O-甲氧基乙基糖修饰结合时尤甚。

[0215] 教导制备某些上述经修饰的核碱基以及其他经修饰的核碱基的代表性美国专利包括但不限于,上面提到的美国专利第3,687,808号、第4,845,205号、第5,130,30号、第5,134,066号、第5,175,273号、第5,367,066号、第5,432,272号、第5,457,187号、第5,459,255号、第5,484,908号、第5,502,177号、第5,525,711号、第5,552,540号、第5,587,469号、第5,594,121号、第5,596,091号、第5,614,617号、第5,681,941号、第5,750,692号、第6,015,886号、第6,147,200号、第6,166,197号、第6,222,025号、第6,235,887号、第6,380,368号、第6,528,640号、第6,639,062号、第6,617,438号、第7,045,610号、第7,427,672号、和第7,495,088号,每个专利的全部内容通过引用并入本文。

[0216] 在一些实施方案中,本公开的iRNA剂也可被修饰以包括一个或多个双环糖部分。"双环糖"是通过两个原子的桥接修饰的呋喃糖基环。"双环糖"是通过两个碳(无论是相邻原子或非相邻原子)桥接形成的环修饰的呋喃糖基环。"双环核苷"("BNA")是具有糖部分的核苷,该糖部分包含两个碳(无论是相邻或非相邻)桥接形成的桥环,糖环的原子从而形成双环的环系统。在某些实施方案中,该桥任选地通过2′-非环氧原子连接糖环的4'-碳和2'-碳。因此,在一些实施方案中,本发明的剂可以包括一个或多个锁核酸(LNA)。锁核酸是具有经修饰的核糖部分的核苷酸,其中核糖部分包含连接2'碳和4'碳的额外的桥。换句话说,LNA是包含双环糖部分的核苷酸,所述双环糖部分包含4'-CH_2-O-2'桥。这种结构有效地将核糖"锁定"在3'-内向型结构构象中。已经显示向siRNA添加锁核酸增加了血清中siRNA的稳定性,并减少脱靶效应(Elmen,J.et al.,(2005)Nucleic Acids Research33(1):439-447;Mook,OR.et al.,(2007)Mol Canc Ther 6(3):833-843;Grunweller,A.et al.,(2003)Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。用于本发明多核苷酸的双环核苷的实例包括但不限于在4'核糖基环原子和2'核糖基环原子之间包含桥的核苷。在某些实施方案中,本发明的反义多核苷酸剂包括一个或多个包含4'至2'桥的双环核苷。

[0217] 锁定的核苷可以用以下结构表示(省略立体化学),

[0218] 

[0219] 其中B是核碱基或经修饰的核碱基,L是将核糖环的2'-碳连接至4'-碳的连接基团。

[0220] 这种4'至2'桥接双环核苷的实例包括但不限于4'-(CH_2)-O-2'(LNA);4'-(CH_2)-S-2';4′-(CH_2)$_2$—O-2′(ENA);4'-CH(CH_3)-O-2'(也被称为"限制性乙基"或"cEt")和4'-CH(CH_2OCH_3)-O-2'(及其类似物;参见,例如,美国专利第7,399,845号);4'-C(CH_3)(CH_3)-O-2'(及其类似物;参见例如美国专利第8,278,283号);4'-CH_2-N(OCH_3)-2'(及其类似物;参见例如美国专利第8,278,425号);4'-CH_2-ON(CH_3)-2'(参见,例如,美国专利公布2004/

0171570)；4'-CH_2-N(R)-O-2'，其中R是H、C1-C12烷基或氮保护基团(参见例如美国专利第7,427,672号)；4'-CH_2-C(H)(CH_3)-2'(参见，例如Chattopadhyaya et al.,J.Org.Chem.,2009,74,118-134)；和4'-CH_2-C(=CH_2)-2'(及其类似物；参见例如美国专利第8,278,426号)。前述各项的全部内容在此通过引用并入本文。

[0221] 教导制备锁核酸核苷酸的其他代表性美国专利和美国专利公布包括但不限于以下：美国专利第6,268,490号、第6,525,191号、第6,670,461号、第6,770,748号、第6,794,499号、第6,998,484号、第7,053,207号、第7,034,133号、第7,084,125号、第7,399,845号、第7,427,672号、第7,569,686号、第7,741,457号、第8,022,193号、第8,030,467号、第8,278,425号、第8,278,426号、第8,278,283号、US 2008/0039618、及US 2009/0012281，前述各项的全部内容通过引用并入本文。

[0222] 可以制备具有一种或多种立体化学糖构型(包括，例如α-L-呋喃核糖及β-D-呋喃核糖(参见WO99/14226))的任何前述双环核苷。

[0223] 本发明的iRNA剂也可以被修饰以包括一个或多个限制性乙基核苷酸。如本文所用，“限制性乙基核苷酸”或“cEt”是包含双环糖部分的锁核酸，该双环糖部分包含4'-CH(CH_3)-O-2'桥(即前述结构中的L)。在一个实施方案中，限制性乙基核苷酸是S构象，在本文中被称为“S-cEt”

[0224] 本发明的iRNA还可以包括一个或多个“构象限制核苷酸”(“CRN”)。CRN是具有连接核糖的C2'碳和C4'碳或连接CFB和核糖的-C5'碳的接头的核苷酸类似物。CRN将核糖环锁定为稳定的构象并增加了其与mRNA的杂交亲和力。接头的长度足以将氧置于最佳位置以获得稳定性和亲和力，从而减少核糖环的起皱(puckering)。

[0225] 教导制备某些上述CRN的代表性专利公布包括但不限于US 2013/0190383及WO 2013/036868，其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0226] 在一些实施方案中，本发明的iRNA包含一个或多个为UNA(未锁核酸)核苷酸的单体。UNA是未锁定的无环核酸，其中糖的任意键已被去除，形成未锁定的“糖”残基。在一实例中，UNA还包括已经去除其C1′-C4'键(即C1'和C4'碳之间的碳-氧-碳共价键)。在另一个实例中，糖的C2′-C3'键(即C2'和C3'碳之间的碳-碳共价键)已经被去除(参见Nuc.Acids Symp.Series,52,133-134(2008)和Fluiter et al.,Mol.Biosyst.,2009,10,1039，在此通过引用并入本文)。

[0227] 教导制备UNA的代表性美国专利公布包括但不限于，US 8,314,227及US2013/0096289、US2013/0011922、和US2011/0313020，其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0228] 潜在的对RNA分子末端的稳定化修饰可包括N-(乙酰基氨基己酰基)-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6-NHAc)、N-(己酰基-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6)、N-(乙酰基-4-羟基脯氨醇(Hyp-NHAc)、胸腺嘧啶-2'-O-脱氧胸腺嘧啶(醚)、N-(氨基己酰基)-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6-氨基)、2-二十二酰基-尿苷-3-磷酸、倒置碱基dT(idT)等。这种修饰的公开可见于WO 2011/005861。

[0229] 本发明iRNA的核苷酸的其他修饰包括5'磷酸或5'磷酸模拟物，例如iRNA反义链上的5'末端磷酸或磷酸模拟物。合适的磷酸模拟物公开于例如US 2012/0157511中，其全部内容通过引用并入本文。

[0230] A.本发明的包含基序的经修饰的iRNA

[0231] 在本发明的某些方面，本发明的双链RNA剂包括如例如WO2013/075035(其全部内容通过引用并入本文)中所公开的带有化学修饰的剂。如本文和WO 2013/075035中所示，可以将一个或多个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序引入dsRNAi剂的有义链或反义链，特别是在裂解位点处或附近。在一些实施方案中，dsRNAi剂的有义链和反义链可以以其他方式被完全修饰。这些基序的引入中断了有义链或反义链的修饰模式(如果存在)。dsRNAi剂可以任选地与GalNAc衍生物配体缀合，例如在有义链上。

[0232] 更具体地，当双链RNA剂的有义链和反义链被完全修饰以在dsRNAi剂的至少一条链的裂解位点处或其附近具有一个或多个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序时，观察到dsRNAi剂的基因沉默活性。

[0233] 因此，本发明提供了能够在体内抑制靶基因(即CFB基因)表达的双链RNA剂。RNAi剂包含有义链和反义链。RNAi剂的每条链的长度可以为例如17至30个核苷酸、25至30个核苷酸、27至30个核苷酸、19至25个核苷酸、19至23个核苷酸、19至21个核苷酸、21至25个核苷酸或21至23个核苷酸。

[0234] 有义链和反义链通常形成双链体双链RNA(“dsRNA”)，在本文中也被称为“dsRNAi剂”。dsRNAi剂的双链体区域的长度可以是，例如，双链体区域的长度可以为27至30个核苷酸对、19至25个核苷酸对、19至23个核苷酸对、19至21个核苷酸对、21至25个核苷酸对、或21至23个核苷酸对。在另一实例中，双链体区域的长度选自19、20、21、22、23、24、25、26和27个核苷酸。

[0235] 在某些实施方案中，dsRNAi剂可以在一条链或两条链的3’-端、5’-端或两端含有一个或多个突出区域或封端基团。突出可独立地为1至6个核苷酸的长度，例如，2至6个核苷酸的长度、1至5个核苷酸的长度、2至5个核苷酸的长度、1至4个核苷酸的长度、2至4个核苷酸的长度、1至3个核苷酸的长度、2至3个核苷酸的长度、或1至2个核苷酸的长度。在某些实施方案中，突出区域可以包括如上文所提供的延伸的突出区域。突出可以是一条链比另一条链长的结果，或是相同长度的两条链错开的结果。突出可与靶mRNA形成错配，或其可与被靶向的基因序列互补或可以是另一序列。第一条链与第二条链也可连接，例如通过额外的碱基以形成发夹，或通过其他非碱基接头。

[0236] 在某些实施方案中，dsRNAi剂的突出区域中的核苷酸可以各自独立地是经修饰的或未修饰的核苷酸，包括但不限于2’-糖修饰，例如2-F胸苷(T)、2’-O-甲基胸苷(T)、2’-O-甲氧基乙基-5-甲基尿苷(Teo)、2’-O-甲氧基乙基腺苷(Aeo)、2’-O-甲氧基乙基-5-甲基胞苷(m5Ceo)及其任意组合。

[0237] 例如，TT可以是任一条链的任一端的突出序列。突出可以与靶mRNA形成错配，或者它可以与被靶向的基因序列互补，或者可以是另一序列。

[0238] dsRNAi剂的有义链、反义链或两条链上的5′-突出或3′-突出可以被磷酸化。在一些实施方案中，一个或多个突出区域包含两个核苷酸且在这两个核苷酸之间具有硫代磷酸酯，其中，这两个核苷酸可以相同或不同。在一些实施方案中，突出存在于有义链、反义链或两条链的3′端。在一些实施方案中，该3’-突出存在于反义链中。在一些实施方案中，该3’-突出存在于有义链中。

[0239] RNAi剂可以仅包含单个突出，该突出可强化RNAi的干扰活性而不影响其整体稳定性。例如，单链突出可以位于有义链的3′-端，或者位于反义链的3’-端。RNAi也可以具有位

于反义链的5'-端(即有义链的3'-端)的钝端,反之亦然。通常,dsRNAi剂的反义链在3'-端具有核苷酸突出,且5′-端是钝端。尽管不希望受缚于理论,但反义链5'-端的不对称钝端以及反义链的3'-端突出有助于将引导链加载至RISC过程中。

[0240] 在某些实施方案中,dsRNAi剂是长度为19个核苷酸的双钝端,其中,有义链含有至少一个位于从5'端起的位置7、8、和9的三个连续核苷酸上的三个2′-F修饰的基序。反义链含有至少一个位于从5′端起的位置11、12、和13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序。

[0241] 在其他实施方案中,dsRNAi剂是长度为20个核苷酸的双钝端,其中,有义链含有至少一个位于从5'端起的位置8、9、和10的三个连续核苷酸上的三个2'-F修饰的基序。反义链含有至少一个位于从5'端起的位置11、12、和13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序。

[0242] 在又一实施方案中,dsRNAi剂是长度为21个核苷酸的双钝端,其中,有义链含有至少一个位于从5'端起的位置9、10、和11的三个连续核苷酸上的三个2'-F修饰的基序。反义链含有至少一个位于从5'端起的位置11、12、和13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序。

[0243] 在某些实施方案中,dsRNAi剂包含21个核苷酸的有义链和23个核苷酸的反义链,其中有义链含有至少一个位于从5'端起的位置9、10、和11的三个连续核苷酸上的三个2'-F修饰的基序;反义链含有至少一个位于从5'端起的位置11、12、和13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序,其中,RNAi剂的一端是钝端而另一端包含具有两个核苷酸的突出。在一个实施方案中,具有两个核苷酸的突出位于反义链的3'-端。

[0244] 当具有两个核苷酸的突出位于反义链的3'端时,在末端三个核苷酸之间可能存在两个硫代硫酸酯核苷酸间键,其中三个核苷酸中的两个是突出核苷酸,且第三个核苷酸是紧邻突出核苷酸的配对核苷酸。在一个实施方案中,RNAi剂在有义链的5'端和反义链的5'端两者的末端三个核苷酸之间另外具有两个硫代磷酸酯核苷酸间键。在某些实施方案中,dsRNAi剂的有义链和反义链中的每个核苷酸,包括作为基序一部分的核苷酸,都是经修饰的核苷酸。在某些实施方案中,每个残基均独立地被2'-O-甲基或2'-氟基修饰,例如以交替基序的方式。任选地,dsRNAi剂还包含配体(如GalNAc)。

[0245] 在某些实施方案中,dsRNAi剂包含有义链和反义链,其中有义链长度为25至30个核苷酸残基,其中从5'末端核苷酸(位置1)开始,第一条链的位置1至23包含至少8个核糖核苷酸;反义链长度为36至66个核苷酸残基,且从3'末端核苷酸开始,与有义链的位置1至23配对以形成双链体的那些位置包含至少8个核糖核苷酸;其中,至少反义链的3'末端核苷酸未与有义链配对,且最多达6个连续的3'末端核苷酸未与有义链配对,从而形成具有1至6个核苷酸的3'单链突出;其中,反义链的5'末端包含未与有义链配对的10至30个连续核苷酸,从而形成具有10至30个核苷酸的单链5'突出;其中,当将有义链与反义链对齐以达到最大互补性时,至少有义链的5'末端核苷酸和3'末端核苷酸与反义链的核苷酸进行碱基配对,从而在有义链与反义链之间形成基本上是双链体的区域;并且,反义链在沿着反义链的至少19个核糖核苷酸的长度上与靶RNA是充分互补的,以在将双链核酸引入哺乳动物细胞内时降低靶基因的表达;以及,其中,有义链含有至少一个位于三个连续核苷酸上的三个2'-F修饰的基序,其中,至少一个基序出现在裂解位点或邻近该裂解位点处。反义链含有至少一

个位于裂解位点或邻近该裂解位点处的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序。

[0246] 在某些实施方案中,dsRNAi剂包含有义链和反义链,其中dsRNAi剂包含长度为至少25个且至多29个核苷酸的第一条链和长度为至多30个核苷酸且具有至少一个位于从5'端起的位置11、12、和13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的基序的第二条链;其中第一条链的3'端及第二条链的5'端形成钝端,且第二条链在其3'端比第一条链长1至4个核苷酸,其中,双链体区域的长度为至少25个核苷酸,且第二链在沿着第二链的至少19个核苷酸的长度上与靶RNA是充分互补的,以在将RNAi剂引入哺乳动物细胞内时降低靶基因的表达,并且,其中对dsRNAi剂的Dicer裂解产生包含第二条链3′-端的siRNA,从而降低了哺乳动物中靶基因的表达。任选地,dsRNAi剂还包含配体。

[0247] 在某些实施方案中,dsRNAi剂的有义链包含至少一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序,其中一个基序出现在有义链的裂解位点处。

[0248] 在某些实施方案中,dsRNAi剂的反义链还可以包含至少一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序,其中一个基序出现在反义链的裂解位点或邻近该裂解位点处。

[0249] 对于具有长度为19至23个核苷酸的双链体区域的dsRNAi剂,反义链的裂解位点通常位于从5'-端起的位置10、11、和12附近。因此,具有三个相同修饰的基序可出现在反义链的位置9、10、11,位置10、11、和12,位置11、12、和13,位置12、13、和14,或位置13、14、和15,从反义链的5′-端的第一个核苷酸开始计数,或在双链体区域内从反义链的5′-端的第一个成对核苷酸开始计数。反义链的裂解位点也可根据dsRNAi剂从5'-端起的双链体区域的长度而改变。

[0250] dsRNAi剂的有义链可以包含至少一个位于该链的裂解位点处的三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序;且反义链可具有至少一个位于该链的裂解位点或邻近该裂解位点处的三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序。当有义链和反义链形成dsRNA双链体时,有义链和反义链可如此对齐,使得位于有义链上的一个三核苷酸基序与位于反义链上的一个三核苷酸基序具有至少一个核苷酸重叠,即,有义链中基序的三个核苷酸中的至少一个与反义链中基序的三个核苷酸中的至少一个形成碱基配对。或者,至少两个核苷酸可重叠,或全部三个核苷酸可重叠。

[0251] 在一些实施方案中,dsRNAi剂的有义链可以包含超过一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序。第一基序可出现在该链的裂解位点或邻近该裂解位点处,而其他基序可以是翼修饰。本文中,术语“翼修饰(wing modification)”是指出现在该链的另一部分的与位于该链的裂解位点或邻近该裂解位点处的基序分隔开来的基序。翼修饰或与第一基序相邻或被至少一个或多个核苷酸与第一基序分隔开。当基序彼此紧邻时,则这些基序的化学性彼此截然不同,而当基序被一个或多个核苷酸分隔开时,则化学性质可相同或相异。可存在两个或多个翼修饰。例如,当存在两个翼修饰时,每个翼修饰可出现在相对于位于裂解位点或邻近该裂解位点处的第一基序的一端,或出现在主基序(lead motif)的任一侧。

[0252] 像有义链一样,dsRNAi剂的反义链可以包含超过一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序,且至少一个基序出现在该链的裂解位点或邻近该裂解位点处。该反义链还可含有一个或多个翼修饰,该翼修饰的对齐方式类似于可以存在于有义链的翼修饰。

[0253] 在一些实施方案中,dsRNAi剂的有义链或反义链上的翼修饰通常不包括位于该链

的3'-端、5′-端或两端的第一个或前两个末端核苷酸。

[0254] 在其他实施方案中,dsRNAi剂的有义链或反义链上的翼修饰通常不包括位于该链的3'-端、5′-端或两端的双链体区域内的第一个或前两个配对核苷酸。

[0255] 当dsRNAi剂的有义链和反义链各自包含至少一个翼修饰时,该翼修饰可落在双链体区域的相同末端上,且具有一个、两个或三个核苷酸的重叠。

[0256] 当dsRNAi剂的有义链和反义链各自包含至少两个翼修饰时,有义链与反义链可如此对齐,使得来自一条链的两个修饰各自落在双链体区域的一端上,且具有一个、两个或三个核苷酸的重叠;使得来自一条链的两个修饰各自落在双链体区域的另一端上,且具有一个、两个或三个核苷酸的重叠;使得一条链的两个修饰分别落在主基序的各端上,且在双链体区域内具有一个、两个或三个核苷酸的重叠。

[0257] 在一些实施方案中,dsRNAi剂的有义链和反义链中的每个核苷酸(包括作为基序的一部分的核苷酸)都可以被修饰。每个核苷酸可以用相同或不同的修饰进行修饰,所述修饰可以包括:一个或两个非连接磷酸氧的一个或多个改变或一个或多个连接磷酸氧的一个或多个改变;核糖成分的改变,例如核糖上2′-羟基的改变;用“脱磷酸(dephospho)”接头批量替换磷酸部分;天然碱基的修饰或替换;以及核糖-磷酸主链的替换或修饰。

[0258] 由于核酸是亚单元的聚合物,许多修饰发生在核酸内的重复位置,例如碱基或磷酸部分或者磷酸部分的非连接O的修饰。在某些情况下,修饰将发生在核酸的所有目标位置,但在许多情况下不会。举例来说,修饰可仅发生在3'末端或5′末端位置,可仅发生在末端区域,例如,在末端核苷酸上的位置或在链的最后2、3、4、5或10个核苷酸中的位置。修饰可以发生在双链区域、单链区域或两者中。修饰可以仅发生在RNA的双链区域,也可以仅发生在RNA的单链区域。例如,在非连接O位置的硫代磷酸修饰可仅发生在一个末端或两个末端,可仅发生在末端区域,例如,在末端核苷酸上的位置或在链的最后2、3、4、5或10个核苷酸中的位置,或可发生在双链区域和单链区域,特别是在末端。一个或多个5′-端可以被磷酸化。

[0259] 例如,为了增强稳定性,可以在突出中包括特定的碱基,或在单链突出如5′突出或3′突出或两者中包括经修饰的核苷酸或核苷酸替代物。例如,在突出中包括嘌呤核苷酸是可取的。在一些实施方案中,可以例如利用本文所述的修饰来对3'突出或5′突出中的全部或一些碱基进行修饰。修饰可包括,例如,在核糖的2′位置使用本领域中已知修饰的修饰,例如,使用2′-脱氧-2'-氟基(2′-F)或2′-O-甲基修饰的脱氧核糖核苷酸来替代核碱基的核糖,以及使用磷酸基团的修饰如硫代磷酸修饰。突出无需与靶序列同源。

[0260] 在一些实施方案中,有义链和反义链的每个残基独立地通过LNA、CRN、cET、UNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2′-O-甲基、2′-O-烯丙基、2′-C-烯丙基、2'-脱氧、2'-羟基或2'-氟基进行修饰。这些链可以包含多于一个的修饰。在一个实施方案中,有义链和反义链的每个残基独立地通过2′-O-甲基或2'-氟基来修饰。

[0261] 有义链和反义链上通常存在至少两种不同的修饰。这两种修饰可以是2'-O-甲基或2'-氟基修饰,或其他。

[0262] 在某些实施方案中,N_a或N_b包含交替模式的修饰。如本文所用,术语“交替基序”是指具有一个或多个修饰的基序,每个修饰发生在一条链的交替核苷酸上。交替核苷酸可以指每隔一个核苷酸一个或每三个核苷酸一个,或类似的模式。例如,如果A、B和C分别代表对

核苷酸的一种类型的修饰，则交替基序可以是“ABABABABABAB…”、“AABBAABBAABB…”、“AABAABAABAAB…”、“AAABAAABAAAB…”、“AAABBBAAABBB…”或“ABCABCABCABC…”等等。

[0263] 交替基序中含有的修饰的类型可以相同或不同。例如，如果A、B、C、D分别代表核苷酸上的一种类型的修饰，则交替模式，即每隔一个核苷酸上的修饰，可以是相同的，但有义链或反义链可各自选自交替基序(例如“ABABAB…”、“ACACAC…”、“BDBDBD…”或“CDCDCD…”等)内的几种可能的修饰。

[0264] 在一些实施方案中，本发明的dsRNAi剂包含有义链上交替基序的修饰模式，其相对于反义链上的交替基序的修饰模式是偏移的。这种偏移可使得有义链的核苷酸的修饰基团与反义链的核苷酸的经不同修饰的基团相对应，反之亦然。例如，当有义链与反义链在dsRNA双链体中配对时，在双链体区域内，有义链的交替基序可从该链的5’至3’以“ABABAB”开始，且反义链的交替基序可从该链的5′至3′以“BABABA”开始。作为另一实例，在双链体区域内，有义链的交替基序可从该链的5′至3′以“AABBAABB”开始，且反义链的交替基序可从该链的5′至3′以“BBAABBAA”开始，因此有义链与反义链之间存在修饰模式的完全或部分的偏移。

[0265] 在一些实施方案中，dsRNAi剂包含有义链的2′-O-甲基修饰与2′-F修饰的交替基序的初始模式，该初始模式具有相对于反义链的2′-O-甲基修饰与2′-F修饰的交替基序的初始模式的位移，即，有义链的2′-O-甲基修饰的核苷酸与反义链的2′-F修饰的核苷酸进行碱基配对，反之亦然。有义链的位置1可从2’-F修饰开始，且反义链的位置1可从2′-O-甲基修饰开始。

[0266] 将一个或多个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序引入有义链或反义链中断了存在于有义链或反义链中的初始修饰模式。通过将一个或多个的位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序引入有义链或反义链来中断有义链或反义链的修饰模式，可以增强针对靶基因的基因沉默活性。

[0267] 在一些实施方案中，在将位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序被引入任一链中时，与基序相邻的核苷酸的修饰是与该基序的修饰不同的修饰。例如，含有基序的序列部分是“…N_aYYYN_b…”其中，“Y”代表位于三个连续核苷酸的三个相同修饰的基序的修饰，且“N_a”和“N_b”代表与基序“YYY”相邻的不同于Y的修饰的核苷酸的修饰，并且其中N_a和N_b可以是相同或不同的修饰。或者，当存在翼修饰时，N_a或N_b可存在或不存在。

[0268] iRNA还可以包含至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键。硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键修饰可出现在有义链或反义链或两条链的任意核苷酸上，在链的任意位置。例如，核苷酸间键修饰可出现在有义链或反义链的每一个核苷酸上；每个核苷酸间键修饰可以以交替模式出现在有义链或反义链上；或有义链或反义链可包含交替模式的两种核苷酸间键修饰。有义链上的核苷酸间键修饰的交替模式可与反义链的相同或相异，且有义链上的核苷酸间键修饰的交替模式相对于反义链的核苷酸间键修饰的交替模式可具有偏移。在一个实施方案中，双链RNAi剂包含6至8个硫代磷酸酯核苷酸间键。在一些实施方案中，反义链包含位于5′-端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键以及位于3’-端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键，且有义链包含位于5′-端或3′-端的至少两个硫代磷酸酯核苷酸间键。

[0269] 在一些实施方案中，dsRNAi剂包含位于突出区域内的硫代磷酸酯核苷酸间键或甲

基磷酸酯核苷酸间键修饰。例如,突出区域可以包含两个核苷酸且在这两个核苷酸之间具有硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基磷酸酯核苷酸间键。核苷酸间键修饰也可将突出核苷酸与双链体区域内的末端配对核苷酸连接起来。例如,至少2、3、4或全部突出核苷酸可通过硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基膦酸酯核苷酸间键而连接,且任选地,可存在连接突出核苷酸与紧邻该突出核苷酸的配对核苷酸的另外的硫代磷酸酯核苷酸间键或甲基膦酸酯核苷酸间键。例如,在末端三个核苷酸之间可存在至少两个硫代硫酸酯核苷酸间键,其中这三个核苷酸中的两个是突出核苷酸,且第三个核苷酸是紧邻该突出核苷酸的配对核苷酸。这些末端的三个核苷酸可以位于反义链的3'-端、有义链的3'-端、反义链的5'-端或反义链的5'端。

[0270] 在一些实施方案中,2-核苷酸突出位于反义链的3'-端,且在末端三个核苷酸之间存在两个硫代磷酸酯核苷酸间键,其中这三个核苷酸中的两个是突出核苷酸,且第三个核苷酸是紧邻该突出核苷酸的配对核苷酸。任选地,dsRNAi剂还可以在有义链的5'端和反义链的5'端的末端三个核苷酸之间另外具有两个硫代磷酸酯核苷酸间键。

[0271] 在一个实施方案中,dsRNAi剂包含一个或多个与靶标的错配、一个或多个双链体中的错配、或其组合。错配可出现在突出区域或双链体区域。可基于碱基对促进解离或解链的倾向性将碱基对排序(例如,根据特定配对的结合自由能或解离自由能,最简单的方法是在单个配对的基础上来检查该配对,尽管也可使用相邻分析或类似分析)。就促进解离而言:A:U优于G:C;G:U优于G:C;且I:C优于G:C(I=肌苷)。错配,例如非典型配对或除典型配对之外的配对(如在本文别处所述),优于典型的(A:T,A:U,G:C)配对;并且包含通用碱基的配对优于典型的配对。

[0272] 在某些实施方案中,dsRNAi剂包含从反义链5′端起的位于双链体区域内的前1、2、3、4或5个碱基对中的至少一个,所述碱基对独立地选自以下组成的组:A:U、G:U、I:C、以及错配的配对,例如非典型配对或除典型配对之外的配对或包含通用碱基的配对,以促进反义链在双链体5′端的解离。

[0273] 在某些实施方案中,从反义链5′端起的位于双链体区域内的位置1的核苷酸选自A、dA、dU、U和dT。或者,从反义链5'端起的位于双链体区域内的前1、2或3个碱基对中的至少一个是AU碱基对。例如,从反义链5′端起的位于双链体区域内的第一个碱基对是AU碱基对。

[0274] 在其他实施方案中,位于有义链的3'-端的核苷酸是脱氧胸苷(dT),或位于反义链的3′-端的核苷酸是脱氧胸苷(dT)。例如,在有义链、反义链或两条链的3′-端存在脱氧胸腺嘧啶核苷酸的短序列,例如,两个dT核苷酸。

[0275] 在某些实施方案中,有义链序列可以由式(I)表示:

[0276] $5'n_p\text{-}N_a\text{-}(XXX)_i\text{-}N_b\text{-}YYY\text{-}N_b\text{-}(ZZZ)_j\text{-}N_a\text{-}n_q\ 3'$ (I)

[0277] 其中:

[0278] i和j各自独立地为0或1;

[0279] p和q各自独立地为0至6;

[0280] 每个N_a独立地表示包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列,每个序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸;

[0281] 每个N_b独立地表示包含0至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列;

[0282] 每个n_p与n_q独立地表示突出核苷酸;

[0283] 其中,N_b和Y不具有相同的修饰;并且

[0284] XXX、YYY和ZZZ各自独立地表示一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序。在一个实施方案中，YYY是全为2′-F修饰的核苷酸。

[0285] 在一些实施方案中，N_a或N_b包含交替模式的修饰。

[0286] 在一些实施方案中，YYY基序出现在有义链的裂解位点处或其附近。例如，当dsRNAi剂具有长度为17至23个核苷酸的双链体区域时，YYY基序出现在有义链的裂解位点处(例如，可以出现在位置6、7、8;7、8、9;9、10、11;10、11、12;或11、12、13)或其附近，从5′端的第1个核苷酸开始计数;或者任选地，从5′端的双链体区域内的第1个配对核苷酸开始计数。

[0287] 在一个实施方案中，i是1且j是0，或i是0且j是1，或i

[0288] 和j均是1。因此，有义链可以以下列式来表示：

[0289] 5’n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3′(Ib)；

[0290] 5’n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3′(Ic)；或者

[0291] 5’n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3’(Id)。

[0292] 当有义链由式(Ib)表示时，N_b表示包含0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a可独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0293] 当有义链由(Ic)表示时，N_b表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a可独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0294] 当有义链由式(Id)表示时，每个N_b独立地表示包含0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。在一个实施方案中，N_b是0、1、2、3、4、5或6。每个N_a可独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0295] X、Y和Z中的每一个可以是彼此相同的或不同的。

[0296] 在其他实施方案中，i是0且j是0，且有义链可以由下式表示:

[0297] 5’n_p-N_a-YYY-N_a-n_q 3’(Ia)。

[0298] 当有义链由式(Ia)表示时，每个N_a独立地表示包含2至20、2至15或2-10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0299] 在一个实施方案中，RNAi的反义链序列可以由式(II)表示：

[0300] 5’n_q,-N_a′-(Z’Z’Z’)$_k$-N_b′-Y′Y′Y′-N_b′-(X′X′X′)$_l$-N′$_a$-n_p′3’(II)，

[0301] 其中：

[0302] k和l各自独立地为0或1；

[0303] p’和q’各自独立地为0至6；

[0304] 每个N_a’独立地表示包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列，每个序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸；

[0305] 每个N_b’独立地表示包含0至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列；

[0306] 每个n_p’与n_q’独立地表示突出核苷酸；

[0307] 其中，N_b’和Y’不具有相同的修饰;并且

[0308] X’X’X’、Y’Y’Y’和Z’Z’Z’各自独立地表示一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序。

[0309] 在一些实施方案中，N_a'或N_b'包含交替模式的修饰。

[0310] Y'Y'Y'基序出现于反义链的裂解位点处或其附近。例如，当dsRNAi剂具有长度为17至23个核苷酸的双链体区域时，Y'Y'Y'基序出现于该反义链的位置9、10、11；10、11、12；11、12、13；12、13、14；或13、14、15，从5'-端的第1个核苷酸开始计数；或任选地，从5'-端的双链体区域内的第一个配对核苷酸开始计数。在一个实施方案中，Y'Y'Y'基序出现于位置11、12、13。

[0311] 在某些实施方案中，Y'Y'Y'基序是全为2'-OMe修饰的核苷酸。

[0312] 在某些实施方案中，k是1且l是0，或k是0且l是1，或k和l均是1。

[0313] 因此，反义链可以由下式表示：

[0314] 5'n_q,-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_p,3'(IIb)；

[0315] 5'n_q,-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-n_p,3'(IIc)；或者

[0316] 5'n_q,-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-N_a'-n_p,3'(IId)。

[0317] 当反义链由式(IIb)表示时，N_b'表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a'独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0318] 当反义链由式(IIc)表示时，N_b'表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a'独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0319] 当反义链由式(IId)表示时，每个N_b'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a'独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。在一个实施方案中，N_b是0、1、2、3、4、5或6。

[0320] 在其他实施方案中，k是0，l是0，反义链可以用下式表示：

[0321] 5'n_p,-N_a,-Y'Y'Y'-N_a,-n_q,3'(Ia)。

[0322] 当反义链由式(IIa)表示时，每个N_a'独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0323] X'、Y'和Z'中的每一个可以是彼此相同的或不同的。

[0324] 有义链和反义链的每个核苷酸可以独立地通过LNA、CRN、UNA、cEt、二醇核酸(GNA)、己糖醇核酸(HNA)、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羟基或2'-氟基进行修饰。例如，有义链和反义链的每个核苷酸独立地通过2'-O-甲基或2'-氟基来修饰。具体地，每个X、Y、Z、X'、Y'和Z'可表示2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰。

[0325] 在一些实施方案中，当双链体区域为21nt时，dsRNAi剂的有义链可以包含出现在链的位置9、10和11的YYY基序，从5'端的第一个核苷酸开始计数，或者任选地，从5'端的双链体区域内的第一个配对核苷酸开始计数；Y代表2'-F修饰。有义链还可以含有XXX基序或ZZZ基序作为双链体区域相对端的翼修饰；XXX和ZZZ各自独立地表示2'-OMe修饰或2'-F修饰。

[0326] 在一些实施方案中，反义链可以包含出现在链的位置11、12、13的Y'Y'Y'基序，从5'端的第一个核苷酸开始计数，或者任选地，从5'端的双链体区域内的第一个配对核苷酸开始计数；Y'表示2'-O-甲基修饰。反义链还可以含有X'X'X'基序或Z'Z'Z'基序作为双链体区域相对端的翼修饰；并且X'X'X'和Z'Z'Z'各自独立地表示2'-OMe修饰或2'-F修饰。

[0327] 由上述式(Ia)、(Ib)、(Ic)和(Id)中任一个所表示的有义链分别与由式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IId)中任一个所表示的反义链形成双链体。

[0328] 因此,用于本发明方法的dsRNAi剂可包含有义链和反义链,每条链具有14至30个核苷酸,iRNA双链体由式(III)表示:

[0329] 有义链:5'n_p-N_a-$(XXX)_i$-N_b-YYY-N_b-$(ZZZ)_j$-N_a-n_q 3'

[0330] 反义链:3'n_p'-N_a'-$(X'X'X')_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-$(Z'Z'Z')_l$-N'$_a$-n_q'5'

[0331] (III)

[0332] 其中:

[0333] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0334] p、p'、q和q'各自独立地为0至6;

[0335] 每个N_a和N_a'独立地表示包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列,每个序列包含至少两个经不同修饰的核苷酸;

[0336] 每个N_b与N_b'独立地表示包含0至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列;

[0337] 其中

[0338] 每个n_p'、n_p、n_q'和n_q可存在或不存在,且独立地表示突出核苷酸;并且

[0339] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'和Z'Z'Z'各自独立地表示一个位于三个连续核苷酸上的三个相同修饰的基序。

[0340] 在一个实施方案中,i是0且j是0;或i是1且j是0;或i是0且j是1;或i和j均是0;或i和j均是1。在另一实施方案中,k是0且l是0;或k是1且l是0;或k是0且l是1;或k和l均是0;或k和l均是1。

[0341] 形成iRNA双链体的有义链和反义链的示例性组合包括下述各式:

[0342] 5'n_p-N_a-YYY-N_a-n_q 3'

[0343] 3'n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q'5'

[0344] (IIIa)

[0345] 5'n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3'

[0346] 3'n_p'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a'-n_q'5'

[0347] (IIIb)

[0348] 5'n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3'

[0349] 3'n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q'5'

[0350] (IIIc)

[0351] 5'n_p-N_a-XXX-N_b-YYY-N_b-Z Z Z-N_a-n_q 3'

[0352] 3'n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a-n_q'5'

[0353] (IIId)

[0354] 当dsRNAi剂由式(IIIa)表示时,每个N_a独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0355] 当dsRNAi剂由式(IIIb)表示时,每个N_b独立地表示包含1至10、1至7、1至5或1至4个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0356] 当dsRNAi剂由式(IIIc)表示时,每个N_b、N_b'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0

至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0357] 当dsRNAi剂由式(IIId)表示时，每个N_b、N_b'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个N_a、N_a'独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。N_a、N_a'、N_b和N_b'中的每一个独立地包含交替模式的修饰。

[0358] 式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)中的X、Y和Z中的每一个可以是彼此相同的或不同的。

[0359] 当dsRNAi剂由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示时，Y核苷酸中的至少一个可与Y′核苷酸中的至少一个形成碱基对。或者，Y核苷酸中的至少两个与相应的Y′核苷酸形成碱基对；或全部三个Y核苷酸与相应的Y′核苷酸全部形成碱基对。

[0360] 当dsRNAi剂由式(IIIb)或(IIId)表示时，Z核苷酸中的至少一个可与Z′核苷酸中的至少一个形成碱基对。或者，Z核苷酸中的至少两个与相应的Z′核苷酸形成碱基对；或全部三个Z核苷酸与相应的Z′核苷酸全部形成碱基对。

[0361] 当dsRNAi剂表示为式(IIIc)或(IIId)时，X核苷酸中的至少一个可与X′核苷酸中的至少一个形成碱基对。或者，X核苷酸中的至少两个与相应的X′核苷酸形成碱基对；或全部三个X核苷酸与相应的X′核苷酸全部形成碱基对。

[0362] 在某些实施方案中，Y核苷酸的修饰不同于Y'核苷酸的修饰，Z核苷酸的修饰不同于Z'核苷酸的修饰，或X核苷酸的修饰不同于X'核苷酸的修饰。

[0363] 在某些实施方案中，当dsRNAi剂由式(IIId)表示时，N_a修饰是2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰。在其他实施方案中，当RNAi剂由式(IIId)表示时，N_a修饰是2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰，且n_p'>0，并且至少一个n_p'通过硫代磷酸酯键与相邻的核苷酸连接。在其他实施方案中，当RNAi剂由式(IIId)表示时，N_a修饰是2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰，n_p′>0，且至少一个n_p′通过硫代磷酸酯键与相邻核苷酸连接，并且有义链与通过二价或三价分支接头所附接的一个或多个GalNAc衍生物缀合(如下所述)。在其他实施方案中，当RNAi剂由式(IIId)表示时，N_a修饰是2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰，n_p′>0，且至少一个np′通过硫代磷酸酯键与相邻核苷酸连接，有义链包含至少一个硫代磷酸酯键，并且有义链与通过二价或三价分支接头所附接的一个或多个GalNAc衍生物缀合。

[0364] 在一些实施方案中，当dsRNAi剂由式(IIIa)表示时，N_a修饰是2'-O-甲基修饰或2'-氟基修饰，n_p′>0，且至少一个np′通过硫代磷酸酯键与相邻核苷酸连接，有义链包含至少一个硫代磷酸酯键，并且有义链与通过二价或三价分支接头所附接的一个或多个GalNAc衍生物缀合。

[0365] 在一些实施方案中，dsRNAi剂是包含至少两个由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的双链体的多聚体，其中双链体通过接头连接。接头可以是可裂解的或不可裂解的。任选地，多聚体还包含配体。每个双链体可以靶向相同的基因或两个不同的基因；或者每个双链体可以靶向同一基因的两个不同靶标位点。

[0366] 在一些实施方案中，dsRNAi剂是含有三个、四个、五个、六个或更多个由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的双链体的多聚体，其中双链体通过接头连接。接头可以是可裂解的或不可裂解的。任选地，多聚体还包含配体。每个双链体可以靶向相同的基

因或两个不同的基因;或者每个双链体可以靶向同一基因的两个不同靶标位点。

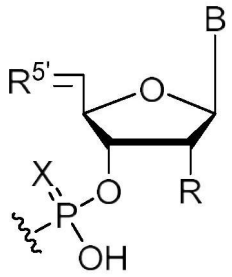
[0367] 在一个实施方案中,由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)中的至少一个表示的两个dsRNAi剂在5′端和一个或两个3'端彼此连接,并且任选地与配体缀合。每个剂可以靶向相同的基因或两个不同的基因;或者每个剂可以靶向同一基因的两个不同靶标位点。

[0368] 在某些实施方案中,本发明的RNAi剂可以含有少量含有2′-氟基修饰的核苷酸,例如10个或更少个具有2'-氟基修饰的核苷酸。例如,RNAi剂可以含有10、9、8、7、6、5、4、3、2、1或0个具有2'-氟基修饰的核苷酸。在一个具体实施方案中,本发明的RNAi剂含有10个具有2'-氟基修饰的核苷酸,例如有义链中有4个具有2'-氟基修饰的核苷酸且在反义链中有6个具有2'-氟基修饰的核苷酸。在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含6个具有2'-氟基修饰的核苷酸,例如在有义链中有4个具有2'-氟基修饰的核苷酸并在反义链中有2个具有2'-氟基修饰的核苷酸。

[0369] 在其他实施方案中,本发明的RNAi剂可含有极少数的含有2'-氟基修饰的核苷酸,如2个或更少个含有2'-氟基修饰的核苷酸。例如,RNAi剂可含有2、1或0个具有2'-氟基修饰的核苷酸。在具体实施方案中,RNAi剂可含有2个具有2′-氟基修饰的核苷酸,例如,在有义链中有0个具有2'-氟基修饰的核苷酸且在反义链中有2个具有2'-氟基修饰的核苷酸。

[0370] 多个出版物描述了可用于本发明方法的多聚体iRNA。此类出版物包括WO2007/091269、美国专利第7,858,769号、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887和WO2011/031520,每个出版物的全部内容通过引用并入本文。

[0371] 在某些实施方案中,本公开的组合物和方法包括如本文所述的RNAi剂的乙烯基膦酸酯(VP)修饰。在示例性实施方案中,本公开的5'-乙烯基膦酸酯修饰的核苷酸具有以下结构:

[0372] 

[0373] 其中X是O或S;

[0374] R是氢、羟基、氟基或C_{1-20}烷氧基(例如,甲氧基或正十六烷氧基);

[0375] $R^{5'}$是=C(H)-P(O)$(OH)_2$,并且C5′碳和$R^{5'}$之间的双键是在E取向或Z取向(例如E取向);以及

[0376] B是核碱基或经修饰的核碱基,任选地,其中B是腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

[0377] 本公开的乙烯基膦酸酯可以连接到本公开的dsRNA的反义链或有义链上。在某些实施方案中,本公开的乙烯基膦酸酯连接到dsRNA的反义链,任选地在dsRNA反义链的5'端。

[0378] 还预期了将乙烯基膦酸酯修饰用于本公开的组合物和方法中。示例性的乙烯基膦酸酯结构包括前述结构,其中$R^{5'}$是=C(H)-P(O)$(OH)_2$,并且C5'碳和$R^{5'}$之间的双键是E取向或Z取向(例如E取向)。

[0379] 如下文更详细描述的，含有缀合到自身的一个或多个糖类部分的iRNA可优化该iRNA的一种或多种特性。在多种情形中，糖类部分将附接到iRNA的经修饰的亚单元上。例如，iRNA的一个或多个核糖核苷酸亚单元的核糖可被替换为另一个部分，如其上附接有糖类配体的非糖类(例如，环状)载体。在本文中，其中亚单元的核糖已经被如此替换的核糖核苷酸亚单元被称为核糖替换修饰亚单元(RRMS)。环状载体可以是碳环环系统，即所有的环原子都是碳原子，或者是杂环环系统，即一个或多个环原子可以是杂原子，例如氮、氧、硫。环状载体可以是单环环系统，或可含有两个或更多个环，如稠环。环状载体可以是完全饱和的环系统，或其可含有一个或多个双键。

[0380] 配体可以通过载体附接到多核苷酸上。载体包括(i)至少一个“主链附接点”，如两个“主链附接点”，和(ii)至少一个“连系附接点(tethering attachment point)”。如本文所用，“主链附接点”是指官能团如羟基，或通常是可用于且适用于将载体并入核糖核酸的主链(如磷酸主链或经修饰的磷酸主链如含硫的主链)中的键。在一些实施方案中，“连系附接点”(TAP)是指连结选定部分的环状载体的构成环原子，例如，碳原子或杂原子(不同于提供主链附接点的原子)。该部分可以是例如糖类，如单糖、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖。任选地，选定部分通过中间连系(intervening tether)而连接至环状载体。因此，环状载体通常将包括官能团例如氨基，或通常提供键，其适用于将另一化学实体(如配体)并入或连系至构成环。

[0381] iRNA可以通过载体与配体缀合，其中载体可以是环状基团或非环状基团。在一些实施方案中，环状基团选自吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基(piperazinyl)、[1,3]二氧戊环基、噁唑烷基(oxazolidinyl)、异噁唑烷基(isoxazolidinyl)、吗啉基、噻唑烷基(thiazolidinyl)、异噻唑烷基、喹喔啉基(quinoxalinyl)、哒嗪壬基(pyridazinonyl)、四氢呋喃基及十氢萘基；在一些实施方案中，非环状基团是丝氨醇主链或二乙醇胺主链。

[0382] i.热不稳定修饰

[0383] 在某些实施方案中，可以通过在反义链的种子区域掺入热不稳定修饰(theramally destabilizing modification)来优化dsRNA分子用于RNA干扰。如本文所用，“种子区域”是指参考链5′端的位置2至9。例如，可以将热不稳定修饰掺入反义链的种子区域，以减少或抑制脱靶基因沉默。

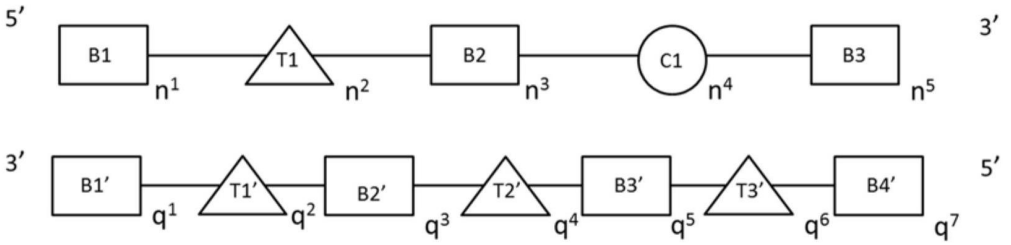
[0384] 术语“热不稳定修饰”包括会导致dsRNA的总体解链温度(Tm)比不具有此类修饰的dsRNA的Tm更低。例如，热不稳定修饰可以将dsRNA的Tm降低1℃至4℃，例如1摄氏度、2摄氏度、3摄氏度或4摄氏度。术语“热不稳定核苷酸”是指含有一个或多个热不稳定修饰的核苷酸。

[0385] 已经发现，具有在从反义链5′端计数的前9个核苷酸位置内包含双链体的至少一个热不稳定修饰的反义链的dsRNA，具有降低的脱靶基因沉默活性。因此，在一些实施方案中，反义链在其5′区域的前9个核苷酸位置内包含双链体的至少一个(例如，一个、两个、三个、四个、五个或更多个)热不稳定修饰。在一些实施方案中，双链体的一个或多个热不稳定修饰位于从反义链5′-端起的位置2至9，例如位置4至8。在一些其他实施方案中，双链体的热不稳定修饰位于从反义链5′-端起的位置6、7或8。在另一些其他实施方案中，双链体的热不稳定修饰位于从反义链5′-端起的位置7。在一些实施方案中，双链体的热不稳定修饰位

于从反义链5′-端起的位置2、3、4、5或9。

[0386] 热不稳定修饰可以包括，但不限于：无碱基修饰；与相对链中的相对核苷酸的错配；以及糖修饰如2′-脱氧修饰或无环核苷酸如未锁核酸(UNA)或二醇核酸(GNA)。

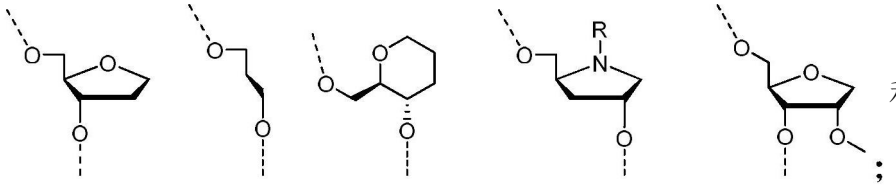
[0387] iRNA剂包含有义链和反义链，每条链具有14至40个核苷酸。RNAi剂可以由式(L)来表示：

[0388] 

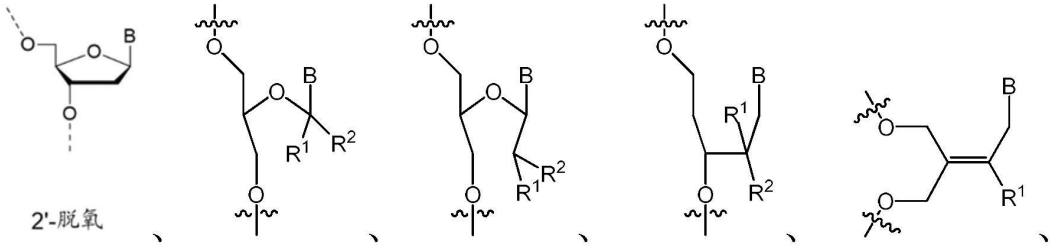
(L)，

[0389] 在式(L)中，B1、B2、B3、B1’、B2′、B3’和B4’各自独立地为含有选自以下修饰的核苷酸：2’-O-烷基、2’-取代烷氧基、2’-取代烷基、2’-卤基、ENA、和BNA/LNA。在一个实施方案中，B1、B2、B3、B1′、B2’、B3’和B4′各自含有2′-OMe修饰。在一个实施方案中，B1、B2、B3、B1’、B2’、B3’和B4’各自含有2’-OMe修饰或2’-F修饰。在一个实施方案中，B1、B2、B3、B1’、B2′、B3’和B4’中的至少一个含有2’-O-N-甲基乙酰氨基(2’-O-NMA)修饰。

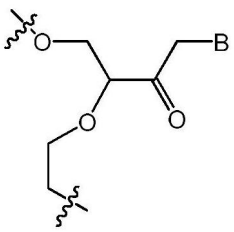
[0390] C1是一种热不稳定核苷酸，位于反义链种子区域(即反义链5’-端的位置2至8)的相对位点。例如，C1位于与反义链的5’端的位置2至8的核苷酸配对的有义链的位置。在一个实例中，C1位于有义链的从5′端计数的位置15。C1核苷酸带有热不稳定的修饰，其可包括无碱基修饰；与双链体中的相对核苷酸的错配；以及糖修饰如2′-脱氧修饰或无环核苷酸如未锁核酸(UNA)或甘油核酸(GNA)。在一个实施方案中，C1具有以下热不稳定的修饰：i)与反义链中的相对核苷酸错配；ii)选自以下的无碱基修饰：

[0391] 

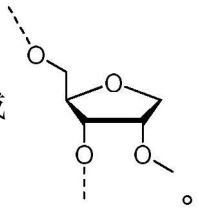
和iii)选自以下的糖修饰：

[0392] 

、和



其中B是经修饰的或未修饰的核碱基，R_1和R_2独立地为H、卤素、OR_3或烷基；以及，R_3为H、烷基、环烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或糖。在一个实施方案中，C1中的热不

稳定修饰是选自G:G、G:A、G:U、G:T、A:A、A:C、C:C、C:U、C:T、U:U、T:T、和U:T的错配;且任选地,错配对中的至少一个核碱基是2'-脱氧核酸碱基。在一个实例中,C1中的热不稳定修饰是GNA或

[0393] T1、T1'、T2'和T3'各自独立地表示包含修饰的核苷酸,该修饰向核苷酸提供了小于或等于2'-OMe修饰的空间体积的空间体积。空间体积是指修饰的空间效应的总和。确定核苷酸的修饰的空间效应的方法是本领域技术人员已知的。修饰可位于核苷酸的核糖的2'位置,或是与该核糖的2'位置相似或等同的对非核糖核苷酸、无环核苷酸、或核苷酸主链的修饰,且该修饰向核苷酸提供了小于或等于2'-OMe修饰的空间体积的空间体积。例如,T1、T1′、T2'和T3'各自独立地选自DNA、RNA、LNA、2'-F、和2'-F-5'-甲基。在一个实施方案中,T1是DNA。在一个实施方案中,T1′是DNA、RNA或LNA。在一个实施方案中,T2'是DNA或RNA。在一个实施方案中,T3′是DNA或RNA。

[0394] n^1、n^3和q^1独立地为4至15个核苷酸的长度。

[0395] n^5、q^3和q^7独立地为1至6个核苷酸的长度。

[0396] n^4、q^2和q^6独立地为1至3个核苷酸的长度;或者,n^4是0。

[0397] q^5独立地为0至10个核苷酸的长度。

[0398] n^2和q^4独立地为0至3个核苷酸的长度。

[0399] 或者,n^4为0至3个核苷酸的长度。

[0400] 在一个实施实施方案中,n^4可以是0。在一个实施方案中,n^4是0,且q^2和q^6是1。在另一实例中,n^4是0,且q^2和q^6是1,并具有位于有义链的位置1至5(从有义链的5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰和位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链的5'端起计数)。

[0401] 在一个实施方案中,n^4、q^2和q^6各自为1。

[0402] 在一个实施方案中,n^2、n^4、q^2、q^4和q^6各自为1。

[0403] 在一个实施方案中,当有义链是19至22个核苷酸的长度时,C1位于有义链5'端的位置14至17,且n^4是1。在一个实施方案中,C1位于有义链5'端的位置15。

[0404] 在一个实施方案中,T3'从反义链5′端起的位置2开始。在一个实例中,T3'位于从反义链5'端起的位置2,且q^6等于1。

[0405] 在一个实施方案中,T1'从反义链5'端起的位置14开始。在一个实例中,T1'位于从反义链5'端起的位置14,且q^2等于1。

[0406] 在示例性实施方案中,T3'从反义链5'端起的位置2开始,且T1′从反义链5′端起的位置14开始。在一个实例中,T3'从反义链5′端起的位置2开始,且q^6等于1;并且T1'从反义链5'端起的位置14开始,且q^2等于1。

[0407] 在一个实施方案中,T1'与T3'被11个核苷酸的长度分隔开(即T1'和T3'核苷酸不计算在内)。

[0408] 在一个实施方案中,T1'位于从反义链5'端起的位置14。在一个实例中,T1'位于从反义链的5'端起的位置14且q^2等于1,并且,位于2′位置的修饰或位于非核糖、非环状或主链的位置的修饰提供了比2′-OMe核糖更小的空间体积。

[0409] 在一个实施方案中,T3'位于从反义链5'端起的位置2。在一个实例中,T3′位于从反义链5'端起的位置2且q^6等于1,并且,位于2'位置的修饰或位于非核糖、非环状或主链的位置的修饰提供了小于或等于2'-OMe核糖的空间体积。

[0410] 在一个实施方案中,T1位于有义链的裂解位点。在一个实例中,当有义链是19至22个核苷酸的长度时,T1位于从有义链5'端起的位置11,且n^2是1。在示例性实施方案中,当有义链是19至22个核苷酸的长度时,T1位于从有义链5'端起的位置11处的裂解位点,且n^2是1。

[0411] 在一个实施方案中,T2'从反义链5'端起的位置6开始。在一个实例中,T2'位于从反义链5'端起的位置6至10,且q^4是1。

[0412] 在示例性实施方案中,当有义链是19至22个核苷酸的长度时,T1位于有义链的裂解位点,例如,位于从有义链5'端起的位置11,且n^2是1;T1'位于从反义链5'端起的位置14,且q^2等于1,且T1'的修饰位于核糖的2'位置或位于非核糖、非环状或主链的位置且提供了小于2'-OMe核糖的空间体积;T2'位于从反义链5'端起的位置6至10,且q^4是1;并且,T3'位于从反义链5'端起的位置2,且q^6等于1,并且,T3'的修饰位于核糖的2'位置或位于非核糖、非环状或主链的位置且提供了小于或等于2'-OMe核糖的空间体积。

[0413] 在一个实施方案中,T2'从反义链5'端起的位置8开始。在一个实例中,T2'从反义链5'端起的位置8开始,且q^4是2。

[0414] 在一个实施方案中,T2'从反义链5'端起的位置9开始。在一个实例中,T2'位于从反义链5'端起的位置9,且q^4是1。

[0415] 在一个实施方案中,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4、T2'是2'-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是6,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。

[0416] 在一个实施方案中,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2′-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是6,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2′-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。

[0417] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。

[0418] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或

2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2′-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。

[0419] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是6,T1是2′-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是7,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2′-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。

[0420] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是6,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是7,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。

[0421] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是6,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。

[0422] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是6,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。

[0423] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2′-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2′是2'-OMe或2'-F,q^3是5,T2'是2'-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2′-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;任选地,在反义链的3'端具有至少2个额外的TT。

[0424] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是5,T2'是2'-F,q^4是1,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;任选地,在反义链的3'端具有至少2个额外的TT;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯的核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。

[0425] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。

[0426] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是

7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。

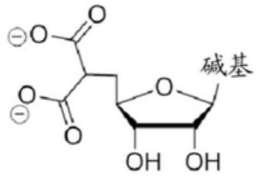
[0427] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4′是2′-F,且q^7是1。

[0428] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。

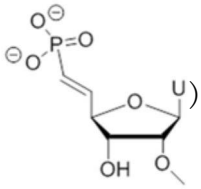
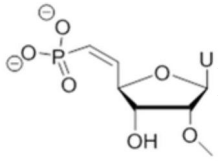
[0429] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2′-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2′-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。

[0430] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。

[0431] RNAi剂可以包含位于有义链或反义链的5'端的含磷基团。该5'端的含磷基团可以是5′端磷酸(5′-P)、5'端硫代磷酸酯(5'-PS)、5′端二硫代磷酸酯(5'-PS_2)、5'端乙烯基膦酸酯(5'-VP)、5'端甲基膦酸酯(MePhos)、或5'-脱氧-5'-C-丙二酰基



当该5'端含磷基团是5'端乙烯基膦酸酯(5'-VP)时,5'-VP可以(　　)。

是5'-E-VP异构体(即,反式-乙烯基膦酸酯,)、5'-Z-VP异构体(即,顺式-乙烯基膦酸酯,)、或其混合物。

[0432] 在一个实施方案中,RNAi剂包含位于有义链的5'端的含磷基团。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链的5′端的含磷基团。

[0433] 在一个实施方案中,RNAi剂包含5'-P。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-P。

[0434] 在一个实施方案中,RNAi剂包含5'-PS。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-PS。

[0435] 在一个实施方案中,RNAi剂包含5'-VP。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-VP。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-E-VP。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-Z-VP。

[0436] 在一个实施方案中,RNAi剂包含5'-PS_2。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-PS_2。

[0437] 在一个实施方案中,RNAi剂包含5'-PS_2。在一个实施方案中,RNAi剂包含位于反义链中的5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0438] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS。

[0439] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-P。

[0440] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-VP。5'-VP可以是5'-E-VP、5′-Z-VP、或其组合。

[0441] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5′-PS_2。

[0442] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0443] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰以及位于反义链的位置18至23中的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还

包含5'-P。

[0444] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2′-F,n^1是8,T1是2′F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2′-OMe或2′-F,q^1是9,T1′是2′-F,q^2是1,B2′是2′-OMe或2′-F,q^3是4,T2′是2′-F,q^4是2,B3′是2′-OMe或2′-F,q^5是5,T3′是2′-F,q^6是1,B4′是2′-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23中的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。RNAi剂还包含5′-PS。

[0445] 在一个实施方案中,B1是2′-OMe或2′-F,n^1是8,T1是2′-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2′-OMe或2′-F,q^1是9,T1′是2′-F,q^2是1,B2′是2′-OMe或2′-F,q^3是4,T2′是2′-F,q^4是2,B3′是2′-OMe或2′-F,q^5是5,T3′是2′-F,q^6是1,B4′是2′-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯的核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯的核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。RNAi剂还包含5′-VP。5′-VP可以是5′-E-VP、5′-Z-VP、或其组合。

[0446] 在一个实施方案中,B1是2′-OMe或2′-F,n^1是8,T1是2′-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2′-OMe或2′-F,q^1是9,T1′是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0447] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2′是2′-F,q^4是2,B3′是2′-OMe或2′-F,q^5是5,T3′是2′-F,q^6是1,B4′是2′-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5′端起计数)。RNAi剂还包含5′-脱氧-5′-C-丙二酰基。

[0448] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-P。

[0449] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3′是2'-OMe或2′-F,q^5是7,T3′是2′-F,q^6是1,B4'是2′-OMe,且q^7是1。dsRNA剂还包含5'-PS。

[0450] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或

2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-VP。5'-VP可以是5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合。

[0451] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0452] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4′是2'-OMe,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0453] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5′端起计数)。RNAi剂还包含5'-P。

[0454] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3′是2'-OMe或2′-F,q^5是7,T3′是2′-F,q^6是1,B4'是2′-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS。

[0455] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-VP。5'-VP可以是5′-E-VP、5′-Z-VP、或其组合。

[0456] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5′端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0457] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于

反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5′端起计数)。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0458] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-P。

[0459] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS。

[0460] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-VP。5'-VP可以是5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合。

[0461] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0462] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0463] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-P。

[0464] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS。

[0465] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,

且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-VP。5'-VP可以是5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合。

[0466] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0467] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0468] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-P。

[0469] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS。

[0470] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-VP。5'-VP可以是5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合。

[0471] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0472] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基。

[0473] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是

7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2′-OMe或2'-F,q^1是9,T1′是2'-F,q^2是1,B2'是2′-OMe或2′-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4′是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-P。

[0474] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-PS。

[0475] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3′是2'-OMe或2′-F,q^5是7,T3′是2′-F,q^6是1,B4′是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链的5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-VP。5'-VP可以是5′-E-VP、5′-Z-VP、或其组合。

[0476] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2。

[0477] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2′-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-脱氧-5′-C-丙二酰基。

[0478] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-P和靶向配体。在一个实施方案中,5′-P位于反义链的5′-端,且靶向配体位于有义链的3′-端。

[0479] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-PS和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS位于反义链的5′-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0480] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2′-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2'-OMe或2′-F,q^1是9,T1′是2'-F,q^2是1,B2′是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-VP(例如,5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合)和靶向配体。

[0481] 在一个实施方案中,5'-VP位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0482] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS_2位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0483] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基和靶向配体。在一个实施方案中,5'-脱氧-5'-C-丙二酰基位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0484] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5′端起计数)。RNAi剂还包含5'-P和靶向配体。在一个实施方案中,5'-P位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0485] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0486] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-VP(例如,5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合)和靶向配体。在一个实施方案中,5'-VP位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0487] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS_2位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0488] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-OMe,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基和靶向配体。在一个实施方案中,5'-脱氧-5'-C-丙二酰基位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0489] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-P和靶向配体。在一个实施方案中,5'-P位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0490] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是

7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2′-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2′是2′-OMe或2′-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3′是2′-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2′-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-PS和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS位于反义链的5′-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0491] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5′端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-VP(例如,5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合)和靶向配体。在一个实施方案中,5'-VP位于反义链的5'-端,且靶向配体位于有义链的3'-端。

[0492] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS_2位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3'端。

[0493] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2′-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2′是2′-OMe或2′-F,q^3是4,T2'是2'-F,q^4是2,B3′是2′-OMe或2'-F,q^5是5,T3'是2′-F,q^6是1,B4'是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-脱氧-5'-C-丙二酰基和靶向配体。在一个实施方案中,5'-脱氧-5'-C-丙二酰基位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3′端。

[0494] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2'-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-P和靶向配体。在一个实施方案中,5'-P位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3'端。

[0495] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是

7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-PS和靶向配体。在一个实施方案中,5′-PS位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3'端。

[0496] 在一个实施方案中,B1是2′-OMe或2′-F,n^1是8,T1是2′-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2′-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2′-F,q^2是1,B2′是2′-OMe或2′-F,q^3是4,q^4是0,B3′是2′-OMe或2'-F,q^5是7,T3′是2'-F,q^6是1,B4′是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-VP(例如,5'-E-VP、5'-Z-VP、或其组合)和靶向配体。在一个实施方案中,5'-VP位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3′端。

[0497] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2′-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2′-OMe,n^5是3,B1′是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2'-F,q^6是1,B4'是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5'-PS_2和靶向配体。在一个实施方案中,5'-PS_2位于反义链的5'端,且靶向配体位于有义链的3'端。

[0498] 在一个实施方案中,B1是2'-OMe或2'-F,n^1是8,T1是2'-F,n^2是3,B2是2'-OMe,n^3是7,n^4是0,B3是2'-OMe,n^5是3,B1'是2'-OMe或2'-F,q^1是9,T1'是2'-F,q^2是1,B2'是2'-OMe或2'-F,q^3是4,q^4是0,B3'是2'-OMe或2'-F,q^5是7,T3'是2′-F,q^6是1,B4'是2′-F,且q^7是1;并具有位于有义链的位置1至5(从有义链5'端起计数)的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰,以及位于反义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰及位于反义链的位置18至23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键修饰(从反义链5'端起计数)。RNAi剂还包含5′-脱氧-5′-C-丙二酰基和靶向配体。在一个实施方案中,5'-脱氧-5′-C-丙二酰基位于反义链的5′端,且靶向配体位于有义链的3′端。

[0499] 在具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0500] (a)有义链,其具有:

[0501] (i)21个核苷酸的长度;

[0502] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;以及

[0503] (iii)位于位置1、3、5、7、9至11、13、17、19和21的2'-F修饰,以及位于位置2、4、6、8、12、14至16、18和20的2'-OMe修饰(从5'端起计数);

[0504] 以及

[0505] (b)反义链,其具有:

[0506] (i)23个核苷酸的长度;

[0507] (ii)位于位置1、3、5、9、11至13、15、17、19、21和23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、4、6至8、10、14、16、18、20和22的2'F修饰(从5'端起计数);以及

[0508] (iii)位于核苷酸位置21与22之间以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0509] 其中所述dsRNA剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出,并且在反义链的5'端具有钝端。

[0510] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0511] (a)有义链,其具有:

[0512] (i)21个核苷酸的长度;

[0513] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0514] (iii)位于位置1、3、5、7、9至11、13、15、17、19和21的2′-F修饰,以及位于位置2、4、6、8、12、14、16、18和20的2'-OMe修饰(从5'端起计数);

[0515] 以及

[0516] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0517] 以及(b)反义链,其具有:

[0518] (i)23个核苷酸的长度;

[0519] (ii)位于位置1、3、5、7、9、11至13、15、17、19和21至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、4、6、8、10、14、16、18及20的2'F修饰(从5'端起计数);以及

[0520] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0521] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出,并且在反义链的5'端具有钝端。

[0522] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0523] (a)有义链,其具有:

[0524] (i)21个核苷酸的长度;

[0525] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0526] (iii)位于位置1至6、8、10和12至21的2'-OMe修饰,位于位置7和9的2'-F修饰,以及位于位置11的脱氧核苷酸(例如,dT)(从5'端起计数);以及

[0527] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0528] 以及

[0529] (b)反义链,其具有:

[0530] (i)23个核苷酸的长度;

[0531] (ii)位于位置1、3、7、9、11、13、15、17和19至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、4至6、8、10、12、14、16和18的2'-F修饰(从5'端起计数);

[0532] 以及

[0533] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数)；

[0534] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出，并且在反义链的5'端具有钝端。

[0535] 在另一具体实施方案中，本发明的RNAi剂包含：

[0536] (a)有义链，其具有：

[0537] (i)21个核苷酸的长度；

[0538] (ii)附接至3'端的ASGPR配体，其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物；

[0539] (iii)位于位置1至6、8、10、12、14和16至21的2'-OMe修饰，以及位于位置7、9、11、13和15的2'-F修饰；以及

[0540] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5′端起计数)；

[0541] 以及

[0542] (b)反义链，其具有：

[0543] (i)23个核苷酸的长度；

[0544] (ii)位于位置1、5、7、9、11、13、15、17、19和21至23的2'-OMe修饰，以及位于位置2至4、6、8、10、12、14、16、18和20的2'-F修饰(从5'端起计数)；以及

[0545] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5′端起计数)；

[0546] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出，并且在反义链的5'端具有钝端。

[0547] 在另一具体实施方案中，本发明的RNAi剂包含：

[0548] (a)有义链，其具有：

[0549] (i)21个核苷酸的长度；

[0550] (ii)附接至3'端的ASGPR配体，其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物；

[0551] (iii)位于位置1至9和12至21的2'-OMe修饰，以及位于位置10和11的2′-F修饰；以及

[0552] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5′端起计数)；

[0553] 以及

[0554] (b)反义链，其具有：

[0555] (i)23个核苷酸的长度；

[0556] (ii)位于位置1、3、5、7、9、11至13、15、17、19和21至23的2'-OMe修饰，以及位于位置2、4、6、8、10、14、16、18和20的2′-F修饰(从5'端起计数)；以及

[0557] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数)；

[0558] 其中所述RNAi剂在该反义链的3'端具有两个核苷酸突出，并且在反义链的5′端具

有钝端。

[0559] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0560] (a)有义链,其具有:

[0561] (i)21个核苷酸的长度;

[0562] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0563] (iii)位于位置1、3、5、7、9至11和13的2'-F修饰,以及位于位置2、4、6、8、12和14至21的2'-OMe修饰;以及

[0564] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0565] 以及

[0566] (b)反义链,其具有:

[0567] (i)23个核苷酸的长度;

[0568] (ii)位于位置1、3、5至7、9、11至13、15、17至19和21至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、4、8、10、14、16和20的2'-F修饰(从5′端起计数);以及

[0569] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0570] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出,并且在反义链的5'端具有钝端。

[0571] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0572] (a)有义链,其具有:

[0573] (i)21个核苷酸的长度;

[0574] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0575] (iii)位于位置1、2、4、6、8、12、14、15、17和19至21的2'-OMe修饰,以及位于位置3、5、7、9至11、13、16和18的2'-F修饰;以及

[0576] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5′端起计数);

[0577] 以及

[0578] (b)反义链,其具有:

[0579] (i)25个核苷酸的长度;

[0580] (ii)位于位置1、4、6、7、9、11至13、15、17和19至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、3、5、8、10、14、16和18的2'-F修饰;以及位于位置24和25的脱氧核苷酸(例如,dT)(从5'端起计数);以及

[0581] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0582] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有四个核苷酸突出,并且在反义链的5′端具有钝端。

[0583] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0584] (a)有义链,其具有:

[0585] (i)21个核苷酸的长度;

[0586] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中该ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0587] (iii)位于位置1至6、8和12至21的2′-OMe修饰,以及位于位置7和9至11的2′-F修饰;以及

[0588] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5′端起计数);

[0589] 以及

[0590] (b)反义链,其具有:

[0591] (i)23个核苷酸的长度;

[0592] (ii)位于位置1、3至5、7、8、10至13、15和17至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、6、9、14和16的2'-F修饰(从5'端起计数);以及

[0593] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0594] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出,并且在反义链的5'端具有钝端。

[0595] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0596] (a)有义链,其具有:

[0597] (i)21个核苷酸的长度;

[0598] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接的三个GalNAc衍生物;

[0599] (iii)位于位置1至6、8和12至21的2'-OMe修饰,以及位于位置7和9至11的2'-F修饰;以及

[0600] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0601] 以及

[0602] (b)反义链,其具有:

[0603] (i)23个核苷酸的长度;

[0604] (ii)位于位置1、3至5、7、10至13、15和17至23的2'-OMe修饰,以及位于位置2、6、8、9、14和16的2'-F修饰(从5′端起计数);以及

[0605] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置21与22之间、以及核苷酸位置22与23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数);

[0606] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出,并且在反义链的5'端具有钝端。

[0607] 在另一具体实施方案中,本发明的RNAi剂包含:

[0608] (a)有义链,其具有:

[0609] (i)19个核苷酸的长度;

[0610] (ii)附接至3'端的ASGPR配体,其中所述ASGPR配体包含通过三价分支接头所附接

的三个GalNAc衍生物；

[0611] (iii)位于位置1至4、6和10至19的2'-OMe修饰，以及位于位置5和7至9的2'-F修饰；以及

[0612] (iv)位于核苷酸位置1与2之间以及核苷酸位置2与3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数)；

[0613] 以及

[0614] (b)反义链，其具有：

[0615] (i)21个核苷酸的长度；

[0616] (ii)位于位置1、3至5、7、10至13、15和17至21的2'-OMe修饰，以及位于位置2、6、8、9、14和16的2'-F修饰(从5'端起计数)；以及

[0617] (iii)位于核苷酸位置1与2之间、核苷酸位置2与3之间、核苷酸位置19与20之间、以及核苷酸位置20与21之间的硫代磷酸酯核苷酸间键(从5'端起计数)；

[0618] 其中所述RNAi剂在反义链的3'端具有两个核苷酸突出，并且在反义链的5'端具有钝端。

[0619] 在某些实施方案中，用于本发明的方法的iRNA是选自表2至表7、表13、表16、表19和表20中的任一表中所列剂的剂。这些剂还可以包含配体。

[0620] III.与配体缀合的iRNA

[0621] 本发明的iRNA的RNA的另一种修饰涉及将增强iRNA的活性、细胞分布或细胞摄取(例如进入细胞中)的一个或多个配体、部分或缀合物化学连接至iRNA上。此类部分包括但不限于脂质部分，例如胆固醇部分(Letsinger et al.,Proc.Natl.Acid.Sci.USA,1989,86:6553-6556)。在其他实施方案中，配体是胆酸(Manoharan et al.,Biorg.Med.Chem.Let.,1994,4:1053-1060)、硫醚例如beryl-S-三苯甲基硫醇(Manoharan et al.,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660:306-309;Manoharan et al.,Biorg.Med.Chem.Let.,1993,3:2765-2770)、巯基胆固醇(Oberhauser et al.,Nucl.Acids Res.,1992,20:533-538)、脂族链例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras et al.,EMBO J,1991,10:1111-1118;Kabanov et al.,FEBS Lett.,1990,259:327-330;Svinarchuk et al.,Biochimie,1993,75:49-54)、磷脂例如双-十六烷基-外消旋-甘油或1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-膦酸三乙铵(Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651-3654;Shea et al.,Nucl.Acids Res.,1990,18:3777-3783)、聚胺或聚乙二醇链(Manoharan et al.,Nucleosides&Nucleotides,1995,14:969-973)、或金刚烷乙酸(Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651-3654)、棕榈基部分(Mishra et al.,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264:229-237)、或十八烷基胺或己基氨基-羰基氧基胆固醇部分(Crooke et al.,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277:923-937)。

[0622] 在某些实施方案中，配体改变了其所掺入的iRNA剂的分布、靶向或寿命。在某些实施方案中，配体提供了对于所选靶标更高的亲和性，所述靶标为例如分子，细胞或细胞类型，区室如细胞区室或器官区室，身体的组织、器官或区域，例如与没有此类配体的种类相比。在一些实施方案中，配体不参与双链体核酸中的双链体配对。

[0623] 配体可以包括天然存在的物质，例如蛋白质(例如，人血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白(LDL)或球蛋白)；糖类(例如葡聚糖、普鲁兰多糖、几丁质、壳聚糖、菊糖、环糊精、N-乙

酰基葡萄糖胺、N-乙酰基半乳糖胺或玻尿酸)；或脂质。配体也可以是重组分子或合成分子，例如合成的聚合物，例如合成的聚氨基酸。聚氨基酸的实例包括，聚氨基酸是聚赖氨酸(PLL)、聚L-天冬氨酸、聚L-谷氨酸、苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚(L-丙交酯-共-乙交酯)共聚物、二乙烯基醚-马来酸酐共聚物、N-(2-羟基丙基)甲基丙烯酰胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)、聚氨酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-异丙基丙烯酰胺聚合物、或聚磷嗪(polyphosphazine)。聚胺的实例包括：聚乙烯亚胺、聚赖氨酸(PLL)、精胺、亚精胺、聚胺、伪肽-聚胺、拟肽聚胺、树枝状聚胺、精氨酸、脒、鱼精蛋白、阳离子脂质、阳离子卟啉、聚胺的季盐、或α螺旋肽。

[0624] 配体还可以包括与具体细胞类型(例如肾脏细胞)结合的靶向基团，例如细胞靶向剂或组织靶向剂，例如凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质，例如抗体。靶向基团可以是促甲状腺素、促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性剂蛋白A、粘蛋白糖类、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基葡萄糖胺、多价甘露糖、多价海藻糖、糖基化聚氨基酸、多价半乳糖、运铁蛋白、双膦酸盐、聚谷氨酸盐、聚天冬氨酸盐、脂质、胆固醇、类固醇、胆汁酸、叶酸、维生素B12、维生素A、生物素或RGD肽或RGD肽模拟物。在某些实施方案中，配体是多价半乳糖，例如N-乙酰基-半乳糖胺。

[0625] 配体的其他实例包括染料、嵌入剂(例如吖啶)、交联剂(例如补骨脂素、丝裂霉素C)、卟啉(TPPC4、texaphyrin、Sapphyrin)、多环芳烃(例如吩嗪、二氢吩嗪)、人工核酸内切酶(例如EDTA)、亲脂性分子(例如胆固醇、胆酸、金刚烷乙酸、1-芘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶基氧基己基基团、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基基团、棕榈酸、肉豆蔻酸、03-(油酰基)石胆酸、03-(油酰基)胆烯酸、二甲氧基三苯甲基、或吩噁嗪)、以及肽缀合物(例如，触角足肽、Tat肽)、烷基化剂、磷酸、氨基、巯基、PEG(例如，PEG-40K)、MPEG、$[MPEG]_2$、聚氨基、烷基、取代烷基、放射性标记的标志物、酶、半抗原(如生物素)、转运促进剂/吸收促进剂(例如，阿司匹林、维生素E、叶酸)、合成的核糖核酸酶(例如，咪唑、双咪唑、组胺、咪唑簇、吖啶-咪唑缀合物、四氮杂大环的Eu3+复合物)、二硝基苯基、HRP、或AP。

[0626] 配体可以是蛋白质如糖蛋白、或肽，例如对共配体具有特异亲和性的分子、或抗体，例如结合特定细胞类型如肝细胞的抗体。配体也可包括激素和激素受体。它们还可以包括非肽类物质，例如脂质、凝集素、糖类、维生素、辅助因子、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰基-半乳糖胺、N-乙酰基-葡萄糖胺、多价甘露糖、或多价海藻糖。配体可以是，例如，脂多糖、p38 MAP激酶的激活剂、或NF-κB的激活剂。

[0627] 配体可以是诸如药物的物质，其可例如通过破坏细胞的细胞骨架(如通过破坏细胞的微管、微丝或中间丝)来增加细胞对iRNA剂的摄取。该药物可以是，例如，紫杉醇(taxol)、长春新碱(vincristine)、长春花碱(vinblastine)、细胞松弛素、诺考达唑(nocodazole)、茉莉素(japlakinolide)、红海海绵素A(latrunculin A)、鬼笔环肽(phalloidin)、海绵抗菌素(swinholide A)、茚酮衍生物(indanocine)、或迈尔素(myoservin)。

[0628] 在一些实施方案中，如本文所述的与iRNA连接的配体充当药物代谢动力学调节剂(PK调节剂)。PK调节剂包括亲脂性物质、胆汁酸、类固醇、磷脂类似物、肽、蛋白结合剂、PEG、维生素等。示例性的PK调节剂包括但不限于胆固醇、脂肪酸、胆酸、石胆酸、二烷基甘油酯、

二酰基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生(naproxen)、布洛芬(ibuprofen)、维生素E、生物素。包含一些硫代硫酸酯键的寡核苷酸还已知与血清蛋白结合,因此在主链中包含多个硫代磷酸酯键的短寡核苷酸如约5个碱基、10个碱基、15个碱基或20个碱基的寡核苷酸也可作为本发明的配体(例如,作为PK调节配体)。此外,在本文所述的实施方案中,结合血清组分(例如,血清蛋白)的适体也适用于作为PK调节配体而使用。

[0629] 本发明的配体-缀合的iRNA可通过使用具有侧链反应性官能团的寡核苷酸来合成,如衍生自连接分子与寡核苷酸的附接(如下所述)。这一反应性寡核苷酸可直接与下列配体反应:可商购的配体、具有多种保护基团中的任一种的合成配体、或具有附接于其上的连接部分的配体。

[0630] 本发明缀合物中使用的寡核苷酸可以通过公知的固相合成技术方便且常规地制备。用于这种合成的设备可由多个供应商贩售,包括,例如Applied Biosystems® (Foster City,Calif.)。可额外地或替代地采用本领域中已知的用于这种合成的任何其他方法。使用类似技术来进行其他寡核苷酸如硫代磷酸酯及烷基化衍生物的制备也是已知的。

[0631] 在本发明的配体-缀合的iRNA和带有配体分子的序列特异性连接的核苷中,寡核苷酸和寡核苷可在合适DNA合成仪上使用下列物质组装:标准核苷酸或核苷前体、或已经带有连接部分的核苷酸或核苷缀合前体、已经带有配体分子或非核苷配体结构单元的配体-核苷酸或核苷缀合前体。

[0632] 当使用已经带有连接部分的核苷酸缀合前体时,通常已完成序列特异性连接的核苷的合成,随后将配体分子与该连接部分反应以形成与配体缀合的寡核苷酸。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸或连接的核苷是通过自动合成仪来合成,除了使用可商购且常规用于寡核苷酸合成中的标准亚磷酰胺和非标准亚磷酰胺以外,还使用了衍生自配体-核苷缀合物的亚磷酰胺。

[0633] A.脂质缀合物

[0634] 在某些实施方案中,配体或缀合物是脂质或基于脂质的分子。这种脂质或基于脂质的分子可以与血清蛋白如人血清白蛋白(HSA)结合。HSA与配体的结合允许缀合物分布于靶组织,如身体的非肾脏靶组织。例如,靶组织可以是肝脏,包括肝脏的实质细胞。可结合HSA的其他分子也可用作配体。例如,可使用萘普生或阿司匹林。脂质或基于脂质的配体可(a)增加对缀合物降解的抗性,(b)增加对靶细胞或细胞膜的靶向或递送,或(c)可用于调节与血清蛋白例如HSA的结合。

[0635] 基于脂质的配体可用于抑制(例如,控制)缀合物与靶组织的结合。例如,与HSA更牢固结合的脂质或基于脂质的配体将更不可能靶向肾脏,并因此更不可能从身体中被清除。与HSA结合较弱的脂质或基于脂质的配体可用来使缀合物靶向肾脏。

[0636] 在某些实施方案中,基于脂质的配体结合HSA。在一个实施方案中,基于脂质的配体以足够的亲和力结合HSA,使得缀合物将分布到非肾组织。然而,优选地,亲和力没有强到使HSA-配体的结合不可逆。

[0637] 在其他实施方案中,基于脂质的配体与HSA结合较弱或根本不结合,使得缀合物将分布到肾脏。靶向肾细胞的其他部分也可以用于代替基于脂质的配体来使用或在除了基于脂质的配体之外使用。

[0638] 在另一方面,配体是被靶细胞(例如增殖细胞)摄取的部分,例如维生素。这些尤其

适用于治疗以多余的细胞增殖(例如恶性或非恶性类型的,如癌细胞)为特征的病症。示例性维生素包括维生素A、维生素E和维生素K。其他示例性维生素包括B族维生素,如叶酸、维生素B12、核黄素、生物素、吡哆醛、或其他被靶细胞例如干细胞摄取的维生素或营养物质。HSA及低密度脂蛋白(LDL)也包括在内。

[0639] B.细胞渗透剂

[0640] 在另一方面,配体是细胞渗透剂,例如螺旋细胞渗透剂。在一个实施方案中,该剂是两亲性的。示例性的剂是肽,例如tat或触角足(antennapedia)。如果该剂是肽,其可以是经修饰的,包括肽模拟物、反转异构体、非肽或伪肽键、以及D-氨基酸的使用。在一个实施方案中,螺旋剂是α-螺旋剂,例如具有亲脂相和疏脂相。

[0641] 配体可以是肽或肽模拟物。肽模拟物(本文中也被称为寡肽模拟物)是能折叠为类似于天然肽的所定义的三维结构的分子。肽及肽模拟物与iRNA剂的附接可例如通过增强细胞识别和吸收来影响iRNA的药物代谢动力学分布。肽或肽模拟物部分可以是约5至50个氨基酸的长度,例如,约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸的长度。

[0642] 肽或肽模拟物可以是例如细胞渗透肽、阳离子肽、两亲性肽或疏水性肽(例如,主要由Tyr、Trp或Phe组成)。肽部分可以是树状体肽、限制性肽或交联肽。在另一替代方案中,肽部分可以包括疏水性膜易位序列(MTS)。示例性的含有疏水性MTS的肽是具有下述氨基酸序列的RFGF:AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO:15)。含有疏水性MTS的RFGF类似物(例如,氨基酸序列AALLPVLLAAP(SEQ ID NO:16))也可以是靶向部分。肽部分可是"递送性"肽,其可携带包括肽、寡核苷酸、及蛋白质在内的极性大分子跨越细胞膜。例如,已经发现,来自HIV Tat蛋白质的序列(GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO:17))和来自果蝇触角足蛋白的序列(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:18))能发挥递送肽的功能。肽或肽模拟物可由随机DNA序列编码,例如从噬菌体显示文库或一珠一化合物(OBOC)组合文库中鉴定出来的肽(Lam et al.,Nature,354:82-84,1991)。通过合并的单体单元而与dsRNA剂连系在一起以用于细胞靶向目的的肽或肽模拟物的实例是精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)-肽或RGD模拟物。肽部分的长度范围可以是约5个氨基酸至约40个氨基酸。肽部分可具有结构性修饰,例如以增加稳定性或引导构象特性。可使用下文所述的任意结构性修饰。

[0643] 用于本发明的组合物和方法的RGD肽可以是线性的或环状的,并且可以经修饰例如糖基化或甲基化以促进对具体组织的靶向。含有RGD的肽和肽模拟物可包括D-氨基酸,以及合成的RGD模拟物。除了RGD之外,还可使用靶向整合素配体的其他部分,如靶向PECAM-1或VEGF。

[0644] "细胞渗透肽"能够渗透细胞例如微生物细胞如细菌或真菌细胞,或哺乳动物细胞如人类细胞。微生物细胞渗透肽可以是,例如,α-螺旋线性肽(例如,LL-37或Ceropin P1)、含二硫键的肽(例如,α-防御素、β-防御素或牛抗菌肽(bactenecin))、或仅含有一个或两个主要氨基酸的肽(例如,PR-39或吲哚西丁(indolicidin))。细胞渗透肽还可包括核定位信号(NLS)。例如,细胞渗透肽可以是双向两亲性肽如MPG,其衍生自HIV-1gp41的融合肽结构域和SV40大T抗原的NLS(Simeoni et al.,Nucl.Acids Res.31:2717-2724,2003)。

[0645] C.糖类缀合物

[0646] 在本发明的组合物和方法的一些实施方案中,iRNA还包含糖类。如本文所述,缀合有糖类的iRNA有利于核酸的体内递送,且组合物适用于体内治疗用途。如本文所用,"糖类"

是指化合物,其本身由一个或多个具有至少6个碳原子的单糖单元(其可以是线性的、分支的或环状的),以及与键连至每个碳原子的氧、氮或硫原子所组成的化合物;或是具有糖类部分作为其一部分的化合物,该糖类部分由一个或多个具有至少六个碳原子的单糖单元(其可以是线性的、分支的或环状的)与键连至每个碳原子的氧、氮或硫原子所组成。代表性糖类包括糖(单糖、二糖、三糖及含有约4、5、6、7、8、或9个单糖单元的寡糖),以及多糖如淀粉、糖原、纤维素和多糖胶。具体的单糖包括C5和以上(如,C5、C6、C7或C8)糖;二糖和三糖,其包括具有两个或三个单糖单元(如,C5、C6、C7或C8)的糖。

[0647] 在某些实施方案中,用于本发明的组合物和方法的糖类缀合物是单糖。

[0648] 在某些实施方案中,单糖是N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)。包含一种或多种N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)衍生物的GalNAc缀合物描述于例如US 8,106,022中,其全部内容通过引用并入本文。在一些实施方案中,GalNAc缀合物被用作将iRNA靶向具体细胞的配体。在一些实施方案中,GalNAc缀合物将iRNA靶向肝脏细胞,例如,通过用作肝脏细胞(例如,肝细胞)的去唾液酸糖蛋白受体的配体。

[0649] 在一些实施方案中,糖类缀合物包含一种或多种GalNAc衍生物。GalNAc衍生物可以通过接头例如二价或三价分支接头来附接。在一些实施方案中,GalNAc缀合物缀合至有义链的3′端。在一些实施方案中,GalNAc缀合物通过接头例如本文所述的接头缀合至iRNA剂(例如,缀合至有义链的3′端)。在一些实施方案中,GalNAc缀合物缀合至有义链的5'端。在一些实施方案中,GalNAc缀合物通过接头例如本文所述的接头缀合至iRNA剂(例如,缀合至有义链的5'端)。

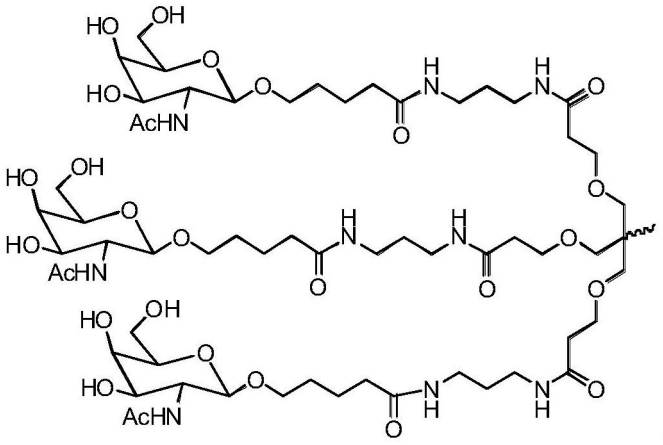
[0650] 在本发明的某些实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过单价接头附接至本发明的iRNA剂。在一些实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过二价接头附接至本发明的iRNA剂。在本发明的其他实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过三价接头附接至本发明的iRNA剂。在本发明的其他实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过四价接头附接至本发明的iRNA剂。

[0651] 在某些实施方案中,本发明的双链RNAi剂包含一个附接至iRNA剂的GalNAc或GalNAc衍生物。在某些实施方案中,本发明的双链RNAi剂包含多(例如,2、3、4、5或6)个GalNAc或GalNAc衍生物,每个GalNAc或GalNAc衍生物通过多个单价接头独立地附接至双链RNAi剂的多个核苷酸上。

[0652] 在一些实施方案中,例如,当本发明的iRNA剂的两条链是一个较大分子的一部分且通过一条链的3'端与另一条链的5'端之间的不间断的核苷酸链连接而形成包含多个未配对核苷酸的发夹环时,该发夹环内的每个未配对核苷酸可独立包含通过单价接头附接的GalNAc或GalNAc衍生物。发夹环也可由双链体的一条链的延伸突出形成。

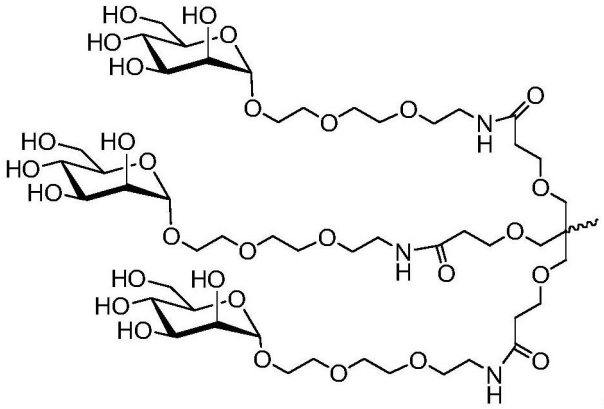
[0653] 在一些实施方案中,例如,当本发明的iRNA剂的两条链是一个较大分子的一部分且通过一条链的3'端与另一条链的5'端之间的不间断的核苷酸链连接而形成包含多个未配对核苷酸的发夹环时,该发夹环内的每个未配对核苷酸可独立地包含通过单价接头附接的GalNAc或GalNAc衍生物。发夹环也可由双链体的一条链的延伸突出形成。

[0654] 在一个实施方案中,用于本发明的组合物和方法的糖类缀合物选自:

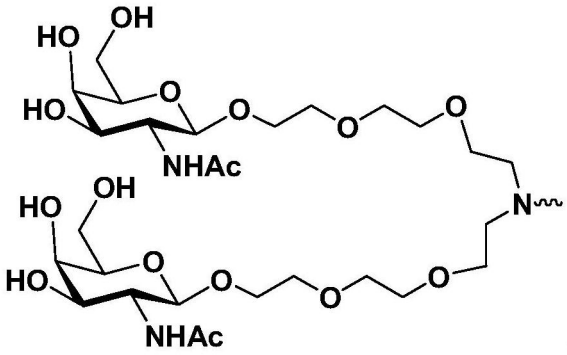


式 II;

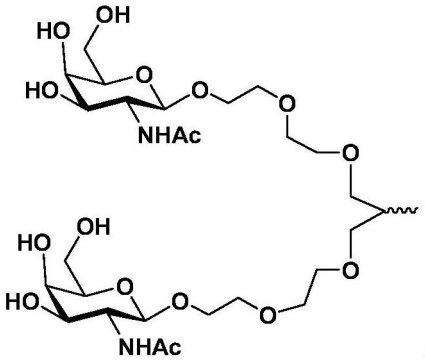
[0655]



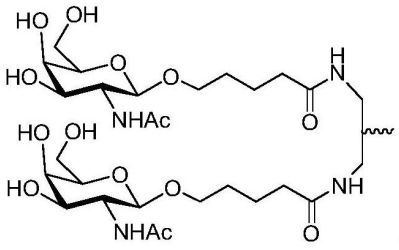
式 III;



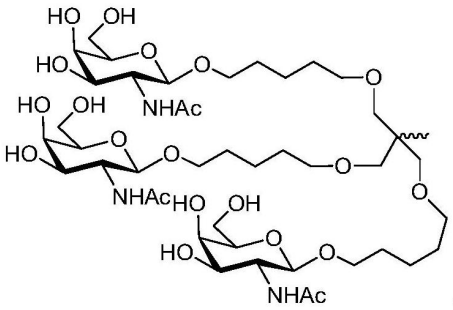
式 IV;



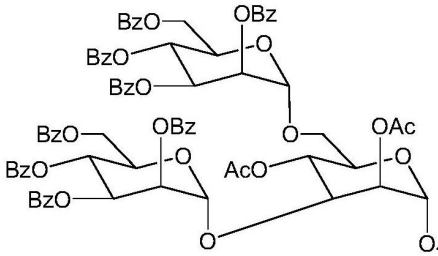
式 V;



式 VI;

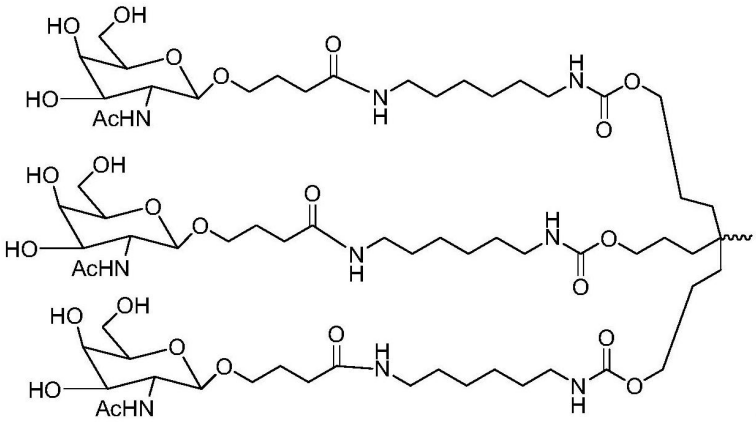


式 VII;

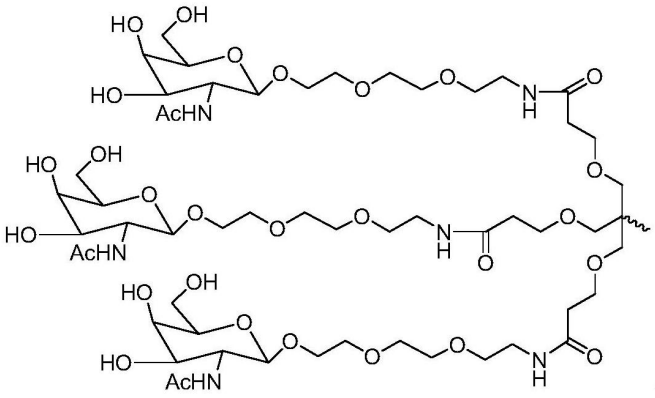


式 VIII;

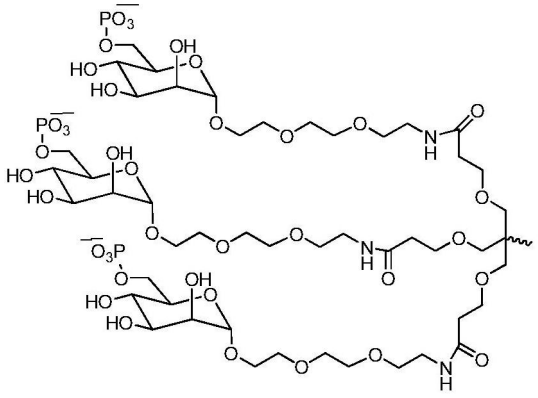
[0656]



式 IX;

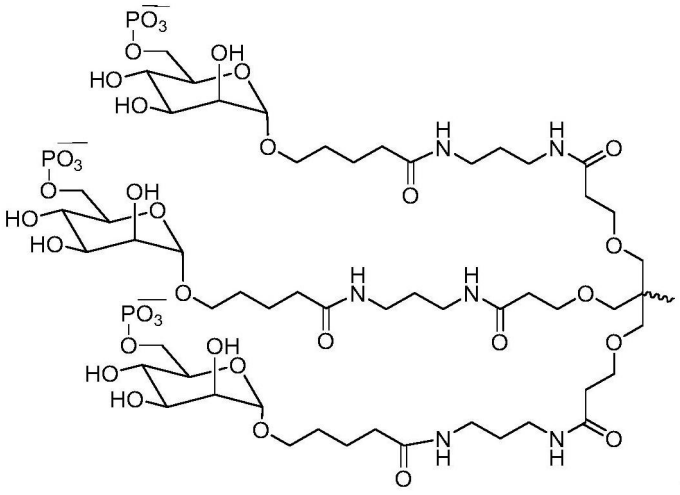


式 X;

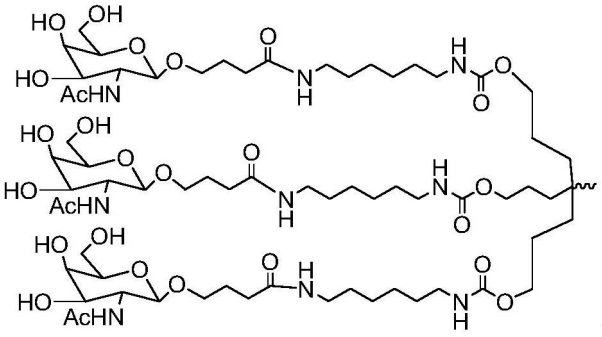


式 XI;

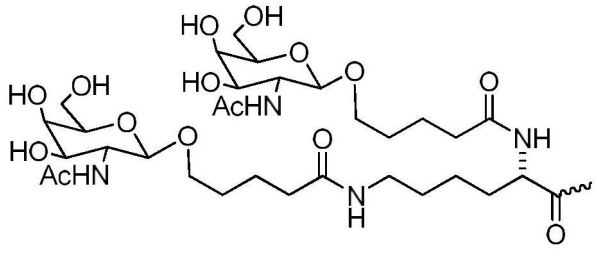
[0657]



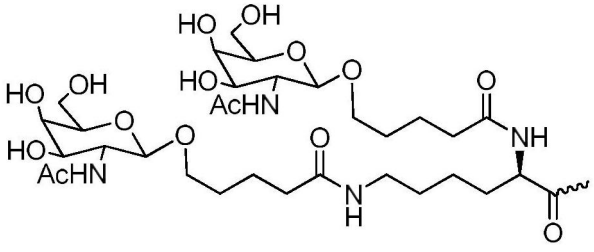
式 XII;



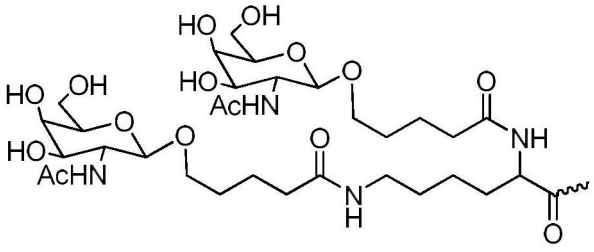
式 XIII;



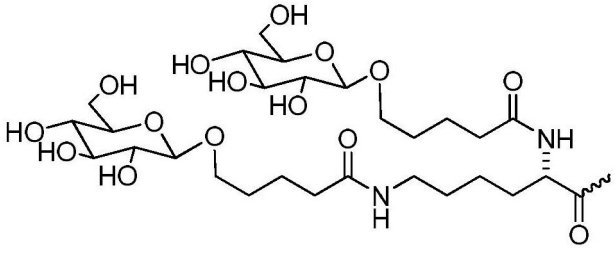
式 XIV;



式 XV;

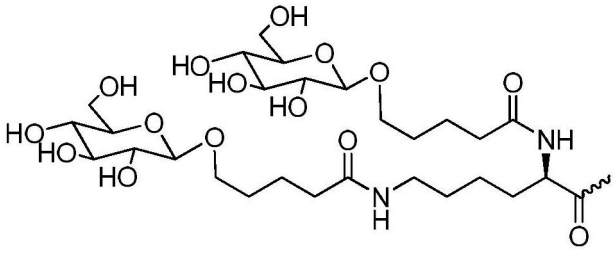


式 XVI;

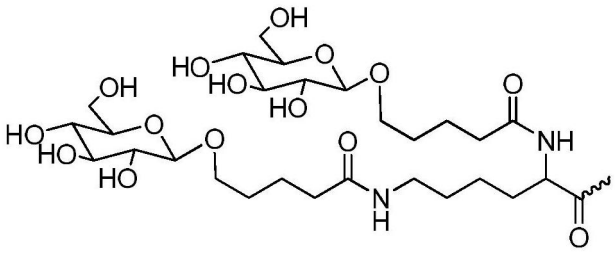


式 XVII;

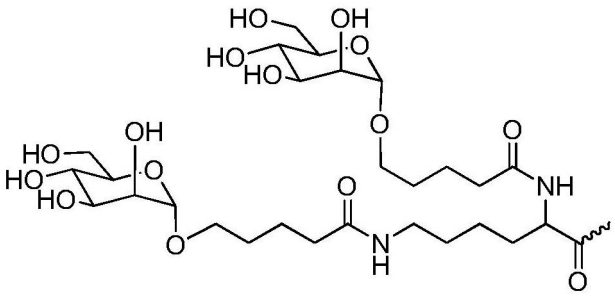
[0658]



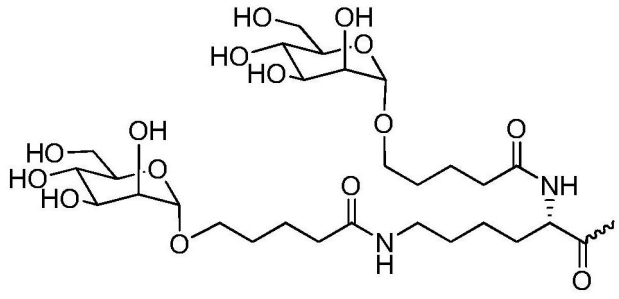
式 XVIII;



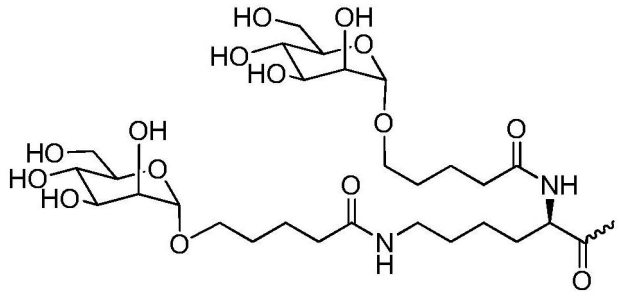
式 XIX;



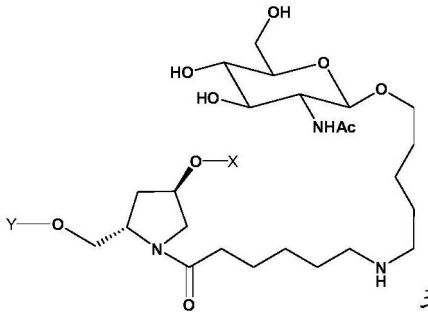
式 XX;



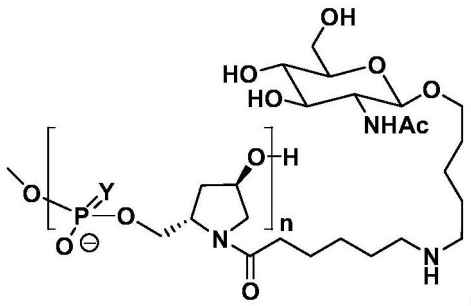
式 XXI;

[0659] 

式 XXII;

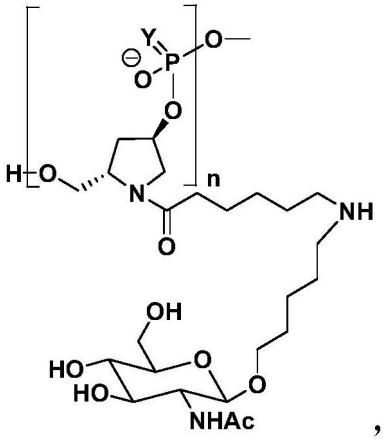


式 XXIII;

[0660] 

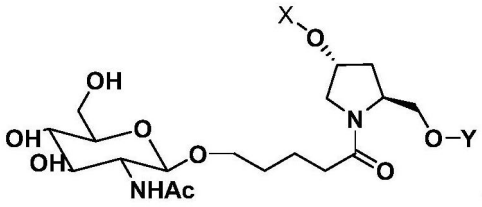
其中,Y是O或S并且n是3至6(式XXIV);

,

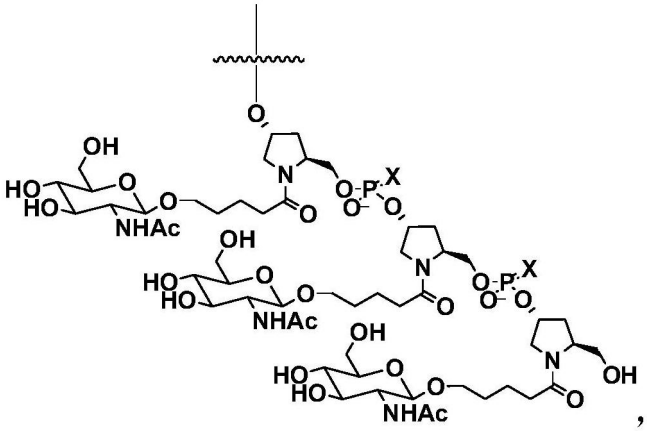
[0661] 

其中,Y是O或S并且n是3至6(式XXV);

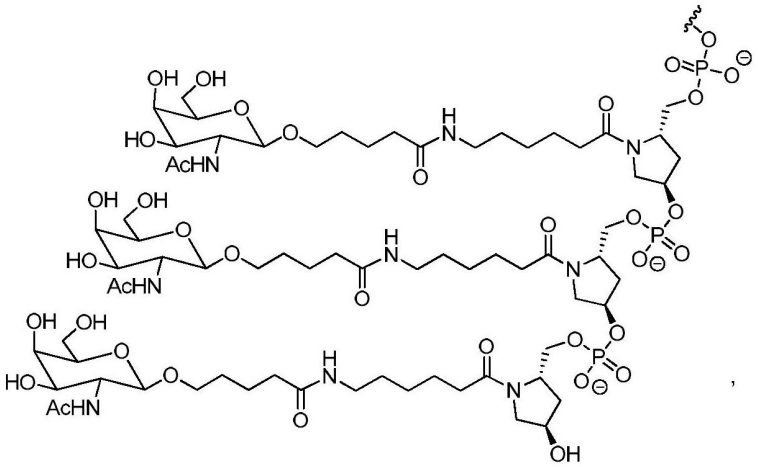
,

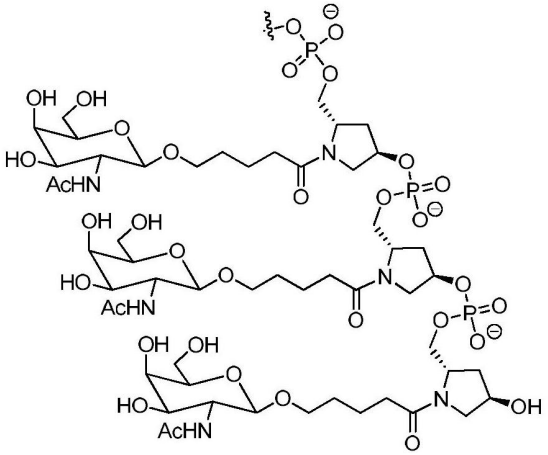
[0662] 

式 XXVI;

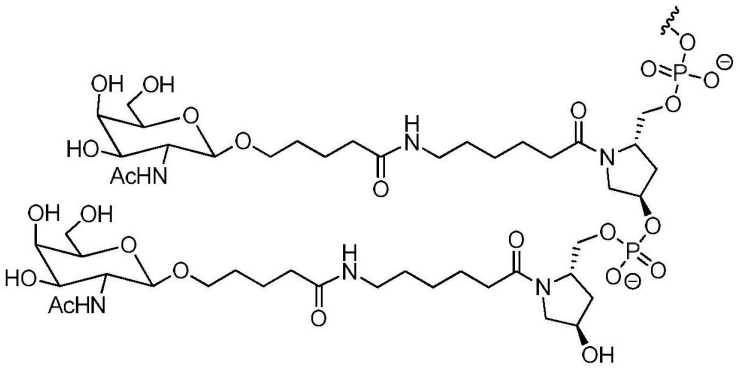
[0663] 

其中,X是O或S(式XXVII);

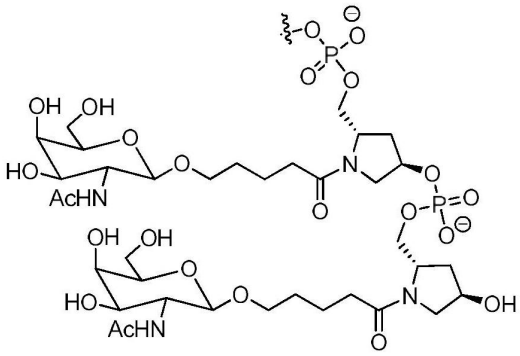


[0664] 

式 XXVII; 式 XXIX;

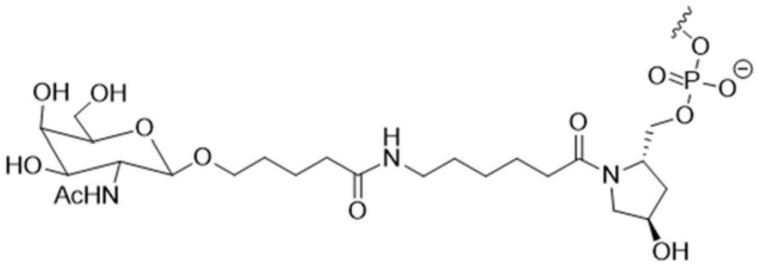


,



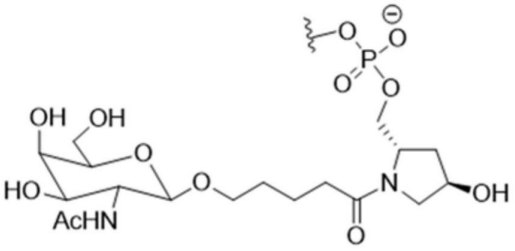
,

[0665] 式 XXX；式 XXXI；



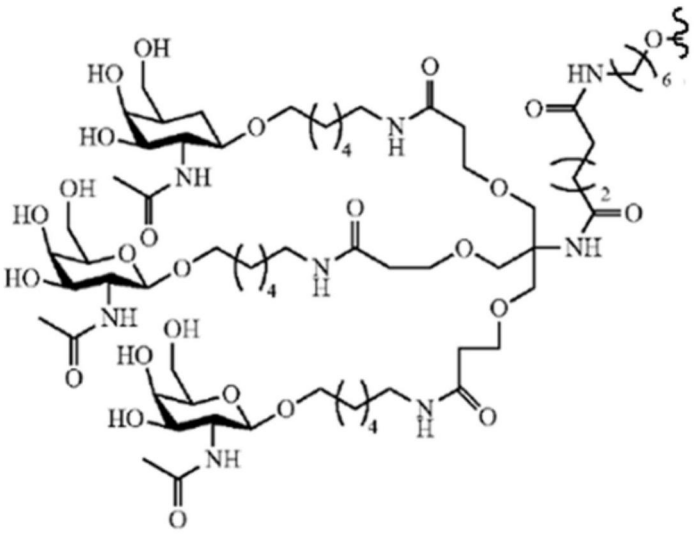
,

和



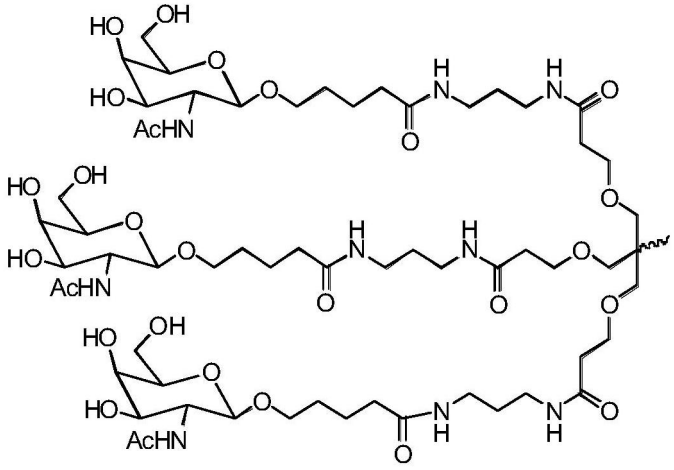
.

式 XXXII；式 XXXIII；

[0666] 

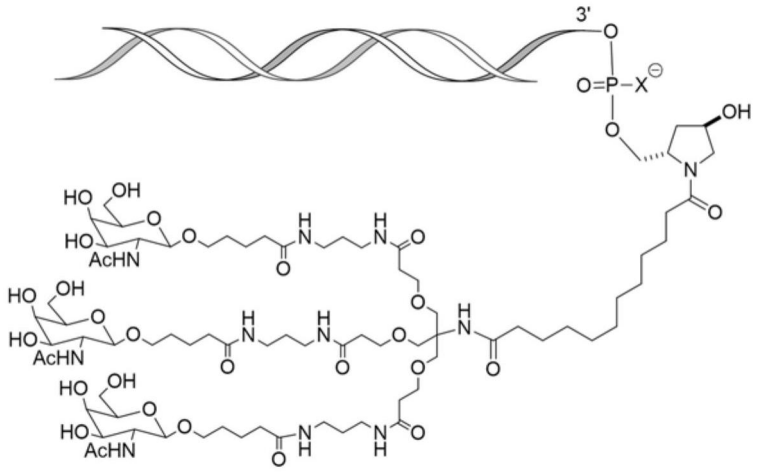
式 XXXIV。

[0667] 在另一实施方案中，用于本发明的组合物和方法的糖类缀合物是单糖。在一个实施方案中，单糖是N-乙酰半乳糖胺，例如

[0668] 

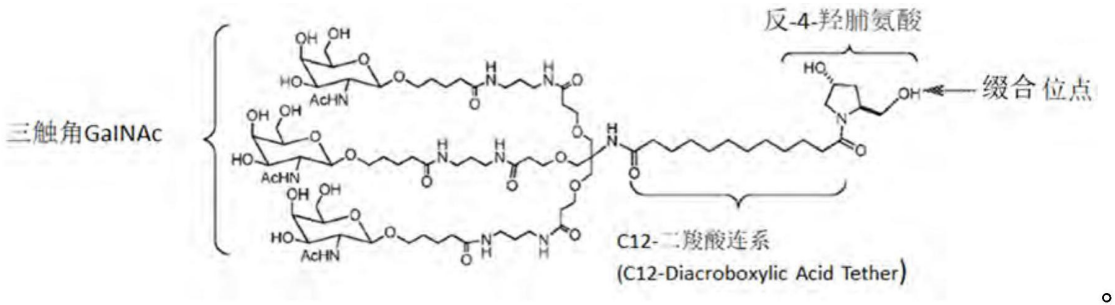
式 II。

[0669] 在一些实施方案中，RNAi剂如以下示意图所示通过接头附接至糖类缀合物上，其中X是O或S

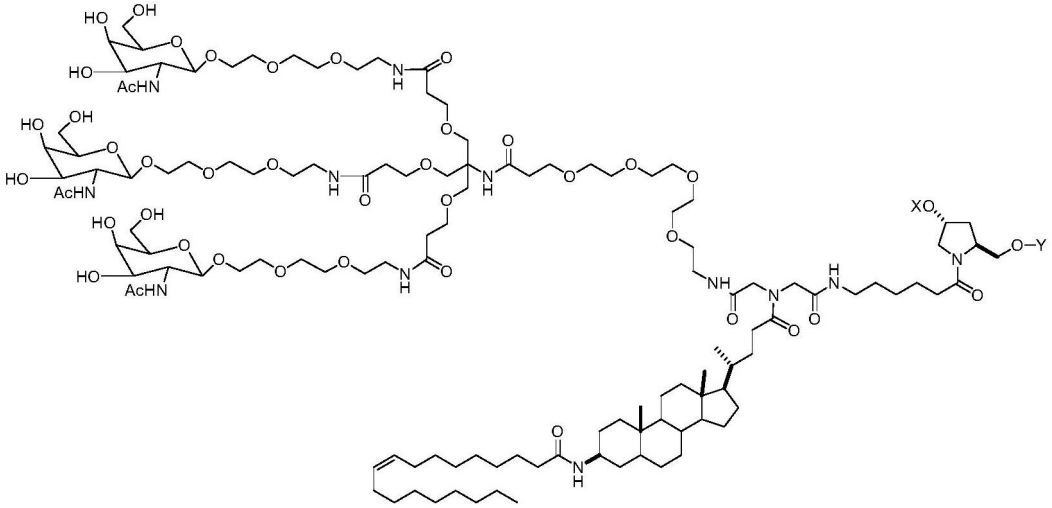
[0670] 

。

[0671] 在一些实施方案中，RNAi剂被缀合至如表1中定义的L96，如下所示：

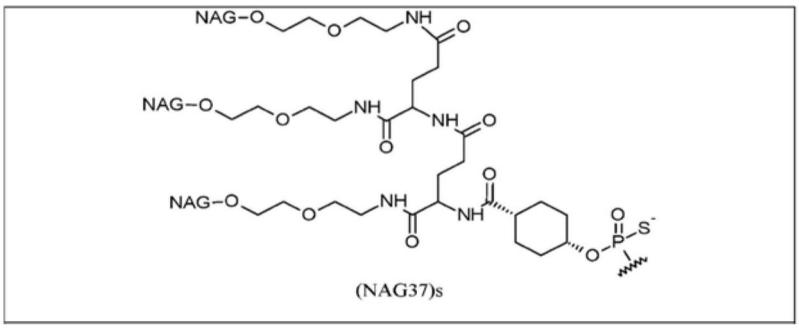
[0672] 

[0673] 用于本文所述实施方案的另一种代表性糖类缀合物包括,但不限于,

[0674] 

[0675] (式XXXVI),其中,X或Y中的一个是寡核苷酸,且另一个是氢。

[0676] 在一些实施方案中,合适的配体是WO 2019/055633中公开的配体,其全部内容通过引用并入本文。在一个实施方案中,配体包含以下结构:

[0677] 

[0678] 在本发明的某些实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过单价接头附接至本发明的iRNA剂。在一些实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过二价接头附接至本发明的iRNA剂。在本发明的其他实施方案中,GalNAc或GalNAc衍生物通过三价接头附接至本发明的iRNA剂。

[0679] 在一个实施方案中,本发明的双链RNAi剂包含一个或多个附接至iRNA剂的GalNAc或GalNAc衍生物。GalNAc可以通过接头附接至有义链或反义链上的任意核苷酸上。GalNac可以附接至有义链的5'端、有义链的3'端、反义链的5'端或反义链的3'端。在一个实施方案中,GalNAc例如通过三价接头附接至有义链的3'末端。

[0680] 在其他实施方案中,本发明的双链RNAi剂包含多个(例如,2、3、4、5或6个)GalNAc或GalNAc衍生物,每个衍生物通过多个接头(例如,单价接头)独立地附接至双链RNAi剂的

多个核苷酸上

[0681] 在一些实施方案中，例如，当本发明的iRNA剂的两条链是一个较大分子的一部分且通过一条链的3'端与对应的另一条链的5'端之间的不间断的核苷酸链连接而形成包含多个未配对核苷酸的发夹环，该发夹环内的每个未配对核苷酸可独立地包含通过单价接头连接的GalNAc或GalNAc衍生物。

[0682] 在一些实施方案中，糖类缀合物还包含如上所述的一个或多个另外的配体，例如但不限于，PK调节剂或细胞渗透肽。

[0683] 适用于本发明的其他糖类缀合物和接头包括在PCT公开号WO 2014/179620和WO 2014/179627中所描述的那些，其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0684] D.接头

[0685] 在一些实施方案中，本文所述的缀合物或配体可以通过多种接头连接到iRNA寡核苷酸上，所述接头可以是可裂解的或不可裂解的。

[0686] 术语“接头(linker)”或“连接基团(linking group)”意指将化合物的两个部分连结的有机部分，例如，将化合物的两个部分共价连接的有机部分。接头通常包含直接键或原子如氧或硫，单元如NR8、C(O)、C(O)NH、SO、SO_2、SO_2NH或原子链，例如但不限于，取代的或未取代的烷基、取代的或未取代的烯基、取代的或未取代的炔基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基、杂环基烷基、杂环基烯基、杂环基炔基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基、环烯基、烷基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基炔基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、烯基芳基炔基、炔基芳基烷基、炔基芳基烯基、炔基芳基炔基、烷基杂芳基烷基、烷基杂芳基烯基、烷基杂芳基炔基、烯基杂芳基烷基、烯基杂芳基烯基、烯基杂芳基炔基、炔基杂芳基烷基、炔基杂芳基烯基、炔基杂芳基炔基、烷基杂环基烷基、烷基杂环基烯基、烷基杂环基炔基、烯基杂环基烷基、烯基杂环基烯基、烯基杂环基炔基、炔基杂环基烷基、炔基杂环基烯基、炔基杂环基炔基、烷基芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基杂芳基、烯基杂芳基、炔基杂芳基，其中一个或多个亚甲基可被如下基团所中断或终止：O、S、S(O)、SO_2、N(R8)、C(O)、取代的或未取代的芳基、取代的或未取代的杂芳基、或取代的或未取代的杂环基；其中R8是氢、酰基、脂肪族或取代的脂肪族。在一个实施方案中，接头是约1至24个原子、2至24个原子、3至24个原子、4至24个原子、5至24个原子、6至24个原子、6至18个原子、7至18个原子、8至18个原子、7至17个原子、8至17个原子、6至16个原子、7至17个原子、或8至16个原子。

[0687] 可裂解的连接基团在细胞外足够稳定，但在进入靶细胞时被裂解以释放被接头保持在一起的两个部分。在一个实施方案中，在靶细胞中或在第一参考条件(其可以是例如经选择以模拟或呈现细胞内的条件)下，相比于在受试者血液中或在第二参考条件(其可以是例如经选择以模拟或呈现血液或血清中所见的条件)下，可裂解的连接基团被裂解的速度快至少约10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或更高、或至少约100倍。

[0688] 可裂解的连接基团易受裂解剂的影响，例如pH、氧化还原电位或可降解分子的存在。通常，与在血清或血液中相比，裂解剂在细胞内更普遍或以更高的水平或活性存在。此类降解剂的实例包括：氧化还原剂，其被选择用于特定底物或其不具有底物特异性，包括例如细胞中存在的氧化酶、还原酶或还原剂如硫醇，其可通过还原作用降解可经氧化还原裂解的连接基团；酯酶；可产生酸性环境的核内体或剂，例如导致pH为5或更低的那些；可通过

作为通用的酸、肽酶(其可以是底物特异性的)和磷酸酶来水解或降解酸可裂解的连接基团的酶。

[0689] 可裂解的连接基团如二硫键可能对pH敏感。人血清的pH为7.4,而细胞内的平均pH略低,其范围约为7.1至7.3。核内体具有酸性更强的pH,其范围约为5.5至6.0;而溶酶体甚至具有酸性更强的pH,约为5.0。一些接头将具有可裂解的连接基团,该连接基团在选定的pH发生裂解,从而将阳离子脂质从细胞内的配体释放出来或将该阳离子脂质释放进所期望的细胞区室内。

[0690] 接头可以包括可通过特定酶裂解的可裂解的连接基团。并入接头的可裂解的连接基团的类型可取决于将作为靶标的细胞。例如,肝脏靶向配体可通过包括酯基的接头与阳离子脂质连接。肝脏细胞富含酯酶,因此与不富含酯酶的细胞类型相比,该接头在肝细胞中被更有效地裂解。其他富含酯酶的细胞类型包括肺细胞、肾皮质细胞和睾丸细胞。

[0691] 当靶向富含肽酶的细胞类型如肝脏细胞和滑膜细胞时,可使用含有肽键的接头。

[0692] 通常,可通过测试降解剂(或条件)裂解候选连接基团的能力来评估候选的可裂解连接基团的适用性。还期望测试候选可裂解连接基团在血液中或当与其他非靶组织接触时的抵抗裂解的能力。因此,可测定第一条件与第二条件间的裂解相对敏感性,其中,选择第一条件以指示靶细胞中的裂解,而选择第二条件以指示其他组织或生物液体如血液或血清中的裂解。评估可在无细胞系统中、细胞中、细胞培养物中、器官或组织培养物中、或在完整动物体内进行。在无细胞或培养条件进行初始评估,并通过在完整动物体内的进一步评估进行证实,可能是有用的。在某些实施方案中,有用的候选化合物在细胞内(或在被选用以模拟细胞内条件的体外条件下)的裂解速度比在血液或血清中(或在被选用以模拟细胞外条件的体外条件下)快至少约2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或100倍。

[0693] i.可氧化还原裂解的连接基团

[0694] 在某些实施方案中,可裂解的连接基团是在还原或氧化时被裂解的可经氧化还原裂解的连接基团。可经还原裂解的连接基团的实例是二硫化物连接基团(-S-S-)。可参见本文中所述的方法来确定候选可裂解连接基团是否是合适的"可还原裂解的连接基团"或例如是否适用于与特定iRNA部分和特定靶向剂一起使用。例如,可通过使用本领域中的已知试剂将二硫苏糖醇(DTT)或其他还原剂与候选物一起孵育来评估候选物,其模拟在细胞如靶细胞中将会观察到的裂解速率。候选物也可在被选用以模拟血液或血清条件的条件下进行评估。在一个实施方案中,候选化合物在血液中至多被裂解约10%。在其他实施方案中,有用的候选化合物在细胞内(或在被选择以模拟细胞内条件的体外条件下)的降解速度比在血液或血清中(或在被选择以模拟细胞外条件的体外条件下)快至少约2倍、4倍、10倍、20倍、30倍、40倍、50倍、60倍、70倍、80倍、90倍或约100倍。可使用标准酶动力学分析在被选择以模拟细胞内介质的条件下测定候选化合物的裂解速率,并将其与在被选择以模拟细胞外介质的条件下所测定的候选化合物的裂解速率进行比较。

[0695] ii.基于磷酸的可裂解连接基团

[0696] 在其他实施方案中,可裂解的接头包含基于磷酸的可裂解连接基团。基于磷酸的可裂解连接基团是被降解或水解磷酸基团的剂所裂解。在细胞内裂解磷酸基团的剂的实例是酶如细胞内的磷酸酶。基于磷酸的连接基团的实例是-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-

O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-,其中Rk每次出现时可以独立地是C1-C20烷基、C1-C20卤代烷基、C6-C10芳基、或C7-C12芳烷基。示例性实施方案包括-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-和-O-P(S)(H)-S-。在某些实施方案中,基于磷酸的连接基团是-O-P(O)(OH)-O-。可使用与上述方法类似的方法来评估这些候选物。

[0697] iii.酸可裂解的连接基团

[0698] 在其他实施方案中,可裂解的接头包含酸可裂解的连接基团。酸可裂解的链接基团是在酸性条件下被裂解的连接基团。在某些实施方案中,酸可裂解的连接基团在pH为约6.5或更低(例如,约6.0、5.5、5.0或更低)的酸性环境中被裂解,或被剂例如可用作广义酸的酶所裂解。在细胞中,具体的低pH细胞器如核内体和溶酶体,可为酸可裂解的连接基团提供裂解环境。酸可裂解的连接基团的实例包括但不限于腙类、酯类、及氨基酸的酯类。酸可裂解的链接基团可具有通式-C=NN-、C(O)O、或-OC(O)。一个示例性实施方案是附接至酯(烷氧基)的氧的碳是芳基基团、经取代的烷基基团、或叔烷基基团如二甲基戊基或叔丁基。这些候选物可使用与上述方法类似的方法来评估。

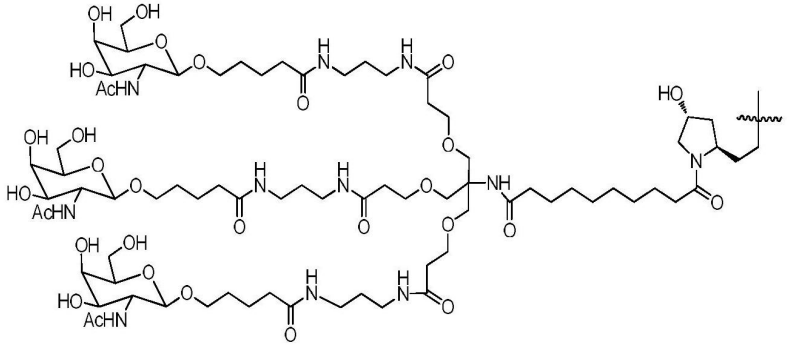
[0699] iv.基于酯的可裂解连接基团

[0700] 在其他实施方案中,可裂解的接头包含基于酯的可裂解的连接基团。基于酯的可裂解的连接基团通过细胞中的酶例如酯酶或酰胺酶而被裂解。基于酯的可裂解的连接基团的实例包括但不限于亚烷基基团、亚烯基基团和亚炔基基团的酯类。酯可裂解的连接基团具有通式-C(O)O-或-OC(O)-。这些候选物可使用与上述方法类似的方法来评估。

[0701] v.基于肽的可裂解连接基团

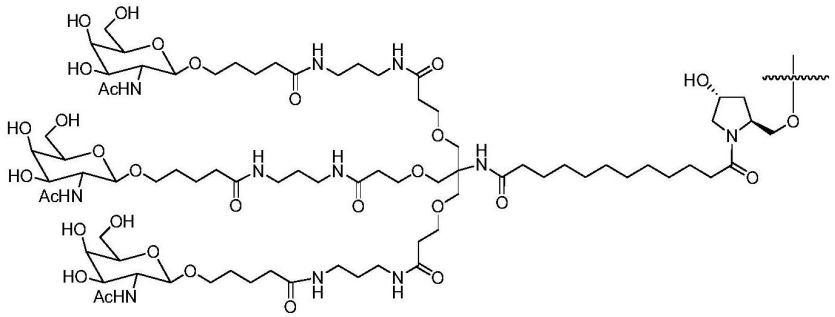
[0702] 在其他实施方案中,可裂解的接头包含基于肽的可裂解连接基团。基于肽的可裂解连接基团通过细胞中的酶例如肽酶和蛋白酶而被裂解。基于肽的可裂解基团为在氨基酸之间形成的肽键以获得寡肽(例如二肽、三肽等)和多肽。基于肽的可裂解基团不包括酰胺基团(-C(O)NH-)。酰胺基团可在任意亚烷、亚烯或亚炔之间形成。肽键是在氨基酸之间形成以获得肽和蛋白质的特殊类型的酰胺键。基于肽的裂解基团通常被限于产生肽和蛋白质的氨基酸之间形成的肽键(即酰胺键),而不包括完整酰胺官能团。基于肽的可裂解连接基团具有通式-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-,其中RA与RB是两个相邻氨基酸的R基团。这些候选物可使用与上述方法类似的方法来评估。

[0703] 在一些实施方案中,本发明的iRNA通过接头与糖类缀合。本发明的组合物和方法中具有接头的iRNA糖类缀合物的非限制性实例包括,但不限于,

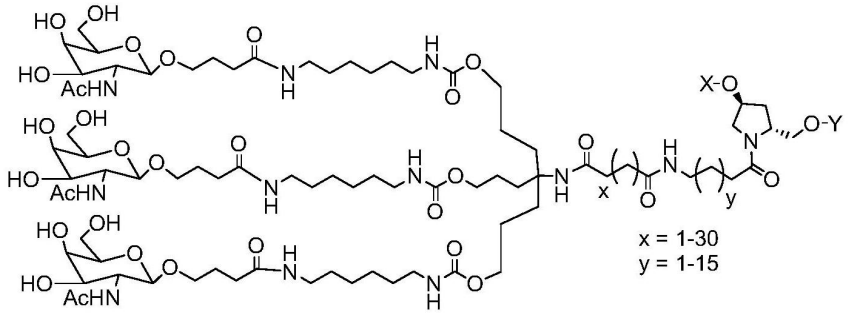


（式 XXXVII）、

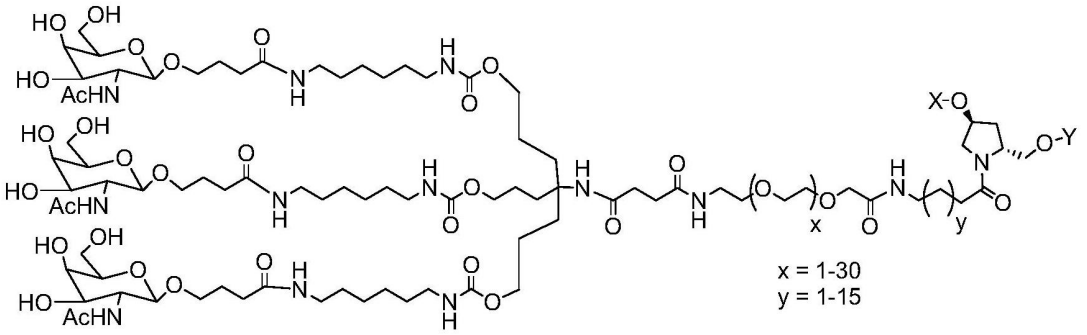
[0704]



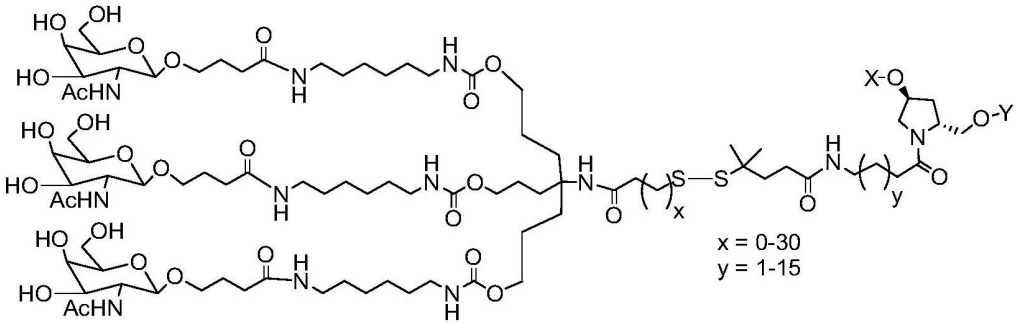
（式 XXXVIII）、



（式 XXXIX）、

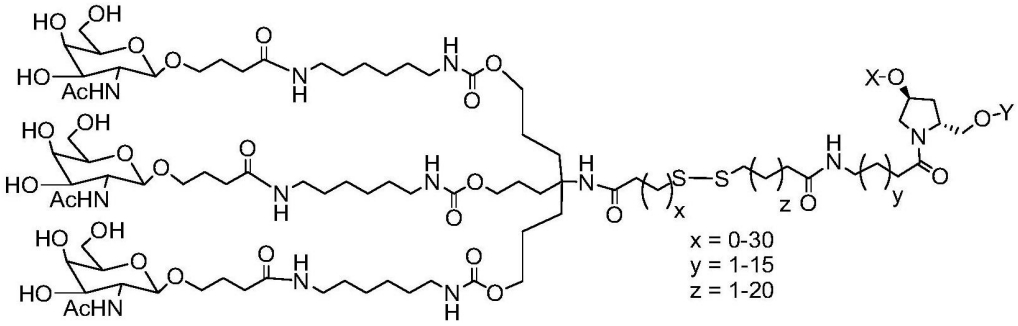


（式 XL）、

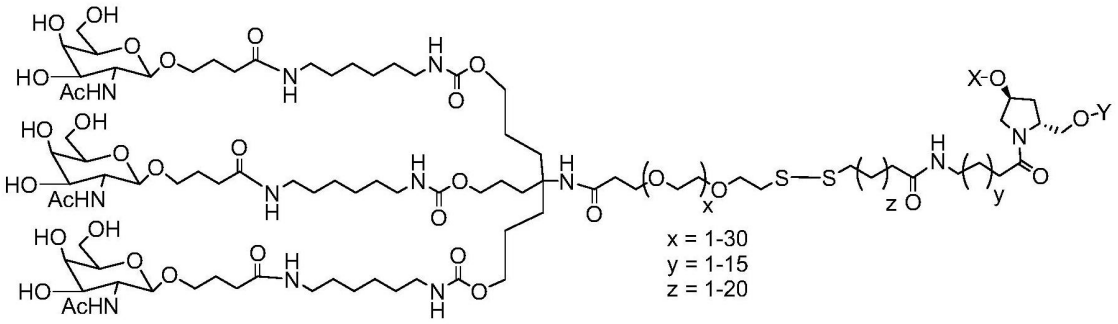


（式 XLI）、

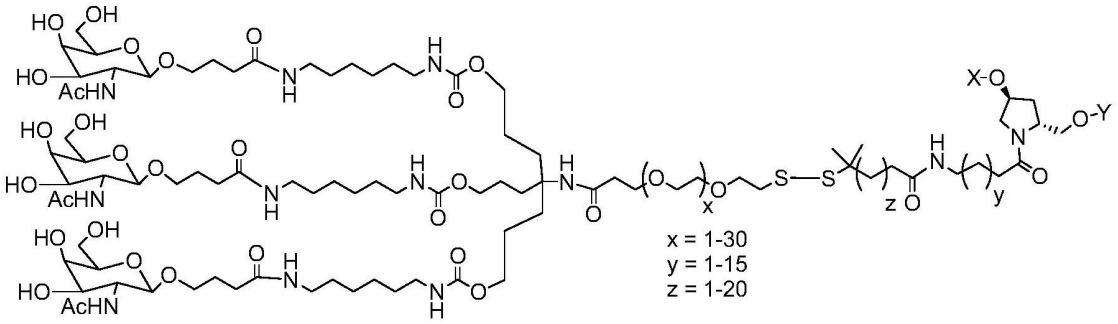
[0705]



（式 XLII）、



（式 XLIII）、和

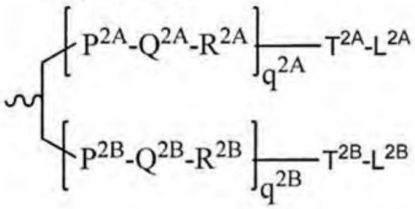
[0706] 

[0707] （式 XLIV），当X或Y中的一个是寡核苷酸时，另一个是氢。

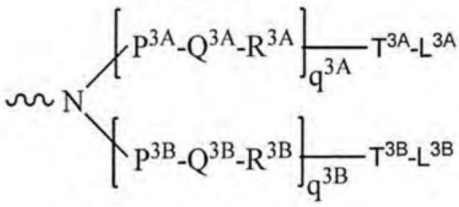
[0708] 在本发明组合物和方法的某些实施方案中，配体是通过二价或三价分支接头所附接的一个或多个“GalNAc”(N-乙酰半乳糖胺)衍生物。

[0709] 在一个实施方案中，本发明的dsRNA缀合至选自式(XLV)至式(XLVI)中的任一个所示结构的组的二价或三价分支接头：

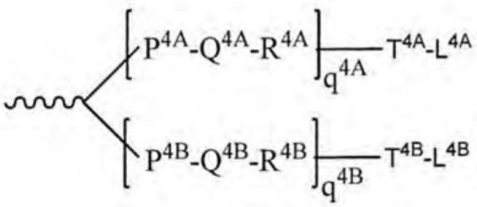
式 XXXXV



式 XLVI

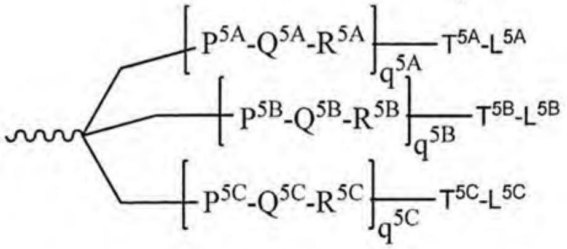


[0710] ，



式 XLVII

，



式 XLVIII ；

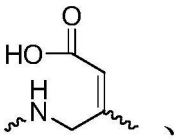
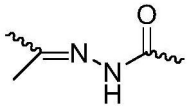
[0711] 其中：

[0712] q2A、q2B、q3A、q3B、q4A、q4B、q5A、q5B和q5C每次出现时独立地表示0至20，并且其中的重复单元可以是相同的或不同的；

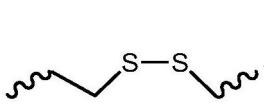
[0713] P^{2A}、P^{2B}、P^{3A}、P^{3B}、P^{4A}、P^{4B}、P^{5A}、P^{5B}、P^{5C}、T^{2A}、T^{2B}、T^{3A}、T^{3B}、T^{4A}、T^{4B}、T^{4A}、T^{5B}、T^{5C}每次出现时各自独立地表示：不存在、CO、NH、O、S、OC(O)、NHC(O)、CH_2、CH_2NH或CH_2O；

[0714] Q^{2A}、Q^{2B}、Q^{3A}、Q^{3B}、Q^{4A}、Q^{4B}、Q^{5A}、Q^{5B}、Q^{5C}每次出现时独立地表示：不存在、亚烷基、取代的亚烷基，其中一个或多个亚甲基可被如下一个或多个基团所中断或终止：O、S、S(O)、SO_2、$N(R^N)$、C(R')=C(R")、C≡C或C(O)；

[0715] R^{2A}、R^{2B}、R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}、R^{4B}、R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}每次出现时独立地表示：不存在、NH、O、S、CH_2、C(O)O、C(O)NH、$NHCH(R^a)C(O)$、$-C(O)-CH(R^a)-NH-$、CO、CH=N-O、

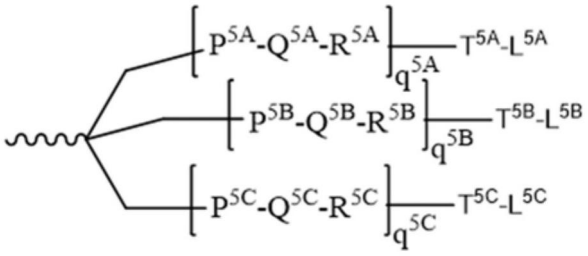

、

、




或杂环基；

[0716] L^{2A}、L^{2B}、L^{3A}、L^{3B}、L^{4A}、L^{4B}、L^{5A}、L^{5B}和L^{5C}表示配体，即，每次出现时各自独立地表示单糖(如GalNAc)、二糖、三糖、四糖、寡糖、或多糖；且R^a是H或氨基酸侧链。三价缀合的GalNAc衍生物与RNAi剂合用对于抑制靶标基因的表达是特别有用的，例如式(XLIX)的那些：

式 XLIX

[0717] 
，

[0718] 其中L^{5A}、L^{5B}和L^{5C}表示单糖，如GalNAc衍生物。

[0719] 合适的缀合GalNAc衍生物的二价和三价分支接头基团的实例包括但不限于，上文列举的如式II、式VII、式XI、式X、和式XIII所示的结构。

[0720] 教导RNA缀合物的制备的代表性美国专利包括但不限于，美国专利第4,828,979号、第4,948,882号、第5,218,105号、第5,525,465号、第5,541,313号、第5,545,730号、第5,552,538号、第5,578,717号、第5,580,731号、第5,591,584号、第5,109,124号、第5,118,802号、第5,138,045号、第5,414,077号、第5,486,603号、第5,512,439号、第5,578,718号、第5,608,046号、第4,587,044号、第4,605,735号、第4,667,025号、第4,762,779号、第4,789,737号、第4,824,941号、第4,835,263号、第4,876,335号、第4,904,582号、第4,958,013号、第5,082,830号、第5,112,963号、第5,214,136号、第5,082,830号、第5,112,963号、第5,214,136号、第5,245,022号、第5,254,469号、第5,258,506号、第5,262,536号、第5,272,250号、第5,292,873号、第5,317,098号、第5,371,241号、第5,391,723号、第5,416,203号、第5,451,463号、第5,510,475号、第5,512,667号、第5,514,785号、第5,565,552号、第5,567,810号、第5,574,142号、第5,585,481号、第5,587,371号、第5,595,726号、第5,597,696号、第5,599,923号、第5,599,928号、第5,688,941号、第6,294,664号、第6,320,017号、第6,576,752号、第6,783,931号、第6,900,297号、第7,037,646号、第8,106,022号，每个专利的全部内容通过引用并入本文。

[0721] 给定化合物的所有位置不需要统一地进行修饰，且事实上，可将超过一种的前述修饰并入单个化合物中或甚至并入iRNA的单个核苷处。本发明还包括作为嵌合化合物的iRNA化合物。

[0722] 在本发明的上下文中，“嵌合”iRNA化合物或“嵌合体”是iRNA化合物，例如dsRNAi剂，其包含两个或多个化学上不同的区域，每个区域由至少一个单体单元构成，即在dsRNA化合物的情形中，该单体单元是核苷酸。这些iRNA通常含有至少一个区域，其中RNA被修饰以赋予iRNA：对核酸酶降解的抗性增加、细胞摄取增加、或与靶标核酸的结合亲和力增加。iRNA的另一区域可用作能裂解RNA:DNA杂交体或RNA:RNA杂交体的酶的底物。例如，RNase H是细胞核酸内切酶，其裂解RNA:DNA双链体的RNA链。因此，RNase H的激活导致RNA靶标的裂

解,从而极大地提升了iRNA抑制基因表达的效率。因此,当使用嵌合dsRNA时,使用较短的iRNA可获得与使用与相同靶标区域杂交的硫代磷酸酯脱氧dsRNA相当的结果。RNA靶标的裂解可通过凝胶电泳进行常规检测,且如果需要,可将凝胶电泳与本领域中已知的相关核酸杂交技术联合使用进行常规检测。

[0723] 在某些情况下,iRNA的RNA可通过非配体基团进行修饰。已经将大量非配体分子缀合至iRNA以提高iRNA的活性、细胞分布或细胞摄取,且执行此类缀合的过程是可在科技文献中获得的。此类非配体部分已经包括脂质部分,如胆固醇(Kubo,T.et al.,Biochem.Biophys.Res.Comm.,2007,365(1):54-61;Letsinger et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86:6553)、胆酸(Manoharan et al.,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1994,4:1053)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan et al.,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660:306;Manoharan et al.,Bioorg.Med.Chem.Let.,1993,3:2765)、巯基胆固醇(Oberhauser et al.,Nucl.Acids Res.,1992,20:533)、脂族链例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras et al.,EMBO J.,1991,10:111;Kabanov et al.,FEBS Lett.,1990,259:327;Svinarchuk et al.,Biochimie,1993,75:49)、磷脂例如双-十六烷基-外消旋-甘油或1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-膦酸三乙铵(Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651;Shea et al.,Nucl.Acids Res.,1990,18:3777)、聚胺或聚乙二醇链(Manoharan et al.,Nucleosides&Nucleotides,1995,14:969)、或金刚烷乙酸(Manoharan et al.,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651)、棕榈基部分(Mishra et al.,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264:229)、或十八烷基胺或己基氨基-羰基氧基胆固醇部分(Crooke et al.,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277:923)。教导此类RNA缀合物的制备的代表性美国专利已在上文中列出。典型的缀合方案涉及在序列的一个或多个位置带有氨基接头的RNA的合成。随后使用合适的偶联剂或激活剂将氨基基团与待缀合的分子反应。缀合反应可使用仍与固相支撑物结合的RNA来进行,或在RNA裂解后的溶液相中进行。通过HPLC纯化RNA缀合物通常会得到纯的缀合物。

[0724] IV.本发明的iRNA的递送

[0725] 将本发明的iRNA递送至细胞,例如受试者如人类受试者(例如有此需要的受试者,例如易患补体因子B相关病症或经诊断患有补体因子B相关病症的受试者)体内的细胞,可以通过多种不同方式实现。例如,可以通过将细胞与本发明的iRNA在体外或体内接触来实施递送。体内递送也可以通过向受试者施用包含iRNA(例如dsRNA)的组合物来直接实施。或者,体内递送可以通过施用编码并引导iRNA表达的一种或多种载体来间接实施。这些替代方案将在下文中进一步讨论。

[0726] 通常,任何递送核酸分子的方法(体外或体内)都可以适用于与本发明的iRNA一起使用(参见例如Akhtar S.and Julian RL.(1992)Trends Cell.Biol.2(5):139-144和WO94/02595,这些文献的全部内容通过引用整体并入本文)。对于体内递送,为了递送iRNA分子,需要考虑的因素包括,例如,所递送分子的生物稳定性、非特异性效应的预防和所递送分子在靶组织中的积累。通过直接注射来局部递送至CNS的RNA干扰已经显示成功(Dorn,G.,et al.(2004)Nucleic Acids 32:e49;Tan,PH.,et al(2005)Gene Ther.12:59-66;Makimura,H.,et al(2002)BMC Neurosci.3:18;Shishkina,GT.,et al(2004)Neuroscience 129:521-528;Thakker,ER.,et al(2004)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.101:

17270-17275;Akaneya,Y.,et al(2005)J.Neurophysiol.93:594-602)。RNA的修饰或药物载体也可以允许iRNA靶向靶组织并避免不希望的脱靶效应。iRNA分子可以通过与亲脂性基团如胆固醇的化学缀合来进行修饰,以增强细胞摄取并防止降解。例如,将与亲脂性胆固醇部分缀合的针对ApoB的iRNA经全身性注射到小鼠体内,从而导致肝脏和空肠中的apoB mRNA的敲低(Soutschek,J.,et al(2004)Nature 432:173-178)。

[0727] 在一个替代实施方案中,iRNA可使用药物递送系统如纳米颗粒、树枝状聚合物、聚合物、脂质体、或阳离子递送系统来进行递送。带正电荷的阳离子递送系统促进iRNA分子(带负电荷)的结合,并且还增强在带负电荷的细胞膜上的相互作用,以允许细胞有效摄取iRNA。阳离子脂质、树枝状聚合物或聚合物可以与iRNA结合或被诱导以形成封装有iRNA的囊泡或微胞(micelle)(参见例如Kim SH,et al(2008)Journal of Controlled Release 129(2):107-116)。当进行全身性施用时,囊泡或微胞的形成进一步防止了iRNA的降解。制备和施用阳离子-iRNA复合体的方法完全在本领域技术人员的能力范围内(参见例如Sorensen,DR,et al(2003)J.Mol.Biol 327:761-766;Verma,UN,et al(2003)Clin.Cancer Res.9:1291-1300;Arnold,AS et al(2007)J.Hypertens.25:197-205,其全部内容通过引用并入本文)。可用于iRNA的全身性递送的药物递送系统的一些非限制性实例包括DOTAP(Sorensen,DR.,et al(2003),supra;Verma,UN,et al(2003),同上)、“固体核酸脂质颗粒”(Zimmermann,TS,et al(2006)Nature 441:111-114)、心磷脂(Chien,PY,et al(2005)Cancer Gene Ther.12:321-328;Pal,A,et al(2005)Int J.Oncol.26:1087-1091)、聚乙烯亚胺(Bonnet ME,et al(2008)Pharm.Res.Aug 16电子优先发布;Aigner,A.(2006)J.Biomed.Biotechnol.71659),Arg-Gly-Asp(RGD)肽(Liu,S.(2006)Mol.Pharm.3:472-487)和聚酰胺-胺(Tomalia,DA,et al(2007)Biochem.Soc.Trans.35:61-67;Yoo,H.,et al(1999)Pharm.Res.16:1799-1804)。在一些实施方案中,iRNA与环糊精形成用于全身性施用的复合体。施用iRNA和环糊精的方法和iRNA和环糊精的药物组合物可见于美国专利第7,427,605号,其全部内容通过引用并入本文。

[0728] A.编码本发明的iRNA的载体

[0729] 靶向补体因子B基因的iRNA可从插入DNA或RNA载体的转录单元表达(参见,例如,Couture,A,et al.,TIG.(1996),12:5-10;Skillern,A,et al.,国际PCT公布号WO 00/22113,Conrad,国际PCT公布号WO 00/22114,和Conrad,美国专利第6,054,299号)。根据所用的具体构建体和靶组织或细胞类型,表达可以是瞬时的(约数小时至数周)或持续的(数周至数月或更长)。此类转基因可作为线性构建体、环状质粒或病毒载体而引入,其可以是整合载体或非整合载体。也可构建转基因以允许其作为染色体外质粒而遗传(Gassmann,et al.,Proc.Natl.Acad.Sci.USA(1995)92:1292)。

[0730] 可用于本文所述方法和组合物的病毒载体系统包括但不限于(a)腺病毒载体;(b)逆转录病毒载体,包括但不限于慢病毒载体、莫洛尼鼠白血病病毒等;(c)腺相关病毒载体;(d)单纯疱疹病毒载体;(e)SV 40载体;(f)多瘤病毒载体;(g)乳头瘤病毒载体;(h)小核糖核酸病毒载体;(i)痘病毒载体,例如天花,例如牛痘病毒载体或禽类痘病毒如金丝雀痘或鸡痘病毒载体;以及(j)辅助依赖型腺病毒或裸腺病毒。复制缺陷型病毒也可能是有利的。不同的载体将并入或不并入细胞的基因组中。如果必要,构建体可包括用于转染的病毒序列。或者,可将构建体并入到能进行附加型复制(episomal replication)的载体如EPV载体

和EBV载体中。用于iRNA的重组表达的构建体通常需要调控元件，例如启动子、增强子等，以确保iRNA在靶细胞中的表达。对于载体和构建体需考虑的其他方面是本领域中已知的。

[0731] V.本发明的药物组合物

[0732] 本发明还包括包含本发明的iRNA的药物组合物和制剂。在一个实施方案中，本文提供了包含如本文所述的iRNA和药学上可接受的载体的药物组合物。含有iRNA的药物组合物可用于预防或治疗补体因子B相关病症。这种药物组合物是根据递送方式来配制的。一个实例是配制为用于全身性施用的组合物，所述施用通过肠胃外递送，例如，通过皮下(SC)递送、肌内(IM)递送或静脉内(IV)递送。本发明的药物组合物可以以足以抑制补体因子B基因表达的剂量施用。

[0733] 在一些实施方案中，本发明的药物组合物是无菌的。在另一实施方案中，本发明的药物组合物是无热原的。

[0734] 本发明的药物组合物可以以足以抑制补体因子B基因表达的剂量施用。通常，本发明的iRNA的合适剂量将为每天约0.001至约200.0毫克每公斤受体体重的范围，通常为每天约1至50mg每公斤体重的范围。通常，本发明的iRNA的合适剂量将为约0.1mg/kg至约5.0mg/kg的范围，例如约0.3mg/kg至约3.0mg/kg的范围。重复剂量的给药方案可包括定期施用治疗量的iRNA，例如每个月一次，每3至6个月一次，或每年一次。在某些实施方案中，约每个月一次至约每六个月一次施用iRNA。

[0735] 在初始的治疗方案后，可降低治疗的施用频率。治疗的持续时间可根据疾病的严重程度来确定。

[0736] 在其他实施方案中，单剂量的药物组合物可以是长效的，使得多个剂量以不超过1、2、3或4个月的间隔来施用。在本发明的一些实施方案中，约每个月施用一次单剂量的本发明的药物组合物。在本发明的其他实施方案中，每个季度(即，约每三个月)施用一次单剂量的本发明的药物组合物。在本发明的其他实施方案中，每年施用两次(即，约每六个月施用一次)单剂量的本发明的药物组合物。

[0737] 本领域技术人员将会理解，某些因素会影响有效治疗受试者所需的剂量和时间，包括但不限于受试者体内存在的突变、既往治疗、受试者的总体健康状况或年龄、以及现有的其他疾病。此外，酌情使用预防有效量或治疗有效量的组合物对受试者的治疗可包括单次治疗或一系列治疗。

[0738] 可以以靶向具体组织(例如肝细胞)的方式递送iRNA。

[0739] 本发明的药物组合物包括但不限于溶液、乳液和含脂质体的制剂。这些组合物可以由多种组分生成，所述组分包括但不限于，预制液体、自乳化固体和自乳化半固体。制剂包括靶向肝脏的那些。

[0740] 可以方便地以单位剂型存在的本发明的药物制剂可以根据制药工业中熟知的常规技术来制备。此类技术包括将活性成分与一种或多种药物载体或赋形剂结合的步骤。通常，通过将活性成分与液体载体均匀且紧密地结合来制备制剂。

[0741] A.其他制剂

[0742] i.乳液

[0743] 本发明的组合物可被制备且配制为乳液。乳液通常是一种液体以直径通常超过0.1μm的液滴形式分散于另一种液体中的非均质系统(参见例如Ansel's Pharmaceutical

Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,Volume 1,p.245;Block in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 2,p.335;Higuchi et al.,in Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1985,p.301)。乳液通常是包含两个紧密混合和彼此分散的不混溶液相的双相系统。通常,乳液可是油包水(w/o)型或水包油(o/w)型。当水相被细分为小液滴并分散于大量油相中时,所得的组合物被称为油包水(w/o)乳液。或者,当油相被细分为小液滴并分散于大量水相中时,所得组合物被称为水包油(o/w)乳液。除了含有分散相和可作为水相、油相或其本身作为独立相存在于溶液中的活性药物之外,乳液还可含有其他组分。根据需要,药物赋形剂如乳化剂、稳定剂、染料和抗氧化剂也可存在于乳液中。药物乳液也可以是包含超过两个相的复合乳液,例如,油包水包油(o/w/o)乳液和水包油包水(w/o/w)乳液。此类复配制剂往往提供了简单双相乳液所不具有的某些优点。复合乳液其中o/w乳液的各个油滴包封小水滴而构成w/o/w乳液。同样,油滴被包封在稳定存在于油性连续相中的水球内的系统提供了o/w/o乳液。

[0744] 乳液的特征在于热力学稳定性小或不具备热力学稳定性。通常,乳液的分散相或不连续相很好地分散在外部相或连续相中,并通过乳化剂或制剂的黏度来维持这种形式。其他稳定乳液的方法需要使用可以掺入乳液任一相中的乳化剂。乳化剂大致可分为四类:合成表面活性剂、天然存在乳化剂、吸收基质、和精细分散的固体(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199)。

[0745] 合成表面活性剂,也被称为表面活性剂,已经广泛用于乳液制剂中且已经在文献中进行了综述(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.285;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,1988,volume 1,p.199)。表面活性剂通常是两亲性的,且包含亲水性部分和疏水性部分。表面活性剂的亲水性与疏水性的比率已经被定义为亲水/亲脂平衡(HLB),且是在分类和制剂的制备中选择表面活性剂的有价值的工具。表面活性剂基于亲水性基团的性质可分为不同的类别:非离子性、阴离子性、阳离子性和两亲性(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.285)。

[0746] 乳液制剂中还包括多种非乳化材料,其有助于乳液的性能。这些包括脂肪、油类、蜡、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、保湿剂、亲水性胶体、防腐剂及抗氧化剂(Block,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.335;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume1,p.199)。

[0747] 经由皮肤途径、口服途径和肠胃外途径的乳液制剂的应用及其制备方法已经在文献中进行了综述(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199)。

[0748] ii.微乳液

[0749] 在本发明的一个实施方案中,iRNA和核酸的组合物被配制成微乳液。微乳液可以定义为水、油和两亲物的系统,其是单一光学各向同性和热力学稳定的液体溶液(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.,and Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger and Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.245)。通常,微乳液是通过如下制备而得的系统:首先,将油分散于表面活性剂水溶液中,随后加入足量的第四组分(通常是中等链长的醇)以形成透明的系统。因此,微乳液也已经被描述为由表面活性分子的界面膜稳定化的两种不混溶液体的热力学稳定、各向同性的澄清分散液(Leung and Shah,in:Controlled Release of Drugs:Polymers and Aggregate Systems,Rosoff,M.,Ed.,1989,VCH Publishers,New York,pages 185-215)。

[0750] iii.微粒

[0751] 本发明的iRNA可以掺入颗粒例如微粒中。微粒可通过喷雾干燥来产生,但也可通过其他方法来产生,包括冷冻干燥、蒸发、流体床干燥、真空干燥、或这些技术的组合。

[0752] iv.渗透增强剂

[0753] 在一个实施方案中,本发明使用多种渗透增强剂来实现核酸(特别是iRNA)向动物皮肤的有效递送。大多数药物以离子化和非离子化的形式存在于溶液中。然而,通常只有脂溶性或亲脂性药物能轻易地跨越细胞膜。已经发现,如果用渗透增强剂处理待跨越的细胞膜,则即便是非亲脂性药物仍能够跨越该细胞膜。除了有助于非亲脂性药物跨越细胞膜扩散外,渗透增强剂还能提高亲脂性药物的渗透性。

[0754] 渗透促进剂可被分类为属于下述五大类之一:即,表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂、和非螯合非表面活性剂(参见例如Malmsten,M.Surfactants and polymers in drug delivery,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee et al.,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,p.92)。上文述及每类渗透增强剂及其在药物组合物的制备和药剂的递送中的用途是本领域所周知的。

[0755] v.赋形剂

[0756] 与载体化合物相比,"药物载体"或"赋形剂"是用于将一种或多种核酸递送至动物

的药学上可接受的溶剂、悬浮剂或其他药理学上惰性的媒介物。赋形剂可以是液体或固体，且可根据所考虑的计划施用方式来选择，当与核酸和给定药物组合物的其他组分结合时，以提供所期望的体积、黏度等。此类剂是本领域所周知的。

[0757] vi.其他组分

[0758] 本发明的组合物可以另外含有常见于药物组合物中的其他辅助组分，其用量为它们在本领域中确定的水平。因此，例如，组合物可含有另外的、可相容的、药学活性材料，例如，止痒剂、收敛剂、局部麻醉剂或抗炎剂，或可含有可用于在物理上配制本发明的组合物的各种剂型的其他材料如染料、调味剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、增稠剂和稳定剂。然而，当加入这类材料时，不应过度干扰本发明的组合物的组分的生物活性。可以对制剂进行灭菌，且如果需要还可以与不与该制剂的核酸发生有害反应的佐剂如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、用于影响渗透压的盐类、缓冲剂、着色剂、调味剂或芳香物质等混合。

[0759] 水性悬浮液可含有增加悬浮液粘度的物质，包括例如羧甲基纤维素钠、山梨醇或葡聚糖。悬浮液也可以含有稳定剂。

[0760] 在一些实施方案中，本发明的药物组合物包括(a)一种或多种iRNA和(B)一种或多种剂，其通过非iRNA机制发挥作用且可用于治疗补体因子B相关病症。

[0761] 此类化合物的毒性和预防功效可通过标准药学过程在细胞培养物或实验动物中测定，例如测定LD50(对50％群体的致死剂量)和ED50(对50％群体的预防有效剂量)。毒性与治疗效果间的剂量比是治疗指数，且其可表示为LD50/ED50之比。优选显现出高治疗指数的化合物。

[0762] 从细胞培养试验和动物研究中获得的数据可用于配制用于人类的剂量范围。本文中本发明提出的组合物的剂量通常处于包括ED50，例如ED80或ED90的具有低毒性或无毒性的循环浓度范围。剂量可依据所采用的剂型和所使用的施用途径而在此范围内变化。对于在本发明提出的方法中使用的任意化合物，首先可从细胞培养分析中估计预防有效量。可在动物模型中配制剂量以取得化合物的循环血浆浓度范围或，在适当时，取得靶序列的多肽产物的循环血浆浓度范围(例如，实现降低的多肽浓度)，该范围包括如在细胞培养物中所测定的IC50(即，实现对症状的半最大抑制时的测试化合物的浓度)或更高水平的抑制。此类信息可用来更准确地确定可用于人体的剂量。例如，可通过高效液相层析测量血浆中的水平。

[0763] 除了如上文所讨论的iRNA的施用之外，本发明提出的iRNA也可与其他已知的用于预防或治疗补体因子B相关病症的剂组合施用。在任何情况下，给药医生可基于本领域中已知或本文所述的标准疗效测量方法所观察到的结果来调节iRNA施用的量和时机。

[0764] VI.抑制补体因子B表达的方法

[0765] 本发明还提供了抑制CFB基因在细胞中表达的方法。所述方法包括使细胞与有效抑制CFB在细胞中表达的量的RNAi剂(例如双链RNA剂)接触，从而抑制CFB在细胞中的表达。

[0766] 细胞与iRNA(例如双链RNA剂)的接触可以在体外或体内完成。使细胞与iRNA在体内接触包括使受试者(例如人类受试者)体内的细胞或细胞群与iRNA接触。体外接触细胞的方法和体内接触细胞的方法的组合也是可以的。如上所述，与细胞的接触可以是直接的或间接的。此外，与细胞的接触可通过靶向配体来实现，所述靶向配体包括本文所述或本领域中已知的任何配体。在某些实施方案中，靶向配体是糖类部分，例如GalNAc配体，或将RNAi

剂引导至感兴趣的位点的任何其他配体。

[0767] 如本文所用，术语“抑制”与“减轻”、“沉默”、“下调”、“阻抑”和其他类似术语可互换使用，且包括任何水平的抑制。

[0768] 短语“抑制补体因子B基因的表达”意指抑制任何补体因子B基因(例如小鼠补体因子B基因、大鼠补体因子B基因、猴补体因子B基因或人补体因子B基因)以及补体因子B基因的变体或突变体的表达。因此，在经基因操纵的细胞、细胞群或生物体的背景下，补体因子B基因可以是野生型补体因子B基因、突变的补体因子B基因或转基因的补体因子B基因。

[0769] “抑制补体因子B基因的表达”包括对补体因子B基因的任何水平的抑制，例如，至少部分阻抑补体因子B基因的表达，如临床相关水平的阻抑。可以根据与补体因子B基因表达相关的任何变量的水平或水平的变化来评估补体因子B基因的表达，所述变量的水平为例如补体因子B mRNA水平或补体因子B蛋白水平、或例如作为总溶血补体的量度的CH_{50}活性、用于测量补体替代途径的溶血活性的AH_{50}、或作为血管内溶血的量度的乳酸脱氢酶(LDH)水平或血红蛋白水平。也可以测量C3、C9、C5、C5a、C5b和可溶性C5b-9复合物的水平来评估CFB的表达。可以通过与对照水平相比的这些变量中的一个或多个的绝对水平或相对水平的降低来评估抑制作用。该水平可以在单个细胞或细胞群中来评估，包括例如源自受试者的样本。可以理解，补体因子B主要在肝脏中表达，并存在于循环中。

[0770] 可以通过与对照水平相比的与补体因子B表达相关的一个或多个变量的绝对水平或相对水平的降低来评估抑制作用。对照水平可以是本领域中使用的任何类型的对照水平，例如给药前的基线水平、或未经处理或经对照(例如，仅含缓冲剂的对照或非活性剂的对照)处理的类似受试者、细胞或样本中测得的水平。

[0771] 在本发明方法的一些实施方案中，补体因子B基因的表达被抑制至少50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％或95％，或者被抑制至低于测定法的检测水平。在某些实施方案中，补体因子B基因的表达被抑制了至少70％。还应理解，可能需要抑制补体因子B在某些组织(例如胆囊)中的表达而不显著抑制其在其他组织(例如脑)中的表达。在某些实施方案中，使用实施例2中提供的测定方法，于10nM浓度的siRNA在合适的物种匹配细胞系中测定了表达水平。

[0772] 在某些实施方案中，体内表达的抑制通过人类基因在表达人类基因的啮齿动物(例如表达人类靶基因(即补体因子B)的AAV感染的小鼠)中的敲低来测定，例如当在RNA表达的最低点以3mg/kg的单剂量施用时。模型动物系统中内源性基因表达的敲低也可例如在RNA表达的最低点施用3mg/kg的单剂量之后测定。当人类基因的核酸序列和模型动物基因足够接近而使得人类iRNA提供对模型动物基因的有效敲低时，这样的系统是有用的。使用实施例2中提供的PCR方法来测定肝脏中的RNA表达。

[0773] 补体因子B基因表达的抑制可以通过第一细胞或细胞群(此类细胞可存在于例如来源于受试者的样本中)所表达的基mRNA量的降低来体现，在该第一细胞或细胞群中，补体因子B基因被转录并且已经被处理过(例如，通过使一个或多个细胞与本发明的iRNA接触，或通过将本发明的iRNA施用至细胞所在或曾所在的受试者中)，使得与基本上与第一细胞或细胞群相同但未经如此处理的第二细胞或细胞群(未经iRNA处理或未经靶向感兴趣基因的iRNA处理的对照细胞)相比，补体因子B基因的表达被抑制。在某些实施方案中，通过实施例2中提供的方法，在10nM浓度的siRNA下在物种匹配细胞中评估抑制作用，并使用下述公

式将经处理的细胞内的mRNA水平表示为相对于对照细胞中mRNA水平的百分比：

[0774] $$\frac{(\text{对照细胞中的mRNA})-(\text{经处理的细胞中的mRNA})}{(\text{对照细胞中的mRNA})}\cdot 100\%$$

[0775] 在其他实施方案中，补体因子B基因表达的抑制可以根据与补体因子B基因表达功能性相关的参数(例如受试者血液或血清中的补体因子B蛋白水平)的降低来评估。补体因子B基因沉默可通过本领域已知的任何测定法在任何表达补体因子B(无论是内源的补体因子B或来自表达构建体的补体因子B)的细胞中测定。

[0776] 补体因子B蛋白表达的抑制可通过由细胞或细胞群表达的补体因子B蛋白水平或受试者样本中所表达的补体因子B蛋白水平(例如，来自受试者的血液样本中的蛋白水平)的降低而体现。如上所述，为了评估mRNA的阻抑，经处理的细胞或细胞群中蛋白质表达水平的抑制可类似地表现为相对于对照细胞或细胞群中蛋白质水平的百分比，或受试者样本例如源自该受试者的血液或血清中蛋白质水平的变化。

[0777] 可用于评估补体因子B基因表达抑制的对照细胞、细胞群或受试者样本包括尚未与本发明的RNAi剂接触的细胞、细胞群或受试者样本。例如，对照细胞、细胞群或受试者样本可源自使用RNAi剂治疗受试者之前的个体受试者(例如，人或动物受试者)或源自适当匹配的群体对照。

[0778] 细胞或细胞群所表达的补体因子B mRNA的水平可以使用本领域已知的用于评估mRNA表达的任何方法来测定。在一个实施方案中，样本中补体因子B的表达水平可通过检测经转录的多核苷酸或其部分例如补体因子B基因的mRNA来测定。可以使用RNA提取技术，包括例如使用酸性苯酚/异硫氰酸胍提取(RNA zol B;Biogenesis)、RNeasy™ RNA制备试剂盒(Qiagen®)或PAXgene™(PreAnalytix™,Switzerland)，从细胞中提取RNA。采用核糖核酸杂交的通用分析形式包括核连缀分析、RT-PCR、RNase保护分析、northern印迹法、原位杂交和微阵列分析。

[0779] 在一些实施方案中，使用核酸探针测定补体因子B的表达水平。如本文所用，术语“探针”是指能够选择性地结合至具体补体因子B的任何分子。探针可以由本领域技术人员合成，或者源于合适的生物制品。探针可以被特别设计成被标记的。可以用作探针的分子的实例包括但不限于RNA、DNA、蛋白质、抗体和有机分子。

[0780] 分离的mRNA可用于杂交或扩增分析，包括但不限于Southern分析或northern分析、聚合酶链式反应(PCR)分析和探针阵列。一种用于测定mRNA水平的方法包括使经分离的mRNA与可与补体因子B mRNA杂交的核酸分子(探针)接触。在一个实施方案中，例如，通过使经分离的mRNA在琼脂糖凝胶上电泳并将mRNA从该凝胶转移至膜诸如硝酸纤维素膜，从而将mRNA固定于固体表面并使其与探针接触。在一个替代实施方案中，例如，在Affymetrix®基因芯片阵列中，将探针固定在固体表面并使mRNA与该探针接触。技术人员可容易地调整已知的mRNA检测方法以用于测定补体因子B mRNA的水平。

[0781] 用于测定样本中补体因子B表达水平的替代方法涉及例如样本中的mRNA的核酸扩增或逆转录酶(以制备cDNA)的过程，该过程是例如通过RT-PCR(Mullis于1987年在美国专利第4,683,202号中记载的实验性实施方案)、连接酶链式反应(Barany(1991) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:189-193)、自主序列复制(Guatelli et al.(1990)

Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:1874-1878)、转录扩增系统(Kwoh et al.(1989) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:1173-1177)、Q-β复制酶(Lizardi et al.(1988)Bio/Technology 6:1197)、滚环式复制(Lizardi et al.,美国专利第5,854,033号)或任何其他核酸扩增方法,随后使用本领域技术人员熟知的技术检测所扩增的分子。如果核酸分子以非常低的数量存在,则这些检测方案对于核酸分子的检测特别有用。在本发明的具体方面,CFB的表达水平通过定量荧光RT-PCR(即TaqManTM系统)来确定。在某些实施方案中,通过实施例2中提供的方法,使用例如10nM浓度的siRNA在物种匹配的细胞系中测定表达水平。

[0782] 可以使用膜印迹(例如杂交分析中所用的,例如Southern印迹、northern印迹、斑点印迹等)或微孔、样本管、凝胶、珠或纤维(或包含经结合的核酸的任何固体支持物)来监测补体因子B mRNA的表达水平。参见美国专利第5,770,722号、第5,874,219号、第5,744,305号、第5,677,195号和第5,445,934号,这些专利通过引用并入本文。补体因子B表达水平的测定也可以包括使用溶液中的核酸探针。

[0783] 在某些实施方案中,使用分支DNA(bDNA)分析或实时PCR(qPCR)来评估mRNA表达水平。这些方法的使用在本文给出的实施例中进行了描述和举例说明。在某些实施方案中,通过实施例2中提供的方法,使用10nM浓度的siRNA在物种匹配的细胞系中测定表达水平。

[0784] CFB蛋白表达的水平可以使用本领域已知的用于测量蛋白水平的任何方法来确定。此类方法包括,例如电泳、毛细管电泳、高效液相色谱(HPLC)、薄层色谱(TLC)、超扩散色谱、液体或凝胶沉淀素反应、吸收光谱分析、比色分析、分光光度分析、流式细胞术、免疫扩散(单次或二次)、免疫电泳、蛋白印迹、放射免疫分析(RIA)、酶联免疫吸附分析(ELISA)、免疫荧光分析、电化学发光分析等。

[0785] 在一些实施方案中,通过CFB mRNA或蛋白质水平(例如,在肝脏活检样本中)的降低来评估本发明方法的效力。

[0786] 在本发明方法的一些实施方案中,将iRNA施用于受试者,从而将iRNA递送至受试者体内的具体部位。补体因子B表达的抑制可通过测量样本中补体因子B mRNA或补体因子B蛋白的水平或水平变化来评估,所述样本来自受试者体内的具体部位(例如,肝脏或血液)的液体或组织。

[0787] 如本文所用,术语“检测或确定分析物的水平”被理解为是指执行该步骤以确定材料例如蛋白质、RNA的存在与否。如本文所用,检测或确定的方法包括检测或确定低于所使用方法的检测水平的分析物水平。

[0788] VII.本发明的预防和治疗方法

[0789] 本发明还提供了使用本发明的iRNA或包含本发明的iRNA的组合物来抑制补体因子B的表达的方法,从而预防或治疗补体因子B相关病症,例如阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)、哮喘、类风湿性关节炎(RA);抗磷脂抗体综合征;狼疮性肾炎;缺血再灌注损伤;典型或传染性溶血性尿毒症综合征(因此);致密物沉积病(DDD);视神经脊髓炎(NMO);多灶性运动神经病(MMN);多发性硬化(MS);黄斑变性(例如,年龄相关性黄斑变性(AMD));溶血、肝酶升高和低血小板(HELLP)综合征;血栓性血小板减少性紫癜(TTP);自发性流产;寡免疫血管炎;大疱性表皮松解症;复发性流产;先兆子痫、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎大疱性类天疱疮、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒综合征、C3神经病、抗中性粒细胞胞质抗体相关血管炎(例如肉芽肿性多血管炎(以

前被称为韦格纳肉芽肿病)、Churg-Strauss综合征和显微镜下多血管炎)、体液和血管移植排斥、移植物功能障碍、心肌梗死(例如心肌梗死中的组织损伤和缺血)、同种异体移植、败血症(例如败血症预后不良)、冠状动脉疾病、皮肌炎、格雷夫斯病,动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、全身炎症反应性败血症、败血性休克、脊髓损伤、肾小球肾炎、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、ITP、Goodpasture综合征、Degos病、抗磷脂综合征(APS)、灾难性APS(CAPS)、心血管病症、心肌炎、脑血管病症、外周(例如肌肉骨骼)血管病症、肾血管病症、肠系膜/肠血管病症、血管炎、Henoch-Schönlein紫癜性肾炎、系统性红斑狼疮相关血管炎、类风湿性关节炎相关血管炎、免疫复合物血管炎、Takayasu病、扩张性心肌病、糖尿病血管病变、川崎病(动脉炎)、静脉气体栓塞(VGE),和支架置入、旋磨术和经皮腔内冠状动脉血管成形术(PTCA)后再狭窄(参见,例如Holers(2008)Immunological Reviews223:300-316;Holers and Thurman(2004)Molecular Immunology41:147-152;美国专利公布第20070172483号)。

[0790] 在一个实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

[0791] 在另一实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0792] 在本发明的方法中,细胞可以在体外或体内与siRNA接触,即细胞可以在受试者体内。

[0793] 适用于使用本发明方法处理的细胞可以是任何表达补体因子B基因的细胞,例如肝脏细胞、脑细胞、胆囊细胞、心脏细胞或肾细胞。在一个实施方案中,所述细胞是肝脏细胞。适用于本发明方法的细胞可以是哺乳动物细胞,例如灵长类细胞(如人细胞,包括嵌合非人动物内的人细胞,或非人灵长类细胞,例如猴细胞或黑猩猩细胞),或非灵长类细胞。在某些实施方案中,所述细胞是人类细胞,例如人肝脏细胞。在本发明的方法中,补体因子B在细胞中的表达被抑制了至少50、55、60、65、70、75、80、85、90或95,或者被抑制到低于分析的检测水平的水平。

[0794] 本发明的体内方法可以包括向受试者施用含有iRNA的组合物,其中该iRNA包括与待施用该RNAi剂的哺乳动物的补体因子B基因的RNA转录本的至少一部分互补的核苷酸序列。该组合物可以通过本领域已知的任何方式施用,包括但不限于口服、腹膜内或胃肠外途径,包括颅内(例如,脑室内、脑实质内和鞘内)、静脉内、肌内、皮下、透皮、气道(气雾剂)、鼻内、直肠和局部(包括颊腔和舌下)施用。在某些实施方案中,该组合物是通过静脉内输液或注射施用的。在某些实施方案中,该组合物是通过皮下注射施用的。在某些实施方案中,该组合物是通过肌内注射施用的。

[0795] 在一些实施方案中,施用是通过积存注射(depot injection)进行的。积存注射可以在延长的时间内以一致的方式释放RNAi。因此,积存注射可以减少为获得期望效果(例如,期望的CFB抑制或治疗或预防效果)所需的给药频率。积存注射也可以提供更一致的血清浓度。积存注射可以包括皮下注射或肌肉注射。在某些实施方案中,积存注射是皮下注射。

[0796] 在一些实施方案中，通过泵进行施用。所述泵可以是外部泵或外科植入泵。在某些实施方案中，所述泵是皮下植入的渗透泵。在其他实施方案中，所述泵是输液泵。输液泵可用于静脉内注射、皮下注射、动脉内注射或硬膜外注射。在某些实施方案中，所述输液泵是皮下输液泵。在其他实施方案中，所述泵是外科植入的泵，其将iRNA递送至肝脏。

[0797] 可以根据需要局部治疗还是全身性治疗以及待治疗的区域来选择施用方式。可以选择施用途径和施用部位以增强靶向性。

[0798] 在一方面，本发明还提供了抑制补体因子B基因在哺乳动物中表达的方法。所述方法包括向哺乳动物施用包含靶向哺乳动物细胞中补体因子B基因的dsRNA的组合物，并将哺乳动物维持足够长的时间以获得补体因子B基因的mRNA转录本的降解，从而抑制补体因子B基因在细胞中的表达。基因表达的降低可以通过本领域已知的任何方法和本文中例如实施例2中所描述的方法例如qRT-PCR来评估。蛋白质产生的降低可以通过本领域已知的任何方法例如ELISA来评估。在某些实施方案中，将肝脏穿刺活检样本用作组织材料来监测补体因子B基因或蛋白表达的减少。在其他实施方案中，将血液样本用作监测补体因子B蛋白表达的降低的受试者样本。

[0799] 本发明还提供了对有需要的受试者进行治疗的方法，所述受试者是例如经诊断患有补体因子B相关病症的受试者，所述病症是例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0800] 本发明还提供了在有需要的受试者中进行预防的方法。本发明的治疗方法包括将本发明的iRNA(预防有效量的靶向补体因子B基因的iRNA或包含靶向补体因子B基因的iRNA的药物组合物)施用给受试者，例如将受益于补体因子B表达降低的受试者。

[0801] 在一个实施方案中，补体因子B相关疾病选自由以下组成的组：阵发性睡眠性血红蛋白尿症症(PNH)、非典型溶血性尿毒综合征(aHUS)、哮喘、类风湿性关节炎(RA)；抗磷脂抗体综合征；狼疮性肾炎；缺血再灌注损伤；典型或传染性溶血性尿毒综合征(tHUS)；致密物沉积病(DDD)；视神经脊髓炎(NMO)；多灶性运动神经病(MMN)；多发性硬化(MS)；黄斑变性(例如，年龄相关性黄斑变性(AMD))；溶血、肝酶升高和低血小板(HELLP)综合征；血栓性血小板减少性紫癜(TTP)；自发性流产；寡免疫血管炎；大疱性表皮松解症；复发性流产；先兆子痫、创伤性脑损伤、重症肌无力、冷凝集素病、皮肌炎大疱性类天疱疮、志贺毒素大肠杆菌相关溶血性尿毒综合征、C3神经病、抗中性粒细胞胞质抗体相关血管炎(例如肉芽肿性多血管炎(以前被称为韦格纳肉芽肿病)、Churg-Strauss综合征和显微镜下多血管炎)、体液和血管移植排斥、移植物功能障碍、心肌梗死(例如心肌梗死中的组织损伤和缺血)、同种异体移植、败血症(例如败血症预后不良)、冠状动脉疾病、皮肌炎、格雷夫斯病，动脉粥样硬化、阿尔茨海默病、全身炎症反应性败血症、败血性休克、脊髓损伤、肾小球肾炎、桥本氏甲状腺炎、I型糖尿病、银屑病、天疱疮、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、ITP、Goodpasture综合征、Degos病、抗磷脂综合征(APS)、灾难性APS(CAPS)、心血管病症、心肌炎、脑血管病症、外周(例如肌肉骨骼)血管病症、肾血管病症、肠系膜/肠血管病症、血管炎、Henoch-Schönlein紫癜性肾炎、系统性红斑狼疮相关血管炎、类风湿性关节炎相关血管炎、免疫复合物血管炎、Takayasu病、扩张性心肌病、糖尿病血管病变、川崎病(动脉炎)、静脉气体栓塞(VGE)，和支架置入、旋磨术和经皮腔内冠状动脉血管成形术(PTCA)后再狭窄(参见例如Holers(2008)Immunological Reviews 223:300-316；Holers和Thurman(2004)

Molecular Immunology 41:147-152;美国专利公布第20070172483号)。

[0802] 在一个实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病、多囊性肾病、膜性肾病、年龄相关性黄斑变性、非典型溶血性尿毒综合征、血栓性微血管病、重症肌无力、缺血和再灌注损伤、阵发性睡眠性血红蛋白尿症和类风湿性关节炎。

[0803] 在另一实施方案中,补体因子B相关疾病选自由以下组成的组:C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0804] 本发明的iRNA可以作为"游离iRNA"施用。游离RNAi剂是在没有药物组合物的情况下施用的。裸iRNA可以在合适的缓冲溶液中。缓冲溶液可包含醋酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐、或磷酸盐、或其任何组合。在一个实施方案中,缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。可调节含有iRNA的缓冲溶液的pH和渗透压,使得其适用于施用给受试者。

[0805] 或者,本发明的iRNA可以作为药物组合物(例如dsRNA脂质体制剂)施用。

[0806] 将受益于补体因子B基因表达抑制的受试者是易患CFB相关病症或经诊断患有CFB相关病症的受试者,所述CFB相关病症是例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0807] 在一个实施方案中,所述方法包括施用本文所述的组合物,使得靶标补体成分B基因的表达降低,例如约每1、2、3、4、5、6、1至6、1至3或3至6个月一次剂量。在某些实施方案中,组合物是每3至6个月施用一次。

[0808] 在一个实施方案中,用于本文中提出的方法和组合物的iRNA特异性地靶向靶标补体因子B基因的RNA(原始的或经处理的)。使用iRNA抑制这些基因表达的组合物和方法可以如本文所述制备和实施。

[0809] 根据本发明的方法施用iRNA可以预防或治疗补体因子B相关病症,例如C3肾小球病、系统性红斑狼疮(SLE)例如狼疮性肾炎、IgA肾病、糖尿病性肾病和多囊性肾病。

[0810] 可以向受试者施用治疗量的iRNA,例如约0.01mg/kg至约200mg/kg。可以向受试者施用治疗量的iRNA,例如约5mg至约1000mg的固定剂量,无论体重如何。

[0811] 在一些实施方案中,iRNA是经皮下施用的,即通过皮下注射施用。可使用一次或多次注射将所需剂量的iRNA递送至受试者。可在一段时间内重复注射。

[0812] 可以定期重复施用。在某些实施方案中,在初始的治疗方案后,可降低治疗的施用频率。重复给药方案可包括定期施用治疗量的iRNA,如每个月一次至每年一次。在某些实施方案中,iRNA以约每个月一次至每三个月一次施用,或约每三个月一次至约每六个月一次施用。

[0813] 本发明还提供了iRNA剂或其药物组合物用于与其他药物和/或其他治疗方法(例如已知药物和/或已知治疗方法,例如,例如当前用于治疗这些病症的方法)组合以治疗将会受益于CFB基因表达的降低或抑制的受试者(例如,患有CFB相关疾病的受试者)的方法和用途。

[0814] 因此,在本发明的一些方面,包括本发明的单一iRNA剂的方法还包括向受试者施用一种或多种另外的治疗剂。iRNA剂和其他治疗剂或治疗可同时施用和/或在同一组合中施用,例如肠胃外施用,或者其他治疗剂可以作为分开的组合物的一部分施用或在分开的时间施用,或者通过本领域已知的或本文描述的另一种方法施用。

[0815] 在一个实施方案中，本发明的iRNA剂与抗补体成分C5抗体或其抗原结合片段(例如，依库珠单抗或ravulizumab-cwvz)、靶向补体成分C5的iRNA剂、靶向补体成分C3的iRNA剂或C3肽抑制剂(例如，compstatin)进行组合施用。在一个实施方案中，向患者施用本发明的iRNA剂，然后再向患者施用其他治疗剂(或反之亦然)。在另一实施方案中，本发明的iRNA剂和其他治疗剂是同时施用的。

[0816] 本发明的iRNA剂和其他治疗剂或治疗可以是同时施用的和/或在同一组合中施用，例如肠胃外施用，或可将其他治疗剂作为分开的组合物的一部分施用或在分开的时间施用和/或通过本领域中已知或本文所述的另一方法施用。

[0817] VIII.试剂盒

[0818] 在某些方面，本公开提供了包括合适容器的试剂盒，所述容器包含siRNA化合物例如双链siRNA化合物或ssiRNA化合物(例如前体，例如可以加工成ssiRNA化合物的较大的siRNA化合物，或编码siRNA化合物的DNA，例如双链siRNA化合物或ssiRNA化合物，或其前体)的药物制剂。

[0819] 此类试剂盒包括一种或多种dsRNA剂和使用说明，例如用于施用预防有效量的或治疗有效量的dsRNA剂的使用说明书。dsRNA剂可以在小瓶内或预填充的注射器内。试剂盒可任选地进一步包含用于施用dsRNA剂的构件(例如，注射装置，如预填充的注射器)，或用于测量CFB抑制的构件(例如，用于测量CFB mRNA、CFB蛋白或CFB活性的抑制的构件)。这种用于测量CFB抑制的构件可以包括用于从受试者中获得样本如血浆样本的构件。本发明的试剂盒可任选地进一步包含用于确定治疗有效量或预防有效量的构件。

[0820] 在某些实施方案中，药物制剂的各个组分可以提供在一个容器例如小瓶或预填充的注射器内。或者，可能需要在两个或更多个容器中分别提供药物制剂的组分，例如，一个用于siRNA化合物的制备的容器以及至少另一个用于载体化合物的容器。试剂盒可包装成多种不同配置，例如单个盒子中的一个或多个容器。不同组分可组合，例如，根据试剂盒提供的使用说明书进行组合。可根据本文所述方法将组分进行组合，例如以制备并施用一种药物组合物。试剂盒还可包括递送装置。

[0821] 本发明通过以下实施例进一步说明，这些实施例不应被视为限制性的。本申请中引用的所有出版物、专利和已公开的专利申请的全部内容以及非正式的序列表和附图在此通过引用并入本文。

[0822] 实施例

[0823] 实施例1:iRNA合成

[0824] 试剂来源

[0825] 若本文中未具体给出试剂的来源，则可从任何分子生物学试剂供应商处获得此类试剂，其质量/纯度标准符合分子生物学应用。

[0826] siRNA设计

[0827] 使用自定义的R和Python脚本设计了靶向人补体因子B(CFB)基因(人:NCBI refeqID NM_001710.5;NCBI GeneID:629)的siRNA。人NM_001710REFSEQ mRNA，版本5，具有2646个碱基的长度。未修饰的CFB有义链和反义链核苷酸序列的详细列表如表2、表4和表6中所示。修饰的CFB有义和反义链核苷酸序列的详细列表如表3、表5和表7中所示。

[0828] 应当理解，在整个申请中，不带小数的双链体名称等同于带小数的双链体名称，该

小数仅为双链体的批号。例如,AD-959917等同于AD-959917.1。

[0829] siRNA合成

[0830] 使用本领域已知的常规方法合成siRNA并退火

[0831] 实施例2:体外筛选方法

[0832] 细胞培养和384孔转染

[0833] 将Hep3b细胞(ATCC,Manassas,VA)于37℃在5%CO_2气氛下,在补充有10%FBS(ATCC)的Eagle's Minimum Essential培养基(Gibco)中生长至接近汇合,然后通过胰蛋白酶化将细胞自板上释放。在转染前不到1小时新鲜地分离原代小鼠肝细胞(PMH),并使其在原代肝细胞培养基中生长。对于Hep3B和PMH,通过如下转染细胞:在384孔板的每一单孔中,将每孔5μl的Opti-MEM加上0.1μl的Lipofectamine RNAiMax(Invitrogen,Carlsbad CA.cat#13778-150)加入5μl的每种siRNA双链体中。然后将混合物于室温孵育15分钟。随后,将含有约5×10^3个Hep3b细胞或PMH的40μl的Eagle's Minimum Essential培养基(ATCC Cat#30-2003)加至siRNA混合物中。在RNA纯化之前,将细胞孵育24小时。在10nM、1nM和0.1nM进行单剂量实验。

[0834] 使用DYNABEADSmRNA分离试剂盒(Invitrogen™,part#:610-12)的总RNA分离

[0835] 使用DYNABEAD(Invitrogen,cat#61012),在Bio Tek-EL406平台上使用自动化方案分离RNA。简而言之,将70μl的裂解/结合缓冲液和10μl的包含3μl磁珠的裂解缓冲液加入到含有细胞的平板中。将板在电磁振荡器上室温孵育10分钟,然后捕获磁珠并去除上清液。然后将结合在磁珠上的RNA用150μl洗涤缓冲液A洗涤两次,用洗涤缓冲液B洗涤一次。然后将磁珠用150μl洗脱缓冲液洗涤,重新捕获并去除上清液。

[0836] 使用ABI高容量cDNA逆转录试剂盒(AppliedBiosystems,Foster City,CA,Cat#4368813)的cDNA合成

[0837] 在每个反应中,将1.2μl 10×缓冲液、0.48μl 25×dNTP、1.2μl随机引物、0.6μl逆转录酶、0.6μl RNase抑制剂和7.92μl的H_2O的主混合液添加到每孔中。将板密封、混合,然后在电磁振荡器上室温孵育10分钟,接着在37℃孵育2小时。

[0838] 实时PCR

[0839] 在384孔板(Roche cat#04887301001)的每孔中,将2μl的cDNA加入到含有0.5μl人GAPDH TaqMan探针(4326317E)、和0.5μl CFB人探针(Hs01071998_m1)和5μl Lightcycler 480探针主混合物(Roche Cat#04887301001)的主混合物中。实时PCR是在LightCycler480实时PCR系统(Roche)中进行的。每个双链体至少测试两次,并将数据相对于用非靶向对照siRNA转染的细胞归一化。为了计算相对倍数变化,使用ΔΔCt方法分析实时数据,并将该数据相对于用非靶向对照siRNA转染的细胞进行的测定归一化。

[0840] 表2和表3中的dsRNA剂在Hep3B细胞中的单剂量筛选结果见表8。表4和表5中的dsRNA剂在Hep3B细胞中的单剂量筛选结果如表9所示。表4和表5中的dsRNA剂在PMH细胞中的单剂量筛选结果如表10所示。表6和表7中的dsRNA剂在PMH细胞中的单剂量筛选结果如表11所示。表6和表7中的dsRNA剂在Hep3B细胞中的单剂量筛选结果如表12所示。

[0841] ELISA分析

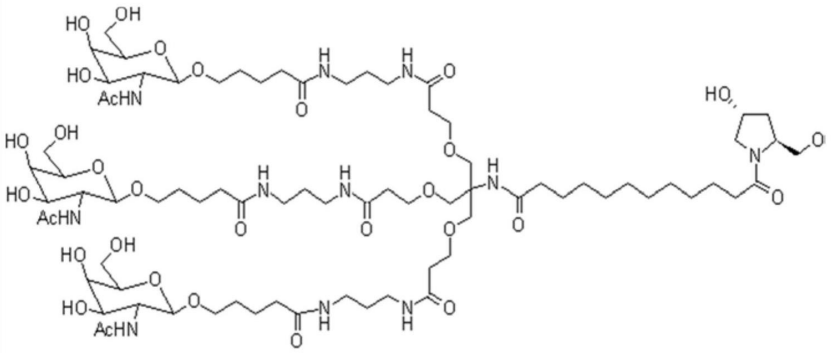
[0842] 使用定量夹心酶免疫分析(人补体因子B AssayMax ELISA试剂盒-AssayPro)测定人CFB蛋白水平。简而言之,将样本以1:1000稀释并将50μl样本加入微量滴定板的孔中。将

样本孵育两小时并随后进行洗涤。向每个孔中加入50μl生物素化的抗CFB抗体，并孵育1小时。然后洗涤样本，并将50μl链霉亲和素-过氧化物酶缀合物加入每个孔中并孵育30分钟。再一次洗涤后，向每孔中加入50μl过氧化物酶底物并将样本孵育15分钟，之后向每孔中加入50μl终止液。立即在450nm处读取样本，并通过将读数与标准曲线(0至280ng的人CFB蛋白)进行比较来确定人CFB蛋白的量。

[0843] 表1.核酸序列表示法中使用的核苷酸单体的缩写。应当理解，当这些单体存在于寡核苷酸中时，其是通过5′-3’-磷酸二酯键相互连接的；应当理解，当核苷酸含有2′-氟基修饰时，氟基替代了亲代核苷酸中该位置的羟基(即，它是2’-脱氧-2′-氟基核苷酸)。

[0844]

缩写	核苷酸
A	腺苷-3'-磷酸
Ab	β-L-腺苷-3`-磷酸
Abs	β-L-腺苷-3`-硫代磷酸
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸
As	腺苷-3'-硫代磷酸
C	胞苷-3'-磷酸
Cb	β-L-胞苷-3`-磷酸
Cbs	β-L-胞苷-3'-硫代磷酸
Cf	2'-氟胞苷-3'-磷酸
Cfs	2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸
G	鸟苷-3'-磷酸
Gb	β-L-鸟苷-3`-磷酸
Gbs	β-L-鸟苷-3`-硫代磷酸
Gf	2'-氟鸟苷-3'-磷酸
Gfs	2'-氟鸟苷-3'-硫代磷酸
Gs	鸟苷-3'-硫代磷酸
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸
Tfs	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
U	尿苷-3'-磷酸

Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸
Us	尿苷-3'-硫代磷酸
N	任何核苷酸，经修饰或未修饰的
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸
cs	2'-O-甲基胞苷-3'- 硫代磷酸
g	2'-O-甲基鸟苷-3'-磷酸
gs	2'-O-甲基鸟苷-3'-硫代磷酸
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸
s	硫代磷酸酯键
L10	N-(胆固醇甲酰氨基己酰基)-4-羟脯氨醇 (Hyp-C6-Chol)
L96	N-[三(GalNAc-烷基)-氨基癸酰基)]-4-羟脯氨醇 (Hyp-(GalNAc-烷基)3) 
Y34	2-羟基甲基-四氢呋喃-4-甲氧基-3-磷酸 (无碱基2'-OMe 呋喃糖)
Y44	反向无碱基DNA (2-羟基甲基-四氢呋喃-5-磷酸)

[0845]

[0846]

(Agn)	腺苷-二醇核酸 (GNA)
(Cgn)	胞苷-二醇核酸 (GNA)
(Ggn)	鸟苷-二醇核酸 (GNA)
(Tgn)	胸苷-二醇核酸 (GNA) S-异构体
P	磷酸
VP	乙烯基-膦酸
dA	2`-脱氧腺苷-3`-磷酸
dAs	2`-脱氧腺苷-3`-硫代磷酸
dC	2`-脱氧胞苷-3`-磷酸
dCs	2`-脱氧胞苷-3`-硫代磷酸
dG	2`-脱氧鸟苷-3`-磷酸
dGs	2`-脱氧鸟苷-3`-硫代磷酸
dT	2`-脱氧胸苷-3`-磷酸
dTs	2`-脱氧胸苷-3`-硫代磷酸
dU	2`-脱氧尿苷
dUs	2`-脱氧尿苷-3`-硫代磷酸
(C2p)	胞苷-2`-磷酸
(G2p)	鸟苷-2`-磷酸
(U2p)	尿苷-2`-磷酸
(A2p)	腺苷-2`-磷酸
(Chd)	2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸
(Ahd)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸
(Ghd)	2'-O-十六烷基-鸟苷-3'-磷酸
(Uhd)	2'-O-十六烷基-尿苷-3'-磷酸

[0847]

表2. 补体因子B dsRNA剂的未修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-557072.1	CAAAAGUGUCUAGUCAACUU	19	1145-1165	AAGUUGACUAGACACUUUUUGGC	105	1143-1165
AD-558097.1	UAGUGGAUGUCUGCAAAAACU	20	2440-2460	AGUUUUUGCAGACAUCCACUACU	106	2438-2460
AD-557774.1	GAAUUCCUGAAUUUUAUGACU	21	1981-2001	AGUCAUAAAAUUCAGGAAUUCCU	107	1979-2001
AD-557070.1	GCCAAAAAGUGUCUAGUCAAU	22	1143-1163	AUUGACUAGACACUUUUUGGCUC	108	1141-1163
AD-558068.1	UCACAAGAGAAGUCGUUUCAU	23	2393-2413	AUGAAACGACUUCUCUUGUGAAC	109	2391-2413
AD-557068.1	GAGCCAAAAAGUGUCUAGUCU	24	1141-1161	AGACUAGACACUUUUUGGCUCCU	110	1139-1161
AD-556701.1	CUACUACAAUGUGAGUGAUGU	25	635-655	ACAUCACUCACAUUGUAGUAGGG	111	633-655
AD-558076.1	GAAGUCGUUUCAUUCAAGUUU	26	2401-2421	AAACUUGAAUGAAACGACUUCUC	112	2399-2421
AD-558065.1	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU	27	2390-2410	AAACGACUUCUCUUGUGAACUAU	113	2388-2410
AD-557859.1	CAACUCGAGCUUUGAGGCUUU	28	2086-2106	AAAGCCTCAAAGCUCGAGUUGUU	114	2084-2106
AD-558096.1	GUAGUGGAUGUCUGCAAAAAU	29	2439-2459	AUUUUUGCAGACAUCCACUACUC	115	2437-2459
AD-557422.1	GAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU	30	1536-1556	AUAGACAUCCAGAUAAUCCUCCC	116	1534-1556
AD-556919.1	AGACUCCUUCAUGUACGACAU	31	935-955	AUGUCGTACAUGAAGGAGUCUUG	117	933-955
AD-558069.1	CACAAGAGAAGUCGUUUCAUU	32	2394-2414	AAUGAAACGACUUCUCUUGUGAA	118	2392-2414
AD-558063.1	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGU	33	2388-2408	ACGACUTCUCUUGUGAACUAUCA	119	2386-2408
AD-557069.1	AGCCAAAAAGUGUCUAGUCAU	34	1142-1162	AUGACUAGACACUUUUUGGCUCC	120	1140-1162
AD-558225.1	UGAAUUAAAACAGCUGCGACU	35	2604-2624	AGUCGCAGCUGUUUUAAUUCAAU	121	2602-2624
AD-557853.1	AGGGAACAACUCCGAGCUUUGU	36	2080-2100	ACAAAGCUCGAGUUGUUCCCUCG	122	2078-2100
AD-558012.1	GACAAAGUCAAGGACAUCUCU	37	2277-2297	AGAGAUGUCCUUGACUUUGUCAU	123	2275-2297
AD-558061.1	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUU	38	2386-2406	AACUUCTCUUGUGAACUAUCAAG	124	2384-2406
AD-557079.1	UGUCUAGUCAACUUAAUUGAU	39	1152-1172	AUCAAUTAAGUUGACUAGACACU	125	1150-1172
AD-558066.1	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUU	40	2391-2411	AAAACGACUUCUCUUGUGAACUA	126	2389-2411
AD-557353.1	GACCCAAUUACUGUCAUUGAU	41	1467-1487	AUCAAUGACAGUAAUUGGGUCCC	127	1465-1487
AD-557782.1	GAAUUUUAUGACUAUGACGUU	42	1989-2009	AACGUCAUAGUCAUAAAAUUCAG	128	1987-2009
AD-556390.1	CUGGAGUUUCAGCUUGGACAU	43	179-199	AUGUCCAAGCUGAAACUCCAGAC	129	177-199
AD-557078.1	GUGUCUAGUCAACUUAAUUGU	44	1151-1171	ACAAUUAAGUUGACUAGACACUU	130	1149-1171
AD-557475.1	UUCCAAGAAAGACAAUGAGCU	45	1607-1627	AGCUCATUGUCUUUCUUGGAAGC	131	1605-1627
AD-556734.1	CUGCUAUGACGGUUACACUCU	46	668-688	AGAGUGTAACCGUCAUAGCAGUG	132	666-688
AD-557084.1	AGUCAACUUAAUUGAGAAGGU	47	1157-1177	ACCUUCTCAAUUAAGUUGACUAG	133	1155-1177
AD-557498.1	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUU	48	1630-1650	AAUCCUTGACUUUGAACACAUGU	134	1628-1650
AD-556788.1	GACAGCGAUCUGUGACAACGU	49	740-760	ACGUUGTCACAGAUCGCUGUCUG	135	738-760
AD-557067.1	GGAGCCAAAAAGUGUCUAGUU	50	1140-1160	AACUAGACACUUUUUGGCUCCUG	136	1138-1160
AD-557852.1	GAGGGAACAACUCGAGCUUUU	51	2079-2099	AAAAGCTCGAGUUGUUCCCUCGG	137	2077-2099

[0848]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-556733.1	ACUGCUAUGACGGUUACACUU	52	667-687	AAGUGUAACCGUCAUAGCAGUGG	138	665-687
AD-556725.1	CUCUUUCCACUGCUAUGACGU	53	659-679	ACGUCATAGCAGUGGAAAGAGAU	139	657-679
AD-557860.1	AACUCGAGCUUUGAGGCUUCU	54	2087-2107	AGAAGCCUCAAAGCUCGAGUUGU	140	2085-2107
AD-556786.1	CAGACAGCGAUCUGUGACAAU	55	738-758	AUUGUCACAGAUCGCUGUCUGCC	141	736-758
AD-556581.1	CCUUCUGGCUUCUACCCGUAU	56	465-485	AUACGGGUAGAAGCCAGAAGGAC	142	463-485
AD-556963.1	ACCAUAGAAGGAGUCGAUGCU	57	999-1019	AGCAUCGACUCCUUCUAUGGUCU	143	997-1019
AD-557450.1	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUU	58	1582-1602	AAGCAUUGAUGUUCACUUGGUUC	144	1580-1602
AD-557204.1	UGAAAUCAAUUAUGAAGACCU	59	1298-1318	AGGUCUUCAUAAUUGAUUUCAUU	145	1296-1318
AD-558062.1	GAUAGUUCACAAGAGAAGUCU	60	2387-2407	AGACUUCUCUUGUGAACUAUCAA	146	2385-2407
AD-557602.1	AAGGGUACCGAUUACCACAAU	61	1734-1754	AUUGUGGUAAUCGGUACCCUUCC	147	1732-1754
AD-556917.1	CAAGACUCCUUCAUGUACGAU	62	933-953	AUCGUACAUGAAGGAGUCUUGGC	148	931-953
AD-557969.1	CUGACUCCGGAAGGAGGUCUAU	63	2196-2216	AUAGACCUCCUUCCGAGUCAGCU	149	2194-2216
AD-558064.1	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUU	64	2389-2409	AACGACUUCUCUUGUGAACUAUC	150	2387-2409
AD-558105.1	GUCUGCAAAAACCAGAAGCGU	65	2448-2468	ACGCUUCUGGUUUUUGCAGACAU	151	2446-2468
AD-556791.1	AGCGAUCUGUGACAACGGAGU	66	743-763	ACUCCGUUGUCACAGAUCGCUGU	152	741-763
AD-557972.1	ACUCGGAAGGAGGUCUACAUU	67	2199-2219	AAUGUAGACCUCCUUCCGAGUCA	153	2197-2219
AD-556920.1	GACUCCUUCAUGUACGACACU	68	936-956	AGUGUCGUACAUGAAGGAGUCUU	154	934-956
AD-558078.1	AGUCGUUUCAUUCAAGUUGGU	69	2403-2423	ACCAACUUGAAUGAAACGACUUC	155	2401-2423
AD-557861.1	ACUCGAGCUUUGAGGCUUCCU	70	2088-2108	AGGAAGCCUCAAAGCUCGAGUUG	156	2086-2108
AD-557856.1	GAACAACUCGAGCUUUGAGGU	71	2083-2103	ACCUCAAAGCUCGAGUUGUUCCC	157	2081-2103
AD-557041.1	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACU	72	1096-1116	AGUCUGAUCCAUCUAGCACCAGG	158	1094-1116
AD-556874.1	GUGUCAGGAAGGUGGCUCUUU	73	890-910	AAAGAGCCACCUUCCUGACACGU	159	888-910
AD-557345.1	CUGAUGGAUUGCACAACAUGU	74	1441-1461	ACAUGUUGUGCAAUCCAUCAGUC	160	1439-1461
AD-557839.1	CAGACUAUCAGGCCCAUUUGU	75	2046-2066	ACAAAUGGGCCUGAUAGUCUGGC	161	2044-2066
AD-556962.1	GACCAUAGAAGGAGUCGAUGU	76	998-1018	ACAUCGACUCCUUCUAUGGUCUC	162	996-1018
AD-557066.1	AGGAGCCAAAAAGUGUCUAGU	77	1139-1159	ACUAGACACUUUUUUGGCUCCUGU	163	1137-1159
AD-556961.1	AGACCAUAGAAGGAGUCGAUU	78	997-1017	AAUCGACUCCUUCUAUGGUCUCU	164	995-1017
AD-557226.1	AAGUUGAAGUCAGGGACUAAU	79	1320-1340	AUUAGUCCCUGACUUCAACUUGU	165	1318-1340
AD-557865.1	GAGCUUUGAGGCUUCCUCCAU	80	2092-2112	AUGGAGGAAGCCUCAAAGCUCGA	166	2090-2112
AD-557209.1	UCAAUUAUGAAGACCACAAGU	81	1303-1323	ACUUGUGGUCUUCAUAAUUGAUU	167	1301-1323
AD-556918.1	AAGACUCCUUCAUGUACGACU	82	934-954	AGUCGUACAUGAAGGAGUCUUGG	168	932-954
AD-557868.1	CUUUGAGGCUUCCUCCAACUU	83	2095-2115	AAGUUGGAGGAAGCCUCAAAGCU	169	2093-2115
AD-557873.1	AGGCUUCCUCCAACUACCACU	84	2100-2120	AGUGGUAGUUGGAGGAAGCCUCA	170	2098-2120
AD-556787.1	AGACAGCGAUCUGUGACAACU	85	739-759	AGUUGUCACAGAUCGCUGUCUGC	171	737-759

[0849]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-558004.1	CAGGCUAUGACAAAGUCAAGU	86	2269-2289	ACUUGACUUUGUCAUAGCCUGGG	172	2267-2289
AD-557867.1	GCUUUGAGGCUUCCUCCAACU	87	2094-2114	AGUUGGAGGAAGCCUCAAAGCUC	173	2092-2114
AD-557788.1	UAUGACUAUGACGUUGCCCUU	88	1995-2015	AAGGGCAACGUCAUAGUCAUAAA	174	1993-2015
AD-558106.1	UCUGCAAAAACCAGAAGCGGU	89	2449-2469	ACCGCUTCUGGUUUUUGCAGACA	175	2447-2469
AD-556724.1	UCUCUUUCCACUGCUAUGACU	90	658-678	AGUCAUAGCAGUGGAAAGAGAUC	176	656-678
AD-556739.1	AUGACGGUUACACUCUCCGGU	91	673-693	ACCGGAGAGUGUAACCGUCAUAG	177	671-693
AD-557417.1	CAAGGAGGAUUAUCUGGAUU	92	1531-1551	AAUCCAGAUAAUCCUCCCUUGGG	178	1529-1551
AD-556790.1	CAGCGAUCUGUGACAACGGAU	93	742-762	AUCCGUTGUCACAGAUCGCUGUC	179	740-762
AD-557872.1	GAGGCUUCCUCCAACUACCAU	94	2099-2119	AUGGUAGUUGGAGGAAGCCUCAA	180	2097-2119
AD-556738.1	UAUGACGGUUACACUCUCCGU	95	672-692	ACGGAGAGUGUAACCGUCAUAGC	181	670-692
AD-557857.1	AACAACUCGAGCUUUGAGGCU	96	2084-2104	AGCCUCAAAGCUCGAGUUGUUCC	182	2082-2104
AD-556726.1	UCUUUCCACUGCUAUGACGGU	97	660-680	ACCGUCAUAGCAGUGGAAAGAGA	183	658-680
AD-557495.1	AACAUGUGUUCAAAGUCAAGU	98	1627-1647	ACUUGACUUUGAACACAUGUUGC	184	1625-1647
AD-557016.1	CCUUCAGGCUCCAUGAACAUU	99	1071-1091	AAUGUUCAUGGAGCCUGAAGGGU	185	1069-1091
AD-558074.1	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAGU	100	2399-2419	ACUUGAAUGAAACGACUUUCUCUU	186	2397-2419
AD-557604.1	GGGUACCGAUUACCACACAAGCU	101	1736-1756	AGCUUGTGGUAAUCGGUACCCUU	187	1734-1756
AD-557346.1	UGAUGGAUUGCACACAUGGU	102	1442-1462	ACCAUGTUGUGCAAUCCAUCAGU	188	1440-1462
AD-557851.1	CGAGGGAACACAUCGAGCUUU	103	2078-2098	AAAGCUCGAGUUGUUCCCUCGGU	189	2076-2098
AD-557786.1	UUUAUGACUAUGACGUUGCCU	104	1993-2013	AGGCAACGUCAUAGUCAUAAAAU	190	1991-2013

表3. 补体因子B dsRNA剂的经修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-557072.1	csasaaaaGfuGfUfCfuagucaacuuL96	191	asAfsguug(Agn)cuagacAfcUfuuuugsgsc	277	GCCAAAAAGUGUCUAGUCAACUU	363
AD-558097.1	usasgugg AfuGfUfCfugcaaaaacuL96	192	asGfsuuuuu(Tgn)gcagacAfuCfcacuasesu	278	AGUAGUGGAUGUCUGCAAAAACC	364
AD-557774.1	gsasauucCfuGfAfAfuuuuaugacuL96	193	asGfsucau(Agn)aaauucAfgGfaauucsesu	279	AGGAAUUCCUGAAUUUUAUGACU	365
AD-557070.1	gscscaaaAfaGfUfGfucuagucaauL96	194	asUfsugac(Tgn)agacacUfuUfuuggcsusc	280	GAGCCAAAAAGUGUCUAGUCAAC	366
AD-558068.1	uscsacaaGfaGfAfAfgcguuucauL96	195	asUfsgaaa(Cgn)gacuucUfcUfugugasasc	281	GUUCACAAGAGAAGUCGUUUCAU	367
AD-557068.1	gsasgccaAfaAfaAfGfugucuagucuL96	196	asGfsacua(Ggn)acacuuUfuUfggcucsesu	282	AGGAGCCAAAAAAGUGUCUAGUCA	368
AD-556701.1	csusacuaCfaAfUfGfugagugauguL96	197	asCfsauca(Cgn)ucacauUfgUfuguagsgsg	283	CCCUACUACAAUGUGAGUGAUGA	369
AD-558076.1	gsasgucGfuUfUfCfauucaaguuuL96	198	asAfsacuu(Ggn)aaugaaAfcGfacuucsusc	284	GAGAAGUCGUUUCAUUCAAGUUG	370
AD-558065.1	asgsuucaCfaAfGfAfgaagucguuuL96	199	asAfsacga(Cgn)uucucuUfgUfgaacusasu	285	AUAGUUCACAAGAGAAGUCGUUU	371

[0850]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-557859.1	csasacucGfaGfCfUfuugaggcuuuL96	200	asAfsagcc(Tgn)caaageUfcGfaguugsusu	286	AACAACUCGAGCUUUGAGGCUUC	372
AD-558096.1	gsusagugGfaUfGfUfcugcaaaaauL96	201	asUfsuuuuu(Ggn)cagacaUfcCfacuacsusc	287	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAAAC	373
AD-557422.1	gsasggauUfaUfCfUfggaugucuauL96	202	asUfsagac(Agn)uccagaUfaAfucccsesc	288	GGGAGGAUUAUCUGGAUGUCUAU	374
AD-556919.1	asgsacucCfuUfCfAfuguacgacauL96	203	asUfsgucg(Tgn)acaugaAfgGfagucususg	289	CAAGACUCCUUCAUGUACGACAC	375
AD-558069.1	csascaagAfgAfAfGfucguuucauuL96	204	asAfsugaa(Agn)cgacuuCfuCfuugugsasa	290	UUCACAAGAGAAGUCGUUUCAUU	376
AD-558063.1	asusaguuCfaCfAfAfgagagucguL96	205	asCfsgacu(Tgn)cucuugUfgAfacuausesa	291	UGAUAGUUCACAAGAGAAGUCGU	377
AD-557069.1	asgsccaaAfaAfGfUfgcuagucauL96	206	asUfsgacu(Agn)gacacuUfuUfuggcusesc	292	GGAGCCAAAAAGUGUCUAGUCAA	378
AD-558225.1	usgsaauuAfaAfAfCfagcugcgacuL96	207	asGfsucgc(Agn)gcuguuUfuAfauucasasu	293	AUUGAAUUAAAACAGCUGCGACA	379
AD-557853.1	asgsggaaCfaAfCfUfcgagcuuugL96	208	asCfsaaag(Cgn)ucgaguUfgUfucctusesg	294	CGAGGGAACAACUCGAGCUUUGA	380
AD-558012.1	gsascaaaGfuCfaAfAfggacaucucL96	209	asGfsagau(Ggn)uccuugAfcUfuugucsasu	295	AUGACAAAGUCAAGGACAUCUCA	381
AD-558061.1	usgsauagUfuCfAfCfaagagaaguuL96	210	asAfscuuc(Tgn)cuugugAfaCfuaucasasg	296	CUUGAUAGUUCACAAGAGAAGUC	382
AD-557079.1	usgsucuaGfuCfAfAfcuuaauugauL96	211	asUfscaau(Tgn)aaguugAfcUfagacascsu	297	AGUGUCUAGUCAACUUAAUUGAG	383
AD-558066.1	gsusucacAfaGfAfGfaagucguuuuL96	212	asAfsaacg(Agn)cuucucUfuGfugaacsusa	298	UAGUUCACAAGAGAAGUCGUUUC	384
AD-557353.1	gsascccaAfuUfAfCfugucauugauL96	213	asUfscaau(Ggn)acagcuaAfuUfggcucesc	299	GGGACCCAAUUACUGUCAUUGAU	385
AD-557782.1	gsasauuuUfaUfGfAfcuaugacguuL96	214	asAfscguc(Agn)uagucaUfaAfaauucsasg	300	CUGAAUUUUAUGACUAUGACGUU	386
AD-556390.1	csusggagUfuUfCfAfgcuuggacauL96	215	asUfsgucc(Agn)agcugaAfaCfuccagsasc	301	GUCUGGAGUUUCAGCUUGGACAC	387
AD-557078.1	gsusgucuAfgUfCfAfacuuaauuguL96	216	asCfsaauu(Agn)aguuugaCfuAfgacacsusu	302	AAGUGUCUAGUCAACUUAAUUGA	388
AD-557475.1	ususccaaGfaAfaAfGfacaaugagcuL96	217	asGfscuca(Tgn)ugucuuUfcUfuggaasgsc	303	GCUUCCAAGAAAGACAAUGAGCA	389
AD-556734.1	csusgcuaUfgAfCfGfguuacacucuL96	218	asGfsagug(Tgn)aaccguCfaUfagcagsusg	304	CACUGCUAUGACGGUUACACUCU	390
AD-557084.1	asgsucaaCfuUfAfAfuugagaaggaL96	219	asCfscuuc(Tgn)caauuaAfgUfugacusasg	305	CUAGUCAACUUAAUUGAGAAGGU	391
AD-557498.1	asusguguUfcAfAfAfgucaaggauuL96	220	asAfsuccu(Tgn)gacuuuGfaAfcaaugsusu	306	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGAUA	392
AD-556788.1	gsascagcGfaUfCfUfgugacaacguL96	221	asCfsguug(Tgn)cacagaUfcGfcugucsusg	307	CAGACAGCGAUCUGUGACAACGG	393
AD-557067.1	gsgsagccAfaAfAfAfgugucuaguuL96	222	asAfscuag(Agn)cacuuuUfuGfgcucesusg	308	CAGGAGCCAAAAAAGUGUCUAGUC	394
AD-557852.1	gsasgggaAfcAfAfCfUfcgagcuuuuL96	223	asAfsaagc(Tgn)cgaguuGfuUfcccucsgsg	309	CCGAGGGAACAACUCGAGCUUUG	395
AD-556733.1	ascsugcuAfuGfAfCfggauacacuuL96	224	asAfsgugu(Agn)accgucAfuAfgcagusgsg	310	CCACUGCUAUGACGGUUACACUC	396
AD-556725.1	csuscuuuCfcAfCfUfgcuagacguL96	225	asCfsguca(Tgn)agcaguGfgAfaagagsasu	311	AUCUCUUUCCACUGCUAUGACGG	397
AD-557860.1	asascucgAfgCfUfUfugaggcuucuL96	226	asGfsaagc(Cgn)ucaaagCfuCfgaguusgsu	312	ACAACUCGAGCUUUGAGGCUUCC	398
AD-556786.1	csasgacaGfcGfAfUfcugugacaauL96	227	asUfsuguc(Agn)cagaucGfcUfgucugscsc	313	GGCAGACAGCGAUCUGUGACAAC	399
AD-556581.1	cscsuucuGfgCfUfUfcuacccguauL96	228	asUfsacgg(Ggn)uagaagCfcAfgaagesasc	314	GUCCUUCUGGCUUCUACCCGUAC	400
AD-556963.1	ascscauaGfaAfgGfGfagucgaugcuL96	229	asGfscauc(Ggn)acuccuUfcUfaugguscsu	315	AGACCAUAGAAGGAGUCGAUGCU	401
AD-557450.1	ascscaggUfgAfaAfCfaucaaugcuuL96	230	asAfsgcau(Tgn)gauguuCfaCfuuggususc	316	GAACCAAGUGAACAUCAAUGCUU	402
AD-557204.1	usgsaaauCfaAfUfUfaugagaaccuL96	231	asGfsgucu(Tgn)cauaaauUfgAfuuucasusu	317	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGACCA	403
AD-558062.1	gsasuaguUfcAfCfAfagagaagucuL96	232	asGfsacuu(Cgn)ucuuguGfaAfcuaucsasa	318	UUGAUAGUUCACAAGAGAAGUCG	404
AD-557602.1	asasgggaAfcCfGfAfuuaccacaauL96	233	asUfsugug(Ggn)uaaucgGfuAfcccuusesc	319	GGAAGGGUACCGAUUACCCACAAG	405

[0851]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-556917.1	csasgacUfcCfUfUfcauguacgauL96	234	asUfscgua(Cgn)augaagGfaGfucuugsgsc	320	GCCAAGACUCCUUCAUGUACGAC	406
AD-557969.1	csusgacuCfgGfAfAfggaggucuauL96	235	asUfsagac(Cgn)ucccuucCfgAfgucagcsu	321	AGCUGACUCGGAAGGAGGUCUAC	407
AD-558064.1	usasguucAfcAfAfGfagaaagucguuL96	236	asAfscgac(Tgn)ucucuuGfuGfaacuasusc	322	GAUAGUUCACAAGAGAAAGUCGUU	408
AD-558105.1	gsuscugcAfaAfaAfAfccagaagcguL96	237	asCfsgcuu(Cgn)ugguuuuUfuGfcagacsasu	323	AUGUCUGCAAAAACCAGAAGCGG	409
AD-556791.1	asgscgauCfuGfUfGfacaacggaguL96	238	asCfsucCg(Tgn)ugucacAfgAfucgcusgsu	324	ACAGCGAUCUGUGACAACGGAGC	410
AD-557972.1	ascsucggAfaGfGfAfggucuacauuL96	239	asAfsugua(Ggn)accuccUfuCfcgaguscsa	325	UGACUCGGAAGGAGGUCUACAUC	411
AD-556920.1	gsascucc UfuCfAfUfguacgacacuL96	240	asGfsuguc(Ggn)uacaugAfaGfgagucsusu	326	AAGACUCCUUCAUGUACGACACC	412
AD-558078.1	asgsucguUfuCfAfUfucaaguugguL96	241	asCfscaac(Tgn)ugaaugAfaAfcgacususc	327	GAAGUCGUUUCAUUCAAGUUGGU	413
AD-557861.1	ascsucgaGfcUfUfUfgaggcuuccuL96	242	asGfsgaag(Cgn)cucaaaGfcUfcgagususg	328	CAACUCGAGCUUUGAGGCUUCCU	414
AD-557856.1	gsasacaaCfuCfGfAfgcuuugaggaL96	243	asCfscuca(Agn)agcucgAfgUfuguucscsc	329	GGGAACAACUCGAGCUUUGAGGC	415
AD-557041.1	usgsgugcUfaGfAfUfggaucagacuL96	244	asGfsucug(Agn)uccauc UfaGfcaccasgsg	330	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGACA	416
AD-556874.1	gsusgucaGfgAfAfGfguggcucuuuL96	245	asAfsagag(Cgn)ccaccuuCfcUfgacacsgsu	331	ACGUGUCAGGAAGGUGGCUCUUG	417
AD-557345.1	csusgaugGfaUfUfGfcacaacauguL96	246	asCfsaugu(Tgn)gugcaaUfcCfcaucagsusc	332	GACUGAUGGAUUGCCACAACAUGG	418
AD-557839.1	csasgacuAfuCfAfGfgcccauuuguL96	247	asCfsaaau(Ggn)ggccugAfuAfgucugsgsc	333	GCCAGACUAUCAGGCCCAUUUGU	419
AD-556962.1	gsasccauAfgAfAfGfgcgaugauL96	248	asCfsaucg(Agn)cucccuuCfuAfuggucsusc	334	GAGACCAUAGAAGGAGUCGAUGC	420
AD-557066.1	asgsagcCfaAfAfAfagugucuaguL96	249	asCfsuaga(Cgn)acuuuuUfgGfcucc usgsu	335	ACAGGAGCCAAAAAAGUGUCUAGU	421
AD-556961.1	asgsaccaUfaGfAfAfggaugcgauuL96	250	asAfsucga(Cgn)ucccuucUfaUfggucusesu	336	AGAGACCAUAGAAGGAGUCGAUG	422
AD-557226.1	asasguugAfaGfUfCfagggacuaauL96	251	asUfsuagu(Cgn)ccugacUfuCfaacuusgsu	337	ACAAGUUGAAGUCAGGGACUAAC	423
AD-557865.1	gsasgcuuUfgAfGfGfcuuccuccauL96	252	asUfsggag(Ggn)aagccuCfaAfagcucsgsa	338	UCGAGCUUUGAGGCUUCCUCCAA	424
AD-557209.1	uscsaauuAfuGfAfAfgaccacaaguL96	253	asCfsuugu(Ggn)gucuucAfuAfauugasusu	339	AAUCAAUUAUGAAGACCACAAGU	425
AD-556918.1	asasgacuCfcUfUfCfauguacgacuL96	254	asGfsucgu(Agn)cauguaaGfgAfgucuusgsg	340	CCAAGACUCCUUCAUGUACGACA	426
AD-557868.1	csusuugaGfgCfUfUfccuccaacuuL96	255	asAfsguug(Ggn)aggaagCfcUfcaaagcsu	341	AGCUUUGAGGCUUCCUCCAACUA	427
AD-557873.1	asgsgcuuCfcUfCfCfaacuaccacuL96	256	asGfsuggu(Agn)guuggaGfgAfagccusesa	342	UGAGGCUUCCUCCAACUACCACU	428
AD-556787.1	asgsacagCfgAfUfCfugugacaacuL96	257	asGfsuugu(Cgn)acagauCfgCfugucusgsc	343	GCAGACAGCGAUCUGUGACAACG	429
AD-558004.1	csasggcuAfuGfAfCfaaagucaaguL96	258	asCfsuuga(Cgn)uuuguc AfuAfgccugsgsg	344	CCCAGGCUAUGACAAAGUCAAGG	430
AD-557867.1	gscsuuugAfgGfCfUfuccucaaacuL96	259	asGfsuugg(Agn)ggaagcCfuCfaaagcsusc	345	GAGCUUUGAGGCUUCCUCCAACU	431
AD-557788.1	usasugacUfaUfGfAfcguugcccuuuL96	260	asAfsggcc(Agn)acgucaUfaGfucauasasa	346	UUUAUGACUAUGACGUUGCCCUG	432
AD-558106.1	uscsugcaAfaAfaAfCfcagaagcggcuL96	261	asCfsgccu(Tgn)cuggguuUfuUfgcagascsa	347	UGUCUGCAAAAACCAGAAGCGGC	433
AD-556724.1	uscsucuuUfcCfAfCfugcuaugacuL96	262	asGfsucau(Agn)gcagugGfaAfagagasusc	348	GAUCUCUUUCCCACUGCUAUGACG	434
AD-556739.1	asusgacgGfuUfAfCfacucccggguL96	263	asCfscgga(Ggn)aguguaAfcCfgucausasg	349	CUAUGACGGUUACACUCUCCGGG	435
AD-557417.1	csasgggAfgGfaUfUfuacuggauuL96	264	asAfsucca(Ggn)auuaaucCfuCfccuugsgsg	350	CCCAAGGGAGGAUUAUCUGGAUG	436
AD-556790.1	csasgcgaUfcUfGfUfgacaacggguL96	265	asUfsccgu(Tgn)gucacaGfaUfcgcugususc	351	GACAGCGAUCUGUGACAACGGAG	437
AD-557872.1	gsasggcuUfcCfUfCfcaacuaccauL96	266	asUfsggua(Ggn)uuggagGfaAfgccucsasa	352	UUGAGGCUUCCUCCAACUACCAC	438
AD-556738.1	usasugacGfgUfUfAfcacucucccguL96	267	asCfsggag(Agn)guguaaaCfcGfucauasgsc	353	GCUAUGACGGUUACACUCUCCGG	439

[0852]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-557857.1	asascaacUfcGfAfGfcuuuggaggcuL96	268	asGfscCuc(Agn)aagcucGfaGfuuguuscsc	354	GGAACAACUCGAGCUUUGAGGCU	440
AD-556726.1	uscsuuucCfaCfUfGfcuaugacggcuL96	269	asCfscguc(Agn)uagcagUfgGfaaagasgsa	355	UCUCUUUCCACUGCUAUGACGGU	441
AD-557495.1	asascaugUfgUfUfCfaaagucaaguL96	270	asCfsuuga(Cgn)uuuugaaCfaCfauguusgsc	356	GCAACAUGUGUUCAAAGUCAAGG	442
AD-557016.1	cscsuucaGfgCfUfCfcaugaacauuL96	271	asAfsuguu(Cgn)augGagCfcUfgaaggsgsu	357	ACCCUUCAGGCUCCAUGAACAUC	443
AD-558074.1	gsasgaagUfcGfUfUfucauucaaguL96	272	asCfsuuga(Agn)ugaaacGfaCfuucucsusu	358	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAAGU	444
AD-557604.1	gsgsguacCfgAfUfUfaccacaagcuL96	273	asGfscuug(Tgn)gguaauCfgGfuaccsusu	359	AAGGGUACCGAUUACCACACAAGCA	445
AD-557346.1	usgsauggAfuUfGfCfacaacaugguL96	274	asCfscaug(Tgn)ugugcaAfuCfcaucasgsu	360	ACUGAUGGAUUGCACAACAUGGG	446
AD-557851.1	csgsagggAfaCfAfAfcucgagcuuuL96	275	asAfsagcu(Cgn)gagugUfuCfccucgsgsu	361	ACCGAGGGAACAACUCGAGCUUU	447
AD-557786.1	ususuaugAfcUfAfUfgacguugccuL96	276	asGfsgcaa(Cgn)gucauaGfuCfauaaasasu	362	AUUUUAUGACUAUGACGUUGCCC	448

表4. 补体因子B dsRNA剂的未修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-558860.1	UGCCAAGACUCCUUCAUGUAU	449	930-950	AUACAUGAAGGAGUCUUGGCAGG	520	928-950
AD-560018.1	AAGAGAAGUCGUUUCAUUCAU	450	2397-2417	AUGAAUGAAACGACUUCUCUUGU	521	2395-2417
AD-560019.1	AGAGAAGUCGUUUCAUUCAAU	451	2398-2418	AUUGAAUGAAACGACUUCUCUUG	522	2396-2418
AD-559160.1	UAUGAAGACCACAAGUUGAAU	452	1308-1328	AUUCAACUUGUGGUCUUCAUAAU	523	1306-1328
AD-559921.1	CGGAAGGAGGUCUACAUCAAU	453	2202-2222	AUUGAUGUAGACCUCCUUCCGAG	524	2200-2222
AD-559755.1	AUCAAGCUCAAGAAUAAGCUU	454	2016-2036	AAGCUUAUUCUUGAGCUUGAUCA	525	2014-2036
AD-560017.1	CAAGAGAAGUCGUUUCAUUCU	455	2396-2416	AGAAUGAAACGACUUCUCUUGUG	526	2394-2416
AD-559614.1	CUGUGGUGUCUGAGUACUUUU	456	1819-1839	AAAAGUACUCAGACACCACAGCC	527	1817-1839
AD-559435.1	AUGAGCAACAUGUGUUCAAAU	457	1621-1641	AUUUGAACACAUGUUGCUCAUUG	528	1619-1641
AD-560016.1	ACAAGAGAAGUCGUUUCAUUU	458	2395-2415	AAAUGAAACGACUUCUCUUGUGA	529	2393-2415
AD-559451.1	CAAAGUCAAGGAUAUGGAAAU	459	1637-1657	AUUUCCAUAUCCUUGACUUUGAA	530	1635-1657
AD-559617.1	UGGUGUCUGAGUACUUUGUGU	460	1822-1842	ACACAAAGUACUCAGACACCACA	531	1820-1842
AD-560021.1	AGAAGUCGUUUCAUUCAAGUU	461	2400-2420	AACUUGAAUGAAACGACUUCUCU	532	2398-2420
AD-559449.1	UUCAAAGUCAAGGAUAUGGAU	462	1635-1655	AUCCAUAUCCUUGACUUUGAACA	533	1633-1655
AD-559450.1	UCAAAGUCAAGGAUAUGGAAU	463	1636-1656	AUUCCAUAUCCUUGACUUUGAAC	534	1634-1656
AD-559925.1	AGGAGGUCUACAUCAAGAAUU	464	2206-2226	AAUUCUUGAUGUAGACCUCCUUC	535	2204-2226
AD-559440.1	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAU	465	1626-1646	AUUGACUUUGAACACAUGUUGCU	536	1624-1646
AD-559788.1	ACUAUCAGGCCCAUUUGUCUU	466	2049-2069	AAGACAAAUGGGCCUGAUAGUCU	537	2047-2069
AD-559437.1	GAGCAACAUGUGUUCAAAGUU	467	1623-1643	AACUUUGAACACAUGUUGCUCAU	538	1621-1643

[0853]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-559369.1	AGGAUUAUCUGGAUGUCUAUU	468	1537-1557	AAUAGACAUCCAGAUAAUCCUCC	539	1535-1557
AD-559446.1	GUGUUCAAAGUCAAGGAUAUU	469	1632-1652	AAUAUCCUUGACUUUGAACACAU	540	1630-1652
AD-559924.1	AAGGAGGUCUACAUCAAGAAU	470	2205-2225	AUUCUUGAUGUAGACCUCCUUCC	541	2203-2225
AD-558965.1	UCAGGCUCCAUGAACAUCUAU	471	1074-1094	AUAGAUGUUCAUGGAGCCUGAAG	542	1072-1094
AD-560045.1	GUGGAUGUCUGCAAAAACCAU	472	2442-2462	AUGGUUUUUGCAGACAUCCACUA	543	2440-2462
AD-559946.1	GUGAGAGAGAUGCUCAAUAUU	473	2245-2265	AAUAUUGAGCAUCUCUCUCACAG	544	2243-2265
AD-558697.1	AUCGCACCUGCCAAGUGAAUU	474	703-723	AAUUCACUUGGCAGGUGCGAUUG	545	701-723
AD-559008.1	UCACAGGAGCCAAAAAGUGUU	475	1135-1155	AACACUUUUUGGCUCCUGUGAAG	546	1133-1155
AD-559357.1	AAAACCCAAGGGAGGAUUAUU	476	1525-1545	AAUAAUCCUCCCUUGGGUUUUUG	547	1523-1545
AD-559020.1	AAAAGUGUCUAGUCAACUUAU	477	1147-1167	AUAAGUUGACUAGACACUUUUUG	548	1145-1167
AD-559143.1	CAGCUCAAUGAAAUCAAUUAU	478	1290-1310	AUAAUUGAUUUCAUUGAGCUGCU	549	1288-1310
AD-559374.1	UAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU	479	1542-1562	AAACACAUAGACAUCCAGAUAAU	550	1540-1562
AD-560161.1	GGCGUGGGAUUGAAUUAAAAU	480	2594-2614	AUUUUAAUUCAAUCCCACGCCCC	551	2592-2614
AD-559947.1	UGAGAGAGAUGCUCAAUAUGU	481	2246-2266	ACAUAUUGAGCAUCUCUCUCACA	552	2244-2266
AD-559616.1	GUGGUGUCUGAGUACUUUGUU	482	1821-1841	AACAAAGUACUCAGACACCACAG	553	1819-1841
AD-559142.1	GCAGCUCAAUGAAAUCAAUUU	483	1289-1309	AAAUUGAUUUCAUUGAGCUGCUU	554	1287-1309
AD-558639.1	CGGUCUCCCUACUACAAUGUU	484	627-647	AACAUUGUAGUAGGGAGACCGGG	555	625-647
AD-560166.1	GGGAUUGAAUUAAAACAGCUU	485	2599-2619	AAGCUGUUUUAAUUCAAUCCCAC	556	2597-2619
AD-559359.1	AACCCAAGGGAGGAUUAUCUU	486	1527-1547	AAGAUAAUCCUCCCUUGGGUUUU	557	1525-1547
AD-558657.1	GUGAGUGAUGAGAUCUCUUUU	487	645-665	AAAAGAGAUCUCAUCACUCACAU	558	643-665
AD-559442.1	ACAUGUGUUCAAAGUCAAGGU	488	1628-1648	ACCUUGACUUUGAACACAUGUUG	559	1626-1648
AD-559023.1	AGUGUCUAGUCAACUUAAUUU	489	1150-1170	AAAUUAAGUUGACUAGACACUUU	560	1148-1170
AD-560160.1	GGGCGUGGGAUUGAAUUAAAU	490	2593-2613	AUUUAAUUCAAUCCCACGCCCCU	561	2591-2613
AD-559398.1	CAAGUGAACACAUCAAUGCUUUU	491	1584-1604	AAAAGCAUUGAUGUUCACUUGGU	562	1582-1604
AD-559722.1	AUUCCUGAAUUUUAUGACUAU	492	1983-2003	AUAGUCAUAAAAAUUCAGGAAUUC	563	1981-2003
AD-559146.1	CUCAAUGAAAUCAAUUAUGAU	493	1293-1313	AUCAUAAUUGAUUUCAUUGAGCU	564	1291-1313
AD-558267.1	GGAUGUUCCGGGAAAGUGAUU	494	55-75	AAUCACUUUUCCCGGAACAUCCAA	565	53-75
AD-559074.1	GAUAUGGUCUAGUGACAUAUU	495	1201-1221	AAUAUGUCACUAGACCAUAUCUU	566	1199-1221
AD-560162.1	GCGUGGGAUUGAAUUAAAACU	496	2595-2615	AGUUUUAAUUCAAUCCCACGCCC	567	2593-2615
AD-559021.1	AAAGUGUCUAGUCAACUUAAU	497	1148-1168	AUUAAGUUGACUAGACACUUUUU	568	1146-1168
AD-559144.1	AGCUCAAUGAAAUCAAUUAUU	498	1291-1311	AAUAAUUGAUUUCAUUGAGCUGC	569	1289-1311
AD-559147.1	CAAUGAAAUCAAUUAUGAAGU	499	1295-1315	ACUUCAUAAUUGAUUUCAUUGAG	570	1293-1315
AD-560164.1	GUGGGAUUGAAUUAAAACAGU	500	2597-2617	ACUGUUUUAAUUCAAUCCCACGC	571	2595-2617
AD-559714.1	AAGCAGGAAUCCCUGAAUUUU	501	1975-1995	AAAAUUCAGGAAUUCCCUGCUUCU	572	1973-1995

[0854]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	范围 (NM_001710.5)
AD-560165.1	UGGGAUUGAAUUAAAACAGCU	502	2598-2618	AGCUGUUUUAAUUCAAUCCCACG	573	2596-2618
AD-559300.1	ACCCAAUUACUGUCAUUGAUU	503	1468-1488	AAUCAAUGACAGUAAUUGGGUCC	574	1466-1488
AD-559866.1	CCCUGCACAGGAUAUCAAAGU	504	2147-2167	ACUUUGAUAUCCUGUGCAGGGAG	575	2145-2167
AD-559302.1	CCAAUUACUGUCAUUGAUGAU	505	1470-1490	AUCAUCAAUGACAGUAAUUGGGU	576	1468-1490
AD-560163.1	CGUGGGAUUGAAUUAAAACAU	506	2596-2616	AUGUUUUAAUUCAAUCCCACGCC	577	2594-2616
AD-559718.1	AGGAAUUCCUGAAUUUUAUGU	507	1979-1999	ACAUAAAAUUCAGGAAUUCCUGC	578	1977-1999
AD-559721.1	AAUUCCUGAAUUUUAUGACUU	508	1982-2002	AAGUCAUAAAAUUCAGGAAUUCC	579	1980-2002
AD-559026.1	GUCUAGUCAACUUAAUUGAGU	509	1153-1173	ACUCAAUUAAGUUGACUAGACAC	580	1151-1173
AD-559719.1	GGAAUUCCUGAAUUUUAUGAU	510	1980-2000	AUCAUAAAAUUCAGGAAUUCCUG	581	1978-2000
AD-559060.1	UGGUGUGAAGCCAAGAUAUGU	511	1187-1207	ACAUAUCUUGGCUUCACACCAUA	582	1185-1207
AD-559864.1	CUCCCUGCACAGGAUAUCAAU	512	2145-2165	AUUGAUAUCCUGUGCAGGGAGCA	583	2143-2165
AD-559059.1	AUGGUGUGAAGCCAAGAUAUU	513	1186-1206	AAUAUCUUGGCUUCACACCAUAA	584	1184-1206
AD-559865.1	UCCCUGCACAGGAUAUCAAAU	514	2146-2166	AUUUGAUAUCCUGUGCAGGGAGC	585	2144-2166
AD-559148.1	AAUGAAAUCAAUUAUGAAGAU	515	1296-1316	AUCUUCAUAAUUGAUUUCAUUGA	586	1294-1316
AD-559375.1	AUCUGGAUGUCUAUGUGUUUU	516	1543-1563	AAAACACAUAGACAUCCAGAUAA	587	1541-1563
AD-559393.1	UGAACCAAGUGAACAUCAAUU	517	1579-1599	AAUUGAUGUUCACUUGGUUCACC	588	1577-1599
AD-559717.1	CAGGAAUUCCUGAAUUUUAUU	518	1978-1998	AAUAAAAUUCAGGAAUUCCUGCU	589	1976-1998
AD-559392.1	GUGAACCAAGUGAACAUCAAU	519	1578-1598	AUUGAUGUUCACUUGGUUCACCA	590	1576-1598

表5. 补体因子B dsRNA剂的经修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-558860.1	usgsccaaGfaCfUfCfcuucauguauuL96	591	asUfsacaUfgAfAfggagUfcUfuggcasgsg	662	CCUGCCAAGACUCCUUCAUGUAC	733
AD-560018.1	asasgagaAfgUfCfCfGfuuucauucauuL96	592	asUfsgaaUfgAfAfacgaCfuUfcucuusgsu	663	ACAAGAGAAGUCCGUUUCAUUCAA	734
AD-560019.1	asgsagaaGfuCfGfUfUfucauucaauuL96	593	asUfsugaAfuGfAfaacgAfcUfucucususg	664	CAAGAGAAGUCCGUUUCAUUCAAG	735
AD-559160.1	usasugaaGfaCfCfAfcaaguugaauL96	594	asUfsucaAfcUfUfguggUfcUfucauasasu	665	AUUAUGAAGACCACAAGUUGAAG	736
AD-559921.1	csgsgaagGfaGfGfUfUfcuacaucaauL96	595	asUfsugaUfgUfAfgaccUfcCfuucgsasg	666	CUCGGAAGGAGGUCUACAUCAAG	737
AD-559755.1	asuscaagCfuCfAfAfgaauaagcuuL96	596	asAfsgcuUfaUfUfcuugAfgCfuugauscsa	667	UGAUCAAGCUCAAGAAUAAGCUG	738
AD-560017.1	csasagagAfaGfUfCfguuucauucuL96	597	asGfsaauGfaAfAfgacUfuCfucuugsusg	668	CACAAGAGAAGUCGUUUCAUUCA	739
AD-559614.1	csusguggUfgUfCfUfgaguacuuuuL96	598	asAfsagUfaCfUfcagaCfaCfcacagscsc	669	GGCUGUGGUGUCUGAGUACUUUG	740

[0855]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-559435.1	asusgagcAfaCfAfUfguguucaaauL96	599	asUfsuugAfaCfAfcaugUfuGfcucaususg	670	CAAUGAGCAACAUGUGUUCAAAG	741
AD-560016.1	ascsaagaGfaAfGfUfcguuucauuuL96	600	asAfsaugAfaAfCfgacuUfcUfcuugusgsa	671	UCACAAGAGAAGUCGUUUCAUUC	742
AD-559451.1	csasaaguCfaAfGfGfauauggaaauL96	601	asUfsuucCfaUfAfuccuUfgAfcuuugsasa	672	UUCAAAGUCAAGGAUAUGGAAAA	743
AD-559617.1	usgsguguCfuGfAfGfuacuuuguguL96	602	asCfsacaAfaGfUfacucAfgAfcaccascsa	673	UGUGGUGUCUGAGUACUUUGUGC	744
AD-560021.1	asgsaaguCfgUfUfUfcaauucaaguuL96	603	asAfscuuGfaAfUfgaaaCfgAfcuucucsu	674	AGAGAAGUCGUUUCAUUCAAGUU	745
AD-559449.1	ususcaaaGfuCfAfAfggauauggaaL96	604	asUfsccaUfaUfCfcuugAfcUfuugaasesa	675	UGUUCAAAGUCAAGGAUAUGGAA	746
AD-559450.1	uscsaaagUfcAfaAfGfgauauggaauL96	605	asUfsuccAfuAfUfccuuGfaCfuuugasasc	676	GUUCAAAGUCAAGGAUAUGGAAA	747
AD-559925.1	asgsgaggUfcUfAfCfaucaagaauuL96	606	asAfsuucUfuGfAfuguaGfaCfcuccususc	677	GAAGGAGGUCUACAUCAAGAAUG	748
AD-559440.1	csasacauGfuGfUfUfcaaagucaauL96	607	asUfsugaCfuUfUfgaacAfcAfuguugscsu	678	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCAAG	749
AD-559788.1	ascsuaucAfgGfCfCfcauuugucuuL96	608	asAfsgacAfaAfUfgggcCfuGfauaguscsu	679	AGACUAUCAGGCCCAUUUGUCUC	750
AD-559437.1	gsasgcaaCfaUfGfUfgucaaaguguL96	609	asAfscuuUfgAfAfcacaUfgUfugcucsasu	680	AUGAGCAACAUGUGUUCAAAGUC	751
AD-559369.1	asgsgauuAfuCfUfGfgaugucuauuL96	610	asAfsuagAfcAfUfccagAfuAfauccusesc	681	GGAGGAUUAUCUGGAUGUCUAUG	752
AD-559446.1	gsusguucAfaAfGfUfcaaggauauuL96	611	asAfsuauCfcUfUfgacuUfuGfaacacsasu	682	AUGUGUUCAAAGUCAAGGAUAUG	753
AD-559924.1	asasggagGfuCfUfAfcaucaagaauL96	612	asUfsucuUfgAfUfguagAfcCfuccuuscsc	683	GGAAGGAGGUCUACAUCAAGAAU	754
AD-558965.1	uscsaggcUfcCfAfUfgaacaucuauL96	613	asUfsagaUfgUfUfcauuGfaGfccugasasg	684	CUUCAGGCUCCAUGAACAUCUAC	755
AD-560045.1	gsusggauGfuCfUfGfcaaaaccauL96	614	asUfsgguUfuUfUfgcagAfcAfuccacsusa	685	UAGUGGGAUGUCUGCAAAAACCAG	756
AD-559946.1	gsusgagaGfaGfaUfUfgcucaauauuL96	615	asAfsuauUfgAfGfcauuCfuUfcucacsasg	686	CUGUGAGAGAGAUGCUCAAUAUG	757
AD-558697.1	asusgcgaCfcUfGfCfcaagugaauuL96	616	asAfsuucAfcUfUfggcaGfgUfgcgaususg	687	CAAUCGCACCUGCCAAGUGAAUG	758
AD-559008.1	uscsacagGfaGfCfCfaaaaguguuuL96	617	asAfscacUfuUfUfuggcUfcCfugugasasg	688	CUUCACAGGAGCCAAAAAGUGUC	759
AD-559357.1	asasaaccCfaAfGfCfgaggauuauuL96	618	asAfsuaaUfcCfUfccccUfgCfguuuuusg	689	CAAAAACCCAAGGGAGGAUUAUC	760
AD-559020.1	asasaaguGfuCfUfAfgucaacuuauL96	619	asUfsaagUfuGfAfcuagAfcAfcuuuususg	690	CAAAAAGUGUCUAGUCAACUUAA	761
AD-559143.1	csasgcucAfaUfGfAfaaucaauuauL96	620	asUfsaauUfgAfUfuucaUfuGfagcugscsu	691	AGCAGCUCAAUGAAAUCAAUUAU	762
AD-559374.1	usasucugGfaUfGfUfcuaguguuuuL96	621	asAfsacaCfaUfAfgacaUfcCfagauasasu	692	AUUAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU	763
AD-560161.1	gsgscgugGfgAfUfUfgaauuaaaauL96	622	asUfsuuuAfaUfUfcaauCfcCfcagccscsc	693	GGGGCGUGGGAUUGAAUUAAAAC	764
AD-559947.1	usgsagagAfgAfUfGfcucaauauguL96	623	asCfsauaUfuGfAfgcauCfuCfucucasesa	694	UGUGAGAGAGAUGCUCAAUAUGC	765
AD-559616.1	gsusggugUfcUfGfAfguacuuuguuL96	624	asAfscaaAfgUfAfUfcucaGfaCfaccacsasg	695	CUGUGGUGUCUGAGUACUUUGUG	766
AD-559142.1	gscsagcuCfaAfuUfGfaaaucaauuuL96	625	asAfsauuGfaUfUfucauUfgAfgcugcsusu	696	AAGCAGCUCAAUGAAAUCAAUUA	767
AD-558639.1	csgsgucuCfcCfUfAfcuacaaugunL96	626	asAfscauUfgUfAfguagGfgAfgaccgsgsg	697	CCCGGUCUCCCUACUACAAUGUG	768
AD-560166.1	gsgsgauuGfaAfUfUfaaaacagcuuL96	627	asAfsgcuGfuUfUfuaauUfcAfauccgsasc	698	GUGGGAUUGAAUUAAAACAGCUG	769
AD-559359.1	asascccaAfgGfGfAfggauuaucuuL96	628	asAfsgauAfaUfCfcuccCfuUfggguususu	699	AAAACCCAAGGGAGGAUUAUCUG	770
AD-558657.1	gsusgaguGfaUfGfAfgaucucuuuuL96	629	asAfsaagAfgAfUfucaUfcAfcucacsasu	700	AUGUGAGUGAUGAGAUCUCUUUC	771
AD-559442.1	ascsauguGfuUfCfAfaagucaaggaL96	630	asCfscuuGfaCfUfuugaAfcAfcaugususg	701	CAACAUGUGUUCAAAGUCAAGGA	772
AD-559023.1	asgsgucUfaGfUfCfaacuuaauuuL96	631	asAfsauuAfaGfUfugacUfaGfacacususu	702	AAAGUGUCUAGUCAACUUAAUUG	773
AD-560160.1	gsgsgcguGfgGfAfUfugaauuaaauL96	632	asUfsuuaAfuUfCfaauuCfcAfcgcccscsu	703	AGGGGCGUGGGAUUGAAUUAAAA	774

[0856]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-559398.1	csasagugAfaCfaUfUfcaaugcuuuuL96	633	asAfsaagCfaUfUfgaugUfuCfacuugsgsu	704	ACCAAGUGAACAUCAAUGCUUUG	775
AD-559722.1	asusuccuGfaAfUfUfuuaugacuauL96	634	asUfsaguCfaUfAfaaauUfcAfggaaususc	705	GAAUUCCUGAAUUUUAUGACUAU	776
AD-559146.1	csuscaauGfaAfAfUfcaauuaugauL96	635	asUfscauAfaUfUfgauuUfcAfuugagscsu	706	AGCUCAAUGAAAUCAAUUAUGAA	777
AD-558267.1	gsgsauguUfcCfGfGfgaaagugauuL96	636	asAfsucaCfuUfUfcccgGfaAfcauccsasa	707	UUGGAUGUUCCGGGAAAGUGAUG	778
AD-559074.1	gsasuaugGfuCfUfAfguacauauuuL96	637	asAfsuauGfuCfAfcuagAfcCfauaucsusu	708	AAGAUAUGGUCUAGUGACAUAUG	779
AD-560162.1	gscsgugGfaUfUfGfaauuaaaacuL96	638	asGfsuuuUfaAfUfucaaUfcCfcacgcscsc	709	GGGCGUGGGAUUGAAUUAAAACA	780
AD-559021.1	asasagugUfcUfAfGfucaacuuaauL96	639	asUfsuaaGfuUfGfacuaGfaCfacuuususu	710	AAAAAGUGUCUAGUCAACUUAAU	781
AD-559144.1	asgscucaAfuGfAfAfaucauuauuuL96	640	asAfsuaaUfuGfAfuuucAfuUfgagcusgsc	711	GCAGCUCAAUGAAAUCAAUUAUG	782
AD-559147.1	csasaugaAfaUfCfAfauuaugaaguL96	641	asCfsuucAfuAfAfuugaUfuUfcauugsasg	712	CUCAAUGAAAUCAAUUAUGAAGA	783
AD-560164.1	gsusgggaUfuGfAfAfuuaaaacaguL96	642	asCfsuguUfuUfAfauucAfaUfcccacsgsc	713	GCGUGGGAUUGAAUUAAAACAGC	784
AD-559714.1	asasgcagGfaAfUfUfccugaauuuuL96	643	asAfsaauUfcAfGfgaauUfcCfugcuusgsu	714	AGAAGCAGGAAUUCCUGAAUUUU	785
AD-560165.1	usgsggauUfgAfAfUfuaaaacagcuL96	644	asGfscugUfuUfUfaauuCfaAfucccasgsg	715	CGUGGGAUUGAAUUAAAACAGCU	786
AD-559300.1	ascsccaaUfuAfCfUfgucauugauuL96	645	asAfsucaAfuGfAfcaguAfaUfugggucscsc	716	GGACCCAAUUACUGUCAUUGAUG	787
AD-559866.1	cscscugcAfcAfGfGfauaucaaaguL96	646	asCfsuuuGfaUfAfuccuGfuGfcagggasasg	717	CUCCCUGCACAGGAUAUCAAAGC	788
AD-559302.1	cscsaauuAfcUfGfUfcauugaugauL96	647	asUfscauCfaAfUfgacaGfuAfauugggsgsu	718	ACCCAAUUACUGUCAUUGAUGAG	789
AD-560163.1	csgsugggAfuUfGfAfauuaaaacauL96	648	asUfsguuUfuAfAfuucaAfuCfccacgcscsc	719	GGCGUGGGAUUGAAUUAAAACAG	790
AD-559718.1	asgsgaauUfcCfUfGfaauuuuaugL96	649	asCfsauaAfaAfUfUfcagGfaAfuuccusgsc	720	GCAGGAAUUCCUGAAUUUUAUGA	791
AD-559721.1	asasuuccUfgAfaAfUfuuuaugacuL96	650	asAfsgucAfuAfAfaauuCfaGfgaauusesc	721	GGAAUUCCUGAAUUUUAUGACUA	792
AD-559026.1	gsuscuagUfcAfaAfCfuuaauugagL96	651	asCfsucaAfuUfAfaguuGfaCfuagacsasc	722	GUGUCUAGUCAACUUAAUUGAGA	793
AD-559719.1	gsgsaauuCfcUfGfAfauuuuaugauL96	652	asUfscauAfaAfAfuucaGfgAfauucesusg	723	CAGGAAUUCCUGAAUUUUAUGAC	794
AD-559060.1	usgsguguGfaAfGfCfcaagauauguL96	653	asCfsauaUfcUfUfggcuUfcAfcaccasusa	724	UAUGGUGUGAAGCCAAGAUAUGG	795
AD-559864.1	csuscccuGfcAfCfAfggauaucaauL96	654	asUfsugaUfaUfCfcuguGfcAfgggagscsa	725	UGCUCCCUGCACAGGAUAUCAAA	796
AD-559059.1	asusggugUfgAfAfGfccaagauauuL96	655	asAfsauuCfuUfGfgcuuCfaCfaccausasa	726	UUAUGGUGUGAAGCCAAGAUAUG	797
AD-559865.1	uscsccugCfaCfAfGfgauaucaaauL96	656	asUfsuugAfuAfUfccugUfgCfagggasgsc	727	GCUCCCUGCACAGGAUAUCAAAG	798
AD-559148.1	asasugaaAfuCfAfAfuuaugaagauL96	657	asUfscuuCfaUfAfauugAfuUfucauusgsa	728	UCAAUGAAAUCAAUUAUGAAGAC	799
AD-559375.1	asuscuggAfuGfUfCfuauguguuuL96	658	asAfsaacAfcAfUfagacAfuCfcagauusasa	729	UUAUCUGGAUGUCUAUGUGUUUG	800
AD-559393.1	usgsaaccAfaGfUfGfaacaucaauuL96	659	asAfsuugAfuGfUfucacUfuGfguuucascsc	730	GGUGAACCAAGUGAACAUCAAUG	801
AD-559717.1	csasggaaUfuCfCfUfgaauuuuauuL96	660	asAfsuaaAfaUfUfcaggAfaUfuccugscsu	731	AGCAGGAAUUCCUGAAUUUUAUG	802
AD-559392.1	gsusgaacCfaAfGfUfgaacaucaauL96	661	asUfsugaUfgUfUfcacuUfgGfuucacscsa	732	UGGUGAACCAAGUGAACAUCAAU	803

[0857]

表6. 补体因子B dsRNA剂的未修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	有义链来源名称	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链来源名称
AD-560969.1	UGCCAAGAUUCCUUCAUGUAU	804	NM_008198.2_1051-1071_s	AUACAUGAAGGAAUCUUGGCAGG	849	NM_008198.2_1049-1071_as
AD-561537.1	AUGUGUUUAAAGUCAAGGAUU	805	NM_008198.2_1751-1771_A21U_s	AAUCCUUGACUUUAAACACAUGA	850	NM_008198.2_1749-1771_U1A_as
AD-562262.1	AAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU	806	NM_008198.2_2668-2688_s	AAAACCCAAAUCCUCAUCUUUGA	851	NM_008198.2_2666-2688_as
AD-561960.1	AAGGAUGUCAAAGCUCUGUUU	807	NM_008198.2_2275-2295_s	AAACAGAGCUUUGACAUCCUUCA	852	NM_008198.2_2273-2295_as
AD-561580.1	CUACCAAAUGAUUGAUGAAAU	808	NM_008198.2_1794-1814_C21U_s	AUUUCATCAAUCAUUUGGUAGAA	853	NM_008198.2_1792-1814_G1A_as
AD-561254.1	AUCAGUUAUGAAGACCACAAU	809	NM_008198.2_1423-1443_G21U_s	AUUGUGGUCUUCAUAACUGAUUU	854	NM_008198.2_1421-1443_C1A_as
AD-561578.1	UUCUACCAAAUGAUUGAUGAU	810	NM_008198.2_1792-1812_A21U_s	AUCAUCAAUCAUUUGGUAGAAAA	855	NM_008198.2_1790-1812_U1A_as
AD-561538.1	UGUGUUUAAAGUCAAGGAUAU	811	NM_008198.2_1752-1772_s	AUAUCCUUGACUUUAAACACAUG	856	NM_008198.2_1750-1772_as
AD-561252.1	AAAUCAGUUAUGAAGACCACU	812	NM_008198.2_1421-1441_A21U_s	AGUGGUCUUCAUAACUGAUUUGG	857	NM_008198.2_1419-1441_U1A_as
AD-561963.1	GAUGUCAAAGCUCUGUUUGUU	813	NM_008198.2_2278-2298_A21U_s	AACAAACAGAGCUUUGACAUCCU	858	NM_008198.2_2276-2298_U1A_as
AD-562027.1	CCAGUUGUGAGAGAGAUGCUU	814	NM_008198.2_2360-2380_A21U_s	AAGCAUCUCUCUCACAACUGGCU	859	NM_008198.2_2358-2380_U1A_as
AD-561653.1	AGCCAAGAUCUCAGUCACUCU	815	NM_008198.2_1887-1907_G21U_s	AGAGUGACUGAGAUCUUGGCUUG	860	NM_008198.2_1885-1907_C1A_as
AD-562137.1	CGCUUCAUUCAAGUUGGUGUU	816	NM_008198.2_2527-2547_G21U_s	AACACCAACUUGAAUGAAGCGGC	861	NM_008198.2_2525-2547_C1A_as
AD-561536.1	CAUGUGUUUAAAGUCAAGGAU	817	NM_008198.2_1750-1770_s	AUCCUUGACUUUAAACACAUGAU	862	NM_008198.2_1748-1770_as
AD-561253.1	AAUCAGUUAUGAAGACCACAU	818	NM_008198.2_1422-1442_A21U_s	AUGUGGUCUUCAUAACUGAUUUG	863	NM_008198.2_1420-1442_U1A_as
AD-561959.1	GAAGGAUGUCAAAGCUCUGUU	819	NM_008198.2_2274-2294_s	AACAGAGCUUUGACAUCCUUCAC	864	NM_008198.2_2272-2294_as
AD-	AUGUUUUCUACCAAAUGA	820	NM_008198.2_1787-	AAAUCAUUUGGUAGAAAAC	865	NM_008198.2_1785-

[0858]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	有义链来源名称	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链来源名称
561573.1	UUU		1807_G21U_s	AUUC		1807_C1A_as
AD-561651.1	CAAGCCAAGAUCUCAGUCACU	821	NM_008198.2_1885-1905_s	AGUGACTGAGAUCUUGGCUUGCC	866	NM_008198.2_1883-1905_as
AD-561148.1	ACCAACUUGAUUGAGAAGGUU	822	NM_008198.2_1279-1299_G21U_s	AACCUUCUCAAUCAAGUUGGUGA	867	NM_008198.2_1277-1299_C1A_as
AD-561962.1	GGAUGUCAAAGCUCUGUUUGU	823	NM_008198.2_2277-2297_s	ACAAACAGAGCUUUGACAUCCUU	868	NM_008198.2_2275-2297_as
AD-562237.1	AGAUGAGGAUUUGGGUUUUCU	824	NM_001710.5_2549-2569_s	AGAAAACCCAAAUCCUCAUCUUU	869	NM_008198.2_2668-2690_as
AD-561654.1	GCCAAGAUCUCAGUCACUCGU	825	NM_008198.2_1888-1908_C21U_s	ACGAGUGACUGAGAUCUUGGCUU	870	NM_008198.2_1886-1908_G1A_as
AD-562136.1	CCGCUUCAUUCAAGUUGGUGU	826	NM_008198.2_2526-2546_s	ACACCAACUUGAAUGAAGCGGCU	871	NM_008198.2_2524-2546_as
AD-562026.1	GCCAGUUGUGAGAGAGAUGCU	827	NM_008198.2_2359-2379_s	AGCAUCTCUCUCACAACUGGCUU	872	NM_008198.2_2357-2379_as
AD-561101.1	UCCAUGAAUAUCUACCUGGUU	828	NM_008198.2_1201-1221_G21U_s	AACCAGGUAGAUAUUCAUGGAGC	873	NM_008198.2_1199-1221_C1A_as
AD-561539.1	GUGUUUAAAGUCAAGGAUAUU	829	NM_008198.2_1753-1773_G21U_s	AAUAUCCUUGACUUUAAACACAU	874	NM_008198.2_1751-1773_C1A_as
AD-561961.1	AGGAUGUCAAAGCUCUGUUUU	830	NM_008198.2_2276-2296_G21U_s	AAAACAGAGCUUUGACAUCCUUC	875	NM_008198.2_2274-2296_C1A_as
AD-561535.1	UCAUGUGUUUAAAGUCAAGGU	831	NM_008198.2_1749-1769_A21U_s	ACCUUGACUUUAAACACAUGAUG	876	NM_008198.2_1747-1769_U1A_as
AD-561652.1	AAGCCAAGAUCUCAGUCACUU	832	NM_008198.2_1886-1906_C21U_s	AAGUGACUGAGAUCUUGGCUUGC	877	NM_008198.2_1884-1906_G1A_as
AD-562260.1	UCAAAGAUGAGGAUUUGGGUU	833	NM_008198.2_2666-2686_s	AACCCAAAUCCUCAUCUUUGAGC	878	NM_008198.2_2664-2686_as
AD-557041.2	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACU	72	NM_001710.5_1096-1116_A21U_s	AGUCUGAUCCAUCUAGCACCAGG	158	NM_001710.5_1094-1116_U1A_as
AD-561655.1	CCAAGAUCUCAGUCACUCGCU	834	NM_008198.2_1889-1909_C21U_s	AGCGAGTGACUGAGAUCUUGGCU	879	NM_008198.2_1887-1909_G1A_as
AD-557043.1	GUGCUAGAUGGAUCAGACAGU	835	NM_001710.5_1098-1118_C21U_s	ACUGUCTGAUCCAUCUAGCACCA	880	NM_001710.5_1096-1118_G1A_as
AD-561603.1	CAAAUCUCUGAGUCUCUGUGU	836	NM_008198.2_1815-1835_G21U_s	ACACAGAGACUCAGAGAUUUGGU	881	NM_008198.2_1813-1835_C1A_as

[0859]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	有义链来源名称	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链来源名称
AD-557044.1	UGCUAGAUGGGAUCAGACAGCU	837	NM_001710.5_1099-1119_A21U_s	AGCUGUCUGAUCCAUCUAGCACC	882	NM_001710.5_1097-1119_U1A_as
AD-561266.1	GACCACAAGCUGAAGUCAGGU	838	NM_008198.2_1435-1455_G21U_s	ACCUGACUUCAGCUUGUGGUCUU	883	NM_008198.2_1433-1455_C1A_as
AD-561541.1	GUUUAAAGUCAAGGAUAUGGU	839	NM_008198.2_1755-1775_A21U_s	ACCAUATCCUUGACUUUAAACAC	884	NM_008198.2_1753-1775_U1A_as
AD-562257.1	AGCUCAAAGAUGAGGAUUUGU	840	NM_008198.2_2663-2683_G21U_s	ACAAAUCCUCAUCUUUGAGCUUG	885	NM_008198.2_2661-2683_C1A_as
AD-560538.1	GAGGGAGUAGAGAUCAAAGGU	841	NM_008198.2_517-537_C21U_s	ACCUUUGAUCUCUACUCCCUCCA	886	NM_008198.2_515-537_G1A_as
AD-561579.1	UCUACCAAAUGAUUGAUGAAU	842	NM_008198.2_1793-1813_A21U_s	AUUCAUCAAUCAUUUGGUAGAAA	887	NM_008198.2_1791-1813_U1A_as
AD-562259.1	CUCAAAGAUGAGGAUUUGGGU	843	NM_008198.2_2665-2685_s	ACCCAAAUCCUCAUCUUUGAGCU	888	NM_008198.2_2663-2685_as
AD-560968.1	CUGCCAAGAUUCCUUCAUGUU	844	NM_008198.2_1050-1070_A21U_s	AACAUGAAGGAAUCUUGGCAGGA	889	NM_008198.2_1048-1070_U1A_as
AD-561647.1	AUGGCAAGCCAAGAUCUCAGU	845	NM_008198.2_1881-1901_s	ACUGAGAUCUUGGCUUGCCAUGG	890	NM_008198.2_1879-1901_as
AD-561469.1	CCUGGAUGUGUAUGUGUUGU	846	NM_008198.2_1665-1685_G21U_s	ACAAACACAUACACAUCCAGGUA	891	NM_008198.2_1663-1685_C1A_as
AD-561540.1	UGUUUAAAGUCAAGGAUAUGU	847	NM_008198.2_1754-1774_G21U_s	ACAUAUCCUUGACUUUAAACACA	892	NM_008198.2_1752-1774_C1A_as
AD-562135.1	GCCGCUUCAUUCAAGUUGGUU	848	NM_008198.2_2525-2545_G21U_s	AACCAACUUGAAUGAAGCGGCUU	893	NM_008198.2_2523-2545_C1A_as

表7.补体因子B dsRNA剂的经修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-560969.1	usgsccaaGfaUfUfCfcuucauguauL96	894	asUfsacau(Ggn)aaggaaUfcUfuggcasgsg	939	CCUGCCAAGAUUCCUUCAUGUAU	984
AD-561537.1	asusguguUfuAfAfAfgucaaggauuL96	895	asAfsuccu(Tgn)gacuuuAfaAfcacausgsa	940	UCAUGUGUUUAAAGUCAAGGAUA	985
AD-562262.1	asasgauGfaGfGfAfuuuggguuuuL96	896	asAfsaacc(Cgn)aaaucc UfcAfucuuusgsa	941	UCAAAGAUGAGGAUUUGGGUUUU	986
AD-561960.1	asasggauGfuCfAfAfagcucuguuuL96	897	asAfsacag(Agn)gcuuugAfcAfuccuuscsa	942	UGAAGGAUGUCAAAGCUCUGUUU	987
AD-561580.1	csusaccaAfaUfGfAfuugaugaaauL96	898	asUfsuuca(Tgn)caaucaUfuUfgguagasas	943	UUCUACCAAAUGAUUGAUGAAAC	988

[0860]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-561254.1	asuscaguUfaUfGfAfagaccacaauL96	899	asUfsugug(Ggn)ucuucaUfaAfcugaususu	944	AAAUCAGUUAUGAAGACCACAAG	989
AD-561578.1	ususcuacCfaAfAfUfgauugauguL96	900	asUfscauc(Agn)aucauuUfgGfuagaasasa	945	UUUUCUACCAAAUGAUUGAUGAA	990
AD-561538.1	usgsguuuUfaAfAfGfucaaggauauL96	901	asUfsaucc(Tgn)ugacuuUfaAfacacasusg	946	CAUGUGUUUAAAGUCAAGGAUAU	991
AD-561252.1	asasaucaGfuUfAfUfgaagaccacuL96	902	asGfsuggu(Cgn)uucauaaAfcUfgauuusgsg	947	CCAAAUCAGUUAUGAAGACCACA	992
AD-561963.1	gsasugucAfaAfGfCfucuguuuguuL96	903	asAfscaaa(Cgn)agagcuUfuGfacaucscsu	948	AGGAUGUCAAAGCUCUGUUUGUA	993
AD-562027.1	cscsaguuGfuGfAfGfagaugcuuL96	904	asAfsgcau(Cgn)ucucucAfcAfacuggcscsu	949	AGCCAGUUGUGAGAGAUGCUA	994
AD-561653.1	asgsccaaGfaUfCfUfcagucacucuL96	905	asGfsagug(Agn)cugagaUfcUfuggcususg	950	CAAGCCAAGAUCUCAGUCACUCG	995
AD-562137.1	csgscuucAfuUfCfAfaguuggugguuL96	906	asAfscacc(Agn)acuugaAfuGfaagcgsgsc	951	GCCGCUUCAUUCAAGUUGGUGUG	996
AD-561536.1	csasugugUfuUfAfAfagucaaggauL96	907	asUfsccuu(Ggn)acuuuaAfaCfacaugsasu	952	AUCAUGUGUUUAAAGUCAAGGAU	997
AD-561253.1	asasucagUfuAfUfGfaagaccacauL96	908	asUfsgugg(Tgn)cuucauAfaCfugauususg	953	CAAAUCAGUUAUGAAGACCACAA	998
AD-561959.1	gsasaggaUfgUfCfAfaagcucuguuL96	909	asAfscaga(Ggn)cuuugaCfaUfccuucsasc	954	GUGAAGGAUGUCAAAGCUCUGUU	999
AD-561573.1	asusguuuUfcUfAfCfcaaauguuuuL96	910	asAfsauca(Tgn)uuugguaGfaAfaacaususc	955	GAAUGUUUUCUACCAAAUGAUUG	1000
AD-561651.1	csasagccAfaGfaUfAfUfcucagucacuL96	911	asGfsugac(Tgn)gagaucUfuGfgcuugscsc	956	GGCAAGCCAAGAUCUCAGUCACU	1001
AD-561148.1	ascscaacUfuGfaUfUfugagaaggguuL96	912	asAfsccuu(Cgn)ucaaucAfaGfuuggusgsa	957	UCACCAACUUGAUUGAGAAGGUG	1002
AD-561962.1	gsgsauguCfaAfaAfGfcucuguuuugeuL96	913	asCfsaaac(Agn)gagcuuUfgAfcauccsusu	958	AAGGAUGUCAAAGCUCUGUUUGU	1003
AD-562237.1	asgsaugaGfgAfUfUfUfuggguuuucuL96	914	asGfsaaaa(Cgn)ccaaauCfcUfcaucususu	959	AAGAUGAGGAUUUGGGUUUUCU	1004
AD-561654.1	gscscaagAfuCfUfCfagucacucguL96	915	asCfsgagu(Ggn)acugagAfuCfuuggcsusu	960	AAGCCAAGAUCUCAGUCACUCGC	1005
AD-562136.1	cscsgcuuCfaUfUfCfaaguuggugcuL96	916	asCfsacca(Agn)cuugaaUfgAfagcgcscsu	961	AGCCGCUUCAUUCAAGUUGGUGU	1006
AD-562026.1	gscscaguUfgUfGfAfgagaugcuuL96	917	asGfscauc(Tgn)cucucaCfaAfcuggcsusu	962	AAGCCAGUUGUGAGAGAUGCU	1007
AD-561101.1	uscscaugAfaUfAfUfcuaccuggcuuL96	918	asAfsccag(Ggn)uagauaUfuCfauggasgsc	963	GCUCCAUGAAUAUCUACCUGGUG	1008
AD-561539.1	gsusguuuAfaAfGfUfcaaggauauuL96	919	asAfsuauc(Cgn)uugacuUfuAfaacacsasu	964	AUGUGUUUAAAGUCAAGGAUAUG	1009
AD-561961.1	asgsgaugUfcAfAfAfgcucuguuuuL96	920	asAfsaaca(Ggn)agcuuuGfaCfaucctsusc	965	GAAGGAUGUCAAAGCUCUGUUUG	1010
AD-561535.1	uscsauguGfuUfUfUfAfaagucaaggcuL96	921	asCfscuug(Agn)cuuuaaAfcAfcaugasusg	966	CAUCAUGUGUUUAAAGUCAAGGA	1011
AD-561652.1	asasgccaAfgAfUfCfucagucacuuL96	922	asAfsguga(Cgn)ugagauCfuUfggcuusgsc	967	GCAAGCCAAGAUCUCAGUCACUC	1012
AD-562260.1	uscsaaagAfuGfAfGfgauuuggeguuL96	923	asAfsccca(Agn)aucccucAfuCfuuugasgsc	968	GCUCAAAGAUGAGGAUUUGGGUU	1013
AD-557041.2	usgsgugcUfaGfAfUfggaucagacuL96	244	asGfsucug(Agn)uccaucUfaGfcaccasgsg	330	CCUGGUGCUAGAUGGAUCAGACA	416
AD-561655.1	cscsaagaUfcUfCfAfgucacucgcuL96	924	asGfscgag(Tgn)gacugaGfaUfcuuggcscsu	969	AGCCAAGAUCUCAGUCACUCGCC	1014
AD-557043.1	gsusgcuaGfaUfGfGfaucagacaguL96	925	asCfsuguc(Tgn)gauccaUfcUfagcacscsa	970	UGGUGCUAGAUGGAUCAGACAGC	1015
AD-561603.1	csasaaucUfcUfGfAfgucucugcuuL96	926	asCfsacag(Agn)gacucaGfaGfauuugsgsu	971	ACCAAAUCUCUGAGUCUCUGUGG	1016
AD-557044.1	usgscuagAfuGfGfAfucagacagcuL96	927	asGfscugu(Cgn)ugauccAfuCfuagcascsc	972	GGUGCUAGAUGGAUCAGACAGCA	1017
AD-561266.1	gsasccacAfaGfCfUfgaagucaggeuL96	928	asCfscuga(Cgn)uucageUfuGfuggucsusu	973	AAGACCACAAGCUGAAGUCAGGG	1018
AD-561541.1	gsusuuaaAfgUfCfAfaggauauggcuL96	929	asCfscaua(Tgn)ccuugaCfuUfuaaacsasc	974	GUGUUUAAAGUCAAGGAUAUGGA	1019
AD-562257.1	asgscucaAfaGfaUfUfgaggauuugcuL96	930	asCfsaaau(Cgn)cucauuUfuUfgagcususg	975	CAAGCUCAAAGAUGAGGAUUUGG	1020
AD-560538.1	gsasgggaGfuAfGfAfgaucaaaggcuL96	931	asCfscuuu(Ggn)aucucuAfcUfcccucscsa	976	UGGAGGGAGUAGAGAUCAAAGGC	1021

[0861]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-561579.1	uscsuaccAfaAfUfGfauugaugaauL96	932	asUfsucau(Cgn)aaucauUfuGfguagasasa	977	UUUCUACCAAAUGAUUGAUGAAA	1022
AD-562259.1	csuscaaaGfaUfGfAfggauuugguL96	933	asCfsccaa(Agn)uccucaUfcUfuugagscsu	978	AGCUCAAAGAUGAGGAUUUGGGU	1023
AD-560968.1	csusgccaAfgAfUfUfccuucauguuL96	934	asAfscaug(Agn)aggaauCfuUfggcagsgsa	979	UCCUGCCAAGAUUCCUUCAUGUA	1024
AD-561647.1	asusggcaAfgCfCfAfagauecucaguL96	935	asCfsugag(Agn)ucuuggCfuUfgccausgsg	980	CCAUGGCAAGCCAAGAUCUCAGU	1025
AD-561469.1	cscsuggaUfgUfGfUfauguuuuguL96	936	asCfsaaac(Agn)cauacaCfaUfccaggsusa	981	UACCUGGAUGUGUAUGUUUUGG	1026
AD-561540.1	usgsuuuaAfaGfUfCfaaggauauguL96	937	asCfsauau(Cgn)cuugacUfuUfaaacascsa	982	UGUGUUUAAAGUCAAGGAUAUGG	1027
AD-562135.1	gscscgcuUfcAfUfUfcaaguuggguuL96	938	asAfsccaa(Cgn)uugaauGfaAfgcggcsusu	983	AAGCCGCUUCAUUCAAGUUGGUG	1028

[0862] 表8.Hep3B细胞中的补体因子B的体外单剂量筛选

[0863]

双链体ID	10 nM 剩余信息百分比	1nM 剩余信息百分比	0.1 nM 剩余信息百分比
AD-557072.1	4.99	8.87	40.99
AD-558097.1	5.00	11.75	45.33
AD-557068.1	9.00	22.78	53.22
AD-557774.1	6.55	17.23	52.48
AD-557070.1	7.33	21.06	54.78
AD-558225.1	19.10	29.43	106.87
AD-558065.1	12.21	24.28	61.24
AD-557853.1	9.39	35.28	55.01
AD-556919.1	20.01	27.64	138.66
AD-557859.1	13.46	25.92	104.56
AD-557069.1	11.26	29.35	54.36
AD-558068.1	14.59	21.63	48.67
AD-557422.1	14.87	27.15	55.45
AD-558096.1	10.81	26.65	76.39
AD-557084.1	28.07	54.88	138.96
AD-558076.1	13.06	24.15	42.77
AD-558063.1	20.24	28.87	54.49
AD-558069.1	17.70	27.78	53.41
AD-558061.1	19.59	36.04	48.88
AD-558066.1	23.98	44.12	51.72
AD-556581.1	22.46	67.53	186.97
AD-557079.1	9.97	41.07	71.40
AD-558012.1	17.26	35.39	112.72
AD-556701.1	9.91	23.66	62.85
AD-557782.1	13.23	45.66	53.87
AD-557498.1	28.16	56.57	131.91
AD-556788.1	33.88	58.98	118.02
AD-557078.1	18.18	50.25	80.91
AD-557852.1	40.94	60.36	167.53
AD-557353.1	23.37	44.41	62.52
AD-557041.1	26.00	87.78	110.85
AD-556786.1	51.74	66.59	90.96
AD-556734.1	29.10	54.88	70.13
AD-557475.1	26.95	50.54	65.87
AD-557972.1	63.07	77.45	71.99
AD-556390.1	31.40	46.72	72.19
AD-556963.1	42.99	68.75	146.93
AD-558078.1	30.67	83.78	62.14
AD-557204.1	40.18	69.41	199.62
AD-556962.1	67.05	92.06	80.95

[0864]

双链体ID	10 nM 剩余信息百分比	1nM 剩余信息百分比	0.1 nM 剩余信息百分比
AD-556733.1	34.07	61.86	62.03
AD-556724.1	43.85	114.37	225.16
AD-557067.1	42.27	59.20	67.56
AD-557602.1	39.99	70.66	155.25
AD-557345.1	45.66	91.09	186.86
AD-557969.1	70.94	72.23	72.25
AD-557867.1	43.92	108.43	178.41
AD-557860.1	49.94	63.71	134.13
AD-557868.1	52.22	99.81	112.51
AD-558064.1	61.63	72.39	59.83
AD-556725.1	45.46	62.37	68.67
AD-556787.1	58.40	102.98	163.60
AD-558062.1	55.53	70.65	156.02
AD-556874.1	83.34	90.67	62.04
AD-557066.1	75.61	93.55	168.75
AD-556791.1	64.56	74.17	75.36
AD-557450.1	56.23	68.84	77.40
AD-557865.1	66.83	94.99	153.50
AD-556961.1	69.87	93.70	206.00
AD-556920.1	52.86	81.48	188.46
AD-558074.1	74.73	132.35	71.18
AD-556738.1	72.67	123.81	206.91
AD-558004.1	100.55	103.41	190.48
AD-556918.1	85.53	97.13	199.73
AD-557209.1	84.13	96.02	140.72
AD-557861.1	66.07	84.41	120.27
AD-557226.1	83.39	94.85	123.74
AD-557856.1	84.68	85.69	137.01
AD-557839.1	114.79	91.84	69.49
AD-557873.1	84.73	102.93	65.71
AD-557417.1	88.08	115.91	225.81
AD-558106.1	95.90	110.10	217.75
AD-557788.1	87.87	109.59	129.42
AD-556917.1	79.04	71.81	78.26
AD-556739.1	87.37	115.81	70.32
AD-556726.1	96.01	129.96	221.48
AD-556790.1	109.55	118.05	193.15
AD-557604.1	74.95	133.00	177.11
AD-557495.1	96.32	130.00	254.48
AD-557016.1	106.90	131.43	110.73
AD-558105.1	77.28	73.82	85.07
AD-557872.1	102.16	123.17	172.64

[0865]

双链体ID	10 nM 剩余信息百分比	1nM 剩余信息百分比	0.1 nM 剩余信息百分比
AD-557346.1	113.18	138.10	228.78
AD-557851.1	107.51	138.22	178.85
AD-557786.1	117.86	149.34	168.00
AD-557857.1	118.52	127.67	145.90

[0866] 表9.Hep3B细胞中的补体因子B的体外单剂量筛选

[0867]

双链体ID	10 nM 剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-558657.1	4.81	0.55	6.98	1.27	24.75	5.46
AD-559020.1	5.18	0.75	7.21	1.31	17.95	3.88
AD-559023.1	7.71	0.93	9.85	2.87	32.65	5.12
AD-558860.1	8.35	1.69	14.34	1.97	33.70	7.41
AD-559143.1	8.57	1.09	11.19	1.02	28.52	7.22
AD-559021.1	8.65	3.21	13.97	4.56	42.99	5.93
AD-559144.1	9.25	0.94	16.75	3.32	33.52	2.97
AD-559435.1	10.47	0.85	13.57	1.00	38.94	5.33
AD-560019.1	10.57	0.67	12.96	1.19	17.67	1.23
AD-559722.1	11.24	1.35	19.04	1.63	42.16	2.85
AD-560016.1	11.42	1.30	17.54	2.39	28.72	3.63
AD-559008.1	11.51	3.34	17.60	0.78	45.58	15.60
AD-560018.1	11.76	1.89	16.87	2.51	28.83	4.60
AD-560045.1	12.13	1.71	28.22	11.60	53.32	14.16
AD-559375.1	12.45	1.28	21.86	1.78	61.75	7.34
AD-559142.1	13.01	2.52	20.98	3.88	43.82	6.89
AD-559160.1	13.06	3.15	19.02	1.35	47.19	7.99
AD-559374.1	13.17	3.28	27.58	5.37	72.78	11.80
AD-559369.1	13.75	0.79	25.72	0.58	62.74	6.62
AD-559148.1	13.81	1.72	25.39	1.60	53.03	5.36
AD-560163.1	14.11	0.87	20.31	1.31	49.05	4.99
AD-559398.1	14.23	3.97	18.11	2.34	46.53	6.07
AD-559060.1	14.39	3.41	32.15	3.07	62.25	5.65
AD-559392.1	14.69	3.59	21.68	2.40	55.88	8.59
AD-559451.1	14.84	3.18	25.50	3.19	43.71	5.05
AD-559721.1	15.23	3.73	23.03	3.34	51.33	10.51
AD-559146.1	15.26	5.05	28.14	1.99	71.88	8.41
AD-560165.1	15.74	2.70	25.08	2.14	65.45	14.31
AD-559921.1	15.99	1.86	19.91	4.59	38.78	9.90
AD-560021.1	16.02	3.62	37.73	4.08	58.59	3.73
AD-560164.1	16.23	2.00	22.73	3.67	63.13	4.12
AD-559614.1	16.27	4.70	31.75	4.73	49.34	6.16

[0868]

双链体ID	10 nM 剂量剩余信息百分比	STDEV	1 nM 剂量剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM 剂量剩余信息百分比	STDEV
AD-559393.1	16.46	3.99	31.63	4.04	61.56	10.13
AD-559717.1	16.68	1.69	20.78	3.33	42.46	10.02
AD-560017.1	16.71	2.32	28.04	3.35	57.72	16.22
AD-559440.1	16.90	1.64	27.94	4.84	50.75	9.54
AD-560166.1	17.02	4.84	20.01	3.95	58.88	13.01
AD-559059.1	17.61	5.82	33.74	3.87	59.15	7.45
AD-559300.1	17.90	5.18	34.67	2.86	67.79	6.31
AD-559946.1	18.11	1.61	36.74	5.04	62.70	7.20
AD-559147.1	18.33	2.11	47.39	7.94	85.39	10.23
AD-559755.1	19.99	5.12	26.88	2.30	52.33	10.49
AD-559446.1	20.58	2.25	30.84	7.47	64.13	7.62
AD-559026.1	21.11	2.49	41.40	14.50	65.91	11.08
AD-559714.1	22.71	0.91	32.56	2.47	69.69	6.49
AD-560160.1	22.85	5.07	28.30	2.24	65.27	9.41
AD-559437.1	25.76	4.50	44.87	12.58	78.13	8.91
AD-560162.1	25.95	4.26	43.29	5.64	71.14	20.99
AD-560161.1	26.34	3.19	38.91	4.83	68.19	5.53
AD-559924.1	26.34	8.91	36.46	3.90	57.07	6.32
AD-559865.1	27.49	2.47	47.05	6.32	75.04	14.94
AD-559449.1	28.57	3.20	54.33	4.83	70.39	14.64
AD-559788.1	28.70	6.51	62.57	7.45	79.25	8.07
AD-559617.1	29.43	9.48	67.18	6.78	88.54	10.81
AD-559719.1	30.38	3.11	55.82	5.69	83.18	12.99
AD-559718.1	32.51	3.42	57.77	8.99	82.88	18.79
AD-558697.1	32.69	5.66	44.32	3.45	58.56	7.73
AD-559357.1	33.33	3.84	33.06	4.91	59.41	16.08
AD-558965.1	35.13	2.66	34.85	11.29	51.66	15.94
AD-558267.1	37.43	7.93	35.43	6.56	40.76	7.84
AD-558639.1	37.99	5.49	46.82	7.78	44.37	7.45
AD-559925.1	39.15	17.96	74.82	7.86	75.18	4.17
AD-559450.1	40.47	6.34	63.09	4.35	53.12	12.34
AD-559302.1	41.61	5.63	59.86	3.32	79.54	9.58
AD-559074.1	41.79	3.21	57.94	3.73	62.36	5.75
AD-559947.1	43.30	2.71	66.78	11.57	73.55	7.33
AD-559442.1	47.58	8.47	69.78	10.91	92.36	7.58
AD-559359.1	48.10	2.37	86.83	11.09	102.01	6.31
AD-559616.1	50.68	6.63	93.13	11.78	88.54	12.26
AD-559864.1	63.01	11.07	91.70	12.15	89.75	13.66
AD-559866.1	85.15	11.86	94.33	6.79	79.14	12.77

[0869] 表10.原代小鼠肝细胞(PMH)中的补体因子B的体外单剂量筛选

[0870]

双链体ID	10 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-558860.1	10.33	2.38	40.10	5.03	94.64	11.07
AD-560018.1	13.28	3.25	64.35	11.23	114.97	8.99
AD-560019.1	18.44	3.65	75.46	18.65	118.42	14.85
AD-559160.1	19.42	3.01	47.55	4.18	125.03	7.48
AD-559921.1	20.12	3.89	67.51	6.36	123.87	9.76
AD-559755.1	20.65	5.45	77.24	11.02	117.00	9.54
AD-560017.1	22.11	5.43	82.72	11.41	123.23	4.98
AD-559614.1	23.18	7.36	67.15	7.61	123.18	19.54
AD-559435.1	25.13	3.68	66.19	8.46	118.78	11.85
AD-560016.1	25.40	5.70	91.81	22.08	128.76	16.87
AD-559451.1	27.47	9.44	71.89	12.25	137.27	20.14
AD-559617.1	29.70	10.00	84.66	4.39	140.37	6.69
AD-560021.1	32.74	4.65	91.51	4.21	126.40	12.31
AD-559449.1	37.90	5.63	82.95	9.33	130.52	19.04
AD-559450.1	38.55	8.96	87.87	22.39	129.90	7.64
AD-559925.1	38.62	3.39	90.35	10.90	104.75	5.55
AD-559440.1	39.15	5.87	82.63	10.21	124.84	7.74
AD-559788.1	42.67	7.18	114.25	12.73	138.37	4.54
AD-559437.1	45.26	10.40	94.10	7.91	130.12	11.84
AD-559369.1	47.64	10.56	83.98	9.74	136.96	5.52
AD-559446.1	49.32	10.27	104.76	13.05	141.33	23.45
AD-559924.1	56.47	10.68	101.50	14.50	131.17	5.61
AD-558965.1	58.30	14.89	94.61	10.27	109.17	5.25
AD-560045.1	68.96	6.99	94.93	5.17	98.24	5.15
AD-559946.1	74.67	7.51	116.30	7.12	108.08	6.00
AD-558697.1	79.21	8.58	103.00	11.53	141.24	23.63
AD-559008.1	79.41	8.78	103.11	8.12	103.48	5.21
AD-559357.1	81.03	4.45	95.92	5.13	110.83	8.24
AD-559020.1	82.26	11.63	98.50	12.69	102.20	4.21
AD-559143.1	82.37	15.28	97.44	5.47	104.94	5.93
AD-559374.1	85.24	7.46	89.59	3.03	130.94	10.46
AD-560161.1	85.46	17.44	91.49	7.11	106.52	4.01
AD-559947.1	86.06	13.19	115.94	7.06	118.65	5.89
AD-559616.1	86.75	7.61	115.52	9.47	134.57	3.86
AD-559142.1	87.22	10.07	88.47	5.77	96.92	5.92
AD-558639.1	87.64	13.26	99.95	4.27	122.33	12.04
AD-560166.1	88.71	22.04	104.01	13.19	97.42	5.90
AD-559359.1	89.05	14.80	104.69	7.55	123.70	6.43
AD-558657.1	89.59	11.42	95.66	6.61	109.56	9.31

[0871]

双链体ID	10 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-559442.1	90.05	26.12	107.09	17.30	152.65	17.71
AD-559023.1	93.44	12.18	96.28	8.79	116.18	4.76
AD-560160.1	93.98	12.77	106.07	14.37	96.30	1.99
AD-559398.1	94.15	14.19	89.68	5.33	141.12	7.36
AD-559722.1	94.20	7.15	114.34	13.25	128.86	17.84
AD-559146.1	94.84	7.07	94.68	6.79	150.36	18.96
AD-558267.1	96.73	10.58	101.69	8.01	107.42	7.77
AD-559074.1	99.75	10.40	91.77	6.74	132.38	20.72
AD-560162.1	100.49	17.85	98.34	9.70	99.71	7.13
AD-559021.1	102.22	20.82	100.57	9.81	143.53	24.85
AD-559144.1	105.28	4.70	98.16	9.44	149.08	20.99
AD-559147.1	106.45	27.57	89.01	4.30	147.67	22.58
AD-560164.1	106.73	13.72	97.25	8.25	103.76	7.45
AD-559714.1	107.80	24.01	130.26	16.11	139.71	8.34
AD-560165.1	108.93	14.81	100.31	4.51	95.90	5.35
AD-559300.1	111.25	11.78	90.58	4.56	134.36	10.29
AD-559866.1	112.76	7.74	123.50	10.25	143.37	8.58
AD-559302.1	113.89	12.96	90.69	3.34	112.12	19.35
AD-560163.1	114.10	15.54	92.44	9.83	107.52	5.99
AD-559718.1	114.19	9.34	139.34	10.12	143.95	10.17
AD-559721.1	115.30	17.06	116.42	5.04	143.90	13.34
AD-559026.1	115.85	15.27	95.64	12.87	132.32	13.74
AD-559719.1	116.22	12.55	130.31	6.06	150.76	26.42
AD-559060.1	117.05	20.30	95.06	4.36	141.26	25.56
AD-559864.1	118.44	9.57	134.91	10.92	143.92	22.59
AD-559059.1	120.63	14.40	94.88	3.85	154.23	9.79
AD-559865.1	123.03	9.71	134.45	14.17	142.24	10.43
AD-559148.1	123.28	10.25	91.36	4.38	156.95	14.94
AD-559375.1	125.42	7.77	96.09	8.53	148.89	19.81
AD-559393.1	126.82	14.36	97.97	6.13	142.67	16.86
AD-559717.1	131.20	6.00	131.80	6.57	148.89	12.67
AD-559392.1	134.26	21.19	96.35	2.77	130.60	8.29

[0872] 表11.原代小鼠肝细胞(PMH)中的补体因子B的体外单剂量筛选

[0873]

双链体ID	10 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-560969.1	1.76	0.44	12.85	2.32	72.08	7.11
AD-561537.1	1.97	0.30	13.11	1.38	57.66	1.85

[0874]

双链体ID	10 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-562262.1	2.07	0.40	14.20	2.60	54.79	3.33
AD-561960.1	2.82	0.45	15.86	1.84	76.74	10.88
AD-561580.1	2.88	1.59	18.55	1.98	69.39	11.71
AD-561254.1	2.89	0.86	15.62	4.05	61.84	5.51
AD-561578.1	2.95	0.42	25.93	1.50	76.75	7.73
AD-561538.1	3.50	0.97	4.45	1.11	31.69	5.04
AD-561252.1	3.60	1.65	16.00	2.58	59.33	6.64
AD-561963.1	3.62	0.30	29.50	8.22	81.62	4.93
AD-562027.1	3.89	0.78	23.89	5.04	70.54	7.81
AD-561653.1	4.01	0.74	23.82	3.53	80.62	7.07
AD-562137.1	4.14	1.55	24.06	11.00	69.61	6.62
AD-561536.1	4.21	1.10	29.07	5.79	80.38	5.28
AD-561253.1	5.04	1.15	27.31	6.10	68.27	12.61
AD-561959.1	5.17	1.81	50.97	13.35	90.71	8.16
AD-561573.1	5.38	0.27	33.50	11.42	91.06	13.14
AD-561651.1	6.36	1.01	49.06	2.79	92.69	9.37
AD-561148.1	6.36	0.87	38.00	1.38	89.30	12.00
AD-561962.1	7.16	1.19	36.21	6.11	91.19	5.39
AD-562237.1	8.80	2.07	53.16	6.31	86.16	11.24
AD-561654.1	9.91	1.61	55.56	7.65	101.67	5.04
AD-562136.1	10.27	0.81	62.46	9.28	97.86	7.44
AD-562026.1	11.34	1.47	60.69	2.81	89.22	3.89
AD-561101.1	11.78	2.75	62.67	4.18	84.92	9.50
AD-561539.1	12.00	1.31	53.65	10.81	84.80	12.57
AD-561961.1	14.01	2.50	58.58	7.03	101.01	6.13
AD-561535.1	14.27	3.13	70.96	10.08	103.90	12.70
AD-561652.1	16.40	3.40	64.57	7.97	96.09	9.38
AD-562260.1	19.73	4.82	77.55	5.09	91.07	8.78
AD-557041.2	25.76	5.84	50.26	6.69	93.59	0.72
AD-561655.1	26.16	3.41	80.98	7.80	102.69	10.61
AD-557043.1	27.03	3.02	69.48	3.50	95.16	3.84
AD-561603.1	31.99	4.57	78.55	6.25	86.39	7.35
AD-557044.1	38.05	3.97	53.45	3.97	90.84	7.63
AD-561266.1	38.64	2.80	79.00	6.75	89.14	5.01
AD-561541.1	45.60	6.83	92.73	1.82	107.60	8.31
AD-562257.1	52.27	2.66	93.01	8.78	100.58	4.10
AD-560538.1	57.85	5.71	92.26	2.62	102.77	6.06
AD-561579.1	65.71	10.54	91.74	8.83	101.05	6.91
AD-562259.1	66.28	3.34	91.38	7.85	96.23	5.92
AD-560968.1	73.08	6.97	87.16	9.40	100.89	2.47
AD-561647.1	74.09	6.95	96.10	5.34	103.62	8.94

[0875]

双链体ID	10 nM剂量剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量剩余信息百分比	STDEV
AD-561469.1	78.98	10.38	91.17	7.11	102.25	6.72
AD-561540.1	84.14	6.35	95.72	4.13	104.96	9.90
AD-562135.1	87.86	10.90	102.43	11.38	102.47	11.43

[0876] 表12.Hep3B细胞中的补体因子B的体外单剂量筛选

[0877]

双链体ID	10 nM剂量剩余信息百分比	STDEV	1 nM剂量剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM剂量剩余信息百分比	STDEV
AD-560969.1	29.34	1.71	71.22	4.40	88.98	14.10
AD-561537.1	86.96	7.93	84.92	6.56	97.67	11.01
AD-562262.1	19.99	1.52	43.30	9.67	77.20	2.33
AD-561960.1	101.89	7.12	93.06	6.78	86.95	11.28
AD-561580.1	77.04	4.88	72.79	13.33	99.51	7.87
AD-561254.1	47.27	3.23	59.31	9.89	80.05	5.60
AD-561578.1	17.62	1.52	54.39	5.50	86.17	9.50
AD-561538.1	14.90	6.97	24.45	3.87	42.19	9.11
AD-561252.1	93.27	11.00	96.17	6.74	78.24	13.72
AD-561963.1	40.07	4.40	63.17	10.68	84.66	8.57
AD-562027.1	77.41	4.07	84.74	1.64	95.86	11.49
AD-561653.1	44.48	8.74	68.46	11.39	101.86	10.10
AD-562137.1	12.14	2.49	35.01	5.57	63.19	12.92
AD-561536.1	81.78	6.45	107.20	6.41	72.90	5.20
AD-561253.1	83.43	9.54	84.78	15.70	70.37	8.01
AD-561959.1	78.06	6.19	70.68	2.99	89.62	9.10
AD-561573.1	62.25	8.08	74.47	7.81	69.74	13.65
AD-561651.1	65.86	6.99	94.78	14.92	86.37	10.00
AD-561148.1	85.70	6.64	93.17	12.36	96.96	10.73
AD-561962.1	73.24	4.15	104.85	7.06	105.02	11.38
AD-562237.1	35.58	3.42	62.94	2.85	82.87	12.89
AD-561654.1	68.27	6.59	84.86	8.20	88.86	16.82
AD-562136.1	43.50	5.85	96.79	6.07	97.96	8.53
AD-562026.1	78.57	11.58	92.78	9.79	100.53	12.79
AD-561101.1	80.42	8.87	88.94	8.58	78.42	5.79
AD-561539.1	73.75	9.48	70.46	13.02	81.45	11.45
AD-561961.1	93.29	14.09	102.04	3.89	82.92	14.39
AD-561535.1	90.31	7.87	100.89	9.09	89.58	10.53
AD-561652.1	99.83	14.12	86.03	11.59	99.32	15.07
AD-562260.1	72.75	4.48	93.46	5.11	91.71	18.08
AD-557041.2	18.62	0.85	50.98	12.96	78.19	10.26
AD-561655.1	81.07	2.83	92.73	6.74	73.97	11.80

[0878]

双链体ID	10 nM 剂量 剩余信息百分比	STDEV	1 nM 剂量 剩余信息百分比	STDEV	0.1 nM 剂量 剩余信息百分比	STDEV
AD-557043.1	28.86	4.75	81.11	7.28	91.72	10.13
AD-561603.1	46.27	14.44	99.22	11.97	86.19	7.73
AD-557044.1	23.45	2.59	74.62	9.75	79.77	7.73
AD-561266.1	105.79	5.46	95.99	11.36	99.59	2.26
AD-561541.1	100.77	11.65	98.43	4.85	93.30	4.25
AD-562257.1	101.31	9.81	97.55	15.36	95.26	7.79
AD-560538.1	103.91	11.00	104.39	8.70	86.71	20.47
AD-561579.1	87.65	10.59	80.92	11.54	83.54	7.48
AD-562259.1	86.75	12.13	98.75	19.03	90.33	10.56
AD-560968.1	94.61	7.70	107.14	4.84	88.97	10.45
AD-561647.1	99.94	9.55	110.74	11.11	98.97	13.25
AD-561469.1	84.71	4.50	88.17	6.08	82.50	8.92
AD-561540.1	84.25	4.08	88.70	14.19	110.80	11.10
AD-562135.1	89.38	4.70	95.02	2.81	98.61	12.79

[0879] 实施例3.小鼠中的dsRNA双链体的体内筛选

[0880] 对从上述体外研究中鉴定出的感兴趣的双链体进行了体内评估。

[0881] 具体而言，在第14天，通过静脉内尾静脉注射向6-8周龄的野生型小鼠(C57BL/6)施用100ml的编码人补体因子B的腺相关病毒8(AAV8)载体(hCFB AAV)的2×10^{11}个病毒颗粒/ml溶液。

[0882] 在第0天，对小鼠皮下施用单次2mg/kg剂量的感兴趣的双链体或PBS对照(n＝3/组)。表13提供了施用给小鼠的双链体。

[0883] 在给药后第0、7和14天，收集血液并制备成血浆以用于ELISA分析。在给药后第14天，处死动物，收集肝脏样本并在液氮中速冻，并提取组织mRNA。

[0884] 通过定量夹心酶免疫分析法(AssayMax™，人补体因子B ELISA试剂盒)测定人CFB蛋白水平。表14显示了在用单剂量的靶向hCFB的siRNA(2mg/kg)处理后，人CFB的蛋白质水平降低。

[0885] 如上所述，通过RT-QPCR测量人CFB的表达水平。将人CFB mRNA水平与管家基因GAPDH的mRNA水平进行比较。然后将这些值归一化为PBS载剂对照组的平均值。将数据表示为相对于基线值的百分比，并呈现为平均值加上标准偏差。如表15所示，在用单剂量的靶向hCFB的siRNA(2mg/kg)处理后，人CFB mRNA水平降低。

[0886] 表13.用于体内筛选的dsRNA双链体

[0887]

双链体ID	Oligo ID	链	序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_001710.5 中的范围
AD-558657.2	A-1072067.1	有义	gsusgaguGfaUfGfAfgaucucuuuuL96	629	643-665
	A-1075535.1	反义	asAfsaagAfgAfUfcucaUfcAfcucacsasu	700	
AD-559020.2	A-1072793.1	有义	asasaaguGfuCfUfAfgucaacuuauL96	619	1145-1167
	A-1075898.1	反义	asUfsaagUfuGfAfcuagAfcAfcuuuususg	690	
AD-559023.2	A-1072799.1	有义	asgsugucUfaGfUfCfaacuuaauuuL96	631	1148-1170
	A-1075901.1	反义	asAfsauuAfaGfUfugacUfaGfacacususu	702	
AD-558860.2	A-1072473.1	有义	usgsccaaGfaCfUfCfcuucauguauL96	591	928-950
	A-1075738.1	反义	asUfsacaUfgAfAfggagUfcUfuggcasgsg	662	
AD-560019.2	A-1074791.1	有义	asgsagaaGfuCfGfUfuucauucaauL96	593	2396-2418
	A-1076897.1	反义	asUfsugaAfuGfAfaacgAfcUfucucususg	664	
AD-560016.2	A-1074785.1	有义	ascsaagaGfaAfGfUfcguuucauuuL96	600	2393-2415
	A-1076894.1	反义	asAfsaugAfaAfCfgacuUfcUfcuugusgsa	671	
AD-559008.2	A-1072769.1	有义	uscsacagGfaGfCfCfaaaaaguguuL96	617	1133-1155
	A-1075886.1	反义	asAfscacUfuUfUfuggcUfcCfugugasasg	688	
AD-559717.2	A-1074187.1	有义	csasggaaUfuCfCfUfgaauuuuauuL96	660	1976-1998
	A-1076595.1	反义	asAfsuaaAfaUfUfcaggAfaUfuccugscsu	731	
AD-557072.2	A-1072789.1	有义	csasaaaaGfuGfUfCfuagucaacuuL96	191	1143-1165
	A-1072790.1	反义	asAfsguug(Agn)cuagacAfcUfuuuugsgsc	277	
AD-558097.2	A-1074839.1	有义	usasguggAfuGfUfCfugcaaaaacuL96	192	2438-2460
	A-1074840.1	反义	asGfsuuuu(Tgn)gcagacAfuCfcacuascsu	278	
AD-557774.2	A-1074193.1	有义	gsasauucCfuGfAfAfuuuuaugacuL96	193	1979-2001
	A-1074194.1	反义	asGfsucau(Agn)aaauucAfgGfaauucscsu	279	
AD-557070.2	A-1072785.1	有义	gscscaaaAfaGfUfGfucuagucaauL96	194	1141-1163
	A-1072786.1	反义	asUfsugac(Tgn)agacacUfuUfuuggcsusc	280	
AD-558065.2	A-1074775.1	有义	asgsuucaCfaAfGfAfgaagucguuuL96	199	2388-2410
	A-1074776.1	反义	asAfsacga(Cgn)uucucuUfgUfgaacusasu	285	
AD-557853.2	A-1074351.1	有义	asgsggaaCfaAfCfUfcgagcuuuguL96	208	2078-2100
	A-1074352.1	反义	asCfsaaag(Cgn)ucgaguUfgUfucccuscsg	294	
AD-557079.2	A-1072803.1	有义	usgsucuaGfuCfAfAfcuuaauugauL96	211	1150-1172
	A-1072804.1	反义	asUfscaau(Tgn)aaguugAfcUfagacascsu	297	

[0888] 表14.人CFB siRNA的体内筛选

[0889]

	ELISA 结果 D7		ELISA 结果 D14	
	Avg hCFB 蛋白剩余	SD	Avg hCFB 蛋白剩余	SD
PBS	110.13	22.47	104.31	17.38
未经处理的	96.75	21.00	92.31	6.54
AD-558657.2	29.32	8.38	24.76	5.08
AD-559020.2	24.26	4.07	25.05	1.22
AD-559023.2	28.56	7.34	26.35	3.44
AD-558860.2	52.69	4.25	50.31	17.27
AD-560019.2	26.68	8.43	20.07	6.59
AD-560016.2	44.06	2.59	45.94	2.69
AD-559008.2	46.07	6.47	34.55	5.26
AD-559717.2	57.72	11.41	51.14	13.28
AD-557072.2	34.29	8.88	22.19	6.45

[0890]

	ELISA 结果 D7		ELISA 结果 D14	
	Avg hCFB 蛋白剩余	SD	Avg hCFB 蛋白剩余	SD
AD-558097.2	31.01	9.59	29.55	10.60
AD-557774.2	70.26	6.03	64.26	12.89
AD-557070.2	91.58	21.23	71.11	18.76
AD-558065.2	120.96	14.77	82.66	44.55
AD-557853.2	94.22	24.50	81.47	18.23
AD-557079.2	101.05	17.40	97.09	15.44

[0891] 表15.人CFB siRNA的体内筛选

[0892]

qPCR 结果 D14		
	信息剩余百分比	SD
PBS	100.19	7.12
未经处理的	88.59	6.21
AD-558657.2	37.82	11.34
AD-559020.2	56.19	2.64
AD-559023.2	37.50	3.28
AD-558860.2	65.89	10.68
AD-560019.2	22.01	1.70
AD-560016.2	68.31	5.22
AD-559008.2	53.91	12.03
AD-559717.2	63.13	7.55
AD-557072.2	39.39	1.21
AD-558097.2	43.35	11.63
AD-557774.2	81.10	4.79
AD-557070.2	83.09	13.83
AD-558065.2	86.18	9.28
AD-557853.2	84.42	6.60
AD-557079.2	98.00	15.34

[0893] 实施例4.小鼠中的dsRNA双链体的体内筛选

[0894] 对从上述体外研究中鉴定出的感兴趣的双链体进行了体内评估。

[0895] 具体而言,在第14天,通过静脉内尾静脉注射向6-8周龄的野生型小鼠(C57BL/6)施用100ml的编码人补体因子B的腺相关病毒8(AAV8)载体(hCFB AAV)的2×10^{11}个病毒颗粒/ml溶液。

[0896] 在第0天,对小鼠皮下施用单次2mg/kg剂量的感兴趣的双链体或PBS对照(n=3/组)。表16提供了施用给小鼠的双链体。

[0897] 在给药后第0、7和14天,收集血液并制备成血浆以用于ELISA分析。在给药后第14天,处死动物,收集肝脏样本并在液氮中速冻,并提取组织mRNA。

[0898] 通过定量夹心酶免疫分析法(AssayMax™,人补体因子BELISA试剂盒)测定人CFB蛋白水平。表17显示了在用单剂量的靶向hCFB的siRNA(2mg/kg)处理后,人CFB的蛋白质水平降低。

[0899] 如上所述,通过RT-QPCR测量人CFB的表达水平。将人CFB mRNA水平与管家基因GAPDH的mRNA水平进行比较。然后将这些值归一化为PBS载剂对照组的平均值。将数据表示

为相对于基线值的百分比，并呈现为平均值加上标准偏差。如表18所示，在用单剂量的靶向hCFB的siRNA(2mg/kg)处理后，人CFB mRNA水平降低。

[0900] 表16.用于体内筛选的dsRNA双链体

[0901]

双链体ID	OligoID	链	序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_001710.5中的范围
AD-560018.2	A-1074789.1	有义	asasgagaAfgUfCfGfuuucauucauL96	592	2395-2417
	A-1076896.1	反义	asUfsgaaUfgAfAfacgaCfuUfcucuusgsu	663	
AD-559375.2	A-1073503.1	有义	asuscuggAfuGfUfCfuauguguuuuL96	658	1541-1563
	A-1076253.1	反义	asAfsaacAfcAfUfagacAfuCfcagausasa	729	
AD-559160.2	A-1073073.1	有义	usasugaaGfaCfCfAfcaaguugaauL96	594	1306-1328
	A-1076038.1	反义	asUfsucaAfcUfUfguggUfcUfucauasasu	665	
AD-559374.2	A-1073501.1	有义	usasucugGfaUfGfUfcuauguguuuL96	621	1540-1562
	A-1076252.1	反义	asAfsacaCfaUfAfgacaUfcCfagauasasu	692	
AD-559060.2	A-1072873.1	有义	usgsguguGfaAfGfCfcaagauauguL96	653	1185-1207
	A-1075938.1	反义	asCfsauaUfcUfUfggcuUfcAfcaccasusa	724	
AD-559721.2	A-1074195.1	有义	asasuuccUfgAfAfUfuuuaugacuuL96	650	1980-2002
	A-1076599.1	反义	asAfsgucAfuAfAfaauuCfaGfgaauuscsc	721	
AD-559026.2	A-1072805.1	有义	gsuscuagUfcAfAfCfuuaauugaguL96	651	1151-1173
	A-1075904.1	反义	asCfsucaAfuUfAfaguuGfaCfuagacsasc	722	
AD-558225.2	A-1075095.1	有义	usgsaauuAfaAfAfCfagcugcgacuL96	207	2602-2624
	A-1075096.1	反义	asGfsucgc(Agn)gcuguuUfuAfauucasasu	293	
AD-557069.2	A-1072783.1	有义	asgsccaaAfaAfGfUfgucuagucauL96	206	1140-1162
	A-1072784.1	反义	asUfsgacu(Agn)gacacuUfuUfuggcuscsc	292	
AD-558068.2	A-1074781.1	有义	uscsacaaGfaGfAfAfgucguuucauL96	195	2391-2413
	A-1074782.1	反义	asUfsgaaa(Cgn)gacuucUfcUfugugasasc	281	
AD-557422.2	A-1073489.1	有义	gsasggauUfaUfCfUfggaugucuauL96	202	1534-1556
	A-1073490.1	反义	asUfsagac(Agn)uccagaUfaAfuccucscsc	288	
AD-558063.2	A-1074771.1	有义	asusaguuCfaCfAfAfgagaagucguL96	205	2386-2408
	A-1074772.1	反义	asCfsgacu(Tgn)cucuugUfgAfacuausesa	291	
AD-558066.2	A-1074777.1	有义	gsusucacAfaGfAfGfaagucguuuuL96	212	2389-2411
	A-1074778.1	反义	asAfsaacg(Agn)cuucucUfuGfugaacsusa	298	
AD-556701.2	A-1072047.1	有义	csusacuaCfaAfUfGfugagugauguL96	197	633-655
	A-1072048.1	反义	asCfsauca(Cgn)ucacauUfgUfaguagsgsg	283	

[0902] 表17.人CFB siRNA的体内筛选

[0903]

	ELISA 结果 D7		ELISA 结果 D14	
	Avg hCFB 蛋白剩余	SD	Avg hCFB 蛋白剩余	SD
PBS	115.67	31.44	117.68	25.52
未经处理的	110.11	4.46	108.16	15.25
AD-560018.2	16.29	2.97	15.23	4.63
AD-559375.2	42.43	8.09	44.31	14.32
AD-559160.2	39.66	10.78	49.87	3.52
AD-559374.2	43.88	10.14	41.19	9.12
AD-559060.2	63.43	15.73	50.37	6.51
AD-559721.2	30.89	2.80	28.32	5.76
AD-559026.2	70.20	7.55	53.71	3.75
AD-558225.2	42.06	1.30	41.12	6.52
AD-557069.2	94.78	13.32	71.48	6.01
AD-558068.2	94.83	9.22	97.31	20.15
AD-557422.2	74.07	1.97	63.49	9.48
AD-558063.2	77.64	3.66	81.77	4.84
AD-558066.2	76.19	5.77	65.77	8.00
AD-556701.2	69.44	3.28	62.51	21.07

[0904] 表18.人CFB siRNA的体内筛选

[0905]

qPCR 结果 D14		
	信息剩余百分比	SD
PBS	100.4	9.3
未经处理的	77.4	13.2
AD-560018.2	20.0	1.7
AD-559375.2	66.4	10.1
AD-559160.2	60.4	6.4
AD-559374.2	38.3	12.3
AD-559060.2	67.7	4.4
AD-559721.2	38.6	7.2
AD-559026.2	69.5	22.8
AD-558225.2	58.7	12.7
AD-557069.2	74.2	20.7
AD-558068.2	56.4	18.2
AD-557422.2	92.5	10.5
AD-558063.2	91.9	26.6
AD-558066.2	62.3	8.2
AD-556701.2	58.4	3.2

[0906] 实施例5.另外的dsRNA双链体的设计和合成

[0907] 使用本领域已知的和上文实施例1中描述的方法设计、合成和退火另外的siRNA。

[0908] 另外的CFB的未修饰的有义链和反义链核苷酸序列的详细列表示于表19。CFB的经修饰的有义链和反义链核苷酸序列的详细列表示于表20。

[0909] 如上述实施例所述，在HepG2细胞中进行这些剂的体外单剂量筛选和体内单剂量筛选。简而言之，通过如下转染HepG2细胞：在96孔板的每一单孔中，将每孔5μl的Opti-MEM

加上0.25μl的Lipofectamine RNAiMax(Invitrogen,Carlsbad CA.cat#13778-150)加入5μl的每种siRNA双链体中。然后将混合物于室温孵育15分钟。随后,将含有约2×10^4个HepG2细胞的40μl的Eagle's Minimum Essential培养基(ATCC Cat#30-2003)加至siRNA混合物中。在RNA纯化之前,将细胞孵育24小时。在10nM进行单剂量实验。该分析重复四次。

[0910] 表21显示了在HepG2细胞中的对表19和表20中所列出的dsRNA剂的单剂量筛选结果。结果显示为平均的剩余信息百分比。

[0911]

表19. 补体因子B dsRNA剂的未修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_0017 10.5中的起始位点	NM_0017 10.5中的终止位点	区域	外显子
AD-558312	AAGGGAAUGUGACCAGGUCUU	1029	AAGACCUGGUCACAUUCCCUUCC	1121	153	175	5'UTR	1
AD-558336	CUGGAGUUUCAGCUUGGACAU	43	AUGUCCAAGCUGAAACUCCAGAC	129	177	199	5'UTR	1
AD-558361	CCAAGCAGACAAGCAAAGCAU	1030	AUGCUUUGCUUGUCUGCUUGGCU	1122	202	224	5'UTR	1
AD-558382	GCCAGGACACACCAUCCUGCU	1031	AGCAGGAUGGUGUGUCCUGGCUU	1123	223	245	5'UTR	1
AD-558389	CCAGCUUCUCUCCUGCCUUCU	1032	AGAAGGCAGGAGAGAAGCUGGGC	1124	250	272	5'UTR	1
AD-558407	UGCCUGAUGCCCUUUAUCUUU	1033	AAAGAUAAAGGGCAUCAGGCAGA	1125	304	326	CDS	1
AD-558426	UGGGCCUCUUGUCUGGAGGUU	1034	AACCUCCAGACAAGAGGGCCCAAG	1126	323	345	CDS	1-2
AD-558450	CCACCACUCCCAUGGUCUUUGU	1035	ACAAAGACCAUGGAGUGGUGGUC	1127	347	369	CDS	2
AD-558482	UCCUUCCGACUUCUCCCAAGAU	1036	AUCUUGGGAGAAGUCGGAAGGAGC	1128	418	440	CDS	2
AD-558507	AGGCACUGGAGUACGUGUGUU	1037	AACACACGGUACUCCAGUGCCUGG	1129	443	465	CDS	2
AD-558522	UGUGUCCUUCUGGCUUCUACU	1038	AGUAGAAGCCAGAAGGACACACG	1130	458	480	CDS	2
AD-558539	UACCCGUACCCUGUGCAGACU	1039	AGUCUGCACAGGGUACGGGUAGA	1131	475	497	CDS	2
AD-558555	AGACACGUACCUGCAGAUCUU	1040	AAGAUCUGCAGGUACGUGUCUGC	1132	491	513	CDS	2
AD-558579	AGACUCAAGACCAAAAGACUU	1041	AAGUCUUUUGGGUCUUGAGUCUUC	1133	533	555	CDS	2
AD-558612	AGUGCAGAGCAAUCCACUGUU	1042	AACAGUGGAUUGCUCUGCACUCU	1134	566	588	CDS	2-3
AD-558637	ACCACACGACUUCGAGAACGU	1043	ACGUUCUCGAAGUCGUGUGGUCU	1135	591	613	CDS	3
AD-558646	CCUACUACAAUGUGAGUGAUU	1044	AAUCACUCACAUUGUAGUAGGGA	1136	632	654	CDS	3
AD-558662	UGAUGAGAUCUCUUUCCACUU	1045	AAGUGGAAAGAGAUCUCAUCACU	1137	648	670	CDS	3
AD-558679	ACUGCUAUGACGGUUACACUU	52	AAGUGUAACCGUCAUAGCAGUGG	138	665	687	CDS	3
AD-558701	CACCUGCCAAGUGAAUGGCCU	1046	AGGCCAUUCACUUGGCAGGUGCG	1138	705	727	CDS	3
AD-558737	AGCGAUCUGUGACAACGGAGU	66	ACUCCGUUGUCACAGAUCGCUGU	1139	741	763	CDS	3-4
AD-558747	CAUUGGCACAAGGAAGGUGGU	1047	ACCACCUUCCUUGUGCCAAUGGG	1140	789	811	CDS	4
AD-558778	CGCCUUGAAGACAGCGUCACU	1048	AGUGACGCUGUCUUCAAGGCGGU	1141	820	842	CDS	4
AD-558813	GGCGAACGUGUCAGGAAGGUU	1049	AACCUUCCUGACACGUUCGCCGC	1142	881	903	CDS	4
AD-558859	CUGCCAAGACUCCUUCAUGUU	1050	AACAUGAAGGAGUCUUGGCAGGA	1143	927	949	CDS	4-5
AD-558879	GCCGAAGCUUUCCUGUCUUCU	1051	AGAAGACAGGAAAGCUUCGGCCA	1144	967	989	CDS	5
AD-558896	UUCCCUGACAGAGACCAUAGU	1052	ACUAUGGUCUCUGUCAGGGAAGA	1145	984	1006	CDS	5
AD-558918	GGAGUCGAUGCUGAGGAUGGU	1053	ACCAUCCUCAGCAUCGACUCCUU	1146	1006	1028	CDS	5
AD-558935	CAACAGAAGCGGAAGAUCGUU	1054	AACGAUCUUCCGCUUCUGUUGUU	1147	1042	1064	CDS	6
AD-558965	UCAGGCUCCAUGAACAUCUAU	471	AUAGAUGUUCAUGGAGCCUGAAG	542	1072	1094	CDS	6
AD-558993	UAGAUGGAUCAGACAGCAUUU	1055	AAAUGCUGUCUGAUCCAUCUAGC	1148	1100	1122	CDS	6
AD-558998	GCCAGCAACUUCACAGGAGCU	1056	AGCUCCUGUGAAGUUGCUGGCCC	1149	1123	1145	CDS	6

[0912]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_0017 10.5中的起始位点	NM_0017 10.5中的终止位点	区域	外显子
AD-559023	AGUGUCUAGUCAACUUAAUUU	489	AAAUUAAGUUGACUAGACACUUU	560	1148	1170	CDS	6
AD-559040	AUUGAGAAGGUGGCAAGUUAU	1057	AUAACUUGCCACCUUCUCAAUUA	1150	1165	1187	CDS	6-7
AD-559059	AUGGUGUGAAGCCAAGAUAUU	513	AAUAUCUUGGCUUCACACCAUAA	584	1184	1206	CDS	7
AD-559074	GAUAUGGUCUAGUGACAUAUU	495	AAUAUGUCACUAGACCAUAUCUU	566	1199	1221	CDS	7
AD-559089	AUUUGGGUCAAAGUGUCUGAU	1058	AUCAGACACUUUGACCCAAAUUU	1151	1234	1256	CDS	7
AD-559112	AGACAGCAGUAAUGCAGACUU	1059	AAGUCUGCAUUACUGCUGUCUGC	1152	1257	1279	CDS	7
AD-559143	CAGCUCAAUGAAAUCAAUUAU	478	AUAAUUGAUUUCAUUGAGCUGCU	549	1288	1310	CDS	7
AD-559163	GAAGACCACACAAGUUGAAGUCU	1060	AGACUUCAACUUGUGGUCUUCAU	1153	1309	1331	CDS	7-8
AD-559184	GGGACUAACACCAAGAAGGCU	1061	AGCCUUCUUGGUGUUAGUCCCUG	1154	1330	1352	CDS	8
AD-559208	CAGGCAGUGUACAGCAUGAUU	1062	AAUCAUGCUGUACACUGCCUGGA	1155	1354	1376	CDS	8
AD-559233	GGCCAGAUGACGUCCCUCCUU	1063	AAGGAGGGACGUCAUCUGGCCAG	1156	1379	1401	CDS	8
AD-559274	UGUCAUCAUCCUCAUGACUGU	1064	ACAGUCAUGAGGAUGAUGACAUG	1157	1422	1444	CDS	8
AD-559290	ACUGAUGGAUUGCACAACAUU	1065	AAUGUUGUGCAAUCCAUCAGUCA	1158	1438	1460	CDS	8-9
AD-559306	UUACUGUCAUUGAUGAGAUCU	1066	AGAUCUCAUCAAUGACAGUAAUU	1159	1472	1494	CDS	9
AD-559329	GACUUGCUAUACAUUGGCAAU	1067	AUUGCCAAUGUAUAGCAAGUCCC	1160	1495	1517	CDS	9
AD-559359	AACCCAAGGGAGGAUUAUCUU	486	AAGAUAAUCCUCCCUUGGGUUUU	557	1525	1547	CDS	9
AD-559374	UAUCUGGAUGUCUAUGUGUUU	479	AAACACAUAGACAUCCAGAUAAU	550	1540	1562	CDS	9-10
AD-559383	GGGCCUUUGGUGAACCAAGUU	1068	AACUUGGUUCACCAAAGGCCCGA	1161	1567	1589	CDS	10
AD-559398	CAAGUGAACAUCAAUGCUUUU	491	AAAAGCAUUGAUGUUCACUUGGU	562	1582	1604	CDS	10
AD-559421	UUCCAAGAAAGACAAUGAGCU	45	AGCUCAUUGUCUUUCUUGGAAGC	1162	1605	1627	CDS	10
AD-559438	AGCAACAUGUGUUCAAAGUCU	1069	AGACUUUGAACACAUGUUGCUCA	1163	1622	1644	CDS	10
AD-559455	GUCAAGGAUAUGGAAAACCUU	1070	AAGGUUUUCCAUAUCCUUGACUU	1164	1639	1661	CDS	10
AD-559476	GAAGAUGUUUUCUACCAAAUU	1071	AAUUUGGUAGAAAACAUCUUCCA	1165	1660	1682	CDS	10
AD-559497	AUCGAUGAAAGCCAGUCUCUU	1072	AAGAGACUGGCUUUCAUCGAUCA	1166	1681	1703	CDS	10-11
AD-559512	UCUCUGAGUCUCUGUGGCAUU	1073	AAUGCCACAGAGACUCAGAGACU	1167	1696	1718	CDS	11
AD-559536	UGGGAACACAGGAAGGGUACU	1074	AGUACCCUUCCUGUGUUCCCAAA	1168	1720	1742	CDS	11
AD-559556	CGAUUACCACAAGCAACCAUU	1075	AAUGGUUGCUUGUGGUAAUCGGU	1169	1740	1762	CDS	11
AD-559590	UCAGUCAUUCGCCCUUCAAAU	1076	AUUUGAAGGGCGAAUGACUGAGA	1170	1774	1796	CDS	11-12
AD-559610	GGGACACGAGAGCUGUAUGGU	1077	ACCAUACAGCUCUCGUGUCCCUU	1171	1794	1816	CDS	12
AD-559616	GUGGUGUCUGAGUACUUUGUU	482	AACAAAGUACUCAGACACCACAG	553	1819	1841	CDS	12
AD-559641	CAGCAGCACAUUGUUUCACUU	1078	AAGUGAAACAAUGUGCUGCUGUC	1172	1844	1866	CDS	12

[0913]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_0017 10.5中的起始位点	NM_0017 10.5中的终止位点	区域	外显子
AD-559670	AAGGAACACUCAAUCAAGGUU	1079	AACCUUGAUUGAGUGUUCCUUGU	1173	1873	1895	CDS	12
AD-559704	UAGAAGUAGUCCUAUUUCACU	1080	AGUGAAAUAGGACUACUUCUAUC	1174	1925	1947	CDS	13
AD-559706	CAACUACAACAUUAAUGGGAU	1081	AUCCCAUUAAUGUUGUAGUUGGG	1175	1947	1969	CDS	13
AD-559722	AUUCCUGAAUUUUAUGACUAU	492	AUAGUCAUAAAAUUCAGGAAUUC	563	1981	2003	CDS	13
AD-559740	UAUGACGUUGCCCUGAUCAAU	1082	AUUGAUCAGGGCAACGUCAUAGU	1176	1999	2021	CDS	13
AD-559760	GCUCAAGAAUAAGCUGAAAUU	1083	AAUUUCAGCUUAUUCUUGAGCUU	1177	2019	2041	CDS	13
AD-559788	ACUAUCAGGCCCAUUUGUCUU	466	AAGACAAAUGGGCCUGAUAGUCU	537	2047	2069	CDS	13-14
AD-559799	AGGGAACAACUCGAGCUUUGU	36	ACAAAGCUCGAGUUGUUCCCUCG	122	2078	2100	CDS	14
AD-559823	UUCCUCCAACUACCACUUGCU	1084	AGCAAGUGGUAGUUGGAGGGAAGC	1178	2102	2124	CDS	14
AD-559838	CUUGCCAGCAACAAAAGGAAU	1085	AUUCCUUUUGUUGCUGGCAAGUG	1179	2117	2139	CDS	14-15
AD-559873	CAGGAUAUCAAAGCUCUGUUU	1086	AAACAGAGCUUUGAUAUCCUGUG	1180	2152	2174	CDS	15
AD-559892	UUGUGUCUGAGGAGGAGAAAU	1087	AUUUCUCCUCCUCAGACACAAAC	1181	2171	2193	CDS	15
AD-559926	GGAGGUCUACAUCAAGAAUGU	1088	ACAUUCUUGAUGUAGACCUCCUU	1182	2205	2227	CDS	15
AD-559946	GUGAGAGAGAUGCUCAAUAUU	473	AAUAUUGAGCAUCUCUCUCACAG	544	2243	2265	CDS	16
AD-559958	GACAAAGUCAAGGACAUCUCU	37	AGAGAUGUCCUUGACUUUGUCAU	123	2275	2297	CDS	16
AD-559973	UCGGUUCCUUUGUACUGGAGU	1089	ACUCCAGUACAAAGGAACCGAGG	1183	2310	2332	CDS	16
AD-559993	GAGUGAGUCCCUAUGCUGACU	1090	AGUCAGCAUAGGGACUCACUCCU	1184	2330	2352	CDS	16
AD-559998	UACUUGCAGAGGUGAUUCUGU	1091	ACAGAAUCACCUCUGCAAGUAUU	1185	2355	2377	CDS	16-17
AD-560011	AGUUCACAAGAGAAGUCGUUU	27	AAACGACUUCUCUUGUGAACUAU	113	2388	2410	CDS	17
AD-560031	UCAUUCAAGUUGGUGUAAUCU	1092	AGAUUACACCAACUUGAAUGAAA	1186	2408	2430	CDS	17-18
AD-560040	GAGUAGUGGAUGUCUGCAAAU	1093	AUUUGCAGACAUCCACUACUCCC	1187	2435	2457	CDS	18
AD-560060	AACCAGAAGCGGCAAAAGCAU	1094	AUGCUUUUGCCGCUUCUGGUUUU	1188	2455	2477	CDS	18
AD-560099	GACUUUCACAUCAACCUCUUU	1095	AAAGAGGUUGAUGUGAAAGUCUC	1189	2494	2516	CDS	18
AD-560114	CUCUUUCAAGUGCUGCCCUGU	1096	ACAGGGCAGCACUUGAAAGAGGU	1190	2509	2531	CDS	18
AD-560138	AAGGAGAAACUCCAAGAUGAU	1097	AUCAUCUUGGAGUUUCUCCUUCA	1191	2533	2555	CDS	18
AD-560156	GAGGAUUUGGGUUUUCUAUAU	1098	AUAUAGAAAACCCAAAUCCUCAU	1192	2551	2573	CDS	18
AD-560163	CGUGGGAUUGAAUUAAAACAU	506	AUGUUUUAAUUCAAUCCCACGCC	577	2594	2616	3'UTR	18
AD-558378	GCAAGCCAGGACACACCAUCU	1099	AGAUGGUGUGUCCUGGCUUGCUU	1193	219	241		
AD-558393	CUUCUCUCCCUGCCUUCCAACU	1100	AGUUGGGAAGGCAGGGAGAGAAGCU	1194	254	276		

[0914]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	NM_0017 10.5中的起始位点	NM_0017 10.5中的终止位点	区域	外显子
AD-558424	CUUGGGCCUCUUGUCUGGAGU	1101	ACUCCAGACAAGAGGCCCAAGAU	1195	321	343		
AD-558466	AGAGAUCAAAGGCGGCUCCCUU	1102	AAGGAGCCGCCUUUGAUCUCUAC	1196	402	424		
AD-558511	ACUGGAGUACGUGUGUCCUUU	1103	AAAGGACACACGUACUCCAGUGC	1197	447	469		
AD-558574	CCUGAAGACUCAAGACCAAAU	1104	AUUUGGUCUUGAGUCUUCAGGGU	1198	528	550		
AD-558595	GACUGUCAGGAAGGCAGAGUU	1105	AACUCUGCCUUCCUGACAGUCUU	1199	549	571		
AD-558750	UGGCACAAGGAAGGUGGGCAU	1106	AUGCCCACCUUCCUUGUGCCAAU	1200	792	814		
AD-558777	CCGCCUUGAAGACAGCGUCAU	1107	AUGACGCUGUCUUCAAGGCGGUA	1201	819	841		
AD-559105	CUGAAGCAGACAGCAGUAAUU	1108	AAUUACUGCUGUCUGCUUCAGAC	1202	1250	1272		
AD-559124	UGCAGACUGGGUCACGAAGCU	1109	AGCUUCGUGACCCAGUCUGCAUU	1203	1269	1291		
AD-559189	UAACACCAAGAAGGCCCUCCCU	1110	AGGAGGGCCUUCUUGGUGUUAGU	1204	1335	1357		
AD-559226	AUGAGCUGGGCCAGAUGACGUU	1111	AACGUCAUCUGGGCCAGCUCAUCA	1205	1372	1394		
AD-559330	ACUUGCUAUACAUUGGCAAGU	1112	ACUUGCCCAAUGUAUAGCAAGUCC	1206	1496	1518		
AD-559486	UCUACCAAAUGAUCGAUGAAU	1113	AUUCAUCGAUCAUUUGGUAGAAA	1207	1670	1692		
AD-559532	GGUUUGGGAACACAGGAAGGU	1114	ACCUUCCUGUGUUCCCAAACCAU	1208	1716	1738		
AD-559573	CAUGGCAGGCCAAGAUCUCAU	1115	AUGAGAUCUUGGCCUGCCAUGGU	1209	1757	1779		
AD-559609	AGGGACACGAGAGCUGUAUGU	1116	ACAUACAGCUCUCGUGUCCCUUU	1210	1793	1815		
AD-559668	ACAAGGAACACUCAAUCAAGU	1117	ACUUGAUUGAGUGUUCCUUGUCA	1211	1871	1893		
AD-559688	AAGCGGGACCUGGAGAUAGAU	1118	AUCUAUCUCCAGGUCCCGCUUCU	1212	1909	1931		
AD-559882	AAAGCUCUGUUUGUGUCUGAU	1119	AUCAGACACAAACAGAGCUUUGA	1213	2161	2183		
AD-560132	UGGCUGAAGGAGAAACUCCAU	1120	AUGGAGUUUCUCCUUCAGCCAGG	1214	2527	2549		

表20. 补体因子B dsRNA剂的经修饰的有义链序列和反义链序列

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-558312	asasgggaAfuGfUfGfaccaggucuuL96	1215	asAfsgacCfuGfGfucacAfuUfccuusesc	1307	GGAAGGGAATGTGACCAGGTCTA	1406
AD-558336	csusggagUfuUfCfAfgcuuggacauL96	215	asUfsgucCfaAfGfcugaAfaCfuccagsasc	1308	GTCTGGAGTTTCAGCTTGGACAC	1407
AD-558361	cscsaagcAfgAfCfAfagcaaagcauL96	1216	asUfsgcuUfuGfCfuuguCfuGfcuuggsesu	1309	AGCCAAGCAGACAAGCAAAGCAA	1408
AD-558382	gscscaggAfcAfCfAfccauccugcuL96	1217	asGfscagGfaUfGfguguGfuCfcuggcsusu	1310	AAGCCAGGACACACCATCCTGCC	1409
AD-558389	cscsagcuUfcUfCfUfccugccuucuL96	1218	asGfsaagGfcAfGfgagaGfaAfgcuggsgsc	1311	GCCCAGCTTCTCTCCTGCCTTCC	1410
AD-558407	usgsccugAfuGfCfCfcuuuauccuuuL96	1219	asAfsagaUfaAfAfgggcAfuCfaggcasgsa	1312	TCTGCCTGATGCCCTTTATCTTG	1411
AD-558426	usgsggccUfcUfUfGfucuggaggguuL96	1220	asAfsccuCfcAfGfacaaGfaGfgcccasasg	1313	CTTGGGCCTCTTGTCTGGAGGTG	1412

[0915]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-558450	cscsaccaCfuCfCfAfuggucuuuguL96	1221	asCfsaaaGfaCfCfauggAfgUfgguggsusc	1314	GACCACCACTCCATGGTCTTTGG	1413
AD-558482	uscscuucCfgAfCfUfucucaagauL96	1222	asUfscuuGfgAfGfaaguCfgGfaaggasgsc	1315	GCTCCTTCCGACTTCTCCAAGAG	1414
AD-558507	asgsgcacUfgGfAfGfuacguguguuuL96	1223	asAfscacAfcGfUfuacuCfaGfugccusgsg	1316	CCAGGCACTGGAGTACGTGTGTC	1415
AD-558522	usgsugucCfuUfCfUfggcuucuacuL96	1224	asGfsuagAfaGfCfcagaAfgGfacacascsg	1317	CGTGTGTCCTTCTGGCTTCTACC	1416
AD-558539	usascccgUfaCfCfCfugugcagacuL96	1225	asGfsucuGfcAfCfagggUfaCfggguasgsa	1318	TCTACCCGTACCCTGTGCAGACA	1417
AD-558555	asgsacacGfuAfCfCfugcagaucuuL96	1226	asAfsgauCfuGfGfCfagguAfcGfugucusgsc	1319	GCAGACACCGTACCTGCAGATCTA	1418
AD-558579	asgsacucAfaGfAfCfcaaaagacuuL96	1227	asAfsgucUfuUfUfggucUfuGfagucususc	1320	GAAGACTCAAGACCAAAAGACTG	1419
AD-558612	asgsugcaGfaGfCfAfauccacuguuL96	1228	asAfscagUfgGfAfuugcUfcUfgcacuscsu	1321	AGAGTGCAGAGCAATCCACTGTC	1420
AD-558637	ascscacaCfgAfCfUfucgagaacguL96	1229	asCfsguuCfuCfGfaaguCfgUfgugguscsu	1322	AGACCACACGACTTCGAGAACGG	1421
AD-558646	cscsuacuAfcAfaUfgugagugauuL96	1230	asAfsucaCfuCfAfcauuGfuAfguaggsgsa	1323	TCCCTACTACAATGTGAGTGATG	1422
AD-558662	usgsaugaGfaUfCfUfcuuuccacuuL96	1231	asAfsgugGfaAfAfgagaUfcUfcaucascsu	1324	AGTGATGAGATCTCTTTCCACTG	1423
AD-558679	ascsugcuAfuGfAfCfguuacacuuL96	224	asAfsgugUfaAfCfcgucAfuAfgcagusgsg	1325	CCACTGCTATGACGGTTACACTC	1424
AD-558701	csasccugCfcAfaAfGfugauuggccuL96	1232	asGfsgccAfuUfCfacuuGfgCfaggugscsg	1326	CGCACCTGCCAAGTGAATGGCCG	1425
AD-558737	asgscgauCfuGfUfGfacaacggaguL96	238	asCfsuccGfuUfGfucacAfgAfucgcusgsu	1327	ACAGCGATCTGTGACAACGGAGC	1426
AD-558747	csasuuggCfaCfAfAfggaaggugguL96	1233	asCfscacCfuUfCfcuugUfgCfcaaugsgsg	1328	CCCATTGGCACAAGGAAGGTGGG	1427
AD-558778	csgsccuuGfaAfGfAfcagcgucacuL96	1234	asGfsugaCfgCfUfgucuUfcAfaggcgsgsu	1329	ACCGCCTTGAAGACAGCGTCACC	1428
AD-558813	gsgscgaaCfgUfGfUfcaggaaggguuL96	1235	asAfsccuUfcCfUfgacaCfgUfucgccsgsc	1330	GCGGCGAACGTGTCAGGAAGGTG	1429
AD-558859	csusgccaAfgAfCfUfccuucauguuL96	1236	asAfscauGfaAfGfgaguCfuUfggcaggsga	1331	TCCTGCCAAGACTCCTTCATGTA	1430
AD-558879	gscscgaaGfcUfUfUfccugucuucuL96	1237	asGfsaagAfcAfGfgaaaGfcUfucggcscsa	1332	TGGCCGAAGCTTTCCTGTCTTCC	1431
AD-558896	ususccccuGfaCfAfGfagaccauaguL96	1238	asCfsuauGfgUfCfucugUfcAfgggaasgsa	1333	TCTTCCCTGACAGAGACCATAGA	1432
AD-558918	gsgsagucGfaUfgGfCfugaggauggguL96	1239	asCfscauCfcUfCfagcaUfcGfacuccsusu	1334	AAGGAGTCGATGCTGAGGATGGG	1433
AD-558935	csasacagAfaGfCfCfgfgaagaucguuL96	1240	asAfscgaUfcUfUfccgcUfuCfuguugsusu	1335	AACAACAGAAGCCGGAAGATCGTC	1434
AD-558965	uscsaggcUfcCfAfUfgaacaucuauL96	613	asUfsagaUfgUfUfcaugGfaGfccugasasg	684	CTTCAGGCTCCATGAACATCTAC	1435
AD-558993	usasgaugGfaUfCfAfgacagcauuuuL96	1241	asAfsaugCfuGfUfcugaUfcCfaucuasgsc	1336	GCTAGATGGATCAGACAGCATTG	1436
AD-558998	gscscagcAfaCfUfUfcacaggagcuL96	1242	asGfscucCfuGfUfgaagUfuGfcuggcscsc	1337	GGGCCAGCAACTTCACAGGAGCC	1437
AD-559023	asgsgucUfaGfUfCfaacuuaaauuuL96	631	asAfsauuAfaGfUfugacUfaGfacacususu	702	AAAGTGTCTAGTCAACTTAATTG	1438
AD-559040	asusugagAfaGfGfUfggcaagauuuuL96	1243	asUfsaacUfuGfUfcaccUfuCfucaaususa	1338	TAATTGAGAAGGTGGCAAGTTAT	1439
AD-559059	asusggugUfgAfAfGfccaagauauuL96	655	asAfsuauCfuUfGfgcuuCfaCfaccausasa	726	TTATGGTGTGAAGCCAAGATATG	1440
AD-559074	gsasuaugGfuCfUfAfgugacauauuL96	637	asAfsuauGfuCfAfcuagAfcCfauaucsusu	708	AAGATATGGTCTAGTGACATATG	1441
AD-559089	asusuuggGfuCfaAfaAfgugucugauL96	1244	asUfscagAfcAfCfuuugAfcCfcaaaususu	1339	AAATTTGGGTCAAAGTGTCTGAA	1442
AD-559112	asgsacagCfaGfUfAfaugcagacuuL96	1245	asAfsgucUfgCfAfuuacUfgCfugucusgsc	1340	GCAGACAGCAGTAATGCAGACTG	1443
AD-559143	csasgcuuAfaUfGfAfaaucaauuauL96	620	asUfsaauUfgAfUfuucaUfuGfagcugsusu	691	AGCAGCTCAATGAAATCAATTAT	1444
AD-559163	gsasgacCfaCfAfAfguugaagucuL96	1246	asGfsacuUfcAfAfcuugUfgGfucuucsasu	1341	ATGAAGACCACAAGTTGAAGTCA	1445
AD-559184	gsgsgacuAfaCfAfCfcaagaagccuL96	1247	asGfsccuUfcUfUfggugUfuAfgucccsusg	1342	CAGGGACTAACACCAAGAAGGCC	1446

[0916]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-559208	csasggcaGfuGfUfAfcagcaugauuL96	1248	asAfsucaUfgCfUfguacAfcUfgccugsgsa	1343	TCCAGGCAGTGTACAGCATGATG	1447
AD-559233	gsgsccagAfuGfAfCfguccuccuuL96	1249	asAfsggaGfgGfAfcgucAfuCfuggccsasg	1344	CTGGCCAGATGACGTCCCTCCTG	1448
AD-559274	usgsucauCfaUfCfCfUucaugacuguL96	1250	asCfsaguCfaUfGfaggaUfgAfugacasusg	1345	CATGTCATCATCCTCATGACTGA	1449
AD-559290	ascsugauGfgAfUfUfgcacaacauuL96	1251	asAfsuguUfgUfGfcaauCfcAfucaguscsa	1346	TGACTGATGGATTGCACAACATG	1450
AD-559306	ususacugUfcAfUfUfgaugagaucuL96	1252	asGfsaucUfcAfUfcaauGfaCfaguaasusu	1347	AATTACTGTCATTGATGAGATCC	1451
AD-559329	gsascuugCfuAfUfAfcauuggcaauL96	1253	asUfsugcCfaAfUfguauAfgCfaagucscsc	1348	GGGACTTGCTATACATTGGCAAG	1452
AD-559359	asascccaAfgGfGfAfggauuaucuuL96	628	asAfsgauAfaUfCfcuccCfuUfgggususu	699	AAAACCCAAGGGAGGATTATCTG	1453
AD-559374	usasucugGfaUfGfUfCfcuauguguuuL96	621	asAfsacaCfaUfAfgacaUfcCfagauasasu	692	ATTATCTGGATGTCTATGTGTTT	1454
AD-559383	gsgsgccuUfuGfGfUfgaaccaaguuL96	1254	asAfscuuGfgUfUfcaccAfaAfggcccsgsa	1349	TCGGGCCTTTGGTGAACCAAGTG	1455
AD-559398	csasgugAfaCfAfUfCfaaugucuuuuL96	633	asAfsaagCfaUfUfgaugUfuCfacuugsgsu	704	ACCAAGTGAACATCAATGCTTTG	1456
AD-559421	ususccaaGfaAfaAfGfacaauggagcuL96	217	asGfscucAfuUfGfUfcuuUfcUfuggaasgsc	1350	GCTTCCAAGAAAGACAATGAGCA	1457
AD-559438	asgscaacAfuGfUfGfUfuucaaaguucuL96	1255	asGfsacuUfuGfAfacacAfuGfuuugcuscsa	1351	TGAGCAACATGTGTTCAAAGTCA	1458
AD-559455	gsuscaagGfaUfAfUfggaaaaccuuuL96	1256	asAfsgguUfuUfCfcauaUfcCfuugacsusu	1352	AAGTCAAGGATATGGAAAACCTG	1459
AD-559476	gsasagauGfuUfUfUfcuaccaaauuuL96	1257	asAfsuuuGfgUfUfAfgaaaAfcAfucuucsesa	1353	TGGAAGATGTTTTCTACCAAATG	1460
AD-559497	asuscgauGfaAfaAfGfccaguucuuuL96	1258	asAfsgagAfcUfGfgcuuUfcAfucgauscsa	1354	TGATCGATGAAAGCCAGTCTCTG	1461
AD-559512	uscsucugAfgUfCfUfcuguggcaauuL96	1259	asAfsugcCfaCfAfgagaCfuCfagagascsu	1355	AGTCTCTGAGTCTCTGTGGCATG	1462
AD-559536	usgsggaaCfaCfAfGfgaagguacuuL96	1260	asGfsuacCfcUfUfccugUfgUfucccasasa	1356	TTTGGGAACACAGGAAGGGTACC	1463
AD-559556	csgsauuaCfcAfCfAfAfgcaaccauuL96	1261	asAfsuggUfuGfGfCfuuguGfgUfaaucgsgsu	1357	ACCGATTACCACAAGCAACCATG	1464
AD-559590	uscsagucAfuUfCfGfccuucaaauL96	1262	asUfsuugAfaGfGfGfgcgaAfuGfacugasgsa	1358	TCTCAGTCATTCGCCCTTCAAG	1465
AD-559610	gsgsgacaCfgAfGfAfAfgcuguauggguL96	1263	asCfscauuAfcAfGfcucuCfgUfgucccsusu	1359	AAGGGACACGAGACGTGTATGGG	1466
AD-559616	gsusgguUfcUfGfGfAfguacuuuguuL96	624	asAfscaaAfgUfAfcucaGfaCfaccacsasg	695	CTGTGGTGTCTGAGTACTTTGTG	1467
AD-559641	csasgcagCfaCfAfUfguuuucacuuL96	1264	asAfsgugAfaAfCfaaugUfgCfugcugsusc	1360	GACAGCAGCACATTGTTTCACTG	1468
AD-559670	asasggaaCfaCfUfCfUfaaucaaggguuL96	1265	asAfsccuUfgAfUfugagUfgUfuccuusgsu	1361	ACAAGGAACACTCAATCAAGGTC	1469
AD-559704	usasgaagUfaGfUfCfCfcuauuucacuL96	1266	asGfsugaAfaUfAfggacUfaCfuucuasusc	1362	GATAGAAGTAGTCCTATTTCACC	1470
AD-559706	csasacuaCfaAfCfAfUfuaaauggggauL96	1267	asUfscccAfuUfAfauguUfgUfuguggsgsg	1363	CCCAACTACAACATTAATGGGAA	1471
AD-559722	asusucccUfgAfAfUfUfuuaugacuauL96	634	asUfsaguCfaUfAfaaauUfcAfggaaususc	705	GAATTCCTGAATTTTATGACTAT	1472
AD-559740	usasugacGfuUfGfUfCfccugaucaauL96	1268	asUfsugaUfcAfGfggcaAfcGfucauasgsu	1364	ACTATGACGTTGCCCTGATCAAG	1473
AD-559760	gsesucaaGfaAfUfAfAfagcugaaauuL96	1269	asAfsuuuCfaGfUfcuuauUfcUfugagcsusu	1365	AAGCTCAAGAATAAGCTGAAATA	1474
AD-559788	ascsuauuAfgGfUfCfCfcauuuguccuuL96	608	asAfsgacAfaAfUfgggcCfuGfauaguscsu	679	AGACTATCAGGCCCATTTGTCTC	1475
AD-559799	asgsggaaCfaAfCfUfUfcgagcuuuguL96	208	asCfsaaaGfcUfCfgaguUfgUfucccusesg	1366	CGAGGGAACAACTCGAGCTTTGA	1476
AD-559823	ususcccucCfaAfCfUfUfaccacuugcuL96	1270	asGfscaaGfuGfGfUfuaguUfgGfaggaasgsc	1367	GCTTCCTCCAACTACCACTTGCC	1477
AD-559838	csusugccAfgCfAfUfAfcaaaaggaauL96	1271	asUfsucuUfuUfUfguugCfuGfgcaagsusg	1368	CACTTGCCAGCAACAAAAGGAAG	1478
AD-559873	csasggauAfuCfAfAfAfagcucuguuuL96	1272	asAfsacaGfaGfCfUfuugAfuAfuccugsusg	1369	CACAGGATATCAAAGCTCTGTTT	1479
AD-559892	ususguguCfuGfAfGfgaggagaaauL96	1273	asUfsuucUfcCfUfccucAfgAfcacaasasc	1370	GTTTGTGTCTGAGGAGGAGAAAA	1480

[0917]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-559926	gsgsaggu CfuAfCfAfucaagaaguguL96	1274	asCfsauuCfuUfGfauguAfgAfcucc susu	1371	AAGGAGGTCTACATCAAGAATGG	1481
AD-559946	gsusgagaGfaGfAfUfgcucaauauuL96	615	asAfsuauUfgAfGfcauc UfcUfcucacsasg	686	CTGTGAGAGATGCTCAATATG	1482
AD-559958	gsascaaaGfuCfAfAfGgacaucucuL96	209	asGfsagaUfgUfCfcuugAfcUfuugucsasu	1372	ATGACAAAGTCAAGGACATCTCA	1483
AD-559973	uscsggu uCfcUfUfUfguacuggagu L96	1275	asCfsuccAfgUfAfcaauGfgAfaccgasgsg	1373	CCTCGGTTCCTTTGTACTGGAGG	1484
AD-559993	gsasgugaGfuCfCfCfUuaugcugacuL96	1276	asGfsucaGfcAfUfagggAfcUfcacucscsu	1374	AGGAGTGAGTCCCTATGCTGACC	1485
AD-559998	usascuugCfaGfAfGfguguucuguL96	1277	asCfsagaAfuCfAfccucUfgCfaaguasusu	1375	AATACTTGCAGAGGTGATTCTGG	1486
AD-560011	asgsuucaCfaAfGfAfgaagucguuuL96	199	asAfsacgAfcUfUfcucuUfgUfgaacusasu	1376	ATAGTTCACAAGAGAAGTCGTTT	1487
AD-560031	uscsauuc AfaGfUfUfgguguaaaucuL96	1278	asGfsauuAfcAfCfcaacUfuGfaaugasasa	1377	TTTCATTCAAGTTGGTGTAATCA	1488
AD-560040	gsasguagUfgGfAfUfgucugcaaauL96	1279	asUfsuugCfaGfAfcauc CfaCfuacucscsc	1378	GGGAGTAGTGGATGTCTGCAAAA	1489
AD-560060	asasccagAfaGfCfGfgcaaaagcauL96	1280	asUfsgcuUfuUfGfccgcUfuCfugguususu	1379	AAAACCAGAAGCGGCAAAAGCAG	1490
AD-560099	gsascuuuCfaCfAfUfcaaccucuuuL96	1281	asAfsagaGfgUfUfgaugUfgAfaagucusc	1380	GAGACTTTCACATCAACCTCTTT	1491
AD-560114	csuscuuuCfaAfGfUfgcugcccuguL96	1282	asCfsaggGfcAfGfcacuUfgAfaagagsgsu	1381	ACCTCTTTCAAGTGCTGCCCTGG	1492
AD-560138	asasggagAfaAfCfUfccaagauguuL96	1283	asUfscauuCfuUfGfgaguUfuCfucuuscsa	1382	TGAAGGAGAAACTCCAAGATGAG	1493
AD-560156	gsasggauUfuGfGfGfuuuucuauauL96	1284	asUfsauaGfaAfAfacccAfaAfucccsasu	1383	ATGAGGATTTGGGTTTTCTATAA	1494
AD-560163	csgsuggg AfuUfGfAfauuaaaacauL96	648	asUfsguuUfuAfAfuucaAfuCfccacgcsc	719	GGCGTGGGATTGAATTAAAACAG	1495
AD-558378	gscsaagcCfaGfGfAfcacaccaucuL96	1285	asGfsaugGfuGfUfgucc UfgGfcuugcsusu	1384	AAGCAAGCCAGGACACACCAUCC	1496
AD-558393	csusucucUfcCfUfGfccuuccaacuL96	1286	asGfsuugGfaAfGfgcagGfaGfagaagcsu	1385	AGCUUCUCCUCCUGCCUUCCAACG	1497
AD-558424	csusugggCfcUfCfUfugucuggagu L96	1287	asCfsuccAfgAfCfaagaGfgCfccaagsasu	1386	AUCUUGGGCCUCUUGUCUGGAGG	1498
AD-558466	asgsagauCfaAfaAfGfgcggcuccuuL96	1288	asAfsggaGfcCfGfccuuUfgAfaucucusasc	1387	GUAGAGAUCAAAGGCGGCUCCUU	1499
AD-558511	ascsuggaGfuAfCfGfuguguccuuuL96	1289	asAfsaggAfcAfCfacguAfcUfccagusgsc	1388	GCACUGGAGUACGUGUGUCCUUC	1500
AD-558574	cscsugaaGfaCfUfCfaagaccaaauL96	1290	asUfsuugGfuCfUfugagUfcUfucaggsgsu	1389	ACCCUGAAGACUCAAGACCAAAA	1501
AD-558595	gsascuguCfaGfGfAfaggcagaguuL96	1291	asAfscucUfgCfCfcuuc UfgAfcagucsusu	1390	AAGACUGUCAGGAAGGCAGAGUG	1502
AD-558750	usgsgcacAfaGfGfAfaggugggcauL96	1292	asUfsgccCfaCfCfuucc UfuGfugccasasu	1391	AUUGGCACAAGGAAGGUGGGCAG	1503
AD-558777	cscsgccuUfgAfAfGfacagcgucauL96	1293	asUfsgacGfcUfGfuucuCfaAfggcggsusa	1392	UACCGCCUUGAAGACAGCGUCAC	1504
AD-559105	csusgaagCfaGfAfCfagcaguaauuL96	1294	asAfsuuaCfuGfGfCfugucUfgCfuucagsasc	1393	GUCUGAAGCAGACAGCAGUAAUG	1505
AD-559124	usgscagaCfuGfGfGfucacgaagcuL96	1295	asGfscuuCfgUfGfacccAfgUfucgcasusu	1394	AAUGCAGACUGGGUCACGAAGCA	1506
AD-559189	usasacacCfaAfGfAfAfaggcccucccuL96	1296	asGfsgagGfgCfCfcuucUfgCfguuuasgsu	1395	ACUAACACCCAAGAAGGGCCCUCCCA	1507
AD-559226	asusgageUfgGfCfCfagaugacguuL96	1297	asAfscguCfaUfCfuggcCfaGfcucauscsa	1396	UGAUGAGCUGGGCCAGAUGACGUC	1508
AD-559330	ascsuugcUfaUfAfCfauuggcaaguL96	1298	asCfsuugCfcAfAfuguaUfaGfcaaguscsc	1397	GGACUUGCUAUACAUUGGCAAGG	1509
AD-559486	uscsuaccAfaAfUfGfaucgaugaauL96	1299	asUfsucaUfcGfAfucauUfuGfguagasasa	1398	UUUCUACCAAAUGAUCGAUGAAA	1510
AD-559532	gsgsuuugGfgAfAfCfacaggaaggaL96	1300	asCfscuuCfcUfGfguuCfcCfaaaccsasu	1399	AUGGUUUGGGAACACAGGAAGGG	1511
AD-559573	csasuggcAfgGfCfCfaagaucucauL96	1301	asUfsgagAfuCfUfuggcCfuGfccaugsgsu	1400	ACCAUGGCAGGCCAAGAUCUCAG	1512
AD-559609	asgsggacAfcGfAfGfagcuguauguL96	1302	asCfsauaCfaGfCfucucGfuGfucccususu	1401	AAAGGGACACGAGAGCUGUAUGG	1513
AD-559668	ascsaaggAfaCfAfCfucaaucaaguL96	1303	asCfsuugAfuUfGfgugg UfuCfcuuguscsa	1402	UGACAAGGAACACUCAATCAAGG	1514

[0918]

双链体名称	有义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	反义链序列5'到3'	SEQ ID NO:	mRNA靶序列	SEQ ID NO:
AD-559688	asasggcggGfaCfCfUfggagauagauL96	1304	asUfscuaUfcUfCfcaggUfcCfcgcuusesu	1403	AGAAGCGGGACCUGGAGAUAGAA	1515
AD-559882	asasagcuCfuGfUfUfugugucugauL96	1305	asUfscagAfcAfCfaaacAfgAfgcuuusgsa	1404	UCAAAGCUCUGUUUGUGUCUGAG	1516
AD-560132	usgsgcugAfaGfGfAfgaaacuccauL96	1306	asUfsggaGfuUfUfcuccUfuCfagccasgsg	1405	CCUGGCUGAAGGAGAAACUCCAA	1517

[0919] 表21.HepG2细胞中的体外单剂量筛选

[0920]

双链体名称	CFB/gapdh		
	10 nM		
	平均剩余信息百分比	SD	NM_001710.5 中的靶标区域
AD-560132.1	9.927	1.092	2527-2549
AD-560099.1	9.213	1.335	2494-2516
AD-559998.1	11.297	1.165	2355-2377
AD-559993.1	11.852	1.080	2330-2352
AD-559973.1	53.866	5.431	2310-2332
AD-559882.1	10.290	1.623	2161-2183
AD-559706.1	11.537	1.805	1947-1969
AD-559704.1	15.239	3.563	1924-1947
AD-559688.1	38.443	9.924	1909-1931
AD-559668.1	10.169	0.593	1871-1893
AD-559641.1	29.195	3.820	1844-1866
AD-559609.1	88.678	6.099	1793-1815
AD-559590.1	35.152	4.022	1774-1796
AD-559573.1	38.212	6.701	1757-1779
AD-559532.1	74.766	13.877	1716-1738
AD-559486.1	24.644	9.120	1670-1692
AD-559330.1	95.265	4.050	1496-1518
AD-559274.1	13.751	2.733	1422-1444
AD-559226.1	102.524	5.658	1372-1394
AD-559208.1	16.066	2.069	1354-1376
AD-559189.1	16.100	2.031	1335-1357
AD-559124.1	15.423	2.069	1269-1291
AD-559105.1	9.673	1.193	1250-1272
AD-559089.1	10.663	2.329	1234-1256
AD-558935.1	13.757	1.222	1042-1064
AD-558879.1	14.752	3.406	967-989
AD-558777.1	14.623	2.074	819-841
AD-558750.1	16.390	2.306	792-814
AD-558637.1	24.702	7.767	591-613
AD-558612.1	12.506	1.594	566-588
AD-558595.1	11.413	1.630	549-571
AD-558574.1	12.253	1.051	528-550
AD-558555.1	12.550	1.821	491-513
AD-558511.1	10.434	4.050	447-469
AD-558482.1	47.746	10.594	418-440
AD-558466.1	17.794	3.389	402-424
AD-558450.1	11.521	2.865	347-369
AD-558424.1	23.751	5.256	321-343
AD-558407.1	14.394	1.584	304-326
AD-558393.1	14.017	1.825	254-276

[0921]

双链体名称	CFB/gapdh		
	10 nM		
	平均剩余信息百分比	SD	NM_001710.5 中的靶标区域
AD-558378.1	18.296	0.945	219-241
AD-558361.1	15.926	1.921	202-224
AD-558312.1	27.703	7.359	153-175

[0922] 实施例6.靶向补体成分组合的dsRNA剂的组合

[0923] 为了确定与单独使用靶向C3、C5或CFB的单一dsRNA相比，使用靶向补体成分C3(C3)的dsRNA剂和靶向补体成分C5(C5)的dsRNA剂或靶向补体成分因子B(CFB)的dsRNA剂的组合是否可以强烈抑制溶血活性，进行了体外双重重构研究。

[0924] 简而言之，使用两种补体成分耗竭的血清，并以不同浓度添加单个蛋白质进行体外补体组合建模。除非另有说明，所有试剂均购自Complement Technology(Tyler,Texas)。通过用一系列浓度的C3和CFB蛋白重构C3和CFB补体成分耗竭的人血清来进行替代溶血(AH)分析。将10％的重构血清加入到含有25％兔红细胞(Er)的5mM MgEGTA和GVBE中。样本在37℃振荡孵育1小时。将GVBE以1:1的比例加入样本中以停止溶血。将样本离心并转移上清液，并在541nm处测量吸光度。通过减去阴性对照样本并归一化为阳性对照样本来计算溶血活性，其中阴性对照为仅缓冲液和Er，且阳性对照为仅水和Er。

[0925] C3和CFB双重靶向的结果如图2A所示。具体地，C3和CFB耗竭的人血清中的溶血活性(替代溶血，AH)显示为热图，其中较高的溶血水平为中灰色(左上角，“正常范围”)，较低的溶血水平为深灰色。C3的浓度绘制在Y轴上，且CFB的浓度绘制在X轴上。

[0926] 正常水平的CFB和C3产生完全的溶血活性。降低C3或CFB水平会降低溶血活性。在非人灵长类动物中的siRNA的施用显示，C3水平可以被抑制到200μg/ml的水平；预计在人类血清中也会出现类似的降低。假设C3的初始水平为200μg/ml，图2A表明将CFB抑制到约40μg/ml(约80％沉默)可将溶血活性降低到10％以下。因此，C3和CFB的双重靶向可以实现对AH的近乎完全的抑制。

[0927] 需要注意的是，CFB抑制并不影响经典溶血(CH)，因此没有生成CH的组合数据。

[0928] 图2B描述了在用不同水平的C3和C5重构的耗竭血清中并如上所述对AH进行了分析的C3和C5的双重剂量反应的结果，。C3绘制在Y轴上，C5绘制在X轴上。正常水平的C3和C5产生高水平的溶血活性；降低C5水平会降低AH。还观察到了C3的剂量反应。尽管已知对人类受试者施用靶向C5的dsRNA剂(cemdisiran)可实现将C5沉默降至约1μg/ml至3μg/ml的范围，但通过同时降低C3蛋白的水平可实现溶血活性的进一步降低。

[0929] C3和C5的双重靶向对经典溶血活性的影响也是使用经典溶血(CH)分析来测定的。用一系列浓度的C3和C5蛋白质重构C3和C5耗竭的人血清。将重构的血清(0.7％)加入到含有13.4％抗体致敏的绵羊红细胞(EA)的GVB^{++}中。样本在37℃振荡孵育1小时。将样本离心并转移上清液，并在541nm处测量吸光度。通过减去阴性对照样本并归一化为阳性对照样本来计算溶血活性，其中阴性对照为仅缓冲液和Er，且阳性对照为仅水和Er。

[0930] 图2C描绘了C3和C5的CH重构实验的结果；它表明同时靶向C3和C5有益于CH。当C5≤3μg/ml时，所观察到的C3抑制对CH活性的影响无法通过使用Wieslab®补体经典途径(CCP)分析所测定的活性C5b-9形成水平来评估经典溶血活性来解决(图2D)。根据制造商的

方案进行CCP分析(Wieslab®COMPL CP310,IBL America)。简而言之,使用两种补体成分耗竭的血清,并以不同浓度添加单个蛋白质进行体外补体组合建模。用一系列浓度的C3和C5蛋白重构C3和C5补体成分耗竭的人血清。将重构的耗竭血清稀释至1:101的最终血清浓度。将样本加入孔中,并在37℃孵育1小时。将板洗涤三次,然后向每个孔中加入100μl缀合物溶液。将板在室温孵育30分钟,然后洗涤三次。将底物溶液(100μl)添加到每个孔中,并在室温孵育30分钟。用100μl 5mM EDTA终止反应,并在405nm处读取吸光度。通过从所有值中减去空白对照,然后归一化为阳性对照来计算活性。

[0931] 与单独使用靶向C3、C5或CFB的单一dsRNA相比,靶向补体成分C3(C3)的dsRNA剂和靶向补体成分C5(C5)的dsRNA剂或补体成分因子B(CFB)的dsRNA剂的组合进一步抑制溶血活性的能力也在非人灵长类动物(NHP)(食蟹猴(Macaca fascicularis))体内进行了评估。

[0932] 在第1天,向食蟹猴皮下施用单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂、或靶向CFB的dsRNA剂、或靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂;或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂和6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂。研究设计如下表所示。

[0933]

组别	靶标	测试物	给药途径	剂量(mg/kg)	雄性动物的数量	给药方案	研究结束
2	C3	AD-570714	SubQ	6	3	第1天	第29天
3	CFB	AD-560018	SubQ	6	3	第1天	第29天
4	C5	AD-61679	SubQ	6	3	第1天	第29天
5	C3 CFB	AD-570714 AD-560018	SubQ	6 6	3	第1天	第29天
6	C3 C5	AD-570714 AD-61679	SubQ	6 6	3	第1天	第29天
7	CFB C5	AD-560018 AD-61679	SubQ	6 6	3	第1天	第29天

[0934] 在给药前的第6天、第1天和给药后的第8天、第15天、第22天和第29天,从NHP获得血清样本,并测定C3、C5和CFB蛋白的水平以及替代溶血活性和经典溶血活性以及Wieslab®CAP活性和Wieslab®CCP活性。

[0935] 通过ELISA测定C3蛋白水平。简而言之,根据制造商的方案,通过食蟹猴交叉反应ELISA(C3人ELISA,Hycult HK366)测量C3蛋白。以1:40,000稀释血清。将C3水平归一化为个体动物的给药前水平,以确定剩余C3百分比。

[0936] C5蛋白水平也是通过ELISA测定的。简而言之,根据制造商的方案,通过食蟹猴交叉反应性ELISA(人补体C5 ELISA试剂盒,Abcam ab125963)测量C5。对于给药前和第8天的样本,以1:20,000稀释血清,对于第12、22和29天的沉默样本,以1:5,000稀释血清。C5水平被归一化为个体动物的给药前水平,以确定剩余C5百分比。

[0937] 使用4％至12％Bis-Tris凝胶，通过蛋白质印迹的定量分析测量血清CFB(1:20的稀释度)，并在Li-Cor Odyssey CLx上成像。(1°:ProteinTech 10170-1-AP 1:50,2°:山羊抗兔HRP)。

[0938] 测定了替代溶血活性和经典溶血活性。根据简要描述进行NHP的替代溶血。将血清(5.6％)加入含有25％兔红细胞(Er,Complement Technology,Tyler,Texas)的5mM MgEGTA和GVB°(Complement Technology,Tyler,Texas)中。样本在37℃振荡孵育1小时。将GVBE(Complement Technology,Tyler,Texas)以1:1的比例加入样本以停止溶血。将样本离心并转移上清液，并在541nm处测量吸光度。通过减去阴性对照样本并归一化为阳性对照样本来计算溶血活性，其中阴性对照为仅缓冲液和Er，且阳性对照为仅水和Er。然后将单个动物样本归一化为其平均给药前样本。根据简要描述进行NHP的经典途径溶血。将1.77％血清加入到具有13.4％抗体致敏的绵羊红细胞(EA,Complement Technology,Tyler,Texas)的GVB++(Complement Technology,Tyler,Texas)中。样本在37℃振荡孵育1小时。将样本离心并转移上清液，并在541nm处测量吸光度。通过减去阴性对照样本并归一化为阳性对照样本来计算溶血活性，其中阴性对照为仅缓冲液和Er，且阳性对照为仅水和EA。然后将单个动物样本归一化为其平均给药前样本。

[0939] 还使用如上所述的Wieslab®补体经典途径(CCP)分析和Wieslab®补体替代途径(CAP)分析来测定用于评估替代溶血活性和经典溶血活性的活性C5b-9形成水平。根据制造商的方案进行CAP分析(COMPL AP330 RUO,IBL美国)。将血清稀释至最终血清浓度(1:18)。将样本加入孔中，并在37℃孵育1小时。将板洗涤3次，然后将100μl缀合物溶液加入每个孔中。将板在室温孵育30分钟，然后洗涤3次。将底物溶液(100μl)添加到每个孔中，并在室温孵育30分钟。用100μl 5mM EDTA终止反应，并在405nm处读取吸光度。通过从所有值中减去空白对照，然后归一化为阳性对照来计算活性。然后将CAP和CCP的活性值归一化为单个动物的平均给药前水平。

[0940] 这些分析的结果如图3A至图3E所示。具体地，图3A表明，单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂抑制了血清中高达90％的C3蛋白(约110μg/ml)。正如预期的那样，用靶向CFB的dsRNA剂沉默CFB会导致C3蛋白水平略微增加。图3A还表明，用靶向C5的dsRNA剂沉默C5不会影响C3蛋白水平，靶向C3的dsRNA剂和靶向CFB的dsRNA剂都不会影响C5蛋白水平。

[0941] 图3B表明，单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂或单次6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂显示出了相似的替代溶血抑制(约60％抑制)，而单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和6mg/kg剂量的靶向CFB的dsRNA剂的组合抑制了约90％的替代溶血。图3C表明，单次6mg/kg剂量的靶向C3的dsRNA剂和6mg/kg剂量的靶向C5的dsRNA剂的组合对经典溶血的影响最大。

[0942] 如图3D所示，使用Wieslab®补体替代途径(CAP)分析，沉默CFB或沉默C3，或沉默CFB和C3、CFB和C5、C3和C5抑制了替代途径活性。在Wieslab®CAP分析中，单独沉默C5具有中等效果。

[0943] 图3E表明，除了C5沉默以外，C3抑制或CFB抑制在沉默经典途径活性中并没有带来益处。

[0944] 总之，靶向C3的dsRNA剂和靶向CFB的dsRNA剂的组合有效地将替代溶血活性抑制到小于约10％，而靶向C3的dsRNA剂和靶向C5的dsRNA剂的组合有效地抑制了经典溶血活

性。

[0945] 等同物

[0946] 本领域技术人员将认识到或能够仅使用常规实验来确定与本文所述具体实施方案和方法等效的实施方案和方法。此类等效的实施方案和方法旨在包含在下述权利要求的范围内。

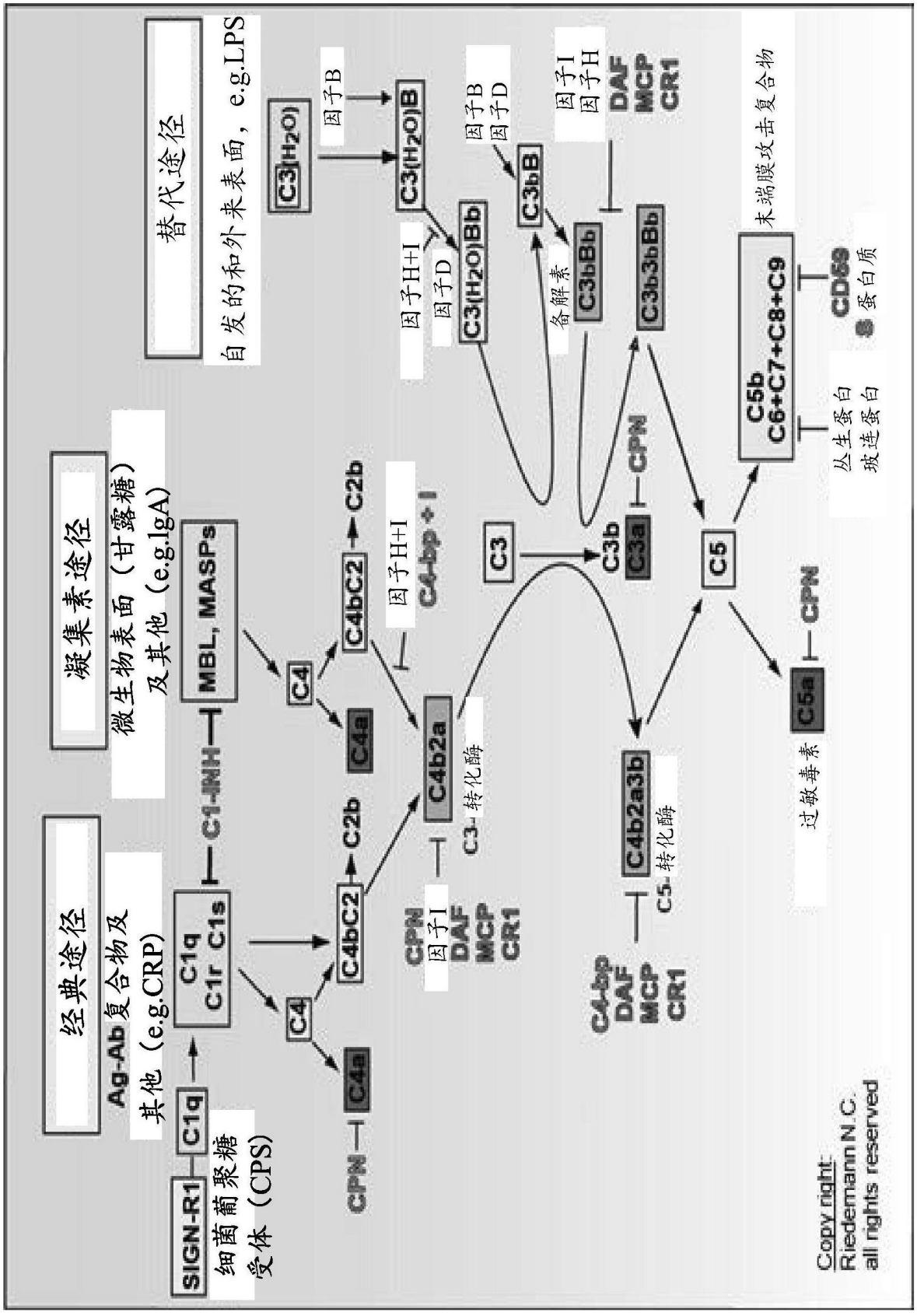

经典途径
凝集素途径
替代途径
Ag-Ab复合物及
其他（e.g.CRP）
微生物表面（甘露糖）
及其他（e.g.lgA）
自发的和外来表面，e.g.LPS
SIGN-R1
细菌葡聚糖
受体（CPS）
C1q
C1r C1s
C1-INH
MBL, MASPs
C4
C4a
C4bC2
C2b
CPN
因子I
DAF
MCP
CR1
因子H+I
C4-bp + I
C4b2a
C3-转化酶
C3
C3b
C3a
C3bBb
C3(H2O)
C3(H2O)B
因子B
因子D
C3(H2O)Bb
C3bB
备解素
因子I
因子H
C4b2a3b
C5-转化酶
C5
C5b
C6+C7+C8+C9
末端膜攻击复合物
丛生蛋白
玻连蛋白
过敏毒素
C5a
CD69
蛋白质
Copy right:
Riedemann N.C.
all rights reserved

图1

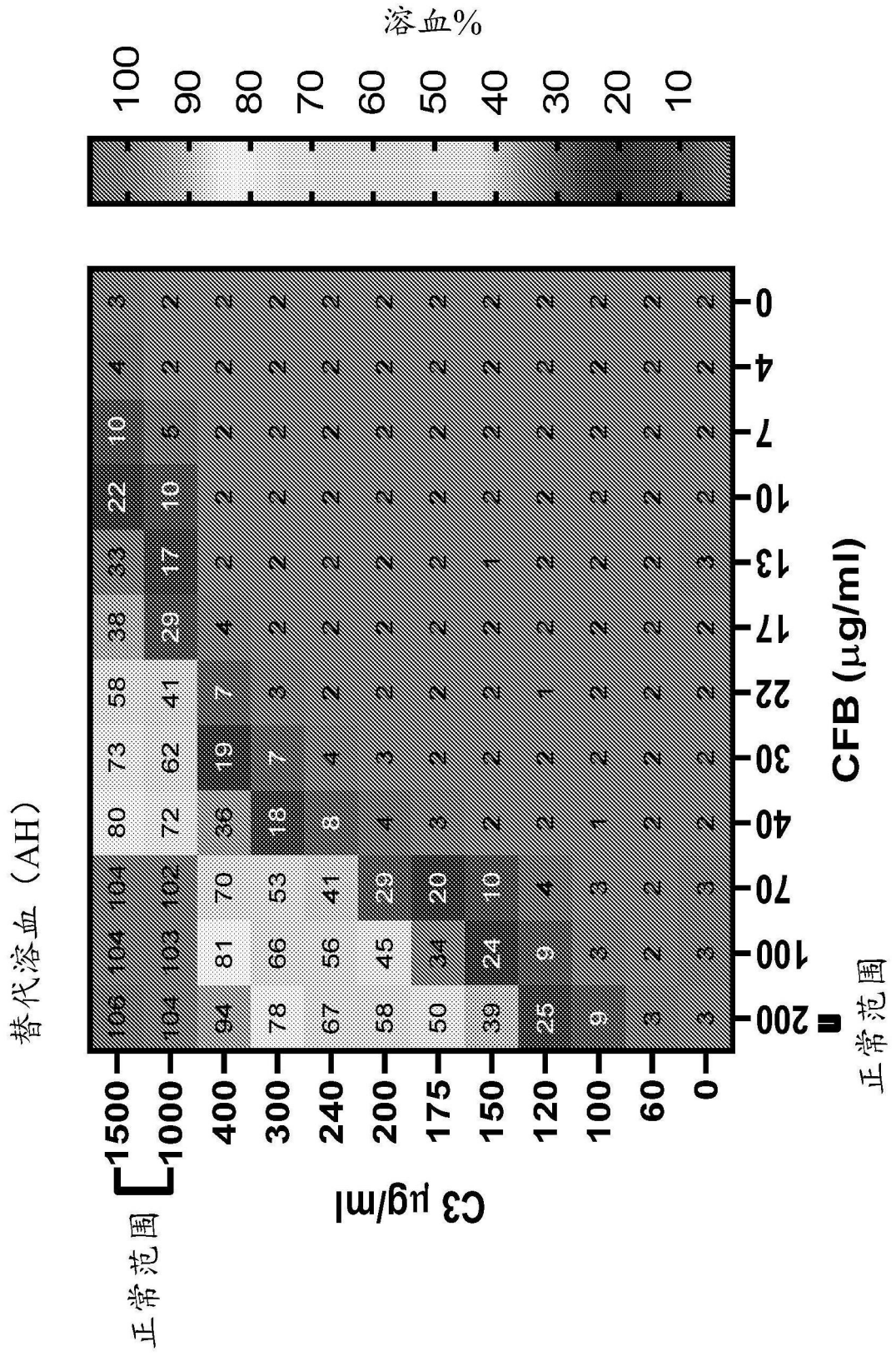

溶血%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
替代溶血（AH）
正常范围
1500
1000
400
300
240
200
175
150
120
100
60
0
C3 µg/ml
正常范围
200
100
70
40
30
22
17
13
10
7
4
0
CFB (µg/ml)

图2A

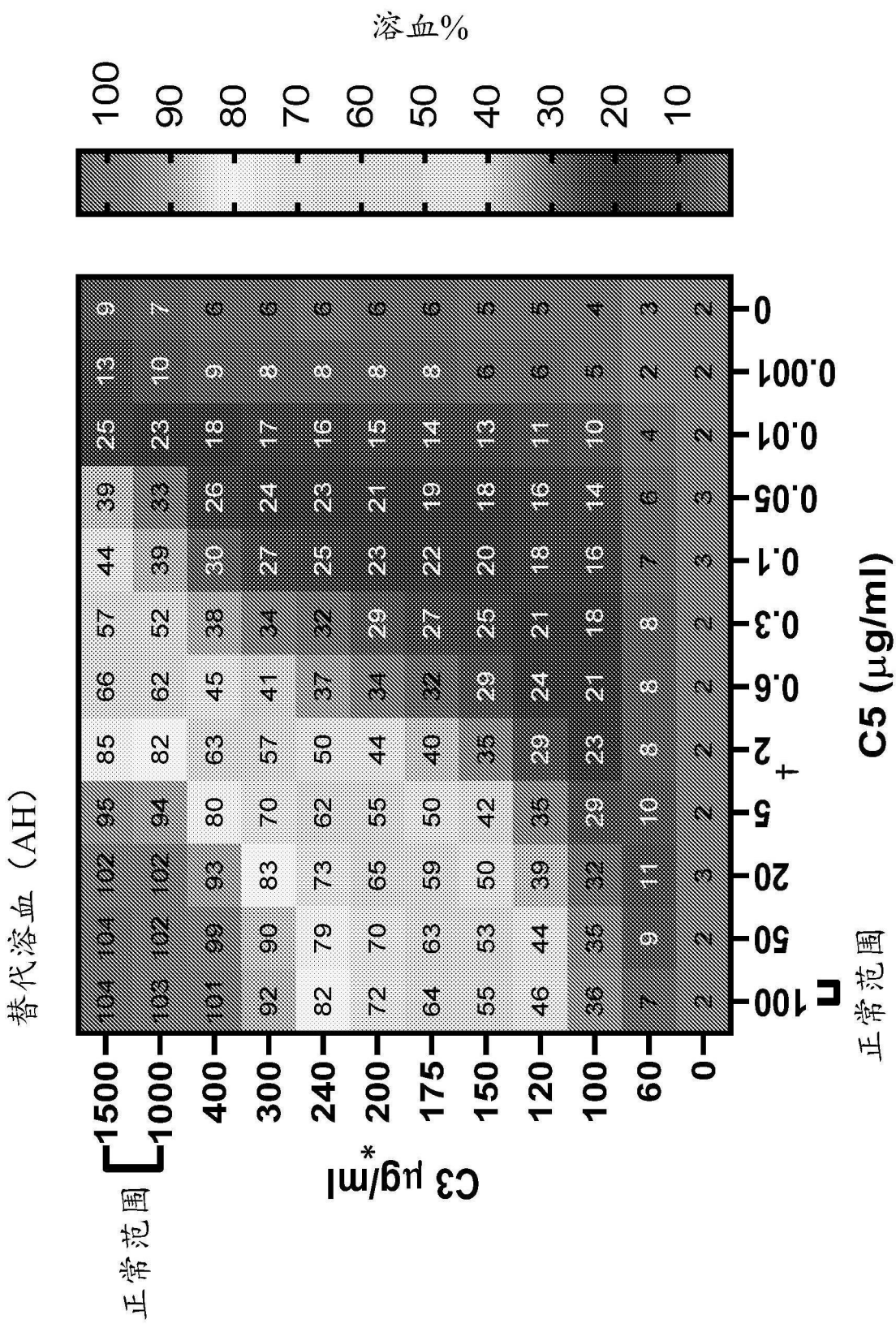

溶血%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
替代溶血（AH）
正常范围
1500
1000
400
300
240
200
175
150
120
100
60
0
C3 μg/ml*
104 104 102 95 85 66 57 44 39 25 13 9
103 102 102 94 82 62 52 39 33 23 10 7
101 99 93 80 63 45 38 30 26 18 9 6
92 90 83 70 57 41 34 27 24 17 8 6
82 79 73 62 50 37 32 25 23 16 8 6
72 70 65 55 44 34 29 23 21 15 8 5
64 63 59 50 40 32 27 22 19 14 8 5
55 53 50 42 35 29 25 20 18 13 6 5
46 44 39 35 29 24 21 18 16 11 6 5
36 35 32 29 23 21 18 16 14 10 5 4
7 9 11 10 8 8 8 7 6 4 2 3
2 2 3 2 2 2 2 3 3 2 2 2
n
100
50
20
5
2
1
0.6
0.3
0.1
0.05
0.01
0.001
0
C5 (μg/ml)
正常范围

图2B

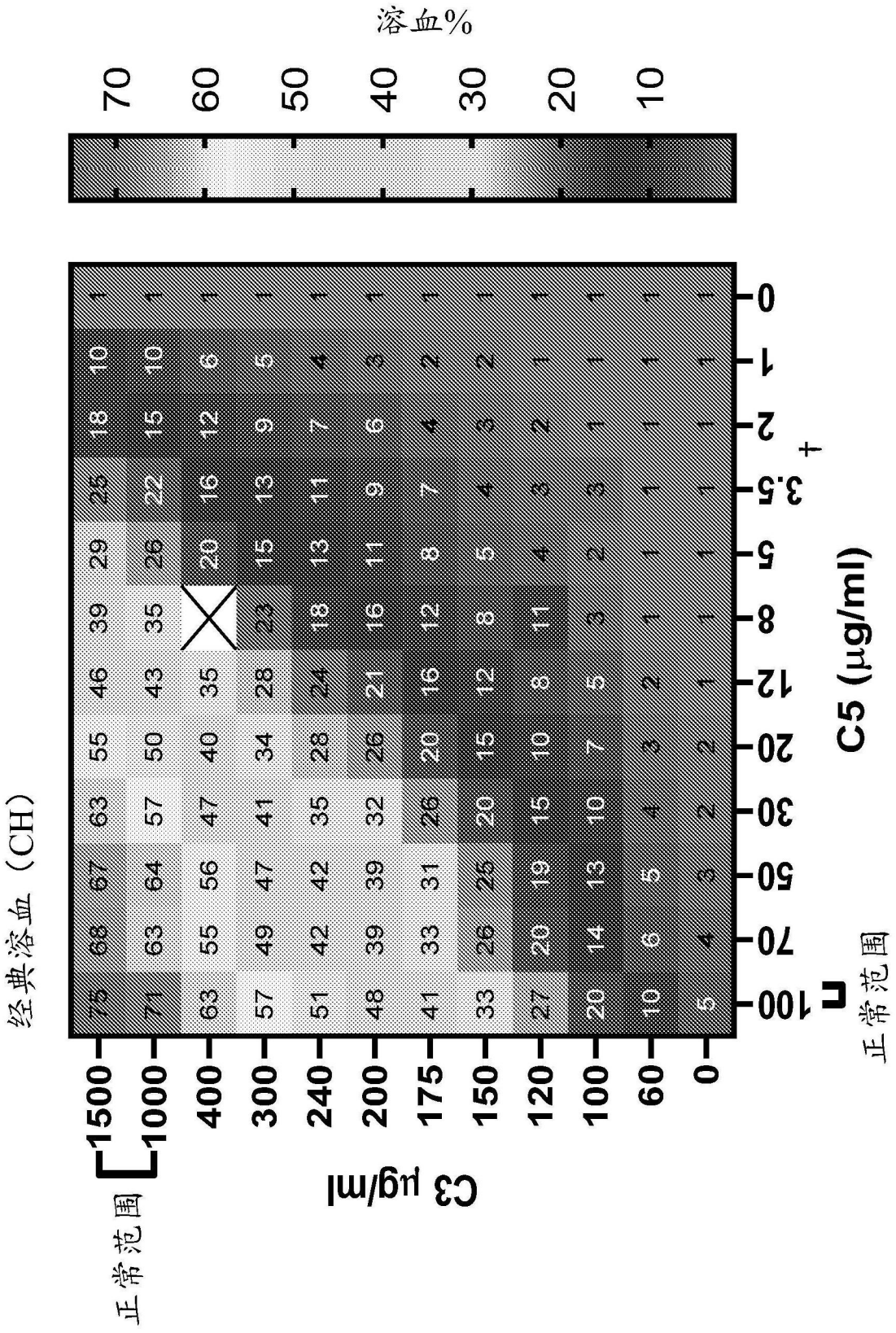

溶血%
70
60
50
40
30
20
10
经典溶血（CH）
正常范围
C3 μg/ml
1500
1000
400
300
240
200
175
150
120
100
60
0
正常范围
C5 (μg/ml)
100
70
50
30
20
12
8
5
3.5
2
1
0

图2C

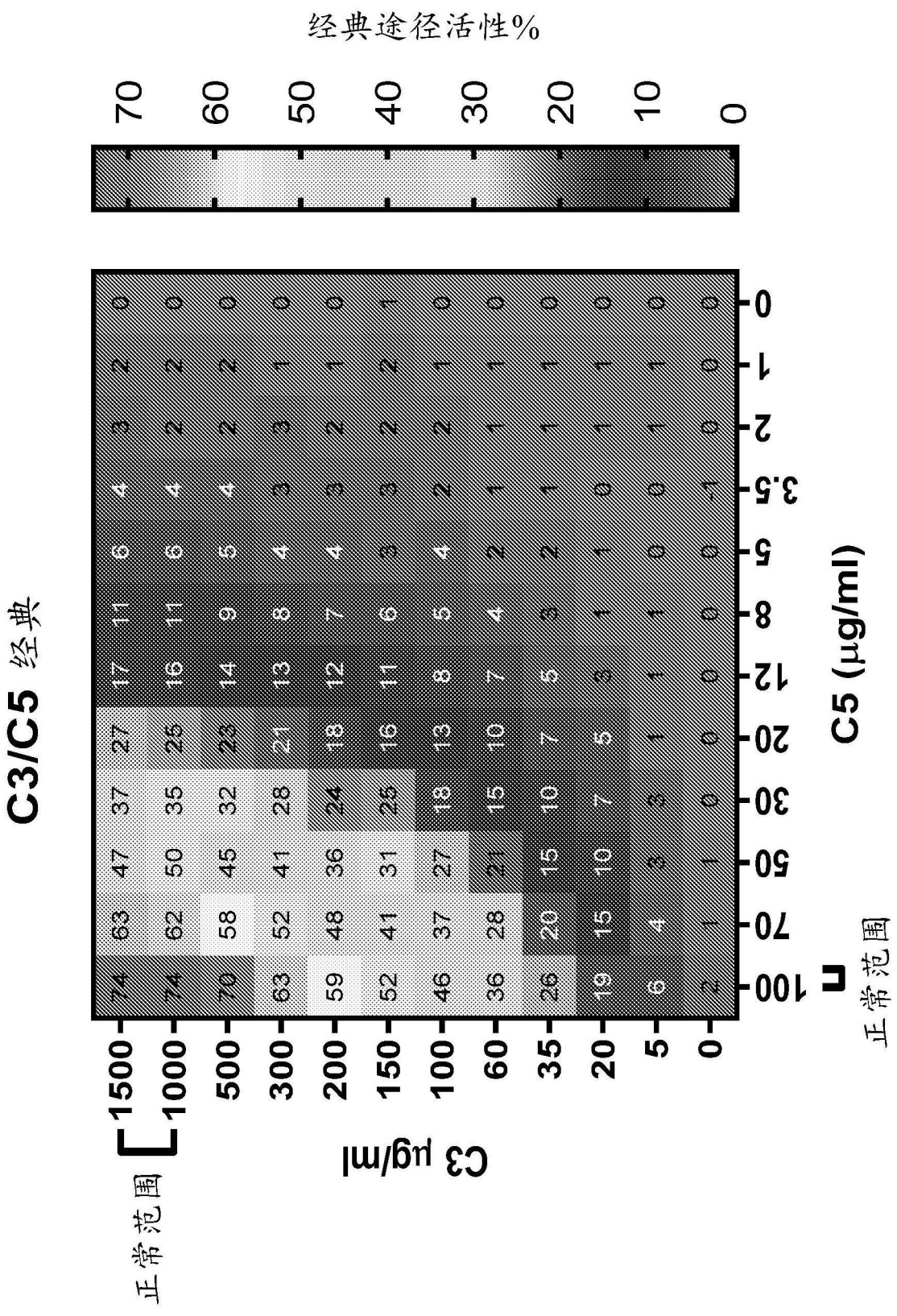

经典途径活性%
70
60
50
40
30
20
10
0
C3/C5 经典
C3 μg/ml
正常范围
1500
1000
500
300
200
150
100
60
35
20
5
0
C5 (μg/ml)
正常范围
100
70
50
30
20
12
8
5
3.5
2
1
0

图2D

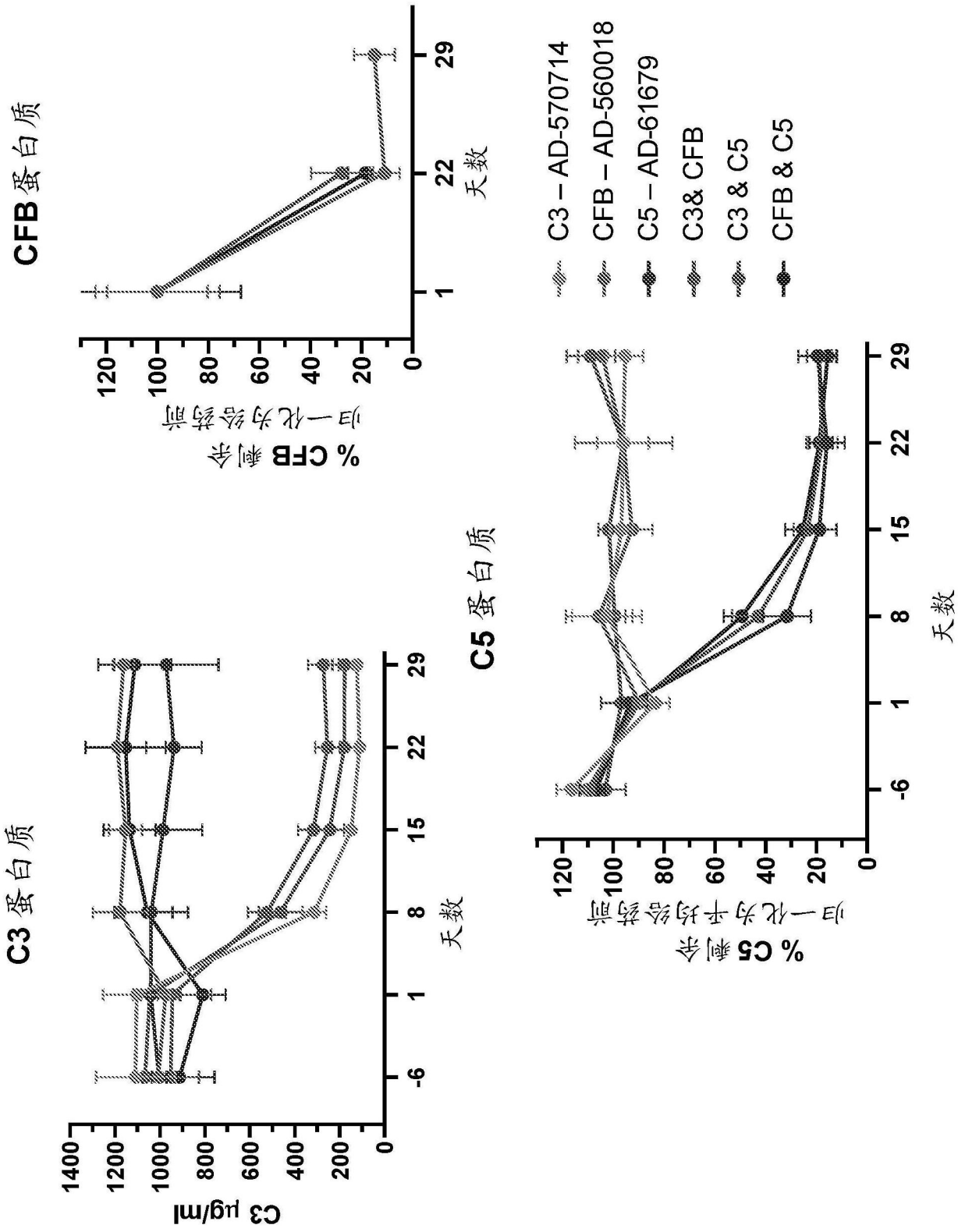

C3 蛋白质
C3 μg/ml
天数
CFB 蛋白质
% CFB 剩余
归一化为给药前
天数
C5 蛋白质
% C5 剩余
归一化为平均给药前
天数
C3 – AD-570714
CFB – AD-560018
C5 – AD-61679
C3& CFB
C3 & C5
CFB & C5

图3A

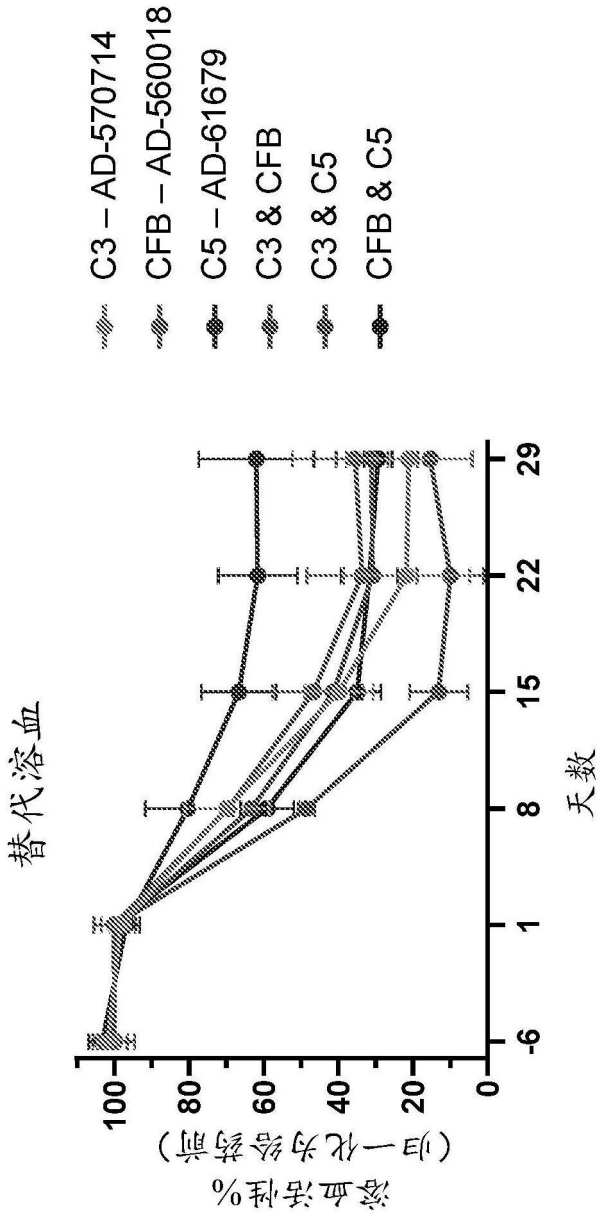

C3 – AD-570714
CFB – AD-560018
C5 – AD-61679
C3 & CFB
C3 & C5
CFB & C5
替代溶血
溶血活性%
(归一化为给药前)
0
20
40
60
80
100
-6
1
8
15
22
29
天数

图3B

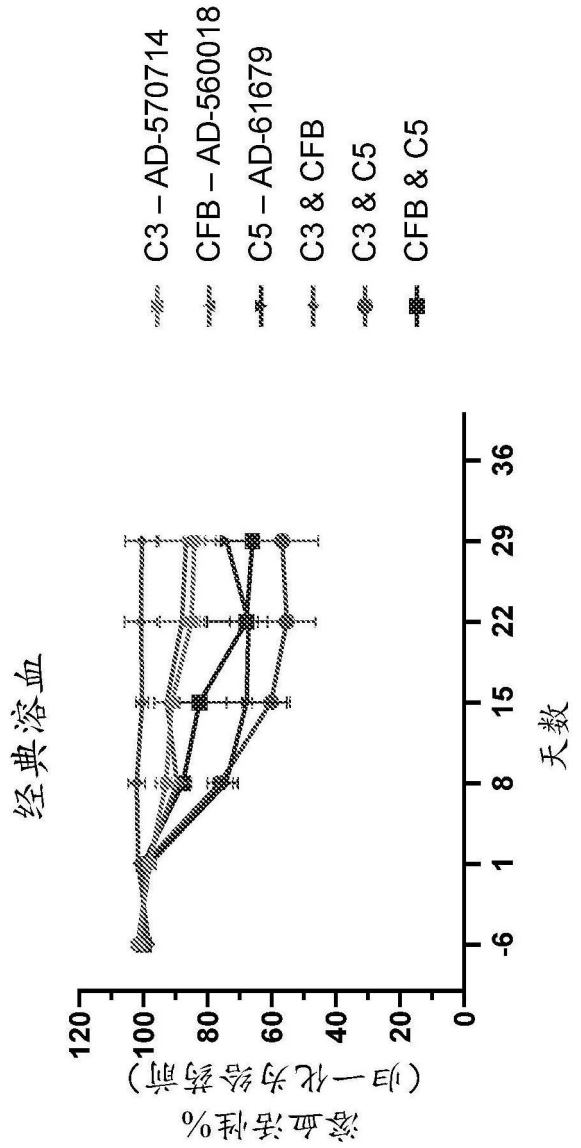

C3 – AD-570714
CFB – AD-560018
C5 – AD-61679
C3 & CFB
C3 & C5
CFB & C5
经典溶血
溶血活性%
(归一化为给药前)
120
100
80
60
40
20
0
-6
1
8
15
22
29
36
天数

图3C

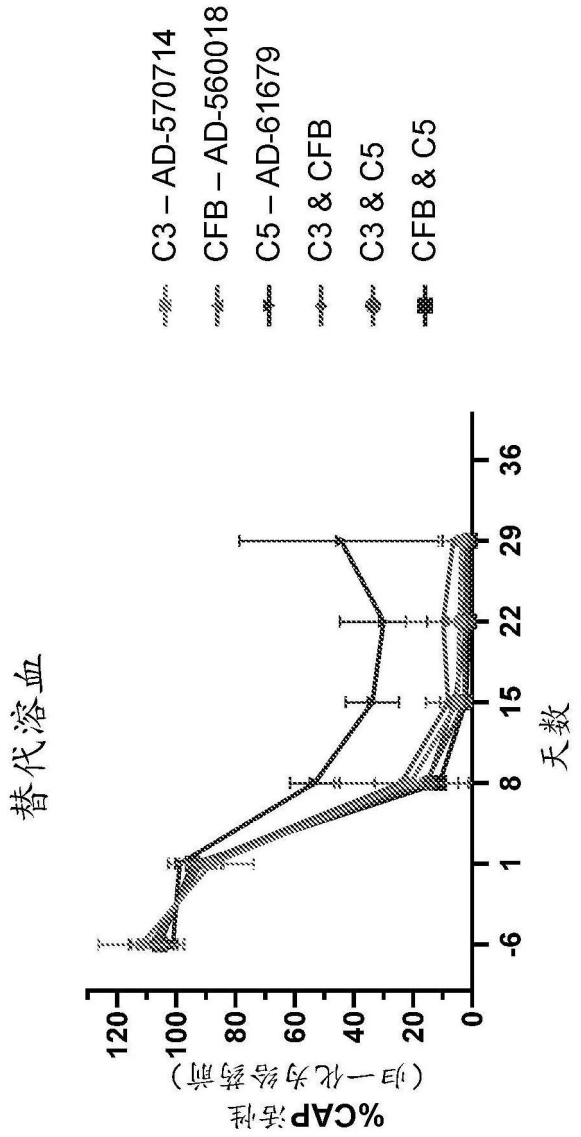

C3 – AD-570714
CFB – AD-560018
C5 – AD-61679
C3 & CFB
C3 & C5
CFB & C5
替代溶血
%CAP活性
(归一化为给药前)
120
100
80
60
40
20
0
-6
1
8
15
22
29
36
天数

图3D

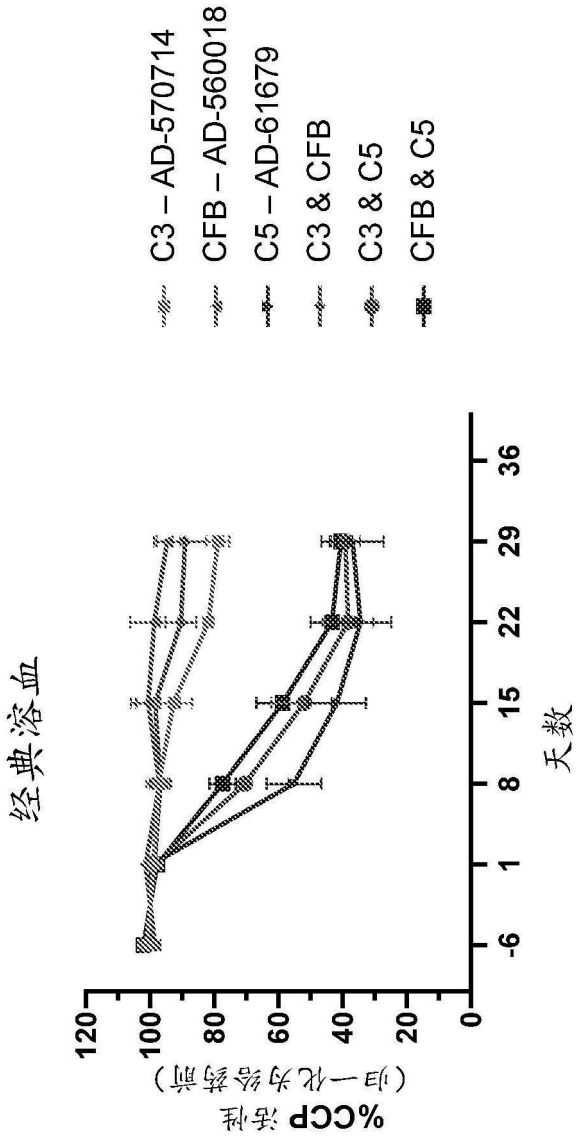

C3 – AD-570714
CFB – AD-560018
C5 – AD-61679
C3 & CFB
C3 & C5
CFB & C5
经典溶血
%CCP 活性
(归一化为给药前)
120
100
80
60
40
20
0
-6
1
8
15
22
29
36
天数

图3E