



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本 (11)證書號數：TW I434692 B

(45)公告日：中華民國 103 (2014) 年 04 月 21 日

(21)申請案號：100114186

(51)Int. Cl. : A61K31/713 (2006.01)  
A61P43/00 (2006.01)(30)優先權：2010/04/23 美國 61/327,379  
2010/05/11 美國 61/333,398(71)申請人：諾華公司 (瑞士) NOVARTIS AG (CH)  
瑞士

(72)發明人：迪 佛傑羅勒斯 安東尼 DE FOUGEROLLES, ANTONIN (CA)；戴諾 約翰 L DIENER, JOHN L. (US)；西克曼 艾瑪 HICKMAN, EMMA (GB)；亨可 奎鈞利 HINKLE, GREGORY (US)；麥爾斯天 史都華 MILSTEIN, STUART (US)；普利欽諾 安 瑪莉 PULICHINO, ANNE-MARIE (CA)；史佩格 安德魯 SPRAGUE, ANDREW (US)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

WO 2008/152131A2

Emanuela Caci, Raffaella Melani, Nicoletta Pedemonte, Guelnihal Yueksekdag, Roberto Ravazzolo, Joseph Rosenecker, Luis J. V. Galietta, and Olga Zegarra-Moran, "Epithelial Sodium Channel Inhibition in Primary Human Bronchial Epithelia by Transfected siRNA", Am J Respir Cell Mol Biol, 2009, Vol 40, page 211~216.  
Hyde, S. C, Painter, H, Gill, D. R., ENaC knockdown in the mouse lung using RNAi, PEDIATRIC PULMONOLOGY , 2007, page 306~307。

審查人員：李惟宇

申請專利範圍項數：24 項 圖式數：3 共 0 頁

(54)名稱

用於治療  $\beta$ -ENaC 相關疾病之有機組合物

ORGANIC COMPOSITIONS TO TREAT BETA-ENAC-RELATED DISEASES

(57)摘要

本發明係關於 RNAi 劑，使用治療有效量之針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑可用於治療  $\beta$ -ENaC 相關疾病之方法，該等疾病諸如囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群(Liddle's syndrome)、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。

The present disclosure relates to RNAi agents useful in methods of treating Beta-ENaC-related diseases such as cystic fibrosis, pseudohypoaldosteronism type 1 (PHA1), Liddle's syndrome, hypertension, alkalosis, hypokalemia, and obesity-associated hypertension, using a therapeutically effective amount of a RNAi agent to Beta-ENaC.

(無元件符號說明)

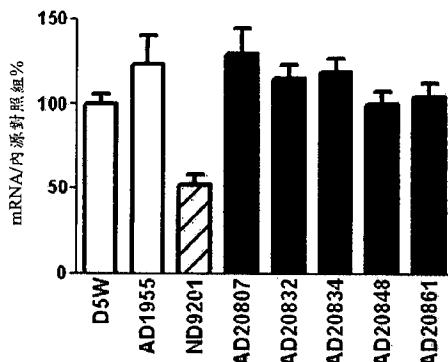
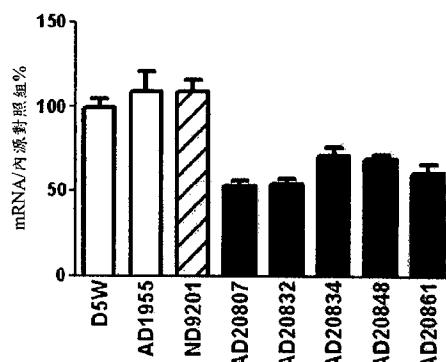
**A.****B.**

圖 1

公告本

發明專利說明書

(本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫)

※申請案號：100114186

※申請日：100.4.22

※IPC 分類：~~C07B~~; A61K 31/13 (2006.01)

一、發明名稱：(中文/英文)

用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病之有機組合物

A61P 9/12 (2006.01)

ORGANIC COMPOSITIONS TO TREAT BETA-ENaC-RELATED DISEASES (2006.01)

## 二、中文發明摘要：

本發明係關於RNAi劑，使用治療有效量之針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑可用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病之方法，該等疾病諸如囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群(Liddle's syndrome)、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。

## 三、英文發明摘要：

The present disclosure relates to RNAi agents useful in methods of treating Beta-ENaC-related diseases such as cystic fibrosis, pseudohypoaldosteronism type 1 (PHA1), Liddle's syndrome, hypertension, alkalosis, hypokalemia, and obesity-associated hypertension, using a therapeutically effective amount of a RNAi agent to Beta-ENaC.

四、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（1）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

(無元件符號說明)

五、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

(無)

## 六、發明說明：

本申請案根據35 U.S.C. § 119(a)-(d)規定主張2010年4月23日申請之美國臨時申請案61/327,379及2010年5月11日申請之美國臨時申請案61/333,398的權利，其內容以全文引用的方式併入本文中。

### 【先前技術】

環境與身體之間的黏膜表面具有許多保護機制。一種防禦形式為以液體清潔表面。液體之量反映上皮液體分泌(其通常反映與水及陽離子相對離子偶合之陰離子分泌)與液體吸收(其通常反映與水及相對陰離子偶合之 $\text{Na}^+$ 吸收)之間的平衡。許多黏膜表面疾病由液體過少引起，此液體過少又由分泌(過少)與吸收(過多)之間的失衡引起。一種平衡液體層之方法為降低 $\text{Na}^+$ 通道介導之液體吸收。

非電壓閘控阿米洛利(amiloride)敏感性鈉通道在許多器官中控制流體及電解質傳輸通過上皮細胞。許多密集的上皮細胞之頂膜含有鈉通道，其主要特徵在於其對利尿阻斷劑阿米洛利之高親和力。此等通道介導保持身體鹽與水內穩定所必需之活性鈉再吸收的第一步。在脊椎動物中，該等通道控制鈉於腎、結腸、肺及汗腺中之再吸收；其亦在味知覺中起作用。

$\text{Na}^+$ 及液體吸收之限速步驟由上皮鈉( $\text{Na}^+$ )通道(ENaC)介導。此等鈉通道為由3個子單元組成之異質複合物： $\alpha$ -ENaC、 $\beta$ -ENaC及 $\gamma$ -ENaC。

$\beta$ -ENaC(亦稱為SCNN1B)編碼此鈉通道之 $\beta$ 子單元，且此

基因之突變及/或改變之表現與若干疾病有關(及/或與疾病之治療有關)：包括囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群(Liddle's syndrome)、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。

需要與 $\beta$ -ENaC相關疾病有關的治療。

### 【發明內容】

本發明涵蓋針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑，其適用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病，諸如囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。本發明亦涵蓋治療患有至少部分由 $\alpha$ -ENaC表現介導之病理學狀態的人類個體之方法，該方法包含向個體投與治療有效量之RNAi劑 $\beta$ -ENaC的步驟。

本發明提供適用於降低個體(例如哺乳動物，諸如人類)之 $\beta$ -ENaC含量的特異性RNAi劑及方法。本發明特定提供雙股RNAi劑，其包含 $\beta$ -ENaC之至少15個或15個以上連續(contiguous)核苷酸。詳言之，本發明提供包含有0、1、2或3個核苷酸與例如表1中提供之RNAi劑之彼等不同的15或15個以上連續核苷酸之序列的試劑。在一實施例中，RNAi劑尤其可包含每股少於30個核苷酸，例如18-23個核苷酸、及/或19-21個核苷酸，及/或諸如在例如表1中提供之彼等。

雙股RNAi劑可具有來自3'及/或5'端之一者或兩者的1、2、3或4個核苷酸(亦即1-4個nt)之鈍端或懸垂物。雙股RNAi劑亦可視情況包含1或2個3'帽端及/或一或多個經修

飾核苷酸。本文提供之序列的經修飾變異體包括其他方面相同但含有之天然存在核苷酸取代為相應經修飾核苷酸的彼等。

此外，RNAi劑可僅含有天然存在之核糖核苷酸子單元，或對一或多個置換核苷酸子單元之糖、磷酸酯或鹼基的一或多個修飾，不管其是否包含核糖核苷酸子單元或去氧核糖核苷酸子單元。在一實施例中，所揭示RNAi劑之經修飾變異體包括具有相同序列但具有對一或多個核苷酸子單元之糖、磷酸酯或鹼基中一或多者的一或多個修飾之RNAi劑。在一實施例中，修飾改良RNAi劑之功效、穩定性及/或降低RNAi劑之免疫原性。本發明之一態樣係關於包含至少一個非天然核苷鹼基之雙股寡核苷酸。在某些實施例中，非天然核苷鹼基為二氟甲苯基、硝基呡哚基、硝基吡咯基或硝基咪唑基。在一特定實施例中，非天然核苷鹼基為二氟甲苯基。在特定實施例中，兩個寡核苷酸股中僅一者含有非天然核苷鹼基。在特定實施例中，兩個寡核苷酸股中兩者皆含有非天然核苷鹼基。

RNAi劑可視情況連接於經選擇以改良一或多種特徵之配位體，特徵諸如試劑(例如膽固醇或其衍生物)之穩定性、分佈及/或細胞攝取。RNAi劑可經分離或為用於本文所述方法之醫藥組合物之一部分。特定言之，醫藥組合物可經調配以傳遞至肺或鼻孔或調配用於非經腸投與(parental administration)。醫藥組合物可視情況包含兩種或兩種以上RNAi劑，其每一者皆針對 $\beta$ -ENaC mRNA之相

同或不同區段。醫藥組合物可視情況另外包含任何 $\beta$ -ENaC相關疾病之任何已知治療或與其結合使用。

本發明另外提供降低細胞中 $\beta$ -ENaC mRNA之含量的方法，尤其在以ENaC之過度表現或高活性為特徵之疾病的情形中。本發明亦涵蓋治療患有至少部分由 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學狀態的人類個體之方法，該方法包含向個體投與治療有效量之RNAi劑 $\beta$ -ENaC的步驟。該等方法包含如下文進一步描述向個體投與本發明之一種RNAi劑的步驟。本發明方法利用RNA干擾中涉及之細胞機制以使細胞中之目標RNA選擇性降級，且包含使細胞與本發明之一種RNAi劑接觸的步驟。該等方法可對細胞直接進行或可藉由向哺乳動物個體投與一種本發明RNAi劑/醫藥組合物對該個體進行。降低細胞中之目標 $\beta$ -ENaC RNA導致降低所產生的編碼 $\beta$ -ENaC蛋白質之量。在一生物體中，此可導致降低上皮位差、平衡液體吸收及提高黏膜纖毛清除率。

本發明方法及組合物(例如方法及 $\beta$ -ENaC RNAi劑組合物)可與本文所述之任何劑量及/或調配物，以及本文所述之任何投與途徑一起使用。

在隨附圖式及以下說明書中闡述本發明之一或多個實施例之細節。本發明之其他特徵、目標及優勢自本說明書、圖式及申請專利範圍將顯而易知。

### 【實施方式】

本發明涵蓋針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑，其適用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病(例如與 $\beta$ -ENaC之表現、含量及/或活性突

變及/或改變有關之疾病、及/或可藉由調節 $\beta$ -ENaC之表現、含量及/或活性治療之疾病)，諸如囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。本發明亦提供治療患有至少部分由 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學狀態的人類個體之方法，該方法包含向個體投與治療有效量之RNAi劑 $\beta$ -ENaC的步驟。

● 本發明之多個實施例包括：

包含本文所述之反義股的RNAi劑。

在一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中該反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與對例如表1中提供之 $\beta$ -ENaC(或對 $\beta$ -ENaC具有特異性之重疊RNAi劑的任何組)具有特異性之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。在另一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文提供之任何序列的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。在另一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含第一股及第二股，其中第一股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文提供之任何RNAi劑的第一股序列不同之至少15個連續核苷酸，且第二股包含有0、1、2或3個核苷酸與其第二股序列不同之至少15個連續核苷酸。

特定雙鏈體包括以下，其中各雙鏈體包含一組SEQ ID

NO，其中第一SEQ ID NO對應於第一股(例如有義股)，且第二SEQ ID NO對應於第二股(例如反義股)：AD-20805(SEQ ID NO. 111及 112)；AD-20806(SEQ ID NO. 113及 114)；AD-20807(SEQ ID NO. 115 及 116)；AD-20808(SEQ ID NO. 117及 118)；AD-20809(SEQ ID NO. 119及 120)；AD-20810(SEQ ID NO. 121 及 122)；AD-20811(SEQ ID NO. 123及 124)；AD-20812(SEQ ID NO. 125及 126)；AD-20813(SEQ ID NO. 127 及 128)；AD-20814(SEQ ID NO. 129及 130)；AD-20815(SEQ ID NO. 131及 132)；AD-20816(SEQ ID NO. 133 及 134)；AD-20817(SEQ ID NO. 135及 136)；AD-20818(SEQ ID NO. 137及 138)；AD-20819(SEQ ID NO. 139 及 140)；AD-20820(SEQ ID NO. 141及 142)；AD-20821(SEQ ID NO. 143及 144)；AD-20822(SEQ ID NO. 145 及 146)；AD-20823(SEQ ID NO. 147及 148)；AD-20824(SEQ ID NO. 149及 150)；AD-20825(SEQ ID NO. 151 及 152)；AD-20826(SEQ ID NO. 153及 154)；AD-20827(SEQ ID NO. 155及 156)；AD-20828(SEQ ID NO. 157 及 158)；AD-20829(SEQ ID NO. 159及 160)；AD-20830(SEQ ID NO. 161及 162)；AD-20831(SEQ ID NO. 163 及 164)；AD-20832(SEQ ID NO. 165及 166)；AD-20833(SEQ ID NO. 167及 168)；AD-20834(SEQ ID NO. 169 及 170)；AD-20835(SEQ ID NO. 171及 172)；AD-20836(SEQ ID NO. 173及 174)；AD-20837(SEQ ID NO. 175 及 176)；AD-

20838(SEQ ID NO. 177及178)；AD-20839(SEQ ID NO. 179及 180)；AD-20840(SEQ ID NO. 181 及 182)；AD-20841(SEQ ID NO. 183及184)；AD-20842(SEQ ID NO. 185及 186)；AD-20843(SEQ ID NO. 187 及 188)；AD-20844(SEQ ID NO. 189及190)；D-20845(SEQ ID NO. 191及 192)；AD-20846(SEQ ID NO. 193 及 194)；AD-20847(SEQ ID NO. 195及196)；AD-20848(SEQ ID NO. 197及 198)；AD-20849(SEQ ID NO. 199 及 200)；AD-20850(SEQ ID NO. 201及202)；AD-20851(SEQ ID NO. 203及 204)；AD-20852(SEQ ID NO. 205 及 206)；AD-20861(SEQ ID NO. 207及208)；AD-20862(SEQ ID NO. 209及 210)；AD-20863(SEQ ID NO. 211 及 212)；AD-20864(SEQ ID NO. 213及214)；AD-20865(SEQ ID NO. 215及 216)；AD-20866(SEQ ID NO. 217 及 218)；及 AD-20867(SEQ ID NO. 219及220)，及其經修飾變異體。

一 實施例提供特定雙鏈體之經修飾變異體，其中各雙鏈體包含一組SEQ ID NO，其中第一SEQ ID NO對應於第一股(例如有義股)，且第二SEQ ID NO對應於第二股(例如反義股)，其選自由以下組成之群：AD-20805(SEQ ID NO. 1及2)；AD-20806(SEQ ID NO. 3及4)；AD-20807(SEQ ID NO. 5及6)；AD-20808(SEQ ID NO. 7及8)；AD-20809(SEQ ID NO. 9及10)；AD-20810(SEQ ID NO. 11及12)；AD-20811(SEQ ID NO. 13及14)；AD-20812(SEQ ID NO. 15及16)；AD-20813(SEQ ID NO. 17及18)；AD-20814(SEQ ID

NO. 19 及 20) ; AD-20815(SEQ ID NO. 21 及 22) ; AD-20816(SEQ ID NO. 23 及 24) ; AD-20817(SEQ ID NO. 25 及 26) ; AD-20818(SEQ ID NO. 27 及 28) ; AD-20819(SEQ ID NO. 29 及 30) ; AD-20820(SEQ ID NO. 31 及 32) ; AD-20821(SEQ ID NO. 33 及 34) ; AD-20822(SEQ ID NO. 35 及 36) ; AD-20823(SEQ ID NO. 37 及 38) ; AD-20824(SEQ ID NO. 39 及 40) ; AD-20825(SEQ ID NO. 41 及 42) ; AD-20826(SEQ ID NO. 43 及 44) ; AD-20827(SEQ ID NO. 45 及 46) ; AD-20828(SEQ ID NO. 47 及 48) ; AD-20829(SEQ ID NO. 49 及 50) ; AD-20830(SEQ ID NO. 51 及 52) ; AD-20831(SEQ ID NO. 53 及 54) ; AD-20832(SEQ ID NO. 55 及 56) ; AD-20833(SEQ ID NO. 57 及 58) ; AD-20834(SEQ ID NO. 59 及 60) ; AD-20835(SEQ ID NO. 61 及 62) ; AD-20836(SEQ ID NO. 63 及 64) ; AD-20837(SEQ ID NO. 65 及 66) ; AD-20838(SEQ ID NO. 67 及 68) ; AD-20839(SEQ ID NO. 69 及 70) ; AD-20840(SEQ ID NO. 71 及 72) ; AD-20841(SEQ ID NO. 73 及 74) ; AD-20842(SEQ ID NO. 75 及 76) ; AD-20843(SEQ ID NO. 77 及 78) ; AD-20844(SEQ ID NO. 79 及 80) ; AD-20845(SEQ ID NO. 81 及 82) ; AD-20846(SEQ ID NO. 83 及 84) ; AD-20847(SEQ ID NO. 85 及 86) ; AD-20848(SEQ ID NO. 87 及 88) ; AD-20849(SEQ ID NO. 89 及 90) ; AD-20850(SEQ ID NO. 91 及 92) ; AD-20851(SEQ ID NO. 93 及 94) ; AD-20852(SEQ ID NO. 95 及 96) ; AD-20861(SEQ ID NO. 97 及 98) ; AD-20862(SEQ ID

NO. 99及100)；AD-20863(SEQ ID NO. 101及102)；AD-20864(SEQ ID NO. 103及104)；AD-20865(SEQ ID NO. 105及106)；AD-20866(SEQ ID NO. 107及108)；及AD-20867(SEQ ID NO. 109及110)。

### 特定組合物

在一實施例中，本發明係關於包含具有反義股之RNAi劑之組合物，其中該反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文表(例如表1)中提供之選自任何序列(或重疊序列組)的 $\beta$ -ENaC之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。在一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中該反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文表(例如表1)中提供之選自任何序列(或重疊序列組)的 $\beta$ -ENaC之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。在另一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文提供之任何序列的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。在另一實施例中，本發明係關於包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含第一股及第二股，其中第一股包含有0、1、2或3個核苷酸與本文提供之任何RNAi劑的第一股序列不同之至少15個連續核苷酸，且第二股包含有0、1、2或3個核苷酸與其第二股序列不同之至少15個連續核苷酸。特定雙鏈體包括上文提供及如表1中任何一或多者所列之彼等特異性雙鏈體。上文各組合物之其他經修飾序列(例如包含一或

多個經修飾鹼基之序列)亦作為本發明之一部分而涵蓋。

下表 A1 提供  $\beta$ -ENaC 之多種 RNAi 劑之有義股及反義股的未經修飾及實例經修飾序列的 SEQ ID NO。每一者之鹼基組成為表 1 中更詳細提供之由 SEQ ID NO 表示之特異性序列，且其部分提供於表 2 中。

**表 A1. 鈒對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑的第一及第二股(例如有義(「SS」)及反義(「AS」)股)之 SEQ ID NO**

| RNAi 劑-雙鏈體名稱 |    | 經修飾序列<br>SEQ ID NO | 未經修飾序列<br>SEQ ID NO |
|--------------|----|--------------------|---------------------|
| AD-20805     | 有義 | 1                  | 111                 |
|              | 反義 | 2                  | 112                 |
| AD-20806     | 有義 | 3                  | 113                 |
|              | 反義 | 4                  | 114                 |
| AD-20807     | 有義 | 5                  | 115                 |
|              | 反義 | 6                  | 116                 |
| AD-20808     | 有義 | 7                  | 117                 |
|              | 反義 | 8                  | 118                 |
| AD-20809     | 有義 | 9                  | 119                 |
|              | 反義 | 10                 | 120                 |
| AD-20810     | 有義 | 11                 | 121                 |
|              | 反義 | 12                 | 122                 |
| AD-20811     | 有義 | 13                 | 123                 |
|              | 反義 | 14                 | 124                 |
| AD-20812     | 有義 | 15                 | 125                 |
|              | 反義 | 16                 | 126                 |
| AD-20813     | 有義 | 17                 | 127                 |
|              | 反義 | 18                 | 128                 |
| AD-20814     | 有義 | 19                 | 129                 |
|              | 反義 | 20                 | 130                 |
| AD-20815     | 有義 | 21                 | 131                 |
|              | 反義 | 22                 | 132                 |
| AD-20816     | 有義 | 23                 | 133                 |
|              | 反義 | 24                 | 134                 |
| AD-20817     | 有義 | 25                 | 135                 |
|              | 反義 | 26                 | 136                 |
| AD-20818     | 有義 | 27                 | 137                 |
|              | 反義 | 28                 | 138                 |

|          |    |    |     |
|----------|----|----|-----|
| AD-20819 | 有義 | 29 | 139 |
|          | 反義 | 30 | 140 |
| AD-20820 | 有義 | 31 | 141 |
|          | 反義 | 32 | 142 |
| AD-20821 | 有義 | 33 | 143 |
|          | 反義 | 34 | 144 |
| AD-20822 | 有義 | 35 | 145 |
|          | 反義 | 36 | 146 |
| AD-20823 | 有義 | 37 | 147 |
|          | 反義 | 38 | 148 |
| AD-20824 | 有義 | 39 | 149 |
|          | 反義 | 40 | 150 |
| AD-20825 | 有義 | 41 | 151 |
|          | 反義 | 42 | 152 |
| AD-20826 | 有義 | 43 | 153 |
|          | 反義 | 44 | 154 |
| AD-20827 | 有義 | 45 | 155 |
|          | 反義 | 46 | 156 |
| AD-20828 | 有義 | 47 | 157 |
|          | 反義 | 48 | 158 |
| AD-20829 | 有義 | 49 | 159 |
|          | 反義 | 50 | 160 |
| AD-20830 | 有義 | 51 | 161 |
|          | 反義 | 52 | 162 |
| AD-20831 | 有義 | 53 | 163 |
|          | 反義 | 54 | 164 |
| AD-20832 | 有義 | 55 | 165 |
|          | 反義 | 56 | 166 |
| AD-20833 | 有義 | 57 | 167 |
|          | 反義 | 58 | 168 |
| AD-20834 | 有義 | 59 | 169 |
|          | 反義 | 60 | 170 |
| AD-20835 | 有義 | 61 | 171 |
|          | 反義 | 62 | 172 |
| AD-20836 | 有義 | 63 | 173 |
|          | 反義 | 64 | 174 |
| AD-20837 | 有義 | 65 | 175 |
|          | 反義 | 66 | 176 |
| AD-20838 | 有義 | 67 | 177 |
|          | 反義 | 68 | 178 |
| AD-20839 | 有義 | 69 | 179 |
|          | 反義 | 70 | 180 |
| AD-20840 | 有義 | 71 | 181 |
|          | 反義 | 72 | 182 |

|          |    |     |     |
|----------|----|-----|-----|
| AD-20841 | 有義 | 73  | 183 |
|          | 反義 | 74  | 184 |
| AD-20842 | 有義 | 75  | 185 |
|          | 反義 | 76  | 186 |
| AD-20843 | 有義 | 77  | 187 |
|          | 反義 | 78  | 188 |
| AD-20844 | 有義 | 79  | 189 |
|          | 反義 | 80  | 190 |
| AD-20845 | 有義 | 81  | 191 |
|          | 反義 | 82  | 192 |
| AD-20846 | 有義 | 83  | 193 |
|          | 反義 | 84  | 194 |
| AD-20847 | 有義 | 85  | 195 |
|          | 反義 | 86  | 196 |
| AD-20848 | 有義 | 87  | 197 |
|          | 反義 | 88  | 198 |
| AD-20849 | 有義 | 89  | 199 |
|          | 反義 | 90  | 200 |
| AD-20850 | 有義 | 91  | 201 |
|          | 反義 | 92  | 202 |
| AD-20851 | 有義 | 93  | 203 |
|          | 反義 | 94  | 204 |
| AD-20852 | 有義 | 95  | 205 |
|          | 反義 | 96  | 206 |
| AD-20861 | 有義 | 97  | 207 |
|          | 反義 | 98  | 208 |
| AD-20862 | 有義 | 99  | 209 |
|          | 反義 | 100 | 210 |
| AD-20863 | 有義 | 101 | 211 |
|          | 反義 | 102 | 212 |
| AD-20864 | 有義 | 103 | 213 |
|          | 反義 | 104 | 214 |
| AD-20865 | 有義 | 105 | 215 |
|          | 反義 | 106 | 216 |
| AD-20866 | 有義 | 107 | 217 |
|          | 反義 | 108 | 218 |
| AD-20867 | 有義 | 109 | 219 |
|          | 反義 | 110 | 220 |

舉例而言，在表 A1 中，RNAi 劑 AD-20805 之例示性經修飾序列由 SEQ ID NO: 1(有義股)及 SEQ ID NO: 2(反義股)表示。AD-20805 之未經修飾之序列由 SEQ ID NO: 111(有

義股)及 SEQ ID NO: 112(反義股)表示。因此，表 A1 呈現針對  $\beta$ -ENaC 之多種 RNAi 劑中每一者之未經修飾序列之第一及第二股的 SEQ ID NO 識別符及至少一種例示性經修飾序列。

#### 包含本文所述之反義股的 RNAi 劑。

在一特定實施例中，本發明係關於包含具有反義股之 RNAi 劑之組合物，其中該反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與選自本文提供及例如表 1 列出之特異性雙鏈體中之彼等反義股的針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

下文描述此實施例之多個具體實施例。

在一實施例中，組合物另外包含針對  $\beta$ -ENaC 之第二 RNAi 劑。在多個實施例中，第二 RNAi 劑與第一 RNAi 劑物理上分離，或兩者物理上連接(例如共價連接或結合)。

在一實施例中，反義股長度為約 30 nt 或 30 nt 以下。

在一實施例中，有義股及反義股形成長度約 15 至約 30 個核苷酸對之雙鏈體區。

在一實施例中，反義股長度為約 15 至約 36 nt，包括長度約 18 至約 30 nt，且另外包括長度約 19 至約 23 nt。在一實施例中，反義股具有至少選自約 15 nt、約 16 nt、約 17 nt、約 18 nt、約 19 nt、約 20 nt、約 21 nt、約 22 nt、約 23 nt、約 24 nt、約 25 nt、約 26 nt、約 27 nt、約 28 nt、約 29 nt 及約 30 nt 之長度。

在一實施例中，RNAi 劑包含使 RNAi 劑在生物樣品或環

境(例如血清或腸灌洗液)中穩定性增加的修飾。

在一實施例中，RNAi劑包含至少一個糖骨架修飾(例如硫代磷酸酯鍵聯)及/或至少一個2'-經修飾核苷酸。在一實施例中，所有嘧啶為2' O-甲基-修飾核苷酸。

在一實施例中，RNAi劑包含：至少一個5'-尿昔-腺嘌呤-3'(5'-ua-3')二核苷酸，其中尿昔為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-尿昔-鳥嘌呤-3'(5'-ug-3')二核苷酸，其中5'-尿昔為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-胞昔-腺嘌呤-3'(5'-ca-3')二核苷酸，其中5'-胞昔為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-尿昔-尿昔-3'(5'-uu-3')二核苷酸，其中5'-尿昔為2'-經修飾核苷酸。

在一實施例中，RNAi劑包含選自由以下組成之群的2'-修飾：2'-去氧、2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-胺基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲胺基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲胺基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲胺基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)及2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)。在一實施例中，所有嘧啶為2' O-甲基-修飾核苷酸。

在一實施例中，RNAi劑包含鈍端。

在一實施例中，RNAi劑包含具有1至4個未配對核苷酸之懸垂物。

在一實施例中，RNAi劑在RNAi劑之反義股的3'端包含懸垂物。

在一實施例中，RNAi劑接合至一或多種診斷化合物、

報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基(unusual nucleobase)、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素(lectin)、類固醇、烏蘇醇(uvaol)、龍舌蘭皂苷元(hecigenin)、薯蕷皂苷元(diosgenin)、萜類、三萜、菝葜皂苷元(sarsasapogenin)、無羈萜(Friedelin)、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭(pullulan)、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯15-聚合體(15-mer)、天然聚合物、低分子量或中等分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及/或運鐵蛋白。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約60%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約70%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約80%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約90%。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.1 nM。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.01 nM。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.001 nM。

包含本文所述第一及第二股之RNAi劑

在一特定具體實施例中，本發明係關於一種包含RNAi

劑之組合物，該RNAi劑包含第一股及第二股，其中該第一股及該第二股包含各自有0、1、2或3個核苷酸分別與針對選自本文提供及例如表1列出之特異性雙鏈體的 $\beta$ -ENaC之RNAi劑之第一股及第二股不同的至少15個連續核苷酸。

下文描述此實施例之多個具體實施例。

在一實施例中，組合物另外包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。在多個實施例中，第二RNAi劑與第一RNAi劑物理上分離，或兩者物理上連接(例如共價連接或結合)。

在一實施例中，反義股長度為約30 nt或30 nt以下。

在一實施例中，有義股及反義股形成長度約15至約30 nt對之雙鏈體區。

在一實施例中，反義股長度為約15至約36 nt，包括長度約18至約23 nt，且包括長度約19至約23 nt。在一實施例中，反義股具有至少選自約15 nt、約16 nt、約17 nt、約18 nt、約19 nt、約20 nt、約21 nt、約22 nt、約23 nt、約24 nt、約25 nt、約26 nt、約27 nt、約28 nt、約29 nt及約30 nt之長度。

在一實施例中，RNAi劑包含使RNAi劑在生物樣品或環境(例如血清或腸灌洗液)中穩定性增加的修飾。

在一實施例中，RNAi劑包含至少一個糖骨架修飾(例如硫代磷酸酯鍵聯)及/或至少一個2'-經修飾核苷酸。在一實施例中，所有嘧啶為2'O-甲基-修飾核苷酸。

在一實施例中，RNAi劑包含：至少一個5'-尿苷-腺嘌呤-

3'(5'-ua-3')二核苷酸，其中尿苷為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-尿苷-鳥嘌呤-3'(5'-ug-3')二核苷酸，其中5'-尿苷為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-胞苷-腺嘌呤-3'(5'-ca-3')二核苷酸，其中5'-胞苷為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-尿苷-尿苷-3'(5'-uu-3')二核苷酸，其中5'-尿苷為2'-經修飾核苷酸。

在一實施例中，RNAi劑包含選自由以下組成之群的2'-修飾：2'-去氧、2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲胺基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲胺基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲胺基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)及2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)。

在一實施例中，RNAi劑包含鈍端。

在一實施例中，RNAi劑包含具有1至4個未配對核苷酸之懸垂物。

在一實施例中，RNAi劑在RNAi劑之反義股的3'端包含懸垂物。

在一實施例中，RNAi劑接合至一或多種診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂苷元、薯蕷皂苷元、萜類、三萜、菝葜皂苷元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯15-聚合體、天然聚合



物、低分子量或中等分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及/或運鐵蛋白。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約60%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約70%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約80%。

在一實施例中，RNAi劑在H441細胞中在10 nM之濃度下能夠將 $\beta$ -ENaC基因之表現活體外抑制至少約90%。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.1 nM。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.01 nM。

在一實施例中，RNAi之EC50不超過約0.001 nM。

#### 使用本文所述RNAi劑之治療方法

在一特定實施例中，本發明係關於治療個體中 $\beta$ -ENaC相關疾病之方法，包含向個體投與治療有效量之組合物的步驟，該組合物包含具有至少一反義股之RNAi劑，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1所列之特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同之至少15個連續核苷酸。在另一實施例中，本發明係關於如下方法，其中該組合物包含另外具有有義股之RNAi劑，其中該有義股包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC

的RNAi劑之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

下文描述此實施例之多個特定具體實施例。

在一實施例中， $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓。

在一實施例中， $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化。

在一實施例中，該方法另外包含投與額外治療。在一實施例中，額外治療為治療有效量之組合物。

在一實施例中，額外治療為一方法(或程序)。

在一實施例中，額外治療及RNAi劑可以任何順序投與，或可同時投與。

在一實施例中，該方法另外包含投與用於囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓之額外治療的步驟。

在一實施例中，該方法另外包含投與選自以下之清單的額外治療或療法的步驟：ENaC之其他拮抗劑、留鉀利尿劑、阿米洛利、胺苯喋啶(triamterene)、膳食鹽攝取調節、抗生素、DNase療法、沙丁胺醇(albutrol)、N-乙醯基半胱氨酸、呼吸療法、叩診療法及需氧運動。

在一實施例中，組合物包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。在多個實施例中，第二RNAi劑與第一RNAi劑物理上分離，或兩者物理上連接(例如共價連接或結合)。

在一實施例中，該方法另外包含投與額外RNAi劑之步



驟，該額外RNAi劑包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

#### 使用本文所述之RNAi劑抑制 $\beta$ -ENaC表現之方法

在一特定實施例中，本發明係關於抑制個體中 $\beta$ -ENaC基因表現之方法，包含向個體投與治療有效量之包含本發明RNAi劑之組合物的步驟。在一實施例中，RNAi劑包含至少一反義股，及/或包含有義及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之彼等特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

下文描述本發明之此態樣的多個實施例。

在一實施例中，個體受 $\beta$ -ENaC相關疾病折磨或易患 $\beta$ -ENaC相關疾病。

在一實施例中， $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓。

在一實施例中， $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化。

在一實施例中，該方法另外包含投與額外治療。在一實施例中，額外治療為治療有效量之組合物。

在一實施例中，額外治療為一方法(或程序)。

在一實施例中，額外治療及RNAi劑可以任何順序投與，或可同時投與。

在一實施例中，該方法另外包含投與用於囊腫性纖維

化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓之額外治療的步驟。

在一實施例中，該方法另外包含投與選自以下之清單的額外治療或療法的步驟：ENaC之其他拮抗劑、留鉀利尿劑、阿米洛利、胺苯喋啶、膳食鹽攝取調節、抗生素、DNase療法、沙丁胺醇(albutrol)、N-乙醯基半胱胺酸、呼吸療法、叩診療法及需氧運動。

在一實施例中，組合物包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。在多個實施例中，第二RNAi劑與第一RNAi劑物理上分離，或兩者物理上連接(例如共價連接或結合)。

在一實施例中，該方法另外包含投與額外RNAi劑之步驟，該額外RNAi劑包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的醫藥調配物

在一特定實施例中，本發明係關於包含本發明RNAi劑之組合物。在一實施例中，RNAi劑包含至少一反義股，及/或包含有義及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之彼等特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸，其中該組合物在醫藥學上有效之調配物中。

在一實施例中，本發明係關於RNAi劑之用途，其用於製造用以治療 $\beta$ -ENaC相關疾病之藥物，其中該RNAi劑包

含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與針對選自本文提供及例如表1列出之彼等特異性雙鏈體之 $\beta$ -ENaC的RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

### ENaC

「ENaC」意謂上皮鈉通道，由三種不同但同源之子單元( $\alpha$ 、 $\beta$ 及 $\gamma$ )構成之膜蛋白。

ENaC存在於遠端腎元(皮層及髓質集合管)及遠端結腸之上皮細胞之頂膜、及氣管及若干腺之排泄管中。ENaC亦表現於胎盤、腦及膀胱中。其提供 $\text{Na}^+$ 且連同位於相同細胞之基側膜中之 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase一起自此等器官之腔室進入上皮細胞的控制進入路徑，且負責將 $\text{Na}^+$ 自外部介質經上皮細胞主動向量傳輸至胞外流體中且向血液傳輸。ENaC位於面向腔室之頂膜上，且允許鈉自腔室移動至上皮細胞中。經ENaC再吸收之鈉接著藉由 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase自上皮細胞擠壓回到血流中。藉由滲透攝取水以維持恆定胞外 $\text{Na}^+$ 濃度來實現ENaC對鈉的再吸收。此改變血量且隨後影響血壓。因此，ENaC在電解質內穩定及血量與血壓控制中起重要作用。參看例如Saxena等人，1998 Biochem. Biophys. Res. Comm. 252: 208-213。

ENaC在表現其之多個器官中具有不同功能作用。在腎臟(集合管)中， $\text{Na}^+$ 經ENaC之調節再吸收提供調節尿 $\text{Na}^+$ 排出之主要機制，且因此允許在醛固酮之激素控制下精密控制整個生物體 $\text{Na}^+$ 平衡。藉由對頂膜電位之去極化作用，

$\text{Na}^+$ 通道亦提供管  $\text{K}^+$  分泌之驅動力。

ENaC 之特異性抑制劑促進尿  $\text{Na}^+$  排出且抑制  $\text{K}^+$  分泌；此等藥物（包括阿米洛利及胺苯喋啶）因此用作留  $\text{K}^+$  利尿劑。ENaC 在遠端結腸中具有類似功能作用，防止糞便中過量  $\text{Na}^+$  損失。在氣管中，重要作用為出生時填充氣管之流體的再吸收，促進流體分泌（出生前）轉換為流體再吸收（出生後）。

對於囊腫性纖維化跨膜傳導調節子，其亦參與氣管中保持黏膜清除必需之薄黏膜流體膜的對流體平衡的精密調節。在唾液腺及汗腺的排泄管中，ENaC 之活性傾向於降低魯米那(luminal)  $\text{Na}^+$  濃度，允許分泌鹽分較少之唾液且防止汗液中大量損失  $\text{Na}^+$ 。參看例如 Hummeler 等人，1999 Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571 及其中引用之參考文獻。

ENaC 之序列及/或表現中之改變及突變可導致 ENaC 之過度表現或高活性。假設本發明之 RNAi 劑藉由降低  $\beta$ -ENaC 含量恢復  $\text{Na}^+$  再吸收經調節之平衡。

### $\beta$ -ENaC

「 $\beta$ -ENaC」意謂基因或蛋白質阿米洛利敏感性鈉通道子單元  $\beta$ （或編碼此蛋白質之任何核酸），亦不同地命名為：鈉通道、非電壓閘控 1， $\beta$ ；SCNN1B；bENaC；ENaCb；ENaC- $\beta$ ；SCNEB 或  $\beta$ -ENaC。其他識別符包括：OMIM: 600760；MGI: 104696；HomoloGene: 284；及 GeneCards: SCNN1B。可發現其他資訊：人類：Entrez 6338；Ensembl

ENSG00000168447 ; UniProt P51168 ; RefSeq (mRNA) NM\_000336 ; RefSeq (蛋白質) NP\_000327 ; Location (UCSC) Chr 16: 23.22-23.3 Mb。小鼠：Entrez 20277；Ensembl ENSMUSG00000030873 ; UniProt Q3TP51 ; RefSeq (mRNA) NM\_011325 RefSeq (蛋白質) NP\_035455；位置 (UCSC) Chr 7: 121.66-121.71 Mb。

人類  $\beta$ -ENaC 之胺基酸序列提供於 Saxena 等人，1998 Biochem. Biophys. Res. Comm. 252: 208-213 中。

已描繪  $\beta$ -ENaC 之功能域。蛋白質具有胞內 N 末端結構域 [胺基酸(「aa」)1 至 50]、第一跨膜結構域(aa 51 至 71)、胞外環(aa 72 至 533)、第二跨膜結構域(aa 534 至 553) 及 C 末端胞內結構域(aa 554 至 640)。

C 末端胞內結構域含有兩個區，其中突變與李德爾症候群及其他疾病有關：在胺基酸 564 至 595 之區中及「PY」基元 [胺基酸共同序列 PPXY 在 aa(胺基酸)615 至 618 處]。參看例如 Saxena 等人. 1998。

本發明之  $\beta$ -ENaC RNAi 劑可與對應於  $\beta$ -ENaC 之特異性功能域的一部分 mRNA 相互作用。在多個實施例中，本文之 RNAi 劑在對應於功能域之序列中，例如在 N 末端胞內結構域中，在第一跨膜結構域中，在胞外環中，在第二跨膜結構域中或在 C 末端胞內結構域中，或更特定言之在胺基酸 564 至 595 之區中，或在 PY 基元(胺基酸 615 至 618)中特異性結合於  $\beta$ -ENaC mRNA。

在多個實施例中，本發明之 RNAi 劑結合於 5' 或 3'

UTR(亦即未轉譯區)。

在多個實施例中，本發明之RNAi劑結合於 $\beta$ -ENaC mRNA，但不在對應於特定功能域之序列中，例如不在N末端胞內結構域中、不在第一跨膜結構域中、不在胞外環中、不在第二跨膜結構域中、或不在C末端胞內結構域中，或更特定言之不在胺基酸564至595之區中，或不在PY基元(胺基酸615至618)中。

在本文之實施例中，RNAi劑與 $\beta$ -ENaC mRNA之特定區結合導致 $\beta$ -ENaC之表現、含量及/或活性降低。

RNAi劑降低 $\beta$ -ENaC含量之功效可例如藉由量測 $\beta$ -ENaC mRNA豐度或蛋白質本身含量直接量測。或者，RNAi之功效可藉由量測 $\beta$ -ENaC之任何一或多種已知活性的程度或藉由量測 $\beta$ -ENaC下游之路徑組分的活性改變間接量測。

蛋白質的首要活性為連同 $\alpha$ -ENaC及 $\gamma$ -ENaC，及有時可能 $\delta$ -ENaC一起形成鈉通道ENaC。 $\beta$ -ENaC、 $\gamma$ -ENaC及 $\delta$ -ENaC亦可形成胰臟、睾丸及卵巢中發現之特定類型之通道。 $\beta$ -ENaC亦已顯示與WWP2及NEDD4相互作用。參看例如McDonald等人，(2002). Am. J. Physiol. Renal Physiol. 283 (3): F431-6；Harvey等人，2001. J. Biol. Chem. 276 (11): 8597-601；Farr等人，(2000). Biochem. J. 345 Pt 3: 503-9。 $\beta$ -ENaC之活性可例如藉由其與此等其他生物組分結合及形成功能性單元之能力量測。RNAi劑之功效亦可藉由量測黏膜上之表面液體量且經由表現 $\beta$ -ENaC之組織的組織學研究間接量測。

## 多種物種中之 $\beta$ -ENaC序列

對 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑可經設計使得其序列完全匹配與人類 $\beta$ -ENaC基因及來自測試動物之同源基因對應之mRNA的序列。因此，測試動物(例如大鼠、小鼠、石蟹獮猴等)及人類兩者中可使用完全相同之RNAi劑。已在許多物種中測定多種ENaC基因之序列，包括人類、小鼠、大鼠、牛及雞，尤其如Garty等人，1997 Physiol. Rev. 77: 359-396；及Ahn等人，1999 Am. J. Physiol. 277:F121-F129中所述。

已測定石蟹獮猴(*Macaca fascicularis*，或「cyno」)之 $\beta$ -ENaC序列。

下文顯示cyno $\beta$ -ENaC mRNA(SEQ ID NO: 221)與人類 $\beta$ -ENaC mRNA(SEQ ID NO: 222)序列之比對。

|                    |   |   |
|--------------------|---|---|
| Cyno $\beta$ -ENaC | -----   |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | GTGCTTCCCCGCCCTGAACCTGCTCCCTCCCAGTCGGTCTGCCCGCGCT       | 50  |
| Cyno $\beta$ -ENaC | -----   | GGTACCCAGCTTGCT 15  |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | CGCCGGGTGTCCCAGTGTACCAACACTCGGCCGCCAGCTTGGC 100         | *   |
| Cyno $\beta$ -ENaC | TGTTCTTTGCAGAACGCTCAGAATAAACGCTCAACTTGGCAGATCAAT 65     |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | GCGCACCGCCGCCCTCCGCCACCGCCGACAGCGCGCATCCTCCGTGTCCCC 150 | ** * * * * * *  |
| Cyno $\beta$ -ENaC | TCCCCGGGGATCCGA-ATTGCCACCATGCACGTGAAGAAGTACCTGCTG 114   |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | GCTCCGCCGCCGAGCAGGTGCCACTATGCACGTGAAGAAGTACCTGCTG 200   | *   |
| Cyno $\beta$ -ENaC | AAGTGCCTGCACCGGCTGCAGAACGGCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 164   |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | AAGGGCCTGCATCGCTGCAGAACGGCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 250    | *** |
| Cyno $\beta$ -ENaC | GCTGGTGTGGTACTGCGATAAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGTATCA 214 |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | GCTGGTGTGGTACTGCGACAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGCCTCA 300  | ***** |
| Cyno $\beta$ -ENaC | TCTGCGAGGGGCCAACAAAGAAAGCCGTGTGGTCTGCTCACCTGCTC 264     |   |
| 人類 $\beta$ -ENaC   | TCTGTGAGGGGCCAACAAAGAAAGCCATGTGGTCTGCTCACCTGCTC 350     | ***** |

|  |   |
|--|---|
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC : | TTCACTGCTCTCGTCTGCTGGCAGTGGGCATCTCATCAGGACCTACTT 314<br>TTCGCCGCCCTCGTCTGCTGGCAGTGGGCATCTCATCAGGACCTACTT 400<br>***** * ***** |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | GAGCTGGGAGGTCAAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGAACATGGACT 364<br>GAGCTGGGAGGTCAAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGAACATGGACT 450<br>*****   |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | TCCCCGCCGTACCACATCTGAATGCTAGCCCCTCAAGTATTCAAAGTC 414<br>TCCCTGCCGTACCACATCTGAATGCTAGCCCCTCAAGTATTCAAAGTC 500<br>*****         |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | AAGCATTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGAAAGCTGTCCTGGAGAG 464<br>AAGCATTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGAAAGCTGTCCTGGAGAG 550<br>*****       |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | AATCCTGGCTCCTGAGCTAACGCCATGCCAATGCCACCAGGACCCCTGAAC 514<br>AATCCTGGCTCCTGAGCTAACGCCATGCCAATGCCACCAGGAACCTGAAC 600<br>*****    |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CTTCCATCTGAAACCACACACCCTGGCCTTATTGATGAAACGGAACCCC 564<br>TCTCCATCTGAAACCACACACCCCTGGCCTTATTGATGAAACGGAACCCC 650<br>*****      |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CACCAACCCATGGCCTCGATCTCTTGAGATAACCACAATGGCTTAAC 614<br>CACCAACCCATGGCCTTGATCTCTTGAGACAACCACAATGGCTTAAC 700<br>*****           |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | AAACAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCCATGGGTGCAAAATGG 664<br>AAGCAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCACGGGTGCAAAATGG 750<br>*****      |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CCATGAGACTATGTAGCCTCAACGGGACCCAGTGCACCTTCCGGAACCTTC 714<br>CCATGAGACTATGTAGCCTCAACAGGACCCAGTGTACCTTCCGGAACCTTC 800<br>*****   |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | ACCAGCGCTACCCAGGCAGTGACAGAGTGGTACAGCCTGCAGGCCACCAA 764<br>ACCAGTGCTACCCAGGCATTGACAGAGTGGTACATCCTGCAGGCCACCAA 850<br>*****     |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CATTTGCGCAGGTGCCGCAGCAGGAGCTGGTGGAGATGAGCTACCCCG 814<br>CATTTGCAAGGTGCCACAGCAGGAGCTAGTAGAGATGAGCTACCCCG 900<br>*****          |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTGTTGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 864<br>GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTATTGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 950<br>*****       |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CGGAACCTCACGTCATCTTCACTACATGGCAACTGTTACATCTT 914<br>CGGAACCTCACGTCATCTTCACTACATGGCAACTGTTACATCTT 1000<br>*****                |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACCTCCTCGGCCAACCTGGACCTG 964<br>CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACCTCCTCGGCCAACCTGGACCTG 1050<br>*****        |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC   | AATTGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1014<br>AATTGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1100<br>*****     |

|                          |  |              |
|--------------------------|--|--------------|
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | TTCCTCGCGTCCACGGCTGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC<br>TTCCCTGCGTCCACGGCCGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC   | 1064<br>1150 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | ATACCCCTTCATCAGAGACGAGGGCATCTATGCCATGTCGGGACAGAGA<br>ATACCCCTTCATCAGAGATGAGGGCATCTACGCCATGTCGGGACAGAGA   | 1114<br>1200 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | CGTCCATCGGGTACTCGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGAGCCCTAC<br>CGTCCATCGGGTACTCGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGAGCCCTAC         | 1164<br>1250 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | AGCCC GTGCACCGTGAATGGCTCCGAGGTCCCCGTCAAAACTTCTACAG<br>AGCCC GTGCACCGTGAATGGTCTGAGGTCCCCGTCAAAACTTCTACAG  | 1214<br>1300 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | TGACTACAAACACGACCTACTCCATCCAGGCCTGTCTCGCTCTGCTTCC<br>TGACTACAAACACGACCTACTCCATCCAGGCCTGTCTCGCTCTGCTTCC   | 1264<br>1350 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | AAGACCACATGATCCGTAGCTGCAAGTGTGGGCACTACCTCTACCCACTG<br>AAGACCACATGATCCGTACTGCAACTGTGGCCACTACCTGTACCCACTG  | 1314<br>1400 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | CCCCGTGGGAGAAATACTGCAACAACCGGGACTTCCAGACTGGGCCA<br>CCCCGTGGGAGAAATACTGCAACAACCGGGACTTCCAGACTGGGCCA       | 1364<br>1450 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | TTGCTACTCAGATCTGCAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGAGACCTGCATTG<br>TTGCTACTCAGATCTACAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGAGACCTGCATTG | 1414<br>1500 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | GCATGTGCAAGGAATCCTGCAATGACACCCAGTACAAGATGACTATCTCC<br>GCATGTGCAAGGAGTCCTGCAATGACACCCAGTACAAGATGACCATCTCC | 1464<br>1550 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | ATGGCTGACTGGCCTTCTGAGGCCTCTGAGGACTGGATTTCACGTCTT<br>ATGGCTGACTGGCCTTCTGAGGCCTCCGAGGACTGGATTTCACGTCTT     | 1514<br>1600 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | GTCTCAGGAGCGGGACCAAGCACCAATATCACCTGAGCAGGAAGGGAA<br>GTCTCAGGAGCGGGACCAAGCACCAATATCACCTGAGCAGGAAGGGAA     | 1564<br>1650 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | TTGTCAAGCTCAACATCTACTTCAAAGAATTAACTATCGCACCATTGAA<br>TTGTCAAGCTCAACATCTACTTCAAAGAATTAACTATCGCACCATTGAA   | 1614<br>1700 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | GAATCAGCAGCCAATAACCTCGTCTGGCTGCTCTCAAATCTGGGTGCCA<br>GAATCAGCAGCCAATAACATCGTCTGGCTCTCGAATCTGGGTGCCA      | 1664<br>1750 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | GTTTGGCTTCTGGATGGGGGCTCTGTGCTGTGCCTCATCGAGTTGGGG<br>GTTTGGCTTCTGGATGGGGGCTCTGTGCTGTGCCTCATCGAGTTGGGG     | 1714<br>1800 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | AGATCATCATCGACTTGTGGATCACCACATCAAGCTGGTGGCCTTG<br>AGATCATCATCGACTTGTGGATCACCACATCAAGCTGGTGGCCTTG         | 1764<br>1850 |
| Cyno β-ENaC<br>人類 β-ENaC | GCCAAGAGCCTCCGGCAGCGGGAGCCAAAGCCAGCTACTCCGGCCACC<br>GCCAAGAGCCTACGGCAGCGGGAGCCAAAGCCAGCTACGCTGGCCACC     | 1814<br>1900 |

|  |   |              |
|--|---|--------------|
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | GCCCACGGTGGCTGAGCTGGAGGGCCCACACCAACTTCGGCTACCAGC<br>GCCAACCGTGGCCAGCTGGAGGGCCCACACCAACTTTGGCTTCCAGC             | 1864<br>1950 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>CTGACACGGCCCCCGCAGCCCCAACACCGGGCCCTACCCAGTGAGCAG<br>CTGACACGGCCCCCGCAGCCCCAACACTGGGCCCTACCCAGTGAGCAG   | 1914<br>2000 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>GCCCTGCCCATCCGGGCACCCCGCCCCAACATGACTCCCTGCGTCT<br>GCCCTGCCCATCCAGGCACCCCGCCCCAACATGACTCCCTGCGTCT       | 1964<br>2050 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>GCAGCCACTGGACGTCATCGAGTCTGACAGTGAGGGTATGCCATCTAA-<br>GCAGCCGCTGGACGTCATCGAGTCTGACAGTGAGGGTATGCCATCTAA- | 2013<br>2100 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | ---<br>---GC GGCCGCCTAG---AAATAGCTTGATCTGGTTA--CCACTAAACCA<br>CCTGCCCTGCCAACCCGGCGGCTGAAACTCACTGAGCAGCCAAGACT   | 2055<br>2150 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>GC--CTCAAGAACAC-CCGAATGGAGTCTCT---AAGCTACATAATACC<br>GTTGCCCGAGGCCCTCACTGTATGGTGCCTCTCAAAGGGTCGGGAGGGT | 2098<br>2200 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>AACTTACACTTTACAAAATGTTGCCCCAA-AATGTAGCCATTGATTC<br>AGCTCTCCAGGCCAGAGCTTGTGCTCTCAACAGAGAGGCCAGCGGCAAC   | 2147<br>2250 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>TGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTCTCACATTCTAAAAA<br>TGGTCCGTTACTGGCCAAGGGCTCTGTAGAATCACGGTGCTGGTACAGGA            | 2197<br>2300 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | *****<br>*****<br>AAAAAAA<br>TGCAGGAATAAAATTGTATCTCACCTGGTCCCTACCTCGTCCCTACCTG                                  | 2245<br>2350 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | -----<br>CTAGCTTGAGTATTCTATAGAGTCACCTAAATACT-----<br>TCCTGATCCTGGTCCCTGAAGACCCCTCGAACACCCCTCTCCTGGTGGCAG        | 2280<br>2400 |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | -----<br>GCCACTTCCCTCCCAGTGCCAGTCTCCATCCACCCCCAGAGAGGAACAGGC  | 2450         |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | -----<br>GGGTGGGCCATGTGGTTCTCCTGGCCTGGCTGGCCTCTGGGGC  | 2500         |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | -----<br>AGGGGTGGTGGAGAGATGGAAGGGCATCAGGTGTAGGGACCCCTGCCAAGT  | 2550         |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | -----<br>GGCACCTGATTTACTCTAGAAAATAAGTAGAAAATACTGAGTCCA  | 2597         |
| Cyno $\beta$ -ENaC<br>人類 $\beta$ -ENaC | (SEQ ID NO: 221)<br>(SEQ ID NO: 222)  |              |

cyno及人類序列之起始(ATG)及終止(TAA)密碼子加下劃線。人類及cyno序列之間的核苷酸匹配以星號(\*)標記。

在一實施例中，本發明之 $\beta$ -ENaC RNAi劑包含與人類、

大鼠及cyno  $\beta$ -ENaC mRNA一致之序列。此序列一致性便於在人類測試之前的動物測試。在另一實施例中， $\beta$ -ENaC RNAi劑包含與人類、小鼠及cyno  $\beta$ -ENaC mRNA一致之序列。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的其他實施例

在一實施例中， $\beta$ -ENaC RNAi劑包含與任何其他mRNA或基因之彼等不匹配的序列。在一實施例中， $\beta$ -ENaC RNAi劑包含與所有其他已知非- $\beta$ -ENaC mRNA或基因至少有0、1、2或3個核苷酸不同的序列。

在一實施例中，向有需要之患者(例如罹患囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓之患者)投與本發明之 $\beta$ -ENaC RNAi劑。

亦可向患者投與一種以上對 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑。在一實施例中，本發明之 $\beta$ -ENaC RNAi劑可視情況連同一或多種適於彼疾病之額外醫藥劑一起投與。在一實施例中，本發明之 $\beta$ -ENaC RNAi劑可視情況連同任何其他適當額外治療一起投與，其中額外治療可為組合物或方法。

在囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓之情形中，RNAi劑及額外疾病治療可以任何順序同時或依序投與，或隨時間以一或多次給藥投與。

#### 定義

為方便起見，下文提供用於本發明、實例及隨附申請專

利範圍之某些術語及短語的含義。若術語在本發明其他部分中之用法與本部分提供之其定義之間存在明顯差異，則應以本部分之定義為主。

### RNAi劑

在一實施例中，本發明係關於β-ENaC RNAi劑或包含至少一與β-ENaC核酸(或其部分)互補之反義核酸序列的其他組合物，或係關於編碼siRNA之重組表現載體或包含可充當如下文定義之RNAi的反義核酸的組合物。如本文所用，「反義」核酸包含與編碼β-ENaC蛋白質之「有義」核酸互補的核苷酸序列(例如與雙股DNA之編碼股互補、與mRNA互補或與β-ENaC基因或核酸之編碼股互補)。

如本文所用，術語「針對β-ENaC之RNAi劑」、「對β-ENaC具有特異性之RNAi劑」、「針對β-ENaC之iRNA劑」、「針對β-ENaC之siRNA」、「β-ENaC siRNA」及其類似術語係指siRNA(短抑制RNA)、shRNA(短或小髮夾RNA)、iRNA(干擾RNA)劑、RNAi(RNA干擾)劑、dsRNA(雙股RNA)、微RNA及其類似物，且係指特異性靶向β-ENaC mRNA、對β-ENaC mRNA具有特異性及/或結合於β-ENaC mRNA之組合物。如本文所用，術語「反義核酸」或「包含反義核酸之組合物」及其類似術語欲廣泛地涵蓋包含至少一個對其目標反義之核酸股的任何組合物；此包括(但不限於)任何siRNA、shRNA、iRNA、dsRNA、微RNA、反義寡核苷酸、及包含反義核酸之任何其他組合物。如本文所用，術語「iRNA」及「RNAi」係指含有RNA(或其衍生



物)之試劑，且其介導另一RNA轉錄物經RNA誘導沉默複合物(RISC)路徑靶向裂解。在一實施例中，RNAi劑為活化RISC複合物/路徑之寡核苷酸組合物。在另一實施例中，RNAi劑包含反義股序列(反義寡核苷酸)。

本發明之RNAi劑靶向(例如結合於、黏結於等) $\beta$ -ENaC mRNA。使用對 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑導致 $\beta$ -ENaC活性、含量及/或表現降低，例如「阻斷」或「基因剔除」目標基因或目標序列。尤其在一實施例中，在疾病狀態特徵為 $\beta$ -ENaC過度表現或高活性的情形中，投與針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑充分阻斷 $\beta$ -ENaC目標以恢復正常程度之 $\beta$ -ENaC活性及/或正常程度之Na<sup>+</sup>再吸收。

在一實施例中，RNAi包含單股(諸如如本文所述之shRNA)。

在多個實施例中，對一股或兩股切口。

在一實施例中，單股RNAi劑寡核苷酸或聚核苷酸可包含有義股及/或反義股。參看例如Sioud 2005 J. Mol. Biol. 348:1079-1090，及其中引用之參考文獻。因此，本發明涵蓋RNAi劑，其中單股包含本文所述之RNAi劑的有義股或反義股。

尤其適用於本發明之siRNA包括可特異性結合於 $\beta$ -ENaC mRNA之區且具有一或多個以下品質之彼等：在 $\beta$ -ENaC之編碼區段中結合；在5'未轉譯區之接合點及編碼區段之起點處或附近結合；在mRNA之轉譯起始位點處或附近結合；在外顯子及內含子之接合點處、跨越該等接合點或在

該等接合點附近結合；與mRNA或其他基因之轉錄物幾乎不結合或不結合(幾乎無或無「脫靶作用」)；在非雙股之區域或主幹區中或附近結合於 $\beta$ -ENaC mRNA，例如在環或單股部分；幾乎不或不引起免疫原性；在多個動物物種(包括人類、小鼠、大鼠、cyno等)之間保守的 $\beta$ -ENaC mRNA序列之區段中結合，因為存在保守序列便於使用多種實驗室動物測試；結合於mRNA之雙股區；結合於AT富集區(例如至少約50、51、52、53、54、55、56、57、58、59或60% AT富集)；及/或缺乏已知或懷疑降低siRNA活性之特定序列，例如在5'端存在GG序列，其可減少siRNA之雙股部分的分離。在一實施例中，對 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi可為具有任何一或多種此等品質之雙股RNA。

如本文所用之術語「雙股RNA」或「dsRNA」係指包含第一及第二股之RNAi劑；例如包括RNA分子或具有雜交雙鏈體區(亦即第一股及第二股之核苷酸鹼基配對的區)之分子複合物的組合物，其包含兩個反平行及實質上互補之核酸股，其將稱為關於目標RNA具有「有義」及「反義」方向。關於mRNA目標之反義股亦稱為「引導(guide)」股，且有義股亦稱為「過客(passenger)」股。過客股可包括以下中之至少一或多者：相較於其他股之一或多個外核苷酸(例如隆起物(bulge)或1 nt環)、相較於其他股之切口、間隙等。在多個實施例中，RNAi劑包含第一股及第二股。在多個實施例中，第一股為有義股且第二股為反義

股。在其他實施例中，第一股為反義股且第二股為有義股。

雙鏈體區可具有允許經RISC路徑特異性降解所要目標RNA之任何長度，但長度通常將在9至36個鹼基對(「bp」)，例如15-30 bp範圍中。考慮9至36 bp之雙鏈體，該雙鏈體可為在此範圍中的任何長度，例如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 bp及其間的任何子範圍，包括(但不限於)15-30 bp、15-26 bp、15-23 bp、15-22 bp、15-21 bp、15-20 bp、15-19 bp、15-18 bp、15-17 bp、18-30 bp、18-26 bp、18-23 bp、18-22 bp、18-21 bp、18-20 bp、19-30 bp、19-26 bp、19-23 bp、19-22 bp、19-21 bp、19-20 bp、19 bp、20-30 bp、20-26 bp、20-25 bp、20-24 bp、20-23 bp、20-22 bp、20-21 bp、20鹼基對、21-30 bp、21-26 bp、21-25 bp、21-24 bp、21-23 bp、21-22 bp、21 bp、22 bp或23 bp。藉由以Dicer及類似酶處理在細胞中產生之dsRNA長度一般在約19至約22 bp的範圍中。dsRNA之雙鏈體區的一股包含與目標RNA之一區實質上互補的序列。形成雙鏈體結構之兩股可來自具有至少一個自補雙鏈體區之單個RNA分子，或可由雜交形成雙鏈體之兩個或兩個以上單獨RNA分子形成。若雙鏈體區由單個分子的兩個自補區形成，分子可具有在形成雙鏈體結構之一股的3'端與另一股的5'端之間由核苷酸之單股鏈分開之雙鏈體區(本文稱為「髮夾

環」，例如 shRNA 結構中所發現)。髮夾環可包含至少一個未配對核苷酸；在一些實施例中，髮夾環可包含至少 3、至少 4、至少 5、至少 6、至少 7、至少 8、至少 9、至少 10、至少 20、至少 23 或 23 個以上未配對核苷酸。若 dsRNA 之兩個實質上互補之股由單獨 RNA 分子構成，則彼等分子無需(但可)共價連接。若兩股經髮夾環共價連接，則該構造在本文及此項技術中一般稱為「shRNA」。若兩股藉助於除了髮夾環之外的結構共價連接，則連接結構稱為「連接子」。

### RNA 干擾

RNA 干擾 (RNAi) 為轉錄後靶向基因沉默技術，其使用雙股 RNA (dsRNA) 降級含有與 dsRNA 相同之序列的信使 RNA (mRNA)。RNAi 過程出現在核糖核酸酶 III (Dicer) 將較長 dsRNA 裂解成較短片段 (稱為 siRNA) 時。siRNA (小干擾 RNA) 通常約 21 至 23 個核苷酸長且包含約 19 個鹼基對雙鏈體。較小 RNA 區段接著介導目標 mRNA 之降解。Dicer 亦已涉及於自轉錄控制中所牽涉之保守結構之前驅物 RNA 切除 21- 及 22- 核苷酸小時序 RNA (stRNA) 中。Hutvagner 等人，2001，*Science*，293，834。RNAi 反應特徵亦為核酸內切酶複合物，通常稱為 RNA 誘導沉默複合物 (RISC)，其介導與 siRNA 之反義股互補的單股 mRNA 之裂解。目標 RNA 之裂解在與 siRNA 雙鏈體之反義股互補的區中部發生。

在一態樣中，RNA 干擾劑包括與目標 RNA 序列相互作用以定向目標 RNA 之裂解的單股 RNA。不希望受理論約束，

引入植物及無脊椎動物細胞中之長雙股RNA藉由稱為Dicer之III型核酸內切酶斷裂成siRNA(Sharp等人, Genes Dev. 2001, 15:485)。Dicer, 一種核糖核酸酶III樣酶, 將dsRNA處理成特徵為2個鹼基3'懸垂物的19-23鹼基對短干擾RNA(Bernstein等人, (2001) Nature 409:363)。siRNA接著併入至RNA誘導沉默複合物(RISC), 其中一或多種解螺旋酶展開siRNA雙鏈體, 使目前未配對之siRNA股中之一者能夠用作「引導」股以引導目標辨識(Nykanen等人, (2001) Cell 107:309)。在反義引導股與適當目標mRNA結合時, RISC內之一或多個核酸內切酶使目標裂解以誘導沉默(Elbashir等人, (2001) Genes Dev. 15:188)。因此, 在一態樣中, 本發明係關於促進形成RISC複合物以實現目標基因之沉默的單股RNA。

亦已在多個系統中研究RNA干擾。對果蠅(*Drosophila*)胚胎溶解產物進行的研究(Elbashir等人, 2001 EMBO J. 20: 6877及Tuschl等人, 國際PCT公開案第WO 01/75164號)已揭示對siRNA長度、結構、化學成分、及序列的特定要求, 其為介導多個系統(尤其包括哺乳動物)中之有效RNAi活性所必需。此等研究已顯示當含有3'末端二核苷酸懸垂物時21-核苷酸siRNA雙鏈體最具活性。容許以2'-去氧核苷酸(2'-H)取代3'末端siRNA懸垂物核苷酸。此外, siRNA雙鏈體之目標互補股上之5'-磷酸酯一般為siRNA活性所需。對於治療用途而言最重要的是, 短於50 bp或50 bp左右之siRNA雙鏈體不會活化哺乳動物細胞中之干擾素反

應。參看例如 Tuschl 等人，WO 01/752164。

本文所述之 dsRNA 分子 (RNAi 劑) 因此適用於  $\beta$ -ENaC 之 RNA 干擾。

#### **RNAi 劑之特徵：有義股、反義股及(可選)懸垂物**

在多個實施例中，RNAi 劑包含第一股及第二股，例如有義股及反義股，且雙鏈體之一端或兩端視情況含有本文稱為懸垂物之未配對核苷酸。

術語「反義股」係指包括與目標序列實質上互補之區域的 RNAi 劑之股。如本文所用，術語「互補區」係指反義股上如本文中所定義與例如目標序列之序列實質上互補的區域。若互補區與目標序列不完全互補，則分子內部或末端區中可存在錯配。一般而言，最容許之錯配在末端區，例如在 5' 及 / 或 3' 末端之 5、4、3 或 2 個核苷酸內。

如本文所用，術語「有義股」係指包括與反義股之區域實質上互補之區域的 RNAi 劑之股，如上文定義之術語。

基因之序列可隨個體變化，尤其在編碼區段內之擺動位置處，或在未轉譯區；個體之編碼序列亦可彼此不同，在 mRNA 中產生其他差異。在需要時，RNAi 劑之有義股及反義股的序列因此可經設計以對應於個別患者之序列。RNAi 劑之序列亦可經修飾以降低免疫原性、與非所要 mRNA 之結合 (例如「脫靶作用」) 或提高在血液中之穩定性。此等序列變異體與 RNAi 劑之鹼基或 5' 或 3' 或其他端 - 帽端之化學改質無關。

RNAi 劑亦可具有 0、1 或 2 個懸垂物之懸垂物；在 0 nt 懸

垂物之情形中，其為鈍端的。RNAi劑可具有0、1或2個鈍端。在「鈍端RNAi劑」中，兩股皆以鹼基對終止；因此鈍端分子缺乏3'或5'單股核苷酸懸垂物。

如本文所用，術語「懸垂物」或「核苷酸懸垂物」係指自RNAi劑之雙鏈體結構之兩股中至少一者之末端突出的至少一個未配對核苷酸。舉例而言，當dsRNA之一股的3'端延伸超過另一股之5'端，或反之亦然，則未配對核苷酸形成懸垂物。dsRNA可包含至少一個核苷酸的懸垂物；或者懸垂物可包含至少兩個核苷酸、至少三個核苷酸、至少四個核苷酸、至少五個核苷酸或五個以上核苷酸。懸垂物可包含核苷酸/核苷類似物(包括去氧核苷酸/核苷)或由核苷酸/核苷類似物(包括去氧核苷酸/核苷)組成。懸垂物可在有義股、反義股或其任何組合上。此外，懸垂物之核苷酸可存在於dsRNA之反義股或有義股的5'端、3'端或兩端上。

RNAi劑亦可視情況包含帽端。術語「帽端」及其類似術語包括與雙股核苷酸雙鏈體末端連接之化學部分，但在本文使用時，排除為核苷酸或核苷之化學部分。「3'帽端」連接於核苷酸或寡核苷酸的3'端處。「5'帽端」連接於核苷酸或寡核苷酸的5'端處。在一實施例中，3'端帽端如例如WO 2005/021749及WO 2007/128477中揭示。

本發明因此涵蓋對包含RNAi劑中之反義股(其可連續或經連接子或環連接)的 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑。在一更特定實施例中，RNAi劑包含反義股及有義股，其一起

包含雙股或互補區。在一實施例中，亦可視情況包含1或2個懸垂物及/或1或2個帽端。RNAi劑用於誘導 $\beta$ -ENaC之RNA干擾。

### 目標及互補序列

本發明之RNAi劑靶向(例如特異性結合於、黏結於等)編碼基因 $\beta$ -ENaC之mRNA。使用對 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑導致 $\beta$ -ENaC活性、含量及/或表現降低，例如「阻斷」或「基因剔除」目標基因或目標序列。尤其在一實施例中，在疾病狀態特徵為 $\beta$ -ENaC過度表現或高活性的情形中，投與針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑充分阻斷 $\beta$ -ENaC基因以恢復正常程度之 $\beta$ -ENaC活性及/或正常程度之Na<sup>+</sup>再吸收。

如本文所用，「目標序列」或「目標基因」係指轉錄基因(例如 $\beta$ -ENaC基因)期間形成之mRNA分子(包括為初級轉錄產物之RNA加工產物之mRNA)的核苷酸序列之連續部分。序列之目標部分將至少足夠長以用作彼部分處或附近之iRNA定向裂解的受質。舉例而言，目標序列一般長度將為9-36個核苷酸(「nt」)，例如15-30 nt，包括其間之所有子範圍。作為非限制性實例，目標序列可為15-30 nt、15-26 nt、15-23 nt、15-22 nt、15-21 nt、15-20 nt、15-19 nt、15-18 nt、15-17 nt、18-30 nt、18-26 nt、18-23 nt、18-22 nt、18-21 nt、18-20 nt、19-30 nt、19-26 nt、19-23 nt、19-22 nt、19-21 nt、19-20 nt、19 nt、20-30 nt、20-26 nt、20-25 nt、20-24 nt、20-23 nt、20-22 nt、20-21 nt、20 nt、21-30 nt、21-26 nt、21-25 nt、21-24 nt、21-

23 nt或21-22 nt、21 nt、22 nt或23 nt。RNAi之有義股及反義股包含與目標核酸 $\beta$ -ENaC之序列互補的序列。

如本文所用，且除非另外指出，否則術語「互補」係指包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸在特定條件下與包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或聚核苷酸雜交且形成雙鏈體結構之能力。該等條件可例如為嚴格條件，例如400 mM NaCl、40 mM PIPES pH 6.4、1 mM EDTA、50°C或70°C持續12-16小時，隨後洗滌。可應用諸如生物體內可能遭遇之生理學相關條件的其他條件。熟習此項技術者將能夠決定最適於根據雜交核苷酸之最終應用的兩序列互補性測試之條件設定。

如本文所用，「互補」序列亦可包括非Watson-Crick鹼基對及/或由非天然及經修飾核苷酸形成之鹼基對，或完全由該等鹼基對形成，在滿足上文關於其雜交能力之要求的範圍內。該等非Watson-Crick鹼基對包括(但不限於)G:U Wobble或Hoogstein鹼基配對。

另外關於dsRNA之有義股與反義股之間，或RNAi劑之反義股與標靶序列之間的鹼基匹配可使用本文之術語「互補」、「完全互補」及「實質上互補」，如將自其使用之上文理解。

如本文所用，與信使RNA(mRNA)的「至少一部分實質上互補」之聚核苷酸係指與所關注mRNA(例如編碼 $\beta$ -ENaC之mRNA)之連續部分實質上互補之聚核苷酸。舉例而言，若序列與編碼 $\beta$ -ENaC之mRNA的不中斷部分實質上

互補，則聚核苷酸與 $\beta$ -ENaC mRNA的至少一部分互補。

RNAi劑內(例如如本文所述之dsRNA內)之互補序列包括在一或兩個核苷酸序列之整個長度上鹼基配對之包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸與包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或聚核苷酸。該等序列在本文中可稱為彼此「完全互補」。然而，若在本文中第一序列稱為與第二序列「實質上互補」，則兩個序列可完全互補，或其在雜交高達30個鹼基對之雙鏈體時可形成一或多個，但一般不超過5、4、3或2個錯配鹼基對，同時保持在最貼近其最終應用之條件下雜交的能力，例如經RISC路徑抑制基因表現。然而，若兩個寡核苷酸經設計以在雜交時形成一或多個單股懸垂物，則關於互補性判定而言，不應認為該等懸垂物錯配。舉例而言，為本文所述之目的而言，包含一個長度為21個核苷酸之寡核苷酸及另一長度為23個核苷酸之寡核苷酸，且其中較長寡核苷酸包含與較短寡核苷酸完全互補之21個核苷酸之序列的雙鏈體仍可稱為「完全互補」。如上文所述，術語懸垂物描述雙股核苷酸雙鏈體之3'或5'端處之未配對核苷酸。在一實施例中，懸垂物為0至4 nt長且在3'端上。

因此，本發明之RNAi劑與目標 $\beta$ -ENaC中之目標序列互補或實質上互補且為雙股的，包含有義股及反義股(其可連續，經環連接或接合)，其中雙股區為9至36 bp長(尤其例如19-22 bp或19-23 bp長)，且此外可視情況包含3'或5'懸垂物，且RNAi劑此外可包含3'帽端。RNAi劑介導RNA干

擾，下調或抑制 $\beta$ -ENaC之含量、表現及/或活性，及/或建立或重建大致正常程度之ENaC及/或 $\beta$ -ENaC活性，或與ENaC相關之其他生物功能。

#### 降低 $\beta$ -ENaC含量、表現及/或活性之RNAi劑

靶向 $\beta$ -ENaC之RNAi劑包括結合於本文提供之 $\beta$ -ENaC序列及用於經RNAi機制降低 $\beta$ -ENaC之彼等。針對 $\beta$ -ENaC之例示性siRNA提供於例如表1中。

本發明之RNAi劑使 $\beta$ -ENaC基因沉默、抑制、下調及/或抑止 $\beta$ -ENaC基因之表現，使得實現大致正常程度之 $\beta$ -ENaC活性、表現及/或含量及/或 $\text{Na}^+$ 再吸收。

此外，在多個實施例中，視疾病病況及生物環境而定，可接受使用本發明之RNAi劑建立低於正常程度或高於正常程度之程度的 $\beta$ -ENaC表現、活性及/或含量。

此項技術中已知之任何方法可用於量測由 $\beta$ -ENaC siRNA誘發之 $\beta$ -ENaC活性、含量及/或表現的改變。可在多個時間點、投與siRNA之前、期間及之後進行量測以測定siRNA之作用。

只要提及 $\beta$ -ENaC基因，本文之術語「沉默」、「抑制表現」、「下調表現」、「抑止表現」及其類似術語係指如可由自第一細胞或細胞群分離或在其中偵測到之 $\beta$ -ENaC mRNA的量降低所表現的至少部分抑止 $\beta$ -ENaC基因之表現，在該細胞或細胞群中轉錄 $\beta$ -ENaC基因且已經處理該細胞或細胞群使得相較於與第一細胞或細胞群實質上相同但未經處理的第二細胞或細胞群(對照細胞)抑制 $\beta$ -ENaC基因之表現。

抑制程度一般根據下式表示

$$\frac{(\text{對照細胞中之mRNA}) - (\text{經處理細胞中之mRNA})}{(\text{對照細胞中之mRNA})} \cdot 100\% \quad \text{等式1}$$

或者，抑制程度可根據與  $\beta$ -ENaC 基因表現功能性相關之參數的降低給出，例如  $\beta$ -ENaC 基因編碼之蛋白質的量、肺流體含量或黏液含量改變等。原則上，可在組成性或藉由遺傳工程改造表現  $\beta$ -ENaC 之任何細胞中且藉由任何適當檢定測定  $\beta$ -ENaC 基因沉默。然而，當需要參考或對照以測定既定 RNAi 劑是否特定程度地抑制  $\beta$ -ENaC 基因表現且因此為本發明所涵蓋時，以下實例中提供之檢定將用作該參考。

舉例而言，在特定情形中，藉由投與本發明之 RNAi 劑將  $\beta$ -ENaC 基因之表現抑止至少約 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45% 或 50%。在一些實施例中，藉由投與本發明之 RNAi 劑將  $\beta$ -ENaC 基因抑止至少約 60%、70% 或 80%。在一些實施例中，藉由投與本文所述之 RNAi 劑將  $\beta$ -ENaC 基因抑止至少約 85%、90%、或 95% 或 95% 以上。

首先可活體外測試 RNAi 劑抑止  $\beta$ -ENaC 之能力(例如使用測試細胞，諸如 H441)。

接著可使用例如 PBMC(周邊血液單核細胞)檢定測試可活體外抑止  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑的免疫刺激。亦可在動物測試中測試 RNAi 劑。測試及對照動物包括  $\beta$ -ENaC 過表現或不足表現之彼等，如例如 Hummer 等人，2005 J. Am. Soc.

Nephrol. 16: 3160-3166；Randrianarison等人，2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416；Cao等人，2006 Am. J. Physiol. Renal Physiol. 及其中引用之參考案中所述。抑止或改變 $\beta$ -ENaC之含量、活性及/或表現的RNAi劑可用於治療多種 $\beta$ -ENaC相關疾病的藥物中。

在 $\beta$ -ENaC或 $\beta$ -ENaC相關疾病之症狀的情形中，「降低」意謂該含量之統計學上顯著降低。降低可為例如至少10%、至少20%、至少30%、至少40%或40%以上。若對於特定疾病或罹患特定疾病之個體， $\beta$ -ENaC之含量或表現升高，則以本發明之 $\beta$ -ENaC RNAi劑治療可將 $\beta$ -ENaC之含量或表現特定降低至文獻中視為在未患該病症之個體的正常範圍內的含量。可藉由評估mRNA(例如經北方墨點或PCR)或蛋白質(例如西方墨點)量測 $\beta$ -ENaC之含量或表現。可藉由量測 $\beta$ -ENaC基因轉錄速率(例如經北方墨點；或逆轉錄酶聚合酶鏈反應或即時聚合酶鏈反應)測定RNAi劑對 $\beta$ -ENaC表現之作用。RT-PCR已用於顯示 $\beta$ -ENaC之mRNA含量在腎臟、胰臟及前列腺中較高，且在肝臟及脾臟中含量中等。Brauner-Osborne等人，2001. Biochim. Biophys. Acta 1518: 237-248。可例如藉由表現 $\beta$ -ENaC之組織的西方墨點直接量測 $\beta$ -ENaC(由細胞表面表現)之含量。

如本文所用，「下調」係指 $\beta$ -ENaC之生物活性及/或表現的任何統計學顯著降低，包括完全阻斷活性(亦即完全抑制)及/或表現。舉例而言，「下調」可係指 $\beta$ -ENaC含量、活性及/或表現降低至少約10、20、30、40、50、60、

70、80、90或100%。

如本文所用，術語「抑制」 $\beta$ -ENaC係指 $\beta$ -ENaC之生物含量、活性及/或表現的任何統計學顯著降低，包括完全阻斷活性及/或表現。舉例而言，「抑制」可係指 $\beta$ -ENaC含量、活性及/或表現降低至少約10、20、30、40、50、60、70、80、90或100%。如本文所用，在提及任何其他生物試劑或組合物的同時，術語「抑制」類似地係指含量、活性及/或表現顯著降低。

「含量」意謂 $\beta$ -ENaC RNAi劑可改變 $\beta$ -ENaC之含量，例如 $\beta$ -ENaC mRNA之含量或 $\beta$ -ENaC蛋白質之含量、或 $\beta$ -ENaC之活性程度。

一些疾病(諸如囊腫性纖維化)特徵為過度ENaC介導之 $\text{Na}^+$ 吸收。尤其在一實施例中，在特徵為 $\beta$ -ENaC過度表現及/或高活性之疾病的情形中，投與針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑可降低 $\beta$ -ENaC之含量、表現及/或活性。然而， $\beta$ -ENaC之含量過低亦可導致損害肺流體清除及腎功能障礙。Randrianarison等人，2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416。因此，在多個實施例中，投與針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑尤其建立或重建正常或大致正常程度之 $\beta$ -ENaC活性、表現及/或含量。

就含量、表現及/或活性而言之「正常」或「大致正常」意謂健康細胞、組織或器官中 $\beta$ -ENaC的含量、表現或活性的至少：約50%、約60%、約70%、約80%、約90%及/或約100%；及/或不超過：約100%、約120%、約130%、

約 140% 或 約 150%。此可使用例如肺或腎組織勻漿量測，如 Gambling 等人，2004 Kidney Intl. 65: 1774-1781 中所述。尤其在一實施例中，投與適當量之適當  $\beta$ -ENaC RNAi 劑會使  $\beta$ -ENaC 含量、活性及 / 或 表現及 / 或  $\text{Na}^+$  再吸收程度恢復至健康細胞、組織或器官的約 50% 至 約 150%、更特定言之約 60% 至 約 140%、更特定言之約 70% 至 約 130%、更特定言之約 80% 至 約 120%、更特定言之約 90% 至 約 110%、及最特定言之約 100%。 $\beta$ -ENaC 活性程度亦可藉由肺流體平衡間接量測。肺流體平衡可藉由計算貧血 (bloodless)、肺濕乾重量比 (反映血管外肺水量) 估算。Randrianarison 等人，2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416。 $\beta$ -ENaC 活性程度亦可藉由肺 (尤其細支氣管、肺泡管、肺泡上皮及血管) 的組織學研究間接量測。Randrianarison 等人，2007；及 Zhou 等人，2008 Am. J. Resp. Crit. Care Med. 178: 1245-1256。向患有  $\beta$ -ENaC 相關疾病之患者投與  $\beta$ -ENaC RNAi 因此會使  $\beta$ -ENaC 之含量、活性及 / 或 表現及  $\text{Na}^+$  再吸收程度特定恢復至大致正常程度，如直接量測  $\beta$ -ENaC mRNA 或 蛋白質含量或間接測定 (諸如分析組織學樣品或肺流體含量) 所測定。

此外，在多個實施例中，視疾病病況及生物環境而定，可接受使用本發明之 RNAi 劑建立低於正常程度或高於正常程度之程度的  $\beta$ -ENaC 表現、活性及 / 或 含量。

已知多種因子會改變 ENaC 或 特定言之  $\beta$ -ENaC 之含量。提高 ENaC 之生理學活性的激素包括醛固酮、升壓素

(vasopressin)及胰島素。 $\beta$ -ENaC因升壓素及水分限制、以及在大鼠中碳酸氫鈉負載期間特定上調。此等多種因子可用作測定RNAi劑對 $\beta$ -ENaC含量之作用的對照。

### RNAi劑之類型及其修飾

此項技術中熟知使用包含反義核酸之RNAi劑或組合物下調細胞中特定蛋白質之表現。RNAi劑包含與另一核酸(例如mRNA)之編碼股互補且能夠與其氫鍵結合(hydrogen binding)之序列。因此，在多個實施例中，本發明之RNAi劑涵蓋靶向(例如互補、能夠氫鍵結合等)例如表1中提出之任何序列的任何RNAi劑。

與mRNA互補之反義序列可與編碼區、mRNA之5'或3'未轉譯區、及/或橋接編碼及未轉譯區之區、及/或其部分互補。此外，RNAi劑或其部分可與編碼mRNA之基因的調節區互補，例如轉錄或轉譯起始序列或調節元件。特定言之，RNAi劑或其部分可與在mRNA之編碼股上或3'未轉譯區中的初始密碼子之前或跨接該初始密碼子之區互補。

RNAi劑分子可根據Watson及Crick鹼基配對原則設計。RNAi劑可與 $\beta$ -ENaC mRNA之整個編碼區互補，但更特定言之為與 $\beta$ -ENaC mRNA之編碼或非編碼區之僅一部分反義的寡核苷酸。舉例而言，反義寡核苷酸可與 $\beta$ -ENaC mRNA之轉譯起始位點周圍的區互補。反義寡核苷酸可為例如約5、10、15、19、20、21、22、23、24、25、30、35、40、45或50個核苷酸長。

RNAi劑可在一端或兩端具有內部修飾。末端之修飾可

幫助穩定RNAi劑，保護其免於被血液中之核酸酶降解。RNAi劑可視情況針對已知或預測接近或處於基因剪接位點處的 $\beta$ -ENaC mRNA之區；例如外顯子-內含子接合點(例如Saxena等人，1998中所述)。

RNAi劑亦可視情況經設計以黏接於已知或預測的mRNA之暴露及/或單股區(例如環)。

RNAi劑可使用化學合成及使用此項技術中已知之程序的酶促接合反應構築。舉例而言，RNAi劑可使用天然存在之核苷酸或以各種方式經修飾之核苷酸化學合成，該等經修飾核苷酸經設計以降低脫靶作用、及/或提高分子之生物穩定性或提高反義與有義核酸之間形成的雙鏈體之物理穩定性，例如可使用硫代磷酸酯衍生物及吖啶取代之核苷酸。

「G」、「C」、「A」、「T」及「U」一般各自代表分別含有鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸昔及尿嘧啶作為鹼基之核苷酸。然而，術語「核糖核苷酸」或「核苷酸」亦可係指經修飾核苷酸或代用置換部分。熟習此項技術者熟知鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤及尿嘧啶可經其他部分置換，而不實質上改變包含攜帶該置換部分之核苷酸之寡核苷酸的鹼基配對特性。舉例而言(非限制性)，包含肌昔作為其鹼基之核苷酸可與含有腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶之核苷酸鹼基配對。因此，本發明之dsRNA的核苷酸序列中含有尿嘧啶、鳥嘌呤或腺嘌呤之核苷酸可經含有例如肌昔之核苷酸置換。在另一實例中，寡核苷酸任何位置處之腺嘌呤及胞嘧

啶可分別置換為鳥嘌呤及尿嘧啶形成與目標 mRNA 配對之 G-U Wobble鹼基。含有該等置換部分之序列適於本發明之組合物及方法。

熟練技術人員將瞭解術語「RNA分子」或「核糖核酸分子」不僅涵蓋天然表現或發現(亦即天然存在)之 RNA 分子，而且亦涵蓋 RNA 之非天然存在之類似物及衍生物，包含如本文所述或如此項技術已知之一或多個核糖核苷酸/核糖核苷類似物或衍生物。嚴格而言，「核糖核苷」包括核苷鹼基及核糖，且「核糖核苷酸」為具有 1、2 或 3 個磷酸酯部分之核苷。然而，如本文所用，術語「核糖核苷」及「核糖核苷酸」可視為相同。RNA 在核苷鹼基結構或磷酸核糖骨架結構中可經修飾，例如如下文所述。然而，包含核糖核苷類似物或衍生物之分子必需保持形成雙鏈體之能力。作為非限制性實例，RNA 分子亦可包括至少一個經修飾核苷，包括(但不限於)經 2'-O- 甲基修飾之核苷酸、包含 5' 硫代磷酸酯基之核苷、與膽固醇基衍生物或月桂酸雙癸基醯胺基連接之末端核苷、鎖定核苷、無鹼基核苷、經 2'-去氧-2'-氟修飾之核苷、經 2'-氨基-修飾之核苷、經 2'-烷基-修飾之核苷、N-嗎啉基核苷、未鎖定核糖核苷酸(例如非環狀核苷酸單體，如 WO 2008/147824 中所描述)、胺基磷酸酯或包含非天然鹼基之核苷、或其任何組合。或者，RNA 分子可包含至少 2 個、至少 3 個、至少 4 個、至少 5 個、至少 6 個、至少 7 個、至少 8 個、至少 9 個、至少 10 個、至少 15 個、至少 20 或 20 個以上直至 dsRNA 分子的整個長度的經

修飾核糖核苷。RNA分子中該複數個經修飾核糖核苷中每一者的修飾無需相同。在一實施例中，預期用於本文所述方法及組合物中之經修飾RNA為能夠形成所要雙鏈體結構且允許或介導目標RNA經RISC路徑之特異性降解的肽核酸(PNA)。

可用於產生RNAi劑之經修飾核苷酸之實例包括5-氟尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-氯尿嘧啶、5-碘尿嘧啶、次黃嘌呤、黃嘌呤(xantine)、4-乙醯基胞嘧啶、5-(羧基羥基甲基)尿嘧啶、5-羧基甲胺基甲基-2-硫尿苷、5-羧基甲胺基甲基尿嘧啶、二氫尿嘧啶、 $\beta$ -D-半乳糖基Q核苷(queosine)、肌苷、N6-異戊烯基腺嘌呤、1-甲基鳥嘌呤、1-甲基肌苷、2,2-二甲基鳥嘌呤、2-甲基腺嘌呤、2-甲基鳥嘌呤、3-甲基胞嘧啶、5-甲基胞嘧啶、N6-腺嘌呤、7-甲基鳥嘌呤、5-甲胺基甲基尿嘧啶、5-甲氧基胺基甲基-2-硫代尿嘧啶、 $\beta$ -D-甘露糖基Q核苷、5'-甲氧基羧基甲基尿嘧啶、5-甲氧基尿嘧啶、2-甲硫基-N6-異戊烯基腺嘌呤、尿嘧啶-5-氨基乙酸(v)、假尿苷(wybutoxosine)、假尿嘧啶、Q核苷、2-硫代胞嘧啶、5-甲基-2-硫代尿嘧啶、2-硫代尿嘧啶、4-硫代尿嘧啶、5-甲基尿嘧啶、尿嘧啶-5-氨基乙酸甲酯、尿嘧啶-5-氨基乙酸(v)、5-甲基-2-硫代尿嘧啶、3-(3-胺基-3-N-2-羧基丙基)尿嘧啶、(acp3)w及2,6-二胺基嘌呤。

在一實施例中，本發明涵蓋本文揭示之任何RNAi劑的任何經修飾變異體。經修飾變異體含有相同序列，但可經修飾以含有磷酸酯、糖、鹼基、核苷酸等的修飾。舉例而

言，經修飾變異體可含有本文所列之經修飾核苷酸中的一或多者，例如C置換為2'-經修飾之C。

在一態樣中，經修飾核糖核苷包括去氧核糖核苷。在該情形中，RNAi劑可包含一或多個去氧核苷，包括例如去氧核苷懸垂物、或dsRNA雙股部分內之一或多個去氧核苷。然而，不言而喻，任何情形中術語「RNAi劑」均不涵蓋雙股DNA分子。

以去氧核糖核苷酸置換具有兩個核苷酸3'-懸垂物之21-聚合體siRNA雙鏈體的3'-末端核苷酸懸垂區段不會對RNAi活性產生不良作用。已充分容許將siRNA之每一端的多達四個核苷酸置換為去氧核糖核苷酸，而以去氧核糖核苷酸完全取代導致無RNAi活性。國際PCT公開案第WO 00/44914號及Beach等人，國際PCT公開案第WO 01/68836號預先表明siRNA可包括對磷酸酯-糖骨架或核苷的修飾，以納入至少一個氮或硫雜原子。Kreutzer等人，加拿大專利申請案第2,359,180號亦描述用於dsRNA構築體之特定化學改質，以抵消雙股RNA依賴性蛋白質激酶PKR，特定言之2'-胺基或2'-O-甲基核苷酸、及含有2'-O或4'-C亞甲基橋之核苷酸的活化。額外3'-末端核苷酸懸垂物包括dT(去氧胸苷)、2'-O,4'-C-伸乙基胸苷(eT)及2-羥基乙基磷酸酯(hp)。

Parrish等人，2000 Molecular Cell 6: 1077-1087使用長(>25 nt)siRNA轉錄物測試靶向線蟲(*C. elegans*)中之unc-22基因的特定化學改質。作者描述藉由將硫代磷酸酯核苷酸

類似物與T7及T3 RNA聚合酶合併將硫代磷酸酯殘基引入至此等 siRNA轉錄物中，且觀測到具有兩個硫代磷酸酯修飾之鹼基的RNA亦具有如RNAi之效用實質降低。此外，Parrish等人報導兩個以上殘基之硫代磷酸酯修飾活體外使RNA很大程度上不穩定，使得不能檢定干擾活性。同前1081頁。作者亦測試長siRNA轉錄物中之核苷酸糖2'-位置的特定修飾，且發現以去氧核苷酸取代核糖核苷酸引起干擾活性實質降低，在尿苷取代為胸苷及/或胞苷取代為去氧胞苷的情形中尤其如此。同前。此外，作者測試特定鹼基修飾，包括在siRNA之有義股及反義股中以4-硫代尿嘧啶、5-溴尿嘧啶、5-碘尿嘧啶及3-(胺基烯丙基)尿嘧啶取代尿嘧啶，及以肌苷取代鳥苷。而看似容許4-硫代尿嘧啶及5-溴尿嘧啶取代，Parrish報導肌苷在併入任一股中時引起干擾活性實質降低。Parrish亦報導在反義股中併入5-碘尿嘧啶及3-(胺基烯丙基)尿嘧啶亦導致RNAi活性實質降低。

熟習此項技術者應瞭解可能使用此項技術中已知之任何習知方法根據需要合成及修飾 siRNA(參看 Henschel等人, 2004 DEQOR: a web-based tool for the design and quality control of siRNAs. Nucleic Acids Research 32 (Web Server Issue): W113-W120)。此外，熟習此項技術者顯而易知，存在適用於反義寡核苷酸、siRNA或shRNA表現構築體/載體之多種調節序列(例如組成性或誘導性啟動子、組織特異性啟動子或其功能性片段等)。

此項技術中存在若干描述糖、鹼基、磷酸酯及骨架修飾之實例，其可引入至核酸分子中以顯著提高其核酸酶穩定性及功效。舉例而言，寡核苷酸經修飾以藉由以核酸酶抗性基團修飾(例如2'-胺基、2'-C-烯丙基、2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-H、核苷酸鹼基修飾)提高穩定性及/或提高生物活性(評論參看Usman及Cedergren 1992 TIBS. 17: 34；Usman等人，1994 Nucleic Acids Symp. Ser. 31: 163；Burgin等人，1996 Biochemistry 35: 14090)。此項技術中詳盡描述核酸分子之糖修飾。

已描述RNAi劑之其他修飾及結合。Soutschek等人，2004 Nature 432: 173-178提出藉助於吡咯啶連接子使膽固醇與siRNA分子之有義股的3'端結合，藉此產生共價且不可逆結合。亦可對RNAi劑進行化學改質(包括與其他分子結合)以增加活體內藥物動力學滯留時間及效率。

在多個實施例中，針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑包含：至少一個5'-尿苷-腺嘌呤-3'(5'-ua-3')二核苷酸，其中尿苷為2'-經修飾核苷酸；至少一個5'-尿苷-鳥嘌呤-3'(5'-ug-3')二核苷酸，其中5'-尿苷為2'-經修飾核苷酸；至少一個5'-胞苷-腺嘌呤-3'(5'-ca-3')二核苷酸，其中5'-胞苷為2'-經修飾核苷酸；及/或至少一個5'-尿苷-尿苷-3'(5'-uu-3')二核苷酸，其中5'-尿苷為2'-經修飾核苷酸。

在多個實施例中，RNAi劑包含選自由以下組成之群的2'-修飾：2'-去氧、2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氨基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-胺基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲胺



基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲胺基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲胺基乙氧基乙基(2'-O-DMAEAOE)及2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)。

在另一實施例中，RNAi包含間隙或缺失鹼基。舉例而言，可存在磷酸酯-糖骨架，但鹼基缺失。

在另一實施例中，RNAi劑具有單股切口(例如骨架中鍵斷裂或缺失)。在多個實施例中，單股切口可在有義股或反義股或其兩者中。

此切口可例如在有義股中，產生小內部分段干擾RNA或siRNA，其脫靶作用可小於無切口之相應RNAi劑。

反義核酸或RNAi劑亦可具有替代骨架，諸如鎖定核酸(LNA)、N-嗎啉基、肽核酸(PNA)、蘇糖核酸(TNA)或二醇核酸(GNA)，及/或其可經標記(例如放射性標記或加標籤)。

一股或兩股可包含替代骨架。

在另一實施例中，本發明方法採用之RNAi劑可包括 $\alpha$ -異頭核酸分子。 $\alpha$ -異頭核酸分子與互補RNA(其中與一般 $\beta$ -單元相反，各股彼此平行)形成特異性雙股雜交物。Gaultier等人. 1987 Nucleic Acids. Res. 15: 6625-6641。

反義核酸分子亦可包含2'-鄰-甲基核糖核苷酸(Inoue等人, 1987 Nucleic Acids Res. 15: 6131-6148)或嵌合RNA-DNA類似物(Inoue等人, 1987 FEBS Lett. 215: 327-330)。

在另一實施例中，RNAi劑為核糖酶。核糖酶為具有核糖核酸酶活性之催化性RNA分子，其能夠裂解與其具有互

補區之單股核酸(諸如mRNA)。因此，核糖酶[例如錘頭狀核糖酶(描述於Haselhoff等人, 1988, Nature 334: 585-591中)]可用於催化裂解 $\beta$ -ENaC mRNA轉錄物，藉此抑制 $\beta$ -ENaC mRNA之轉譯。

或者，可藉由靶向與 $\beta$ -ENaC之調節區(例如啟動子及/或強化子)互補之核苷酸序列形成防止 $\beta$ -ENaC基因轉錄的三螺旋結構來抑制基因表現。一般參看Helene 1991 Anticancer Drug Des. 6(6): 569-84；Helene等人, 1992 Ann. N.Y. Acad. Sci. 660: 27-36；及Maher 1992, Bioassays 14(12): 807-15。

### 製造RNAi劑

可使用已以反義方向次選殖核酸之表現載體(亦即自插入之核酸轉錄之RNA將處於所關注目標核酸的反義方向上)以生物學方式製造RNAi劑。RNAi劑亦可使用以shRNA構築體形式次選殖核酸之表現載體(亦即自插入之核酸轉錄之RNA將具有與所關注目標核酸反義方向的第一區、包含環或鉸鏈之第二區、及與所關注目標核酸有義方向之第三區，其中轉錄物之第一區及第三區較佳自身雜交，藉此形成主幹-環結構)以生物學方式製造。

製造RNAi劑之方法為此項技術中所熟知且可為一般技術人員獲得。

用於合成RNAi之套組自例如New England Biolabs及Ambion市售購得。

### 傳遞RNAi劑

本發明之RNAi劑可藉由此項技術中已知之任何方式傳遞或引入(例如引入至活體外細胞、測試動物或人類中)。

本發明之RNAi劑通常向個體投與或原位產生，使得其與編碼 $\beta$ -ENaC之細胞mRNA及/或基因組DNA雜交，且藉由抑制轉錄及/或轉譯來抑制表現。RNAi劑之投與途徑的實例包括在組織部位直接注射。或者，RNAi劑可經修飾以靶向所選細胞，接著全身投與。舉例而言，對於全身投與，反義分子可經修飾，使得其特異性結合於表現於所選細胞表面上之受體或抗原，例如藉由連接反義核酸分子與結合於細胞表面受體或抗原之肽或抗體。反義核酸分子亦可使用此項技術中熟知且描述於例如US20070111230(其全部內容以引用的方式併入本文中)的載體傳遞至細胞。為了實現反義分子的充分胞內濃度，反義核酸分子置於強pol II或pol III啟動子控制下的載體構築體較佳。

如熟習此項技術者所瞭解，「引入至細胞中」在提及RNAi劑時意謂促進或實現攝取或吸收至細胞中。藉由獨立擴散(unaided diffusive)或主動細胞過程或藉由助劑或裝置可發生RNAi劑的吸收或攝取。此術語之含義不限於活體外細胞；RNAi劑亦可「引入至細胞中」，其中細胞為活生物體的一部分。在該情形中，引入至細胞中將包括傳遞至生物體。舉例而言，對於活體內傳遞而言，RNAi劑可注射至組織部位中或可全身投與。亦可藉由 $\beta$ -葡聚糖傳遞系統活體內傳遞，諸如美國專利第5,032,401號及第5,607,677號、及美國公開案第2005/0281781號中所述之系

統。活體外引入至細胞中包括此項技術中已知之方法，諸如電穿孔及脂質體轉染。其他方法描述於本文中或為此項技術中所知。

將RNAi劑傳遞至組織是一個難題，因為物質必需到達目標器官且亦必需進入目標細胞之細胞質。RNA不能穿透細胞膜，因此全身傳遞裸RNAi劑不可能成功。RNA被血清中之RNase活性迅速降解。出於此等原因，已設計將RNAi劑傳遞至目標細胞的其他機制。此項技術中已知之方法包括(但不限於)：病毒傳遞(反轉錄病毒、腺病毒、慢病毒、桿狀病毒、AAV)；脂質體(脂染胺、陽離子DOTAP、中性DOPC)或奈米粒子(陽離子聚合物，PEI)、細菌傳遞(tkRNAi)、及亦化學改質(LNA)siRNA以改良穩定性。Xia等人，2002 Nat. Biotechnol. 20及Devroe等人，2002. BMC Biotechnol. 2 1: 15揭示將siRNA併入至病毒載體中。涵蓋用於傳遞RNAi劑之其他系統且本發明之RNAi劑可藉由FDA或其他管理局發現及批准的多種方法傳遞。本發明之RNAi劑可在適合醫藥組合物中傳遞。

### RNAi劑之醫藥組合物

如本文所用，「醫藥組合物」包含醫藥有效量之一或多種 $\beta$ -ENaC RNAi劑、醫藥學上可接受之載劑及與RNAi劑一起協同作用之視情況選用之額外疾病治療。如本文所用，「藥理學有效量」、「治療有效量」或僅「有效量」係指有效產生所欲藥理學、治療或預防結果之RNAi劑的量。舉例而言，若與疾病或病症有關之可量測參數存在至少10%

減少時認為既定臨床治療有效，則治療彼疾病或病症之藥物的治療有效量為實現彼參數至少 10% 減少所需之量。在此實施例中，治療有效量之靶向  $\beta$ -ENaC 的 RNAi 劑可將  $\beta$ -ENaC 蛋白質含量降低至少 10%。在其他實施例中，當與疾病或病症有關之可量測參數降低至少 15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 或 95% 時認為既定臨床治療有效，且用於治療彼疾病或病症之藥物的治療有效量為分別使彼參數降低至少 15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 或 95% 的量。

術語「醫藥學上可接受之載劑」係指用於投與治療劑之載劑。該等載劑包括(但不限於)生理食鹽水、緩衝鹽水、右旋糖、水、甘油、乙醇及其組合。該術語特定包括細胞培養基。對於經口投與之藥物而言，醫藥學上可接受之載劑包括(但不限於)醫藥學上可接受之賦形劑，諸如惰性稀釋劑、崩解劑、黏合劑、潤滑劑、甜味劑、調味劑、著色劑及防腐劑。合適惰性稀釋劑包括碳酸鈉及碳酸鈣、磷酸鈉及磷酸鈣，及乳糖，而玉米澱粉及褐藻酸為合適崩解劑。黏合劑可包括澱粉及明膠，而潤滑劑(若存在)一般將為硬脂酸鎂、硬脂酸或滑石。若需要，則錠劑可經諸如單硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯之物質包衣以延遲在胃腸道中的吸收。本文進一步描述藥物調配物中包括之試劑。

包含  $\beta$ -ENaC RNAi 劑之醫藥組合物可為固體形式，例如散劑、顆粒、錠劑、丸劑、囊形片(gelcap)、明膠膠囊、

脂質體、栓劑、可咀嚼形式或貼片。包含 $\beta$ -ENaC RNAi劑之醫藥組合物亦可呈液體形式，例如溶液、乳液、懸浮液、酏劑或糖漿。適當液體載劑可為例如水、有機溶劑，諸如多元醇，諸如甘油或二醇，包括丙二醇及聚乙二醇，或乙醇，Cremophor EL或其於水中之不同比例之混合物。組合物可包含以白蛋白或界面活性劑塗覆的奈米尺寸之非晶形或結晶顆粒。

適當載劑可包括例如抗菌劑及抗真菌劑、緩衝劑、磷酸鈣、纖維素、甲基纖維素、氯丁醇、可可脂、著色劑、糊精、乳化劑、腸溶塗膜、調味劑、明膠、等張劑、卵磷脂、硬脂酸鎂、加香劑、多元醇(諸如甘露糖醇)、可注射有機酯(諸如油酸乙酯、對羥基苯甲酸酯、苯酚山梨酸(phenol sorbic acid)、聚乙二醇、聚乙烯吡咯啶、磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)、防腐劑、丙二醇、羧甲基纖維素鈉、氯化鈉、山梨糖醇、多種糖(包括(但不限於)蔗糖、果糖、半乳糖、乳糖及海藻糖)、澱粉、栓劑蠟、滑石、植物油(諸如橄欖油及玉米油)、維生素、蠟及/或濕潤劑。對於 $\beta$ -ENaC RNAi劑，較佳載劑包含聚葡萄糖及水，例如含5%右旋糖之水(D5W)。

醫藥組合物之生物學惰性部分可視情況易蝕、允許定時釋放RNAi劑。

醫藥組合物可包含幫助傳遞、穩定性、功效或降低免疫原性之其他組分。

#### 包含針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的醫藥組合物

可添加包含針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的醫藥組合物之其他組分以幫助傳遞、穩定性、功效或降低免疫原性。

先前已使用脂質體進行藥物傳遞(例如傳遞化學治療劑)。脂質體(例如陽離子脂質體)描述於PCT公開案WO02/100435A1、WO03/015757A1及WO04029213A2；美國專利第5,962,016號；第5,030,453號；及第6,680,068號；及美國專利申請案2004/0208921中。製造脂質體之方法亦描述於WO04/002453A1中。此外，中性脂質已併入至陽離子脂質體中(例如Farhood等人, 1995)。

陽離子脂質體已用於向多個細胞類型傳遞RNAi劑(Sioud及Sorensen 2003；美國專利申請案2004/0204377；Duxbury等人, 2004；Donze及Picard, 2002)。

中性脂質體之使用揭示於Miller等人, 1998及美國專利申請案2003/0012812中。

如本文所用，術語「SNALP」係指穩定的核酸脂質粒子。SNALP表示塗覆減少之水相內核(包含核酸，諸如iRNA或轉錄iRNA之質體)的脂質微囊。SNALP描述於例如美國專利申請公開案第20060240093號、第20070135372號及國際申請案第WO 2009082817號中。

使用基於脂質、基於胺及基於聚合物之技術的化學轉染揭示於來自Ambion Inc., Austin, Tex.；及Novagen, EMD Biosciences, Inc, an Affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany)；Ovcharenko D (2003) 「Efficient delivery of siRNAs to human primary cells.」 Ambion TechNotes 10

(5): 15-16)之產品中。此外，Song等人(Nat Med. published online (Fete 10, 2003) doi: 10.1038/nm828)及其他[Caplen等人, 2001 Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 98: 9742-9747；及McCaffrey等人, Nature 414: 34-39]揭示肝細胞可藉由將siRNA注射至哺乳動物循環系統中有效轉染。

已使用多種分子進行細胞特異性RNAi劑傳遞。舉例而言，魚精蛋白之核酸聚集特性已與特異性抗體合併以傳遞siRNA。Song等人, 2005 Nat Biotech. 23: 709-717。自組裝聚乙二醇化聚陽離子聚伸乙基亞胺(PEI)亦已用於聚集及保護siRNA。Schiffelers等人, 2004 Nucl. Acids Res. 32: e149, 141-110。

含有siRNA之奈米粒子接著成功傳遞至整合素過表現腫瘤新血管中。Hu-Lieskovan等人, 2005 Cancer Res. 65: 8984-8992。

本發明之RNAi劑可經例如脂質奈米粒子(LNP)；中性脂質體(NL)；聚合物奈米粒子；雙股RNA結合基元(dsRBM)；或經RNAi劑之修飾(例如共價連接於dsRNA)傳遞。

脂質奈米粒子(LNP)為基於自組裝陽離子脂質之系統。此等可包含例如中性脂質(中性脂質體基質)；陽離子脂質(對於siRNA負載)；膽固醇(用於穩定脂質體)；及PEG-脂質(用於穩定調配物、電荷屏蔽及延長血流中之循環)。

陽離子脂質可包含例如頭基、連接子、尾部及膽固醇尾部。LNP可具有例如良好腫瘤傳遞、血液中延長之循環、



小粒子(例如小於 100 nm)及腫瘤微環境穩定性(具有低 pH 值且含氧量低)。

**中性脂質體(NL)**為基於非陽離子脂質之粒子

聚合物奈米粒子為基於自組裝聚合物之粒子。

雙股 RNA 結合基元(dsRBM)為將需要修飾之自組裝 RNA 結合蛋白質。

在多個實施例中，針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑接合至一或多個診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂苷元、薯蕷皂苷元、萜類、三萜、菝葜皂苷元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯 15-聚合體、天然聚合物、低分子量或中等分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及/或運鐵蛋白。

本發明之 RNAi 劑可製備為包含適於投與 RNAi 劑之特定方法的多種組分之醫藥組合物。

### **投與 RNAi 劑**

包含  $\beta$ -ENaC 之醫藥組合物可藉由經頰、吸入(包括吹入及深度吸入)、經鼻、經口、非經腸、植入、經硬膜外注射或輸注、動脈內、關節內、囊內、心內、腦室內、顱內、皮內、肌肉內、眶內、腹膜內、脊柱內、胸骨內、鞘

內、靜脈內、蛛膜下、囊下、皮下、表皮下、跨內皮、經氣管、經血管、經直腸、舌下、局部及/或經陰道途徑投與。此可藉由注射、輸注、皮膚貼或此項技術中已知之任何其他方法實現。調配物可粉末化、霧化、氣溶膠化、粒化或適當製備以供傳遞。若為液體，投與可減慢或經團式傳遞，儘管在此項技術中已知之情形中，團式注射可能導致物質經腎臟損失。

包含 $\beta$ -ENaC RNAi劑之醫藥組合物可使用此項技術中已知之藥物裝置投與。舉例而言，在特定實施例中，RNAi劑可使用無針皮下注射裝置投與，諸如美國專利第5,399,163號、第5,383,851號、第5,312,335號、第5,064,413號、第4,941,880號、第4,790,824號或第4,596,556號中揭示之裝置。適用於本發明之熟知植入物及模組的實例包括：美國專利第4,487,603號，其揭示用於在控制速率下分配藥物之可植入微輸注泵；美國專利第4,486,194號，其揭示用於經皮膚投與藥物之治療裝置；美國專利第4,447,233號，其揭示用於以精確輸注速率傳遞藥物之藥物輸注泵；美國專利第4,447,224號，其揭示用於連續藥物傳遞之可變流式可植入輸注設備；美國專利第4,439,196號，其揭示具有多室隔室之滲透藥物傳遞系統；及美國專利第4,475,196號，其揭示滲透藥物傳遞系統。熟習此項技術者已知許多其他該等植入物、傳遞系統及模組。

在某些實施例中，包含RNAi劑之醫藥組合物可經調配

以確保適當活體內分佈。針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑之投與可全身(整體)或尤其靶向表現 $\beta$ -ENaC(或過表現 $\beta$ -ENaC或顯示 $\beta$ -ENaC高活性)之組織或器官，諸如肺、腎臟、結腸及腺。靶向此等特定組織或器官之方法揭示於本文中及/或為此項技術中所已知。舉例而言，其可調配為脂質體。製造脂質體之方法參看例如美國專利4,522,811；5,374,548及5,399,331。脂質體可包含選擇性傳入特異性細胞或器官中的一或多個部分，因此提高靶向藥物傳遞(參看例如V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29: 685)。

實例靶向部分包括葉酸鹽或生物素(參看例如Low等人之美國專利5,416,016)；甘露糖(Umezawa等人，(1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038)；抗體(P.G. Bloeman等人，(1995) FEBS Lett. 357: 140；M. Owais等人，(1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39: 180)；界面活性劑蛋白質A受體(Briscoe等人，(1995) Am. J. Physiol. 1233: 134)，可包含本發明調配物以及所發明分子之組分的不同物質；p120(Schreier等人，(1994) J. Biol. Chem. 269: 9090)；亦參看K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346: 123；J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4: 273)。

本發明因此涵蓋用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病的包含一或多種針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的醫藥組合物，其可視情況包含多種修飾及/或其他組分。

### $\beta$ -ENaC相關疾病

本發明涵蓋針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑，及向人類及非人類動物投與RNAi劑以治療各種 $\beta$ -ENaC相關疾病。

「 $\beta$ -ENaC相關疾病」意謂與 $\beta$ -ENaC之含量、表現及/或活性的功能障礙有關之任何疾病，及/或可藉由調節 $\beta$ -ENaC之含量、表現及/或活性治療及/或改善的任何疾病。詳言之，其包括囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓。

「囊腫性纖維化」或「CF」意謂與囊腫性纖維化跨膜傳導調節(CFTR)基因之突變有關的常見遺傳性疾病。CFTR編碼cAMP依賴性Cl-通道且調節ENaC。在CF氣管上皮中，CFTR介導之Cl-分泌有缺陷及ENaC介導之Na<sup>+</sup>吸收增加。CF氣管中之此等離子傳輸缺陷使氣管表面液體(ASL)容量耗竭、黏液清除有缺陷及黏液黏附，表明ASL容量耗竭為CF肺病之發病機制的關鍵機制。在實驗小鼠中， $\beta$ -ENaC之氣管特異性過表現證明加速之單獨Na<sup>+</sup>傳輸足以產生ASL容量耗竭及CF樣肺病，包括氣管黏液阻塞、杯狀細胞化生、慢性嗜中性氣管發炎、細菌病原體清除異常及最終死亡。參看Zhou等人，2008及其中引用之參考文獻。

「李德爾症候群」意謂高血壓之常染色體顯性遺傳形式，特徵為早期且嚴重高血壓，通常伴隨代謝鹼中毒及低鉀血症，特徵為醛固酮過量之所有病徵(康氏症候群(Conn's syndrome))。

然而，醛固酮之血漿含量較低。因此，李德爾症候群亦

稱為假多醛固酮症。高血壓之此嚴重形式對使用低鹽飲食及  $\text{Na}^+$ 通道抑制劑(留  $\text{K}^+$ 利尿劑)治療起反應，表明 ENaC 之主要缺陷調節。該疾病與  $\gamma$ -ENaC 突變、及亦  $\beta$ -ENaC 之若干突變(「PY」基元中之 P615S、P616L 及 Y618H，其具有 PPXY 之共同序列；及亦 R564st、W574st、579del32、Q589st、T592fr、A593fr 及 R595fr，其中「fr」為讀框轉移，「del」為缺失，且「st」為提前終止密碼子)有關。

此等突變引起相較於野生型 ENaC 高活性之  $\text{Na}^+$ 通道過表現。突變亦防止通道下調，通常出現胞內  $\text{Na}^+$ 升高；儘管高胞內  $\text{Na}^+$ 濃度，但具有李德爾突變之 ENaC 通道仍為高度活性狀態。因此，李德爾症候群之突變 ENaC 之含量及/或活性可由針對  $\beta$ -ENaC 之 siRNA 調節，或該 siRNA 與李德爾症候群之已知治療(諸如低鹽飲食及  $\text{Na}^+$ 通道抑制劑(留  $\text{K}^+$ 利尿劑))組合。

$\beta$ -ENaC 相關疾病之其他資訊參看例如 Hummler 等人，1999. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571。

「肥胖相關之高血壓」意謂與肥胖有關或相關之高血壓，及其類似疾病。肥胖與高血壓相關。已提出多種機制來解釋此相互關係，包括(在肥胖中)增加之交感神經活性；增加之腎素-血管收縮素-醛固酮系統活性；增加之心輸出量；及器官周圍間隙脂肪產生的增加之機械壓力；高胰島素血症及/或胰島素抗性。腎臟之鈉滯留可由任一此等機制引起。在連接管及集合管中，經 ENaC 出現鈉再吸

收。Zucker大鼠(肥胖之模型動物)腎臟中 $\beta$ -ENaC之含量增加。

Bickel等人, 2001 Am. J. Physiol. Renal Physiol. 281: 639-648。此及其他鈉轉運體之豐度相對增加，而其他鈉轉運體未降低，可能導致管鈉再吸收增加。因此，腎臟鈉轉運體豐度之此等改變可能在肥胖哺乳動物(包括人類)中產生及/或維持高血壓中起一定作用。

「1型假醛固酮過少症」、「PHA1」、「PHA-1」及其類似術語意謂特徵為鹽皮質激素終器抗性之異源性臨床症候群，亦即儘管醛固酮含量升高，但尿液損失 $\text{Na}^+$ 且 $\text{K}^+$ 排泄降低。此症狀之嚴重形式以常染色體隱性性狀遺傳，有時導致低鈉血症、低血壓及高鉀血症之致死事件，且顯示若干器官(腎臟、唾液腺、汗腺及結腸)中 $\text{Na}^+$ 傳輸之改變。在顯示此形式PHA-1之若干家族中，發現三種ENaC子單元之任一者中與突變之關聯(包括 $\beta$ -ENaC中之G37S)。

常染色體顯性遺傳模式之較不嚴重形式之PHA-1多數為幼年期間有症狀且隨年齡改善。參看Hummler等人, 1999. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571。

針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑可用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病，尤其與 $\beta$ -ENaC之表現、活性及/或含量改變有關的彼等疾病。

### RNAi劑用於治療 $\beta$ -ENaC相關疾病之用途

本文所述之針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑可調配成可向人類或非人類動物投與的醫藥組合物。此等組合物可包含一或多



種 RNAi 劑，及視情況選用之適用於治療  $\beta$ -ENaC 相關疾病的其他治療。其可作為早期/預防性治療的一部分投與，且可以治療有效劑量投與。醫藥組合物可包含醫藥載劑且可藉由此項技術中已知之任何方法投與。本發明之此等多種態樣在下文中另外詳細描述。

針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑可向人類及非人類動物投與以治療  $\beta$ -ENaC 相關疾病。

在本發明之一實施例中，可向非人類動物投與包含  $\beta$ -ENaC RNAi 劑之組合物。舉例而言，組合物可給予雞、火雞、家畜動物(諸如綿羊、豬、馬、牛等)、伴侶動物(例如貓及犬)，且可具有治療囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓及類似疾病之功效。在各情形中，針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑將經選擇以匹配動物之基因組之  $\beta$ -ENaC 的序列，且特定言之含有與彼動物基因組之所有其他基因的至少 1 nt 錯配。本發明之 RNAi 劑因此可用於治療人類及非人類動物之  $\beta$ -ENaC 相關疾病。

如本文在  $\beta$ -ENaC 表現中所用，術語「治療」及其類似術語係指緩解或改善  $\beta$ -ENaC 表現所介導之病理學過程。在本揭示關於下文引用之任何其他病狀(除  $\beta$ -ENaC 表現所介導之病理學過程之外)範圍內，術語「治療」及其類似術語意謂減輕或緩解至少一種與該病狀有關的症狀，或減緩或逆轉該病狀之進展或預期進展，諸如減緩脂質病症(諸如動脈粥樣硬化)之進展。

「治療」亦意謂患者病況之防治、治療、治癒或顯示改良或不存在身體狀況退化之任何其他改變。「治療」意謂治療 $\beta$ -ENaC相關疾病(例如囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及肥胖相關之高血壓)，或任何適當治療患者患有之任何其他疾病。如本文所用，術語「治療」係指防治性及預防性治療及治癒或疾病改善治療，包括治療處於感染疾病風險或疑似患病之患者，以及已生病或診斷為罹患病況之患者。術語「治療」亦指維持及/或促進未罹患疾病但可能易於產生不健康狀況(諸如氮失衡或肌肉損失)之個體的健康。在一個實施例中，「治療」不涵蓋預防疾病狀態。因此，本發明適用於受 $\beta$ -ENaC相關疾病折磨之個體或易患 $\beta$ -ENaC相關疾病之個體中抑制 $\beta$ -ENaC基因表現及/或治療 $\beta$ -ENaC相關疾病。受 $\beta$ -ENaC相關疾病「折磨」之個體已顯現疾病之可偵測症狀特徵，或另外已顯示臨床上曾暴露於或攜帶 $\beta$ -ENaC相關疾病病原體或標誌。作為非限制性實例，受 $\beta$ -ENaC相關疾病折磨之個體可能顯示外表症狀(outward symptom)；或可能不顯示外表症狀，但經臨床測試可能顯示攜帶與 $\beta$ -ENaC相關疾病有關之蛋白質標誌，或與血液中之病原體有關之蛋白質或遺傳物質。

若較早而非較晚投與，則一些 $\beta$ -ENaC相關疾病的早期治療可能更有效。預防性早期投與阿米洛利(ENaC抑制劑)適於治療CF模型小鼠，而較晚投與則不能。類似地，在CF中以抗微生物劑早期干預比感染後治療更有效。Zhou

等人，2008。因此，在一特定實施例中，針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑係早期投與、在疾病表現之前投與及/或作為預防劑投與，而非在疾病確立後投與。

$\beta$ -ENaC相關疾病之治療可包含多種治療，包含 $\beta$ -ENaC RNAi劑，且視情況另外包含可為方法(或程序)或額外組合物(例如試劑或額外RNAi劑)的額外治療。

#### **RNAi劑之劑量及有效量**

本發明之RNAi劑以對有需要患者之治療有效量的劑量投與。

「有效量」或「治療有效量」為治療個體之疾病或醫學病況的量，或更一般而言，向個體提供營養、生理學或醫學益處之量。如本文所用，「治療有效量」及「防治有效量」一詞係指在 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學過程或 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學過程的外顯症狀的治療、預防或管理中提供治療益處之量。治療有效之特定量可由一般醫學從業人員容易地測定，且可視此項技術中已知之因素變化，諸如 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學過程之類型、患者病史及年齡、 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學過程的階段及抑制 $\beta$ -ENaC表現介導之病理學過程的其他試劑之投與。

在本發明之多個實施例中，患者為至少約1、3、6或9個月、或1、5、10、20、30、40、50、55、60、65、70或75歲。在多個實施例中，患者不超過約1、3、6或9個月、或1、5、10、20、30、40、50、55、60、65、70、75、80、90或100歲。在多個實施例中，患者體重為至少約5、10、

15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300、320、340、360、380或400磅(lbs)。在多個實施例中，患者體重不超過約5、10、15、20、30、40、50、60、70、80、90、100、120、140、160、180、200、220、240、260、280、300、320、340、360、380或400 lbs。

在本發明之多個實施例中，劑量[僅量測活性成分]可為至少約1、5、10、25、50、100、200、250、300、250、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000 ng，1、5、10、25、50、100、200、250、300、250、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000 μg，1、5、10、25、50、100、200、250、300、250、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000 mg。在多個實施例中，劑量可不超過約10、25、50、100、200、250、300、250、400、450、500、550、600、650、700、750、800、850、900、950或1000 mg。在多個實施例中，劑量可至少每天投與一次以上、每天一次、每週一次以上、每週一次、每兩週一次、每月一次及/或每2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12個月一次、或其組合。

在多個實施例中，劑量與個體之體重或體表面積有關。實際劑量可變化以使獲得的活性成分之量對特定患者、組合物及投與模式有效，而對患者無毒。所選劑量將視多種

藥物動力學因素而定，包括所採用特定RNAi劑之活性、投與途徑、RNAi劑排出速率、治療持續時間、與RNAi劑組合使用之其他藥物、化合物及/或物質、患者之年齡、性別、體重、病況、一般健康狀況及先前病史及醫藥技術中熟知的類似因素。具有一般技術之醫師或獸醫可容易地測定所需RNAi劑之有效量。適合劑量將為有效產生治療作用之最低劑量，或足夠低以產生治療作用而不引起副作用的劑量。

除了治療有效劑量之一或多種針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑之外，本發明之醫藥組合物可包含額外疾病治療或與其他疾病治療結合使用，其與RNAi劑協同起作用。舉例而言，醫藥組合物可包含針對ENaC之額外拮抗劑，諸如留鉀利尿劑、阿米洛利及胺苯喋啶。額外治療可與醫藥組合物一起投與，包括(非限制性實例)飲食鹽攝取調節。當用於治療囊腫性纖維化時，醫藥組合物可與此項技術中已知之多種藥物及療法結合使用，包括(但不限於)抗生素、DNase療法、沙丁胺醇、N-乙醯半胱氨酸、呼吸療法、叩診療法、有氧運動及治療與囊腫性纖維化有關之疾病(例如腹瀉、骨質疏鬆症、糖尿病、出血等)的多種藥物及療法。

#### **針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的額外實施例**

在特定實施例中，本發明涵蓋包含一或多種 $\beta$ -ENaC RNAi劑之組合物。在一實施例中，本發明包含具有有義股及反義股之RNAi劑。在一實施例中，反義股由、基本上由具有例如表1中所列之RNAi劑的反義股的序列組成或

包含具有例如表1中所列之RNAi劑的反義股的序列。在一實施例中，反義股由、基本上由與例如表1中所列之任何RNAi劑的反義股有0、1、2或3個錯配的序列組成或包含與例如表1中所列之任何RNAi劑的反義股有0、1、2或3個錯配的序列。在一實施例中，反義股由例如表1中所列之RNAi劑之反義股序列組成，且另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸。在一實施例中，反義股由與例如表1中所列之RNAi劑之反義股有0、1、2或3個錯配的序列組成，且另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個核苷酸。

在另一實施例中，本發明之組合物不包含例如表1中所列之任何特定個別RNAi劑。在本發明之另一實施例中，針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑不包含專利或科學文獻中揭示之任何 $\beta$ -ENaC RNAi劑的序列，例如美國專利申請案第60/346,069號(PCT/US02/41850)及Hyde等人，2009, The 23<sup>rd</sup> North American Cystic Fibrosis Conference, Minneapolis, 2009年10月14-17日；或可作為sc-42418(及相關產物)自Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA獲得者。

#### **針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的特定實施例**

本文揭示針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個具體實施例。實例雙鏈體序列提供於本文及例如表1中。本發明之特定實施例包括包含與例如表1中列出之RNAi劑的彼等有0、1、2或3個nt或bp不同(例如0、1、2或3個錯配)之序列的RNAi



劑。

錯配在本文中定義為當兩個序列最大程度比對及比較時鹼基序列或長度之間的差異。錯配定義為一個序列的鹼基與另一序列之鹼基不匹配的位置。因此，舉例而言，若一序列之位置具有特定鹼基(例如A)，且另一序列之相應位置具有不同鹼基(例如G)，則計數錯配。

例如，若一個序列之位置具有鹼基(例如A)，且另一序列之相應位置不具有鹼基(例如彼位置為包含磷酸酯-糖骨架但無鹼基之無鹼基核苷酸)，則亦計數錯配。任一序列(或有義股或反義股)中之單股切口不計為錯配。因此，作為非限制性實例，若一序列包含序列AG，但另一序列包含序列AG且在A與G之間具有單股切口，則不計數錯配。鹼基修飾亦不視為錯配。因此，若一序列包含C，且另一序列在同一位置包含經修飾C(例如2'-修飾)，則將不計數錯配。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20807(SEQ ID NO: 5及6，或SEQ ID NO:115及116)的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20807之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20807。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20807之序列組

成之序列。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20826(SEQ ID NO: 43及44，或SEQ ID NO:153及154)的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20826之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20826。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20626之序列組成之序列。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832(其包含SEQ ID NO: 55及56，或SEQ ID NO:165及166)的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20832。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20832之序列組成之序列。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20834(其包含SEQ ID NO: 59及60，或SEQ ID NO:169及170)的反義股不

同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20834之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20834。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20834之序列組成之序列。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20848(其包含SEQ ID NO: 87及88，或SEQ ID NO:197及198)的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20848之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20848。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20848之序列組成之序列。

在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20861(其包含SEQ ID NO: 97及98，或SEQ ID NO:207及208)的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20861之有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20861。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20861之序列組成之序列。

在一實施例中，本發明包含在10 nM活體外濃度下在H441細胞中顯示β-ENaC基因至少約80%阻斷(不超過約20%殘餘基因活性)的RNAi劑。

因此，在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861或AD-20834的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861或AD-20834的有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861或AD-20834。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861或AD-20834之序列組成的序列。

在一實施例中，本發明包含在10 nM活體外濃度下在H441細胞中顯示β-ENaC基因至少約70%阻斷(不超過約30%殘餘基因活性)的RNAi劑。

因此，在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之

RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825或AD-20867的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825或AD-20867的有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825或AD-20867。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825或AD-20867之序列組成的序列。

在一實施例中，本發明包含在10 nM活體外濃度下在H441細胞中顯示β-ENaC基因至少約60%阻斷(不超過約40%殘餘基因活性)的RNAi劑。

因此，在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808或AD-20827的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808或AD-20827的有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808或AD-20827。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；

AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808或AD-20827之序列組成的序列。

在一實施例中，本發明包含在10 nM活體外濃度下在H441細胞中顯示β-ENaC基因至少約50%阻斷(不超過約50%殘餘基因活性)的RNAi劑。

因此，在一特定實施例中，本發明包含具有反義股之RNAi劑，該反義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808；AD-20827；AD-20828；AD-20812；AD-20836或D-20822的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA亦另外包含有義股，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808；AD-20827；AD-20828；AD-20812；

AD-20836或AD-20822的有義股不同的至少15個連續核苷酸。

在另一特定實施例中，siRNA包含AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808；AD-20827；AD-20828；AD-20812；AD-20836或AD-20822。

在另一特定實施例中，siRNA具有由AD-20832；AD-20848；AD-20807；AD-20826；AD-20837；AD-20861；AD-20834；AD-20806；AD-20851；AD-20865；AD-20811；AD-20819；AD-20839；AD-20835；AD-20825；AD-20867；AD-20813；AD-20823；AD-20805；AD-20831；AD-20862；AD-20808；AD-20827；AD-20828；AD-20812；AD-20836或AD-20822之序列組成之序列。

#### **針對β-ENaC之RNAi劑的多個實施例**

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20805之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20806之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、



1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20807之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20808之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20809之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20810之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20811之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20812之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20813之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20814之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20815之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20816之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20817之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20818之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20819之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20820之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20821之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20822之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20823之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20824之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20825之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20826之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20827之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20828之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20829之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20830之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20831之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20832之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20833之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20834之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20835之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20836之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20837之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20838之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20839之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20840之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20841之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20842之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、



1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20843之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20844之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20845之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20846之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20847之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20848之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、

1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20849之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20850之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20851之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20852之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20861之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20862之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有

0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20863之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20864之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20865之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20866之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明包含具有有義股及/或反義股之RNAi劑，該有義股包含有0、1、2或3個nt與AD-20867之有義股不同的至少15個連續核苷酸，該反義股包含有0、1、2或3個nt與其反義股不同的至少15個連續核苷酸。

#### **針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個實施例**

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核

苷酸與 AD-20805(其包含 SEQ ID NO. 111-112 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20806(其 包 含 SEQ ID NO. 113-114 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

● 在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20807(其 包 含 SEQ ID NO. 115-116 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20808(其 包 含 SEQ ID NO. 117-118 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

● 在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20809(其 包 含 SEQ ID NO. 119-120 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20810(其 包 含 SEQ ID NO. 121-122 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核

苷酸與 AD-20811(其包含 SEQ ID NO. 123-124 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20812(其包含 SEQ ID NO. 125-126 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20813(其包含 SEQ ID NO. 127-128 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20814(其包含 SEQ ID NO. 129-130 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20815(其包含 SEQ ID NO. 131-132 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20816(其包含 SEQ ID NO. 133-134 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核

苷酸與 AD-20817(其包含 SEQ ID NO. 135-136 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20818(其包含 SEQ ID NO. 137-138 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20819(其包含 SEQ ID NO. 139-140 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20820(其包含 SEQ ID NO. 141-142 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20821(其包含 SEQ ID NO. 143-144 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20822(其包含 SEQ ID NO. 145-146 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核

昔酸與AD-20823(其包含SEQ ID NO. 147-148及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20824(其包含SEQ ID NO. 149-150及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20825(其包含SEQ ID NO. 151-152及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20826(其包含SEQ ID NO. 153-154及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20827(其包含SEQ ID NO. 155-156及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20828(其包含SEQ ID NO. 157-158及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核

昔酸與AD-20829(其包含SEQ ID NO. 159-160及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20830(其包含SEQ ID NO. 161-162及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20831(其包含SEQ ID NO. 163-164及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20832(其包含SEQ ID NO. 165-166及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20833(其包含SEQ ID NO. 167-168及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20834(其包含SEQ ID NO. 169-170及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核

昔酸與AD-20835(其包含SEQ ID NO. 171-172及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20836(其包含SEQ ID NO. 173-174及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20837(其包含SEQ ID NO. 175-176及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20838(其包含SEQ ID NO. 177-178及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20839(其包含SEQ ID NO. 179-180及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核昔酸與AD-20840(其包含SEQ ID NO. 181-182及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之RNAi劑的組合物，其中反義股包含有0、1、2或3個核

苷酸與 AD-20841(其包含 SEQ ID NO. 183-184 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20842(其 包 含 SEQ ID NO. 185-186 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繼 核 苷 酸。

● 在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20843(其 包 含 SEQ ID NO. 187-188 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繼 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20844(其 包 含 SEQ ID NO. 189-190 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繼 核 苷 酸。

● 在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20845(其 包 含 SEQ ID NO. 191-192 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繼 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20846(其 包 含 SEQ ID NO. 193-194 及 其 經 修 飾 變 異 體)之 反 義 股 不 同 的 至 少 15 個 連 繼 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核



昔酸與 AD-20847(其包含 SEQ ID NO. 195-196 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔酸與 AD-20848(其包含 SEQ ID NO. 197-198 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一實施例中，本發明係關於包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔酸與 AD-20849(其包含 SEQ ID NO. 199-200 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔酸與 AD-20850(其包含 SEQ ID NO. 201-202 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔酸與 AD-20851(其包含 SEQ ID NO. 203-204 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔酸與 AD-20852(其包含 SEQ ID NO. 205-206 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核昔酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核昔

酸與 AD-20861(其包含 SEQ ID NO. 207-208 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20862(其包含 SEQ ID NO. 209-210 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20863(其包含 SEQ ID NO. 211-212 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20864(其包含 SEQ ID NO. 213-214 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一個實施例中，本發明係關於包含有義股及反義股之 RNAi 劑的組合物，其中反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與 AD-20865(其包含 SEQ ID NO. 215-216 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20866(其包含 SEQ ID NO. 217-218 及其經修飾變異體)之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，本 發 明 係 關 於 包 含 具 有 有 義 股 及 反 義 股 之 RNAi 劑 的 組 合 物，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核

苷酸與AD-20867(其包含SEQ ID NO. 219-220及其經修飾變異體)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個實施例

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20805(其包含SEQ ID NO. 111及112)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20806(其包含SEQ ID NO. 113及114)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20807(其包含SEQ ID NO. 115及116)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20808(其包含SEQ ID NO. 117及118)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20809(其包含SEQ ID NO. 119及120)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20810(其包含SEQ ID NO. 121及122)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20811(其包含SEQ ID NO. 123及124)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20812(其包含SEQ ID NO. 125及126)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20813(其包含SEQ ID NO. 127及128)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20814(其包含SEQ ID NO. 129及130)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20815(其包含SEQ ID NO. 131及132)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20816(其包含SEQ ID NO. 133及134)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20817(其包含SEQ ID NO. 135及136)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20818(其包含SEQ ID NO. 137及138)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20819(其包含SEQ ID NO. 139及140)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20820(其包含SEQ ID NO. 141及142)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20821(其包含SEQ ID NO. 143及144)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20822(其包含SEQ ID NO. 145及146)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20823(其包含SEQ ID NO. 147及148)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20824(其包含SEQ ID NO. 149及150)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20825(其包含SEQ ID NO. 151及152)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20826(其包含SEQ ID NO. 153及154)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20827(其包含SEQ ID NO. 155及156)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20828(其包含SEQ ID NO. 157及158)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20829(其包含SEQ ID NO. 159及160)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20830(其包含SEQ ID NO. 161及162)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20831(其包含SEQ ID NO. 163及164)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20832(其包含SEQ ID NO. 165及166)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20833(其包含SEQ ID NO. 167及168)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20834(其包含SEQ ID NO. 169及170)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20835(其包含SEQ ID NO. 171及172)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20836(其包含SEQ ID NO. 173及174)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20837(其包含SEQ ID NO. 175及176)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20838(其包含SEQ ID NO. 177及178)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20839(其包含SEQ ID NO. 179及180)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20840(其包含SEQ ID NO. 181及182)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20841(其包含SEQ ID NO. 183及184)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20842(其包含SEQ ID NO. 185及186)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20843(其包含SEQ ID NO. 187及188)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20844(其包含SEQ ID NO. 189及190)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20845(其包含SEQ ID NO. 191及192)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20846(其包含SEQ ID NO. 193及194)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20847(其包含SEQ ID NO. 195及196)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20848(其包含SEQ ID NO. 197及198)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20849(其包含SEQ ID NO. 199及200)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20850(其包含SEQ ID NO. 201及202)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20851(其包含SEQ ID NO. 203及204)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20852(其包含SEQ ID NO. 205及206)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20861(其包含SEQ ID NO. 207及208)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20862(其包含SEQ ID NO. 209及210)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20863(其包含SEQ ID NO. 211及212)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20864(其包含SEQ ID NO. 213及214)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20865(其包含SEQ ID NO. 215及216)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之

RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20866(其包含SEQ ID NO. 217及218)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

且在一實施例中，組合物包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中該反義股包含有0個核苷酸與AD-20867(其包含SEQ ID NO. 219及220)之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個實施例

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20805(包含SEQ ID NO. 1及2)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20806(包含SEQ ID NO. 3及4)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20807(包含SEQ ID NO. 5及6)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20808(包含SEQ ID NO. 7及8)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20809(包含SEQ ID NO. 9及10)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20810(包含SEQ ID NO. 11及12)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20811(包含SEQ ID NO. 13及14)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20812(包含SEQ ID NO. 15及16)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20813(包含SEQ ID NO. 17及18)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20814(包含SEQ ID NO. 19及20)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20815(包含SEQ ID NO. 21及22)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20816(包含SEQ ID NO. 23及24)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20817(包含SEQ ID NO. 25及26)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20818(包含SEQ ID NO. 27及28)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20819(包含SEQ ID NO. 29及30)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20820(包含SEQ ID NO. 31及32)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20821(包含SEQ ID NO. 33及34)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20822(包含SEQ ID NO. 35及36)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20823(包含SEQ ID NO. 37及38)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20824(包含SEQ ID NO. 39及40)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20825(包含SEQ ID NO. 41及42)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20826(包含SEQ ID NO. 43及44)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20827(包含SEQ ID NO. 45及46)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20828(包含SEQ ID NO. 47及48)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20829(包含SEQ ID NO. 49及50)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20830(包含SEQ ID NO. 51及52)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20831(包含SEQ ID NO. 53及54)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20832(包含SEQ ID NO. 55及56)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20833(包 含 SEQ ID NO. 57 及 58)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20834(包 含 SEQ ID NO. 59 及 60)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20835(包 含 SEQ ID NO. 61 及 62)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20836(包 含 SEQ ID NO. 63 及 64)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20837(包 含 SEQ ID NO. 65 及 66)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20838(包 含 SEQ ID NO. 67 及 68)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20839(包含SEQ ID NO. 69及70)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20840(包含SEQ ID NO. 71及72)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20841(包含SEQ ID NO. 73及74)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20842(包含SEQ ID NO. 75及76)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20843(包含SEQ ID NO. 77及78)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20844(包含SEQ ID NO. 79及80)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20845(包 含 SEQ ID NO. 81 及 82)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20846(包 含 SEQ ID NO. 83 及 84)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20847(包 含 SEQ ID NO. 85 及 86)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20848(包 含 SEQ ID NO. 87 及 88)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20849(包 含 SEQ ID NO. 89 及 90)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一 實 施 例 中，組 合 物 包 含 RNAi 劑 之 經 修 飾 變 異 體，其 中 變 異 體 包 含 有 義 股 及 反 義 股，其 中 反 義 股 包 含 有 0、1、2 或 3 個 核 苷 酸 與 AD-20850(包 含 SEQ ID NO. 91 及 92)的 反 義 序 列 不 同 的 至 少 15 個 連 繢 核 苷 酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20851(包含SEQ ID NO. 93及94)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20852(包含SEQ ID NO. 95及96)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20861(包含SEQ ID NO. 97及98)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20862(包含SEQ ID NO. 99及100)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20863(包含SEQ ID NO. 101及102)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20864(包含SEQ ID NO. 103及104)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20865(包含SEQ ID NO. 105及106)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20866(包含SEQ ID NO. 107及108)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

且在一實施例中，組合物包含RNAi劑之經修飾變異體，其中變異體包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與AD-20867(包含SEQ ID NO. 109及110)的反義序列不同的至少15個連續核苷酸。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個實施例

在一實施例中，本發明包含AD-20805(SEQ ID NO: 1及2，或SEQ ID NO: 111及112)。

在一實施例中，本發明包含AD-20806(SEQ ID NO: 3及4，或SEQ ID NO: 113及114)。

在一實施例中，本發明包含AD-20807(SEQ ID NO: 5及6，或SEQ ID NO: 115及116)。

在一實施例中，本發明包含AD-20808(SEQ ID NO: 7及8，或SEQ ID NO: 117及118)。

在一實施例中，本發明包含AD-20809(SEQ ID NO: 9及10，或SEQ ID NO: 119及120)。

在一實施例中，本發明包含AD-20810(SEQ ID NO: 11及

12，或SEQ ID NO: 121及122)。

在一實施例中，本發明包含AD-20811(SEQ ID NO: 13及14，或SEQ ID NO: 123及124)。

在一實施例中，本發明包含AD-20812(SEQ ID NO: 15及16，或SEQ ID NO: 125及126)。

在一實施例中，本發明包含AD-20813(SEQ ID NO: 17及18，或SEQ ID NO: 127及128)。

●在一實施例中，本發明包含AD-20814(SEQ ID NO: 19及20，或SEQ ID NO: 129及130)。

在一實施例中，本發明包含AD-20815(SEQ ID NO: 21及22，或SEQ ID NO: 131及132)。

在一實施例中，本發明包含AD-20816(SEQ ID NO: 23及24，或SEQ ID NO: 133及134)。

在一實施例中，本發明包含AD-20817(SEQ ID NO: 25及26，或SEQ ID NO: 135及136)。

●在一實施例中，本發明包含AD-20818(SEQ ID NO: 27及28，或SEQ ID NO: 137及138)。

在一實施例中，本發明包含AD-20819(SEQ ID NO: 29及30，或SEQ ID NO: 139及140)。

在一實施例中，本發明包含AD-20820(SEQ ID NO: 31及32，或SEQ ID NO: 141及142)。

在一實施例中，本發明包含AD-20821(SEQ ID NO: 33及34，或SEQ ID NO: 143及144)。

在一實施例中，本發明包含AD-20822(SEQ ID NO: 35及

36，或SEQ ID NO: 145及146)。

在一實施例中，本發明包含AD-20823(SEQ ID NO: 37及38，或SEQ ID NO: 147及148)。

在一實施例中，本發明包含AD-20824(SEQ ID NO: 39及40，或SEQ ID NO: 149及150)。

在一實施例中，本發明包含AD-20825(SEQ ID NO: 41及42，或SEQ ID NO: 151及152)。

在一實施例中，本發明包含AD-20826(SEQ ID NO: 43及44，或SEQ ID NO: 153及154)。

在一實施例中，本發明包含AD-20827(SEQ ID NO: 45及46，或SEQ ID NO: 155及156)。

在一實施例中，本發明包含AD-20828(SEQ ID NO: 47及48，或SEQ ID NO: 157及158)。

在一實施例中，本發明包含AD-20829(SEQ ID NO: 49及50，或SEQ ID NO: 159及160)。

在一實施例中，本發明包含AD-20830(SEQ ID NO: 51及52，或SEQ ID NO: 161及162)。

在一實施例中，本發明包含AD-20831(SEQ ID NO: 53及54，或SEQ ID NO: 163及164)。

在一實施例中，本發明包含AD-20832(SEQ ID NO: 55及56，或SEQ ID NO: 165及166)。

在一實施例中，本發明包含AD-20833(SEQ ID NO: 57及58，或SEQ ID NO: 167及168)。

在一實施例中，本發明包含AD-20834(SEQ ID NO: 59及

60，或SEQ ID NO: 169及170)。

在一實施例中，本發明包含AD-20835(SEQ ID NO: 61及62，或SEQ ID NO: 171及172)。

在一實施例中，本發明包含AD-20836(SEQ ID NO: 63及64，或SEQ ID NO: 173及174)。

在一實施例中，本發明包含AD-20837(SEQ ID NO: 65及66，或SEQ ID NO: 175及176)。

在一實施例中，本發明包含AD-20838(SEQ ID NO: 67及68，或SEQ ID NO: 177及178)。

在一實施例中，本發明包含AD-20839(SEQ ID NO: 69及70，或SEQ ID NO: 179及180)。

在一實施例中，本發明包含AD-20840(SEQ ID NO: 71及72，或SEQ ID NO: 181及182)。

在一實施例中，本發明包含AD-20841(SEQ ID NO: 73及74，或SEQ ID NO: 183及184)。

在一實施例中，本發明包含AD-20842(SEQ ID NO: 75及76，或SEQ ID NO: 185及186)。

在一實施例中，本發明包含AD-20843(SEQ ID NO: 77及78，或SEQ ID NO: 187及188)。

在一實施例中，本發明包含AD-20844(SEQ ID NO: 79及80，或SEQ ID NO: 189及190)。

在一實施例中，本發明包含AD-20845(SEQ ID NO: 81及82，或SEQ ID NO: 191及192)。

在一實施例中，本發明包含AD-20846(SEQ ID NO: 83及

84，或SEQ ID NO: 193及194)。

在一實施例中，本發明包含AD-20847(SEQ ID NO: 85及86，或SEQ ID NO: 195及196)。

在一實施例中，本發明包含AD-20848(SEQ ID NO: 87及88，或SEQ ID NO: 197及198)。

在一實施例中，本發明包含AD-20849(SEQ ID NO: 89及90，或SEQ ID NO: 199及200)。

在一實施例中，本發明包含AD-20850(SEQ ID NO: 91及92，或SEQ ID NO: 201及202)。

在一實施例中，本發明包含AD-20851(SEQ ID NO: 93及94，或SEQ ID NO: 203及204)。

在一實施例中，本發明包含AD-20852(SEQ ID NO: 95及96，或SEQ ID NO: 205及206)。

在一實施例中，本發明包含AD-20861(SEQ ID NO: 97及98，或SEQ ID NO: 207及208)。

在一實施例中，本發明包含AD-20862(SEQ ID NO: 99及100，或SEQ ID NO: 209及210)。

在一實施例中，本發明包含AD-20863(SEQ ID NO: 101及102，或SEQ ID NO: 211及212)。

在一實施例中，本發明包含AD-20864(SEQ ID NO: 103及104，或SEQ ID NO: 213及214)。

在一實施例中，本發明包含AD-20865(SEQ ID NO: 105及106，或SEQ ID NO: 215及216)。

在一實施例中，本發明包含AD-20866(SEQ ID NO: 107

及 108，或 SEQ ID NO: 217 及 218)。

在一實施例中，本發明包含 AD-20867(SEQ ID NO: 109 及 110，或 SEQ ID NO: 219 及 220)。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20805 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20806 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20807 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20808 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20809 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20810 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20811 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20812 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20813 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20814 之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi 劑包含為 AD-20815 之反義股的確

切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20816之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20817之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20818之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20819之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20820之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20821之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20822之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20823之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20824之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20825之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20826之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20827之反義股的確

切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20828之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20829之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20830之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20831之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20832之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20833之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20834之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20835之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20836之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20837之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20838之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20839之反義股的確

切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20840之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20841之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20842之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20843之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20844之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20845之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20846之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20847之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20848之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20849之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20850之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20851之反義股的確

切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20852之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20861之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20862之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20863之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20864之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20865之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20866之反義股的確切序列及長度的反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含為AD-20867之反義股的確切序列及長度的反義股。在此等多個實施例中，包含為所述RNAi劑之所述反義股的確切序列及長度的反義股之RNAi劑可包含經修飾核苷酸、3'端帽端及/或不改變RNAi劑之序列或長度的其他修飾。

#### 針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多個實施例

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20805之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20806之反義股序

列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20807之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20808之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20809之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20810之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20811之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20812之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20813之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20814之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20815之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20816之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20817之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20818之反義股序

列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20819之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20820之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20821之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20822之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20823之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20824之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20825之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20826之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20827之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20828之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20829之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20830之反義股序

列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20831之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20832之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20833之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20834之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20835之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20836之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20837之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20838之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20839之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20840之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20841之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20842之反義股序

列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20843之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20844之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20845之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20846之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20847之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20848之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20849之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20850之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20851之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20852之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20861之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20862之反義股序

列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20863之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20864之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20865之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20866之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20867之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股。

#### **針對β-ENaC之RNAi劑的多個實施例**

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20805之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成的反義股，其中反義  
股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個  
nt(或其任何範圍，例如0-1、1-2、1-3、1-4、1-5、1-6、1-  
7、1-8、1-9、1-10、2-3、2-4或2-5個nt等)。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20806之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義  
股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個  
nt(或其任何範圍)。

在一 實施例中，RNAi劑包含由與AD-20807之反義股序  
列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義  
股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20808之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20809之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20810之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20811之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20812之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20813之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20814之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20815之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20816之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20817之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20818之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20819之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20820之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20821之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20822之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20823之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20824之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20825之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20826之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20827之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20828之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20829之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20830之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20831之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20832之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20833之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20834之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20835之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20836之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20837之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20838之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20839之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20840之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20841之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20842之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20843之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個

nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20844 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20845 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20846 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20847 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20848 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20849 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個

nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20850 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20851 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20852 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20861 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20862 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個 nt(或其任何範圍)。

在一 實 施 例 中，RNAi 劑 包 含 由 與 AD-20863 之 反 義 股 序 列 具 有 0、1、2 或 3 個 錯 配 之 序 列 組 成 之 反 義 股，其 中 反 義 股 視 情 況 另 外 包 含 0、1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個

nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20864之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20865之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20866之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

在一實施例中，RNAi劑包含由與AD-20867之反義股序列具有0、1、2或3個錯配之序列組成之反義股，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個nt(或其任何範圍)。

#### 其他特定具體實施例

在多個實施例中，本發明包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中反義股包含有0、1、2或3個nt與本發明揭示之任何RNAi劑的反義股不同的至少15個連續核苷酸。

因此，在多個實施例中：

本發明包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中反義股包含有0、1、2或3個nt與以下雙鏈體或其經修飾或未經

修飾之變異體中任何一或多者之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸：AD-20832、AD-20848、AD-20807、AD-20826、AD-20837、AD-20861、AD-20834、AD-20805、AD-20806、AD-20808、AD-20809、AD-20810、AD-20811、AD-20812、AD-20813、AD-20814、AD-20815、AD-20816、AD-20817、AD-20818、AD-20819、AD-20820、AD-20821、AD-20822、AD-20823、AD-20824、AD-20825、AD-20827、AD-20828、AD-20829、AD-20830、AD-20831、AD-20833、AD-20835、AD-20836、AD-20838、AD-20839、AD-20840、AD-20841、AD-20842、AD-20843、AD-20844、AD-20845、AD-20846、AD-20847、AD-20849、AD-20850、AD-20851、AD-20852、AD-20862、AD-20863、AD-20864、AD-20865、AD-20866、AD-20867 或其經修飾或未經修飾之變異體。

#### 其他特定具體實施例

在多個實施例中，本發明包含具有第一股及第二股之 RNAi 劑，其中第一股序列包含有 0、1、2 或 3 個 nt 與本文揭示之任何 RNAi 劑之第一股序列不同的至少 15 個連續核苷酸且第二股序列包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與第二股序列不同的至少 15 個連續核苷酸。

因此，在多個實施例中：

本發明包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑，其中第一股之序列包含有 0、1、2 或 3 個 nt 與以下雙鏈體或其經修飾或未經修飾之變異體中任何一或多者之第一股序列不同的

至少 15 個連續核苷酸，且第二股之序列包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與其第二股序列不同的至少 15 個連續核苷酸：  
AD-20832、AD-20848、AD-20807、AD-20826、AD-20837、AD-20861、AD-20834、AD-20805、AD-20806、AD-20808、AD-20809、AD-20810、AD-20811、AD-20812、AD-20813、AD-20814、AD-20815、AD-20816、AD-20817、AD-20818、AD-20819、AD-20820、AD-20821、AD-20822、AD-20823、AD-20824、AD-20825、AD-20827、AD-20828、AD-20829、AD-20830、AD-20831、AD-20833、AD-20835、AD-20836、AD-20838、AD-20839、AD-20840、AD-20841、AD-20842、AD-20843、AD-20844、AD-20845、AD-20846、AD-20847、AD-20849、AD-20850、AD-20851、AD-20852、AD-20862、AD-20863、AD-20864、AD-20865、AD-20866、AD-20867 或其經修飾或未經修飾之變異體。

### 額外特定實施例

在多個實施例中，本發明包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑，其中反義股包含本文揭示之任何 RNAi 劑的反義股或由本文揭示之任何 RNAi 劑的反義股組成。

因此，提供以下作為多個實施例之實例。

本發明包含具有有義股及反義股之 RNAi 劑，其中反義股包含以下反義股或由以下反義股組成：AD-20832、AD-20848、AD-20807、AD-20826、AD-20837、AD-20861、AD-20834、AD-20805、AD-20806、AD-20808、AD-

20809、AD-20810、AD-20811、AD-20812、AD-20813、AD-20814、AD-20815、AD-20816、AD-20817、AD-20818、AD-20819、AD-20820、AD-20821、AD-20822、AD-20823、AD-20824、AD-20825、AD-20827、AD-20828、AD-20829、AD-20830、AD-20831、AD-20833、AD-20835、AD-20836、AD-20838、AD-20839、AD-20840、AD-20841、AD-20842、AD-20843、AD-20844、AD-20845、AD-20846、AD-20847、AD-20849、AD-20850、AD-20851、AD-20852、AD-20862、AD-20863、AD-20864、AD-20865、AD-20866、AD-20867或其經修飾或未經修飾之變異體。

在多個實施例中，本發明包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中反義股包含有0、1、2或3個nt與本文揭示之任何RNAi劑或其經修飾或未經修飾之變異體之反義股不同的至少15個連續核苷酸，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10個或10個以上nt(或其任何範圍，例如0-1、1-2、1-3、1-4個nt等)。

因此，在多個實施例中，本發明包含具有有義股及反義股之RNAi劑，其中反義股包含有0、1、2或3個nt與以下之反義股不同的至少15個連續核苷酸：AD-20832、AD-20848、AD-20807、AD-20826、AD-20837、AD-20861、AD-20834、AD-20805、AD-20806、AD-20808、AD-20809、AD-20810、AD-20811、AD-20812、AD-20813、AD-20814、AD-20815、AD-20816、AD-20817、AD-

20818、AD-20819、AD-20820、AD-20821、AD-20822、AD-20823、AD-20824、AD-20825、AD-20827、AD-20828、AD-20829、AD-20830、AD-20831、AD-20833、AD-20835、AD-20836、AD-20838、AD-20839、AD-20840、AD-20841、AD-20842、AD-20843、AD-20844、AD-20845、AD-20846、AD-20847、AD-20849、AD-20850、AD-20851、AD-20852、AD-20862、AD-20863、AD-20864、AD-20865、AD-20866、AD-20867或其經修飾或未經修飾之變異體，其中反義股視情況另外包含0、1、2、3、4、5、6、7、8、9或10或10個以上nt(或其任何範圍，例如0-1、1-2、1-3、1-4個nt等)。

在多個實施例中，本發明包含具有第一及第二股之RNAi劑，其中第一股之序列包含本文揭示之任何RNAi劑或其經修飾或未經修飾之變異體的第一股序列或由本文揭示之任何RNAi劑或其經修飾或未經修飾之變異體的第一股序列組成，且第二股之序列包含其第二股序列或由其第二股序列組成。

因此，在多個實施例中，本發明包含具有第一及第二股之RNAi劑，其中第一股之序列包含以下之第一股序列或由以下之第一股序列組成，且第二股之序列包含以下之第二股序列或由以下之第二股序列組成：AD-20832、AD-20848、AD-20807、AD-20826、AD-20837、AD-20861、AD-20834、AD-20805、AD-20806、AD-20808、AD-20809、AD-20810、AD-20811、AD-20812、AD-20813、

AD-20814、AD-20815、AD-20816、AD-20817、AD-20818、AD-20819、AD-20820、AD-20821、AD-20822、AD-20823、AD-20824、AD-20825、AD-20827、AD-20828、AD-20829、AD-20830、AD-20831、AD-20833、AD-20835、AD-20836、AD-20838、AD-20839、AD-20840、AD-20841、AD-20842、AD-20843、AD-20844、AD-20845、AD-20846、AD-20847、AD-20849、AD-20850、AD-20851、AD-20852、AD-20862、AD-20863、AD-20864、AD-20865、AD-20866、AD-20867。

在一實施例中，本發明包含本文所列之任何一或多種RNAi劑。

#### **針對β-ENaC之RNAi劑的重疊組**

在多個實施例中，本發明係關於具有重疊序列之針對β-ENaC之RNAi劑的群。因此，本發明涵蓋RNAi劑之群，其中群中之各RNAi劑與同一群中之各其他RNAi劑重疊至少5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或19個以上核苷酸。特定言之，在一實施例中，重疊為至少12個nt。

本文所列之些RNAi劑的序列彼此重疊。表2呈現重疊RNAi劑之此等群中之些的彙編，其中群之各成員與同一群中之各其他成員重疊至少12個nt。呈現有義股及反義股之12-nt重疊部分。

因此，舉例而言，如表2所示，RNAi劑AD-20807及AD-20832之序列重疊，其中有義股中之重疊包含序列

UGAAGAAGUACC(SEQ ID NO: 223)；此等RNAi劑的反義股序列亦重疊，其中重疊包含序列GGUACUUCUUCA(SEQ ID NO: 224)。RNAi劑AD-20807、AD-20862及AD-20832均在有義股中重疊，其中重疊包含序列GAAGAAGUACCU(SEQ ID NO: 225)；此等RNAi劑之反義股亦重疊，其中重疊包含序列AGGUACUUCUUC(SEQ ID NO: 226)。因此，表2所呈現之重疊RNAi劑之此等及其他多個組共有常見技術特徵，例如有義股及反義股中之重疊。

下表2中提供針對 $\beta$ -ENaC之重疊RNAi劑的特定組。

本發明因此涵蓋包含常見技術特徵之RNAi劑的任何群或子群，其中常見技術特徵為有義股或反義股中之序列重疊(例如至少12個nt)。

因此：

本發明涵蓋具有反義股及/或有義股之RNAi劑：該反義股包含有0、1、2或3個nt與任一以下群中之反義股不同的至少15個連續核苷酸，該有義股包含有0、1、2或3個nt與任一以下群中之有義股不同的至少15個連續核苷酸：AD-20807及AD-20832(或表2中呈現之任何其他群)。

本發明涵蓋具有第一股及第二股之RNAi劑，其中第一股包含有0、1、2或3個nt與任一以下群中之第一股不同的至少15個連續核苷酸，及/或第二股包含有0、1、2或3個nt與任一以下群中之第二股不同的至少15個連續核苷酸：AD-20807及AD-20832(或表2中表示之任何其他群)。

本發明涵蓋具有第一股及第二股之RNAi劑，其中第一股包含任一以下群中之第一股序列或由任一以下群中之第一股序列組成，及/或第二股包含任一以下群中之第二股序列或由任一以下群中之第二股序列組成；AD-20807及AD-20832(或表2中表示之任何其他群)。

本發明涵蓋具有第一股及第二股之RNAi劑(其中第一股及第二股可視情況共價連接、經環或連接子連接、或連續)，且其中第一及/或第二股包含與任一以下群有0、1、2或3個nt或bp錯配之序列、基本上由或由與任一以下群有0、1、2或3個nt或bp錯配之序列組成；AD-20807及AD-20832(或表2中表示之任何其他群)，視情況另外包含0-10個nt或bp。

本發明類似地涵蓋多個實施例，其涵蓋表2中呈現之重疊RNAi劑之群。

#### 其他定義

如本文及申請專利範圍中使用之冠詞「一」係指一個或一個以上(至少一個)冠詞的語法目標。

術語「RNAi劑」及其類似術語均係指(但不限於)一或多種本發明之RNAi劑。

本文揭示之針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的特定實例雙鏈體之命名有時在數字後具有字尾「b」。此指示批號。因此，字尾「b1」指示「批次1」。因此，命名為例如「AD-20807-b1」之RNAi雙鏈體特定來自批次1，且具有與命名為「AD-20807」之任何RNAi劑相同之序列。

除非另外定義，否則本文所用之科技術語具有熟悉本發明所屬領域之專家一般理解相同之含義。

除非另外指出，否則可如熟練技術人員所瞭解使用本身已知之方式進行且已進行本文未特定詳細描述之所有方法、步驟、技術及操作。例如再次參考標準手冊及本文提及之一般背景技術及其中引用之其他參考文獻。

本發明之申請專利範圍為非限制性的且提供於下文中。

儘管本文已詳細揭示特定實施例及申請專利範圍，但此已出於僅說明之目的藉由實例之方式進行，且不欲限制隨附申請專利範圍之範疇，或任何相應將來申請案之申請專利範圍的主旨之範疇。詳言之，本發明者預期可對本發明作出多個取代、改變及修改而不悖離申請專利範圍所界定的本發明之精神及範疇。咸信核酸起始物質、所關注純系或庫類型之選擇為具有本文所述實施例之知識的一般技術者的常規問題。認為其他態樣、優勢及修改在隨附申請專利範圍的範疇內。在後申請之相應申請案的申請專利範圍範疇之改寫可能受各國之專利法限制，且不應解釋為放棄申請專利範圍之主旨。

一般技術人員可作出所述針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的多種其他調配及明顯變體。非限制性針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的實例描述於下文實例中，其不限制如申請專利範圍中所述的本發明之範疇。

### 實例

#### 實例 1

## 生物資訊及 $\beta$ -ENaC RNAi劑(siRNA)序列

進行 $\beta$ -ENaC寡核苷酸設計以識別靶向編碼 $\beta$ -ENaC基因之mRNA的siRNA [來自人類之「鈉通道，非電壓閘控1 $\beta$ 」(NCBI人類符號SCNN1B)及來自石蟹獮猴及大鼠(褐家鼠(*Rattus norvegicus*))之直系同源序列]。設計方法使用來自人類之SCNNB1轉錄物NM\_000336.2(NCBI GeneId 6338)、來自大鼠之NM\_012648.1(NCBI GeneId 24767)及全長石蟹獮猴序列(本文所述)。

所有siRNA雙鏈體經設計以與所有三種SCNNB1轉錄物100%一致。所有序列均來自轉錄物NM\_000336。

未經修飾及經修飾序列列於表1中。未經修飾序列包括作為SEQ ID NO: 111至220列出之有義序列及反義序列。亦提供與SEQ ID NO: 222中之人類 $\beta$ -ENaC轉錄物比較的第一殘基之相對位置。

如下文所述，表1亦提供此等序列之經修飾變異體實例(SEQ ID NO: 1至110)。自表1之各行，「S」表示有義股，「AS」表示反義股，且「Pos'n」表示第一核苷酸之位置。如小寫字母(例如「c」及「u」)表示之經修飾核苷酸描述於下表1A中。

在表1中之序列中，經修飾及未經修飾序列可視情況在3'端包含序列「dTsdT」。因此，例如，AD-20805可視情況具有有義股中之經修飾序列cAGuGAcuAcAAcAcGAccdTsdT(SEQ ID NO: 429)及反義股中之GGUCGUGUUGuAGUcACUGdTsdT(SEQ ID NO: 430)。如下表1A中所述，dT為2'-去氧-胸昔-

5'-磷酸酯且sdT為2'-去氧胸昔5'-硫代磷酸酯。

表 1. β-ENaC 序列

| 雙鏈體ID    |    | SEQ ID | 經修飾序列                 | SEQ ID | 未經修飾序列                | Pos'n |
|----------|----|--------|-----------------------|--------|-----------------------|-------|
| AD-20805 | S  | 1      | cAGuGAcuAcAAcAcGAcc   | 111    | CAGUGACUACAACACGACC   | 1298  |
|          | AS | 2      | GGUCGUGUUGuAGUcACUG   | 112    | GGUCGUGUUGUAGUCACUG   | 1298  |
| AD-20806 | S  | 3      | AuGAcAGAGAAGGcAcuuc   | 113    | AUGACAGAGAAGGCACUUC   | 1011  |
|          | AS | 4      | GAAGUGCCUUCUCUGUcAU   | 114    | GAAGUGCCUUCUCUGUCAU   | 1011  |
| AD-20807 | S  | 5      | GuGAAGAAGuAccuGcuGA   | 115    | GUGAAGAAGUACCUGCUGA   | 183   |
|          | AS | 6      | UcAGcAGGuACUUCCUuAC   | 116    | UCAGCAGGUACUUUCUAC    | 183   |
| AD-20808 | S  | 7      | GuGAcuAcAAcAcGAccuA   | 117    | GUGACUACAACACGACCUA   | 1300  |
|          | AS | 8      | uAGGUCGUGUUGuAGUcAC   | 118    | UAGGUCGUGUUGUAGUCAC   | 1300  |
| AD-20809 | S  | 9      | GGuGGAGGcccAcAccAAC   | 119    | GGUGGAGGCCACACCAAAC   | 1919  |
|          | AS | 10     | GUJGGUGUGGGCCUCCACC   | 120    | GUJGGUGUGGGCCUCCACC   | 1919  |
| AD-20810 | S  | 11     | uGGuGGAGGcccAcAccAA   | 121    | UGGUGGAGGCCACACCAA    | 1918  |
|          | AS | 12     | UUGGUGUGGGCCUCCACCA   | 122    | UUGGUGUGGGCCUCCACCA   | 1918  |
| AD-20811 | S  | 13     | uuccAAGAccAcAuGAucc   | 123    | UUCCAAGACCAACAUGAUCC  | 1347  |
|          | AS | 14     | GGAuAcAUGUGGUcUUGGAA  | 124    | GGAuCAUGUGGUcUUGGAA   | 1347  |
| AD-20812 | S  | 15     | AGeuGGGAGGGuAGcGucu   | 125    | AGCUGGGAGGUcAGCGUCU   | 402   |
|          | AS | 16     | AGACGCUGACCUCCcAGCU   | 126    | AGACGCUGACCUCCCAGCU   | 402   |
| AD-20813 | S  | 17     | GGGAGAAAuAcuGcAAcAA   | 127    | GGGAGAAAUAUCUGCAACAA  | 1408  |
|          | AS | 18     | UUGUUGcAGuAUUUCUCCC   | 128    | UUGUUGcAGuAUUUCUCCC   | 1408  |
| AD-20814 | S  | 19     | ccAGuuuGGcuucuGGAuG   | 129    | CCAGUUUGGUcUUCUGGAUG  | 1748  |
|          | AS | 20     | cAUCcAGAACGcAAACUGG   | 130    | CAUCCAGAACGCAAACUGG   | 1748  |
| AD-20815 | S  | 21     | AGuGAcuAcAAcAcGAccu   | 131    | AGUGACUACAACACGACC    | 1299  |
|          | AS | 22     | AGGUcGUGUUGuAGUcACU   | 132    | AGGUcGUGUUGUAGUCACU   | 1299  |
| AD-20816 | S  | 23     | AAuAucAccuGAGcAGGA    | 133    | AAUAuCACCUGAGCAGGA    | 1626  |
|          | AS | 24     | UCCUGCUCAGGUGAUUU     | 134    | UCCUGCUCAGGUGAUUU     | 1626  |
| AD-20817 | S  | 25     | ccuGcAGGcccAccAAcAuc  | 135    | CCUGCAGGCCACCAACAC    | 836   |
|          | AS | 26     | GAUGUUGGUcUGGCCUGcAGG | 136    | GAUGUUGGUcUGGCCUGcAGG | 836   |
| AD-20818 | S  | 27     | AucAccuGAGcAGGAAGG    | 137    | AUCACCCUGAGCAGGAAGG   | 1629  |
|          | AS | 28     | CCUUCUGCUCAGGUGAU     | 138    | CCUUCUGCUCAGGUGAU     | 1629  |
| AD-20819 | S  | 29     | GcGGGAGGGuAGcGucu     | 139    | GCUGGGAGGUcAGCGUC     | 403   |
|          | AS | 30     | GAGACGCUGACCUCCcAGC   | 140    | GAGACGCUGACCUCCCAGC   | 403   |
| AD-20820 | S  | 31     | GAGcGGGAGGGuAGcGuc    | 141    | GAGCUGGGAGGUcAGCGUC   | 401   |
|          | AS | 32     | GACGCUGACCUCCcAGCUC   | 142    | GACGCUGACCUCCCAGCUC   | 401   |
| AD-20821 | S  | 33     | GuGGccAGuuuGGcuucuG   | 143    | GUGGCCAGUUUGGUcUUCUG  | 1744  |
|          | AS | 34     | cAGAAGCcAAACUGGcAC    | 144    | CAGAAGCCAAACUGGCCAC   | 1744  |
| AD-20822 | S  | 35     | cAGuuuGGcuucuGGAuGG   | 145    | CAGUUUGGUcUUCUGGAUGG  | 1749  |
|          | AS | 36     | CcAUCcAGAACGcAAACUG   | 146    | CCAUCCAGAACGCAAACUG   | 1749  |
| AD-20823 | S  | 37     | GGccAGuuuGGcuucuGGA   | 147    | GGCCAGUUUGGUcUUCUGGA  | 1746  |
|          | AS | 38     | UCCcAGAACGcAAACUGGCC  | 148    | UCCAGAACGCAAACUGGCC   | 1746  |
| AD-20824 | S  | 39     | cuGGGuGGccAGuuuGGcu   | 149    | CUGGGUGGCCAGUUUGGU    | 1740  |
|          | AS | 40     | AGCcAAACUGGcCACCAG    | 150    | AGCCAAACUGGCCACCCAG   | 1740  |
| AD-20825 | S  | 41     | ucuAcAGuGAcuAcAAcAc   | 151    | UCUACAGUGACUACAACAC   | 1294  |
|          | AS | 42     | GUGUUGGuAGUcACUGuAGA  | 152    | GUGUUGUAGUcACUGUAGA   | 1294  |
| AD-20826 | S  | 43     | GcAuGAcAGAGAAGGcAcu   | 153    | GCAUGACAGAGAAGGCACU   | 1009  |
|          | AS | 44     | AGUGCCUUCUCUGUcAUGC   | 154    | AGUGCCUUCUCUGUcAUGC   | 1009  |
| AD-20827 | S  | 45     | AuAucAccuGAGcAGGAAG   | 155    | AUAUCACCCUGAGCAGGAA   | 1627  |
|          | AS | 46     | UUCUGCUCAGGUGAUAU     | 156    | UUCUGCUCAGGUGAUAU     | 1627  |
| AD-20828 | S  | 47     | cuAcAGuGAcuAcAAcAcG   | 157    | CUACAGUGACUACAACACG   | 1295  |
|          | AS | 48     | CGUGUUGGuAGUcACUGuAG  | 158    | CGUGUUGGUAGUcACUGUAG  | 1295  |
| AD-20829 | S  | 49     | uAucAccuGAGcAGGAAG    | 159    | UAUCACCCUGAGCAGGAAAG  | 1628  |
|          | AS | 50     | CUUCCUGCUCAGGUGAU     | 160    | CUUCCUGCUCAGGUGAU     | 1628  |
| AD-20830 | S  | 51     | uGcAGGcccAccAAcAucuu  | 161    | UGCAGGCCACCAACAUCUU   | 838   |
|          | AS | 52     | AGAGAUGUUGGUGGCCUGcA  | 162    | AGAGAUGUUGGUGGCCUGcA  | 838   |
| AD-20831 | S  | 53     | cAuGAcAGAGAAGGcAcuu   | 163    | CAUGACAGAGAAGGCACUU   | 1010  |
|          | AS | 54     | AAGUGCCUUCUCUGUcAUG   | 164    | AAGUGCCUUCUCUGUcAUG   | 1010  |
| AD-20832 | S  | 55     | uGAAGAAGuAccuGcuGAA   | 165    | UGAAGAAGUACCUGCUGAA   | 184   |
|          | AS | 56     | UUCAGCAGGUACUUCUCA    | 166    | UUCAGCAGGUACUUCUCA    | 184   |
| AD-20833 | S  | 57     | GcGGuGGAGGcccAcAcc    | 167    | GCUGGGUGGAGGCCACACC   | 1916  |

5

|          |    |     |                      |     |                       |      |
|----------|----|-----|----------------------|-----|-----------------------|------|
|          | AS | 58  | GGUGUGGGCCUCcACcAGC  | 168 | GGUGUGGGCCUCCACCAGC   | 1916 |
| AD-20834 | S  | 59  | uAcAGuGAcuAcAAcAcGA  | 169 | UACAGUGACUACAACACGA   | 1296 |
|          | AS | 60  | UCGUGUUGuAGUcACUGuA  | 170 | UCGUGUUGUAGUCACUGUA   | 1296 |
| AD-20835 | S  | 61  | AcAGAGAAGGcAcuuccuu  | 171 | ACAGAGAAGGCACUCCUU    | 1014 |
|          | AS | 62  | AAGGAAGUGGCCUUCUCUGU | 172 | AAGGAAGUGGCCUUCUCUGU  | 1014 |
| AD-20836 | S  | 63  | AcAGuGAuAcAAcAcGAc   | 173 | ACAGUGACUACAACACGAC   | 1297 |
|          | AS | 64  | GUCGUGUUGuAGUcACUGU  | 174 | GUCGUGUUGUAGUCACUGU   | 1297 |
| AD-20837 | S  | 65  | uGAGcuGGGAGGGuAGcGu  | 175 | UGAGCUGGGAGGUAGCGU    | 400  |
|          | AS | 66  | ACCGUGACCUCCcAGCuA   | 176 | ACCGUGACCUCCCAGCUA    | 400  |
| AD-20838 | S  | 67  | uGGccAGuuuGGuucuGG   | 177 | UGGCCAGUUUGGCUUCUGG   | 1745 |
|          | AS | 68  | CcAGAAGCcAACUGGCCA   | 178 | CCAGAAGCCAAACUGGCCA   | 1745 |
| AD-20839 | S  | 69  | uGucucAGGAGcGGGAccA  | 179 | UGUCUCAGGAGCAGGGACCA  | 1600 |
|          | AS | 70  | UGGUCCCCGUCCUGAGAcA  | 180 | UGGUCCCCGUCCUGAGACAC  | 1600 |
| AD-20840 | S  | 71  | GuGGAGGcccAcAccAAcu  | 181 | GUGGAGGCCACACCAACU    | 1920 |
|          | AS | 72  | AGUUGGUGUGGGCCUCcAC  | 182 | AGUUGGUGUGGGCCUCcAC   | 1920 |
| AD-20841 | S  | 73  | GGGuGGccAGuuuGGGuuc  | 183 | GGGUGGCCAGUUUGGCUUC   | 1742 |
|          | AS | 74  | GAAGCcAACUGGCCACCC   | 184 | GAAGCCAACUGGCCACCC    | 1742 |
| AD-20842 | S  | 75  | GGuGGccAGuuuGGGuucu  | 185 | GGUGGCCAGUUUGGCUUCU   | 1743 |
|          | AS | 76  | AGAAGCcAACUGGCCACC   | 186 | AGAAGCCAACUGGCCACC    | 1743 |
| AD-20843 | S  | 77  | ucAccuGAGcAGGAAGGG   | 187 | UCACCCUGAGCAGGAAGGG   | 1630 |
|          | AS | 78  | CCCUUCCUGUCuAGGGUGA  | 188 | CCCUUCCUGUCuAGGGUGA   | 1630 |
| AD-20844 | S  | 79  | GccAGuuuGGGuucuGGAu  | 189 | GCCAGUUUGGCUUCUGGAU   | 1747 |
|          | AS | 80  | AUCcAGAAGCcAACUGGC   | 190 | AUCCAGAAGCCAAACUGGC   | 1747 |
| AD-20845 | S  | 81  | AGGuGGAGGcccAcAc     | 191 | AGCUGGUGGAGGCCACAC    | 1915 |
|          | AS | 82  | GUGUGGGCCUCcACcAGCU  | 192 | GUGUGGGCCUCCACCAACU   | 1915 |
| AD-20846 | S  | 83  | AucuccAuGGGuGAuGGc   | 193 | AUCUCCAUGGCUGACUGGC   | 1545 |
|          | AS | 84  | GCcAGUcAGCcAUGGAGAU  | 194 | GCCAGUCAGCCAUGGAGAU   | 1545 |
| AD-20847 | S  | 85  | GGcAuGAcAGAGAAGGcAc  | 195 | GGCAUGACAGAGAAGGCAC   | 1008 |
|          | AS | 86  | GUGCCUUCUCUGUcAUGCC  | 196 | GUGCCUUCUCUGUcAUGCC   | 1008 |
| AD-20848 | S  | 87  | GGAGAAAuAcuGcAAcAAc  | 197 | GGAGAAAUAUCUGCAACAAAC | 1409 |
|          | AS | 88  | GUUGUUUGcAGuAUUUCUCC | 198 | GUUGUUUGcAGuAUUUCUCC  | 1409 |
| AD-20849 | S  | 89  | uGGGuGGccAGuuuGGGuu  | 199 | UGGGUGGCCAGUUUGGCUU   | 1741 |
|          | AS | 90  | AAGCcAACUGGCCACCCa   | 200 | AAGCCAACUGGCCACCCa    | 1741 |
| AD-20850 | S  | 91  | GAGGuGGAGGcccAcA     | 201 | GAGCUGGUGGAGGCCACCA   | 1914 |
|          | AS | 92  | UGUGGGCCUCcACcAGCuC  | 202 | UGUGGGCCUCCACCAGCuC   | 1914 |
| AD-20851 | S  | 93  | GAcAGAGAAGGcAcuuucc  | 203 | GACAGAGAAGGCACUUCUCC  | 1013 |
|          | AS | 94  | AGGAAGUGCUCUCUGUC    | 204 | AGGAAGUGCUCUCUGUC     | 1013 |
| AD-20852 | S  | 95  | AGuuuGGGuucuGGGuGG   | 205 | AGUUUGGCUUCUGGAUGGG   | 1750 |
|          | AS | 96  | CCcAUcAGAGCcAACAU    | 206 | CCCAUCCAGAAGCCAAACU   | 1750 |
| AD-20861 | S  | 97  | uGAcAGAGAAGGcAcuuucc | 207 | UGACAGAGAAGGCACUUCUCC | 1012 |
|          | AS | 98  | GGAAAGUGCUCUCUGUcA   | 208 | GGAAAGUGCUCUCUGUcA    | 1012 |
| AD-20862 | S  | 99  | GAAGAAAGuAccuGcGAAG  | 209 | GAAGAAAGUACCUUGCUGAAG | 185  |
|          | AS | 100 | CUUcAGcAGGuACUUCUUC  | 210 | CUUcAGcAGGuACUUCUUC   | 185  |
| AD-20863 | S  | 101 | ucuccAuGGGuGAuGGcc   | 211 | UCUCCAUGGCUGACUGGCC   | 1546 |
|          | AS | 102 | GGCcAGUcAGCcAUGGAGA  | 212 | GGCCAGUCAGCCAUGGAGA   | 1546 |
| AD-20864 | S  | 103 | cuGGuGGAGGcccAcAccA  | 213 | CUGGUGGAGGCCACACCA    | 1917 |
|          | AS | 104 | UGGUGUGGGCCUCcACcAG  | 214 | UGGUGUGGGCCUCCACCAG   | 1917 |
| AD-20865 | S  | 105 | cAGAGAAGGcAcuuuccuu  | 215 | CAGAGAAGGCACUUCUUC    | 1015 |
|          | AS | 106 | GAAGGAAGUGCUCUCUG    | 216 | GAAGGAAGUGCUCUCUG     | 1015 |
| AD-20866 | S  | 107 | cuGcAGGcccAccAAcAucu | 217 | CUGCAGGCCACCAACAU     | 837  |
|          | AS | 108 | AGAUGUUGGUGGCCUGcAG  | 218 | AGAUGUUGGUGGCCUGcAG   | 837  |
| AD-20867 | S  | 109 | GGGcAuGAcAGAGAAGGcA  | 219 | GGGcAuGAcAGAGAAGGcA   | 1007 |
|          | AS | 110 | UGCCUUCUCUGUcAUGCCC  | 220 | UGCCUUCUCUGUcAUGCCC   | 1007 |

熟習此項技術者容易構想 SEQ ID NO: 111至 220 之 RNAi

劑之序列的修飾。構想此等序列之實例及非限制性修飾且亦列於表 1 中，例如 SEQ ID NO: 1 至 110 中之有義及反義 (AS) 序列。

一些修飾置於預測對核酸內切酶敏感之位點。一些修飾經設計以消除對 siRNA 之免疫反應，同時保留活性。一般而言，有義股大量修飾，且反義股稍微修飾。一些修飾用於一種以上目的。

表 1 中及其他表之序列由此等縮寫表示：

表 1A. 縮寫

|     |                  |
|-----|------------------|
| 縮寫  | 核苷酸              |
| A   | 腺苷-5'-磷酸酯        |
| C   | 胞苷-5'-磷酸酯        |
| G   | 鳥苷-5'-磷酸酯        |
| dT  | 2'-去氧-胸苷-5'-磷酸酯  |
| U   | 尿苷-5'-磷酸酯        |
| c   | 2'-O-甲基胞苷-5'-磷酸酯 |
| u   | 2'-O-甲基尿苷-5'-磷酸酯 |
| sdT | 2'-去氧胸苷5'-硫代磷酸酯  |

### siRNA 序列選擇

如實例 2 中所述，合成總計 55 個有義及 55 個反義人類 SCNNB1 源 siRNA 寡聚物（針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑）。有義寡聚物及其各別反義寡聚物黏接於雙鏈體。

### 實例 1A

#### $\beta$ -ENaC RNAi 劑之重疊組

本發明亦係關於具有重疊序列之針對  $\beta$ -ENaC 之 RNAi 劑的組。因此，本發明涵蓋 RNAi 劑之組，其中組中之各 RNAi 劑與同一組中之各其他 RNAi 劑重疊至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19 或 19 個以上核苷酸。特定言之，在一實施例中，重疊為至少 12 個 nt。

本文所列之有一些RNAi劑的序列彼此重疊。表2呈現重疊RNAi劑之此等組中之有一些的彙編，其中組之各成員與同一組中之各其他成員重疊至少12個nt。呈現有義股及反義股之12個nt重疊部分。

因此，舉例而言，如表2所示，RNAi劑AD-20807及AD-20832之序列重疊，其中有義股中之重疊包含序列UGAAGAAGUACC(SEQ ID NO: 223)；此等RNAi劑的反義股序列亦重疊，其中重疊包含序列GGUACUUUCUCA(SEQ ID NO: 224)。RNAi劑AD-20807、AD-20862及AD-20832均在有義股中重疊，其中重疊包含序列GAAGAAGUACCU(SEQ ID NO: 225)；此等RNAi劑之反義股亦重疊，其中重疊包含序列AGGUACUUUCUUC(SEQ ID NO: 226)。因此，表2所呈現之重疊RNAi劑之此等及其他多個組共有常見技術特徵，例如有義股及反義股中之重疊。

下表2中提供針對 $\beta$ -ENaC之重疊RNAi劑的特定組。

本發明因此涵蓋包含常見技術特徵之RNAi劑的任何組或子組，其中常見技術特徵為有義股或反義股中之序列重疊(例如至少12個nt)。

表2.

| Pos | 有義重疊         | SEQ ID | 反義重疊          | SEQ ID | 針對 $\beta$ -ENaC之重疊RNAi劑   |
|-----|--------------|--------|---------------|--------|----------------------------|
| 183 | UGAAGAAGUACC | 223    | GGUACUUUCUCA  | 224    | AD-20807、AD-20832          |
| 184 | GAAGAAGUACCU | 225    | AGGUACUUUCUUC | 226    | AD-20807、AD-20862、AD-20832 |
| 185 | AAGAAGUACCUG | 227    | CAGGUACUUUCUU | 228    | AD-20807、AD-20862、AD-20832 |
| 186 | AGAAGUACCUGC | 229    | GCAGGUACUUUCU | 230    | AD-20807、AD-20862、AD-20832 |
| 187 | GAAGUACCUGCU | 231    | AGCAGGUACUUC  | 232    | AD-20807、AD-20862、AD-20832 |

|      |               |     |               |     |   |
|------|---------------|-----|---------------|-----|---|
| 188  | AAGUACCUGCUG  | 233 | CAGCAGGUACUU  | 234 | AD-20807、AD-20862、AD-20832  |
| 189  | AGUACCUGCUGA  | 235 | UCAGCAGGUACU  | 236 | AD-20807、AD-20862、AD-20832  |
| 190  | GUACCUGCUGAA  | 237 | UUCAGCAGGUAC  | 238 | AD-20862、AD-20832   |
| 400  | GAGCUGGGAGGU  | 239 | ACCUCCCCAGCUC | 240 | AD-20820、AD-20837   |
| 401  | AGCUGGGAGGUC  | 241 | GACCUCCCCAGCU | 242 | AD-20820、AD-20812、AD-20837  |
| 402  | GCUGGGAGGUCA  | 243 | UGACCUCCCCAGC | 244 | AD-20820、AD-20819、AD-20812、AD-20837                                     |
| 403  | CUGGGAGGUCAG  | 245 | CUGACCUCCCCAG | 246 | AD-20819、AD-20812、AD-20837  |
| 404  | UGGGAGGUCAGC  | 247 | GCUGACCUCCCA  | 248 | AD-20820、AD-20819、AD-20837  |
| 405  | GGGAGGUCAGCG  | 249 | CGCUGACCUCCC  | 250 | AD-20820、AD-20819、AD-20812、AD-20837                                     |
| 406  | GGAGGUACAGCU  | 251 | ACGCUGACCUCC  | 252 | AD-20819、AD-20837   |
| 407  | GAGGUACAGCGUC | 253 | GACGCUGACCUUC | 254 | AD-20820、AD-20819、AD-20812  |
| 408  | AGGUACAGCGUCU | 255 | AGACGCUGACCU  | 256 | AD-20819、AD-20812   |
| 836  | CUGCAGGCCACC  | 257 | GGUGGCCUGCAG  | 258 | AD-20866、AD-20817   |
| 837  | UGCAGGCCACCA  | 259 | UGGUGGCCUGCA  | 260 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 838  | GCAGGCCACCAA  | 261 | UUGGUGGCCUGC  | 262 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 839  | CAGGCCACCAAC  | 263 | GUUGGUGGCCUG  | 264 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 840  | AGGCCACCAACA  | 265 | UGUUGGUGGCCU  | 266 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 841  | GGCCACCAACAU  | 267 | AUGUUGGUGGCC  | 268 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 842  | GCCACCAACACU  | 269 | GAUGUUGGUGGC  | 270 | AD-20866、AD-20830、AD-20817  |
| 843  | CCACCAACACU   | 271 | AGAUGUUGGUGG  | 272 | AD-20866、AD-20830   |
| 1007 | GGCAUGACAGAG  | 273 | CUCUGUCAUGCC  | 274 | AD-20847、AD-20867   |
| 1008 | GCAUGACAGAGA  | 275 | UCUCUGUCAUGC  | 276 | AD-20826、AD-20867   |
| 1009 | CAUGACAGAGAA  | 277 | UUCUCUGUCAUG  | 278 | AD-20826、AD-20831、AD-20867  |
| 1010 | AUGACAGAGAAG  | 279 | CUUCUCUGUCAU  | 280 | AD-20826、AD-20831、AD-20867、AD-20806                                     |
| 1011 | UGACAGAGAAGG  | 281 | CCUUCUCUGUCA  | 282 | AD-20826、AD-20831、AD-20867、AD-20806、AD-20861                            |
| 1012 | GACAGAGAAGGC  | 283 | GCCUUCUCUGUC  | 284 | AD-20851、AD-20847、AD-20826、AD-20831、AD-20867、AD-20806、AD-20861          |
| 1013 | ACAGAGAAGGCA  | 285 | UGCCUUCUCUGU  | 286 | AD-20851、AD-20835、AD-20847、AD-20826、AD-20831、AD-20867、AD-20806、AD-20861 |
| 1014 | CAGAGAAGGCAC  | 287 | GUGCCUUCUCUG  | 288 | AD-20851、AD-20835、AD-20865、AD-20826、AD-20831、AD-20806、AD-20861          |

|      |              |     |              |     |  |
|------|--------------|-----|--------------|-----|--|
| 1015 | AGAGAAGGCACU | 289 | AGUGCCUUCUCU | 290 | AD-20851、AD-20835、AD-20865、AD-20826、AD-20831、AD-20806、AD-20861 |
| 1016 | GAGAAGGCACUU | 291 | AAGUGCCUUCUC | 292 | AD-20851、AD-20835、AD-20865、AD-20831、AD-20806、AD-20861          |
| 1017 | AGAAGGCACUUC | 293 | GAAGUGCCUUCU | 294 | AD-20851、AD-20835、AD-20865、AD-20806、AD-20861                   |
| 1018 | GAAGGCACUUCC | 295 | GGAAGUGCCUUC | 296 | AD-20851、AD-20835、AD-20865、AD-20861                            |
| 1019 | AAGGCACUUCUU | 297 | AGGAAGUGCCUU | 298 | AD-20851、AD-20835、AD-20865                                     |
| 1020 | AGGCACUUCUU  | 299 | AAGGAAGUGCCU | 300 | AD-20835、AD-20865  |
| 1294 | CUACAGUGACUA | 301 | UAGUCACUGUAG | 302 | AD-20828、AD-20825  |
| 1295 | UACAGUGACUAC | 303 | GUAGUCACUGUA | 304 | AD-20834、AD-20825  |
| 1296 | ACAGUGACUACA | 305 | UGUAGUCACUGU | 306 | AD-20828、AD-20834、AD-20825、AD-20836                            |
| 1297 | CAGUGACUACAA | 307 | UUGUAGUCACUG | 308 | AD-20834、AD-20805、AD-20825                                     |
| 1298 | AGUGACUACAAC | 309 | GUUGUAGUCACU | 310 | AD-20828、AD-20834、AD-20805、AD-20825、AD-20836                   |
| 1299 | GUGACUACAACA | 311 | UGUUGUAGUCAC | 312 | AD-20834、AD-20805、AD-20808、AD-20825                            |
| 1300 | UGACUACAACAC | 313 | GUGUUGUAGUCA | 314 | AD-20828、AD-20834、AD-20805、AD-20808、AD-20825、AD-20815、AD-20836 |
| 1301 | GACUACAACACG | 315 | CGUGUUGUAGUC | 316 | AD-20828、AD-20834、AD-20805、AD-20808、AD-20836                   |
| 1302 | ACUACAACACGA | 317 | UCGUGUUGUAGU | 318 | AD-20834、AD-20805、AD-20808                                     |
| 1303 | CUACAACACGAC | 319 | GUCGUGUUGUAG | 320 | AD-20805、AD-20808、AD-20815、AD-20836                            |
| 1304 | UACAACACGACC | 321 | GGUCGUGUUGUA | 322 | AD-20805、AD-20808  |
| 1305 | ACAACACGACCU | 323 | AGGUCGUGUUGU | 324 | AD-20808、AD-20815  |
| 1408 | GGAGAAAUCUG  | 325 | CAGUAUUUCUCC | 326 | AD-20813、AD-20848  |
| 1409 | GAGAAAUCUGC  | 327 | GCAGUAUUUCUC | 328 | AD-20813、AD-20848  |
| 1410 | AGAAAUCUGCA  | 329 | UGCAGUAUUUCU | 330 | AD-20813、AD-20848  |
| 1411 | GAAAUCUGCAA  | 331 | UUGCAGUAUUUC | 332 | AD-20813、AD-20848  |
| 1412 | AAAUCUGCAAC  | 333 | GUUGCAGUAUUU | 334 | AD-20813、AD-20848  |
| 1413 | AAUACUGCAACA | 335 | UGUUGCAGUAUU | 336 | AD-20813、AD-20848  |
| 1414 | AUACUGCAACAA | 337 | UUGUUGCAGUAU | 338 | AD-20813、AD-20848  |
| 1545 | UCUCCAUGGCUG | 339 | CAGCCAUGGAGA | 340 | AD-20846、AD-20863  |
| 1546 | CUCCAUGGCUGA | 341 | UCAGCCAUGGAG | 342 | AD-20846、AD-20863  |
| 1547 | UCCAUGGCUGAC | 343 | GUCAGCCAUGGA | 344 | AD-20846、AD-20863  |
| 1548 | CCAUGGCUGACU | 345 | AGUCAGCCAUGG | 346 | AD-20846、AD-20863  |
| 1549 | CAUGGCUGACUG | 347 | CAGUCAGCCAUG | 348 | AD-20846、AD-20863  |
| 1550 | AUGGCUGACUGG | 349 | CCAGUCAGCCAU | 350 | AD-20846、AD-20863  |
| 1551 | UGGCUGACUGGC | 351 | GCCAGUCAGCCA | 352 | AD-20846、AD-20863  |
| 1626 | AUAUCACCCUGA | 353 | UCAGGGUGAUAU | 354 | AD-20816、AD-20827  |

|      |              |     |              |     |   |
|------|--------------|-----|--------------|-----|---|
| 1627 | UAUCACCCUGAG | 355 | CUCAGGGUGAUA | 356 | AD-20816、AD-20827、AD-20829  |
| 1628 | AUCACCCUGAGC | 357 | GCUCAGGGUGAU | 358 | AD-20816、AD-20827、AD-20829、AD-20818                                     |
| 1629 | UCACCCUGAGCA | 359 | UGCUCAGGGUGA | 360 | AD-20816、AD-20827、AD-20829、AD-20843、AD-20818                            |
| 1630 | CACCCUGAGCAG | 361 | CUGCUCAGGGUG | 362 | AD-20816、AD-20827、AD-20829、AD-20843、AD-20818                            |
| 1631 | ACCCUGAGCAGG | 363 | CCUGCUCAGGGU | 364 | AD-20816、AD-20827、AD-20829、AD-20843、AD-20818                            |
| 1632 | CCCUGAGCAGGA | 365 | UCCUGCUCAGGG | 366 | AD-20816、AD-20827、AD-20829、AD-20843、AD-20818                            |
| 1633 | CCUGAGCAGGAA | 367 | UUCCUGCUCAGG | 368 | AD-20827、AD-20829、AD-20843、AD-20818                                     |
| 1634 | CUGAGCAGGAAG | 369 | CUUCCUGCUCAG | 370 | AD-20829、AD-20843、AD-20818  |
| 1635 | UGAGCAGGAAGG | 371 | CCUUCCUGCUCA | 372 | AD-20843、AD-20818   |
| 1740 | UGGGUGGCCAGU | 373 | ACUGGCCACCCA | 374 | AD-20824、AD-20849   |
| 1741 | GGGUGGCCAGUU | 375 | AACUGGCCACCC | 376 | AD-20824、AD-20841、AD-20849  |
| 1742 | GGUGGCCAGUUU | 377 | AAACUGGCCACC | 378 | AD-20824、AD-20842、AD-20841、AD-20849                                     |
| 1743 | GUGGCCAGUUUG | 379 | CAAACUGGCCAC | 380 | AD-20824、AD-20842、AD-20821、AD-20841、AD-20849                            |
| 1744 | UGGCCAGUUUGG | 381 | CCAAACUGGCCA | 382 | AD-20824、AD-20842、AD-20821、AD-20838、AD-20841、AD-20849                   |
| 1745 | GGCCAGUUUGGC | 383 | GCCAAACUGGCC | 384 | AD-20824、AD-20842、AD-20821、AD-20838、AD-20841、AD-20823、AD-20849          |
| 1746 | GCCAGUUUGGU  | 385 | AGCCAAACUGGC | 386 | AD-20844、AD-20824、AD-20842、AD-20821、AD-20838、AD-20841、AD-20823、AD-20849 |
| 1747 | CCAGUUUGGUU  | 387 | AAGCCAAACUGG | 388 | AD-20814、AD-20844、AD-20842、AD-20821、AD-20838、AD-20841、AD-20823、AD-20849 |
| 1748 | CAGUUUGGUUC  | 389 | GAAGCCAAACUG | 390 | AD-20814、AD-20844、AD-20842、AD-20821、AD-20838、AD-20841、AD-20822、AD-20823 |
| 1749 | AGUUUGGUUCU  | 391 | AGAACCCAAACU | 392 | AD-20814、AD-20844、AD-20842、AD-20821、AD-20852、AD-20838、AD-20822、AD-20823 |
| 1750 | GUUUGGUUCUG  | 393 | CAGAACCCAAAC | 394 | AD-20814、AD-20844、AD-20821、AD-20852、AD-20838、AD-20822、AD-20823          |

|      |               |     |               |     |  |
|------|---------------|-----|---------------|-----|--|
|      |               |     |               |     | AD-20823   |
| 1751 | UUUGGCUUCUGG  | 395 | CCAGAAGCCAAA  | 396 | AD-20814、AD-20844、AD-20852、AD-20838、AD-20822、AD-20823          |
| 1752 | UUGGCUUCUGGA  | 397 | UCCAGAAGCCAA  | 398 | AD-20814、AD-20844、AD-20852、AD-20822、AD-20823                   |
| 1753 | UGGCUUCUGGAU  | 399 | AUCCAGAAGCCA  | 400 | AD-20814、AD-20844、AD-20852、AD-20822                            |
| 1754 | GGCUUCUGGAUG  | 401 | CAUCCAGAAGCC  | 402 | AD-20814、AD-20852、AD-20822                                     |
| 1755 | GCUUCUGGAUGG  | 403 | CCAUCAGAAGC   | 404 | AD-20852、AD-20822  |
| 1914 | AGCUGGUGGGAGG | 405 | CCUCCACCAAGCU | 406 | AD-20850、AD-20845  |
| 1915 | GCUGGUGGGAGGC | 407 | GCCUCCACCAAGC | 408 | AD-20850、AD-20845、AD-20833                                     |
| 1916 | CUGGUGGAGGCC  | 409 | GGCCUCCACCAAG | 410 | AD-20850、AD-20845、AD-20833、AD-20864                            |
| 1917 | UGGUGGAGGCC   | 411 | GGGCCUCCACCA  | 412 | AD-20810、AD-20850、AD-20845、AD-20833、AD-20864                   |
| 1918 | GGUGGAGGCCA   | 413 | UGGGCCUCCACC  | 414 | AD-20809、AD-20810、AD-20850、AD-20845、AD-20833、AD-20864          |
| 1919 | GUGGAGGCCAC   | 415 | GUGGGCCUCCAC  | 416 | AD-20809、AD-20810、AD-20850、AD-20845、AD-20833、AD-20864、AD-20840 |
| 1920 | UGGAGGCCACA   | 417 | UGUGGGCCUCCA  | 418 | AD-20809、AD-20810、AD-20850、AD-20845、AD-20833、AD-20864、AD-20840 |
| 1921 | GGAGGCCACAC   | 419 | GUGUGGGCCUCC  | 420 | AD-20809、AD-20810、AD-20845、AD-20833、AD-20864、AD-20840          |
| 1922 | GAGGCCACACCC  | 421 | GGUGUGGGCCUC  | 422 | AD-20809、AD-20810、AD-20833、AD-20864、AD-20840                   |
| 1923 | AGGCCACACCA   | 423 | UGGUGUGGGCCU  | 424 | AD-20809、AD-20810、AD-20864、AD-20840                            |
| 1924 | GGCCCACACCAA  | 425 | UUGGUGUGGGCC  | 426 | AD-20809、AD-20810、AD-20840                                     |
| 1925 | GCCCCACACCAAC | 427 | GUUGGUGUGGGC  | 428 | AD-20809、AD-20840  |

指示 NM\_000336.2 中之位置(「Pos」)。呈現有義及反義股中 12 個例示性 nt 之重疊；在許多情形中，重疊實際上較長。

## 實例 2

### 合成 $\beta$ -ENaC RNAi 劑序列

在 MerMade 192 合成器上以  $1 \mu\text{mol}$  規模合成如表 1 中 SEQ ID NO: 1 至 110 所列之經修飾  $\beta$ -ENaC RNAi 劑序列。

對於目錄中之所有序列，如下文詳述應用「endolight」化學。

有義股中之所有嘧啶(胞嘧啶及尿苷)含有 2'-O- 甲基鹼基 (2' O- 甲基 C 及 2'-O- 甲基 U)。

在反義股中，與核糖 A 核苷相鄰(亦即朝向 5' 位置)之嘧啶換為其相應 2-O- 甲基核苷。

在有義序列及反義序列之 3' 端引入兩個鹼基 dTsdT 延伸。

序列檔案轉化為文字檔案，以使其適於裝載至 MerMade 192 合成軟體中。

#### **合成、裂解及脫除保護基：**

$\beta$ -ENaC 序列之合成使用固體支撐之寡核苷酸合成，其使用胺基磷酸酯化學。

上述序列之合成以  $1 \mu\text{m}$  規模在 96 孔板中進行。以  $0.1 \text{ M}$  濃度製備 amidite 溶液且乙硫基四唑(乙腈中  $0.6 \text{ M}$ )用作活化劑。

合成之序列在 96 孔板中裂解且脫除保護基，在第一步驟中使用甲胺且在第二步驟中使用氟化物試劑。粗序列使用丙酮:乙醇(80:20)混合物沈澱，且離心塊再懸浮於  $0.2 \text{ M}$  乙酸鈉緩衝液中。藉由 LC-MS 分析來自各序列之樣品以確認身分，UV 定量且所選樣品組藉由 IEX 層析法測定純度。

#### **純化及脫鹽：**

在 AKTA explorer 純化系統上使用 Source 15Q 管柱純化  $\beta$ -ENaC 序列。在純化期間保持 65°C 之管柱溫度。在 96 孔 (1.8 mL 深孔) 板中進行樣品注射及收集。收集溶離劑中對應於全長序列之單峰。經純化序列在 Sephadex G25 管柱上使用 AKTA 純化器脫鹽。分析脫鹽之  $\beta$ -ENaC 序列的濃度 (藉由在 A260 下 UV 量測) 及純度 (藉由離子交換 HPLC)。

接著對單個股進行黏接。

$\beta$ -ENaC 單股及雙鏈體之詳細目錄顯示於上表 1 中。雙鏈體用於活體外篩選以測試其阻斷  $\beta$ -ENaC 基因含量的能力。

### 實例 3.

#### 活體外篩選 $\beta$ -ENaC RNAi 劑

活體外篩選  $\beta$ -ENaC RNAi 劑以測定其阻斷  $\beta$ -ENaC 基因含量之能力。

#### 細胞培養及轉染：

H441 (ATCC, Manassas, VA) 細胞在 37°C 下在 5% CO<sub>2</sub> 氣圍下在補充有 10% FBS、鏈黴素 (streptomycin) 及麴醯胺酸 (ATCC) 之 RPMI 1640 (ATCC) 中生長至接近匯合，隨後藉由胰蛋白酶處理自板釋放。反轉染藉由將 5 μl Opti-MEM 與每孔 10 μl Opti-MEM 加 0.2 μl 脂染胺 RNAiMax (Invitrogen, Carlsbad CA. 目錄號 13778-150) 一起添加至 96 孔板中每孔 5 μl siRNA 雙鏈體中，且在室溫下培育 15 分鐘來進行。接著添加 80 μl 無抗生素且含有  $2.0 \times 10^4$  H441 細胞之完全生長培養基。細胞培育 24 小時，隨後 RNA 純化。在 0.1 或 10 nM 最終雙鏈體濃度下進行實驗，使用 55 個  $\beta$ -ENaC 雙鏈體中每

一者單次劑量篩選。各 siRNA 在各測試劑量下轉染 3 次。結果顯示於表 3 中。

在 10 nM 至 10 fM 濃度範圍上使用連續稀釋液來檢定在 10 nM 及 0.1 nM 篩選中顯示穩固沉默之雙鏈體子組以測定其 IC<sub>50</sub>。結果顯示於表 4 中。

#### 總 RNA 分離：

採集細胞且溶解於 140 μl 溶解/結合溶液中，接著在 850 rpm 下使用 Eppendorf Thermomixer(整個過程中混合速度相同)混合 1 分鐘。

使用 MagMAX-96 總 RNA 分離套組 (Applied Biosystem, Foster City CA, part #: AM1830) 分離總 RNA。將 20 μl 磁珠及溶解/結合增強劑混合物添加至細胞溶解產物中且混合 5 分鐘。使用磁性台架捕捉磁珠且移除上清液而不擾亂珠粒。移除上清液後，磁珠以洗滌溶液 1(添加之異丙醇)洗滌且混合 1 分鐘。再次捕捉珠粒且移除上清液。珠粒接著以 150 μl 洗滌溶液 2(添加之乙醇)洗滌，捕捉且移除上清液。接著將 50 μl DNase 混合物 (MagMax turbo DNase 緩衝液及 Turbo DNase) 添加至珠粒中且將其混合 10 至 15 分鐘。混合後，添加 100 μl RNA 再結合溶液且混合 3 分鐘。移除上清液且磁珠以 150 μl 洗滌溶液 2 再次洗滌且混合 1 分鐘，且完全移除上清液。磁珠混合 2 分鐘直至乾燥，隨後 RNA 以 50 μl 水溶離。

#### cDNA 合成：

ABI 大容量 cDNA 反轉錄套組 (Applied Biosystems, Foster

City, CA, 目錄號 4368813)用於 cDNA 合成。每次反應將 2  $\mu\text{l}$  10 $\times$  緩衝液、0.8  $\mu\text{l}$  25 $\times$  dNTP、2  $\mu\text{l}$  隨機引子、1  $\mu\text{l}$  反轉錄酶、1  $\mu\text{l}$  RNase 抑制劑及 3.2  $\mu\text{l}$  H<sub>2</sub>O 之主要混合物添加至 10  $\mu\text{l}$  總 RNA 中。藉由以下步驟使用 Bio-Rad C-1000 或 S-1000 熱循環機 (Hercules, CA) 產生 cDNA：25°C 10 min，37°C 120 min，85°C 5 sec，4°C 保持。

#### 即時 PCR：

將 2  $\mu\text{l}$  cDNA 添加至含有 0.5  $\mu\text{l}$  GAPDH TaqMan 探針 (Applied Biosystems. 目錄號 4326317E)、0.5  $\mu\text{l}$   $\beta$ -ENaC TaqMan 探針 (Applied Biosystems 目錄號 Hs00165722\_m1) 及 5  $\mu\text{l}$  Roche 探針 主要混合物 (Roche Cat # 04887301001) 的 主要混合物中，LightCycler 480 384 孔板 (Roche 目錄號 0472974001) 中總共每孔 10  $\mu\text{l}$ 。即時 PCR 在 LightCycler 480 即時 PCR 機 (Roche) 中進行。各雙鏈體在兩次獨立轉染中測試，且每次轉染一式兩份檢定。

使用  $\Delta\Delta\text{Ct}$  法 分析 即時 資料。各樣品根據 GAPDH 表現校正且相對於以非靶向雙鏈體 AD-1955 轉染評定阻斷。使用 XLfit 中之 4 參數擬合模型定義 IC<sub>50</sub>。

結果顯示於下文中。表 3 顯示在 0.1 nM 或 10 nM 最終雙鏈體濃度下進行之實驗結果，使用 55 個  $\beta$ -ENaC 雙鏈體中每一者單次劑量篩選。「剩餘訊息物分數」指示 10 nm 或 0.1 nM 下的殘餘基因含量。因此，第二行中針對 AD-20832-b1 之「0.17」表示在 10 nM 之濃度下，存在 17% 殘餘基因含量或 83% 表現阻斷。亦注意字尾「b1」指示「批次 1」。因此，

舉例而言，名稱「AD-20832-b1」之RNAi劑具有與命名為「AD-20832」之RNAi劑相同之序列。

表 3.  $\beta$ -ENaC之10 nM及0.1 nM阻斷

|             | 10 nM下之剩餘訊息物分數 | 0.1 nM下之剩餘訊息物分數 | 10 nM下之標準差 | 0.1 nM下之標準差 |
|-------------|----------------|-----------------|------------|-------------|
| AD-20832-b1 | 0.17           | 0.33            | 0.04       | 0.03        |
| AD-20848-b1 | 0.17           | 0.49            | 0.01       | 0.04        |
| AD-20807-b1 | 0.18           | 0.26            | 0.02       | 0.05        |
| AD-20826-b1 | 0.19           | 0.49            | 0.02       | 0.22        |
| AD-20837-b1 | 0.19           | 0.51            | 0.04       | 0.04        |
| AD-20861-b1 | 0.19           | 0.71            | 0.02       | 0.29        |
| AD-20834-b1 | 0.20           | 0.34            | 0.06       | 0.05        |
| AD-20806-b1 | 0.22           | 0.60            | 0.02       | 0.15        |
| AD-20851-b1 | 0.23           | 0.55            | 0.04       | 0.07        |
| AD-20865-b1 | 0.24           | 0.64            | 0.02       | 0.05        |
| AD-20811-b1 | 0.25           | 0.52            | 0.17       | 0.23        |
| AD-20819-b1 | 0.27           | 0.60            | 0.01       | 0.07        |
| AD-20839-b1 | 0.27           | 0.55            | 0.06       | 0.05        |
| AD-20835-b1 | 0.28           | 0.63            | 0.07       | 0.21        |
| AD-20825-b1 | 0.30           | 0.72            | 0.11       | 0.15        |
| AD-20867-b1 | 0.30           | 0.68            | 0.00       | 0.20        |
| AD-20813-b1 | 0.34           | 0.56            | 0.17       | 0.36        |
| AD-20823-b1 | 0.34           | 0.75            | 0.05       | 0.05        |
| AD-20805-b1 | 0.36           | 0.86            | 0.02       | 0.09        |
| AD-20831-b1 | 0.36           | 0.60            | 0.01       | 0.21        |
| AD-20862-b1 | 0.38           | 0.93            | 0.02       | 0.29        |
| AD-20808-b1 | 0.40           | 0.81            | 0.13       | 0.16        |
| AD-20827-b1 | 0.40           | 2.55            | 0.07       | 1.44        |
| AD-20828-b1 | 0.42           | 0.89            | 0.11       | 0.25        |
| AD-20812-b1 | 0.47           | 0.74            | 0.32       | 0.36        |
| AD-20836-b1 | 0.48           | 1.07            | 0.11       | 0.27        |
| AD-20822-b1 | 0.49           | 0.94            | 0.11       | 0.09        |
| AD-20810-b1 | 0.53           | 0.87            | 0.25       | 0.20        |
| AD-20824-b1 | 0.54           | 1.12            | 0.08       | 0.33        |
| AD-20844-b1 | 0.55           | 0.98            | 0.07       | 0.28        |
| AD-20814-b1 | 0.60           | 1.30            | 0.09       | 0.12        |
| AD-20838-b1 | 0.65           | 1.18            | 0.07       | 0.18        |
| AD-20816-b1 | 0.66           | 1.38            | 0.05       | 0.17        |
| AD-20845-b1 | 0.72           | 1.18            | 0.01       | 0.27        |
| AD-20820-b1 | 0.75           | 0.89            | 0.06       | 0.14        |
| AD-20830-b1 | 0.75           | 0.94            | 0.04       | 0.24        |
| AD-20866-b1 | 0.77           | 1.24            | 0.03       | 0.57        |
| AD-20809-b1 | 0.78           | 1.05            | 0.05       | 0.03        |
| AD-20833-b1 | 0.79           | 0.99            | 0.01       | 0.35        |
| AD-20821-b1 | 0.80           | 0.99            | 0.07       | 0.14        |

|             |      |      |      |      |
|-------------|------|------|------|------|
| AD-20846-b1 | 0.83 | 1.13 | 0.10 | 0.15 |
| AD-20818-b1 | 0.88 | 1.36 | 0.04 | 0.62 |
| AD-20817-b1 | 0.89 | 1.11 | 0.11 | 0.19 |
| AD-20843-b1 | 0.92 | 1.64 | 0.11 | 0.16 |
| AD-20840-b1 | 0.93 | 1.13 | 0.15 | 0.30 |
| AD-20847-b1 | 0.94 | 0.99 | 0.64 | 0.12 |
| AD-20815-b1 | 0.96 | 2.06 | 0.23 | 0.99 |
| AD-20842-b1 | 0.96 | 1.37 | 0.16 | 0.28 |
| AD-20852-b1 | 0.96 | 1.30 | 0.17 | 0.17 |
| AD-20863-b1 | 0.99 | 0.84 | 0.24 | 0.11 |
| AD-20864-b1 | 0.99 | 1.36 | 0.05 | 0.74 |
| AD-20850-b1 | 1.00 | 1.22 | 0.14 | 0.14 |
| AD-20829-b1 | 1.08 | 1.39 | 0.26 | 0.70 |
| AD-20849-b1 | 1.11 | 1.31 | 0.27 | 0.17 |
| AD-20841-b1 | 1.12 | 1.37 | 0.10 | 0.48 |

此等實驗中使用之針對  $\beta$ -ENaC 之所有 RNAi 劑為表 1 中所列之經修飾序列 (SEQ ID NO: 1 至 110)。

表 4 顯示在 10 nM 至 10 fM 濃度範圍上使用連續稀釋液檢定在 10 nM 及 0.1 nM 篩選中顯示穩固沉默之雙鏈體子組以測定其 IC50 的實驗結果。

表 4.  $\beta$ -ENaC 劑量反應篩選

| 雙鏈體_ID   | H441新(平均4次重複) |         | H441舊(平均8次重複) |         |
|----------|---------------|---------|---------------|---------|
|          | IC50nM        | IC50標準差 | IC50nM        | IC50標準差 |
| AD-20807 | 0.05          | 0.03    | 0.04          | 0.06    |
| AD-20826 | 0.14          | 0.05    | 0.05          | 0.07    |
| AD-20832 | 0.05          | 0.02    | 0.04          | 0.05    |
| AD-20834 | 0.06          | 0.03    | 0.03          | 0.06    |
| AD-20848 | 0.25          | 0.14    | 0.13          | 0.17    |
| AD-20861 | 0.13          | 0.08    | 0.09          | 0.06    |

#### 實例 4

#### $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD-20807 及 AD-20832 之活體內分析

在活體內實驗中，測試兩種  $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD-20807 及 AD-20832 在大鼠整個肺中阻斷  $\beta$ -ENaC 基因含量的能力。目的為測定劑量反應。亦量測免疫刺激。

所用之大鼠品系為史泊格多利 (Sprague-Dawley)；個體

重量約280-300 g。大鼠每天給藥一次，持續2天。接著在第二次給藥後約24小時，將其處死。取左肺且研磨用於qPCR測定 $\beta$ -ENaC含量；右肺冷凍且儲存。

表 5.

| 組 | 大鼠編號  | 調配物     | 濃度      | 每組之大鼠 |
|---|-------|---------|---------|-------|
| 1 | 1-5   | D5W     | NA      | 5     |
| 2 | 6-10  | AD1955  | 10mg/kg | 5     |
| 3 | 11-15 | AD20191 | 10mg/kg | 5     |
| 4 | 16-20 | AD20807 | 10mg/kg | 5     |
| 5 | 12-25 | AD20807 | 3mg/kg  | 5     |
| 6 | 26-30 | AD20807 | 1mg/kg  | 5     |
| 7 | 31-35 | AD20832 | 10mg/kg | 4*    |
| 8 | 36-40 | AD20832 | 3mg/kg  | 5     |
| 9 | 41-45 | AD20832 | 1mg/kg  | 5     |

\*在4隻的組中，5隻大鼠初始給藥，但各組中有1隻未在實驗中生還且不包括於最終資料中。

兩種針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑(AD20807及AD20832)顯示 $\beta$ -ENaC含量以劑量依賴性方式降低。對於AD20807， $\beta$ -ENaC之含量在1、3及10 mg/kg劑量下分別降低約30%、40%及50%。

相反， $\beta$ -ENaC(bENaC)RNAi劑不會降低 $\alpha$ -ENaC(aENaC)之含量。然而，投與AD20832使 $\alpha$ -ENaC增加。

陰性對照包括：

D5W：5%右旋糖於水中之溶液；其為給藥時用於稀釋siRNA之媒劑；AD1955：不特異性靶向 $\alpha$ -或 $\beta$ -ENaC，但靶向螢火蟲螢光素酶之siRNA；及AD20191：不結合於 $\beta$ -ENaC，但靶向大鼠 $\alpha$ -ENaC之siRNA；及AD-9201，其靶向 $\alpha$ -ENaC(未用於此特定實例中)。

因此，此實驗中用RNAi劑AD20807及AD20832可見特異性阻斷 $\beta$ -ENaC。

### 實例5

#### 活體內分析 $\beta$ -ENaC AD-20834

在活體內實驗中，測試 $\beta$ -ENaC RNAi劑AD20834在大鼠整個肺中阻斷 $\beta$ -ENaC基因含量的能力。目的為測定劑量反應。亦量測免疫刺激。

大鼠品系為史泊格多利；個體重量約280-300 g。大鼠每天給藥一次，持續2天。接著在第二次給藥後約24小時，將其處死。取左肺且研磨用於qPCR測定 $\beta$ -ENaC含量；右肺冷凍且儲存。

表6.

| 組 | 大鼠編號  | 調配物     | 濃度      | 每組大鼠 |
|---|-------|---------|---------|------|
| 1 | 1-5   | D5W     | NA      | 5    |
| 2 | 6-10  | AD1955  | 10mg/kg | 4*   |
| 3 | 11-15 | AD20191 | 10mg/kg | 5    |
| 4 | 16-20 | AD20834 | 10mg/kg | 5    |
| 5 | 21-25 | AD20834 | 3mg/kg  | 5    |
| 6 | 26-30 | AD20834 | 1mg/kg  | 4*   |

\*在4隻的組中，5隻大鼠初始給藥，但各組中有1隻未在實驗中生還且不包括於最終資料中。

假定重量為300 g(0.3 kg)，進行以下稀釋：

$$10 \text{ mg/kg} = 200 \mu\text{L 體積 中 } 3 \text{ mg siRNA} = 15 \text{ mg/mL}$$

$$3 \text{ mg/kg} = 200 \mu\text{L 體積 中 } 1 \text{ mg siRNA} = 5 \text{ mg/mL}$$

$$1 \text{ mg/kg} = 200 \mu\text{L 體積 中 } 0.3 \text{ mg siRNA} = 1.5 \text{ mg/mL}$$

資料根據PPIB [肽基-輔胺醯基順-反異構酶B，用作管家(校正)基因]校正。

實驗顯示，在史泊格多利大鼠中， $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20834 證明  $\beta$ -ENaC 含量減少約 40%。此作用對  $\beta$ -ENaC 具有特異性。

對照組如下：D5W(含 5% 右旋糖之水)為陰性對照，對  $\alpha$ -ENaC 或  $\beta$ -ENaC 含量不顯示作用。AD1955 為不結合於  $\alpha$ -或  $\beta$ -ENaC 之對照 siRNA，其對  $\alpha$ -或  $\beta$ -ENaC 含量亦顯示幾乎無作用。靶向  $\alpha$ -ENaC 但不靶向  $\beta$ -ENaC 之陽性對照 siRNA AD20191 證明  $\alpha$ -ENaC 含量，但非  $\beta$ -ENaC 含量減少約 50%。

因此，10 mg/kg 的劑量之  $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20834 證明至少約 40% 抑制史泊格多利大鼠中  $\beta$ -ENaC 基因表現。

## 實例 6

### 分析 $\beta$ -ENaC RNAi 劑

使用  $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20807、AD20832、AD20834、AD20848 及 AD20861 在史泊格多利大鼠中活體內進行其他實驗。在第 1 天及第 2 天，大鼠以 10 mg/kg D5W 紿藥，且在第 3 天處死，且收集肺。

結果顯示於圖 1 中。結果顯示來自左肺之 qPCR 資料，根據對照基因 PPIB 校正。

圖 1 中之對照組如下：D5W(含 5% 右旋糖之水)為陰性對照，對  $\alpha$ -ENaC 或  $\beta$ -ENaC 含量不顯示作用。陽性對照為 AD-9201，其靶向  $\alpha$ -ENaC(aENaC)。

結果顯示於圖 1 中，顯示 AD20807、AD20832、AD20834、AD20848 及 AD20861 統計學上顯著且特異性阻斷  $\beta$ -ENaC(bENaC)。史泊格多利大鼠中的  $\beta$ -ENaC 基因之表

現由 10 mg/kg 濃度之此等 RNAi 劑抑制至少約 40%。

### 實例 7

#### 人類支氣管上皮細胞中 $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20832 對 ENaC 通道功能活性之活體外作用

人類支氣管上皮細胞 (HBEC) 以指示之 siRNA(包括  $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20832) 轉染。經轉染細胞接種至 Snapwell 插入物中且培養 24 小時。隨後，自各插入物移除頂部培養基且細胞在氣液界面 (ALI) 培養。在所述之 ALI 後第 8 天，檢定細胞之 ENaC 及 CFTR 活性。為了控制細胞活力，根據 CFTR 活性校正 ENaC 功能且資料以相對於未經轉染對照組的百分比形式給出 (圖 2A)。亦量測跨膜電阻作為其他活力對照 (圖 2B)。對各插入物進行  $\alpha$  及  $\beta$  ENaC 子單元 mRNA 之表現分析且根據 GAPDH 表現校正。(圖 2C)。資料表明 70% 抑制 mRNA 表現足以 50% 功能抑制 ENaC 通道。對於阻斷  $\alpha$  或  $\beta$  子單元皆如此，其中每一者皆與未經轉染 (neg) 及非特異性 (ns) siRNA 對照組比較。資料亦顯示  $\beta$  ENaC siRNA 不會抑制  $\alpha$  ENaC mRNA 表現且反之亦然。

#### 方法：人類支氣管上皮細胞中之 ENaC 功能活性

人類支氣管上皮細胞 (HBEC) 購自 Lonza 且在生長培養基 (BEGM 加 singlequots-Lonza) 中冷凍之前繼代一次。隨後，解凍細胞，擴增至匯合且 1:10 倍裂解用於轉染。達到 80% 累合後，各燒瓶之細胞以使用含 2  $\mu$ L/mL 脂染胺 2000 之總體積 30 mL 的轉染培養基 (BEGM (Lonza) 與 DMEM 高葡萄糖 (Gibco) 的 1:1 混合物，無添加劑) 以 30 nM 指示之 siRNA 轉

102年9月4日修正  
頁(本)

染。轉染後 24 小時，以分化培養基 (BEBM 與具有 singlequots 之 DMEM/高葡萄糖之 50:50 混合物 (減去三碘蘇氨酸及視黃酸補充物，所有反式視黃酸單獨在 50 nM 下添加)) 中  $2.5 \times 10^5$  個細胞 / 插入物 將細胞接種至 6 孔 Snapwell 插入物 (Costar) 上。細胞頂部補充 0.5 mL 分化培養基及基側補充 2.5 mL 分化培養基。在插入物上再培養 24 小時後，置換基側培養基且移除頂部培養基，因此使細胞進行氣液界面 (ALI) 培養。在 ALI 後第 8 天 (D8)，檢定細胞之 ENaC 及 CFTR 活性。

為了評定經轉染細胞之離子傳輸表型，將 Snapwell 插入物安置於垂直擴散室 (Costar) 中且以保持於 37°C 下含有 (以 mM 為單位)：120 NaCl、25 NaHCO<sub>3</sub>、3.3 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>、0.8 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>、1.2 CaCl<sub>2</sub>、1.2 MgCl<sub>2</sub> 及 10 葡萄糖 (容積滲透濃度保持介於 280 與 300 mosmol/l 之間) 之氣封林格氏溶液 (gassed Ringer solution) (含 5% CO<sub>2</sub> 之 O<sub>2</sub>；pH 7.4) 連續浸洗。細胞電壓箝制至 0 mV (EVC4000 型；WPI)。藉由以 30 s 間隔施加 2 mV 脈衝且使用歐姆定律 (Ohm's law) 計算跨膜電阻 (TM res) 來量測 TM res。使用 PowerLab 工工作站 (ADI Instruments) 記錄短路電流資料。藉由頂部添加 10 μM ENaC 阻斷劑阿米洛利 (阿米洛利敏感性電流) 後之短路電流變化評定各組中 ENaC 通道之活性。藉由頂部及基側添加 0.6 μM 已知活化 CFTR 之弗斯可林 (Forskolin) (弗斯可林反應) 後短路電流的變化評定經 CFTR 之氯化物分泌。對於各插入物，根據弗斯可林反應校正阿米洛利敏感電流且資料



以相對於未經轉染對照組之百分比形式給出。在研究結束時，溶解各插入物用於 RNA 分析 (300 μL RLT 緩衝液 - Qiagen)，且保留樣品用於隨後分析所述 rtPCR 之 mRNA 阻斷。

#### 縮寫：

ALI 氣液界面

BEGM 支氣管上皮生長培養基

D6、D8 第 6 天、第 8 天

DMEM 杜爾貝科改良之伊格爾培養基 (Dulbecco's Modified Eagle Medium)

HBEC 人類支氣管上皮細胞

TM res 跨膜電阻

#### 等效物

一種包含 RNAi 劑之組合物，該 RNAi 劑包含有義股及反義股，其中該反義股包含有 0、1、2 或 3 個核苷酸與對表 1 中提供之  $\beta$ -ENaC 具有特異性之 RNAi 劑之反義股不同的至少 15 個連續核苷酸。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中該組合物另外包含針對  $\beta$ -ENaC 之第二 RNAi 劑。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中反義股之長度為 30 或 30 個以下核苷酸。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中有義股與反義股形成長度為 15 至 30 個核苷酸對之雙鏈體區。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中反義股及有義股之長度

獨立為 19 至 23 個核苷酸。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含使 RNAi 劑在生物樣品或環境中穩定性提高的修飾。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含至少一個經修飾骨架及/或至少一個 2'- 經修飾核苷酸。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含：

a) 至少一個 5'- 尿苷 - 腺嘌呤 -3' (5'-ua-3') 二核苷酸，其中尿苷為 2'- 經修飾之核苷酸；及/或

b) 至少一個 5'- 尿苷 - 鳥嘌呤 -3' (5'-ug-3') 二核苷酸，其中 5'- 尿苷為 2'- 經修飾之核苷酸；及/或

c) 至少一個 5'- 胞苷 - 腺嘌呤 -3' (5'-ca-3') 二核苷酸，其中 5'- 胞苷為 2'- 經修飾之核苷酸；及/或

d) 至少一個 5'- 尿苷 - 尿苷 -3' (5'-uu-3') 二核苷酸，其中 5'- 尿苷為 2'- 經修飾之核苷酸。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含選自由以下組成之群的 2'- 修飾：2'- 去氧、2'- 去氧 -2'- 氟、2'-O- 甲基、2'-O- 甲氧基乙基 (2'-O-MOE)、2'-O- 肽基丙基 (2'-O-AP)、2'-O- 二甲胺基乙基 (2'-O-DMAOE)、2'-O- 二甲胺基丙基 (2'-O-DMAP)、2'-O- 二甲胺基乙氧基乙基 (2'-O-DMAEOE) 及 2'-O-N- 甲基乙醯胺基 (2'-O-NMA)。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含鈍端。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑包含具有 1 至 4 未配對核苷酸之懸垂物。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑在 RNAi 劑之反

義股的 3'-端包含懸垂物。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中該 RNAi 劑接合至一或多種選自以下之藥劑：診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂苷元、薯蕷皂苷元、萜類、三萜、菝葜皂苷元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯 15-聚合體、天然聚合物、低分子量或中等分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及/或運鐵蛋白。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 60%。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 70%。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 80%。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 90%。



如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.1 nM 之 EC<sub>50</sub>。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.01 nM 之 EC<sub>50</sub>。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.001 nM 之 EC<sub>50</sub>。

一種包含 RNAi 劑之組合物，該 RNAi 劑包含第一股及第二股，其中該第一股及該第二股包含分別有 0、1、2 或 3 個核苷酸與對表 1 中提供之 β-EnaC 具有特異性之 RNAi 劑之第一股及第二股不同的至少 15 個連續核苷酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中該組合物包含針對 β-EnaC 之第二 RNAi 劑。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中第二股之長度為 30 或 30 個以下核苷酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中第一股與第二股形成長度為 15 至 30 個核苷酸對之雙鏈體區。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中第一股及第二股之長度獨立為 19 至 23 個核苷酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑包含使 RNAi 劑在生物樣品或環境中穩定性提高的修飾。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中該 RNAi 劑包含硫代磷酸酯及 / 或 2'- 經修飾核苷酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑包含：

至少一個 5'- 尿苷 - 腺嘌呤 -3'(5'-ua-3') 二核苷酸，其中尿

昔為 2'-經修飾之核昔酸；及 / 或至少一個 5'-尿昔-鳥嘌呤-3'(5'-ug-3')二核昔酸，其中 5'-尿昔為 2'-經修飾之核昔酸；及 / 或至少一個 5'-胞昔-腺嘌呤-3'(5'-ca-3')二核昔酸，其中 5'-胞昔為 2'-經修飾之核昔酸；及 / 或至少一個 5'-尿昔-尿昔-3'(5'-uu-3')二核昔酸，其中 5'-尿昔為 2'-經修飾之核昔酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑包含一或多個選自由以下組成之群的 2'-修飾：

2'-去氧、2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氨基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲氨基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲氨基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)及 2'-O-N-甲基乙醯氨基(2'-O-NMA)。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑包含鈍端。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑包含具有 1 至 4 未配對核昔酸之懸垂物。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑在反義股的 3'-端包含懸垂物。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中該 RNAi 劑接合至一或多種藥劑，該藥劑選自以下：診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核昔鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂昔元、薯蕷皂昔元、萜類、三萜、菝葜皂昔元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物



物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯 15-聚合體、天然聚合物、低分子量或中等分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及/或運鐵蛋白。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 60%。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 70%。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 80%。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 劑在 H441 細胞中在 10 nM 之濃度下能夠將  $\beta$ -ENaC 基因之表現活體外抑制至少約 90%。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.1 nM 之 EC<sub>50</sub>。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.01 nM 之 EC<sub>50</sub>。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中 RNAi 具有不超過約 0.001 nM 之 EC<sub>50</sub>。

一種治療個體之  $\beta$ -ENaC 相關疾病之方法，其包含以下

步驟：向個體投與治療有效量之包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與對表1中提供之 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

如第178頁第2段之方法，其中該 $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓。

如第178頁第2段之方法，其中 $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化。

如第178頁第2段之方法，其中該方法另外包含投與用於囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓之其他治療的步驟。

如第178頁第2段之方法，其中該組合物包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。

如第178頁第2段之方法，其中該方法另外包含投與其他針對 $\beta$ -ENaC之RNAi劑的步驟。

如第178頁第2段之方法，其另外包含投與其他治療。

如第178頁第2段之方法，其中其他治療為組合物。

如第178頁第2段之方法，其中其他治療為方法。

如第178頁第2段之方法，其中其他治療及RNAi劑可以任何順序投與。

一種抑制個體 $\beta$ -ENaC基因表現之方法，其包含以下步



驟：向個體投與治療有效量之包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與對表1中提供之 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

如第179頁第4段之方法，其中個體受 $\beta$ -ENaC相關疾病折磨或易患 $\beta$ -ENaC相關疾病。

如第179頁第4段之方法，其中該 $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓。

如第179頁第4段之方法，其中 $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化。

如第179頁第7段之方法，其另外包含投與其他治療。

如第179頁第8段之方法，其中其他治療為組合物。

如第179頁第8段之方法，其中其他治療為方法。

如第179頁第7段之方法，其中其他治療及RNAi劑可以任何順序投與。

一種藥物，其用於包含RNAi劑之RNAi調配物中，該RNAi劑包含有義股及反義股，其中該反義股包含有0、1、2或3個核苷酸與對表1中提供之 $\beta$ -ENaC具有特異性之RNAi劑之反義股不同的至少15個連續核苷酸。

上述任何組合物為醫藥學上有效之調配物。

如第172頁第3段之組合物，其用於治療個體之 $\beta$ -ENaC相關疾病的方法中，該方法包含向該個體投與治療有效量

(103年1月14日修正  
第100114186號專利申請案  
中文說明書替換頁(103年1月))

第 100114186 號專利申請案  
中文說明書替換頁(103 年 1 月)

之如第 172 頁第 3 段之組合物的步驟。

一種如第 172 頁第 3 段之組合物之用途，其用於製造用以治療  $\beta$ -ENaC 相關疾病之藥物。

如第 180 頁第 5 段之用途，其中該  $\beta$ -ENaC 相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症及/或肥胖相關之高血壓。

如第 172 頁第 3 段之組合物，其中所有嘧啶為 2'-O- 甲基修飾之核苷酸。

如第 175 頁第 5 段之組合物，其中所有嘧啶為 2'-O- 甲基修飾之核苷酸。

### 【圖式簡單說明】

圖 1A-1B 描繪 RNAi 劑 AD20807、AD20826、AD20832、AS20834、AD20848 及 AD20861 活體內阻斷  $\beta$ -ENaC 活性的能力。A： $\alpha$  ENaC，B： $\beta$  ENaC。

圖 2A-2C 描繪  $\beta$ -ENaC RNAi 劑 AD20832 對人類支氣管上皮細胞中 ENaC 通道功能活性之活體外作用。A：ENaC 之功能抑制；B：跨膜電阻；C： $\alpha$  ENaC mRNA(左圖)， $\beta$  ENaC mRNA(右圖)。



## 序列表

- <110> 瑞士商諾華公司
- <120> 用於治療β-ENaC相關疾病之有機組合物
- <130> 54121
- <140> 100114186
- <141> 2011-04-22
- <150> 61/327,379; 61/333,398
- <151> 2010-04-23; 2010-05-11
- <160> 430
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工
- <220>  
<223> RNAi劑
- <400> 1  
cagugacuac aacacgacc 19
- <210> 2  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工
- <220>  
<223> RNAi劑
- <400> 2  
ggucguguug uagucacug 19
- <210> 3  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工
- <220>  
<223> RNAi劑
- <400> 3  
augacagaga aggcacuuc 19
- <210> 4  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工
- <220>  
<223> RNAi劑
- <400> 4  
gaagugccuu cucugucau 19
- <210> 5  
<211> 19

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |
| <220>                            |    |
| <223> RNAi剤                      |    |
| <400> 5<br>gugaagaagu accugcuga  | 19 |
|                                  |    |
| <210> 6                          |    |
| <211> 19                         |    |
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |
| <220>                            |    |
| <223> RNAi剤                      |    |
| <400> 6<br>ucagcaggua cuucuuacac | 19 |
|                                  |    |
| <210> 7                          |    |
| <211> 19                         |    |
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |
| <220>                            |    |
| <223> RNAi剤                      |    |
| <400> 7<br>ugacuacaa cacgaccua   | 19 |
|                                  |    |
| <210> 8                          |    |
| <211> 19                         |    |
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |
| <220>                            |    |
| <223> RNAi剤                      |    |
| <400> 8<br>uaggucgugu uguagucac  | 19 |
|                                  |    |
| <210> 9                          |    |
| <211> 19                         |    |
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |
| <220>                            |    |
| <223> RNAi剤                      |    |
| <400> 9<br>gguggaggcc cacaccaac  | 19 |
|                                  |    |
| <210> 10                         |    |
| <211> 19                         |    |
| <212> RNA                        |    |
| <213> 人工                         |    |

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 10                    |    |
|       | guuggugugg gccucccacc | 19 |
| <210> | 11                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 11                    |    |
|       | ugguggaggc ccacaccaa  | 19 |
| <210> | 12                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 12                    |    |
|       | uugguguggg ccuccacca  | 19 |
| <210> | 13                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 13                    |    |
|       | uuccaagacc acaugaucc  | 19 |
| <210> | 14                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 14                    |    |
|       | ggaucaugug gucuuggaa  | 19 |
| <210> | 15                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |

|   |    |
|---|----|
| <400> 15<br>acguggagg ucagcgucu               | 19 |
| <210> 16<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 16<br>agacgcugac cuccccagcu             | 19 |
| <210> 17<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 17<br>gggagaaaaua cugcaacaa             | 19 |
| <210> 18<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 18<br>uuguugcagu auuuucuccc             | 19 |
| <210> 19<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 19<br>ccaguuuggc uucuggaung             | 19 |
| <210> 20<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 20<br>cauccagaag ccaaacugg              | 19 |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <210> 21              |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 21              |  |    |
| agugacuaca acacgaccu  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 22              |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 22              |  |    |
| aggucguguu guagucacu  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 23              |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 23              |  |    |
| aaauaucaccc ugagcagga |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 24              |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 24              |  |    |
| uccugcucag ggugauuu   |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 25              |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 25              |  |    |
| ccugcaggcc accaacauc  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 26              |  |    |
| <211> 19              |  |    |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 26              | 19 |
| gauguuggug gccugcagg  |    |
| <210> 27              |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 27              | 19 |
| aucacccuga gcaggaagg  |    |
| <210> 28              |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 28              | 19 |
| ccuuccugcu cagggugau  |    |
| <210> 29              |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 29              | 19 |
| gcugggaggu cagcgucuc  |    |
| <210> 30              |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 30              | 19 |
| gagacgcuga ccuccccagc |    |
| <210> 31              |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 31                    |    |
|       | gagcuggggag gucagcguc | 19 |
| <210> | 32                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 32                    |    |
|       | gacgcugacc ucccaugcuc | 19 |
| <210> | 33                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 33                    |    |
|       | guggccaguu ugguuucug  | 19 |
| <210> | 34                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 34                    |    |
|       | cagaaggccaa acuggccac | 19 |
| <210> | 35                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 35                    |    |
|       | caguuuggcu ucuggaugg  | 19 |
| <210> | 36                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |

<400> 36  
ccauccagaa gccaaacug 19

<210> 37  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 37  
ggccaguuug gcuucugga 19

<210> 38  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 38  
uccagaagcc aaacugggcc 19

<210> 39  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 39  
cuggguggcc aguuuggcu 19

<210> 40  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 40  
agccaaacug gccacccag 19

<210> 41  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 41  
ucuacaguga cuacaacac 19

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
| <210> 42             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 42             |  |    |
| guguuguagu cacuguaga |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 43             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 43             |  |    |
| gcaugacaga gaaggcacu |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 44             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 44             |  |    |
| agugccuucu cugucauge |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 45             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 45             |  |    |
| auaucacccu gagcaggaa |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 46             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 46             |  |    |
| uuccugcuca gggugauau |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 47             |  |    |
| <211> 19             |  |    |

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 47             |  | 19 |
| cuacagugac uacaacacg |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <210> 48             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 48             |  | 19 |
| cguguuguag ucacuguag |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <210> 49             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 49             |  | 19 |
| uaucacccug agcaggaag |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <210> 50             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 50             |  | 19 |
| cuuccugcuc agggugaua |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <210> 51             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 51             |  | 19 |
| ugcaggccac caacaucuu |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <210> 52             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 52                    |    |
|       | aagauguugg uggccugca  | 19 |
| <210> | 53                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 53                    |    |
|       | caugacagag aaggcacuu  | 19 |
| <210> | 54                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 54                    |    |
|       | aagugccuuc ucugucaug  | 19 |
| <210> | 55                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 55                    |    |
|       | ugaagaagua ccugcugaa  | 19 |
| <210> | 56                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 56                    |    |
|       | uucagcaggua acuucuuca | 19 |
| <210> | 57                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |

|   |    |
|---|----|
| <400> 57<br>gcugguggag gccccacacc             | 19 |
| <210> 58<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 58<br>ggugugggccc uccaccaggc            | 19 |
| <210> 59<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 59<br>uacagugacu acaacacgaa             | 19 |
| <210> 60<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 60<br>ucguguugua gucacugua              | 19 |
| <210> 61<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 61<br>acagagaagg cacuuuccuu             | 19 |
| <210> 62<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 62<br>aaggaagugc cuucucugua             | 19 |

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
| <210> 63             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 63             |  |    |
| acagugacua caacacgac |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 64             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 64             |  |    |
| guccggugu agucacugu  |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 65             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 65             |  |    |
| ugagcuggga ggucagcgu |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 66             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 66             |  |    |
| acgcugaccu cccagcuca |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 67             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 67             |  |    |
| uggccaguuu ggcuucugg |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 68             |  |    |
| <211> 19             |  |    |

|                      |    |
|----------------------|----|
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 68             | 19 |
| ccagaagcca aacuggcca |    |
| <210> 69             |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 69             | 19 |
| ugucucagga gcgggacca |    |
| <210> 70             |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 70             | 19 |
| uggucccgcu ccugagaca |    |
| <210> 71             |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 71             | 19 |
| guggaggccc acaccaacu |    |
| <210> 72             |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 72             | 19 |
| aguuggugug ggccuccac |    |
| <210> 73             |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |



|       |                      |    |
|-------|----------------------|----|
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |
| <400> | 73                   |    |
|       | ggguggccag uuuggcuuc | 19 |
| <210> | 74                   |    |
| <211> | 19                   |    |
| <212> | RNA                  |    |
| <213> | 人工                   |    |
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |
| <400> | 74                   |    |
|       | gaagccaaac uggccaccc | 19 |
| <210> | 75                   |    |
| <211> | 19                   |    |
| <212> | RNA                  |    |
| <213> | 人工                   |    |
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |
| <400> | 75                   |    |
|       | gguggccagu uuggcuucu | 19 |
| <210> | 76                   |    |
| <211> | 19                   |    |
| <212> | RNA                  |    |
| <213> | 人工                   |    |
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |
| <400> | 76                   |    |
|       | agaagccaaa cuggccacc | 19 |
| <210> | 77                   |    |
| <211> | 19                   |    |
| <212> | RNA                  |    |
| <213> | 人工                   |    |
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |
| <400> | 77                   |    |
|       | ucacccugag caggaaggg | 19 |
| <210> | 78                   |    |
| <211> | 19                   |    |
| <212> | RNA                  |    |
| <213> | 人工                   |    |
| <220> |                      |    |
| <223> | RNAi剤                |    |

|   |    |
|---|----|
| <400> 78<br>cccuuccugc ucaggguga              | 19 |
| <210> 79<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 79<br>gccaguuugg cuucuggau              | 19 |
| <210> 80<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 80<br>auccagaagg caaacuggc              | 19 |
| <210> 81<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 81<br>agcuggugga ggccccacac             | 19 |
| <210> 82<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 82<br>guguggggccu ccaccagcu             | 19 |
| <210> 83<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                          |    |
| <400> 83<br>aucuccaagg cugacuggc              | 19 |

|                      |  |    |
|----------------------|--|----|
| <210> 84             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 84             |  |    |
| gccagucagc cauggagau |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 85             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 85             |  |    |
| ggcaugacag agaaggcac |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 86             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 86             |  |    |
| gugccuucuc ugucaugcc |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 87             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 87             |  |    |
| ggagaaauac ugcaacaac |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 88             |  |    |
| <211> 19             |  |    |
| <212> RNA            |  |    |
| <213> 人工             |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <220>                |  |    |
| <223> RNAi剤          |  |    |
| <br>                 |  |    |
| <400> 88             |  |    |
| guuguugcag uaauucucc |  | 19 |
| <br>                 |  |    |
| <210> 89             |  |    |
| <211> 19             |  |    |

|                        |  |    |
|------------------------|--|----|
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <400> 89               |  | 19 |
| uggguggccca guuuuggcnu |  |    |
| <210> 90               |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <400> 90               |  | 19 |
| aagccaaacu ggccaccca   |  |    |
| <210> 91               |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <400> 91               |  | 19 |
| gagcuguggagg aggcccaca |  |    |
| <210> 92               |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <400> 92               |  | 19 |
| ugugggcccuc caccagcuc  |  |    |
| <210> 93               |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <400> 93               |  | 19 |
| gacagagaag gcacuuuccu  |  |    |
| <210> 94               |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 94                    |    |
|       | aggaagugcc uucucuguc  | 19 |
| <210> | 95                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 95                    |    |
|       | aguuuuggcuu cuggauggg | 19 |
| <210> | 96                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 96                    |    |
|       | cccauccaga agccaaacu  | 19 |
| <210> | 97                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 97                    |    |
|       | ugacagagaa ggcacuuucc | 19 |
| <210> | 98                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 98                    |    |
|       | ggaagugccu ucucuguca  | 19 |
| <210> | 99                    |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 99<br>gaagaaguac cugcugaag               | 19 |
| <210> 100<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 100<br>cuucagcagg uacuuuuuc              | 19 |
| <210> 101<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 101<br>ucuccauggc ugacuggcc              | 19 |
| <210> 102<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 102<br>ggccagucag ccauggaga              | 19 |
| <210> 103<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 103<br>cugguggagg cccacacca              | 19 |
| <210> 104<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 104<br>uggugugggc cuccaccag              | 19 |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| <210> 105             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <br>                  |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <br>                  |    |
| <400> 105             |    |
| cagagaaggc acuuuccuuc | 19 |
| <br>                  |    |
| <210> 106             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <br>                  |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <br>                  |    |
| <400> 106             |    |
| gaaggaagug ccuucucug  | 19 |
| <br>                  |    |
| <210> 107             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <br>                  |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <br>                  |    |
| <400> 107             |    |
| cugcaggcca ccaacaucu  | 19 |
| <br>                  |    |
| <210> 108             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <br>                  |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <br>                  |    |
| <400> 108             |    |
| agaugeuuggu ggccugcag | 19 |
| <br>                  |    |
| <210> 109             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <br>                  |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <br>                  |    |
| <400> 109             |    |
| gggcaugaca gagaaggca  | 19 |
| <br>                  |    |
| <210> 110             |    |
| <211> 19              |    |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |
| <220>                             |    |
| <223> RNAi剤                       |    |
| <400> 110<br>ugccuucucu gucaugccc | 19 |
|                                   |    |
| <210> 111                         |    |
| <211> 19                          |    |
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |
| <220>                             |    |
| <223> RNAi剤                       |    |
| <400> 111<br>cagugacuac aacacgacc | 19 |
|                                   |    |
| <210> 112                         |    |
| <211> 19                          |    |
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |
| <220>                             |    |
| <223> RNAi剤                       |    |
| <400> 112<br>ggucguguug uagucacug | 19 |
|                                   |    |
| <210> 113                         |    |
| <211> 19                          |    |
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |
| <220>                             |    |
| <223> RNAi剤                       |    |
| <400> 113<br>augacagaga aggcacuuc | 19 |
|                                   |    |
| <210> 114                         |    |
| <211> 19                          |    |
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |
| <220>                             |    |
| <223> RNAi剤                       |    |
| <400> 114<br>gaagugccuu cucugucau | 19 |
|                                   |    |
| <210> 115                         |    |
| <211> 19                          |    |
| <212> RNA                         |    |
| <213> 人工                          |    |

|       |                       |  |    |
|-------|-----------------------|--|----|
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 115                   |  |    |
|       | gugaagaagu accugcuga  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 116                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <br>  |                       |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 116                   |  |    |
|       | ucagcaggua cuucuuucac |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 117                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <br>  |                       |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 117                   |  |    |
|       | gugacuacaa cacgaccua  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 118                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <br>  |                       |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 118                   |  |    |
|       | uaggucgugu uguagucac  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 119                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <br>  |                       |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 119                   |  |    |
|       | gguggaggcc cacaccaac  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 120                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <br>  |                       |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 120<br>guuggugugg gccuccacc              | 19 |
| <210> 121<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 121<br>ugguggaggc ccacaccaa              | 19 |
| <210> 122<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 122<br>uugguguggg ccuccacca              | 19 |
| <210> 123<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 123<br>uuccaagacc acaugaucc              | 19 |
| <210> 124<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 124<br>ggaucaugug gucuuggaa              | 19 |
| <210> 125<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 125<br>agcugggagg ucagcgucu              | 19 |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <210> 126             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 126             |  |    |
| agacgcugac cucccagcu  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 127             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 127             |  |    |
| gggagaaaaua cugcaacaa |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 128             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 128             |  |    |
| uuguugcagu auuuucuccc |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 129             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 129             |  |    |
| ccaguuuggc uucuggaung |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 130             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 130             |  |    |
| cauccagaag ccaaacugg  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 131             |  |    |
| <211> 19              |  |    |

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |
| <220>                               |    |
| <223> RNAi剤                         |    |
| <400> 131<br>agugacuaca acacgaccu   | 19 |
| <210> 132                           |    |
| <211> 19                            |    |
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |
| <220>                               |    |
| <223> RNAi剤                         |    |
| <400> 132<br>aggucguguu guagucacu   | 19 |
| <210> 133                           |    |
| <211> 19                            |    |
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |
| <220>                               |    |
| <223> RNAi剤                         |    |
| <400> 133<br>aaauaucaccc ugaggcagga | 19 |
| <210> 134                           |    |
| <211> 19                            |    |
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |
| <220>                               |    |
| <223> RNAi剤                         |    |
| <400> 134<br>uccugcucag ggugauuu    | 19 |
| <210> 135                           |    |
| <211> 19                            |    |
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |
| <220>                               |    |
| <223> RNAi剤                         |    |
| <400> 135<br>ccugcaggcc accaacaua   | 19 |
| <210> 136                           |    |
| <211> 19                            |    |
| <212> RNA                           |    |
| <213> 人工                            |    |

|       |                       |    |
|-------|-----------------------|----|
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 136                   |    |
|       | gauguuggug gccugcagg  | 19 |
| <210> | 137                   |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 137                   |    |
|       | aucacccuga gcaggaagg  | 19 |
| <210> | 138                   |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 138                   |    |
|       | ccuuccugcu cagggugau  | 19 |
| <210> | 139                   |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 139                   |    |
|       | gcugggaggu cagcgucuc  | 19 |
| <210> | 140                   |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |
| <400> | 140                   |    |
|       | gagacgcuga ccuccccagc | 19 |
| <210> | 141                   |    |
| <211> | 19                    |    |
| <212> | RNA                   |    |
| <213> | 人工                    |    |
| <220> |                       |    |
| <223> | RNAi剤                 |    |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <400> 141             |  | 19 |
| gagcuggggag gucagcguc |  |    |
| <210> 142             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <400> 142             |  | 19 |
| gacgcugacc ucccagcuc  |  |    |
| <210> 143             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <400> 143             |  | 19 |
| uggccaguu ugguuucug   |  |    |
| <210> 144             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <400> 144             |  | 19 |
| cagaaggccaa acuggccac |  |    |
| <210> 145             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <400> 145             |  | 19 |
| caguuuuggcu ucuggaugg |  |    |
| <210> 146             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <400> 146             |  | 19 |
| ccauccagaa gccaaacug  |  |    |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <210> 147             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 147             |  |    |
| ggccaguuug gcuucuggga |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 148             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 148             |  |    |
| uccagaagcc aaacugggcc |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 149             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 149             |  |    |
| cuggguggcc aguuuggcu  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 150             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 150             |  |    |
| agccaaacug gccacccag  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 151             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 151             |  |    |
| ucuacaguga cuacaacac  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 152             |  |    |
| <211> 19              |  |    |

|                      |    |
|----------------------|----|
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 152            | 19 |
| guguuguagu cacuguaga |    |
| <210> 153            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 153            | 19 |
| gcaugacaga gaaggcacu |    |
| <210> 154            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 154            | 19 |
| agugccuucu cugucaugc |    |
| <210> 155            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 155            | 19 |
| auaucaccu gaggcagaa  |    |
| <210> 156            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 156            | 19 |
| uuccugcuca gggugauau |    |
| <210> 157            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 157  
cuacagugac uacaacacg

19

<210> 158  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 158  
cguguuguag ucacuguag

19

<210> 159  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 159  
uaucacccug agcaggaag

19

<210> 160  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 160  
cuuccugcuc agggugaua

19

<210> 161  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 161  
ugcaggccac caacaucuu

19

<210> 162  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

|  |    |
|--|----|
| <400> 162<br>aagauguugg uggccugca              | 19 |
| <210> 163<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 163<br>caugacagag aaggcacuu              | 19 |
| <210> 164<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 164<br>aagugccuuc ucugucaug              | 19 |
| <210> 165<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 165<br>ugaagaagua ccugcugaa              | 19 |
| <210> 166<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 166<br>uucagcaggu acuuuuuca              | 19 |
| <210> 167<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 167<br>gcugguggag gcccacacc              | 19 |

|                        |  |    |
|------------------------|--|----|
| <210> 168              |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <400> 168              |  |    |
| gguguggggcc uccaccaggc |  | 19 |
| <br>                   |  |    |
| <210> 169              |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <400> 169              |  |    |
| uacagugacu acaacacgca  |  | 19 |
| <br>                   |  |    |
| <210> 170              |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <400> 170              |  |    |
| ucguguugua gucacugua   |  | 19 |
| <br>                   |  |    |
| <210> 171              |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <400> 171              |  |    |
| acagagaagg cacuuccuu   |  | 19 |
| <br>                   |  |    |
| <210> 172              |  |    |
| <211> 19               |  |    |
| <212> RNA              |  |    |
| <213> 人工               |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <220>                  |  |    |
| <223> RNAi剤            |  |    |
| <br>                   |  |    |
| <400> 172              |  |    |
| aaggaagugc cuucucugu   |  | 19 |
| <br>                   |  |    |
| <210> 173              |  |    |
| <211> 19               |  |    |

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |
| <220>                              |    |
| <223> RNAi剤                        |    |
| <400> 173<br>acagugacua caacacgac  | 19 |
|                                    |    |
| <210> 174                          |    |
| <211> 19                           |    |
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |
| <220>                              |    |
| <223> RNAi剤                        |    |
| <400> 174<br>guccggguugu agucacugu | 19 |
|                                    |    |
| <210> 175                          |    |
| <211> 19                           |    |
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |
| <220>                              |    |
| <223> RNAi剤                        |    |
| <400> 175<br>ugagcuggga ggucagcgu  | 19 |
|                                    |    |
| <210> 176                          |    |
| <211> 19                           |    |
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |
| <220>                              |    |
| <223> RNAi剤                        |    |
| <400> 176<br>acgcugaccu cccagcuca  | 19 |
|                                    |    |
| <210> 177                          |    |
| <211> 19                           |    |
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |
| <220>                              |    |
| <223> RNAi剤                        |    |
| <400> 177<br>uggccaguuu ggcuucugg  | 19 |
|                                    |    |
| <210> 178                          |    |
| <211> 19                           |    |
| <212> RNA                          |    |
| <213> 人工                           |    |

|       |                       |  |    |
|-------|-----------------------|--|----|
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 178                   |  |    |
|       | ccagaagcca aacuggcca  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 179                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 179                   |  |    |
|       | ugucucaggga gcgggacca |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 180                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 180                   |  |    |
|       | uggucccgcu ccugagaca  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 181                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 181                   |  |    |
|       | guggaggccc acaccaacu  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 182                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 182                   |  |    |
|       | aguuggugug ggccuuccac |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 183                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |

|                      |    |
|----------------------|----|
| <400> 183            | 19 |
| ggguggccag uuuggcuuc |    |
| <210> 184            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 184            | 19 |
| gaagccaaac uggccaccc |    |
| <210> 185            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 185            | 19 |
| gguggccagu uuggcuucu |    |
| <210> 186            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 186            | 19 |
| agaagccaaa cuggccacc |    |
| <210> 187            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 187            | 19 |
| ucacccugag caggaaggg |    |
| <210> 188            |    |
| <211> 19             |    |
| <212> RNA            |    |
| <213> 人工             |    |
| <220>                |    |
| <223> RNAi剤          |    |
| <400> 188            | 19 |
| cccuuccugc ucaggguga |    |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <210> 189             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 189             |  |    |
| gccaguuugg cuucuggau  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 190             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 190             |  |    |
| auccagaagg caaacuggc  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 191             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 191             |  |    |
| agcuggugga ggccccacac |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 192             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 192             |  |    |
| guguggggcu ccaccagcu  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 193             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 193             |  |    |
| aucuccaugg cugacuggc  |  | 19 |
| <br>                  |  |    |
| <210> 194             |  |    |
| <211> 19              |  |    |

|                       |    |
|-----------------------|----|
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 194             | 19 |
| gccagucagc cauggagau  |    |
| <210> 195             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 195             | 19 |
| ggcaugacag agaaggcac  |    |
| <210> 196             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 196             | 19 |
| gugccuucuc ugucaugcc  |    |
| <210> 197             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 197             | 19 |
| ggagaaauac ugcaacaac  |    |
| <210> 198             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |
| <220>                 |    |
| <223> RNAi剤           |    |
| <400> 198             | 19 |
| guuguugcag uaauuuuccc |    |
| <210> 199             |    |
| <211> 19              |    |
| <212> RNA             |    |
| <213> 人工              |    |

|       |                       |  |    |
|-------|-----------------------|--|----|
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 199                   |  |    |
|       | uggguggccca guuuggcuu |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 200                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 200                   |  |    |
|       | aagccaaacu ggccaccca  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 201                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 201                   |  |    |
|       | gagcuggugg aggcccaca  |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 202                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 202                   |  |    |
|       | uguggggccuc caccagcuc |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 203                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |
| <400> | 203                   |  |    |
|       | gacagagaag gcacuuuccu |  | 19 |
| <br>  |                       |  |    |
| <210> | 204                   |  |    |
| <211> | 19                    |  |    |
| <212> | RNA                   |  |    |
| <213> | 人工                    |  |    |
| <220> |                       |  |    |
| <223> | RNAi剤                 |  |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 204<br>aggaagugcc uucucuguc              | 19 |
| <210> 205<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 205<br>aguuuggcuu cuggauggg              | 19 |
| <210> 206<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 206<br>cccauccaga agccaaacu              | 19 |
| <210> 207<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 207<br>ugacagagaa ggcacuucc              | 19 |
| <210> 208<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 208<br>ggaagugccu ucucuguca              | 19 |
| <210> 209<br><211> 19<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 209<br>gaagaaguac cugcugaag              | 19 |

|                       |  |    |
|-----------------------|--|----|
| <210> 210             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 210             |  | 19 |
| cuucagcagg uacuuucuuc |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <210> 211             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 211             |  | 19 |
| ucuccauggc ugacuggcc  |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <210> 212             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 212             |  | 19 |
| ggccagucag ccauggaga  |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <210> 213             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 213             |  | 19 |
| cugguggagg cccacacca  |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <210> 214             |  |    |
| <211> 19              |  |    |
| <212> RNA             |  |    |
| <213> 人工              |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <220>                 |  |    |
| <223> RNAi剤           |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <400> 214             |  | 19 |
| uggugugggc cuccaccag  |  |    |
| <br>                  |  |    |
| <210> 215             |  |    |
| <211> 19              |  |    |

<212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 215  
 cagagaaggc acuuuccuuc

19

<210> 216  
 <211> 19  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 216  
 gaaggaagug ccuucucug

19

<210> 217  
 <211> 19  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 217  
 cugcaggcca ccaacaucu

19

<210> 218  
 <211> 19  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 218  
 agauguuggu ggccugcag

19

<210> 219  
 <211> 19  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 219  
 gggcaugaca gagaaggca

19

<210> 220  
 <211> 19  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
<223> RNAi制剂

<400> 220  
ugccuucucu gucaugccc

19

<210> 221  
<211> 2280  
<212> DNA  
<213> 石蟹獺猴

|   |      |
|---|------|
| <400> 221   |      |
| gttacccagc ttgcttgttc ttttgcaga agtcagaat aaacgctcaa ctttggcaga     | 60   |
| tcaattcccc gggatccga attcgccacc atgcacgtga agaagtacct gctgaagtgc    | 120  |
| ctgcaccggc tgcagaaggg ccccggtac acgtacaagg agctgctggt gtggtaactgc   | 180  |
| gataacacca acacccacgg ccccaagcgt atcatctgcg aggggcccaa gaagaaagcc   | 240  |
| gtgtggttcc tgctcaccct gctcttcaact gctctcgctc gctggcagtg gggcatcttc  | 300  |
| atcaggacct acttgagctg ggaggtcagc gtctccctct ccgtaggctt caagaccatg   | 360  |
| gacttccccg ccgtcaccat ctgcaatgct agcccttca agtattccaa agtcaagcat    | 420  |
| ttgctgaagg acctggatga gctgatggaa gctgtcctgg agagaatcct ggctcctgag   | 480  |
| ctaagccatg ccaatgccac caggaccctg aactcttcca tctggAACCA cacaccactg   | 540  |
| gtccttattt atgaacggaa cccccaccac cccatggtcc tcgatcttt tggagataac    | 600  |
| cacaatggct taacaaacag ctcagcatca gaaaagatct gtaatgccc tgggtgcaaa    | 660  |
| atggccatga gactatgttag cctcaacggg acccagtgc accttccggaa cttcaccaggc | 720  |
| gctacccagg cagtacaga gtggcacagc ctgcaggcca ccaacatctt tgccgcagg     | 780  |
| ccgcaggcagg agctggtgga gatgagctac cccggcgagc agatgatcct ggcctgcctg  | 840  |
| tttggagctg agccctgcaa ctaccggAACCTCACCTC tcactatggc                 | 900  |
| aactgttaca tcttcaactg gggcatgaca gagaaggcac ttccctcggc caaccctgg    | 960  |
| cctgaatttgcgtt gatcctggac ataggccagg aagactacgt ccccttcctc          | 1020 |
| gcgtccacgg ctggggtcag gctgatgctt cacgagcaga ggtcataccc cttcatcaga   | 1080 |
| gacgagggca tctatgccat gtcggggaca gagacgtcca tcgggtact cgtggacaag    | 1140 |
| tttcagcgtca tgggggagcc ctacagcccg tgcaccgtga atggctccga ggtccccgtc  | 1200 |
| aaaaacttctt acagtacta caacacgacc tactccatcc aggccgtct tcgctcctgc    | 1260 |
| ttccaagacc acatgatccg tagctgcaag tgtggactt acctcttaccc actgccccgt   | 1320 |
| ggggagaaat actgcaacaa ccgggacttc ccagactggg cccattgcta ctcagatctg   | 1380 |
| cagatgagcg tggcgcagag agagacctgc attggcatgt gcaaggaatc ctgcaatgac   | 1440 |
| acccagtaca agatgactat ctccatggct gactggcctt ctgaggcctc tgaggactgg   | 1500 |

|            |             |             |             |             |             |      |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|------|
| attttccacg | tcttgtctca  | ggagcgggac  | caaagcacca  | atatcacccct | gagcaggaag  | 1560 |
| ggaattgtca | agctcaacat  | ctacttccaa  | gaatttaact  | atcgaccat   | tgaagaatca  | 1620 |
| gcagccaata | acctcgtctg  | gctgctctca  | aatctgggtg  | gccagtttg   | cttctggatg  | 1680 |
| gggggctctg | tgctgtgcct  | catcgagtt   | ggggagatca  | tcatcgactt  | tgtgtggatc  | 1740 |
| accatcatca | agctggtgcc  | cttggccaaag | agcctccggc  | agcggcgagc  | ccaagccagc  | 1800 |
| tactccggcc | caccgcccac  | ggtggctgag  | ctggggagg   | cccacaccaa  | cttcggctac  | 1860 |
| cagcctgaca | cggccccccg  | cagccccaaac | accggggccct | accccagtga  | gcaggccctg  | 1920 |
| cccatccccc | gcaccccgcc  | ccccaaactat | gactccctgc  | gtctgcagcc  | actggacgtc  | 1980 |
| atcgagtctg | acagtgaggg  | tgtatccatc  | taagcggccg  | cctagaaata  | gcttgatctg  | 2040 |
| gttaccacta | aaccagcctc  | aagaacaccc  | aatggagtc   | tctaagctac  | ataataccaa  | 2100 |
| cttacacttt | acaaaatgtt  | gtccccaaaa  | atgttagccat | tcgttatctgc | tcctaataaaa | 2160 |
| aagaaagttt | cttcacattc  | aaaaaaaaaa  | aaaaaaaaaa  | aaaaaaaaaa  | aaaaacccccc | 2220 |
| cccccccccc | .ccctgcagag | atctgctagc  | ttgagtattc  | tatagagtca  | cctaaataact | 2280 |

<210> 222  
<211> 2597  
<212> DNA  
<213> 智人

|           |            |             |            |             |             |            |     |
|-----------|------------|-------------|------------|-------------|-------------|------------|-----|
| <400> 222 | gtgcttcccc | gcccctgaac  | ctgctccctc | ccagtcggtc  | tcgccgcgt   | cgccgggtgt | 60  |
|           | cccagtgtca | ccaacactcg  | gccgccgccc | ccagcttggc  | gchgaccgccc | gcctccgcca | 120 |
|           | ccgcccacag | cgcgcacccct | ccgtgtcccc | gctccgcgc   | ccgagcaggt  | gccactatgc | 180 |
|           | acgtgaagaa | gtacctgctg  | aagggcctgc | atcggctgca  | gaaggggccc  | ggctacacgt | 240 |
|           | acaaggagct | gctgggtgtgg | tactgcgaca | acaccaacac  | ccacggcccc  | aagcgcacca | 300 |
|           | tctgtgaggg | gccccagaag  | aaagccatgt | ggttcctgct  | caccctgctc  | ttcgccgccc | 360 |
|           | tcgtctgctg | gcagtggggc  | atcttcatca | ggacctactt  | gagctggag   | gtcagcgtct | 420 |
|           | ccctctccgt | aggcttcaag  | accatggact | tccctgcccgt | caccatctgc  | aatgttagcc | 480 |
|           | ccttcaagta | ttccaaaatc  | aagcatttgc | tgaaggacct  | ggatgagctg  | atgaaagctg | 540 |
|           | tcctggagag | aatcctggct  | cctgagctaa | gccatgccaa  | tgccaccagg  | aacctgaact | 600 |
|           | tctccatctg | gaaccacaca  | cccctggtcc | ttattgatga  | acgaaacccc  | caccacccca | 660 |
|           | tggtccttga | tctctttgga  | gacaaccaca | atggcttaac  | aagcagctca  | gcatcagaaa | 720 |
|           | agatctgtaa | tgcccacggg  | tgcaaaatgg | ccatgagact  | atgttagcctc | aacaggaccc | 780 |
|           | agtgtacctt | ccggaacttc  | accagtgcta | cccaggcatt  | gacagagtgg  | tacatcctgc | 840 |
|           | aggccaccaa | catcttgca   | caggtgccac | agcaggagct  | agtagagatg  | agctaccccg | 900 |

|   |      |
|---|------|
| gcgagcagat gatcctggcc tgcctattcg gagctgagcc ctgcaactac cggaacttca   | 960  |
| cgtccatctt ctaccctcac tatggcaact gttacatctt caactggggc atgacagaga   | 1020 |
| aggcacttcc ttcggccaac cctggaaactg aattcggcct gaagttgatc ctggacata   | 1080 |
| gccaggaaga ctacgtcccc ttcccttgcgt ccacggccgg ggtcaggctg atgcttcac   | 1140 |
| agcagaggta ataccccttc atcagagatg agggcatcta cgccatgtcg gggacagaga   | 1200 |
| cgtccatcg ggtactcgtg gacaagcttc agcgcatggg ggagccctac agcccgtgca    | 1260 |
| ccgtgaatgg ttctgaggta cccgtccaaa acttctacag tgactacaac acgacact     | 1320 |
| ccatccaggc ctgtcttcgc tcctgcttcc aagaccacat gatccgtAAC tgcaactgtg   | 1380 |
| gccactaccc gtacccactg ccccgtgggg agaaatactg caacaaccgg gacttcccag   | 1440 |
| actgggcccata ttgctactca gatctacaga tgagcgtggc gcagagagag acctgcatt  | 1500 |
| gcatgtgcaa ggagtccctgc aatgacaccc agtacaagat gaccatctcc atggctgact  | 1560 |
| ggccttctga ggcctccgag gactggattt tccacgtctt gtctcaggag cgggaccaaa   | 1620 |
| gcaccaatat caccctgagc aggaaggaa ttgtcaagct caacatctac ttccaagaat    | 1680 |
| ttaactatcg caccattgaa gaatcagcag ccaataacat cgtctggctg ctctcgaatc   | 1740 |
| tgggtggcca gtttggcttc tggatggggg gctctgtgct gtgcctcatac gagtttgggg  | 1800 |
| agatcatcat cgactttgtg tggatcacca tcatcaagct ggtggcctt gccaagagcc    | 1860 |
| tacggcagcg gcgagccaa gccagctacg ctggcccacc gcccaccgtg gccgagctgg    | 1920 |
| tggaggccca caccaacttt ggcttccagc ctgacacggc ccccccgcagc cccaacact   | 1980 |
| ggccctaccc cagttagcag gccctgccc tcccaggcac cccgcccccc aactatgact    | 2040 |
| ccctgcgtct gcagccgctg gacgtcatcg agtctgacag tgagggtgat gccatcta     | 2100 |
| cctgccccctg cccacccccc ggggctgaaa ctcactgagc agccaagact gttgcccag   | 2160 |
| gcctcactgt atggtgcctt ctccaaaggg tcgggagggt agctctccag gccagagctt   | 2220 |
| gtgtccttca acagagaggc cagcggcaac tggccgtt ctggccaagg gctctgtaga     | 2280 |
| atcacggtgc tggtagcagga tgcaggaata aattgtatct tcacctggtt cctaccctcg  | 2340 |
| tccctacctg tcctgatcct ggtcctgaag acccctcgga acaccctctc ctggtggcag   | 2400 |
| gccacttccc tcccagtgcc agtctccatc caccccaagag aggaacaggc gggggggcca  | 2460 |
| tgtggtttc tccttccctgg cttggctgg cctctggggc aggggtggtg gagagatgga    | 2520 |
| agggcatcag gtgttagggac cctgccaagt ggcacctgat ttactctaga aaataaaaagt | 2580 |
| agaaaaatact gagtcca   | 2597 |

<210> 223  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

|       |               |  |    |
|-------|---------------|--|----|
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 223           |  | 12 |
|       | ugaagaagua cc |  |    |
| <210> | 224           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 224           |  | 12 |
|       | gguacuucuu ca |  |    |
| <210> | 225           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 225           |  | 12 |
|       | gaagaaguac cu |  |    |
| <210> | 226           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 226           |  | 12 |
|       | agguacuucu uc |  |    |
| <210> | 227           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 227           |  | 12 |
|       | aagaaguacc ug |  |    |
| <210> | 228           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |

<210> 234  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 234  
 cagcagguac uu

12

<210> 235  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 235  
 aguaccugc ua

12

<210> 236  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 236  
 ucagcagguac u

12

<210> 237  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 237  
 guaccugc ug aa

12

<210> 238  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

<400> 238  
 uucagcagguac ac

12

<210> 239

|                |    |
|----------------|----|
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |
| <br>           |    |
| <220>          |    |
| <223> RNAi剤    |    |
| <br>           |    |
| <400> 239      |    |
| gagcuggggag gu | 12 |
| <br>           |    |
| <210> 240      |    |
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |
| <br>           |    |
| <220>          |    |
| <223> RNAi剤    |    |
| <br>           |    |
| <400> 240      |    |
| accuucccagc uc | 12 |
| <br>           |    |
| <210> 241      |    |
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |
| <br>           |    |
| <220>          |    |
| <223> RNAi剤    |    |
| <br>           |    |
| <400> 241      |    |
| agcugggagg uc  | 12 |
| <br>           |    |
| <210> 242      |    |
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |
| <br>           |    |
| <220>          |    |
| <223> RNAi剤    |    |
| <br>           |    |
| <400> 242      |    |
| gaccuucccag cu | 12 |
| <br>           |    |
| <210> 243      |    |
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |
| <br>           |    |
| <220>          |    |
| <223> RNAi剤    |    |
| <br>           |    |
| <400> 243      |    |
| gcuggggaggu ca | 12 |
| <br>           |    |
| <210> 244      |    |
| <211> 12       |    |
| <212> RNA      |    |
| <213> 人工       |    |

|       |                |    |
|-------|----------------|----|
| <220> | 244            |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | ugaccuccca gc  | 12 |
| <210> | 245            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 245            |    |
|       | cuggggagguc ag | 12 |
| <210> | 246            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 246            |    |
|       | cugaccuccc ag  | 12 |
| <210> | 247            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 247            |    |
|       | uggggaggua gc  | 12 |
| <210> | 248            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 248            |    |
|       | gcugaccucc ca  | 12 |
| <210> | 249            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |

<400> 249  
aaaaaaaaaaaaaaabcaab cb  
12

<210> 250  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi

<210> 251  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi

<400> 251  
qqqqqucaqc qu 12

<210> 252

<212> RNA  
<213> 人工

<223> RNAi劑

<210> 253

<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi劑  
    168    252

gaggucagcg uc 12

<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<223> RNAi剤

<400> 254  
gacgcugacc uc 12

<210> 255  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工  
  
 <220>  
 <223> RNAi剤  
  
 <400> 255  
 aggucagcgu cu 12

<210> 256  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工  
  
 <220>  
 <223> RNAi剤  
  
 <400> 256  
 agacgcugac cu 12

●  
 <210> 257  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工  
  
 <220>  
 <223> RNAi剤  
  
 <400> 257  
 cugcaggcca cc 12

<210> 258  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工  
  
 <220>  
 <223> RNAi剤  
  
 <400> 258  
 gguggccugc ag 12

●  
 <210> 259  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工  
  
 <220>  
 <223> RNAi剤  
  
 <400> 259  
 ugcaggccac ca 12

<210> 260

●



|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 260     |  | 12 |
| ugguggccug ca |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 261     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 261     |  | 12 |
| gcaggccacc aa |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 262     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 262     |  | 12 |
| uugguggccu gc |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 263     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 263     |  | 12 |
| caggccacca ac |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 264     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 264     |  | 12 |
| guugguggcc ug |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 265     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 265  
 aggccaccaa ca 12

<210> 266  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 266  
 uguugguggc cu 12

<210> 267  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 267  
 ggccaccaac au 12

<210> 268  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 268  
 auguuggugg cc 12

<210> 269  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 269  
 gccacccaaca uc 12

<210> 270  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

|  |   |
|--|---|
| <p>&lt;400&gt; 270<br/>gauguuggug gc</p> <p>&lt;210&gt; 271<br/>&lt;211&gt; 12<br/>&lt;212&gt; RNA<br/>&lt;213&gt; 人工</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; RNAi剤</p> <p>&lt;400&gt; 271<br/>ccacccaacau cu</p> <p>&lt;210&gt; 272<br/>&lt;211&gt; 12<br/>&lt;212&gt; RNA<br/>&lt;213&gt; 人工</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; RNAi剤</p> <p>&lt;400&gt; 272<br/>agauguuggu gg</p> <p>&lt;210&gt; 273<br/>&lt;211&gt; 12<br/>&lt;212&gt; RNA<br/>&lt;213&gt; 人工</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; RNAi剤</p> <p>&lt;400&gt; 273<br/>ggcaugacag ag</p> <p>&lt;210&gt; 274<br/>&lt;211&gt; 12<br/>&lt;212&gt; RNA<br/>&lt;213&gt; 人工</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; RNAi剤</p> <p>&lt;400&gt; 274<br/>cucugucaug cc</p> <p>&lt;210&gt; 275<br/>&lt;211&gt; 12<br/>&lt;212&gt; RNA<br/>&lt;213&gt; 人工</p> <p>&lt;220&gt;<br/>&lt;223&gt; RNAi剤</p> <p>&lt;400&gt; 275<br/>gcaugacaga ga</p> | <p>12</p> |
|--|---|

|                |  |    |
|----------------|--|----|
| <210> 276      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <400> 276      |  | 12 |
| ucucuguguau gc |  |    |
| <210> 277      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <400> 277      |  | 12 |
| caugacagag aa  |  |    |
| <210> 278      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <400> 278      |  | 12 |
| uucucuguga ug  |  |    |
| <210> 279      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <400> 279      |  | 12 |
| augacagaga ag  |  |    |
| <210> 280      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <400> 280      |  | 12 |
| cuucucuguc au  |  |    |
| <210> 281      |  |    |

|   |    |
|---|----|
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 281   |    |
| ugacagagaa gg   | 12 |
| <br>  |    |
| <210> 282   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 282   |    |
| ccuucucugu ca   | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 283   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 283   |    |
| gacagagaag gc   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 284   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 284   |    |
| gccuucucug uc   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 285   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 285   |    |
| acagagaagg ca   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 286   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 286  
ugccuuucucu gu 12

<210> 287  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 287  
cagagaaggc ac 12

<210> 288  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 288  
gugccuucuc ug 12

<210> 289  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 289  
agagaaggca cu 12

<210> 290  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 290  
agugccuucu cu 12

<210> 291  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

|  |    |
|--|----|
| <400> 291<br>gagaaggcac uu   | 12 |
| <br><210> 292<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工<br><br><220><br><223> RNAi剤<br><br><400> 292<br>aagugccuuc uc |    |
| <br><210> 293<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工<br><br><220><br><223> RNAi剤<br><br><400> 293<br>agaaggcacu uc | 12 |
| <br><210> 294<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工<br><br><220><br><223> RNAi剤<br><br><400> 294<br>gaagugccuu cu | 12 |
| <br><210> 295<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工<br><br><220><br><223> RNAi剤<br><br><400> 295<br>gaaggcacuu cc | 12 |
| <br><210> 296<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工<br><br><220><br><223> RNAi剤<br><br><400> 296<br>ggaagugccu uc | 12 |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <210> 297     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 297     |  | 12 |
| aaggcacuuc cu |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 298     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 298     |  | 12 |
| aggaagugcc uu |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 299     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 299     |  | 12 |
| aggcacuucc uu |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 300     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 300     |  | 12 |
| aaggaagugc cu |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 301     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 301     |  | 12 |
| cuacagugac ua |  |    |
| <br>          |  |    |
| <210> 302     |  |    |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 302     |  |    |
| uagucacugu ag |  | 12 |
| <210> 303     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 303     |  |    |
| uacagugacu ac |  | 12 |
| ●             |  |    |
| <210> 304     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 304     |  |    |
| guagucacug ua |  | 12 |
| <210> 305     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 305     |  |    |
| acagugacua ca |  | 12 |
| ●             |  |    |
| <210> 306     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 306     |  |    |
| uguagucacu gu |  | 12 |
| <210> 307     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |

|       |                 |    |
|-------|-----------------|----|
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |
| <400> | 307             |    |
|       | cagugacuac aa   | 12 |
| <210> | 308             |    |
| <211> | 12              |    |
| <212> | RNA             |    |
| <213> | 人工              |    |
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |
| <400> | 308             |    |
|       | uuguaguac ac ug | 12 |
| <210> | 309             |    |
| <211> | 12              |    |
| <212> | RNA             |    |
| <213> | 人工              |    |
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |
| <400> | 309             |    |
|       | agugacuaca ac   | 12 |
| <210> | 310             |    |
| <211> | 12              |    |
| <212> | RNA             |    |
| <213> | 人工              |    |
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |
| <400> | 310             |    |
|       | guuguaguca cu   | 12 |
| <210> | 311             |    |
| <211> | 12              |    |
| <212> | RNA             |    |
| <213> | 人工              |    |
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |
| <400> | 311             |    |
|       | gugacuacaa ca   | 12 |
| <210> | 312             |    |
| <211> | 12              |    |
| <212> | RNA             |    |
| <213> | 人工              |    |
| <220> |                 |    |
| <223> | RNAi剤           |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 312<br>uguuguaguc ac                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 313<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 313<br>ugacuacaac ac                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 314<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 314<br>guguuguagu ca                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 315<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 315<br>gacuacaaca cg                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 316<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 316<br>cguguuguag uc                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 317<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 317<br>acuacaacac ga                     | 12 |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <210> 318     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 318     |  | 12 |
| ucguguugua gu |  |    |
| <210> 319     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 319     |  | 12 |
| cuacaacacg ac |  |    |
| <210> 320     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 320     |  | 12 |
| gucguguugu ag |  |    |
| <210> 321     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 321     |  | 12 |
| uacaacacga cc |  |    |
| <210> 322     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <400> 322     |  | 12 |
| ggucguguug ua |  |    |
| <210> 323     |  |    |

|                |  |    |
|----------------|--|----|
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 323      |  |    |
| acaacacgac cu  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 324      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 324      |  |    |
| aggucguguu gu  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 325      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 325      |  |    |
| ggagaaaauac ug |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 326      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 326      |  |    |
| caguauuuucu cc |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 327      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 327      |  |    |
| gagaaaauacu gc |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 328      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 328  
 gcaguauuuc uc 12

<210> 329  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 329  
 agaaaauacug ca 12

<210> 330  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 330  
 ugcaguauuu cu 12

<210> 331  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 331  
 gaaauacugc aa 12

<210> 332  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤  
 <400> 332  
 uugcaguauu uc 12

<210> 333  
 <211> 12  
 <212> RNA  
 <213> 人工

<220>  
 <223> RNAi剤

|  |    |
|--|----|
| <400> 333<br>aaauacugca ac                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 334<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 334<br>guugcaguau uu                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 335<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 335<br>aaauacugcaa ca                    | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 336<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 336<br>uguugcagua uu                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 337<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 337<br>auacugcaac aa                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 338<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 338<br>uuguugcagu au                     | 12 |

|               |    |
|---------------|----|
| <210> 339     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 339     |    |
| ucuccauggc ug | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 340     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 340     |    |
| cagccaugga ga | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 341     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 341     |    |
| cuccauggcu ga | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 342     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 342     |    |
| ucagccaugg ag | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 343     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 343     |    |
| uccauggcug ac | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 344     |    |

|   |    |
|---|----|
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 344   |    |
| gucagccaug ga   | 12 |
| <br>  |    |
| <210> 345   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 345   |    |
| ccauggcuga cu   | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 346   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 346   |    |
| agucagccau gg   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 347   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 347   |    |
| cauggcugac ug   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 348   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |
| <br>  |    |
| <220>   |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>  |    |
| <400> 348   |    |
| cagucagcca ug   | 12 |
| <br> |    |
| <210> 349   |    |
| <211> 12  |    |
| <212> RNA   |    |
| <213> 人工  |    |

|       |               |  |    |
|-------|---------------|--|----|
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 349           |  |    |
|       | auggcugacu gg |  | 12 |
| <210> | 350           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 350           |  |    |
|       | ccagucagcc au |  | 12 |
| <210> | 351           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 351           |  |    |
|       | uggcugacug gc |  | 12 |
| <210> | 352           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 352           |  |    |
|       | gc当地 cagc ca  |  | 12 |
| <210> | 353           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 353           |  |    |
|       | auaucacccu ga |  | 12 |
| <210> | 354           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 354<br>ucagggugau au                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 355<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 355<br>uaucacccug ag                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 356<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 356<br>cucaggguga ua                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 357<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 357<br>aucacccuga gc                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 358<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 358<br>gcucagggug au                     | 12 |
| <br>   |    |
| <210> 359<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <br>   |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <br>   |    |
| <400> 359<br>ucacccugag ca                     | 12 |

|               |    |
|---------------|----|
| <210> 360     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 360     |    |
| ugcucagggu ga | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 361     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 361     |    |
| cacccugagc ag | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 362     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 362     |    |
| cugcucagg ug  | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 363     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 363     |    |
| acccugagca gg | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 364     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 364     |    |
| ccugcucagg gu | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 365     |    |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 365     |  |    |
| cccugagcag ga |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 366     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 366     |  |    |
| uccugcucag gg |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 367     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 367     |  |    |
| ccugagcagg aa |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 368     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 368     |  |    |
| uuccugcuca gg |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 369     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 369     |  |    |
| cugagcagga ag |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 370     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |

|       |               |  |    |
|-------|---------------|--|----|
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 370           |  |    |
|       | cuuccugcuc ag |  | 12 |
| <210> | 371           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 371           |  |    |
|       | ugagcaggaa gg |  | 12 |
| <210> | 372           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 372           |  |    |
|       | ccuuccugcu ca |  | 12 |
| <210> | 373           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 373           |  |    |
|       | uggguggcca gu |  | 12 |
| <210> | 374           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |
| <400> | 374           |  |    |
|       | acuggccacc ca |  | 12 |
| <210> | 375           |  |    |
| <211> | 12            |  |    |
| <212> | RNA           |  |    |
| <213> | 人工            |  |    |
| <220> |               |  |    |
| <223> | RNAi剤         |  |    |

|                |  |    |
|----------------|--|----|
| <400> 375      |  |    |
| ggguggccag uu  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 376      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 376      |  |    |
| aacuggccac cc  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 377      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 377      |  |    |
| gguggccagu uu  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 378      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 378      |  |    |
| aaacuggccca cc |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 379      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 379      |  |    |
| guggccaguu ug  |  | 12 |
| <br>           |  |    |
| <210> 380      |  |    |
| <211> 12       |  |    |
| <212> RNA      |  |    |
| <213> 人工       |  |    |
| <br>           |  |    |
| <220>          |  |    |
| <223> RNAi剤    |  |    |
| <br>           |  |    |
| <400> 380      |  |    |
| caaacuggcc ac  |  | 12 |

|               |    |
|---------------|----|
| <210> 381     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 381     | 12 |
| uggccaguuu gg |    |
| <br>          |    |
| <210> 382     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 382     | 12 |
| ccaaacuggc ca |    |
| <br>          |    |
| <210> 383     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 383     | 12 |
| ggccaguuug gc |    |
| <br>          |    |
| <210> 384     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 384     | 12 |
| gccaacugg cc  |    |
| <br>          |    |
| <210> 385     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 385     | 12 |
| gccaguuugg cu |    |
| <br>          |    |
| <210> 386     |    |

|               |  |    |
|---------------|--|----|
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 386     |  |    |
| agccaaacug gc |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 387     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 387     |  |    |
| ccaguuuggc uu |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 388     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 388     |  |    |
| aagccaaacu gg |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 389     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 389     |  |    |
| caguuuggcu uc |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 390     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |
| <br>          |  |    |
| <220>         |  |    |
| <223> RNAi剤   |  |    |
| <br>          |  |    |
| <400> 390     |  |    |
| gaagccaaac ug |  | 12 |
| <br>          |  |    |
| <210> 391     |  |    |
| <211> 12      |  |    |
| <212> RNA     |  |    |
| <213> 人工      |  |    |

|       |                |    |
|-------|----------------|----|
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 391            | 12 |
|       | aguuuggcuu cu  |    |
| <210> | 392            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 392            | 12 |
|       | agaaggccaaa cu |    |
| <210> | 393            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 393            | 12 |
|       | guuuggcuuc ug  |    |
| <210> | 394            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 394            | 12 |
|       | cagaaggccaa ac |    |
| <210> | 395            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |
| <400> | 395            | 12 |
|       | uuuggcuucu gg  |    |
| <210> | 396            |    |
| <211> | 12             |    |
| <212> | RNA            |    |
| <213> | 人工             |    |
| <220> |                |    |
| <223> | RNAi剤          |    |

|  |    |
|--|----|
| <400> 396<br>ccagaaggca aa                     | 12 |
| <210> 397<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 397<br>uuggcuucug ga                     | 12 |
| <210> 398<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 398<br>uccagaagcc aa                     | 12 |
| <210> 399<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 399<br>uggcuucugg au                     | 12 |
| <210> 400<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 400<br>auccagaagc ca                     | 12 |
| <210> 401<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 401<br>ggcuucugga ug                     | 12 |

|               |    |
|---------------|----|
| <210> 402     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 402     |    |
| cauccagaag cc | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 403     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 403     |    |
| gcuucuggau gg | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 404     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 404     |    |
| ccauccagaa gc | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 405     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 405     |    |
| agcuggugga gg | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 406     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 406     |    |
| ccuccaccag cu | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 407     |    |

|               |    |
|---------------|----|
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 407     |    |
| gcugguggag gc | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 408     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 408     |    |
| gccuccacca gc | 12 |
| <br>          |    |
| ●             |    |
| <210> 409     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 409     |    |
| cugguggagg cc | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 410     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 410     |    |
| ggccuccacc ag | 12 |
| <br>          |    |
| ●             |    |
| <210> 411     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |
| <br>          |    |
| <220>         |    |
| <223> RNAi剤   |    |
| <br>          |    |
| <400> 411     |    |
| ugguggaggc cc | 12 |
| <br>          |    |
| <210> 412     |    |
| <211> 12      |    |
| <212> RNA     |    |
| <213> 人工      |    |

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 412  
gggccuccac ca

12

<210> 413  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤  
<400> 413  
gguggaggcc ca

12

<210> 414  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤  
<400> 414  
ugggcccucca cc

12

<210> 415  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤  
<400> 415  
guggaggccc ac

12

<210> 416  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤  
<400> 416  
gugggcccucc ac

12

<210> 417  
<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

|  |    |
|--|----|
| <400> 417<br>uggaggccca ca                     | 12 |
| <210> 418<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 418<br>ugugggcccuc ca                    | 12 |
| <210> 419<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 419<br>ggaggccccac ac                    | 12 |
| <210> 420<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 420<br>gugugggccu cc                     | 12 |
| <210> 421<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 421<br>gaggccccaca cc                    | 12 |
| <210> 422<br><211> 12<br><212> RNA<br><213> 人工 |    |
| <220><br><223> RNAi剤                           |    |
| <400> 422<br>ggugugggccc uc                    | 12 |

|                 |    |
|-----------------|----|
| <210> 423       |    |
| <211> 12        |    |
| <212> RNA       |    |
| <213> 人工        |    |
| <br>            |    |
| <220>           |    |
| <223> RNAi剤     |    |
| <br>            |    |
| <400> 423       |    |
| aggccccacac ca  | 12 |
| <br>            |    |
| <210> 424       |    |
| <211> 12        |    |
| <212> RNA       |    |
| <213> 人工        |    |
| <br>            |    |
| <220>           |    |
| <223> RNAi剤     |    |
| <br>            |    |
| <400> 424       |    |
| uggugugggc cu   | 12 |
| <br>            |    |
| <210> 425       |    |
| <211> 12        |    |
| <212> RNA       |    |
| <213> 人工        |    |
| <br>            |    |
| <220>           |    |
| <223> RNAi剤     |    |
| <br>            |    |
| <400> 425       |    |
| ggcccccacacc aa | 12 |
| <br>            |    |
| <210> 426       |    |
| <211> 12        |    |
| <212> RNA       |    |
| <213> 人工        |    |
| <br>            |    |
| <220>           |    |
| <223> RNAi剤     |    |
| <br>            |    |
| <400> 426       |    |
| uugguguggg cc   | 12 |
| <br>            |    |
| <210> 427       |    |
| <211> 12        |    |
| <212> RNA       |    |
| <213> 人工        |    |
| <br>            |    |
| <220>           |    |
| <223> RNAi剤     |    |
| <br>            |    |
| <400> 427       |    |
| gccccacaccca ac | 12 |
| <br>            |    |
| <210> 428       |    |

<211> 12  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 428  
guuggugugg gc

12

<210> 429  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 429  
cagugacuac aacacgacc

19

<210> 430  
<211> 19  
<212> RNA  
<213> 人工

<220>  
<223> RNAi剤

<400> 430  
ggucguguug uagucacug

19

修正  
劃線  
102年12月19日

P15

第100114186號專利申請案  
中文申請專利範圍替換本(102年12月)

## 七、申請專利範圍：

1. 一種包含RNAi劑之組合物，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列包含至少15個連續(contiguous)核苷酸，其具有0、1、2或3個核苷酸不同於SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176，其中該反義股及有義股長度各為至少約15個核苷酸且不大於約30個核苷酸，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。
2. 如請求項1之組合物，其中該組合物另外包含針對β-ENaC之第二RNAi劑。
3. 如請求項1之組合物，其中該RNAi劑包含至少一個經修飾骨架，至少一個2'-經修飾核苷酸，或其組合。
4. 如請求項1之組合物，其中該RNAi劑接合至一或多種劑，該一或多種劑係選自：診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基(unusual nucleobase)、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素(lectin)、類固醇、烏蘇醇(uvaol)、龍舌蘭皂苷元(hecigenin)、薯蕷皂苷元(diosgenin)、萜類、三萜、菝葜皂苷元(sarsasapogenin)、無羈萜(Friedelin)、表木栓醇(epifriedelanol)衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭(pullulan)、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯15-聚合體(15-mer)、天然聚合物、低或中分子量聚合物、菊糖(inulin)、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分

- 子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及運鐵蛋白。
5. 一種組合物，其包含RNAi劑，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列包含SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176之序列，其中該反義股及有義股長度各為不大於約30個核苷酸，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。
  6. 如請求項5之組合物，其中該組合物另包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。
  7. 如請求項5之組合物，其中該RNAi劑包含硫代磷酸酯，2'-經修飾核苷酸，或其組合。
  8. 如請求項5之組合物，其中該RNAi劑接合至一或多種劑，該一或多種係劑選自：診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂苷元、薯蕷皂苷元、萜類、三萜、菝葜皂苷元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄糖胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯15-聚合體、天然聚合物、低或中分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及運鐵蛋白。
  9. 一種如請求項1之組合物之用途，其係用於製造抑制個體中之 $\beta$ -ENaC量或表現的藥物。
  10. 一種如請求項1之組合物的用途，其係用於製造治療個

體之 $\beta$ -ENaC相關疾病的藥物。

11. 如請求項10之用途，其中該 $\beta$ -ENaC相關疾病為囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(pseudohypoaldosteronism, PHA1)、李德爾症候群(Liddle's syndrome)、高血壓、鹼中毒、低鉀血症或肥胖相關之高血壓。
12. 如請求項10之用途，其中該藥物進一步包含治療囊腫性纖維化、1型假醛固酮過少症(PHA1)、李德爾症候群、高血壓、鹼中毒、低鉀血症或肥胖相關之高血壓之額外藥劑。
13. 如請求項9或10之用途，其中該藥物另外包含針對 $\beta$ -ENaC之其他RNAi劑。
14. 一種組合物，其包含RNAi劑，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列为SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176之序列，及該有義股序列为SEQ ID NO：115、165、153、207、169、197、127或175之序列，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。
15. 如請求項14之組合物，其中該RNAi劑包含一或多個選自由以下所組成之群之2'-修飾：2'-去氧、2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基(2'-O-MOE)、2'-O-胺基丙基(2'-O-AP)、2'-O-二甲胺基乙基(2'-O-DMAOE)、2'-O-二甲胺基丙基(2'-O-DMAP)、2'-O-二甲胺基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)及2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)。
16. 如請求項14之組合物，其中該RNAi劑接合至一或多種

劑，該一或多種係劑選自：診斷化合物、報導基團、交聯劑、賦予核酸酶抗性之部分、天然或非尋常核苷鹼基、親脂性分子、膽固醇、脂質、植物凝集素、類固醇、烏蘇醇、龍舌蘭皂苷元、薯蕷皂苷元、萜類、三萜、菝葜皂苷元、無羈萜、表木栓醇衍生之石膽酸、維生素、碳水化合物、聚葡萄糖、普魯蘭、甲殼素、聚葡萄胺糖、合成碳水化合物、寡乳酸酯15-聚合體、天然聚合物、低或中分子量聚合物、菊糖、環糊精、玻尿酸、蛋白質、蛋白質結合劑、靶向整合素之分子、聚陽離子、肽、多元胺、肽模擬物及運鐵蛋白。

17. 如請求項14之組合物，其中該組合物包含針對 $\beta$ -ENaC之第二RNAi劑。
18. 如請求項14之組合物，其中該RNAi劑包含硫代磷酸酯，2'-經修飾核苷酸，或其組合。
19. 一種組合物，其包含治療有效量之如請求項1之組合物及醫藥上可接受載劑。
20. 一種組合物，其包含治療有效量之如請求項5之組合物及醫藥上可接受載劑。
21. 一種組合物，其包含治療有效量之如請求項14之組合物及醫藥上可接受載劑。
22. 一種組合物，其包含RNAi劑，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列为SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176之序列，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。

23. 一種組合物，其包含RNAi劑，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列包含來自SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176之序列之至少15個連續核苷酸，其中該反義股及有義股長度各為至少約19個核苷酸且不大於約30個核苷酸，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。
24. 一種組合物，其包含RNAi劑，該RNAi劑包含反義股及有義股，其中該反義股序列包含SEQ ID NO：116、166、154、208、170、198、128或176之序列，其中該反義股及有義股長度各為至少約19個核苷酸且不大於約30個核苷酸，及其中該反義股及有義股係經修飾或未經修飾。

103年1月14日修正  
專利申請案  
頁(本)第 100114186 號專利申請案  
中文圖式替換頁(103 年 1 月)

## 八、圖式：

B.

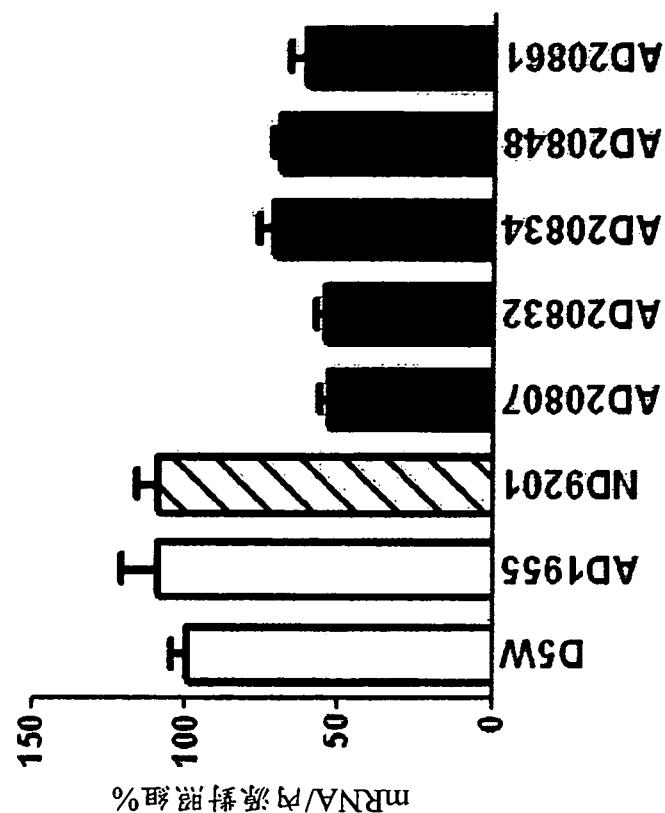
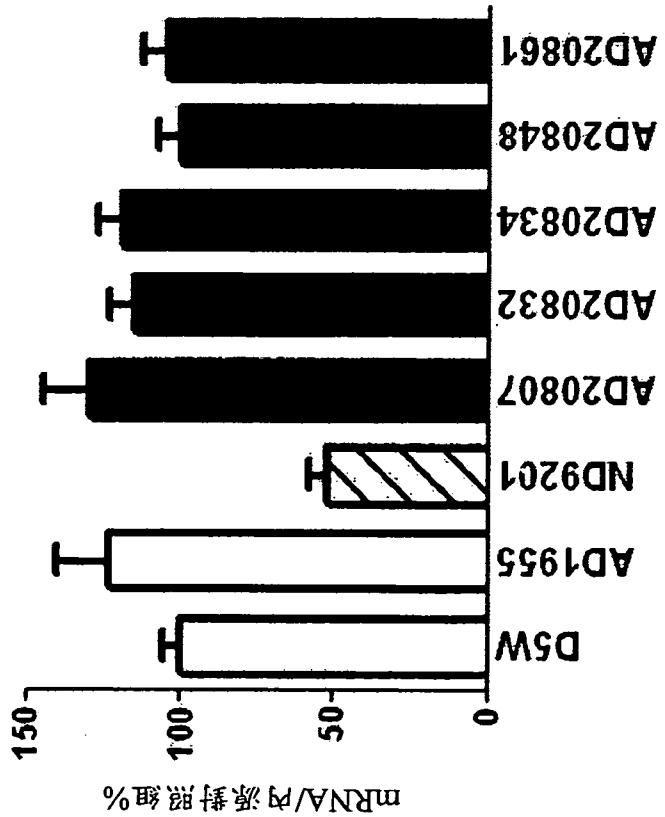


圖 1

A.



(02年9月14日修正  
頁(本) 訂正)

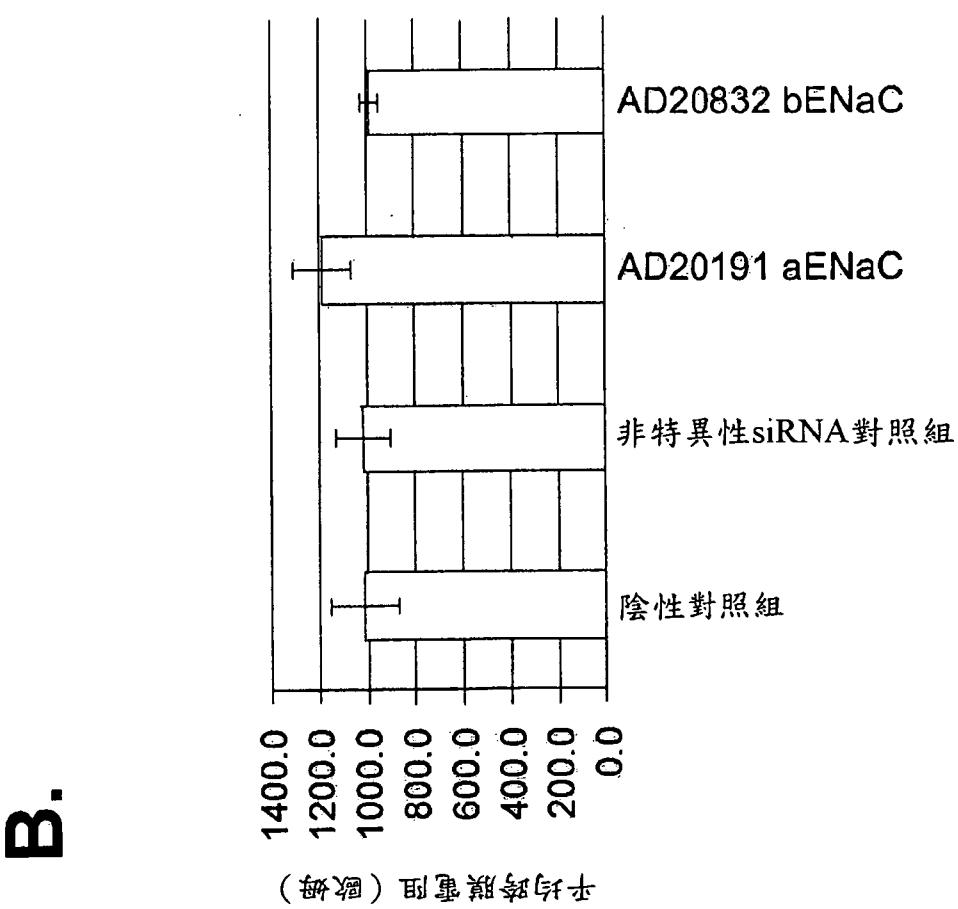
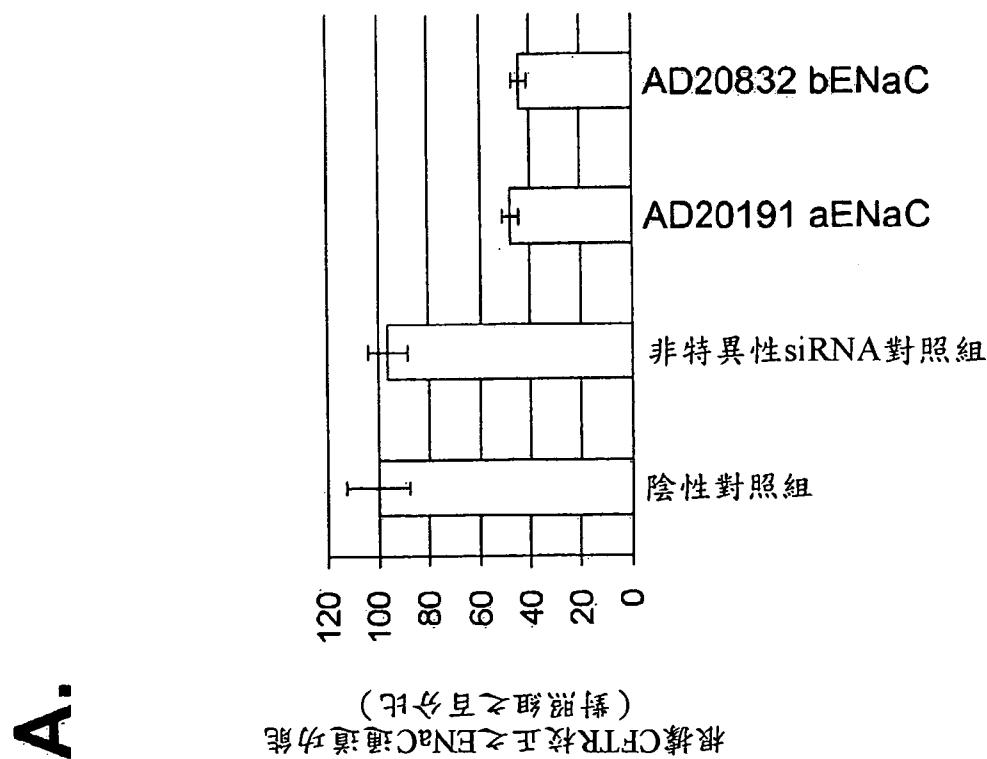


圖2



102年9月14日 修正  
頁(本) 數據

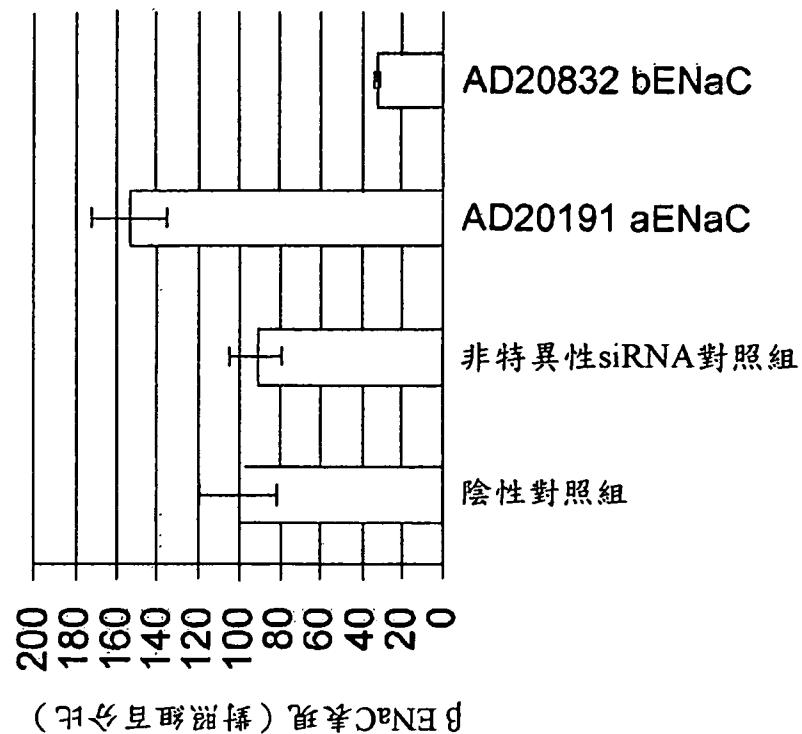
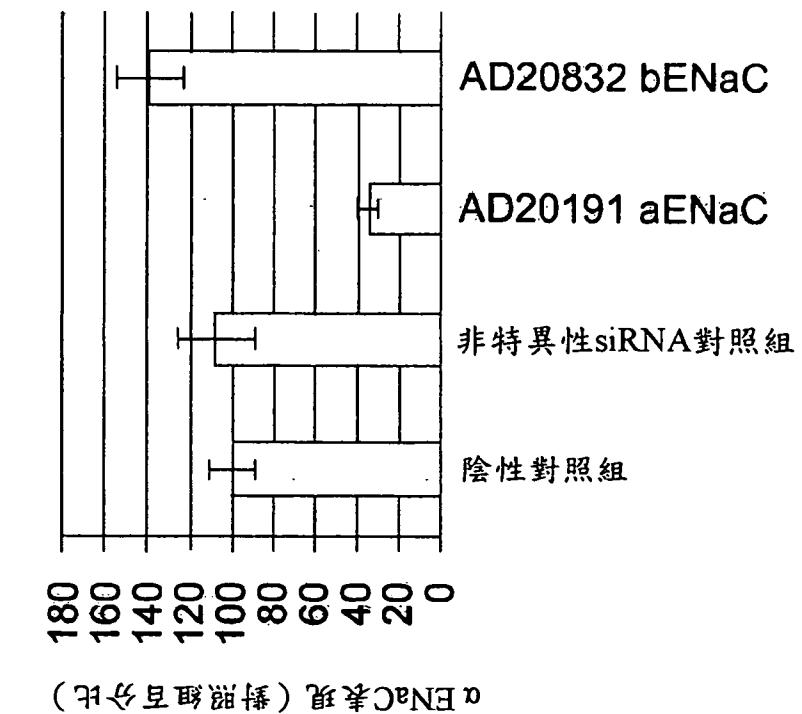


圖2 (續)



C.