



등록특허 10-2500675



(19) 대한민국특허청(KR)

(12) 등록특허공보(B1)

(45) 공고일자 2023년02월15일

(11) 등록번호 10-2500675

(24) 등록일자 2023년02월13일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)

C12N 15/113 (2010.01) *A61K 31/7105* (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01) *A61P 31/20* (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(52) CPC특허분류

C12N 15/1131 (2013.01)
A61K 31/7105 (2013.01)

(21) 출원번호 10-2019-7006273

(22) 출원일자(국제) 2017년08월04일

심사청구일자 2020년07월31일

(85) 번역문제출일자 2019년02월28일

(65) 공개번호 10-2019-0038606

(43) 공개일자 2019년04월08일

(86) 국제출원번호 PCT/US2017/045446

(87) 국제공개번호 WO 2018/027106

국제공개일자 2018년02월08일

(30) 우선권주장

62/370,754 2016년08월04일 미국(US)

(뒷면에 계속)

(56) 선행기술조사문헌

US20030206887 A1

US20130150433 A1

WO2013003520 A1*

*는 심사관에 의하여 인용된 문헌

전체 청구항 수 : 총 103 항

심사관 : 문동현

(54) 발명의 명칭 B형 간염 바이러스 감염에 대한 RNAi 작용제

(57) 요 약

B형 간염 바이러스 유전자 발현의 저해를 위한 조성물 및 방법이 기재된다. B형 간염 바이러스 유전자의 발현을 저해하기 위한 RNA 간섭(RNAi) 작용제가 기재된다. 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는, 예를 들어, 접합된 표적화 리간드를 사용함으로써 간세포와 같은 세포에 표적화될 수 있다. 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 함께, 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물이 또한 기재된다. 생체내에서 감염된 간으로의 기재된 HBV RNAi 작용제의 전달은 HBV 유전자 발현의 저해 및 HBV 감염과 관련된 질병 및 질환의 치료를 제공한다.

(52) CPC특허분류

A61P 1/16 (2018.01)
A61P 31/20 (2018.01)
A61P 35/00 (2018.01)
C12N 2310/14 (2013.01)
C12N 2310/315 (2013.01)
C12N 2310/321 (2013.01)
C12N 2310/322 (2013.01)
C12N 2310/3515 (2013.01)
C12N 2310/3521 (2013.01)

(72) 발명자

우드웰 크리스틴 아이.

미국 위스콘신주 53719 매디슨 로사 로드 502
에스. 애로우헤드 파마슈티컬스 인코포레이티드

기븐 브루스 디.

미국 위스콘신주 53719 매디슨 로사 로드 502
에스. 애로우헤드 파마슈티컬스 인코포레이티드

페이 타오

미국 위스콘신주 53719 매디슨 로사 로드 502
에스. 애로우헤드 파마슈티컬스 인코포레이티드

루이스 데이비드 엘.

미국 위스콘신주 53704 매디슨 레이크랜드 에비뉴
2930

알메이다 로랑 제이.

미국 위스콘신주 53711 매디슨 토크스타드 글렌
490

로제마 데이비드 비.

미국 위스콘신주 53528 크로스 플레인스 길 웨이
4361

웨이크필드 대런 에이치.

미국 위스콘신주 53711 피치버그 스톤맨 드라이브
5236

(30) 우선권주장

62/534,733 2017년07월20일 미국(US)
62/540,639 2017년08월03일 미국(US)

명세서

청구범위

청구항 1

서열번호 300, 302, 306, 307, 309 및 319-321 중 어느 하나에 따른 핵염기(nucleobase) 서열을 포함하는 센스 가닥, 및 상기 센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는, RNAi 작용제로서, 상기 RNAi 작용제는 15개 내지 25개의 뉴클레오티드의 이중체(duplex) 길이를 가지는 것인, RNAi 작용제.

청구항 2

제1항에 있어서, 안티센스 가닥이 서열번호 152, 160, 170, 171, 174, 175, 178, 180 및 181 중 어느 하나에 따른 핵염기 서열을 포함하는, RNAi 작용제.

청구항 3

제1항에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드 또는 안티센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드이거나 변형된 뉴클레오시드간 결합(internucleoside linkage)을 갖는, RNAi 작용제.

청구항 4

제1항에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드 및 안티센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드이거나 변형된 뉴클레오시드간 결합을 갖는, RNAi 작용제.

청구항 5

제1항에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드 및 안티센스 가닥의 적어도 하나의 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드이고 변형된 뉴클레오시드간 결합을 갖는, RNAi 작용제.

청구항 6

제1항에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 모든 뉴클레오티드 또는 실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드이거나 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 모든 뉴클레오티드 또는 실질적으로 모든 뉴클레오티드가 변형된 뉴클레오티드인, RNAi 작용제.

청구항 7

제1항에 있어서, 센스 가닥이 서열번호 211, 226, 229, 234, 235, 237, 238, 244, 245, 252-255 및 273 중 어느 하나에 따른 뉴클레오티드 서열을 포함하는, RNAi 작용제.

청구항 8

제1항에 있어서, 센스 가닥이 하기 중 어느 하나에 따른 구조(structure)를 포함하는, RNAi 작용제:

(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaauas(invAb) (서열번호 211);
(NAG25)suscgugguggAfCfUfucucucaauus(invAb) (서열번호 226);
(NAG25)sgsuggacuuCfUfCfucauuuuucus(invAb) (서열번호 229);
(NAG25)s(invAb)ugguggAfCfUfucucucaauaus(invAb) (서열번호 234);
(NAG25)s(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauaus(invAb) (서열번호 235);
(NAG25)scsgugguggAfCfUfucucucaauaus(invAb) (서열번호 237);
(NAG31)scsgugguggAfCfUfucucucaauas(invAb) (서열번호 238);
(NAG37)s(invAb)sgugguggAfCfUfucucucaauaus(invAb) (서열번호 244);

(NAG37)s(invAb)scgugguggAfCfUfucucucaauausu(invAb) (서열번호 245);
 (NAG37)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucauuuuucus(invAb) (서열번호 252);
 (NAG37)s(invAb)sgguggacuuCfUfCfucauuuuucus(invAb) (서열번호 253);
 (NAG37)s(invAb)sggacuuCfUfCfucaauuuucas(invAb) (서열번호 254);
 (NAG37)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuucas(invAb) (서열번호 255); 및
 (NAG25)s(invAb)sguggacuuCfUfCfucaauuuucus(invAb) (서열번호 273).

청구항 9

제1항에 있어서, 안티센스 가닥이 서열번호 79, 98, 108-112, 120, 125, 126, 128 및 130 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는, RNAi 작용제.

청구항 10

제1항에 있어서, 안티센스 가닥이 하기 중 어느 하나에 따른 구조(structure)를 포함하는, RNAi 작용제:
 vpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (서열번호 79);

usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa (서열번호 98);
 cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (서열번호 108);
 usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu (서열번호 109);
 usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg (서열번호 110);
 usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (서열번호 111);
 usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa (서열번호 112);
 usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu (서열번호 120);
 asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (서열번호 125);
 asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (서열번호 126);
 asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc (서열번호 128); 및
 usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (서열번호 130).

청구항 11

제1항에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 각각 길이가 17개 내지 30개 뉴클레오티드인, RNAi 작용제.

청구항 12

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 표적화 리간드에 접합된(conjugated), RNAi 작용제.

청구항 13

제12항에 있어서, 표적화 리간드가 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는, RNAi 작용제.

청구항 14

제13항에 있어서, 표적화 리간드가 (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), 또는 (NAG39)s인, RNAi 작용제.

청구항 15

제12항에 있어서, 표적화 리간드가 RNAi 작용제의 센스 가닥에 접합된, RNAi 작용제.

청구항 16

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 변형된 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, 상기 RNAi 작용제가 하기의 이중체(duplex) 구조를 갖는, RNAi 작용제:

AD04010 (서열번호 79 및 서열번호 211);

AD04438 (서열번호 98 및 서열번호 226);

AD04581 (서열번호 108 및 서열번호 211);

AD04583 (서열번호 109 및 서열번호 234);

AD04584 (서열번호 110 및 서열번호 234);

AD04585 (서열번호 111 및 서열번호 235);

AD04586 (서열번호 112 및 서열번호 235);

AD04588 (서열번호 110 및 서열번호 237);

AD04591 (서열번호 108 및 서열번호 238);

AD04771 (서열번호 120 및 서열번호 244);

AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252);

AD04873 (서열번호 127 및 서열번호 252);

AD04874 (서열번호 128 및 서열번호 253);

AD04875 (서열번호 129 및 서열번호 254);

AD04876 (서열번호 130 및 서열번호 255);

AD04962 (서열번호 111 및 서열번호 244); 또는

AD05164 (서열번호 126 및 서열번호 273).

청구항 17

제16항에 있어서, RNAi 작용제가 AD04585 (서열번호 111 및 서열번호 235)의 이중체 구조를 갖는, RNAi 작용제.

청구항 18

제16항에 있어서, RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 이중체 구조를 갖는, RNAi 작용제.

청구항 19

제16항에 있어서, RNAi 작용제가 AD04962 (서열번호 111 및 서열번호 244)의 이중체 구조를 갖는, RNAi 작용제.

청구항 20

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 있어서, 상기 RNAi 작용제가 염 형태인 것인, RNAi 작용제.

청구항 21

삭제

청구항 22

제20항에 있어서, 상기 염 형태가 나트륨 염 형태인 것인, RNAi 작용제.

청구항 23

하기 단계를 포함하는, 제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 RNAi 작용제를 제조하는 방법:

RNAi 작용제의 센스 가닥을 합성하는 단계;

RNAi 작용제의 안티센스 가닥을 합성하는 단계; 및

상기 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 어닐링하여 RNAi 작용제를 제조하는 단계.

청구항 24

제1항에 따른 제1 RNAi 작용제; 및 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 제2 RNAi 작용제를 포함하는 조합물 (combination).

청구항 25

제24항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 B형 간염 바이러스(HBV) 유전자의 S 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하고, 제2 RNAi 작용제가 HBV 유전자의 X 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하는, 조합물.

청구항 26

제1항에 따른 제1 RNAi 작용제 및 HBV 유전자의 X 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하는 제2 RNAi 작용제를 포함하는 조합물로서, 상기 제1 RNAi 작용제 또는 상기 제2 RNAi 작용제가 표적화 리간드에 접합된, 조합물

청구항 27

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 49-60, 275-281, 291-294, 303-305, 316, 317 및 322-334 중 어느 하나에 따른 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 조합물.

청구항 28

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 22-33, 149-151, 153, 154, 161-164, 172, 173 및 182-194 중 어느 하나에 따른 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 조합물.

청구항 29

제26항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 각각 표적화 리간드에 접합된, 조합물.

청구항 30

제26항에 있어서, 표적화 리간드가 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는, 조합물.

청구항 31

제30항에 있어서, 표적화 리간드가 (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), 또는 (NAG39)s인, 조합물.

청구항 32

제26항에 있어서, 표적화 리간드가 제1 RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 제2 RNAi 작용제의 센스 가닥에 접합된, 조합물.

청구항 33

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 195-203, 213-218, 230-233, 248-250, 256-272 및 274 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 조합물.

청구항 34

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 하기 중 어느 하나에 따른 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 조합물:

(NAG25)uusgscuguagGfCfAfuaauugguaus(invdT) (서열번호 195);
 (NAG25)uauausgscuguagGfCfAfuaauuggu(invDA) (서열번호 196);
 (NAG25)gcggagsgcuguagGfCfAfuaauuggTM(invDA) (서열번호 197);
 (NAG25)scsuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 198);
 (NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 199);
 (NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauuggus(invDA) (서열번호 200);
 (NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauugguAMs(invAb) (서열번호 201);
 (NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauuggTMAMs(invAb) (서열번호 202);
 (NAG25)sasacuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 203);
 (NAG31)sasccuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 213);
 (NAG31)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 214);
 (NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 215);
 (NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 216);
 (NAG25)s(invAb)sacuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 217);
 (NAG25)sgsgcuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 218);
 (NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 230);
 (NAG25)s(invAb)sgcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 231);
 (NAG25)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 232);
 (NAG25)s(invAb)saacuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 233);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 248);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 249);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 250);
 (NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 256);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 257);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 258);
 (NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 259);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 260);
 (NAG37)s(invAb)sagcuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 261);
 (NAG37)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 262);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguus(invAb) (서열번호 263);
 (NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 264);
 (NAG37)s(invAb)scuGfuAfgGfCfAfuaAfafuUfgGfuasuu(invAb) (서열번호 265);
 (NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 266);
 (NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 267);
 (NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 268);
 (NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 269);

(NAG37)s(invAb)scccuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 270);
 (NAG37)csgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 271);
 (NAG37)csccuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 272); 및
 (NAG25)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 274).

청구항 35

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용체가 서열번호 61-64, 66-71, 80-87, 101-107 및 131-148 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 조합물.

청구항 36

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용체가 하기 중 어느 하나에 따른 구조를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 조합물:

usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsusAu (서열번호 61);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (서열번호 62);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (서열번호 63);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열번호 64);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcusccgc (서열번호 66);
 vpusAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcusccgc (서열번호 67);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 68);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsc (서열번호 69);
 vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열번호 70);
 vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 71);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfs (서열번호 80);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgsusu (서열번호 81);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 82);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusu (서열번호 83);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc (서열번호 84);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcgs (서열번호 85);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusu (서열번호 86);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusc (서열번호 87);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 101);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 102);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu (서열번호 103);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu (서열번호 104);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu (서열번호 105);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusc (서열번호 106);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 107);
 asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열번호 131);

asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열번호 132);
 asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (서열번호 133);
 usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열번호 134);
 usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열번호 135);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 136);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열번호 137);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열번호 138);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (서열번호 139);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (서열번호 140);
 asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 141);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 142);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc (서열번호 143);
 asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열번호 144);
 usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열번호 145);
 asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열번호 146);
 usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열번호 147); 및
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg (서열번호 148).

청구항 37

제26항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 변형된 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, 상기 제2 RNAi 작용제가 하기의 이중체(duplex) 구조를 갖는, 조합물:

AD03498 (서열번호 61 및 서열번호 196);

AD03499 (서열번호 62 및 서열번호 195);

AD03500 (서열번호 63 및 서열번호 195);

AD03501 (서열번호 64 및 서열번호 195);

AD03738 (서열번호 66 및 서열번호 197);

AD03739 (서열번호 67 및 서열번호 197);

AD03967 (서열번호 64 및 서열번호 198);

AD03968 (서열번호 68 및 서열번호 198);

AD03969 (서열번호 64 및 서열번호 199);

AD03970 (서열번호 68 및 서열번호 203);

AD03971 (서열번호 69 및 서열번호 199);

AD03972 (서열번호 64 및 서열번호 200);

AD03973 (서열번호 64 및 서열번호 201);

AD03974 (서열번호 64 및 서열번호 202);

AD03975 (서열번호 70 및 서열번호 199);

AD03976 (서열번호 71 및 서열번호 203);

AD03977 (서열번호 70 및 서열번호 201);
AD03978 (서열번호 70 및 서열번호 195);
AD04176 (서열번호 80 및 서열번호 213);
AD04177 (서열번호 64 및 서열번호 214);
AD04178 (서열번호 68 및 서열번호 214);
AD04412 (서열번호 68 및 서열번호 215);
AD04413 (서열번호 68 및 서열번호 216);
AD04414 (서열번호 81 및 서열번호 215);
AD04415 (서열번호 68 및 서열번호 217);
AD04416 (서열번호 82 및 서열번호 218);
AD04417 (서열번호 83 및 서열번호 218);
AD04418 (서열번호 84 및 서열번호 218);
AD04419 (서열번호 85 및 서열번호 218);
AD04420 (서열번호 86 및 서열번호 218);
AD04421 (서열번호 87 및 서열번호 218);
AD04570 (서열번호 68 및 서열번호 230);
AD04571 (서열번호 101 및 서열번호 230);
AD04572 (서열번호 102 및 서열번호 230);
AD04573 (서열번호 103 및 서열번호 231);
AD04574 (서열번호 104 및 서열번호 231);
AD04575 (서열번호 105 및 서열번호 232);
AD04576 (서열번호 106 및 서열번호 232);
AD04577 (서열번호 68 및 서열번호 233);
AD04578 (서열번호 102 및 서열번호 232);
AD04579 (서열번호 71 및 서열번호 214);
AD04580 (서열번호 107 및 서열번호 214);
AD04776 (서열번호 102 및 서열번호 248);
AD04777 (서열번호 106 및 서열번호 249);
AD04778 (서열번호 106 및 서열번호 250);
AD04823 (서열번호 82 및 서열번호 248);
AD04881 (서열번호 131 및 서열번호 256);
AD04882 (서열번호 132 및 서열번호 257);
AD04883 (서열번호 133 및 서열번호 258);
AD04884 (서열번호 134 및 서열번호 259);
AD04885 (서열번호 135 및 서열번호 260);
AD04963 (서열번호 107 및 서열번호 216);

AD04981 (서열번호 136 및 서열번호 248);
 AD04982 (서열번호 137 및 서열번호 248);
 AD04983 (서열번호 138 및 서열번호 248);
 AD05069 (서열번호 139 및 서열번호 261);
 AD05070 (서열번호 140 및 서열번호 262);
 AD05071 (서열번호 141 및 서열번호 263);
 AD05072 (서열번호 68 및 서열번호 264);
 AD05073 (서열번호 142 및 서열번호 265);
 AD05074 (서열번호 143 및 서열번호 248);
 AD05075 (서열번호 144 및 서열번호 266);
 AD05076 (서열번호 145 및 서열번호 267);
 AD05077 (서열번호 146 및 서열번호 268);
 AD05078 (서열번호 147 및 서열번호 269);
 AD05147 (서열번호 148 및 서열번호 270);
 AD05148 (서열번호 140 및 서열번호 271);
 AD05149 (서열번호 148 및 서열번호 272); 또는
 AD05165 (서열번호 140 및 서열번호 274).

청구항 38

제26항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD05070 (서열번호 140 및 서열번호 262)의 구조를 가지는, 조합물.

청구항 39

제26항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04982 (서열번호 137 및 서열번호 248)의 구조를 가지는, 조합물.

청구항 40

제26항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04776 (서열번호 102 및 서열번호 248)의 구조를 가지는, 조합물.

청구항 41

제26항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04585 (서열번호 111 및 서열번호 235)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04580 (서열번호 107 및 서열번호 214)의 구조를 가지는, 조합물.

청구항 42

하기 단계를 포함하는 제24항 내지 제41항 중 어느 한 항의 조합물을 제조하는 방법:

제1 RNAi 작용제의 센스 가닥을 합성하는 단계;

제1 RNAi 작용제의 안티센스 가닥을 합성하는 단계;

상기 제1 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 어닐링하여 제1 RNAi 작용제를 제조하는 단계;

제2 RNAi 작용제의 센스 가닥을 합성하는 단계;

제2 RNAi 작용제의 안티센스 가닥을 합성하는 단계; 및

상기 제2 RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 어닐링하여 제2 RNAi 작용제를 제조하는 단계.

청구항 43

제42항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 염 형태인 것인, 방법.

청구항 44

제43항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 나트륨 염 형태인 것인, 방법.

청구항 45

제26항에 있어서, 조성물 내 제1 RNAi 작용제 대 제2 RNAi 작용제의 비가 1:1 내지 5:1인, 조합물.

청구항 46

제26항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함하는, 조합물.

청구항 47

제46항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제가 라미부딘(lamivudine), 테노포비어(tenofovir), 테노포비어 알라펜아미드(tenofovir alafenamide), 테노포비어 디소프록실(tenofovir disoproxil), 또는 엔테카비어(entecavir)를 포함하는, 조합물.

청구항 48

제46항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제가 인터페론을 포함하는, 조합물.

청구항 49

제46항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제가 소분자 약물, 항체, 항체 단편 및 백신으로 이루어지는 군으로부터 선택되는 하나 이상인 것인, 조합물.

청구항 50

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 RNAi 작용제; 또는 제24항 내지 제41항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항의 조합물을 포함하고, 약제학적으로 허용가능한 부형제를 추가로 포함하는,

HBV 감염을 가진 대상체,

HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체, 또는

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 51

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항의 RNAi 작용제; 또는 제24항 내지 제41항 및 제45항 내지 제48항 중 어느 한 항의 조합물을 포함하는,

HBV 감염을 가진 대상체,

HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체, 또는

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스(HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 52

제51항에 있어서, HBV 감염을 가진 대상체의 치료에 사용하기 위한 용도의, 약제학적 조성물.

청구항 53

제52항에 있어서, 상기 HBV 감염이 만성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 54

제52항에 있어서, 상기 HBV 감염이 급성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 55

제51항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 56

제55항에 있어서, 상기 HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간 염증인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 57

제55항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간세포 암종인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 58

제55항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 만성 간염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 59

제51항에 있어서,

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 60

제59항에 있어서, B형 간염 바이러스 및 D형 간염 바이러스로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 61

제51항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 1:1 내지 5:1의 비로 대상체에 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 62

제1항 내지 제17항 중 어느 한 항에 따른 제1 RNAi 작용제를 포함하는

HBV 감염을 가진 대상체,

HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체, 또는

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물로서,

상기 제1 RNAi 작용제가 제2 RNAi 작용제와 병용하여 상기 대상체에 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 63

제62항에 있어서, HBV 감염을 가진 대상체의 치료에 사용하기 위한 용도의, 약제학적 조성물.

청구항 64

제63항에 있어서, 상기 HBV 감염이 만성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 65

제63항에 있어서, 상기 HBV 감염이 급성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 66

제62항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체를 치료하기 위한 용도의, 약제학적 조성물.

청구항 67

제66항에 있어서, 상기 HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간 염증인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 68

제66항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간세포 암종인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 69

제66항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 만성 간염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 70

제62항에 있어서,

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 71

제70항에 있어서, B형 간염 바이러스 및 D형 간염 바이러스로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 72

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 1:1 내지 5:1의 비로 대상체에 투여되는, 약제학적 조성물.

청구항 73

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 B형 간염 바이러스(HBV) 유전자의 S 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하고, 제2 RNAi 작용제가 HBV 유전자의 X 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하는, 약제학적 조성물.

청구항 74

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 B형 간염 바이러스(HBV) 유전자의 S 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하고, 제2 RNAi 작용제가 HBV 유전자의 X 오픈 리딩 프레임(ORF)을 표적화하며, 상기 제1 RNAi 작용제 또는 상기 제2 RNAi 작용제가 표적화 리간드에 접합된, 약제학적 조성물.

청구항 75

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 49-60, 275-281, 291-294, 303-305, 316, 317 및 322-334 중 어느 하나에 따른 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 76

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 22-33, 149-151, 153, 154, 161-164, 172, 173 및 182-194 중 어느 하나에 따른 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 77

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 각각 표적화 리간드에 접합된, 약제학적 조성물.

청구항 78

제62항에 있어서, 표적화 리간드가 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 79

제78항에 있어서, 표적화 리간드가 (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), 또는 (NAG39)s인, 약제학적 조성물.

청구항 80

제62항에 있어서, 표적화 리간드가 제1 RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 제2 RNAi 작용제의 센스 가닥에 접합된, 약제학적 조성물.

청구항 81

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 서열번호 211, 226, 229, 234, 235, 237, 238, 244, 245, 252-255 및 273 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 82

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 195-203, 213-218, 230-233, 248-250, 256-272 및 274 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 83

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 하기 중 어느 하나에 따른 구조를 포함하는 센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물:

(NAG25)uusgscuguagGfCfAfuaauugguaus(invdT) (서열번호 195);
(NAG25)uauausgscuguagGfCfAfuaauuggu(invDA) (서열번호 196);
(NAG25)gcggagsgcuguagGfCfAfuaauuggTM(invDA) (서열번호 197);
(NAG25)scsuguagGfCfAfuaauugguaus(invAb) (서열번호 198);
(NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauuggua(invAb) (서열번호 199);
(NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauuggus(invDA) (서열번호 200);
(NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauugguAMs(invAb) (서열번호 201);
(NAG25)sgscuguagGfCfAfuaauuggTMAMs(invAb) (서열번호 202);
(NAG25)sasacuguagGfCfAfuaauuggua(invAb) (서열번호 203);
(NAG31)sasccuguagGfCfAfuaauuggua(invAb) (서열번호 213);

(NAG31)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 214);
 (NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 215);
 (NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 216);
 (NAG25)s(invAb)sacuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 217);
 (NAG25)sgsgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 218);
 (NAG25)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 230);
 (NAG25)s(invAb)sgcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 231);
 (NAG25)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 232);
 (NAG25)s(invAb)saacuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 233);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 248);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 249);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguagGfCfAfuaauugguausu(invAb) (서열번호 250);
 (NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 256);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 257);
 (NAG37)s(invAb)sgaggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 258);
 (NAG37)s(invAb)sgcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 259);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 260);
 (NAG37)s(invAb)sagcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 261);
 (NAG37)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 262);
 (NAG37)s(invAb)sggcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 263);
 (NAG37)s(invAb)scuguagGfCfAfuaauugguasu(invAb) (서열번호 264);
 (NAG37)s(invAb)scuGfuAfgGfCfAfuAfaAfuUfgGfuasuus(invAb) (서열번호 265);
 (NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 266);
 (NAG37)s(invAb)saggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 267);
 (NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggus(invAb) (서열번호 268);
 (NAG37)s(invAb)scggcuguaGfGfCfauaaauuggas(invAb) (서열번호 269);
 (NAG37)s(invAb)scccuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 270);
 (NAG37)csgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 271);
 (NAG37)cscuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 272); 및
 (NAG25)s(invAb)scgcuguagGfCfAfuaauugguas(invAb) (서열번호 274).

청구항 84

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 서열번호 61-64, 66-71, 80-87, 101-107 및 131-148 중 어느 하나에 따른 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 85

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 하기 중 어느 하나에 따른 구조를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는, 약제학적 조성물:

usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccusuAu (서열번호 61);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (서열번호 62);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (서열번호 63);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열번호 64);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcusccgc (서열번호 66);
 vpusAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfcusccgc (서열번호 67);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 68);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsc (서열번호 69);
 vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열번호 70);
 vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 71);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfs (서열번호 80);
 usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgsusu (서열번호 81);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 82);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusu (서열번호 83);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgccusc (서열번호 84);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcs (서열번호 85);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusu (서열번호 86);
 usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagccusc (서열번호 87);
 asGfsasAfaAfuugagAfgAfaGfuCfcAfsc (서열번호 100);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 101);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 102);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu (서열번호 103);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu (서열번호 104);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu (서열번호 105);
 usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusc (서열번호 106);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 107);
 asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열번호 131);
 asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열번호 132);
 asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcccusc (서열번호 133);
 usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열번호 134);
 usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열번호 135);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 136);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열번호 137);
 cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열번호 138);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (서열번호 139);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (서열번호 140);

asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열번호 141);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열번호 142);
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc (서열번호 143);
 asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열번호 144);
 usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열번호 145);
 asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열번호 146);
 usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열번호 147); 및
 usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg (서열번호 148).

청구항 86

제62항에 있어서, 제2 RNAi 작용제가 변형된 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, 상기 제2 RNAi 작용제가 하기의 이중체(duplex) 구조를 갖는, 약제학적 조성물:

AD03498 (서열번호 61 및 서열번호 196);
 AD03499 (서열번호 62 및 서열번호 195);
 AD03500 (서열번호 63 및 서열번호 195);
 AD03501 (서열번호 64 및 서열번호 195);
 AD03738 (서열번호 66 및 서열번호 197);
 AD03739 (서열번호 67 및 서열번호 197);
 AD03967 (서열번호 64 및 서열번호 198);
 AD03968 (서열번호 68 및 서열번호 198);
 AD03969 (서열번호 64 및 서열번호 199);
 AD03970 (서열번호 68 및 서열번호 203);
 AD03971 (서열번호 69 및 서열번호 199);
 AD03972 (서열번호 64 및 서열번호 200);
 AD03973 (서열번호 64 및 서열번호 201);
 AD03974 (서열번호 64 및 서열번호 202);
 AD03975 (서열번호 70 및 서열번호 199);
 AD03976 (서열번호 71 및 서열번호 203);
 AD03977 (서열번호 70 및 서열번호 201);
 AD03978 (서열번호 70 및 서열번호 195);
 AD04176 (서열번호 80 및 서열번호 213);
 AD04177 (서열번호 64 및 서열번호 214);
 AD04178 (서열번호 68 및 서열번호 214);
 AD04412 (서열번호 68 및 서열번호 215);
 AD04413 (서열번호 68 및 서열번호 216);
 AD04414 (서열번호 81 및 서열번호 215);
 AD04415 (서열번호 68 및 서열번호 217);

AD04416 (서열번호 82 및 서열번호 218);
AD04417 (서열번호 83 및 서열번호 218);
AD04418 (서열번호 84 및 서열번호 218);
AD04419 (서열번호 85 및 서열번호 218);
AD04420 (서열번호 86 및 서열번호 218);
AD04421 (서열번호 87 및 서열번호 218);
AD04570 (서열번호 68 및 서열번호 230);
AD04571 (서열번호 101 및 서열번호 230);
AD04572 (서열번호 102 및 서열번호 230);
AD04573 (서열번호 103 및 서열번호 231);
AD04574 (서열번호 104 및 서열번호 231);
AD04575 (서열번호 105 및 서열번호 232);
AD04576 (서열번호 106 및 서열번호 232);
AD04577 (서열번호 68 및 서열번호 233);
AD04578 (서열번호 102 및 서열번호 232);
AD04579 (서열번호 71 및 서열번호 214);
AD04580 (서열번호 107 및 서열번호 214);
AD04776 (서열번호 102 및 서열번호 248);
AD04777 (서열번호 106 및 서열번호 249);
AD04778 (서열번호 106 및 서열번호 250);
AD04823 (서열번호 82 및 서열번호 248);
AD04881 (서열번호 131 및 서열번호 256);
AD04882 (서열번호 132 및 서열번호 257);
AD04883 (서열번호 133 및 서열번호 258);
AD04884 (서열번호 134 및 서열번호 259);
AD04885 (서열번호 135 및 서열번호 260);
AD04963 (서열번호 107 및 서열번호 216);
AD04981 (서열번호 136 및 서열번호 248);
AD04982 (서열번호 137 및 서열번호 248);
AD04983 (서열번호 138 및 서열번호 248);
AD05069 (서열번호 139 및 서열번호 261);
AD05070 (서열번호 140 및 서열번호 262);
AD05071 (서열번호 141 및 서열번호 263);
AD05072 (서열번호 68 및 서열번호 264);
AD05073 (서열번호 142 및 서열번호 265);
AD05074 (서열번호 143 및 서열번호 248);

AD05075 (서열번호 144 및 서열번호 266);
AD05076 (서열번호 145 및 서열번호 267);
AD05077 (서열번호 146 및 서열번호 268);
AD05078 (서열번호 147 및 서열번호 269);
AD05147 (서열번호 148 및 서열번호 270);
AD05148 (서열번호 140 및 서열번호 271);
AD05149 (서열번호 148 및 서열번호 272); 또는
AD05165 (서열번호 140 및 서열번호 274).

청구항 87

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD05070 (서열번호 140 및 서열번호 262)의 구조를 가지는, 약제학적 조성물.

청구항 88

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04982 (서열번호 137 및 서열번호 248)의 구조를 가지는, 약제학적 조성물.

청구항 89

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04872 (서열번호 126 및 서열번호 252)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04776 (서열번호 102 및 서열번호 248)의 구조를 가지는, 약제학적 조성물.

청구항 90

제62항에 있어서, 제1 RNAi 작용제가 AD04585 (서열번호 111 및 서열번호 235)의 구조를 가지고, 제2 RNAi 작용제가 AD04580 (서열번호 107 및 서열번호 214)의 구조를 가지는, 약제학적 조성물.

청구항 91

제62항에 있어서, 조성물 내 제1 RNAi 작용제 대 제2 RNAi 작용제의 비가 1:1 내지 5:1인, 약제학적 조성물.

청구항 92

제62항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제를 추가로 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 93

제92항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제가 라미부딘(lamivudine), 테노포비어(tenofovir), 테노포비어 알라펜아미드(tenofovir alafenamide), 테노포비어 디소프록실(tenofovir disoproxil), 또는 엔테카비어(entecavir)를 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 94

제92항에 있어서, 하나 이상의 추가의 치료제가 인터페론을 포함하는, 약제학적 조성물.

청구항 95

제50항에 있어서, HBV 감염을 가진 대상체의 치료에 사용하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 96

제95항에 있어서, 상기 HBV 감염이 만성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 97

제95항에 있어서, 상기 HBV 감염이 급성 HBV 감염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 98

제50항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환을 가진 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 99

제98항에 있어서, 상기 HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간 염증인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 100

제98항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 간세포 암종인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 101

제98항에 있어서, HBV 감염에 의해 야기되는 만성 간 질병, 장애, 또는 질환이 만성 간염인 것인, 약제학적 조성물.

청구항 102

제50항에 있어서,

B형 간염 바이러스 및

D형 간염 바이러스 및 인간 면역결핍 바이러스 (HIV) 중 적어도 하나로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 103

제102항에 있어서, B형 간염 바이러스 및 D형 간염 바이러스로 감염된 대상체를 치료하기 위한 용도의 약제학적 조성물.

청구항 104

제50항에 있어서, 제1 RNAi 작용제 및 제2 RNAi 작용제가 1:1 내지 5:1의 비로 대상체에 투여되는, 약제학적 조성물.

발명의 설명

기술 분야

[0001]

관련 출원의 상호 참조

[0002]

본 출원은, 각각의 전체 내용이 본 명세서에 참고로 포함된, 2017년 8월 3일자로 출원된 미국 가출원 제62/540,639호, 2017년 7월 20일자로 출원된 미국 가출원 제62/534,733호, 및 2016년 8월 4일자로 출원된 미국 가출원 제62/370,754호로부터 우선권을 주장한다.

[0003]

기술분야

[0004]

B형 간염 바이러스 유전자 발현의 저해를 위한 RNA 간섭(RNAi) 작용제, HBV RNAi 작용제를 포함하는 조성물, 및 이들의 사용 방법이 본 명세서에 개시된다.

배경 기술

[0005]

B형 간염 바이러스(HBV)는 염격한 간친화성, 이중 가닥 DNA 함유 바이러스이다. DNA가 유전 물질이지만, 복제 주기는 게놈전(pregenomic) RNA를 DNA로 복사하기 위한 역전사 단계를 수반한다. B형 간염 바이러스는 헤파드나바이러스(Hepadnavirus)의 하나의 구성원으로 분류되고, 헤파드나비리대(Hepadnaviridae) 계열에 속한다. 성

인이 B형 간염 바이러스에 의해 일차 감염되면 기관 염증, 발열, 황달 및 혈중 간 트랜스아미나제 증가의 증상을 나타내는 급성 간염이 유발된다. 바이러스 감염을 극복할 수 없는 이들 환자는 수년에 걸쳐 만성 질병 진행을 겪게 되며, 경화 간(cirrhotic liver) 또는 간암의 발병 위험이 높아진다. 신생아에 대한 B형 간염 바이러스 감염된 모체로부터의 신생아로의 주산기 전파가 또한 만성 간염을 유발한다.

[0006] 뉴클레오캡시드(nucleocapsid)가 간세포에 의해 흡수되면, 이 뉴클레오캡시드는 핵으로 옮겨지고, DNA가 방출된다. 간세포에서, DNA 가닥 합성이 완료되고 캡이 복구되어, 3.2 kb의 공유 결합에 의해 닫힌 원형(covalently closed circular, ccc) 초나선 DNA를 제공한다. cccDNA는 3.5 kb, 3.5 kb, 2.4 kb, 2.1 kb 및 0.7 kb 길이인 5개의 주요 바이러스 mRNA의 전사를 위한 주형으로서의 역할을 한다. 모든 mRNA는 5'-캡핑되고 3'-단부에서 폴리아데닐화된다. 모든 5개의 mRNA 사이에는 3'-단부에서 서열 중첩이 존재한다.

[0007] 하나의 3.5 kb mRNA는 코어 단백질 및 중합효소 생성을 위한 주형으로서의 역할을 한다. 또한, 동일한 전사체는 게놈전 복제 중간체로서의 역할을 하고, 바이러스 중합효소가 DNA로의 역전사를 개시할 수 있게 한다. 코어 단백질은 뉴클레오캡시드 형성에 필요하다. 다른 하나의 3.5 kb mRNA는 분비가능한 e-항원(HBeAg)인 프리-코어(pre-core)를 인코딩한다. 복제 저해제의 부재 하에서, 혈중 e-항원의 존재비는 간에서의 B형 간염 바이러스 복제와 서로 관련되고, 질병 진행을 모니터링하기 위한 중요한 진단 마커로서의 역할을 한다.

[0008] 2.4 kb mRNA 및 2.1 kb mRNA는 큰, 중간 및 작은 바이러스 표면 항원의 발현을 위한 오픈 리딩 프레임(open reading frame, "ORF")인 pre-S1, pre-S2 및 S를 지닌다. s-항원은 감염성의 완전한 입자와 회합되어 있다. 또한, 감염된 환자의 혈액은 게놈 DNA 또는 중합효소가 없는, S-항원 단독으로부터 유래된 비감염성 입자도 함유한다. 이들 입자의 기능은 완전히 이해되어 있지 않다. 혈중 검출가능한 s-항원의 완전하고 지속적인 고갈은 B형 간염 바이러스 제거에 대한 신뢰할 만한 지표로 간주된다.

[0009] 0.7 kb mRNA는 X 단백질을 인코딩한다. 이 유전자 생성물은 바이러스 유전자의 효율적인 전사에 중요하고, 또한 숙주 유전자 발현에 있어서 트랜스액티베이터(transactivator)로서 작용한다. 트랜스액티베이터로서의 활성은 간암의 발병 동안 간세포 변환에 중요한 것으로 보인다.

[0010] 6 개월이 넘게 s-항원, e-항원, 및/또는 바이러스 DNA가 혈중에서 검출가능한 환자는 만성적으로 감염된 것으로 간주된다. 역전사효소 활성의 저해제로서의 뉴클레오시드 유사체는 전형적으로 많은 환자에 대한 첫 번째 치료 옵션이다. 라미부딘(lamivudine), 테노포비어(tenofovir), 및/또는 엔테카비어(entecavir)의 투여는 간염 바이러스 복제를 억제하며 때때로 검출가능하지 않은 수준까지 억제하는 것으로 밝혀졌고, 간 기능의 개선 및 간염증의 감소가 전형적으로 가장 중요한 이득으로 나타난다. 그러나, 소수의 환자만이 치료 종료 후에 완전하고 지속적인 관해를 달성한다. 더욱이, B형 간염 바이러스는 치료 기간이 증가함에 따라 약물 내성을 발달시킨다. 이는 B형 간염 및 인간 면역결핍 바이러스(HIV)로 공동 감염된 환자의 경우 특히 어렵다. 둘 모두의 바이러스는 뉴클레오시드 유사체 약물에 민감하고, 내성을 공동으로 발달시킬 수 있다.

[0011] 제2 치료 옵션은 인터페론-알파의 투여이다. 이 경우, 환자는 6 개월의 기간에 걸쳐 고용량의 인터페론-알파를 투여받는다. 아시안(Asian) 유전자형 B는 매우 불량한 반응 속도를 제공한다. D형 간염 바이러스(HDV) 또는 인간 면역결핍 바이러스에 의한 공동 감염은 인터페론-알파 치료법을 완전히 무력하게 만드는 것으로 밝혀졌다. 심한 간 손상 및 중증 섬유증 질환이 있는 환자는 인터페론-알파 치료법에 적격이지 않다.

[0012] 특정한 B형 간염 바이러스 특이적 RNA 간섭(RNAi) 작용제가 HBV 유전자의 발현을 저해하는 것으로 이미 밝혀졌다. 예를 들어, 전체 내용이 본 명세서에 참고로 포함된, 친(Chin) 등의 미국 특허 출원 공개 제2013/0005793호는 B형 간염 바이러스 유전자의 발현을 저해하기 위한 특정한 이중 가닥 리보핵산(dsRNA) 분자를 개시한다.

발명의 내용

[0013] B형 간염 바이러스(HBV) 유전자의 발현을 선택적으로 그리고 효율적으로 저해할 수 있는 신규한 B형 간염 바이러스(HBV) 특이적 RNA 간섭(RNAi) 작용제 (본 명세서에서 RNAi 작용제, RNAi 트리거(trigger), 또는 트리거로도 명명됨)에 대한 필요성이 존재한다. 또한, HBV 감염 치료 및 HBV와 관련된 질병의 예방을 위한 신규한 HBV 특이적 RNAi 작용제의 조합에 대한 필요성이 존재한다.

[0014] HBV 유전자의 발현을 선택적으로 그리고 효율적으로 감소시킬 수 있는 HBV 유전자 특이적 RNAi 작용제가 본 명세서에 기재된다. 기재된 HBV RNAi 작용제는, 만성 간 질병/장애, 염증, 섬유증 질환, 증식성 장애 (암, 예를 들어, 간세포 암종을 포함함), D형 간염 바이러스(HDV) 감염, 및 급성 HBV 감염을 포함하지만 이로 한정되지 않는 HBV 감염과 관련된 증상 및 질병의 치료적 처치 및/또는 예방을 위한 방법에 사용될 수 있다. 일부 실시 형

태에서, HBV RNAi 작용제는 만성 HBV 감염 및/또는 HDV 감염과 관련된 증상 및 질병의 치료적 처치 및/또는 예방을 위한 방법에 사용될 수 있다. 그러한 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 대상체, 예를 들어 인간 또는 동물 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0015] 추가로, HBV 유전자의 발현을 선택적으로 그리고 효율적으로 감소시킬 수 있는 개시된 HBV RNAi 작용제 중 하나 이상을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재된다. 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 조성물은, HBV 감염과 관련된 증상 및 질병의 치료 및/또는 예방을 위해 인간 또는 동물 대상체와 같은 대상체에게 투여될 수 있다.

[0016] 본 명세서에 개시된 각각의 HBV RNAi 작용제는 적어도 센스 가닥과 안티센스 가닥을 포함한다. 센스 가닥과 안티센스 가닥은 서로 부분적으로, 실질적으로, 또는 완전히 상보적일 수 있다. 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥의 길이는 각각 길이가 16개 내지 30개 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 17개 내지 26개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 19개 내지 26개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 21개 내지 26개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 21개 내지 24개 뉴클레오티드이다. 센스 및 안티센스 가닥은 동일한 길이 또는 상이한 길이일 수 있다. 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 HBV의 공지된 대다수의 혈청형에 걸쳐 보존되는 HBV 게놈의 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함하도록 설계되었다. 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제는, HBV를 발현하는 세포로의 전달시에 생체내에서 또는 시험관내에서 하나 이상의 HBV 유전자의 발현을 저해한다.

[0017] HBV RNAi 작용제는 제1 서열을 포함하는 센스 가닥 (패신저(passenger) 가닥으로도 지칭됨) 및 제2 서열을 포함하는 안티센스 가닥 (가이드(guide) 가닥으로도 지칭됨)을 포함한다. 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 HBV mRNA 내의 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드의 뉴클레오티드 서열에 대해 적어도 약 85% 동일성을 갖는 코어 스트레치(core stretch)를 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV mRNA 내의 서열에 대해 적어도 약 85% 동일성을 갖는 센스 가닥 코어 뉴클레오티드 스트레치는 길이가 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 또는 23개 뉴클레오티드이다. HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 HBV mRNA 내의 서열 및 상응하는 센스 가닥에 대해 적어도 16개의 연속 뉴클레오티드의 코어 스트레치에 걸쳐 적어도 약 85%의 상보성을 갖는 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV mRNA 내의 서열 또는 상응하는 센스 가닥에 대해 적어도 약 85%의 상보성을 갖는 안티센스 가닥 코어 뉴클레오티드 서열은 길이가 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 또는 23개 뉴클레오티드이다.

[0018] HBV RNAi 작용제에 사용될 수 있는 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥의 예는 표 3 및 4에 제공된다. HBV RNAi 작용제 이중체(duplex)의 예가 표 5에 제공되어 있다. 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥 및 안티센스 가닥으로 이루어지거나 이에 포함되는 19개 뉴클레오티드 코어 스트레치 서열의 예가 표 2에 제공되어 있다.

[0019] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 HBV RNAi 작용제는 당업계에 공지된 임의의 올리고뉴클레오티드 전달 기술을 이용하여 표적 세포 또는 조직에 전달된다. 핵산 전달 방법은 리포좀내 캡슐화에 의한 방법, 이온삼투요법(iontophoresis)에 의한 방법, 또는 다른 비히클, 예를 들어 하이드로겔, 사이클로텍스트린, 생분해성 나노캡슐, 및 생체접착성 미소구체, 단백질성 백터 또는 동적 폴리컨쥬게이트(Dynamic Polyconjugate, DPC) 내로의 혼입에 의한 방법을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다 (예를 들어, WO 2000/053722호, WO 2008/0022309호, WO 2011/104169호, 및 WO 2012/083185호 참조). 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 RNAi 작용제를 표적화 기에 공유 결합에 의해 연결시킴으로써 표적 세포 또는 조직에 전달된다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 아시알로글리코단백질 수용체(ASGPr) 리간드와 같은 세포 수용체 리간드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, ASGPr 리간드는 갈락토스 유도체 클러스터를 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 N-아세틸-갈락토사민 삼량체 또는 N-아세틸-갈락토사민 사량체를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 N-아세틸-갈락토사민 삼량체 또는 N-아세틸-갈락토사민 사량체이다.

[0020] 표적화 기는 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 센스 가닥의 3' 또는 5' 단부에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 링커를 통해 RNAi 작용제에 연결된다.

[0021] 표적화 기는, 링커와 함께 또는 링커 없이, 표 2, 표 3, 및 표 4에 개시된 센스 및/또는 안티센스 가닥 중 임의

의 가닥의 5' 또는 3' 단부에 연결될 수 있다. 링커는, 표적화 기와 함께 또는 표적화 기 없이, 표 2, 표 3, 및 표 4에 개시된 센스 및/또는 안티센스 가닥 중 임의의 가닥의 5' 또는 3' 단부에 부착될 수 있다.

[0022] 일부 실시 형태에서, 표 5에 개시된 이중체 서열을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재된다.

[0023] 일부 실시 형태에서, 상이한 뉴클레오티드 서열을 갖는 적어도 2개의 HBV RNAi 작용제의 조합 또는 칵테일 (cocktail)을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재된다. 일부 실시 형태에서, 2개 이상의 상이한 HBV RNAi 작용제는 각각 개별적으로 그리고 독립적으로 표적화 기에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 2개 이상의 상이한 HBV RNAi 작용제는 각각 N-아세틸-갈락토사민으로 구성된 표적화 기에 연결된다. 일부 실시 형태에 있어서, 2개 이상의 RNAi 작용제가 조성물에 포함되는 경우, 각각의 RNAi 작용제는 동일한 표적화 기에 연결된다. 일부 실시 형태에 있어서, 2개 이상의 RNAi 작용제가 조성물에 포함되는 경우, 각각의 RNAi 작용제는 상이한 화학적 구조를 갖는 표적화 기와 같은 상이한 표적화 기에 연결된다.

[0024] 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 추가의 링커의 사용 없이 HBV RNAi 작용제에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 HBV RNAi 작용제로의 결합을 용이하게 하기 위해 쉽게 존재하는 링커를 갖도록 설계된다. 일부 실시 형태에 있어서, 2개 이상의 RNAi 작용제가 조성물에 포함되는 경우, 2개 이상의 RNAi 작용제는 동일한 링커를 사용하여 표적화 기에 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, 2개 이상의 RNAi 작용제가 조성물에 포함되는 경우, 2개 이상의 RNAi 작용제는 상이한 링커를 사용하여 표적화 기에 연결된다.

[0025] 일부 실시 형태에서, 상이한 서열을 갖는 적어도 2개의 HBV RNAi 작용제의 조합을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재되며, 각각의 HBV RNAi 작용제는 HBV 유전자의 상이한 위치 또는 상이한 영역을 표적화한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 2개의 HBV RNAi 작용제의 조합을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재되며, 각각의 HBV RNAi 작용제는 상이한 HBV 전사체를 표적화하도록 설계된다 (예를 들어, 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 조성물로서, 제1 HBV RNAi 작용제는 HBV 유전자의 S ORF에 위치하는 뉴클레오티드 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는 한편, 제2 HBV RNAi 작용제는 HBV 유전자의 X ORF에 위치하는 뉴클레오티드 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는, 조성물). 본 명세서에 사용되는 바와 같이, S ORF에 위치한 뉴클레오티드 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제는 위치 1-1307 및 3185-3221 사이의 서열 번호 1의 HBV 계놈의 일부를 표적화한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, X ORF에 위치한 뉴클레오티드 서열에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제는 위치 1308-1930 사이의 서열 번호 1의 HBV 계놈의 일부를 표적화한다.

[0026] HBV mRNA는 폴리시스트론(polycistronic)인 것으로 알려져 있고, 이는 다수의 폴리펩ти드의 번역, 및 별개의 mRNA들의 RNA 서열 중첩을 가져오며, 이에 따라 HBV 유전자를 표적화하는 단일 RNAi 작용제는 대부분의 또는 모든 HBV 전사체의 저해를 가져올 수 있다. 그러나, 임의의 이론에 구속시키고자 하는 것이 아니지만, HBV 유전자의 상이한 위치 또는 영역을 표적화하는 2개 이상의 HBV RNAi 작용제 (특히, 하나의 HBV RNAi 작용제는 S ORF를 표적화하고 제2 HBV RNAi 작용제는 X ORF를 표적화하는 2개 이상의 HBV RNAi 작용제)를 포함하는 조성물은, 단일 HBV RNAi 작용제만을 포함하는 조성물에 비하여 (a) 모든 HBV 바이러스 전사체 (즉, 3.5 kb의 계놈전 RNA; 3.5 kb의 코어전(pre-core) mRNA; 2.4 kb의 pre-S1 mRNA; 2.1 kb의 pr e-S2/S mRNA; 0.7 kb의 X mRNA; 이들뿐만 아니라 통합된 HBV DNA로부터 생성된 임의의 S-항원 발현 mRNA)가 표적화됨을 보장하는 것; (b) 유전자형 적용범위를 확장시켜 더 큰 환자 집단을 잡채적으로 다루는 역할을 하는 것; 및/또는 (c) siRNA 결합 부위에서의 돌연변이로 인한 바이러스 내성을 잠재적으로 감소시키는 것과 같은 추가의 이점을 제공할 수 있다는 가설이 세워진다.

[0027] 일부 실시 형태에서, HBV RNA의 S ORF를 표적화하는 (즉, HBV 계놈의 S 전사체(S, pre-S1, 및 pre-S2), 계놈전 RNA (코어 및 중합효소), 및 코어전 전사체 (HBeAg)를 표적화하는 안티센스 가닥을 갖는) 하나의 HBV RNAi 작용제와, HBV RNA의 X ORF를 표적화하는 (즉, HBV 계놈의 X 전사체, HBV 계놈의 S 전사체 (S, pre-S1, 및 pre-S2), 계놈전 RNA (코어 및 중합효소), 및 코어전 전사체 (HBeAg)를 표적화하는 안티센스 가닥을 갖는) 하나의 HBV RNAi 작용제의 조합을 포함하는 조성물이 본 명세서에 기재되어 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 조성물은 HBV 유전자의 S ORF를 표적화하는 서열을 함유하는 적어도 하나의 HBV RNAi 작용제, 및 HBV 유전자의 X ORF를 표적화하는 서열을 함유하는 제2 HBV RNAi 작용제를 포함한다.

[0028] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.

- [0029] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0030] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0031] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열로 이루어진 안티센스 가닥, 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 4의 서열 중 임의의 서열로 이루어진 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0032] 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 5의 이중체 구조를 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0033] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 안티센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0034] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0035] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하는 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0036] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 3의 서열 중 임의의 서열로 이루어진 안티센스 가닥, 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 4의 서열 중 임의의 서열로 이루어진 센스 가닥을 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0037] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 표 5의 이중체 구조를 갖는 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0038] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 (i) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥을 갖는 HBV RNAi 작용제, 및 (ii) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제2 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0039] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기된 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 (i) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥을 갖는 HBV RNAi 작용제, 및 (ii) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제2 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0040] HBV 유전자의 발현을 저해하는 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 (i) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 2 또는 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제1 HBV RNAi 작용제, 및 (ii) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 2 또는 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제2 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.
- [0041] HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기된 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시되고, 이 방법은 (i) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 2 또는 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제1 HBV RNAi 작용제, 및 (ii) 표 2 또는 표 3의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 2 또는 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 안티센스 가닥 및 이 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 표 2 또는 표 4의 서열 중 임의의 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 가닥을 갖는 제2 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다.

- [0042] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함한다:
- [0043] a. 서열 (5'→3') AUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 7)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAU (서열 번호 34)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0044] b. 서열 (5'→3') UUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 8)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUAAA (서열 번호 35)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0045] c. 서열 (5'→3') AAUUGAGAGAAGUCCACCA (서열 번호 12)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') UGGUGGACUUCUCUAAU (서열 번호 39)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0046] d. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCA (서열 번호 13)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') UGGUGGACUUCUCUAAUA (서열 번호 40)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0047] e. 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (서열 번호 17)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 44)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0048] f. 서열 (5'→3') UGAAAAUUGAGAGAAGUCC (서열 번호 18)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGACUUCUCUCAUUUUCUA (서열 번호 45)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0049] g. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGC (서열 번호 22)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 49)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0050] h. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGC (서열 번호 23)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUGGA (서열 번호 50)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0051] i. 서열 (5'→3') GACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 27)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUC (서열 번호 54)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0052] j. 서열 (5'→3') AACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 28)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUU (서열 번호 55)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0053] k. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 29)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 56)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥.
- [0054] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 HBV RNAi 작용제를 포함한다.
- [0055] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개

이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:

- [0056] i) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AAUUGAGAGAAGGUCCACCA (서열 번호 12)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UGGUGGACUUCUCUCAAUU (서열 번호 39)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0057] ii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UAUUGAGAGAAGGUCCACCA (서열 번호 13)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UGGUGGACUUCUCUCAAUA (서열 번호 40)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥;
- [0058] 제2 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함한다:
- [0059] i) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 27)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUC (서열 번호 54)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0060] ii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AACCAAUUUAUGCCUACAG (서열 번호 28)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUU (서열 번호 55)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0061] iii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAAUUUAUGCCUACAG (서열 번호 29)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 56)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥.
- [0062] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0063] i) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (서열 번호 17)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 44)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0064] ii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UGAAAAUUGAGAGAAGUCC (서열 번호 18)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 45)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥;
- [0065] 제2 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함한다:
- [0066] i) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 27)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUC (서열 번호 54)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0067] ii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AACCAAUUUAUGCCUACAG (서열 번호 28)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUU (서열 번호 55)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0068] iii) 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAAUUUAUGCCUACAG (서열 번호 29)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 56)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥.
- [0069] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:

- [0070] i) 서열 (5'→3') AAUUGAGAGAAGGUCCACCA (서열 번호 12)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUU (서열 번호 39)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0071] ii) 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACCA (서열 번호 13)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') UGGUGGACUUCUCUCAAUA (서열 번호 40)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥;
- [0072] 제2 HBV RNAi 작용제는 HBV mRNA의 X ORF의 일부에 적어도 부분적으로 상보적인 서열을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0073] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0074] i) 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCC (서열 번호 17)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 44)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0075] ii) 서열 (5'→3') UGAAAUAUGAGAGAAGUCC (서열 번호 18)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 45)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥;
- [0076] 제2 HBV RNAi 작용제는 HBV mRNA의 X ORF의 일부에 적어도 부분적으로 상보적인 서열을 갖는 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0077] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 HBV mRNA의 S ORF의 일부에 적어도 부분적으로 상보적인 서열을 갖는 안티센스 가닥을 포함하고, 제2 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함한다:
- [0078] i) 서열 (5'→3') GACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 27)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAUUGGUC (서열 번호 54)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0079] ii) 서열 (5'→3') AACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 28)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAUUGGUU (서열 번호 55)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0080] iii) 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAG (서열 번호 29)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAUUGGUA (서열 번호 56)과 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥.
- [0081] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0082] a. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGCCUUAU (서열 번호 149)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0083] b. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGCCU (서열 번호 150)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0084] c. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGC (서열 번호 151)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0085] d. 서열 (5'→3') UGAAAUAUGAGAGAAGGUCCU (서열 번호 152)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염

기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는

- [0086] e. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0087] f. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACCACG (서열 번호 160)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0088] g. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0089] h. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCCUU (서열 번호 163)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0090] i. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACCACGA (서열 번호 170)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0091] j. 서열 (5'→3') AGAAAUAUGAGAGAAGGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0092] k. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 172)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0093] l. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 173)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0094] m. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACCAUU (서열 번호 174)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0095] n. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACCACUU (서열 번호 175)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0096] o. 서열 (5'→3') AGAAAUAUGAGAGAAGGUCCUU (서열 번호 178)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0097] p. 서열 (5'→3') AGAAAUAUGAGAGAAGGUCCACUU (서열 번호 179)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0098] q. 서열 (5'→3') AGAAAUAUGAGAGAAGGUCCACC (서열 번호 180)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0099] r. 서열 (5'→3') UGAAAUAUGAGAGAAGGUCCAC (서열 번호 181)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0100] s. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 182)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0101] t. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (서열 번호 183)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0102] u. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC (서열 번호 184)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0103] v. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 185)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는

- [0104] w. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 186)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0105] x. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCU (서열 번호 187)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0106] y. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0107] z. 서열 (5'→3') AACCAAUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 189)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0108] aa. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 190)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0109] bb. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 191)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0110] cc. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCG (서열 번호 192)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0111] dd. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCG (서열 번호 193)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0112] ee. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGG (서열 번호 194)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥;
- [0113] 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0114] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0115] a. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGCCUUAU (서열 번호 149)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0116] b. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGCCU (서열 번호 150)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0117] c. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGC (서열 번호 151)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0118] d. 서열 (5'→3') UGAAAUGAGAGAAGGUCCUU (서열 번호 152)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0119] e. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0120] f. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACACG (서열 번호 160)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0121] g. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0122] h. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGCCUU (서열 번호 163)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0123] i. 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGGUCCACACGA (서열 번호 170)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한

핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는

- [0124] j. 서열 (5' → 3') AGAAAUAUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0125] k. 서열 (5' → 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 172)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0126] l. 서열 (5' → 3') UACCAAUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 173)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0127] m. 서열 (5' → 3') UAUUGAGAGAAGUCCACCAUU (서열 번호 174)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0128] n. 서열 (5' → 3') UAUUGAGAGAAGUCCACCAUU (서열 번호 175)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0129] o. 서열 (5' → 3') AGAAAUAUGAGAGAAGUCCUU (서열 번호 178)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0130] p. 서열 (5' → 3') AGAAAUAUGAGAGAAGUCCACUU (서열 번호 179)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0131] q. 서열 (5' → 3') AGAAAUAUGAGAGAAGUCCACC (서열 번호 180)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0132] r. 서열 (5' → 3') UGAAAUAUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 181)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0133] s. 서열 (5' → 3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 182)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0134] t. 서열 (5' → 3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 183)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0135] u. 서열 (5' → 3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCUC (서열 번호 184)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0136] v. 서열 (5' → 3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCUU (서열 번호 185)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0137] w. 서열 (5' → 3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCUU (서열 번호 186)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0138] x. 서열 (5' → 3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCU (서열 번호 187)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0139] y. 서열 (5' → 3') UACCAAUUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0140] z. 서열 (5' → 3') AACCAAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 189)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0141] aa. 서열 (5' → 3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 190)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는

- [0142] bb. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCU (서열 번호 191)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0143] cc. 서열 (5'→3') ACCAAUUUAUGCCUACAGCCG (서열 번호 192)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0144] dd. 서열 (5'→3') UCCAAUUUAUGCCUACAGCCG (서열 번호 193)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0145] ee. 서열 (5'→3') UACCAAUUAUGCCUACAGGG (서열 번호 194)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열로 이루어진 안티센스 가닥;
- [0146] 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0147] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0148] i. 서열 (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccusuAu (서열 번호 61)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0149] ii. 서열 (5'→3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (서열 번호 62)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0150] iii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (서열 번호 63)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0151] iv. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열 번호 64)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0152] v. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 68)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0153] vi. 서열 (5'→3') usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcsc (서열 번호 85)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0154] vii. 서열 (5'→3') usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacsg (서열 번호 94)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0155] viii. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa (서열 번호 98)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0156] ix. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 102)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0157] x. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu (서열 번호 103)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0158] xi. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccsu (서열 번호 104)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0159] xii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgccusu (서열 번호 105)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0160] xiii. 서열 (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 107)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0161] xiv. 서열 (5'→3') cPrpusAfsusUfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (서열 번호 108)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의

뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는

- [0162] xv. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu (서열 번호 109)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0163] xvi. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg (서열 번호 110)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0164] xvii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (서열 번호 111)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0165] xviii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa (서열 번호 112)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0166] xix. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu (서열 번호 120)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0167] xx. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcusu (서열 번호 125)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥;
- [0168]xxi. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcasc (서열 번호 126)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0169]xxii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcacusu (서열 번호 127)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0170]xxiii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcacsc (서열 번호 128)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0171]xxiv. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcusu (서열 번호 129)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0172]xxv. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usGfsasAfaAfuUfgAfgAfaGfuCfcasc (서열 번호 130)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0173]xxvi. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열 번호 131)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0174]xxvii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열 번호 132)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0175]xxviii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (서열 번호 133)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0176]xxix. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열 번호 134)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0177]xxx. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열 번호 135)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0178]xxxi. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 136)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0179]xxxii. 서열 ($5' \rightarrow 3'$) usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열 번호 137)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는

- [0180] xxxiii. 서열 (5' \rightarrow 3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열 번호 138)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0181] xxxiv. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (서열 번호 139)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0182] xxxv. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (서열 번호 140)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0183] xxxvi. 서열 (5' \rightarrow 3') asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 141)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0184] xxxvii. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 142)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0185] xxxviii. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc (서열 번호 143)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0186] xxxix. 서열 (5' \rightarrow 3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열 번호 144)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0187] xl. 서열 (5' \rightarrow 3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열 번호 145)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0188] xli. 서열 (5' \rightarrow 3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열 번호 146)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0189] xlii. 서열 (5' \rightarrow 3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열 번호 147)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0190] xlii. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgggsg (서열 번호 148)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 서열을 포함하는 안티센스 가닥;
- [0191] 여기서, a, g, c 및 u는 2'-0-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오티드이고; Af, Cf, Gf, 및 Uf는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드이고; s는 포스포로티오에이트 뉴클레오사이드간 결합이고, 나머지 뉴클레오티드 단량체는 포스포디에스테르 결합에 의해 연결되고; cPrpu는 5'-사이클로프로필 포스포네이트-2'-0-메틸 변형된 뉴클레오티드이며; 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0192] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0193] i. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsusAu (서열 번호 61)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0194] ii. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfcscsu (서열 번호 62)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0195] iii. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfccsu (서열 번호 63)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0196] iv. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgGfsc (서열 번호 64)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0197] v. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 68)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0198] vi. 서열 (5' \rightarrow 3') usAfscscaauUfuAfuGfcCfuacagcsc (서열 번호 85)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는

- [0199] vii. 서열 (5'→3') usAfsusugagAfgAfaGfuCfcaccacsg (서열 번호 94)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0200] viii. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfgsa (서열 번호 98)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0201] ix. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuauGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 102)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0202] x. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuauGfcCfuAfcAfgcusu (서열 번호 103)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0203] xi. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuauGfcCfuAfcAfgccsu (서열 번호 104)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0204] xii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuuauGfcCfuAfcAfgccusu (서열 번호 105)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0205] xiii. 서열 (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 107)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0206] xiv. 서열 (5'→3') cPrpusAfsusUfgAfgAfgAfaGfuCfcAfcCfaCfsg (서열 번호 108)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0207] xv. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfausu (서열 번호 109)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0208] xvi. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsg (서열 번호 110)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0209] xvii. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsusu (서열 번호 111)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0210] xviii. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacsgsa (서열 번호 112)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0211] xix. 서열 (5'→3') usAfsusUfgAfgagaaGfuCfcAfcCfacusu (서열 번호 120)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0212] xx. 서열 (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (서열 번호 125)로 이루어진 안티센스 가닥;
- [0213]xxi. 서열 (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (서열 번호 126)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0214] xxii. 서열 (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacusu (서열 번호 127)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0215] xxiii. 서열 (5'→3') asGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcacsc (서열 번호 128)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0216] xxiv. 서열 (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcusu (서열 번호 129)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0217] xxv. 서열 (5'→3') usGfsasAfaAfuUfgAfgAfgAfaGfuCfcasc (서열 번호 130)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0218] xxvi. 서열 (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열 번호 131)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0219] xxvii. 서열 (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열 번호 132)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0220] xxviii. 서열 (5'→3') asCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusc (서열 번호 133)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0221] xxix. 서열 (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcusu (서열 번호 134)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0222] xxx. 서열 (5'→3') usCfscsAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccusu (서열 번호 135)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는

- [0223] xxxi. 서열 (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 136)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0224] xxxii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열 번호 137)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0225] xxxiii. 서열 (5'→3') cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgscsc (서열 번호 138)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0226] xxxiv. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsu (서열 번호 139)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0227] xxxv. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsg (서열 번호 140)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0228] xxxvi. 서열 (5'→3') asAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc (서열 번호 141)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0229] xxxvii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgusu (서열 번호 142)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0230] xxxviii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgCfsc (서열 번호 143)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0231] xxxix. 서열 (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열 번호 144)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0232] xl. 서열 (5'→3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfcCfsu (서열 번호 145)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0233] xli. 서열 (5'→3') asCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열 번호 146)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0234] xlii. 서열 (5'→3') usCfscAfaUfuUfaUfgCfcUfaCfaGfccsg (서열 번호 147)로 이루어진 안티센스 가닥; 또는
- [0235] xlii. 서열 (5'→3') usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsg (서열 번호 148)로 이루어진 안티센스 가닥;
- [0236] 여기서, a, g, c 및 u는 2'-0-메틸(2'-OMe) 변형된 뉴클레오티드이고; Af, Cf, Gf, 및 Uf는 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드이고; s는 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합이고, 나머지 뉴클레오티드 단량체는 포스포디에스테르 결합에 의해 연결되고; cPrpu는 5'-사이클로프로필 포스포네이트-2'-0-메틸 변형된 뉴클레오티드이며; 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0237] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0238] a. 서열 (5'→3') UUGCCUGUAGGCAUAAAUGGUAUT (서열 번호 275)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0239] b. 서열 (5'→3') UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 276)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0240] c. 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUUU (서열 번호 278)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0241] d. 서열 (5'→3') CGUGGUGGACUUUCUCUCAAU (서열 번호 285)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0242] e. 서열 (5'→3') CGUGGUGGACUUUCUCUCAAUA (서열 번호 289)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0243] f. 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 292)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵

염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는

- [0244] g. 서열 (5' → 3') GGCUGUAGGCAUAUUUGGU (서열 번호 294)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0245] h. 서열 (5' → 3') UCGUGGUGGACUUCUCUCAAUU (서열 번호 300)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0246] i. 서열 (5' → 3') GUGGACUUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0247] j. 서열 (5' → 3') GCUGUAGGCAUAUUUGGUAUU (서열 번호 303)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0248] k. 서열 (5' → 3') GGCUGUAGGCAUAUUUGGUAUU (서열 번호 304)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0249] l. 서열 (5' → 3') UGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 306)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0250] m. 서열 (5' → 3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0251] n. 서열 (5' → 3') AAUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 308)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0252] o. 서열 (5' → 3') GGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 318)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0253] p. 서열 (5' → 3') GGUGGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 319)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0254] q. 서열 (5' → 3') GGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 320)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0255] r. 서열 (5' → 3') GUGGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 321)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0256] s. 서열 (5' → 3') GCUGUAGGCAUAUUUGGU (서열 번호 322)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0257] t. 서열 (5' → 3') GGCUGUAGGCAUAUUUGGU (서열 번호 323)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0258] u. 서열 (5' → 3') GAGGCCUGUAGGCAUAUUUGGU (서열 번호 324)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0259] v. 서열 (5' → 3') GCUGUAGGCAUAUUUGGA (서열 번호 325)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0260] w. 서열 (5' → 3') GGCUGUAGGCAUAUUUGGA (서열 번호 326)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0261] x. 서열 (5' → 3') AGCUGUAGGCAUAUUUGUA (서열 번호 327)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는

- [0262] y. 서열 (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 328)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0263] z. 서열 (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 329)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0264] aa. 서열 (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 330)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0265] bb. 서열 (5'→3') AGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 331)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0266] cc. 서열 (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 332)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0267] dd. 서열 (5'→3') CGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 333)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥; 또는
- [0268] ee. 서열 (5'→3') CCCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 334)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥;
- [0269] 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0270] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 다음을 포함하고:
- [0271] a. 핵염기 서열 (5'→3') UUGCCUGUAGGCAUAAAUGGUAUT (서열 번호 275)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0272] b. 핵염기 서열 (5'→3') UAUAUGCCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 276)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0273] c. 핵염기 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGUAUU (서열 번호 278)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0274] d. 핵염기 서열 (5'→3') CGUGGUGGGACUUUCUCUCAAU (서열 번호 285)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0275] e. 핵염기 서열 (5'→3') CGUGGUGGGACUUUCUCUCAAUA (서열 번호 289)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0276] f. 핵염기 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 292)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0277] g. 핵염기 서열 (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 294)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0278] h. 핵염기 서열 (5'→3') UCGUGGUGGGACUUUCUCUCAAU (서열 번호 300)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0279] i. 핵염기 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 302)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0280] j. 핵염기 서열 (5'→3') GCUGUAGGCAUAAAUGGUAUU (서열 번호 303)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0281] k. 핵염기 서열 (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUGGUAUU (서열 번호 304)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0282] l. 핵염기 서열 (5'→3') UGGUGGGACUUUCUCUCAAU (서열 번호 306)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0283] m. 핵염기 서열 (5'→3') GUGGUGGGACUUUCUCUCAAUAU (서열 번호 307)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0284] n. 핵염기 서열 (5'→3') AAUGGUGGGACUUUCUCUCAAUAU (서열 번호 308)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0285] o. 핵염기 서열 (5'→3') GGACUUCUCUCAAUUUCU (서열 번호 318)로 이루어진 센스 가닥; 또는

- [0286] p. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (서열 번호 319)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0287] q. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 320)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0288] r. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAAUUUCA (서열 번호 321)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0289] s. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 322)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0290] t. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 323)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0291] u. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GAGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 324)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0292] v. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GCUGUAGGCAUAAAUGGA (서열 번호 325)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0293] w. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGCUGUAGGCAUAAAUGGA (서열 번호 326)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0294] x. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGCUGUAGGCAUAAAUGUA (서열 번호 327)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0295] y. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CGCUGUAGGCAUAAAUGUA (서열 번호 328)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0296] z. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGCUGUAGGCAUAAAUGGUU (서열 번호 329)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0297] aa. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 330)를 포함하는 안티센스 가닥; 또는
- [0298] bb. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGGCUGUAGGCAUAAAUGGA (서열 번호 331)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0299] cc. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CGGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 332)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0300] dd. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CGGCUGUAGGCAUAAAUGGA (서열 번호 333)로 이루어진 센스 가닥; 또는
- [0301] ee. 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CCCUGUAGGCAUAAAUGUA (서열 번호 334)로 이루어진 센스 가닥;
- [0302] 이 HBV RNAi 작용제는 상기 각각의 안티센스 가닥에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0303] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (서열 번호 175)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 292)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.
- [0304] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UAUUGAGAGAAGUCCACCACUU (서열 번호 175)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGUGGACUUCUCUCAAUUU (서열 번호 307)로 이루어진 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAAUUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 292)로 이루어진 센스 가닥을 포함한다.
- [0305] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호

171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CGCUGUAGGCAUAAUUGGU (서열 번호 328)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0306] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)로 이루어진 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) CGCUGUAGGCAUAAUUGGU (서열 번호 328)로 이루어진 센스 가닥을 포함한다.

[0307] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGCUGUAGGCAUAAUUGGU (서열 번호 294)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0308] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)로 이루어진 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GGCUGUAGGCAUAAUUGGU (서열 번호 294)로 이루어진 센스 가닥을 포함한다.

[0309] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0310] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)로 이루어진 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)로 이루어진 안티센스 가닥, 및 핵염기 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)로 이루어진 센스 가닥을 포함한다.

[0311] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용제 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UAUUGAGAGAAGUCCACCUU (서열 번호 175)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$) GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 ($5' \rightarrow 3'$) UACCAUUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 ($5' \rightarrow 3'$)

CUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 292)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0312] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용체를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용체 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 328)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0313] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용체를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용체 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 294)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0314] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용체를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용체 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0315] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용체를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용체 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') UAUUGAGAGAAGUCCACCUU (서열 번호 175)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGUU (서열 번호 154)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CUGUAGGCAUAAAUGGU (서열 번호 292)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용체와 제2 HBV RNAi 작용체의 센스 가닥은 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는 표적화 리간드에 접합된다.

[0316] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용체를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용체 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용체는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는

센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCG (서열 번호 188)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') CGCUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 328)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제와 제2 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는 표적화 리간드에 접합된다.

[0317] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용제 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GGCUGUAGGCAUAAAUGGUA (서열 번호 294)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제와 제2 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는 표적화 리간드에 접합된다.

[0318] 일부 실시 형태에서, 세포에서 HBV 유전자의 발현을 저해하는 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 2개의 HBV RNAi 작용제를 포함하며, 센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형되고/되거나 제1 및/또는 제2 HBV RNAi 작용제 내의 안티센스 가닥의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이고, 제1 HBV RNAi 작용제는 서열 (5'→3') AGAAAAUUGAGAGAAGUCCAC (서열 번호 171)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGACUUCUCUCAUUUUCU (서열 번호 302)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하고; 제2 HBV RNAi 작용제는 서열 (5'→3') UACCAUUUAUGCCUACAGCC (서열 번호 162)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 서열 (5'→3') GUGGUGGACUUCUCUCAAUAUU (서열 번호 307)와 0개, 1개, 2개 또는 3개의 핵염기가 상이한 핵염기 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함하며, 제1 HBV RNAi 작용제와 제2 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 N-아세틸-갈락토사민을 포함하는 표적화 리간드에 접합된다.

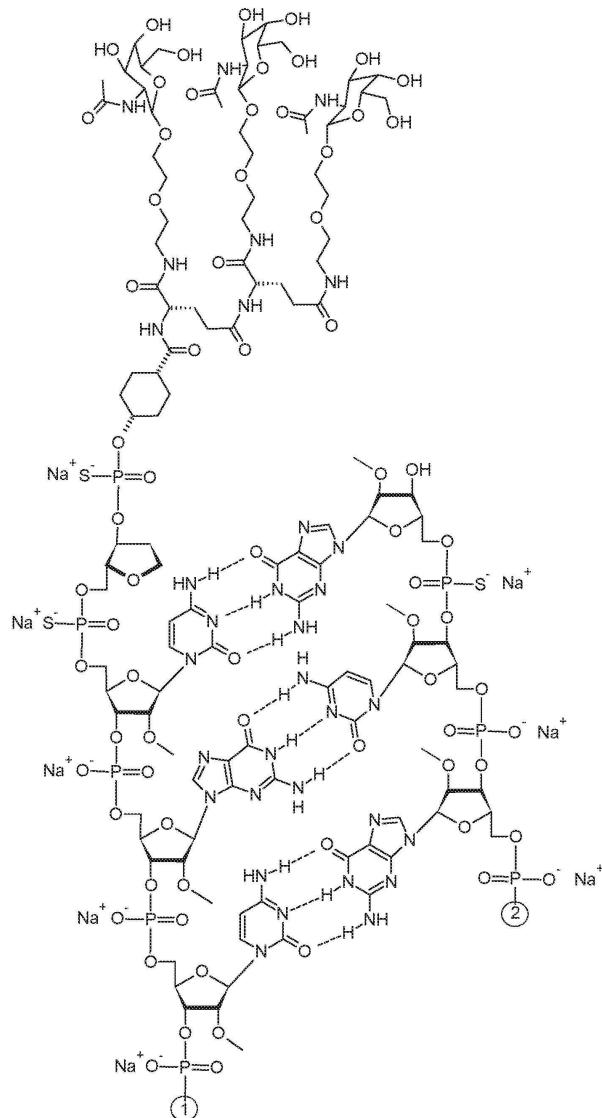
[0319] 일부 실시 형태에서, 유효량의 AD04872와 유효량의 AD05070을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 2:1이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 3:1이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 1:1이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 4:1이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 5:1이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD05070을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD05070의 비는 약 1:2이다.

[0320] 일부 실시 형태에서, 약 1 mg/kg(mpk)의 AD04872와 약 1 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 1.5 mg/kg의 AD04872와 약 1.5 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.2 mg/kg의 AD04872와 약 0.8 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.7 mg/kg의 AD04872와 약 1.3 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 4.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.3 mg/kg의 AD04872와 약 1.7 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04872와 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD05070이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 AD04872와 약 AD05070은 개별적으로 (예를 들어, 별개의 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872의 각 용량과 AD05070의 각 용량은 함께 (예를 들어, 동일한 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872의 각 용량과 AD05070의 각 용량은 단일 약제학적 조성물로 제조된다.

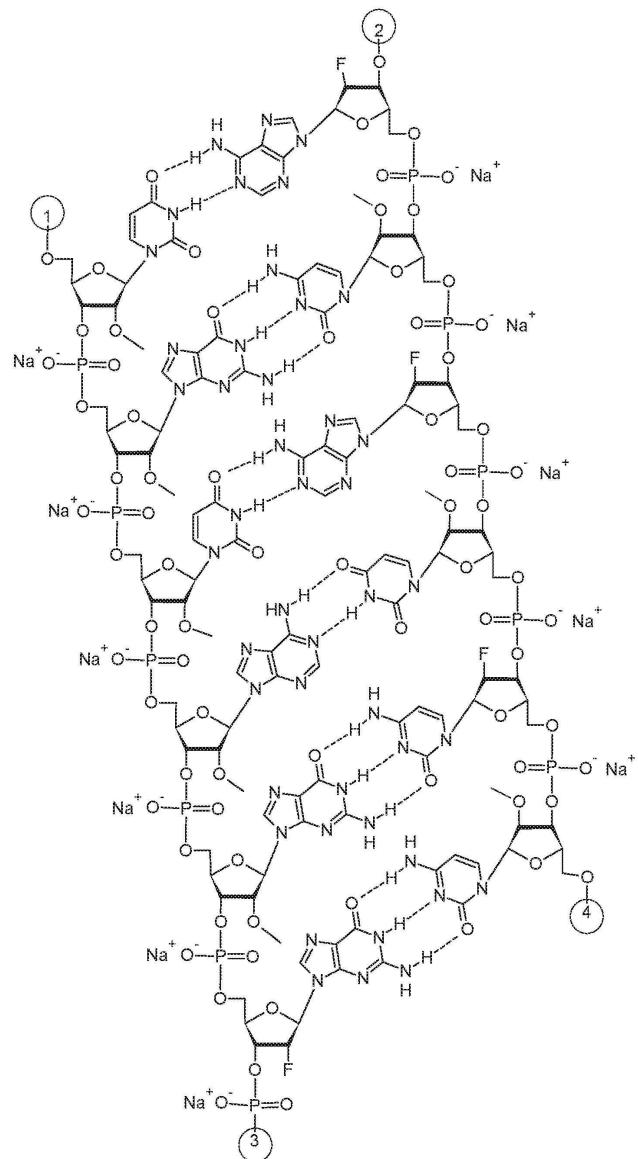
- [0321] 일부 실시 형태에서, 유효량의 AD04872와 유효량의 AD04776을 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 2:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 3:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 4:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 1:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 5:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776을 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 1:2 이다.
- [0322] 일부 실시 형태에서, 약 1 mg/kg(mpk)의 AD04872와 약 1 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 1.5 mg/kg의 AD04872와 약 1.5 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.2 mg/kg의 AD04872와 약 0.8 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.7 mg/kg의 AD04872와 약 1.3 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 4.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.3 mg/kg의 AD04872와 약 1.7 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04872와 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04776이 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776의 각각의 용량은 개별적으로 (예를 들어, 별개의 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776의 각각의 용량은 함께 (예를 들어, 동일한 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04776의 각각의 용량은 단일 약제학적 조성물로 제조된다.
- [0323] 일부 실시 형태에서, 유효량의 AD04872와 유효량의 AD04982를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04982의 비는 약 2:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04982의 비는 약 3:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04982의 비는 약 4:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04982의 비는 약 1:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04982의 비는 약 5:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04872 대 AD04776의 비는 약 1:2 이다.
- [0324] 일부 실시 형태에서, 약 1 mg/kg(mpk)의 AD04872와 약 1 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 1.5 mg/kg의 AD04872와 약 1.5 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.2 mg/kg의 AD04872와 약 0.8 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 2.7 mg/kg의 AD04872와 약 1.3 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 4.0 mg/kg의 AD04872와 약 1.0 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 3.3 mg/kg의 AD04872와 약 1.7 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04872와 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04982가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982의 각각의 용량은 개별적으로 (예를 들어, 별개의 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982의 각각의 용량은 함께 (예를 들어, 동일한 주사로) 투여된다. 일부 실시 형태에서, AD04872와 AD04982의 각각의 용량은 단일 약제학적 조성물로 제조된다.
- [0325] 일부 실시 형태에서, 유효량의 AD04580과 유효량의 AD04585를 이를 필요로 하는 대상체에게 투여하는 단계를 포함하는, HBV 감염의 치료 방법 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 증상의 예방 방법이 본 명세서에 개시된다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04580 대 AD04585의 비는 약 2:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04580 대 AD04585의 비는 약 3:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는

AD04580 대 AD04585의 비는 약 4:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04580 대 AD04585의 비는 약 5:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04580 대 AD04585의 비는 약 1:1 이다. 일부 실시 형태에서, AD04580과 AD04585를 필요로 하는 대상체에게 투여되는 AD04580 대 AD04585의 비는 약 1:2 이다. 일부 실시 형태에서, 약 1 mg/kg(mp k)의 AD04580과 약 1 mg/kg의 AD04585가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 1.5 mg/kg의 AD04580과 약 1.5 mg/kg의 AD04585가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04580과 약 0.05 내지 약 5 mg/kg의 AD04585가 이를 필요로 하는 대상체에게 투여된다.

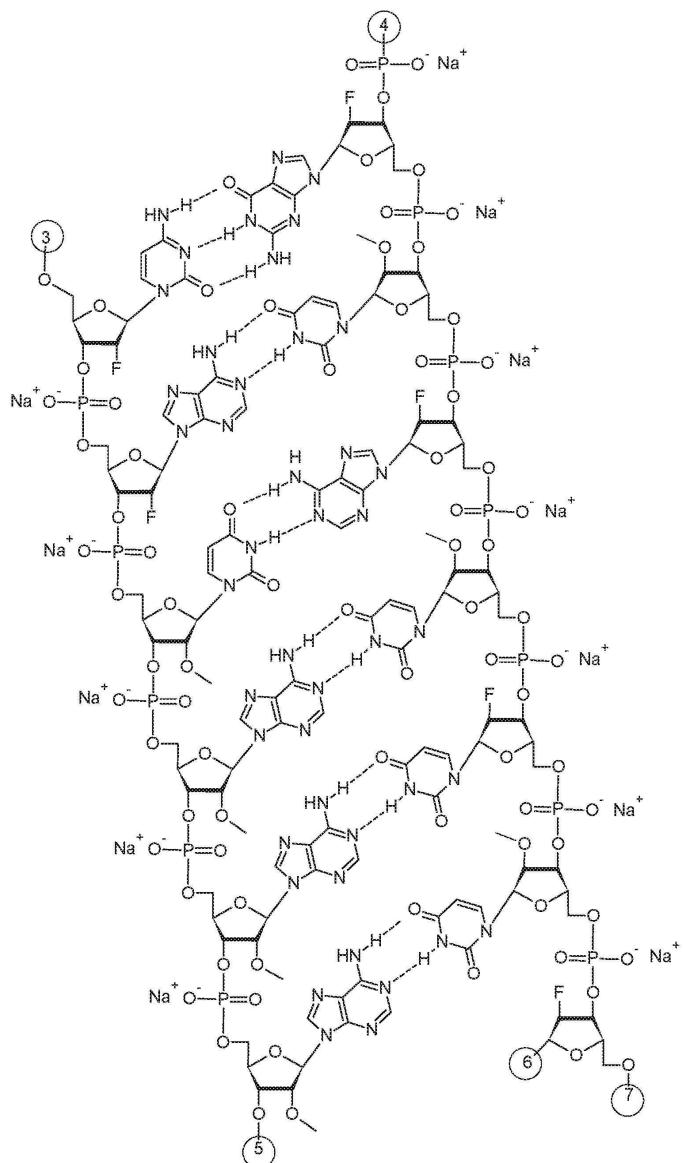
[0326] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG37)s에 연결된 AD05070으로 이루어지거나 이를 포함한다:



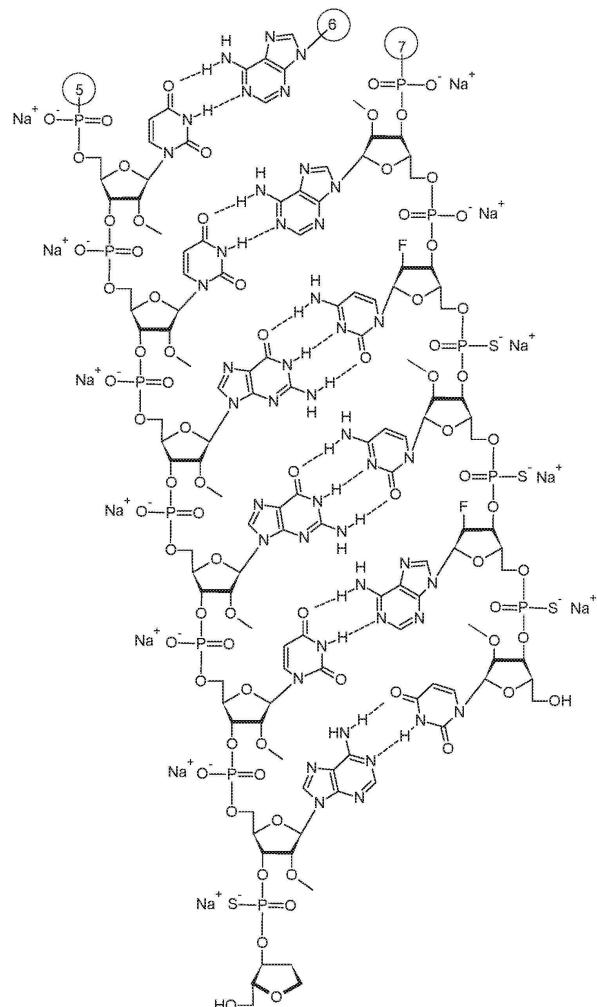
[0327]



[0328]



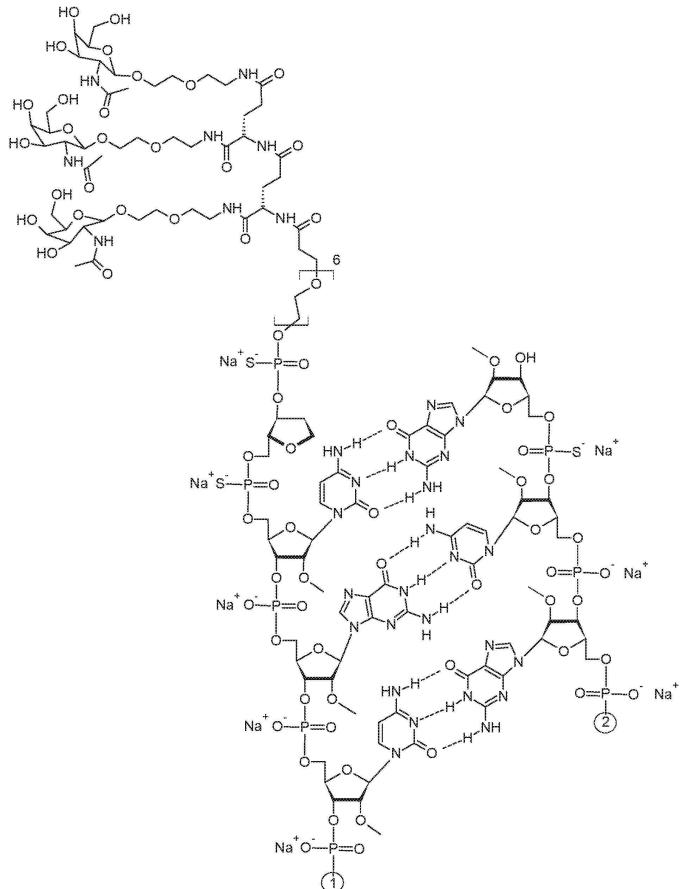
[0329]



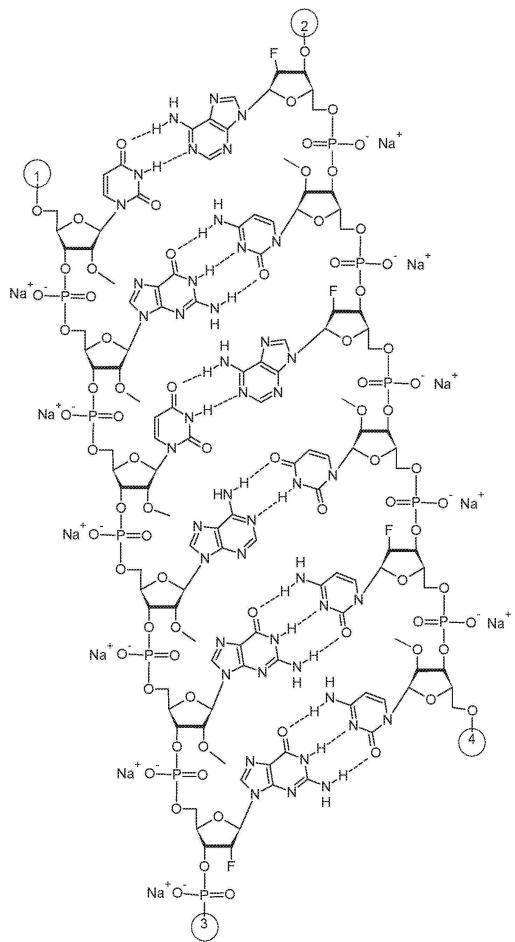
[0330]

[0331]

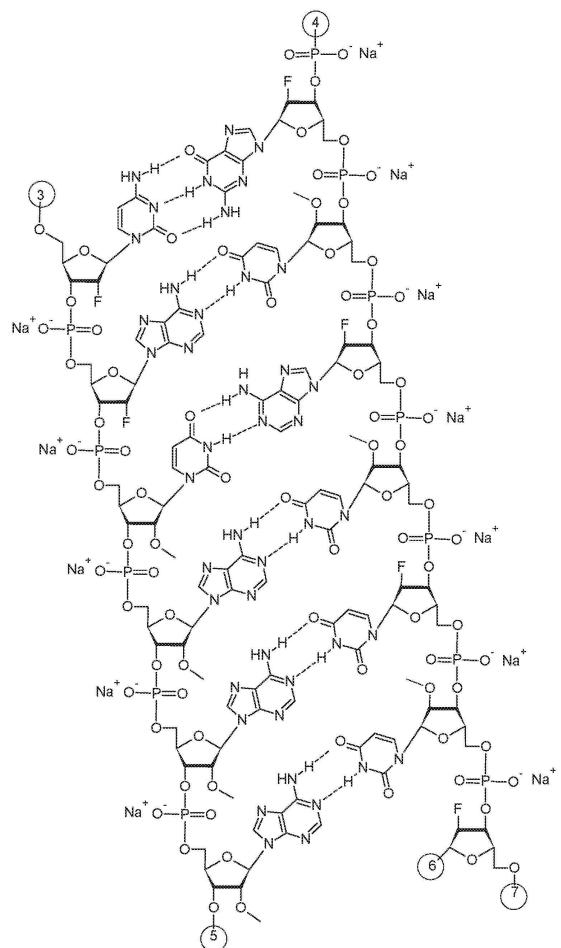
일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG25)s에 연결된 AD05070으로 이루어지거나 이를 포함한다:



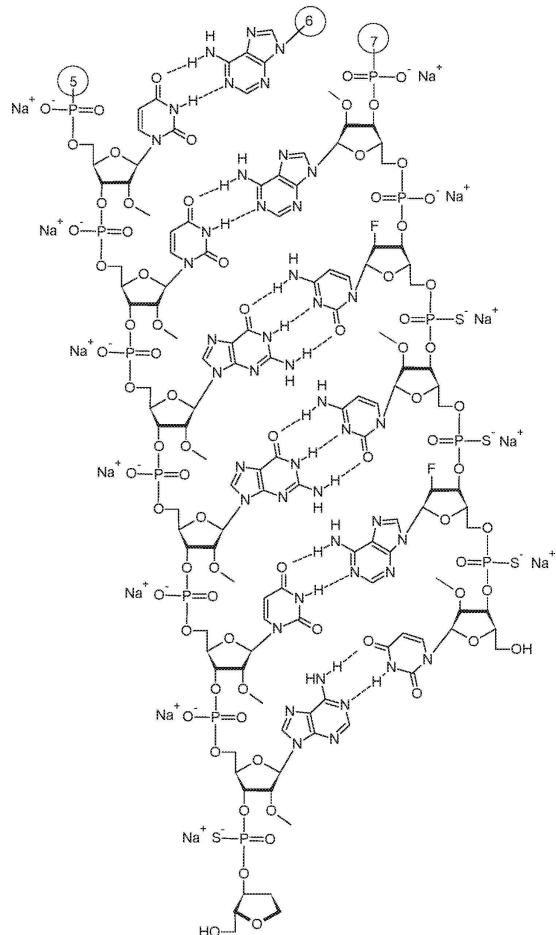
[0332]



[0333]

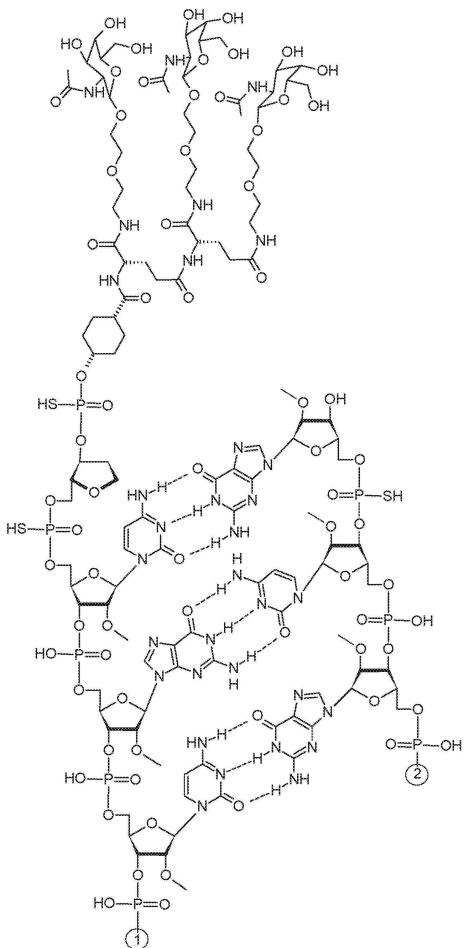


[0334]

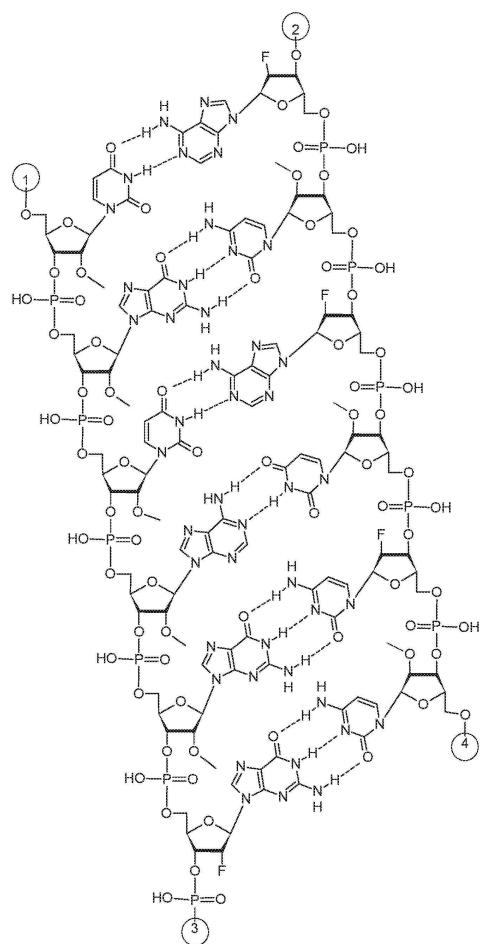


[0335]

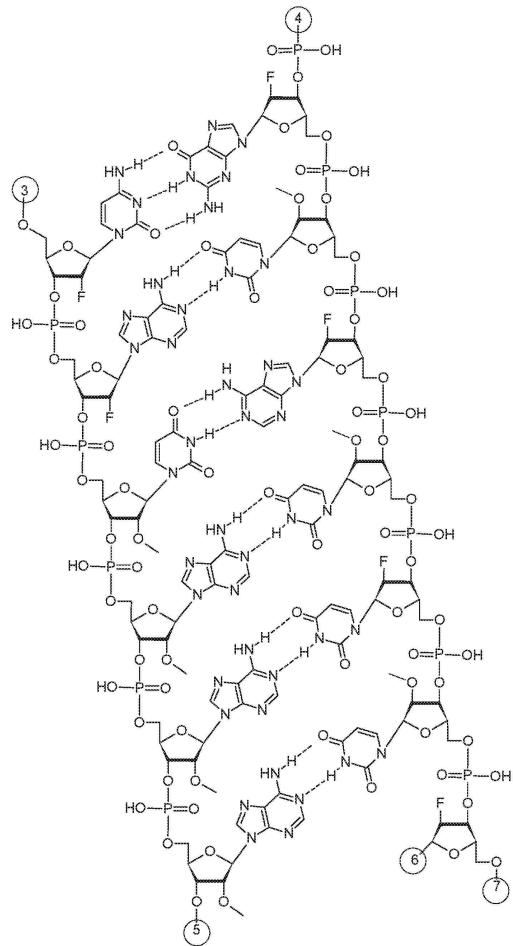
[0336] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기로 표시되는 구조를 갖는 유리 산으로서 나타낸 (NAG37)s에 연결된 AD05070으로 이루어지거나 이를 포함한다:



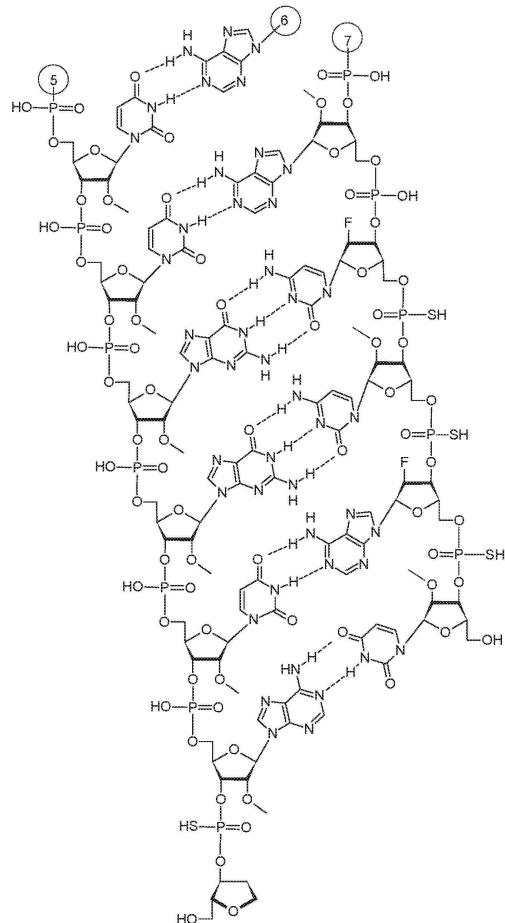
[0337]



[0338]

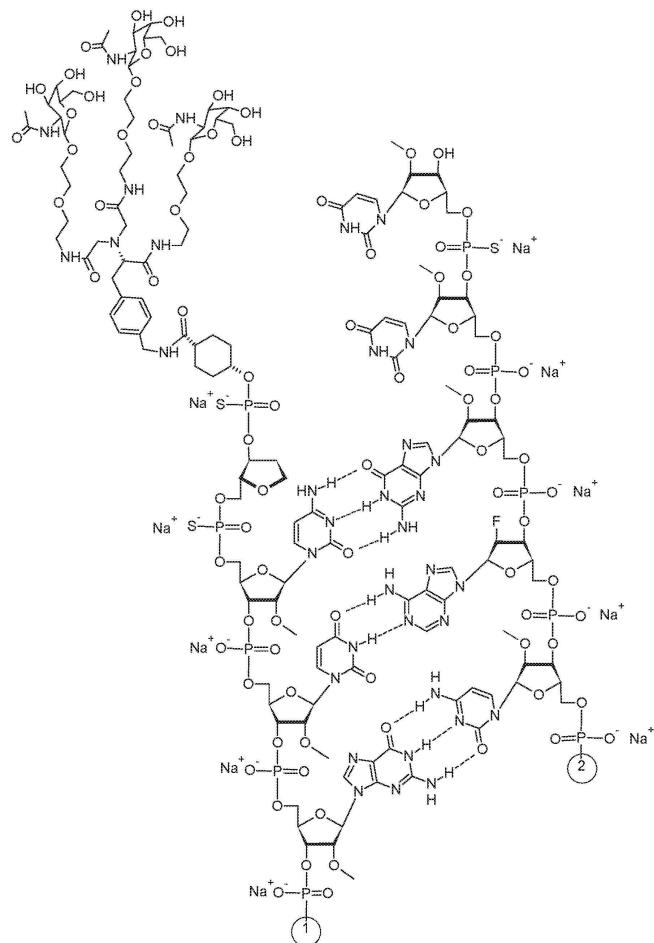


[0339]

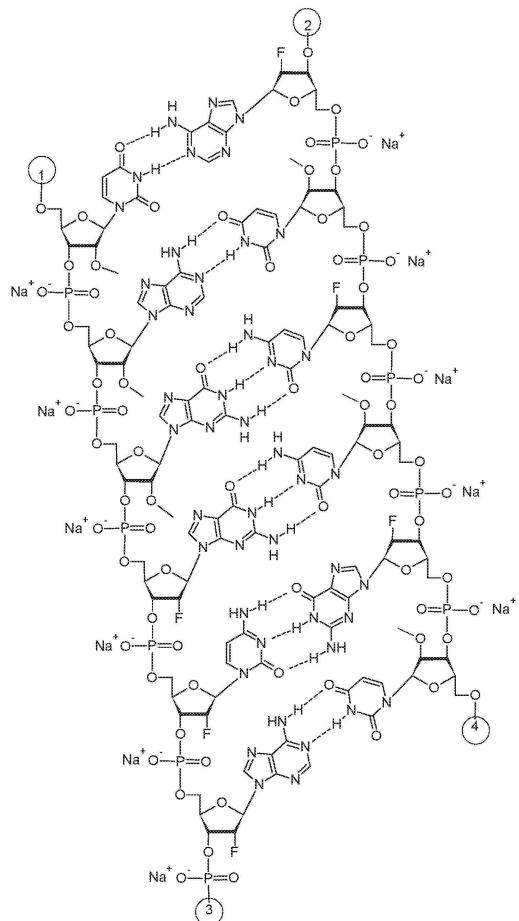


[0340]

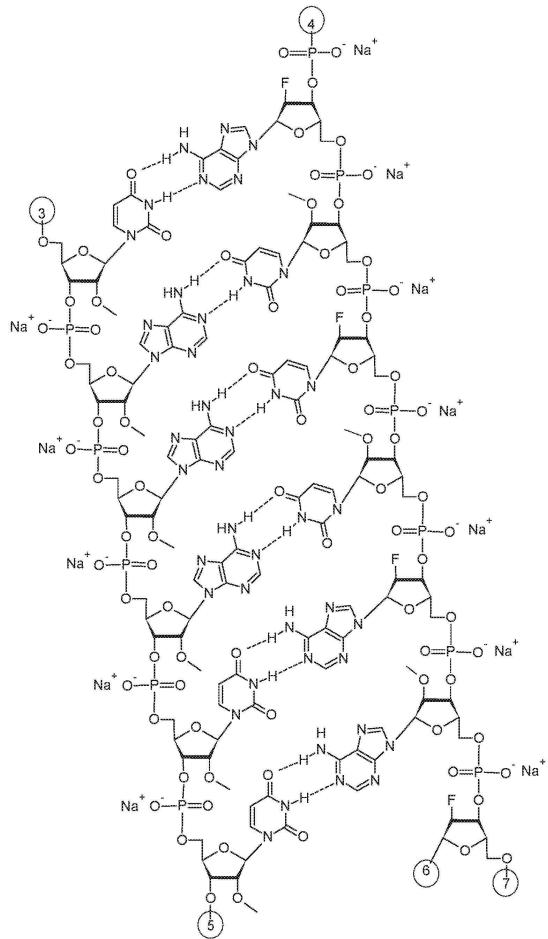
[0341] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용체는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG31)s에 연결된 AD04580으로 이루어지거나 이를 포함한다:



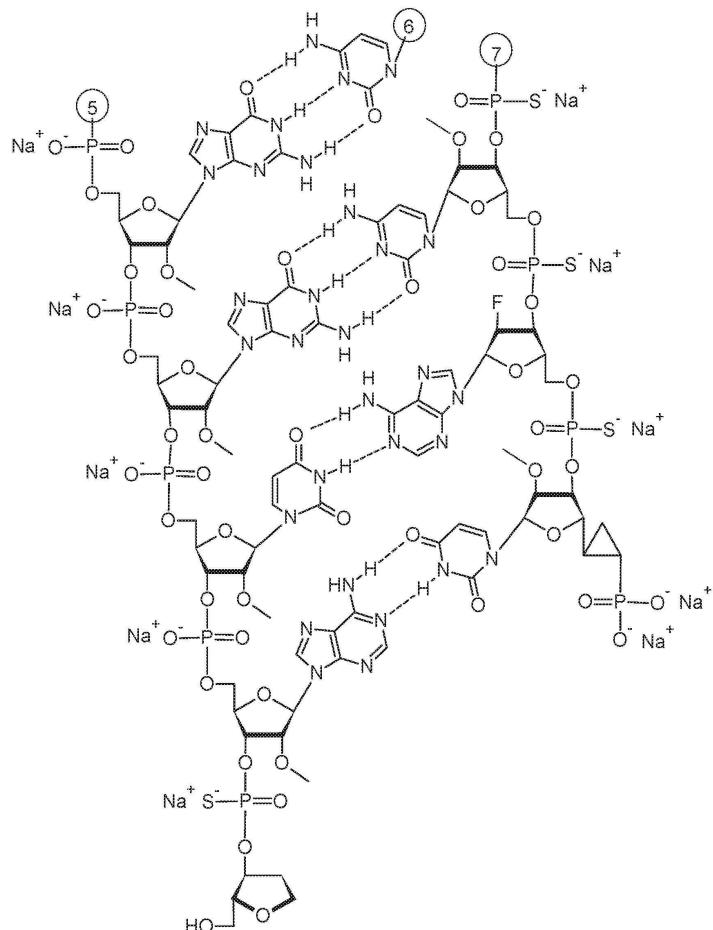
[0342]



[0343]

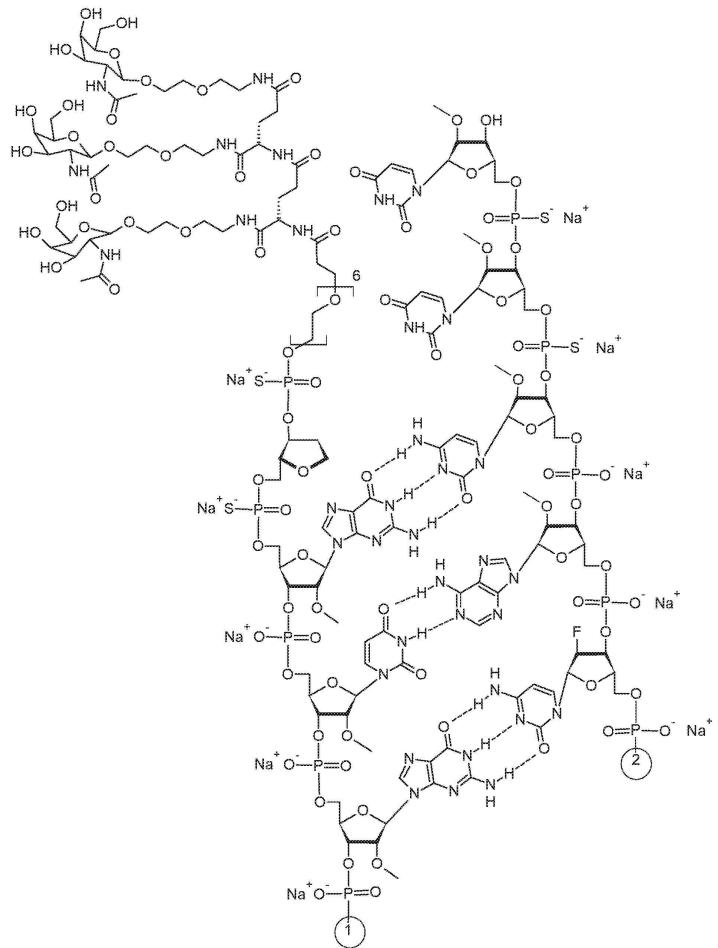


[0344]

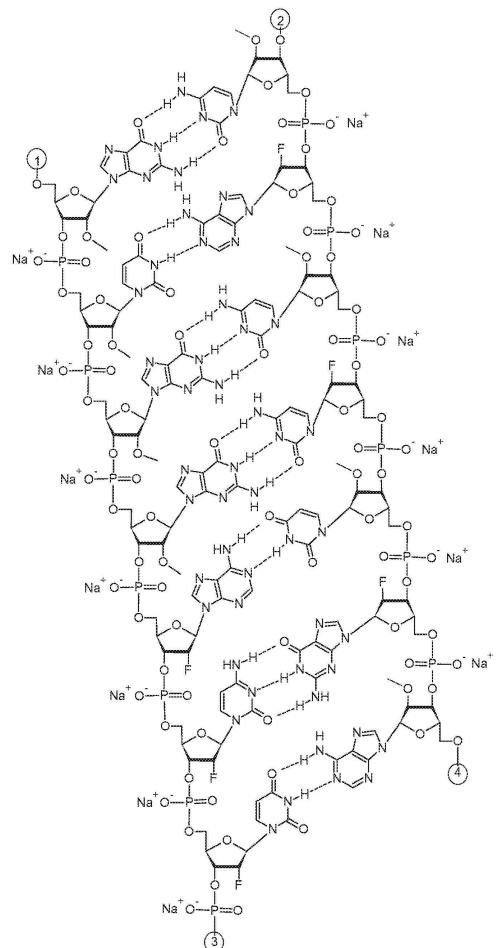


[0345]

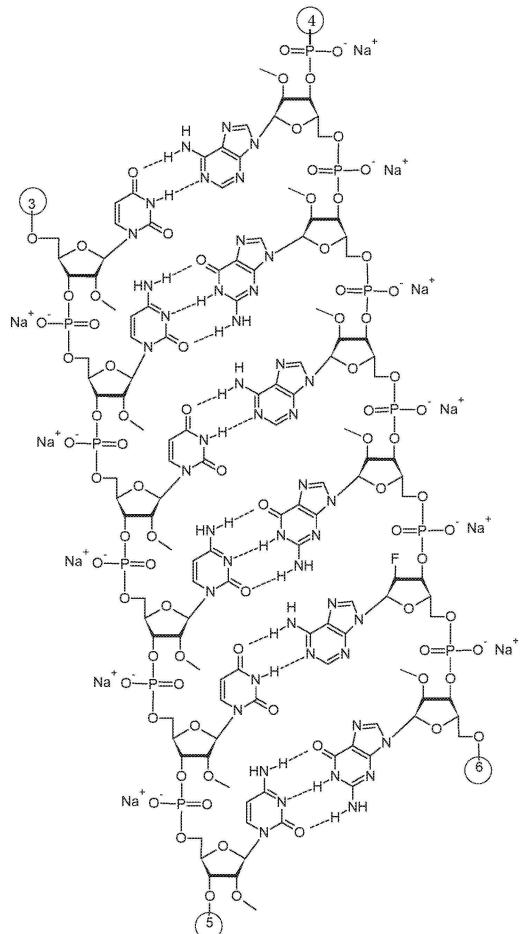
일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG25)s에 연결된 AD04585로 이루어지거나 이를 포함한다:



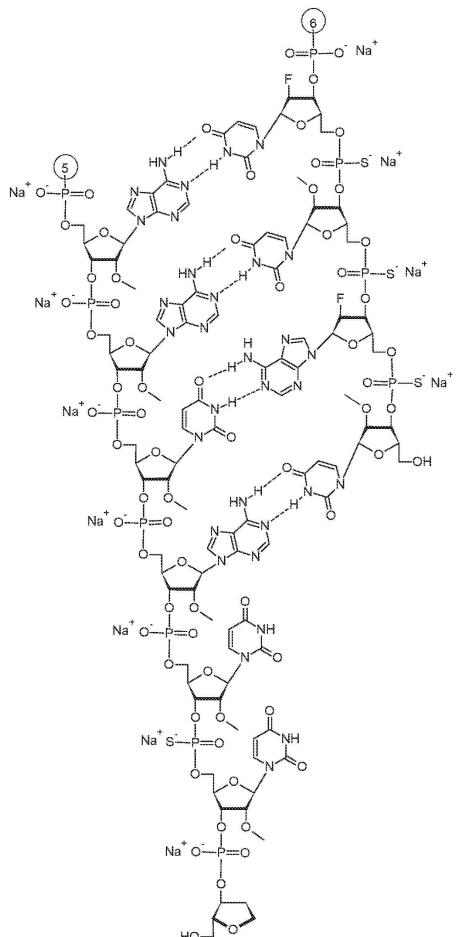
[0347]



[0348]

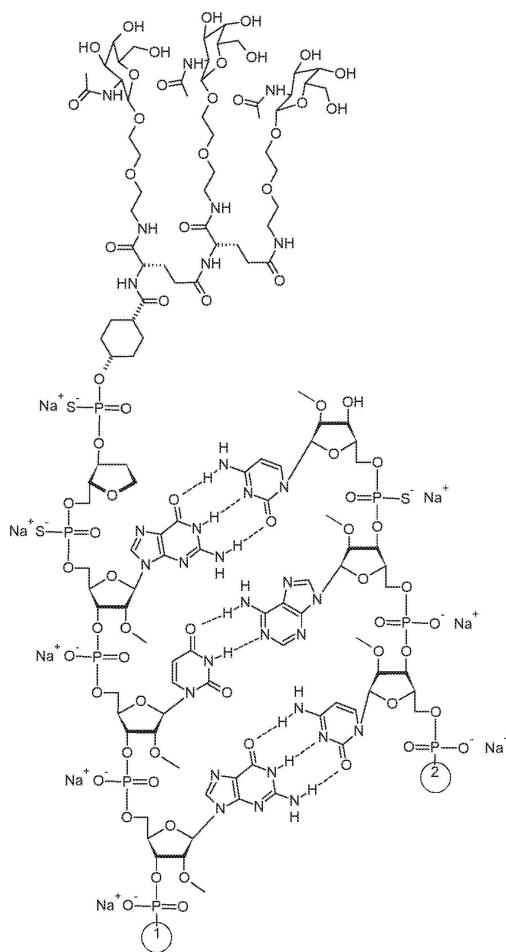


[0349]

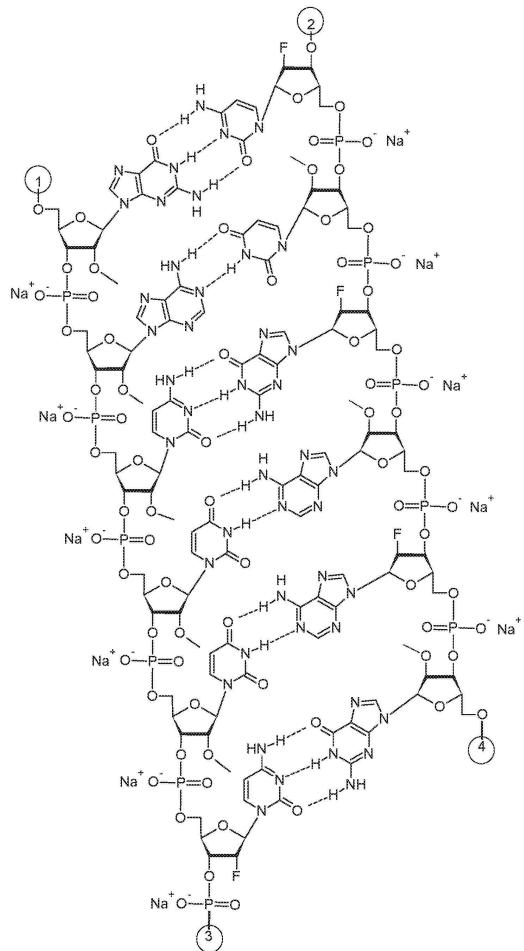


[0350]

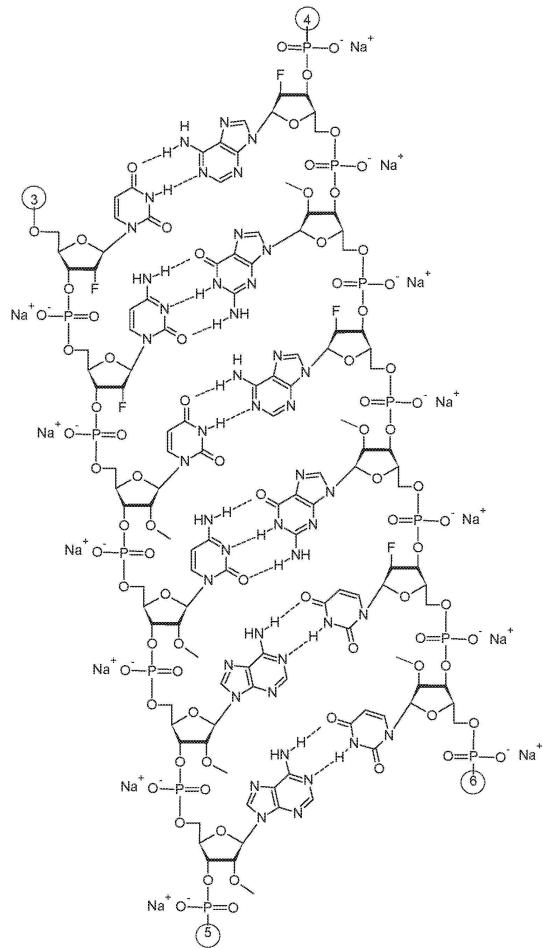
[0351] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG37)s에 연결된 AD04872로 이루어지거나 이를 포함한다:



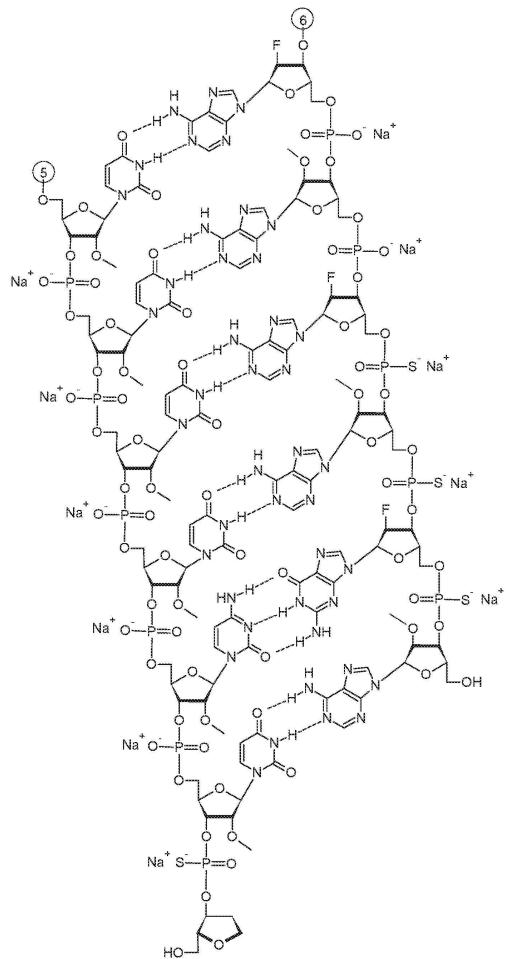
[0352]



[0353]

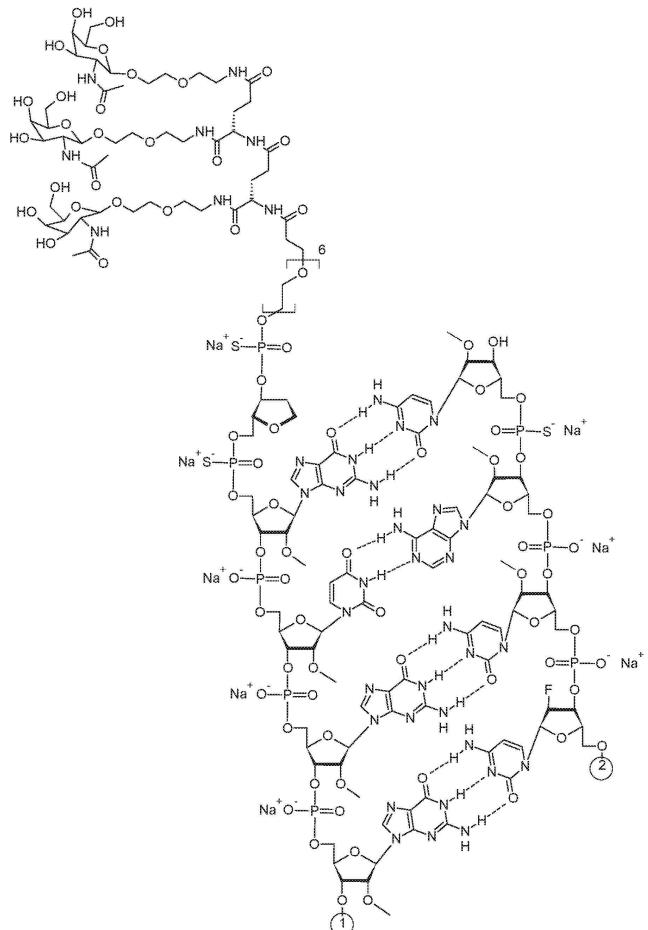


[0354]

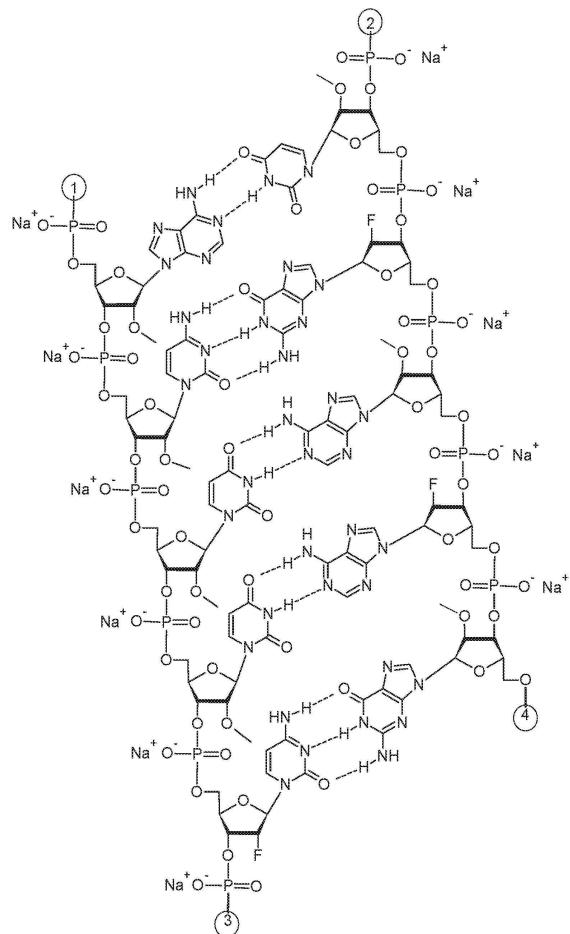


[0355]

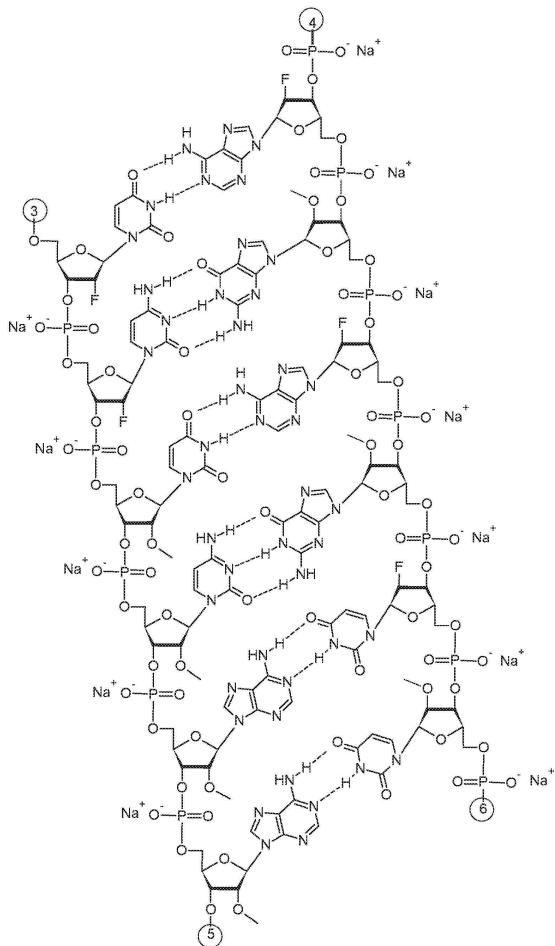
[0356] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용체는 하기로 표시되는 구조를 갖는 나트륨 염으로서 나타낸 (NAG25)s에 연결된 AD04872로 이루어지거나 이를 포함한다:



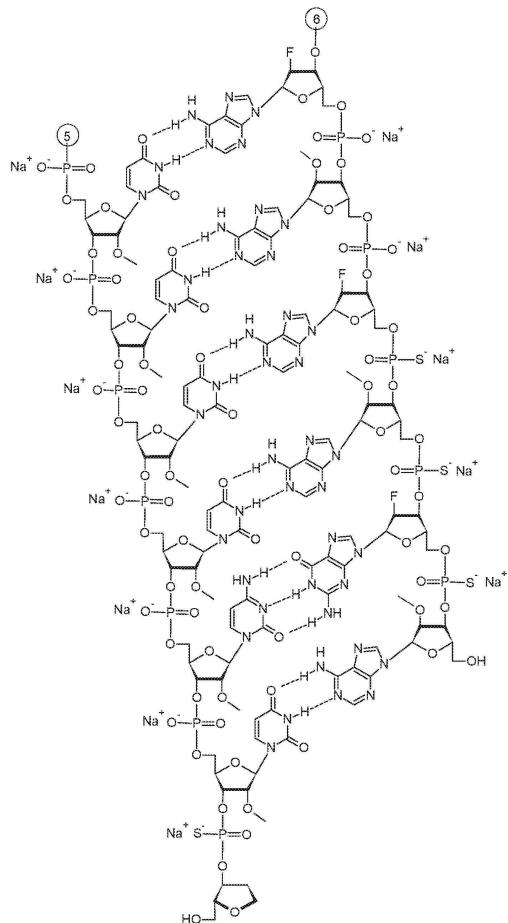
[0357]



[0358]

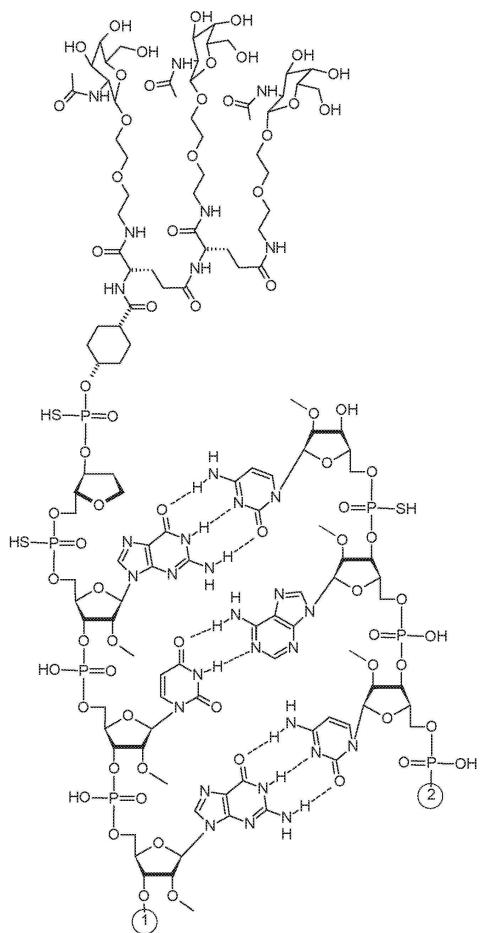


[0359]

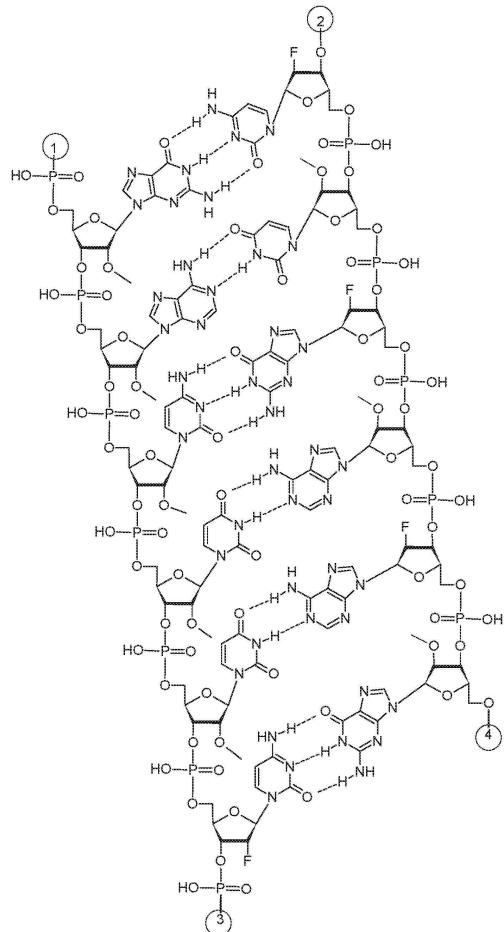


[0360]

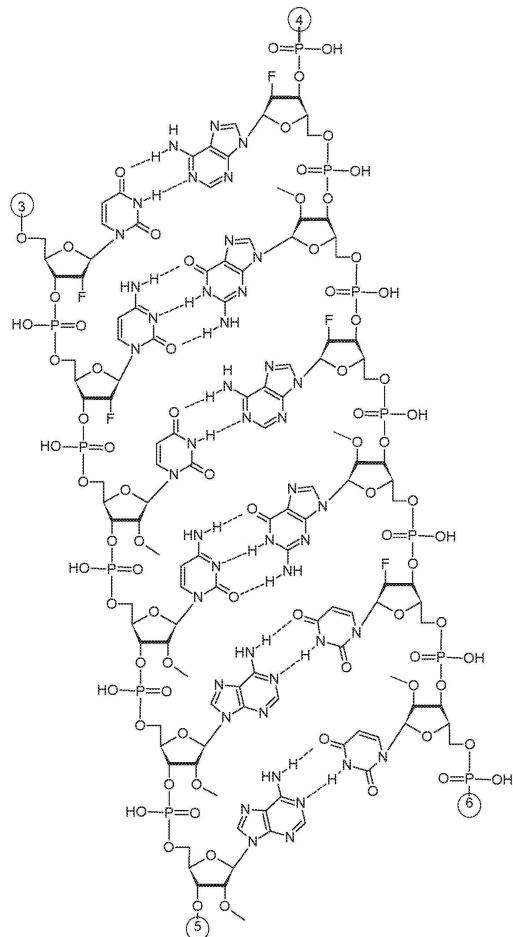
[0361] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용체는 하기로 표시되는 구조를 갖는 유리 산으로서 나타낸 (NAG37)_s에 연결된 AD04872로 이루어지거나 이를 포함한다:



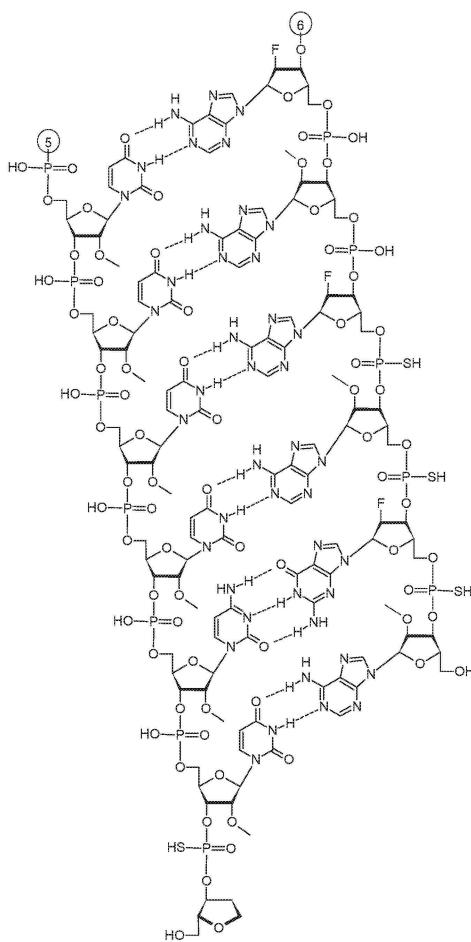
[0362]



[0363]



[0364]



[0365]

[0366] 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제 (즉, 제2 치료제, 제3 치료제 등)와 병용된다. 제2 치료제는 다른 HBV RNAi 작용제 (예를 들어, HBV 게놈 내의 상이한 서열을 표적화하는 HBV RNAi 작용제)일 수 있다. 추가의 치료제는 또한 소분자 약물, 항체, 항체 단편, 및/또는 백신일 수 있다. HBV RNAi 작용제는, 하나 이상의 추가의 치료제와 함께 또는 이러한 치료제 없이, 하나 이상의 부형제와 조합되어 약제학적 조성물을 형성할 수 있다.

[0367]

일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 병용되며, 이 추가의 치료제는 뉴클레오시드 저해제 또는 뉴클레오티드 저해제이다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 병용되며, 이 추가의 치료제는 엔테카비어, 테노포비어, 테노포비어 알라펜아미드, 테노포비어 디소프록실, 라미부딘, 또는 다른 항바이러스 치료제이다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 병용되며, 이 추가의 치료제는 인터페론이다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 병용되며, 이 추가의 치료제는 인터페론-알파이다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 선택적으로 하나 이상의 추가적인 HBV 치료제와 병용되며, 이 추가의 치료제는 HBV 백신이다.

[0368]

일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 단일 투여 형태 (즉, 단일 주사에 포함되는 각테일)로 선택적으로 하나 이상의 추가의 치료제와 병용된다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 하나 이상의 선택적인 추가의 치료제와 별도로 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 피하 주사를 통해 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되고, 하나 이상의 선택적인 추가의 치료제는 경구 투여되며, 이들은 함께 HBV 감염과 관련된 질병 및 질환에 대한 치료 요법을 제공한다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제(들)는 피하 주사를 통해 이를 필요로 하는 대상체에게 투여되고, 하나 이상의 선택적인 추가의 치료제는 별도의 피하 주사를 통해 투여된다.

[0369]

일부 실시 형태에서, 생체내에서 HBV RNAi 작용제를 간 세포에 전달하기 위한 조성물이 본 명세서에 개시되고, 이 조성물은 표적화 기에 접합되거나 연결된 HBV RNAi 작용제를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 아시알로글리코단백질 수용체 리간드이다. 일부 실시 형태에서, 생체내에서 HBV RNAi 작용제를 간세포에 전달

하기 위한 조성물이 기재되고, 이 조성물은 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드에 연결된 HBV RNAi 작용제를 포함한다.

[0370] 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 기재된 HBV RNAi 작용제는 약제학적으로 허용가능한 담체 또는 희석제 중에서 포유동물에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 포유동물은 인간이다.

[0371] B형 간염 바이러스 RNAi 작용제(들)의 사용은 HBV 감염과 관련된 질환/장애의 치료적 및/또는 예방적 처치를 위한 방법을 제공한다. 기재된 HBV RNAi 작용제는 B형 간염 바이러스의 복제 및/또는 발병에 필요한 하나 이상의 유전자의 발현을 저해하기 위해 RNA 간섭을 매개한다. 특히, 예를 들어, HBV RNAi 작용제는 세포, 조직 또는 포유동물에서 바이러스 중합효소, 코어 단백질, 표면 항원, e-항원 및/또는 X 단백질을 저해할 수 있다. HBV RNAi 작용제는 HBV 감염을 치료하는 데 사용될 수 있다. HBV RNAi 작용제는 또한 HBV 감염과 관련된 만성 간 질환/장애, 염증, 섬유증 질환 및 증식성 장애, 예를 들어, 암을 치료 또는 예방하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 방법은 대상체에서의 D형 간염 바이러스(HDV)의 치료를 추가로 포함한다. 그러한 방법은 HBV RNAi 작용제를 HBV로 감염된 사람 또는 동물에게 투여하는 것을 포함한다. 또한, 생체내에서 HBV RNAi 작용제를 간 세포에 전달하기 위한 조성물이 기재된다.

[0372] 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물은 국소 또는 전신 치료가 요망되는지에 따라 다수의 방식으로 투여될 수 있다. 투여는 정맥내 투여, 동맥내 투여, 피하(subcutaneous) 투여, 복강내 투여, (예를 들어, 이식된 장치를 통한) 진피하(subdermal) 투여, 및 간엽내 투여일 수 있지만, 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 피하 주사에 의해 투여된다.

[0373] 기재된 HBV RNAi 작용제 및/또는 조성물은 HBV 감염 또는 HBV 감염에 의해 야기되는 질병 또는 질환의 치료적 처치를 위한 방법에 사용될 수 있다. 그러한 방법은 본 명세서에 기재된 바와 같은 HBV RNAi 작용제를 대상체, 예를 들어 인간 또는 동물 대상체에게 투여하는 것을 포함한다.

[0374] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "올리고뉴클레오티드" 및 "폴리뉴클레오티드"는 각각 독립적으로 변형되거나 변형되지 않을 수 있는 연결된 뉴클레오시드의 중합체를 의미한다.

[0375] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "RNAi 작용제" 또는 "RNAi 트리거"는 서열 특이적 방식으로 표적 mRNA의 메신저 RNA(mRNA) 전사체의 번역을 분해하거나 저해할 수 있는 RNA 또는 RNA 유사 (예를 들어, 화학적으로 변형된 RNA) 올리고뉴클레오티드 분자를 함유하는 조성물을 의미한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, RNAi 작용제는 RNA 간섭 메커니즘을 통해 (즉, 포유동물 세포의 RNA 간섭 경로 기구 (RNA 유도 침묵 복합체(RNA-induced silencing complex) 또는 RISC)와의 상호작용을 통해 RNA 간섭을 유도함), 또는 임의의 대안적인 메커니즘(들) 또는 경로(들)에 의해 작용할 수 있다. RNAi 작용제는, 이 용어가 본 명세서에 사용되는 바와 같이, RNA 간섭 메커니즘을 통해 주로 작용하는 것으로 여겨지지만, 개시된 RNAi 작용제는 임의의 특정 경로 또는 작용 메커니즘에 의해 구속되거나 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에 개시된 RNAi 작용제는 센스 가닥과 안티센스 가닥으로 구성되고, 짧은 간섭 RNA(siRNA), 이중 가닥 RNA(dsRNA), 마이크로 RNA(miRNA), 짧은 헤어핀 RNA(shRNA), 및 다이서 기질(dicer substrate)을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표적화되는 mRNA에 적어도 부분적으로 상보적이다. RNAi 작용제는 변형된 뉴클레오티드 및/또는 하나 이상의 비-포스포디에스테르 결합으로 구성될 수 있다.

[0376] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 주어진 유전자의 발현을 지칭하는 경우 용어 "침묵", "감소", "저해", "하향 조절", 또는 "녹다운(knockdown)"은, 그 유전자로부터 전사되는 RNA의 수준 또는 그 유전자가 전사되는 세포, 세포의 군, 조직, 또는 대상체에서 mRNA로부터 번역되는 폴리펩티드, 단백질 또는 단백질 서브유닛의 수준에 의해 측정되는 경우, 세포, 세포의 군, 조직, 기관, 또는 대상체가 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제와 같은 올리고머 화합물로 처리될 때 그렇게 처리되지 않은 제2 세포, 세포의 군, 조직, 기관, 또는 대상체와 비교하여 그 유전자의 발현이 감소함을 의미한다.

[0377] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "서열" 또는 "뉴클레오티드 서열"은 표준 명명법을 사용하여 일련의 문자로 기재된, 일련의 또는 일정 순서의 핵염기 또는 뉴클레오티드를 의미한다.

[0378] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "뉴클레오티드 염기" 또는 "핵염기"는 모든 핵산의 표준 구성요소인 헤테로사이클릭 피리미딘 또는 퓨린 화합물이고, 뉴클레오티드인 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 티민(T), 및 우라실(U)을 형성하는 염기를 포함한다. 핵염기는, 제한 없이, 범용(universal) 염기, 소수성 염기, 불규칙(promiscuous) 염기, 크기 확대(size-expanded) 염기, 및 불소화 염기를 포함하도록 추가로 변형될 수 있다.

[0379] 본 명세서에 사용되는 바와 같이 그리고 달리 나타내지 않는 한, 용어 "상보적"은, 제2 뉴클레오티드 서열 (예

를 들어, RNAi 작용제의 안티센스 가닥 또는 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드)과 관련하여 제1 뉴클레오티드 서열 (예를 들어, RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 표적화된 mRNA)을 설명하기 위해 사용되는 경우, 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드와 혼성화 (포유동물의 생리학적 조건 (또는 시험관내에서의 유사한 조건) 하에서 염기쌍 수소 결합을 형성)되고 특정 조건 하에서 이중체 또는 이중나선 구조를 형성하는 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드의 능력을 의미한다. 상보적 서열은 왓슨-크릭 염기 쌍 또는 비-왓슨-크릭 염기쌍을 포함하고, 적어도 상기 혼성화 요건이 충족되는 정도까지 천연 또는 변형된 뉴클레오티드 또는 뉴클레오티드 모방체를 포함한다. 서열 동일성 또는 상보성은 변형과 무관하다. 예를 들어, a 및 Af는 U (또는 T)에 상보적이고, 동일성 또는 상보성을 결정하기 위한 목적으로 A와 동일하다.

[0380] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "완벽하게 상보적" 또는 "완전히 상보적"은 제1 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 염기의 전부 (100%)가 제2 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기와 혼성화되는 것을 의미한다. 연속 서열은 제1 또는 제2 뉴클레오티드 서열의 전부 또는 일부를 포함할 수 있다.

[0381] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "부분적으로 상보적"은, 핵염기 서열의 혼성화된 쌍에서 제1 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 염기의 전부는 아니지만 적어도 70%가 제2 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기와 혼성화되는 것을 의미한다.

[0382] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "실질적으로 상보적"은, 핵염기 서열의 혼성화된 쌍에서 제1 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 염기의 전부는 아니지만 적어도 약 85%가 제2 폴리뉴클레오티드의 연속 서열 내의 동일한 수의 염기와 혼성화되는 것을 의미한다. 본 명세서에서 용어 "상보적", "완전히 상보적", 및 "실질적으로 상보적"은 이중 가닥 RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이, RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 표적 mRNA의 서열 사이, 또는 단일 가닥 안티센스 올리고뉴클레오티드와 표적 mRNA의 서열 사이의 염기 매칭에 대하여 사용될 수 있다.

[0383] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "실질적으로 동일한" 또는 "실질적으로 동일성"은 핵산 서열에 적용되는 경우 핵산 서열이 기준 서열과 비교하여 적어도 약 85%, 바람직하게는 적어도 90%, 적어도 95%, 또는 적어도 99%의 서열 동일성을 갖는 서열을 포함함을 의미한다. 서열 동일성의 백분율은 비교 원도우에 걸쳐 2개의 최적으로 정렬된 서열을 비교함으로써 결정된다. 백분율은 둘 모두의 서열에서 동일한 핵산 염기가 존재하는 위치의 수를 결정하여 일치된 위치의 수를 산출하고, 일치된 위치의 수를 원도우 내의 위치의 총 수로 나누고, 그 결과에 100을 곱하여 서열 동일성 백분율을 산출함으로써 계산된다. 본 명세서에 개시된 발명은 본 명세서, 예를 들어 표 2, 표 3, 및 표 4에 개시된 것과 실질적으로 동일한 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 서열은 본 명세서, 예를 들어 표 1, 표 2, 표 3 및 표 4에 개시된 것과 정확히 동일하거나, 또는 적어도 약 85%, 86%, 87%, 88%, 89%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 또는 99% 동일하다.

[0384] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "치료하다", "치료" 등은 대상체에서 질병 또는 질환의 하나 이상의 증상의 수, 종종도, 및/또는 빈도의 경감 또는 완화를 제공하기 위해 취해지는 방법 또는 단계를 의미한다.

[0385] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 어구 "세포 내로 도입하는"은, 올리고머 화합물을 지칭할 때 올리고머 화합물을 세포 내로 기능적으로 전달하는 것을 의미한다. 어구 "기능적 전달"은 올리고머 화합물이 예측된 생물학적 활성, 예를 들어 유전자 발현의 서열 특이적 저해 활성을 가질 수 있게 하는 방식으로 올리고머 화합물을 세포에 전달하는 것을 의미한다.

[0386] 달리 언급되지 않는 한, 본 명세서에 사용되는 바와 같은 기호 의 사용은 본 명세서에 기술된 본 발명의 범주에 따른 임의의 기(들)가 그에 연결될 수 있음을 의미한다.

[0387] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "이성질체"는 동일한 문자식을 갖지만, 이들의 원자의 성질 또는 결합순서가 상이하거나 이들의 원자의 공간 배열이 상이한 화합물을 지칭한다. 이들의 원자의 공간 배열이 상이한 이성질체는 "입체 이성질체"로 명명된다. 서로 거울상이 아닌 입체 이성질체는 "부분입체 이성질체"로 명명되고, 겹쳐질 수 없는 거울상인 입체 이성질체는 "거울상 이성질체", 또는 때때로 광학 이성질체로 명명된다. 4 개의 동일하지 않은 치환기에 결합된 탄소 원자는 "카이랄 중심"으로 명명된다.

[0388] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 특정 입체형태를 갖는 것으로 구조에서 구체적으로 확인되지 않는 한, 비대칭 중심이 존재하여 거울상 이성질체, 부분입체이성질체, 또는 다른 입체이성질체 형태를 생성시키는 각각의 구조

의 경우, 본 명세서에 기재된 각각의 구조는 광학적으로 순수한 형태 및 라세미 형태를 비롯한 모든 그러한 가능한 이성질체를 나타내도록 의도된다. 예를 들어, 본 명세서에 개시된 구조는 부분입체이성질체뿐만 아니라 단일 입체이성질체의 혼합물을 포함하는 것으로 의도된다.

[0389] 본 명세서의 청구범위에 사용되는 바와 같이, 어구 "~로 이루어진"은 청구범위에서 명시되지 않은 임의의 요소, 단계, 또는 구성성분을 배제한다. 본 명세서의 청구범위에 사용될 때, 어구 "~로 본질적으로 이루어진"은 명시된 재료 또는 단계, 및 청구된 발명의 기본적이고 신규한 특성(들)에 실질적으로 영향을 주지 않는 재료 또는 단계로 청구범위의 범주를 제한한다.

[0390] 당업자는 본 명세서에 개시된 화합물 및 조성물이, 화합물 또는 조성물이 배치되는 환경에 따라 양성자화된 또는 탈양성자화된 상태로 특정 원자(예를 들어, N, O, 또는 S 원자)를 가질 수 있음을 쉽게 이해하고 인지할 것이다. 따라서, 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 본 명세서에 개시된 구조는, 예를 들어 OH, SH, 또는 NH와 같은 특정 작용기가 양성자화되거나 탈양성자화될 수 있음을 고려한다. 본 명세서의 개시 내용은, 당업자에 의해 용이하게 이해되는 바와 같이, 환경(예를 들어, pH)에 기초한 양성자화 상태에 관계없이 개시된 화합물 및 조성물을 포함하도록 의도된다.

[0391] 달리 정의되지 않는 한, 본 명세서에 사용된 모든 기술 및 과학 용어는 당업자에 의해 통상적으로 이해되는 것과 동일한 의미를 갖는다. 본 명세서에서 기술되는 것과 유사하거나 동등한 방법 및 재료가 본 발명의 실시 또는 시험에 사용될 수 있지만, 바람직한 방법 및 재료가 이제 기술된다. 본 명세서에 언급된 모든 간행물, 특히 출원, 특히, 및 기타 참고문헌은 전체적으로 참고로 포함된다. 상충되는 경우, 정의를 포함하는 본 명세서가 우선할 것이다. 또한, 재료, 방법, 및 실시예는 단지 예시적인 것이며, 제한하고자 하는 것이 아니다.

[0392] 본 발명의 다른 특징 및 이점이 하기 발명의 상세한 설명 및 청구범위로부터 명백할 것이다.

상세한 설명

[0394] B형 간염 바이러스(HBV)의 발현을 저해하기 위한 RNAi 작용제 (본 명세서에서 HBV RNAi 작용제 또는 HBV RNAi 트리거로 지칭됨)가 본 명세서에 기재되어 있다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 센스 가닥과 안티센스 가닥을 포함한다. 센스 가닥과 안티센스 가닥은 각각 길이가 16개 내지 30개 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 동일한 길이일 수 있거나 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 길이가 17개 내지 26개 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 각각 길이가 17개 내지 21개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 각각 길이가 21개 내지 26개의 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 약 19개 뉴클레오티드인 한편, 안티센스 가닥은 길이가 약 21개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 약 21개 뉴클레오티드인 한편, 안티센스 가닥은 길이가 약 23개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 각각 길이가 26개의 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥은 각각 독립적으로 길이가 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 또는 26개의 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에 있어서, 이중 가닥 RNAi 작용제는 약 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개 또는 24개의 뉴클레오티드의 이중체 길이를 가진다. 센스 가닥과 안티센스 가닥 사이의 이러한 완벽한 또는 실질적 상보성 영역은 전형적으로 길이가 15개 내지 25개 (예를 들어, 15개, 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 또는 25개) 뉴클레오티드이고, 안티센스 가닥의 5' 단부에 또는 이 근처에 존재한다 (예를 들어, 이러한 영역은 안티센스 가닥의 5' 단부로부터 완벽하게 또는 실질적으로 상보적이지 않은 0개, 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 뉴클레오티드만큼 떨어져 있을 수 있음).

[0395] 센스 가닥과 안티센스 가닥은 각각 길이가 16개 내지 23개의 핵염기인 코어 스트레치 서열을 함유한다. 안티센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 HBV mRNA 표적에 존재하는 뉴클레오티드 서열 (때때로 예를 들어, 표적 서열로 지칭됨)에 100% (완벽하게) 상보적이거나 적어도 약 85% (실질적으로) 상보적이다. 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 안티센스 가닥 내의 코어 스트레치 서열에 100% (완벽하게) 상보적이거나 적어도 약 85% (실질적으로) 상보적이고, 이에 따라 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 HBV mRNA 표적에 존재하는 뉴클레오티드 서열 (표적 서열)과 완벽하게 동일하거나 적어도 약 85% 동일하다. 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 상용하는 안티센스 코어 서열과 동일한 길이일 수 있거나 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 안티센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 길이가 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 또는 23개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 길이가 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 또는 23개 뉴클레오티드이다.

- [0396] HBV RNAi 작용제를 형성하는 데 사용되는 센스 및 안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열의 예가 표 3 및 표 4에 제공되어 있다. 표 3 및 4의 뉴클레오티드 서열을 포함하는 RNAi 작용제 이중체의 예가 표 5에 제공되어 있다.
- [0397] HBV RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥은 어닐링(annealing)되어 이중체를 형성한다. HBV RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스 가닥은 서로 부분적으로, 실질적으로, 또는 완전히 상보적일 수 있다. 상보적 이중체 영역 내에서, 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 안티센스의 코어 스트레치 서열에 적어도 약 85% 상보적이거나 100% 상보적이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 코어 스트레치 서열은 안티센스 가닥의 코어 스트레치 서열의 상응하는 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 또는 21개의 뉴클레오티드 서열에 적어도 약 85% 또는 100% 상보적인 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 적어도 20 개, 또는 적어도 21개의 뉴클레오티드의 서열을 함유한다 (즉, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스의 코어 스트레치 서열은 적어도 85%가 염기쌍을 이루거나 100%가 염기쌍을 이룬 적어도 16개, 적어도 17개, 적어도 18개, 적어도 19개, 적어도 20 개, 또는 적어도 21개의 뉴클레오티드의 영역을 가짐).
- [0398] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 2 또는 표 3의 임의의 안티센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 2 또는 표 4의 임의의 센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다.
- [0399] 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제 센스 및 안티센스 가닥의 길이는 독립적으로 길이가 16개 내지 30개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 17개 내지 26개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 및 안티센스 가닥은 길이가 19개 내지 26개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에 있어서, 기재된 RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥은 독립적으로 길이가 17개, 18개, 19개, 20개, 21개, 22개, 23개, 24개, 25개, 또는 26개의 뉴클레오티드이다. 센스 및 안티센스 가닥은 동일한 길이일 수 있거나 상이한 길이일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥과 안티센스 가닥은 각각 길이가 26개의 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 23개 뉴클레오티드이고, 안티센스 가닥은 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 22개 뉴클레오티드이고, 안티센스 가닥은 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 21개 뉴클레오티드이고, 안티센스 가닥은 길이가 21개 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥은 길이가 19개 뉴클레오티드이고, 안티센스 가닥은 길이가 21개 뉴클레오티드이다.
- [0400] 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 선택적으로 그리고 독립적으로 코어 서열의 3' 단부, 5' 단부, 또는 3' 및 5' 단부 둘 모두에 추가의 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 뉴클레오티드 (연장부(extension))를 함유할 수 있다. 존재하는 경우, 안티센스 가닥의 추가의 뉴클레오티드는 HBV mRNA 내의 상응하는 서열에 상보적이거나 상보적이지 않을 수 있다. 존재하는 경우, 센스 가닥의 추가의 뉴클레오티드는 HBV mRNA 내의 상응하는 서열과 동일하거나 동일하지 않을 수 있다. 존재하는 경우, 안티센스 가닥의 추가의 뉴클레오티드는, 존재하는 경우, 상응하는 센스 가닥의 추가의 뉴클레오티드에 상보적이거나 상보적이지 않을 수 있다.
- [0401] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 연장부는 센스 가닥의 코어 스트레치 서열 및/또는 안티센스 가닥의 코어 스트레치 서열의 5' 및/또는 3' 단부에서 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 뉴클레오티드를 포함한다. 센스 가닥 상의 연장부 뉴클레오티드는 상응하는 안티센스 가닥 내의 코어 스트레치 서열 뉴클레오티드 또는 연장부 뉴클레오티드인 뉴클레오티드에 상보적이거나 상보적이지 않을 수 있다. 반대로, 안티센스 가닥 상의 연장부 뉴클레오티드는 상응하는 센스 가닥 내의 코어 스트레치 서열 뉴클레오티드 또는 연장부 뉴클레오티드인 뉴클레오티드에 상보적이거나 상보적이지 않을 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스 가닥 둘 모두는 3' 및 5' 연장부를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나의 가닥의 3' 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 다른 하나의 가닥의 하나 이상의 5' 연장부 뉴클레오티드와 염기쌍을 이룬다. 다른 실시 형태에서, 하나의 가닥의 3' 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 다른 하나의 가닥의 하나 이상의 5' 연장부 뉴클레오티드와 염기쌍을 이루지 않는다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 3' 연장부를 갖는 안티센스 가닥과 5' 연장부를 갖는 센스 가닥을 가진다.
- [0402] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개 뉴클레오티드인 3' 연장부를 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 다른 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개, 2개, 또는 3개 뉴클레오티드인 3' 연장부를 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 안티센스 가닥의 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 우라실 또는 티미딘 뉴클레오티드, 또는 상응하는 HBV mRNA 서열에 상보적인 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 3' 안티센스 가닥의 연장부는 다음을 포함하거나 이로 이루어지지만, 이

로 한정되지 않는다: AUA, UGUU, CUG, UG, UGCC, CUGC, CGU, CUU, UGCCUA, CUGCCU, UGCCU, UGAUU, GCCUAU, T, TT, U, UU (각각은 5'에서 3' 방향으로 나열됨).

[0403] 일부 실시 형태에서, 안티센스 가닥의 3' 단부는 추가의 무염기성 뉴클레오시드(Ab)를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, Ab 또는 AbAb는 안티센스 가닥의 3' 단부에 첨가될 수 있다.

[0404] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 뉴클레오티드인 5' 연장부를 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 다른 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개 또는 2개 뉴클레오티드인 5' 연장부를 갖는 안티센스 가닥을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 안티센스 가닥의 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 우라실 또는 티미딘 뉴클레오티드, 또는 상응하는 HBV mRNA 서열에 상보적인 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 5' 안티센스 가닥의 연장부는 UA, TU, U, T, UU, TT, CUC (각각 5'에서 3' 방향으로 나열됨)를 포함하거나 이로 이루어지지만, 이로 한정되지 않는다. 안티센스 가닥은, 존재하는 경우, 기재된 임의의 5' 안티센스 가닥의 연장부와 함께 상기 기재된 임의의 3' 연장부를 가질 수 있다.

[0405] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개, 2개, 3개, 4개, 또는 5개 뉴클레오티드인 3' 연장부를 갖는 센스 가닥을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 아데노신, 우라실, 또는 티미딘 뉴클레오티드, AT 다이뉴클레오티드, 또는 HBV mRNA 서열 내의 뉴클레오티드에 상응하는 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 3' 센스 가닥의 연장부는 다음을 포함하거나 이로 이루어지지만, 이로 한정되지 않는다: T, UT, TT, UU, UUT, TTT, 또는 TTTT (각각은 5'에서 3' 방향으로 나열됨).

[0406] 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 3' 단부는 추가의 무염기성 뉴클레오시드를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, UUAb, UAb, 또는 Ab는 센스 가닥의 3' 단부에 첨가될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 3' 단부에 첨가된 하나 이상의 무염기성 뉴클레오시드는 역전될 수 있다 (invAb). 일부 실시 형태에 있어서, 하나 이상의 역전된 무염기성 뉴클레오시드는 RNAi 작용제의 표적화 리간드와 센스 가닥의 핵염기 서열 사이에 삽입될 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 말단부(들)에 또는 이 근처에 하나 이상의 역전된 무염기성 뉴클레오시드를 포함하는 것은 RNAi 작용제의 활성 또는 다른 요망되는 특성을 향상시킬 수 있다.

[0407] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 길이가 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개 뉴클레오티드인 5' 연장부를 갖는 센스 가닥을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 연장부 뉴클레오티드 중 하나 이상은 우라실 또는 아데노신 뉴클레오티드, 또는 HBV mRNA 서열 내의 뉴클레오티드에 상응하는 뉴클레오티드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 5' 연장부는 다음일 수 있지만, 이로 한정되지 않는다: CA, AUAGGC, AUAGG, AUAG, AUA, A, AA, AC, GCA, GGCA, GGC, UAUCA, UAUC, UCA, UAU, U, UU (각각은 5'에서 3' 방향으로 나열됨). 센스 가닥은 3' 연장부 및/또는 5' 연장부를 가질 수 있다.

[0408] 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 5' 단부는 추가의 무염기성 뉴클레오시드(Ab) 또는 뉴클레오시드들(AbAb)을 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 센스 가닥의 5' 단부에 첨가된 하나 이상의 무염기성 뉴클레오시드는 역전될 수 있다 (invAb). 일부 실시 형태에 있어서, 하나 이상의 역전된 무염기성 뉴클레오시드는 RNAi 작용제의 표적화 리간드와 센스 가닥의 핵염기 서열 사이에 삽입될 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 말단부(들)에 또는 이 근처에 하나 이상의 역전된 무염기성 뉴클레오시드를 포함하는 것은 RNAi 작용제의 활성 또는 다른 요망되는 특성을 향상시킬 수 있다.

[0409] HBV RNAi 작용제를 형성하는 데 사용되는 뉴클레오티드 서열의 예가 표 3 및 표 4에 제공되어 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 서열의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 서열의 뉴클레오티드 1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24, 2-24, 1-25, 2-25, 1-26, 또는 2-26의 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 4의 임의의 서열의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 4의 임의의 서열의 뉴클레오티드 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 1-22, 1-23, 1-24, 1-25, 1-26, 2-19, 2-20, 2-21, 2-22, 2-23, 2-24, 2-25, 2-26, 3-20, 3-21, 3-22, 3-23, 3-24, 3-25, 3-26, 4-21, 4-22, 4-23, 4-24, 4-25, 4-26, 5-22, 5-23, 5-24, 5-25, 5-26, 6-23, 6-24, 6-25, 7-24, 7-25, 8-25, 8-26의 서열을 포함한다.

[0410] 일부 실시 형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥은 동일한 수의 뉴클레오티드를 함유한다. 일부 실시 형태에 있어서, 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥은 상이한 수의 뉴클레오티드를 함유한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 단부와 안티센스 가

닥의 3' 단부는 블런트(blunt) 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 3' 단부와 안티센스 가닥의 5' 단부는 블런트 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 양 단부는 블런트 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 어느 단부도 블런트 단부가 아니다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 블런트 단부는 2개의 어닐링된 가닥의 말단 뉴클레오티드가 상보적인 (상보적 염기 쌍을 형성하는) 이중 가닥 RNAi 작용제의 단부를 지칭한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 단부와 안티센스 가닥의 3' 단부는 프레이드(frayed) 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 센스 가닥의 3' 단부와 안티센스 가닥의 5' 단부는 프레이드 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 어느 단부도 프레이드 단부를 형성한다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 어느 단부도 프레이드 단부가 아니다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 프레이드 단부는 2개의 어닐링된 가닥의 말단 뉴클레오티드가 쌍을 형성하지만 (즉, 오버행(overhang)을 형성하지 않지만) 상보적이지 않은 (즉, 비상보적인 쌍을 형성하는) 이중 가닥 RNAi 작용제의 단부를 지칭한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 오버행은 이중 가닥 RNAi 작용제의 한 가닥의 단부에 있는 하나 이상의 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드의 스트레치이다. 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥 상에 존재하여, 3' 또는 5' 오버행을 생성할 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제는 다음을 함유한다: 블런트 단부와 프레이드 단부, 블런트 단부와 5' 오버행 단부, 블런트 단부와 3' 오버행 단부, 프레이드 단부와 5' 오버행 단부, 프레이드 단부와 3' 오버행 단부, 2개의 5' 오버행 단부, 2개의 3' 오버행 단부, 5' 오버행 단부와 3' 오버행 단부, 2개의 프레이드 단부, 또는 2개의 블런트 단부.

[0411] 뉴클레오티드 염기 (또는 핵염기)는 모든 핵산의 구성요소인 헤테로사이클릭 피리미딘 또는 퓨린 화합물이고, 아데닌(A), 구아닌(G), 시토신(C), 티민(T), 및 우라실(U)을 포함한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 용어 "뉴클레오티드"는 (예를 들어, 뉴클레오티드 모방체, 무염기성 부위(Ab), 또는 대용의 대체 모이어티(moiety)와 같은) 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 변형된 뉴클레오티드는, 다양한 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 작제물에 사용될 때, 세포에서 화합물의 활성을 보존함과 동시에 이들 화합물의 혈청 안정성을 증가시킬 수 있고, 또한 폴리뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드 작제물의 투여시에 인간에서 인터페론 활성을 활성화시킬 가능성을 최소화할 수 있다.

[0412] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 염, 혼합 염, 또는 유리 산으로서 제조되거나 제공된다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 나트륨 염으로서 제조된다. 그러한 형태는 본 명세서에 개시된 본 발명의 범주 내에 있다.

[0413] 변형된 뉴클레오티드

[0414] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드를 함유한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "변형된 뉴클레오티드"는 리보뉴클레오티드 (2'-하이드록실 뉴클레오티드) 이외의 뉴클레오티드이다. 일부 실시 형태에서, 뉴클레오티드의 적어도 50% (예를 들어, 적어도 60%, 적어도 70%, 적어도 80%, 적어도 90%, 적어도 95%, 적어도 97%, 적어도 98%, 적어도 99%, 또는 100%)가 변형된 뉴클레오티드이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 변형된 뉴클레오티드는 데옥시리보뉴클레오티드, 뉴클레오티드 모방체, 무염기성 뉴클레오티드 (본 명세서에서 Ab로 표시됨), 2'-변형된 뉴클레오티드, 3' 대 3' 결합 (역전된) 뉴클레오티드 (본 명세서에서 invdN, invN, invn, invAb로 표시됨), 비천연 염기 포함 뉴클레오티드, 가교된 뉴클레오티드, 웹틴드 핵산(PNA), 2',3'-seco 뉴클레오티드 유사체 (잠금 해제된(unlocked) 핵염기 유사체, 본 명세서에서 N_{UNA} 또는 NUNA로 표시됨), 잠금(locked) 뉴클레오티드(본 명세서에서 N_{UNA} 또는 NLNA로 표시됨), 3'-0-메톡시 (2' 뉴클레오시드간 결합된) 뉴클레오티드 (본 명세서에서 3'-OMen로 표시됨), 2'-F-아라비노 뉴클레오티드 (본 명세서에서 NfANA 또는 Nf_{ANA}로 표시됨), 5'-Me, 2'-플루오로 뉴클레오티드 (본 명세서에서 5Me-Nf로 표시됨), 모르폴리노 뉴클레오티드, 비닐 포스포네이트 데옥시리보뉴클레오티드 (본 명세서에서 vpdN으로 표시됨), 비닐 포스포네이트 함유 뉴클레오티드, 및 사이클로프로필 포스포네이트 함유 뉴클레오티드(cPrpN)를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 2'-변형된 뉴클레오티드 (즉, 5 원 당 고리의 2' 위치에 하이드록실 기 이외의 기를 갖는 뉴클레오티드)는 2'-0-메틸 뉴클레오티드 (뉴클레오티드 서열에서 소문자 'n'으로 표시됨), 2'-데옥시-2'-플루오로 뉴클레오티드 (본 명세서에서 Nf로 표시되고, 또한 본 명세서에서 2'-플루오로 뉴클레오티드로 표시됨), 2'-데옥시 뉴클레오티드 (본 명세서에서 dN으로 표시됨), 2'-메톡시에틸 (2'-0-2-메톡시에틸) 뉴클레오티드 (본 명세서에서 NM 또는 2'-MOE로 표시됨), 2'-아미노 뉴클레오티드, 및 2'-알킬 뉴클레오티드를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 주어진 화합물 내의 모든 위치가 균일하게 변형될 필요는 없다. 반대로, 하나 초과의 변형이 단일 HBV RNAi 작용제에 또는 심지어 이의 단일 뉴클레오티드에 포함될 수 있다. HBV RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스 가닥은 당업계에 공지된 방법에 의해 합성되고/되거나 변형될 수 있다. 한 뉴클레오티드에서

의 변형은 다른 뉴클레오티드에서의 변형과 무관하다.

[0415] 변형된 핵염기는 합성 및 천연 핵염기, 예를 들어 5-치환된 피리미딘, 6-아자피리미딘 및 N-2, N-6 및 O-6 치환된 퓨린 (예를 들어, 2-아미노프로필아데닌, 5-프로파닐우라실, 또는 5-프로파닐시토신), 5-메틸시토신(5-methylcytosine), 5-하이드록시메틸 시토신, 잔틴, 하이포잔틴, 2-아미노아데닌, 아데닌 및 구아닌의 6-알킬 (예를 들어, 6-메틸, 6-에틸, 6-아이소프로필, 또는 6-n-부틸) 유도체, 아데닌 및 구아닌의 2-알킬 (예를 들어, 2-메틸, 2-에틸, 2-아이소프로필, 또는 2-n-부틸) 및 다른 알킬 유도체, 2-티오우라실, 2-티오타민, 2-티오시토신, 5-할로우라실, 시토신, 5-프로파닐 우라실, 5-프로파닐 시토신, 6-아조 우라실, 6-아조 시토신, 6-아조 티민, 5-우라실 (슈도우라실), 4-티오우라실, 8-할로, 8-아미노, 8-설프하이드릴, 8-티오알킬, 8-하이드록실 및 다른 8-치환된 아데닌 및 구아닌, 5-할로 (예를 들어, 5-브로모), 5-트라이플루오로메틸, 및 다른 5-치환된 우라실 및 시토신, 7-메틸구아닌 및 7-메틸아데닌, 8-아자구아닌 및 8-아자아데닌, 7-데아자구닌, 7-데아자아데닌, 3-데아자구아닌, 및 3-데아자아데닌을 포함한다.

[0416] 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제의 뉴클레오티드의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 존재하는 뉴클레오티드의 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드인 RNAi 작용제는 리보뉴클레오티드인 센스 가닥과 안티센스 가닥 둘 모두에서 4개 이하 (즉, 0개, 1개, 2개, 3개, 또는 4개)의 뉴클레오티드를 갖는 RNAi 작용제이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 존재하는 뉴클레오티드의 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드인 센스 가닥은 리보뉴클레오티드인 센스 가닥에서 2개 이하 (즉, 0개, 1개, 또는 2개)의 뉴클레오티드를 갖는 센스 가닥이다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 존재하는 뉴클레오티드의 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드인 안티센스 가닥은 리보뉴클레오티드인 센스 가닥에서 2개 이하 (즉, 0개, 1개, 또는 2개)의 뉴클레오티드를 갖는 안티센스 가닥이다. 일부 실시 형태에서, RNAi 작용제의 하나 이상의 뉴클레오티드는 리보뉴클레오티드이다.

변형된 뉴클레오시드간 결합

[0418] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 하나 이상의 뉴클레오티드는 비표준 결합 또는 골격 (즉, 변형된 뉴클레오시드간 결합 또는 변형된 골격)에 의해 연결된다. 일부 실시 형태에 있어서, 변형된 뉴클레오시드간 결합은 포스페이트 비함유 공유 뉴클레오시드간 결합이다. 변형된 뉴클레오시드간 결합 또는 골격은 5'-포스포로티오에이트 기 (본 명세서에서 소문자 "s"로 표시됨), 카이랄 포스포로티오에이트, 티오포스페이트, 포스포로다이티오에이트, 포스포트라이에스테르, 아미노알킬-포스포트라이에스테르, 알킬 포스포네이트 (예를 들어, 메틸 포스포네이트 또는 3'-알킬렌 포스포네이트), 카이랄 포스포네이트, 포스피네이트, 포스포르아미데이트 (예를 들어, 3'-아미노 포스포르아미데이트, 아미노알킬포스포르아미데이트, 또는 티오노포스포르아미데이트), 티오노알킬-포스포네이트, 티오노알킬포스포트라이에스테르, 모르폴리노 결합, 정상적인 3'-5' 결합을 갖는 보라노포스페이트, 보라노포스페이트의 2'-5' 연결된 유사체, 또는 뉴클레오시드 단위의 인접한 쌍이 3'-5' 대 5'-3' 또는 2'-5' 대 5'-2'로 연결되는 역전된 극성을 갖는 보라노포스페이트를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에 있어서, 변형된 뉴클레오시드간 결합 또는 골격은 인 원자를 결여한다. 인 원자를 결여하는 변형된 뉴클레오시드간 결합은 단쇄 알킬 또는 사이클로알킬 당간 결합, 혼합 헤테로 원자 및 알킬 또는 사이클로알킬 당간 결합, 또는 하나 이상의 단쇄 헤테로 원자 또는 헤테로사이클릭 당간 결합을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 일부 실시 형태에 있어서, 변형된 뉴클레오시드간 골격은 실록산 골격, 설파이드 골격, 설폭사이드 골격, 설플 골격, 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격, 메틸렌 포름아세틸 및 티오포름아세틸 골격, 알켄 함유 골격, 설파메이트 골격, 메틸렌아미노 및 메틸렌하이드라지노 골격, 설포네이트 및 설플아미드 골격, 아미드 골격, 및 혼합 N, O, S 및 CH₂ 성분을 갖는 다른 골격을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다.

[0419] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있거나, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있거나, 또는 센스 가닥과 안티센스 가닥 둘 모두는 독립적으로 1개, 2개, 3개, 4개, 5개, 또는 6개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있거나, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있거나, 또는 센스 가닥과 안티센스 가닥 둘 모두는 독립적으로 1개, 2개, 3개, 또는 4개의 포스포로티오에이트 결합을 함유할 수 있다.

[0420] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합을 함유한다. 일부 실시 형태에서, 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합은 센스 가닥의 3' 단부로부터 위치 1-3에 있는 뉴클레오티드들 사이에 있다. 일부 실시 형태에서, 적어도 2개의 포스포로티오에이트

뉴클레오시드간 결합은 센스 가닥의 5' 단부로부터 위치 1-3, 2-4, 3-5, 4-6, 4-5, 또는 6-8에 있는 뉴클레오티드들 사이에 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합을 함유한다. 일부 실시 형태에서, 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합은 센스 가닥의 5' 단부로부터 위치 1-3에 있는 뉴클레오티드 사이에 그리고 5' 단부로부터 위치 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25, 또는 24-26에 있는 뉴클레오티드들 사이에 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 센스 가닥에 적어도 2개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합을 그리고 안티센스 가닥 내 3개 또는 4개의 포스포로티오에이트 뉴클레오시드간 결합을 함유한다.

[0421] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 하나 이상의 변형된 뉴클레오티드 및 하나 이상의 변형된 뉴클레오시드간 결합을 함유한다. 일부 실시 형태에 있어서, 2'-변형된 뉴클레오시드는 변형된 뉴클레오시드간 결합과 조합된다.

[0422] HBV RNAi 작용제

[0423] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 하기 표 1에 나타낸 HBV 계놈의 위치에 또는 이 근처에 있는 HBV 유전자를 표적화한다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 1에 개시된 표적 HBV 19량체 서열에 완전히, 실질적으로, 또는 적어도 부분적으로 상보적인 코어 스트레치 서열을 포함한다.

[0424] [표 1]

HBV RNAi 작용제를 위한 예시적인 19량체 HBV cDNA 표적 서열(B 형 간염 바이러스(서브타입 ADW2),

유전자형 A, 완전한 계놈 GenBank AM282986.1(서열 번호 1)로부터 취해짐).

서열 번호	HBV 19량체 표적 서열 (5' → 3')	계놈 서열 번호 1의 위치	표적화된 HBV 유전자의 영역
2	GTGGTGGACTTCTCTCAAT	256-274	S ORF
3	TGGTGGAACCTCTCTCAATT	257-275	S ORF
4	GGACTTCTCTCAATTTCCT	261-279	S ORF
5	GCTGTAGGCATAAATTGGT	1780-1798	X ORF
6	CTGTAGGCATAAATTGGTC	1781-1799	X ORF

[0425]

[0426] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥 (5'→3')의 19번 위치는 표 1에 개시된 19량체 표적 서열의 1번 위치와 염기쌍을 형성할 수 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥 (5'→3')의 1번 위치는 표 1에 개시된 19량체 표적 서열의 19번 위치와 염기쌍을 형성할 수 있다.

[0427]

일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥 (5'→3')의 2번 위치는 표 1에 개시된 19량체 표적 서열의 18번 위치와 염기쌍을 형성할 수 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 안티센스 가닥을 포함하며, 안티센스 가닥 (5'→3')의 2번 내지 18번 위치는 표 1에 개시된 19량체 표적 서열의 18번 내지 2번 위치에 위치한 각각의 상보적 염기와 각각 염기쌍을 형성할 수 있다.

[0428]

일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 하기 표 2에 나타낸 코어 19량체 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0429]

[표 2]

HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥 및 센스 가닥의 코어 스트레치 서열 (N = 임의의 뉴클레오티드).

서열 번호	안티센스 서열 (5' → 3') (19 향체)	서열 번호	센스 서열 (5' → 3') (19 향체)	계속 서열 번호 1의 위치
7	AUUGAGAGAAGGUCCACAC	34	GUGGUGGACUUUCUCUCAAU	256-274
8	UUUGAGAGAAGGUCCACAC	35	GUGGUGGACUUUCUCUAAA	256-274
9	AUUGAGAGAAGGUCCACAN	36	NUGGUGGACUUUCUCUAAU	256-274
10	UUUGAGAGAAGGUCCACAN	37	NUGGUGGACUUUCUCUAAA	256-274
11	NUUGAGAGAAGGUCCACAN	38	NUGGUGGACUUUCUCUAAAN	256-274
12	AAUUGAGAGAAGGUCCACCA	39	UGGUGGACUUUCUCUAAUU	257-275
13	UAUUGAGAGAAGGUCCACCA	40	UGGUGGACUUUCUCUAAUA	257-275
14	AAUUGAGAGAAGGUCCACCN	41	NGGUGGACUUUCUCUAAUU	257-275
15	UAUUGAGAGAAGGUCCACCN	42	NGGUGGACUUUCUCUAAUA	257-275
16	NAUUGAGAGAAGGUCCACCN	43	NGGUGGACUUUCUCUAAUN	257-275
17	AGAAAAAUJUGAGAGAAGUCC	44	GGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
18	UGAAAAAUJUGAGAGAAGUCC	45	GGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279
19	AGAAAAAUJUGAGAGAAGUCN	46	NGACUUCUCUCAAUUUUCU	261-279
20	UGAAAAAUJUGAGAGAAGUCN	47	NGACUUCUCUCAAUUUUCA	261-279
21	NGAAAAAUJUGAGAGAAGUCN	48	NGACUUCUCUCAAUUUUCN	261-279
22	ACCAAUUUUAUGCCUACAGC	49	GCUGUAGGCATAAAUUGGU	1780-1798
23	UCCAAUUUAUGCCUACAGC	50	GCUGUAGGCATAAAUUGGA	1780-1798
24	ACCAAUUUUAUGCCUACAGN	51	NCUGUAGGCATAAAUUGGU	1780-1798
25	UCCAAUUUAUGCCUACAGN	52	NCUGUAGGCATAAAUUGGA	1780-1798
26	NCCAAUUUAUGCCUACAGN	53	NCUGUAGGCATAAAUUGGN	1780-1798
27	GACCAAUUUUAUGCCUACAG	54	CUGUAGGCATAAAUUGGC	1781-1799
28	AACCAAUUUUAUGCCUACAG	55	CUGUAGGCATAAAUUGGU	1781-1799
29	UACCAAUUUUAUGCCUACAG	56	CUGUAGGCATAAAUUGGU	1781-1799
30	GACCAAUUUUAUGCCUACAN	57	NUGUAGGCATAAAUUGGC	1781-1799
31	AACCAAUUUUAUGCCUACAN	58	NUGUAGGCATAAAUUGGU	1781-1799
32	UACCAAUUUUAUGCCUACAN	59	NUGUAGGCATAAAUUGGU	1781-1799
33	NACCAAUUUUAUGCCUACAN	60	NUGUAGGCATAAAUUGGU	1781-1799

[0430]

표 2의 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 이루어지는 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥과 안티센스 가닥은 변형된 뉴클레오티드 또는 비변형된 뉴클레오티드일 수 있다. 일부 실시 형태에서, 표 2의 뉴클레오티드 서열을 포함하거나 이로 이루어진 센스 및 안티센스 가닥 서열을 갖는 HBV RNAi 작용제의 전부 또는 실질적으로 전부가 변형된 뉴클레오티드이다.

[0432]

일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 2의 임의의 안티센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 2의 임의의 센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다.

[0433]

변형된 HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥 서열뿐만 아니라 이들의 기초가 되는 비변형된 서열이 표 3에 제공되어 있다. 변형된 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥뿐만 아니라 이들의 기초가 되는 비변형된 서열이 표 4에 제공되어 있다. HBV RNAi 작용제를 형성함에 있어서, 표 3 및 4에 나열된 각각의 비변형된 서열 내의 각각의 뉴클레오티드는 변형된 뉴클레오티드일 수 있다.

[0434]

본 명세서 (표 3 및 표 4를 포함함)에 사용되는 바와 같이, 변형된 뉴클레오티드, 표적화 기, 및 연결 기를 나타내기 위해 하기 표기가 사용된다. 당업자는, 서열에 의해 달리 지시되지 않는 한, 올리고뉴클레오티드에 존재할 때, 단량체가 5'-3'-포스포다이에스테르 결합에 의해 상호 연결됨을 용이하게 이해할 것이다:

[0435]

A = 아데노신-3'-포스페이트;

[0436]

C = 시티딘-3'-포스페이트;

[0437]

G = 구아노신-3'-포스페이트;

[0438]

U = 우리딘-3'-포스페이트

[0439]

n = 임의의 2'-OMe 개질된 뉴클레오티드

[0440]

a = 2'-O-메틸아데노신-3'-포스페이트

[0441]

as = 2'-O-메틸아데노신-3'-포스포로티오에이트

[0442]

c = 2'-O-메틸시티딘-3'-포스페이트

[0443]

cs = 2'-O-메틸시티딘-3'-포스포로티오에이트

[0444]

g = 2'-O-메틸구아노신-3'-포스페이트

[0445]

gs = 2'-O-메틸구아노신-3'-포스포로티오에이트

- [0446] t = 2'-0-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스페이트
- [0447] ts = 2'-0-메틸-5-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
- [0448] u = 2'-0-메틸우리딘-3'-포스페이트
- [0449] us = 2'-0-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
- [0450] Nf = 임의의 2'-플루오로 변형된 뉴클레오티드
- [0451] Af = 2'-플루오로아데노신-3'-포스페이트
- [0452] Afs = 2'-플루오로아데노신-3'-포스포로티오에이트
- [0453] Cf = 2'-플루오로시티딘-3'-포스페이트
- [0454] Cfs = 2'-플루오로시티딘-3'-포스포로티오에이트
- [0455] Gf = 2'-플루오로구아노신-3'-포스페이트
- [0456] Gfs = 2'-플루오로구아노신-3'-포스포로티오에이트
- [0457] Tf = 2'-플루오로-5'-메틸우리딘-3'-포스페이트
- [0458] Tfs = 2'-플루오로-5'-메틸우리딘-3'-포스포로티오에이트
- [0459] Uf = 2'-플루오로우리딘-3'-포스페이트
- [0460] Ufs = 2'-플루오로우리딘-3'-포스포로티오에이트
- [0461] dN = 임의의 2'-데옥시리보뉴클레오티드
- [0462] dT = 2'-데옥시티미딘-3'-포스페이트
- [0463] N_{LNA} = 2',3'-seco 뉴클레오티드 모방체 (잠금 해제된 핵염기 유사체)
- [0464] N_{LNA} = 잠금 뉴클레오티드
- [0465] Nf_{ANA} = 2'-F-아라비노 뉴클레오티드
- [0466] NM = 2'-메톡시에틸 뉴클레오티드
- [0467] AM = 2'-메톡시에틸아데노신-3'-포스페이트
- [0468] AMs = 2'-메톡시에틸아데노신-3'-포스포로티오에이트
- [0469] TM = 2'-메톡시에틸티미딘-3'-포스페이트
- [0470] TMs = 2'-메톡시에틸티미딘-3'-포스포로티오에이트
- [0471] R = 리비톨
- [0472] (invdN) = 임의의 역전된 데옥시리보뉴클레오티드(3'-3' 연결된 뉴클레오티드)
- [0473] (invAb) = 역전된 (3'-3' 연결된) 무염기성 데옥시리보뉴클레오티드, 표 6 참조
- [0474] (invAb)s = 역전된 (3'-3' 연결된) 무염기성 데옥시리보뉴클레오티드-5'-포스포로티오에이트, 표 6 참조
- [0475] (invn) = 임의의 역전된 2'-OMe 뉴클레오티드 (3'-3' 연결된 뉴클레오티드)
- [0477] s = 포스포로티오에이트 결합
- [0478] vpdN = 비닐 포스포네이트 데옥시리보뉴클레오티드
- [0479] (5Me-Nf) = 5'-Me, 2'-플루오로 뉴클레오티드
- [0480] cPrp = 사이클로프로필 포스포네이트, 표 6 참조

[0481] epTcPr = 표 6 참조

[0482] epTM = 표 6 참조

[0483] 당업자는 주어진 올리고뉴클레오티드 서열의 3' 단부에 있는 말단 뉴클레오티드가 전형적으로 생체외에서 주어진 단량체의 각각의 3' 위치에 포스페이트 모이어티 대신 하이드록실(-OH) 기를 가질 것임을 용이하게 이해할 것이다. 따라서, 예를 들어, 상기 AD05070의 구조 표현에서 상기에 나타낸 바와 같이, AM06606-AS의 안티센스 가닥의 3' 단부 상의 "g" 변형된 뉴클레오티드는 이의 3' 위치에 위치된 하이드록실기를 가진다. 본 명세서에서 달리 명확하게 나타내지 않는 한, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제 및 HBV RNAi 작용제의 조성물을 설명할 때 당업자의 그러한 이해가 사용된다.

[0484] 표적화 기 및 연결 기는 다음을 포함하며, 이들의 화학 구조는 하기 표 6에 제공되어 있다: (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), (NAG39)s. 각각의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥은 상기 나열된 임의의 표적화 기 또는 연결 기뿐만 아니라 서열의 5' 및/또는 3' 단부에 접합된 다른 표적화 또는 연결 기를 가질 수 있다.

[0485] [표 3]

HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥 서열

AS 가닥 ID	변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호	비변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호
AM03508-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcGccusuAu	61	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCCUUAU	149
AM04441-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcscsu	62	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCC	150
AM04442-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcChAfcAfgcGccsu	63	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGCCU	150
AM04443-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcGfsc	64	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM04661-AS	usGfsgaAfCfcfaaguGfcAfccusu	65	UGUGAAAGCGAAGUGCACACUU	152
AM04768-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcscuccgc	66	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM04769-AS	vpusAfscCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfccscuccgc	67	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUCCGC	153
AM05011-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcChAfcAfgsu	68	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05012-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfggsc	69	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05013-AS	vpusAfscCfaAfuUfuAfuGfcChAfcAfgcfs	70	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGC	151
AM05014-AS	vpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgsu	71	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05052-AS	asUfsuGfaGfGfaAfUfcCfaCfcAfGfsa	72	AUUGAGAGAACGUCCACCGA	155
AM05053-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfUfcCfaCfcAfgsa	73	AUUGAGAGAACGUCCACACGA	155
AM05054-AS	asUfsuGfaGfGfaAfUfcCfaCfcAfgsu	74	AUUGAGAGAACGUCCACACUU	156
AM05055-AS	vpusUfsuGfaGfaGfaAfUfcCfcAfGfsa	75	UUUGAGAGAACGUCCACCGA	157
AM05056-AS	asUfsuUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfg	76	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	158
AM05057-AS	asAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcsg	77	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	158
AM05058-AS	asUfsuUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfcsusu	78	AAUUGAGAGAACGUCCACACUU	159
AM05060-AS	vpusAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfg	79	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	160
AM05351-AS	usAfscCfaAfuUfuAfuGfcChAfcAfgcGfs	80	UACCAAUUUUAUGCCUACAGGU	161
AM05608-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgsu	81	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05609-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcChAfcAfgcGsc	82	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05610-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfccusu	83	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCU	163

[0486]

AM05611-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcCfuAfcAfgcsc	84	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05612-AS	usAfscscaauUfuUfuGfcCfcacagcsc	85	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05613-AS	usAfscscaauUfuUfuGfcCfcacageccsu	86	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05614-AS	usAfscscaauUfuUfuGfcCfcacagccsc	87	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05618-AS	asUfsusgagaGfaAfUfcCfcacacusu	88	AUUGAGAGAACGUCCACACUU	156
AM05621-AS	usUfsuGfaGfaAfUfcCfcAfCfcus	89	UUUGAGAGAACGUCCACACUU	165
AM05623-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfUfcCfcAfccggsu	90	AUUGAGAGAACGUCCACACGGUU	166
AM05626-AS	asUfsusgagaGfaAfUfcCfcacacgsu	91	AUUGAGAGAACGUCCACACGGUU	166
AM05628-AS	asUfsusGfaGfaGfaAfUfcCfcAfCfcgagsu	92	AUUGAGAGAACGUCCACACGGAGU	167
AM05631-AS	usAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfg	93	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	160
AM05632-AS	usAfsusugagAfAfcGfuCfcacacsg	94	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	160
AM05633-AS	usAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfgusu	95	AAUUGAGAGAACGUCCACACGUU	168
AM05634-AS	usAfsusugagAfAfcGfuCfcacacgsg	96	AAUUGAGAGAACGUCCACACGAG	169
AM05635-AS	usAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfgasg	97	AAUUGAGAGAACGUCCACACGAG	169
AM05637-AS	usAfsusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfgsa	98	AAUUGAGAGAACGUCCACACGA	170
AM05638-AS	usAfsusugagAfAfcGfuCfcacacgsa	99	AAUUGAGAGAACGUCCACACGA	170
AM05747-AS	asGfsasAfaAfugagAfAfcGfuCfcAfsc	100	AGAAAAUUAGAGAGAACGUCCAC	171
AM05849-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgsu	101	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05850-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcsc	102	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCC	162
AM05851-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu	103	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCUU	172
AM05852-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcscu	104	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCU	173
AM05853-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfgcusu	105	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUU	163
AM05854-AS	usAfscsCfaAfuuuauGfcCfuAfcAfccusc	106	UACCAAUUUUAUGCCUACAGCCUC	164
AM05855-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuGfcCfuAfcAfgsu	107	UACCAAUUUUAUGCCUACAGUU	154
AM05860-AS	cPrpusAfusUfgAfAfgAfAfcGfuCfcAfCfcfg	108	AAUUGAGAGAACGUCCACACG	160
AM05862-AS	usAfsusUfgAfagagaaGfuCfcAfCfcfausu	109	AAUUGAGAGAACGUCCACCAU	174
AM05863-AS	usAfsusUfgAfagagaaGfuCfcAfCfcfg	110	AAUUGAGAGAACGUCCACG	160
AM05864-AS	usAfsusUfgAfagagaaGfuCfcAfCfcacsu	111	AAUUGAGAGAACGUCCACACUU	175

[0487]

AM05865-AS	usAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacgsa	112	UAUUGAGAGAAGUCCACCAACGA	170
AM05867-AS	vpusAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacgs	113	UAUUGAGAGAAGUCCACCAACG	160
AM05873-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcFaCfcAfcusu	114	UUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	165
AM05874-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcFaCfcAfcgsa	115	UUUGAGAGAAGGUCCACCAACGA	157
AM05875-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcFaCfcAfcgusu	116	UUUGAGAGAAGGUCCACCAACGUU	176
AM05876-AS	usUfsusGfaGfagaagUfcFaCfcAfcgasg	117	UUUGAGAGAAGGUCCACCAACGAG	177
AM05877-AS	cPrpusUfsusGfaGfafaGfuCfcAfcAfcusu	118	UUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	165
AM06074-AS	cPrpusUfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacusu	119	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	175
AM06142-AS	usAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacusu	120	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	175
AM06143-AS	usAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacgs	121	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACGUU	168
AM06144-AS	usAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacusus(invAb)	122	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	175
AM06145-AS	usAfsusUfgAfagaaGfuCfcAfcFcacgs	123	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACGAG	169
AM06222-AS	usAfsusUfgAfAgAfAfuGfuCfcAfcFcacusu	124	UAUUGAGAGAAGGUCCACCAACUU	175
AM06281-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcusu	125	AGAAAAUUUAGAGAAGGUCCUU	178
AM06282-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcasc	126	AGAAAAUUUAGAGAAGGUCCAC	171
AM06283-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcacusu	127	AGAAAAUUUAGAGAAGGUCCACUU	179
AM06284-AS	asGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcasc	128	AGAAAAUUUAGAGAAGGUCCACC	180
AM06285-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcusu	129	UGAAAAUUUAGAGAAGGUCCUU	152
AM06286-AS	usGfsasAfaAfuUfgAfAgAfAfuGfuCfcasc	130	UGAAAAUUUAGAGAAGGUCCAC	181
AM06299-AS	asCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	131	ACCAAUUUAUGGCCUACAGCUU	182
AM06300-AS	asCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	132	ACCAAUUUAUGGCCUACAGCCUU	183
AM06301-AS	asCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusc	133	ACCAAUUUAUGGCCUACAGCCUC	184
AM06302-AS	usCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	134	UCCAAUUUAUGGCCUACAGCUU	185
AM06303-AS	usCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	135	UCCAAUUUAUGGCCUACAGCCUU	186
AM06463-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	136	UACCAAUUUAUGGCCUACAGCC	162
AM06464-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	137	UACCAAUUUAUGGCCUACAGCC	162
AM06465-AS	cPrpusAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	138	UACCAAUUUAUGGCCUACAGCC	162
AM06604-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	139	UACCAAUUUAUGGCCUACAGCU	187

[0488]

AM06606-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	140	UACCAAUUUUAUGGCCUACAGCG	188
AM06608-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	141	AACCAAUUUUAUGGCCUACAGCC	189
AM06611-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	142	UACCAAUUUUAUGGCCUACAGUU	154
AM06612-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	143	UACCAAUUUUAUGGCCUACAGCC	162
AM06614-AS	asCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	144	ACCAAUUUAUGGCCUACAGCCU	190
AM06616-AS	usCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcusu	145	UCCAAUUUAUGGCCUACAGCCU	191
AM06618-AS	asCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcsg	146	ACCAAUUUAUGGCCUACAGCCG	192
AM06620-AS	usCfcsasAfaAfuUfgCfcUfaCfcGfcsg	147	UCCAAUUUAUGGCCUACAGCCG	193
AM06751-AS	usAfscsCfaAfuUfuAfuGfcFuAfcAfgs	148	UACCAAUUUUAUGGCCUACAGGG	194

[0489]

[표 4]

HBV RNAi 작용제의 셀스 가단 서열.

가단 ID	변형된 서열(5' → 3')	서열 번호	비변형된 서열(5' → 3')	서열 번호
AM04444-SS	(NAG25)iusgscctuguaGfCfAfiaauuugguaus(invD)	195	UGCCUGUAGGCATAAAUUGGUAT	275
AM04445-SS	(NAG25)iuauausgscctuguaGfCfAfiaauuuggu(invD)	196	UAUAUGCCUGUAGGCATAAAUUGGU	276
AM04767-SS	(NAG25)gcggaggscctuguaGfCfAfiaauuuggTM(invD)	197	GCGGAGGGUGUAGGCATAAAUUGGT	277
AM05010-SS	(NAG25)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	198	CUGUAGGCATAAAUUGGUAU	278
AM05015-SS	(NAG25)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	199	GGCCUGUAGGCATAAAUUGGU	279
AM05016-SS	(NAG25)scctugagGfCfAfiaauuuggus(invD)	200	GGCCUGUAGGCATAAAUUGGU	279
AM05017-SS	(NAG25)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	201	GGCCUGUAGGCATAAAUUGGU	279
AM05018-SS	(NAG25)scctugagGfCfAfiaauuuggTMAM(invAb)	202	GGCCUGUAGGCATAAAUUGGT	280
AM05019-SS	(NAG25)asacugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	203	AACUGUAGGCATAAAUUGGU	281
AM05034-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	204	UCGUGGUGGACUUUCUCUAAU	282
AM05046-SS	(NAG25)asagugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	205	AAUGGUGGACUUUCUCUAAU	283
AM05047-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaAMTMs(invAb)	206	UCGUGGUGGACUUUCUCUAAAT	284
AM05048-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	207	CGUGGUGGACUUUCUCUAAU	285
AM05049-SS	(NAG25)asauugguggGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	208	AAUGGUGGACUUUCUCUAAU	286
AM05050-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaAMTMs(invAb)	209	CGUGGUGGACUUUCUCUAAAT	287
AM05051-SS	(NAG25)sgsgacuuucifUfCfaauuugguaus(invAb)	210	GGACUUUCUCUAAUUCUAA	288
AM05063-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	211	CGUGGUGGACUUUCUCUAAU	289
AM05064-SS	(NAG25)scctugugagGfCfAfiaauuugguaas(invAb)	212	UCGUGGUGGACUUUCUCUAAA	290
AM05346-SS	(NAG31)scctugugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	213	ACCUGUAGGCATAAAUUGGU	291
AM05347-SS	(NAG31)s(invAb)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	214	CUGUAGGCATAAAUUGGU	292
AM05606-SS	(NAG25)s(invAb)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	215	CUGUAGGCATAAAUUGGU	292
AM05607-SS	(NAG37)s(invAb)scctugagGfCfAfiaauuugguaus(invAb)	216	CUGUAGGCATAAAUUGGU	292

[0491]

가닥 ID	변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호	비변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호
AM05615-SS	(NAG25)s(invAb)sacuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	217	ACUGUAGGCAUAUUUGGUA	293
AM05616-SS	(NAG25)sgscuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	218	GCGUGUAGGCACAUUUUGGUA	294
AM05617-SS	(NAG37)sasagugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	219	AAAGUGGGGACCUUCUCUCAAU	283
AM05620-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	220	AAAGUGGGGACCUUCUCUCAA	295
AM05622-SS	(NAG25)scsgugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	221	CCGUGGGGACCUUCUCUCAAU	296
AM05624-SS	(NAG25)s(invAb)scsgugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	222	CCGUGGGGACCUUCUCUCAAU	296
AM05627-SS	(NAG25)scscugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	223	CUCUGGGGACCUUCUCUCAAU	297
AM05629-SS	(NAG25)(invAb)sgugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	224	GUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	298
AM05630-SS	(NAG25)s(invAb)sgugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	225	GUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	299
AM05636-SS	(NAG25)suscugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	226	UGCGUGGGGACCUUCUCUCAAU	300
AM05639-SS	(NAG25)s(invAb)suguggAfcf'fuucucaaus(invAb)	227	UGGUGGACCUUCUCUCAAU	301
AM05640-SS	(NAG37)(invAb)suguggAfcf'fuucucaaus(invAb)	228	UGGUGGACCUUCUCUCAAU	301
AM05746-SS	(NAG25)sgsgacuuCfufcuucucaaus(invAb)	229	GUGGACCUUCUCUCAAUUCU	302
AM05856-SS	(NAG25)s(invAb)scuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	230	CUGUAGGCAUAUUUGGUAUU	278
AM05857-SS	(NAG25)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	231	GCUGUAGGCAAAAUUGGUAUU	303
AM05858-SS	(NAG25)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	232	GCGUGUAGGCACAUUUUGGUAU	304
AM05859-SS	(NAG25)(invAb)scacuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	233	AACUGUAGGCAAAAUUGGUAUU	305
AM05868-SS	(NAG25)(invAb)sguggugAfcf'fuucucaaus(invAb)	234	UGGUGGACCUUCUCUCAAU	306
AM05869-SS	(NAG25)(invAb)sgugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	235	GUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	307
AM05870-SS	(NAG25)sasagugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	236	AAUGGUGGACCUUCUCUCAAU	308
AM05871-SS	(NAG25)scsgugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	237	CGUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	309
AM05872-SS	(NAG31)scsgugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	238	CGUGGGUGGACCUUCUCUCAA	289
AM05879-SS	(NAG25)(invAb)sagugugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	239	AAGUGGGGACCUUCUCUCAAU	283
AM05880-SS	(NAG25)(invAb)suguggGfAfcfuucucaaus(invAb)	240	GUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	310

[0492]

가닥 ID	변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호	비변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호
AM05881-SS	(NAG25)(invAb)scsgugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	241	CGUGGGGACCUUCUCUCAAU	311
AM05882-SS	(NAG25)sasagugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	242	AAAGUGGGGACCUUCUCUCAAU	312
AM05883-SS	(NAG25)scscugugGfAfcfuucucaaus(invAb)	243	UCGUGGGGACCUUCUCUCAAU	313
AM06146-SS	(NAG37)(invAb)sgugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	244	GUGGGUGGACCUUCUCUCAAU	307
AM06147-SS	(NAG37)(invAb)scgugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	245	CUGUGGUGGACCUUCUCUCAAU	309
AM06148-SS	(NAG37)(invAb)scugugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	246	CUCGUGGUUGGACCUUCUCUCAA	314
AM06149-SS	(NAG37)(invAb)scscugugugAfcf'fuucucaaus(invAb)	247	CUCGUGGUUGGACCUUCUCUCAAU	315
AM06150-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	248	GGCGUGUAGGCACAUUUUGGUA	294
AM06151-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	249	GAGGCUGUAGGCACAUUUUGGUA	316
AM06152-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	250	GAGGCUGUAGGCACAUUUUGGUA	317
AM06287-SS	(NAG37)(invAb)sggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	251	GACACUUCUCUCAAUUCU	318
AM06288-SS	(NAG37)(invAb)sguggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	252	GUGGACUUCUCUCAAUUCU	302
AM06289-SS	(NAG37)(invAb)sgggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	253	GUGGACUUCUCUCAAUUCU	319
AM06290-SS	(NAG37)(invAb)sggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	254	GACACUUCUCUCAAUUCU	320
AM06291-SS	(NAG37)(invAb)sggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	255	GUGGACUUCUCUCAAUUCU	321
AM06304-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	256	GCUGUAGGCAAAAUUGGU	322
AM06305-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	257	GGCGUGUAGGCACAUUUUGGU	323
AM06306-SS	(NAG37)(invAb)sgaggcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	258	GAGGCUGUAGGCACAUUUUGGU	324
AM06307-SS	(NAG37)(invAb)scguguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	259	GGCGUGUAGGCACAUUUUGGA	325
AM06308-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	260	GGCGUGUAGGCACAUUUUGGA	326
AM06603-SS	(NAG37)(invAb)sagcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	261	AGCGUGUAGGCACAUUUUGGUA	327
AM06605-SS	(NAG37)(invAb)scguguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	262	CGCGUGUAGGCACAUUUUGGUA	328
AM06607-SS	(NAG37)(invAb)sgcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	263	GCGUGUAGGCACAUUUUGGUA	329
AM06609-SS	(NAG37)(invAb)scguguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	264	CUGUAGGCAAAAUUGGU	278

[0493]

가닥 ID	변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호	비변형된 서열 (5' → 3')	서열 번호
AM06610-SS	(NAG37)(invAb)scnfAfAfGfCfAfufGfGfusuu(invAb)	265	CUGUAGGCAUAUUUGGU	278
AM06613-SS	(NAG37)(invAb)saggcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	266	AGGCUGUAGGCACAUUUUGGU	330
AM06615-SS	(NAG37)(invAb)saggcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	267	AGGCUGUAGGCACAUUUUGGA	331
AM06617-SS	(NAG37)(invAb)scggcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	268	CGGCUGUAGGCACAUUUUGGU	332
AM06619-SS	(NAG37)(invAb)scggcuguaGfGfAfuaauuggua(invAb)	269	CGGCUGUAGGCACAUUUUGGA	333
AM06750-SS	(NAG37)(invAb)scggcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	270	CCCGUGUAGGCACAUUUUGGU	334
AM06752-SS	(NAG37)scggcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	271	CCCGUGUAGGCACAUUUUGGU	328
AM06753-SS	(NAG37)scggcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	272	CCCGUGUAGGCACAUUUUGGU	334
AM06776-SS	(NAG25)(invAb)sggacuuCfufcuuauuueus(invAb)	273	GUGGACUUCUCUCAAUUCU	302
AM06777-SS	(NAG25)(invAb)scggcuguaGfCfAfuaauuggua(invAb)	274	CGCGUGUAGGCACAUUUUGGU	328

[0494]

[0495] 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용체는 센스 가닥과 함께 안티센스 가닥을 어닐링함으로써 형성된다. 표 4에 나열된 서열을 함유하는 센스 가닥은 표 3에 나열된 서열을 함유하는 임의의 안티센스 가닥에 혼성화될 수 있으며, 단, 두 서열은 연속적인 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 또는 21개의 뉴클레오티드 서열에 걸쳐 적어도 약 85%의 상보성 영역을 갖는다.

[0496]

일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용체의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 안티센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용체의 센스 가닥은 표 4의 임의의 센스 가닥 서열과 0개, 1개, 2개, 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이하다.

[0497]

일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용체의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 서열의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용체의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-

24, 2-24, 1-25, 2-25, 1-26, 또는 2-26의 서열을 포함한다.

[0498] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 4의 임의의 서열의 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 4의 임의의 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 1-17, 2-17, 3-17, 4-17, 1-18, 2-18, 3-18, 4-18, 1-19, 2-19, 3-19, 4-19, 1-20, 2-20, 3-20, 4-20, 1-21, 2-21, 3-21, 4-21, 1-22, 2-22, 3-22, 4-22, 1-23, 2-23, 3-23, 4-23, 1-24, 2-24, 3-24, 4-24, 1-25, 2-25, 3-25, 4-25, 1-26, 2-26, 3-26, 또는 4-26의 서열을 포함한다.

[0499] 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제의 경우, (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 안티센스 가닥의 1번 위치의 뉴클레오티드는 HBV 유전자에 완벽하게 상보적일 수 있거나, HBV 유전자에 대해 비상보적일 수 있다. 일부 실시 형태에서, (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 안티센스 가닥의 1번 위치의 뉴클레오티드는 U, A, 또는 dT 이다. 일부 실시 형태에서, (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 안티센스 가닥의 1번 위치의 뉴클레오티드는 센스 가닥과 함께 A:U 또는 U:A 염기쌍을 형성한다.

[0500] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 안티센스 가닥은 표 3의 임의의 안티센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 2-18 또는 2-19의 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제의 센스 가닥은 표 4의 임의의 센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 1-17 또는 1-18의 서열을 포함한다.

[0501] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 (i) 표 3의 임의의 안티센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 2-18 또는 2-19의 서열을 포함하는 안티센스 가닥, 및 (ii) 표 4의 임의의 센스 가닥 서열의 뉴클레오티드 (5' 단부 → 3' 단부 방향으로) 1-17 또는 1-18의 서열을 포함하는 센스 가닥을 포함한다.

[0502] 표 4에 나열된 서열을 함유하는 센스 가닥은 표 3에 나열된 서열을 함유하는 임의의 안티센스 가닥에 혼성화될 수 있으며, 단, 두 서열은 연속적인 16개, 17개, 18개, 19개, 20개, 또는 21개의 뉴클레오티드 서열에 걸쳐 적어도 약 85%의 상보성 영역을 갖는다. 대표적인 서열 쌍은 표 5에 나타낸 이중체 ID 번호에 의해 예시된다.

[0503] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호를 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호로 이루어진다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 뉴클레오티드 서열 및 및 표적화 기 및/또는 연결 기를 포함하며, 표적화 기 및/또는 연결 기는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 공유적으로 연결(즉, 접합)된다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호의 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥 변형된 뉴클레오티드 서열을 포함한다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 본 명세서에 제시된 임의의 이중체 ID 번호의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 변형된 뉴클레오티드 서열 및 및 표적화 기 및/또는 연결 기를 포함하며, 표적화 기 및/또는 연결 기는 센스 가닥 또는 안티센스 가닥에 공유적으로 연결된다.

[0504] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표 5의 임의의 안티센스 가닥/센스 가닥 이중체의 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, 아시알로당단백질 수용체 리간드 표적화 기를 추가로 포함한다.

[0505] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표 5의 임의의 이중체의 임의의 안티센스 가닥 및/또는 센스 가닥 뉴클레오티드 서열의 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s로 이루어진 군으로부터 선택된 표적화 기를 추가로 포함한다.

[0506] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표 5의 임의의 이중체의 임의의 안티센스 가닥 및/또는 센스 가닥 뉴클레오티드 서열의 변형된 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함한다.

[0507] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표 5의 임의의 이중체의 임의의 안티센스 가닥 및/또는 센스 가닥의 변형된 뉴클레오티드 서열을 갖는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함하고, 아시알로당단백질 수용체 리간드 표적화 기를 추가로 포함한다.

[0508] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표 5의 임의의 이중체를 포함한다.

[0509] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용체는 표 5의 임의의 이중체로 이루어진다.

[0510]

[표 5]

HBV RNAi 작용체 이중체의 예.

이중체 ID	안티센스 가닥 ID	센스 가닥 ID	이중체 ID	안티센스 가닥 ID	센스 가닥 ID
AD03498	AM03508-AS	AM04445-SS	AD04433	AM05631-AS	AM05048-SS
AD03499	AM04441-AS	AM04444-SS	AD04434	AM05632-AS	AM05048-SS
AD03500	AM04442-AS	AM04444-SS	AD04435	AM05633-AS	AM05048-SS
AD03501	AM04443-AS	AM04444-SS	AD04436	AM05635-AS	AM05048-SS
AD03738	AM04768-AS	AM04767-SS	AD04437	AM05634-AS	AM05048-SS
AD03739	AM04769-AS	AM04767-SS	AD04438	AM05637-AS	AM05636-SS
AD03967	AM04443-AS	AM05010-SS	AD04439	AM05638-AS	AM05636-SS
AD03968	AM05011-AS	AM05010-SS	AD04440	AM05058-AS	AM05639-SS
AD03969	AM04443-AS	AM05015-SS	AD04441	AM05057-AS	AM05639-SS
AD03970	AM05011-AS	AM05019-SS	AD04442	AM05057-AS	AM05640-SS
AD03971	AM05012-AS	AM05015-SS	AD04511	AM05747-AS	AM05746-SS
AD03972	AM04443-AS	AM05016-SS	AD04570	AM05011-AS	AM05856-SS
AD03973	AM04443-AS	AM05017-SS	AD04571	AM05849-AS	AM05856-SS
AD03974	AM04443-AS	AM05018-SS	AD04572	AM05850-AS	AM05856-SS
AD03975	AM05013-AS	AM05015-SS	AD04573	AM05851-AS	AM05857-SS
AD03976	AM05014-AS	AM05019-SS	AD04574	AM05852-AS	AM05857-SS
AD03977	AM05013-AS	AM05017-SS	AD04575	AM05853-AS	AM05858-SS
AD03978	AM05013-AS	AM04444-SS	AD04576	AM05854-AS	AM05858-SS
AD04001	AM05052-AS	AM05034-SS	AD04577	AM05011-AS	AM05859-SS
AD04002	AM05053-AS	AM05034-SS	AD04578	AM05850-AS	AM05858-SS
AD04003	AM05054-AS	AM05046-SS	AD04579	AM05014-AS	AM05347-SS
AD04004	AM05052-AS	AM05047-SS	AD04580	AM05855-AS	AM05347-SS
AD04005	AM05055-AS	AM05064-SS	AD04581	AM05860-AS	AM05063-SS
AD04006	AM05056-AS	AM05048-SS	AD04583	AM05862-AS	AM05868-SS
AD04007	AM05057-AS	AM05048-SS	AD04584	AM05863-AS	AM05868-SS
AD04008	AM05058-AS	AM05049-SS	AD04585	AM05864-AS	AM05869-SS
AD04009	AM05056-AS	AM05050-SS	AD04586	AM05865-AS	AM05869-SS
AD04010	AM05060-AS	AM05063-SS	AD04587	AM05862-AS	AM05870-SS
AD04176	AM05351-AS	AM05346-SS	AD04588	AM05863-AS	AM05871-SS
AD04177	AM04443-AS	AM05347-SS	AD04590	AM05867-AS	AM05063-SS
AD04178	AM05011-AS	AM05347-SS	AD04591	AM05860-AS	AM05872-SS
AD04412	AM05011-AS	AM05606-SS	AD04592	AM05054-AS	AM05879-SS
AD04413	AM05011-AS	AM05607-SS	AD04593	AM05873-AS	AM05880-SS
AD04414	AM05608-AS	AM05606-SS	AD04594	AM05874-AS	AM05880-SS
AD04415	AM05011-AS	AM05615-SS	AD04595	AM05875-AS	AM05881-SS
AD04416	AM05609-AS	AM05616-SS	AD04596	AM05876-AS	AM05881-SS
AD04417	AM05610-AS	AM05616-SS	AD04597	AM05873-AS	AM05882-SS
AD04418	AM05611-AS	AM05616-SS	AD04598	AM05874-AS	AM05883-SS
AD04419	AM05612-AS	AM05616-SS	AD04599	AM05877-AS	AM05620-SS
AD04420	AM05613-AS	AM05616-SS	AD04734	AM06074-AS	AM05869-SS
AD04421	AM05614-AS	AM05616-SS	AD04771	AM06142-AS	AM06146-SS
AD04422	AM05054-AS	AM05617-SS	AD04772	AM06143-AS	AM06147-SS
AD04423	AM05618-AS	AM05046-SS	AD04773	AM06144-AS	AM06146-SS
AD04425	AM05621-AS	AM05620-SS	AD04774	AM06145-AS	AM06148-SS
AD04426	AM05623-AS	AM05622-SS	AD04775	AM06145-AS	AM06149-SS
AD04427	AM05623-AS	AM05624-SS	AD04776	AM05850-AS	AM06150-SS
AD04428	AM05626-AS	AM05622-SS	AD04777	AM05854-AS	AM06151-SS
AD04429	AM05626-AS	AM05624-SS	AD04778	AM05854-AS	AM06152-SS
AD04430	AM05628-AS	AM05627-SS	AD04822	AM06222-AS	AM06146-SS
AD04431	AM05054-AS	AM05629-SS	AD04823	AM05609-AS	AM06150-SS
AD04432	AM05054-AS	AM05630-SS	AD04871	AM06281-AS	AM06287-SS

[0511]

이중체 ID	안티센스 가닥 ID	센스 가닥 ID
AD04872	AM06282-AS	AM06288-SS
AD04873	AM06283-AS	AM06288-SS
AD04874	AM06284-AS	AM06289-SS
AD04875	AM06285-AS	AM06290-SS
AD04876	AM06286-AS	AM06291-SS
AD04881	AM06299-AS	AM06304-SS
AD04882	AM06300-AS	AM06305-SS
AD04883	AM06301-AS	AM06306-SS
AD04884	AM06302-AS	AM06307-SS
AD04885	AM06303-AS	AM06308-SS
AD04962	AM05864-AS	AM06146-SS
AD04963	AM05855-AS	AM05607-SS
AD04981	AM06463-AS	AM06150-SS
AD04982	AM06464-AS	AM06150-SS
AD04983	AM06465-AS	AM06150-SS
AD05069	AM06604-AS	AM06603-SS
AD05070	AM06606-AS	AM06605-SS
AD05071	AM06608-AS	AM06607-SS
AD05072	AM05011-AS	AM06609-SS
AD05073	AM06611-AS	AM06610-SS
AD05074	AM06612-AS	AM06150-SS
AD05075	AM06614-AS	AM06613-SS
AD05076	AM06616-AS	AM06615-SS
AD05077	AM06618-AS	AM06617-SS
AD05078	AM06620-AS	AM06619-SS
AD05147	AM06751-AS	AM06750-SS
AD05148	AM06606-AS	AM06752-SS
AD05149	AM06751-AS	AM06753-SS
AD05164	AM06282-AS	AM06776-SS
AD05165	AM06606-AS	AM06777-SS

[0512]

[0513] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 염, 혼합 염, 또는 유리 산으로서 제조되거나 제공된다. 본 명세서에 기재된 RNAi 작용제는, HBV 유전자를 발현하는 세포로의 전달시에, 생체내에서 하나 이상의 HBV 유전자의 발현을 저해하거나 녹다운시킨다.

[0514]

표적화 기, 연결 기, 및 전달 비히클

[0515]

일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 표적화 기, 연결 기, 전달 중합체, 또는 전달 비히클을 포함하지만 이로 한정되지 않는 하나 이상의 비뉴클레오티드(non-nucleotide) 기에 접합된다. 비뉴클레오티드 기는 RNAi 작용제의 표적화, 전달 또는 부착을 향상시킬 수 있다. 표적화 기 및 연결 기의 예가 표 6에 제공되어 있다. 비뉴클레오티드 기는 센스 가닥 및/또는 안티센스 가닥의 3' 및/또는 5' 단부에 공유적으로 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 센스 가닥의 3' 및/또는 5' 단부에 연결된 비뉴클레오티드 기를 함유한다. 일부 실시 형태에서, 비뉴클레오티드 기는 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 단부에 연결된다. 비뉴클레오티드 기는 링커/연결 기를 통해 RNAi 작용제에 직접적으로 또는 간접적으로 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, 비뉴클레오티드 기는 불안정한, 절단가능한, 또는 가역적인 결합 또는 링커를 통해 RNAi 작용제에 연결된다.

[0516]

일부 실시 형태에 있어서, 비뉴클레오티드 기는 이것이 부착되는 RNAi 작용제 또는 접합체의 약동학적 또는 생체분포 특성을 향상시켜서 접합체의 세포 또는 조직 특이적 분포 및 세포 특이적 흡수를 개선시킨다. 일부 실시 형태에 있어서, 비뉴클레오티드 기는 RNAi 작용제의 세포내이입을 향상시킨다.

[0517]

표적화 기 또는 표적화 모이어티는 이들이 부착되는 접합체의 약동학적 또는 생체분포 특성을 향상시켜서 접합체의 세포 특이적 분포 및 세포 특이적 흡수를 개선시킨다. 표적화 기는 1가, 2가, 3가, 4가, 또는 더 높은 수가를 가질 수 있다. 대표적인 표적화 기는, 제한 없이, 세포 표면 분자에 대한 친화도를 지닌 화합물, 세포 수용체 리간드, 합텐, 항체, 모노클로날 항체, 항체 단편, 및 세포 표면 분자에 대한 친화도를 지닌 항체 모방체를 포함한다. 일부 실시 형태에 있어서, 표적화 기는 PEG 링커와 같은 링커 또는 1개, 2개, 또는 3개 이상의 무염기성 및/또는 리비톨 (무염기성 리보스) 기를 사용하여 RNAi 작용제에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 표적화 기는 갈락토스 유도체 클러스터를 포함한다.

[0518]

본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제는 5'-말단에 아민 기와 같은 반응성 기를 가지면서 합성될 수 있다. 반응성 기는 당업계에서 전형적인 방법을 이용하여 표적화 모이어티를 후속적으로 부착하는 데 사용될 수 있다.

[0519]

일부 실시 형태에서, 표적화 기는 아시알로글리코단백질 수용체 리간드를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 아시알로당단백질 수용체 리간드는 하나 이상의 갈락토스 유도체를 포함하거나 이로 이루어진다. 본 명세서에 사용

되는 바와 같이, 갈락토스 유도체라는 용어는 갈락토스, 및 갈락토스와 동일하거나 그보다 큰 아시알로당단백질 수용체에 대한 친화도를 갖는 갈락토스의 유도체 둘 모두를 포함한다. 갈락토스 유도체는 다음을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다: 갈락토스, 갈락토사민, N-포르밀갈락토사민, N-아세틸-갈락토사민, N-프로페오닐-갈락토사민, N-n-부타노일-갈락토사민, 및 N-아이소-부타노일갈락토사아민 (예를 들어, 문헌[Iobst, S.T. and Drickamer, K. J.B.C. 1996, 271, 6686] 참조). 간으로의 올리고뉴클레오티드 및 다른 분자의 생체내 표적화에 유용한 갈락토스 유도체, 및 갈락토스 유도체의 클러스터는 당업계에 공지되어 있다(예를 들어, 문헌[Baenziger and Fiete, 1980, Cell, 22, 611-620]; 문헌[Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945] 참조). 갈락토스 유도체는 간세포의 표면 상에 발현된 아시알로당단백질 수용체(ASGPr)로의 결합을 통해 생체내에서 분자를 간세포로 표적화하는 데 사용되어 왔다. ASGPr(들)로의 ASGPr 리간드의 결합은 간세포로의 세포 특이적 표적화 및 간세포 내로의 분자의 세포내이입을 용이하게 한다. ASGPr 리간드는 단량체성 (예를 들어, 단일 갈락토스 유도체를 가짐) 또는 다량체성 (예를 들어, 다수의 갈락토스 유도체를 가짐)일 수 있다. 갈락토스 유도체 또는 갈락토스 유도체 클러스터는 당업계에 공지된 방법을 이용하여 RNAi 폴리뉴클레오티드의 3' 또는 5' 단부에 부착될 수 있다. 내지 갈락토스 유도체 클러스터와 같은 표적화 기의 제조는, 예를 들어, 둘 모두의 전체 내용이 본 명세서에 참고로 포함된, 미국 특허 출원 제15/452,324호 및 제15/452,423호에 기재되어 있다.

[0520] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 갈락토스 유도체 클러스터는 2 내지 4개의 말단 갈락토스 유도체를 갖는 분자를 포함한다. 말단 갈락토스 유도체는 이의 C-1 탄소를 통해 분자에 부착된다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 갈락토스 유도체 삼량체 (트라이안테나리(tri-antennary) 갈락토스 유도체 또는 3가 갈락토스 유도체로 또한 지칭됨)이다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 3개의 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 갈락토스 유도체 사량체 (테트라안테나리(tetra-antennary) 갈락토스 유도체 또는 4가 갈락토스 유도체로 또한 지칭됨)이다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 4개의 N-아세틸-갈락토사민을 포함한다.

[0521] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 갈락토스 유도체 삼량체는 각각 중심 분지점에 연결된 3개의 갈락토스 유도체를 함유한다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 갈락토스 유도체 사량체는 각각 중심 분지점에 연결된 4개의 갈락토스 유도체를 함유한다. 갈락토스 유도체는 당류의 C-1 탄소를 통해 중앙 분지점에 부착될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체는 링커 또는 스페이서를 통해 분지점에 연결된다. 일부 실시 형태에서, 링커 또는 스페이서는 PEG 기와 같은 가요성 친수성 스페이서이다 (예를 들어, 미국 특허 제5,885,968호; 문헌[Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546] 참조). 일부 실시 형태에서, PEG 스페이서는 PEG₃ 스페이서이다. 분지점은 3개의 갈락토스 유도체의 부착을 허용하고 RNAi 작용제로의 그 분지점의 부착을 추가로 허용하는 임의의 소분자일 수 있다. 분지점 기의 예는 다이-라이신 또는 다이-글루타메이트이다. RNAi 작용제로의 분지점의 부착은 링커 또는 스페이서를 통해 일어날 수 있다. 일부 실시 형태에서, 링커 또는 스페이서는 PEG 스페이서와 같은 그러나 이로 한정되지 않는 가요성 친수성 스페이서를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 링커는 사이클릭 기, 예를 들어 겹고한 링커를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체는 N-아세틸-갈락토사민을 포함하거나 이로 이루어진다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는 예를 들어, N-아세틸-갈락토사민 사량체일 수 있는 갈락토스 유도체 사량체로 구성된다.

[0522] 일부 실시 형태에서, 생체내에서 HBV RNAi 작용제를 간 세포에 전달하기 위한 약제학적 조성물이 기재된다. 그러한 약제학적 조성물은 예를 들어, 갈락토스 유도체 클러스터에 접합된 HBV RNAi 작용제를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 갈락토스 유도체 클러스터는, 예를 들어 N-아세틸-갈락토사민 삼량체일 수 있는 갈락토스 유도체 삼량체, 또는 예를 들어 N-아세틸-갈락토사민 사량체일 수 있는 갈락토스 유도체 사량체로 구성된다.

[0523] 표적화 기는 (PAZ), (NAG13), (NAG13)s, (NAG18), (NAG18)s, (NAG24), (NAG24)s, (NAG25), (NAG25)s, (NAG26), (NAG26)s, (NAG27), (NAG27)s, (NAG28), (NAG28)s, (NAG29), (NAG29)s, (NAG30), (NAG30)s, (NAG31), (NAG31)s, (NAG32), (NAG32)s, (NAG33), (NAG33)s, (NAG34), (NAG34)s, (NAG35), (NAG35)s, (NAG36), (NAG36)s, (NAG37), (NAG37)s, (NAG38), (NAG38)s, (NAG39), 및 (NAG39)s를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 갈락토스 클러스터 표적화 리간드를 포함하는 다른 표적화 기는 당업계에 공지되어 있다.

[0524] 일부 실시 형태에 있어서, 연결 기는 RNAi 작용제에 접합된다. 연결 기는 표적화 기 또는 전달 중합체 또는 전달 비히클로의 작용제의 공유 결합을 용이하게 한다. 연결 기는 RNAi 작용제의 센스 가닥 또는 안티센스 가닥의 3' 또는 5' 단부에 연결될 수 있다. 일부 실시 형태에 있어서, 연결 기는 RNAi 작용제의 센스 가닥에 연결

된다. 일부 실시 형태에 있어서, 연결 기는 RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 또는 3' 단부에 접합된다. 일부 실시 형태에 있어서, 연결 기는 RNAi 작용제의 센스 가닥의 5' 단부에 접합된다. 연결 기의 예는 다음을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다: 반응성 기, 예를 들어 1차 아민 및 알킨, 알킬 기, 무염기성 뉴클레오시드, 리비톨(무염기성 리보스), 및/또는 PEG 기.

[0525] 링커 또는 연결 기는 하나 이상의 공유 결합을 통해 하나의 화학적 기(예를 들어, RNAi 작용제) 또는 관심 세그먼트를 다른 화학적 기(예를 들어, 표적화 기 또는 전달 중합체) 또는 관심 세그먼트에 연결하는 2개의 원자 사이의 연결부이다. 불안정한 결합부(linkage)는 불안정한 결합을 함유한다. 결합부는 2개의 연결된 원자들 사이의 거리를 증가시키는 스페이서를 선택적으로 포함할 수 있다. 스페이서는 그 결합부에 가교성 및/또는 길이를 추가로 부가할 수 있다. 스페이서는 알킬 기, 알케닐 기, 알키닐 기, 아릴 기, 아르알킬 기, 아르알케닐 기, 및 아르알키닐 기를 포함하지만 이로 한정되지 않으며, 이를 각각은 하나 이상의 헤테로 원자, 헤테로사이클, 아미노산, 뉴클레오티드, 및 당류를 함유할 수 있다. 스페이서 기는 당업계에 잘 알려져 있고, 전술한 목록은 설명의 범주를 제한하고자 하는 것이 아니다.

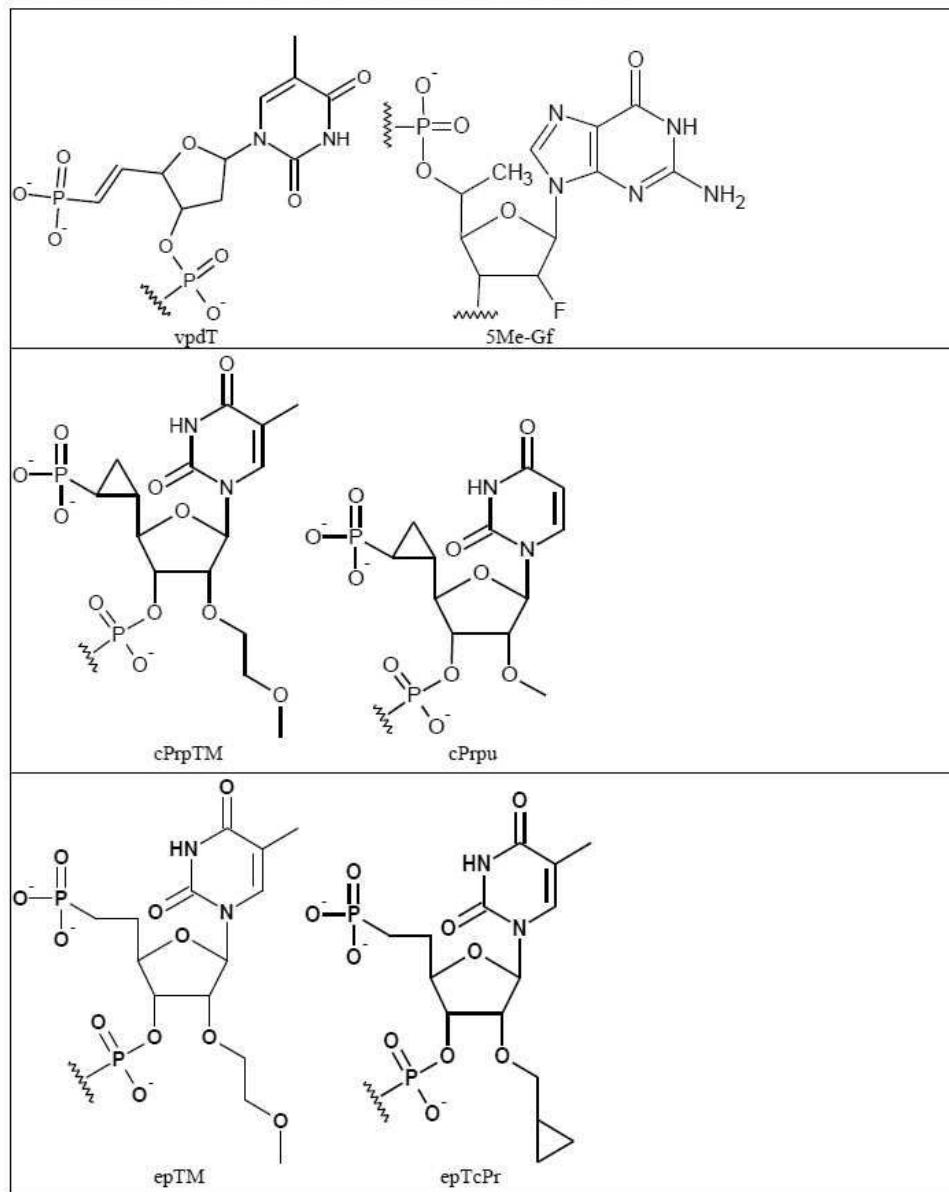
[0526] 표 3 및 4에 나열된 임의의 HBV RNAi 작용제 뉴클레오티드 서열은, 변형되든지 비변형되든지 간에, 3' 또는 5' 표적화 기 및/또는 연결 기를 함유할 수 있다. 3' 또는 5' 표적화 기 및/또는 연결 기를 함유하는 표 3 및 표 4에 나열된 임의의 HBV RNAi 작용제 서열은 대안적으로 표 3에 나타낸 것을 포함하지만 이로 한정되지 않는 3' 또는 5' 표적화 기 및/또는 연결 기를 함유하지 않을 수 있거나, 표 3에 나타낸 것을 포함하지만 이로 한정되지 않는 상이한 3' 또는 5' 표적화 기 및/또는 연결 기를 함유할 수 있다. 표 5에 나열된 임의의 HBV RNAi 작용제 이중체는, 변형되든지 비변형되든지 간에, 표 3에 나타낸 것을 포함하지만 이로 한정되지 않는 표적화 기 및/또는 연결 기를 추가로 포함할 수 있고, 표적화 기 또는 연결 기는 HBV RNAi 작용제 이중체의 센스 가닥 또는 암티센스 가닥의 3' 또는 5' 말단에 부착될 수 있다.

[0527] 표적화 기 및 연결 기의 예가 표 6에 제공되어 있다. 표 4는 5' 또는 3' 단부에 연결된 표적화 기 또는 연결 기를 갖는 HBV RNAi 작용제의 센스 가닥의 몇몇 실시 형태를 제공한다.

[0528]

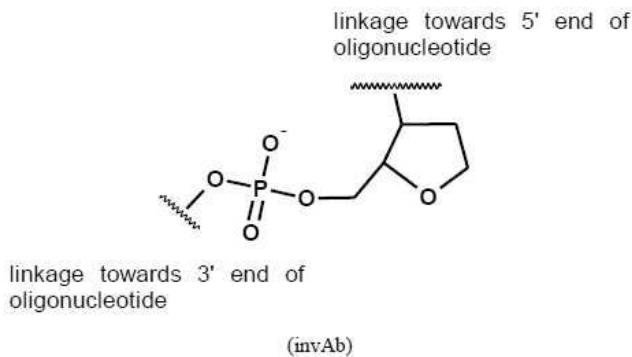
[표 6]

다양한 변형된 뉴클레오티드, 표적화 기, 및 연결기를 나타내는 구조.

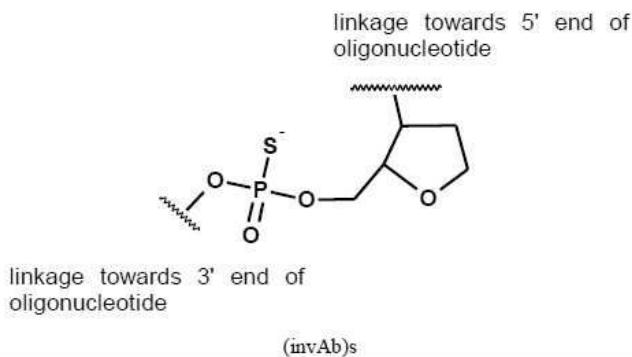


[0529]

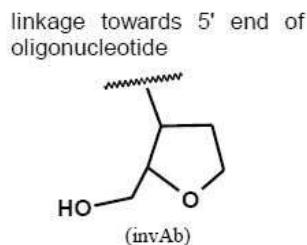
올리고뉴클레오티드의 내부에 위치될 때:



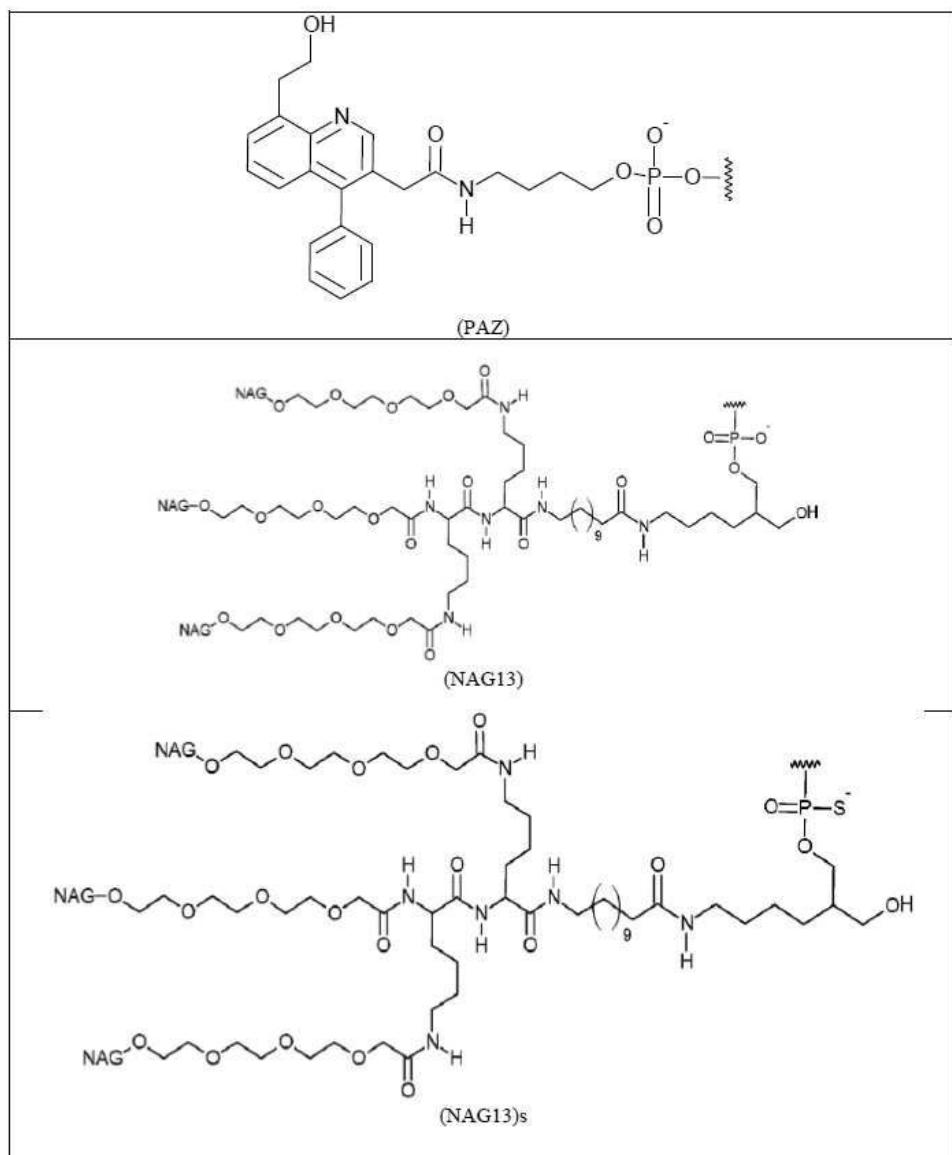
올리고뉴클레오티드의 내부에 위치될 때:



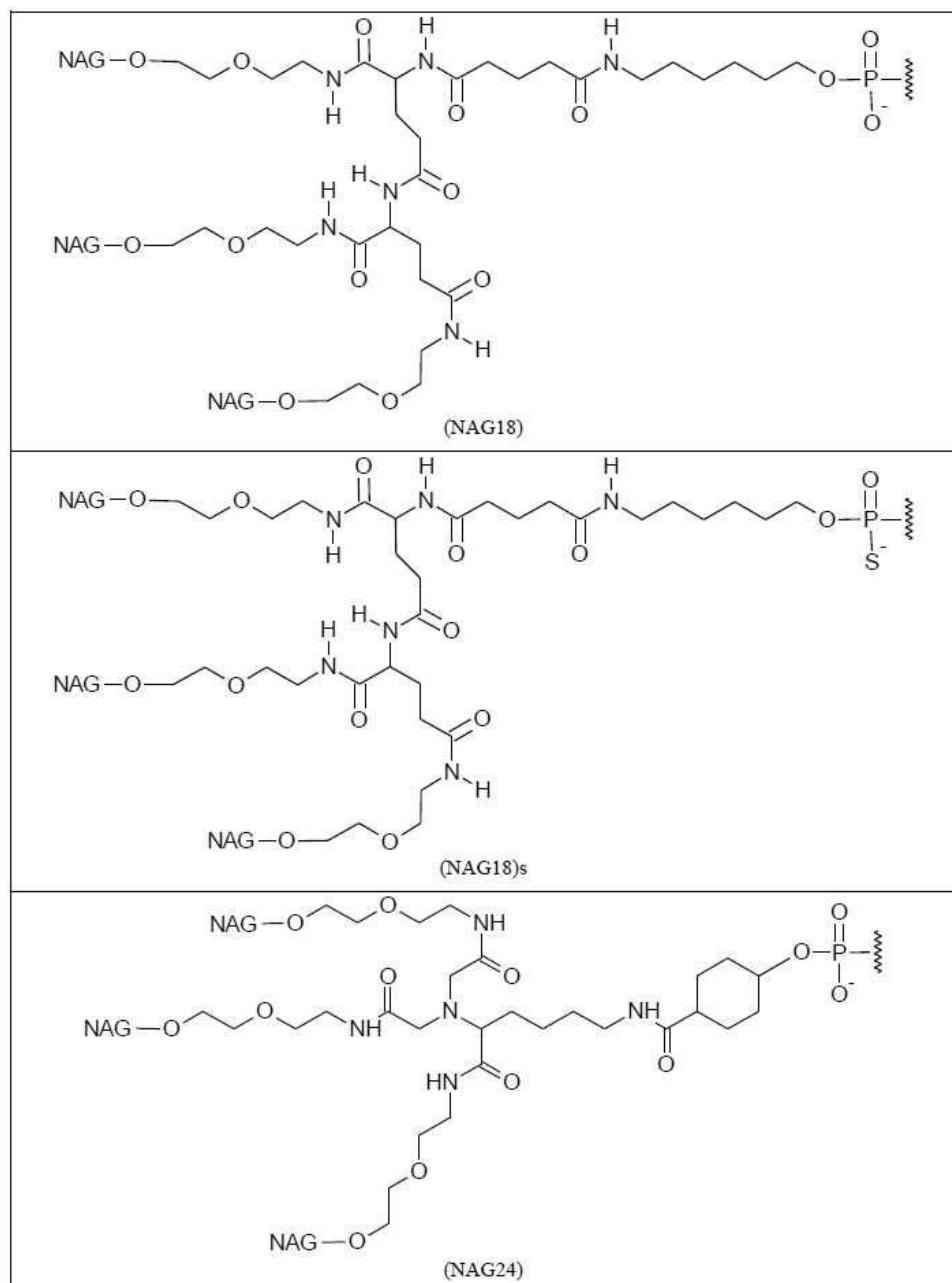
올리고뉴클레오티드의 3' 말단부에 위치될 때:



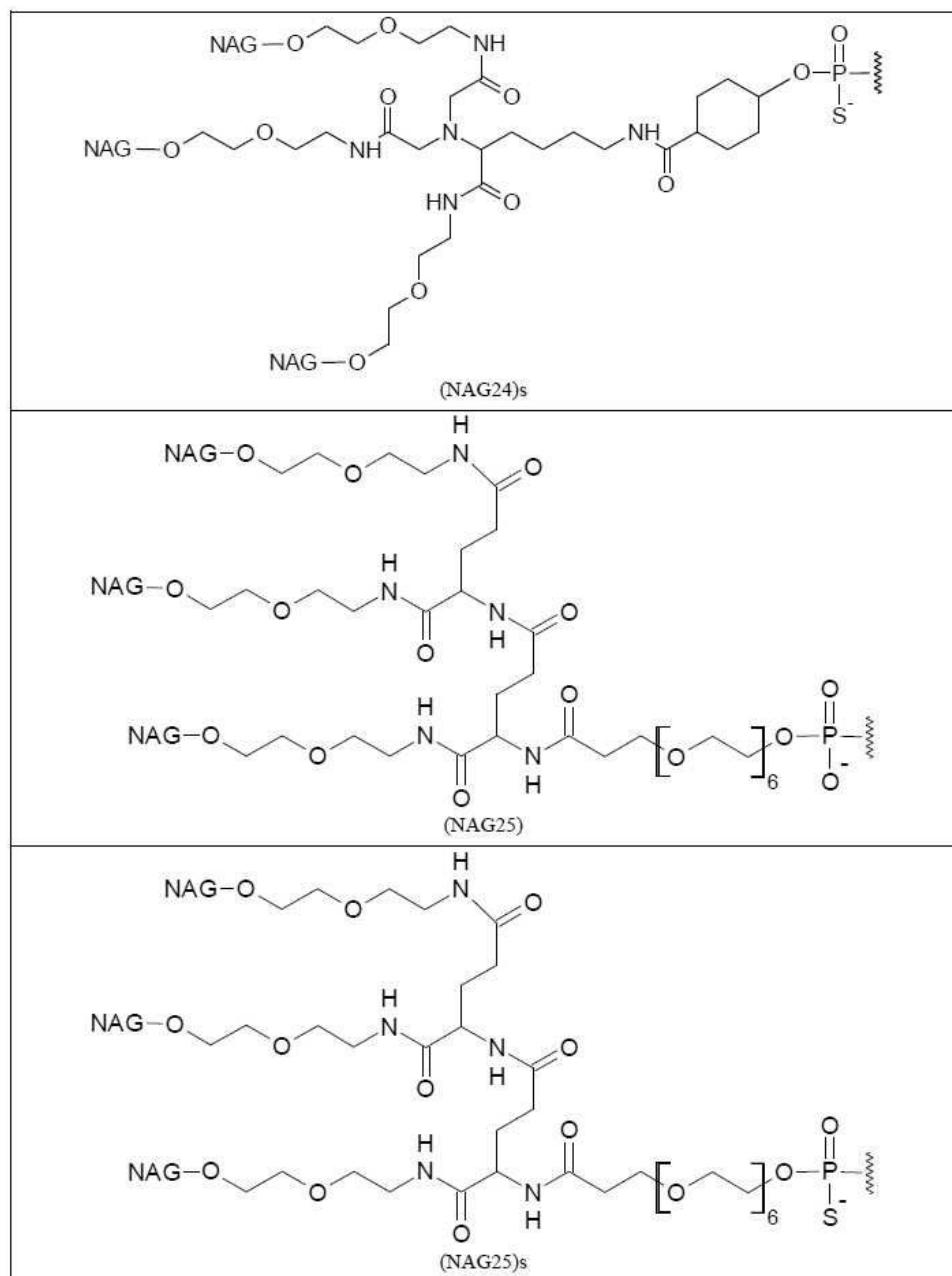
[0530]



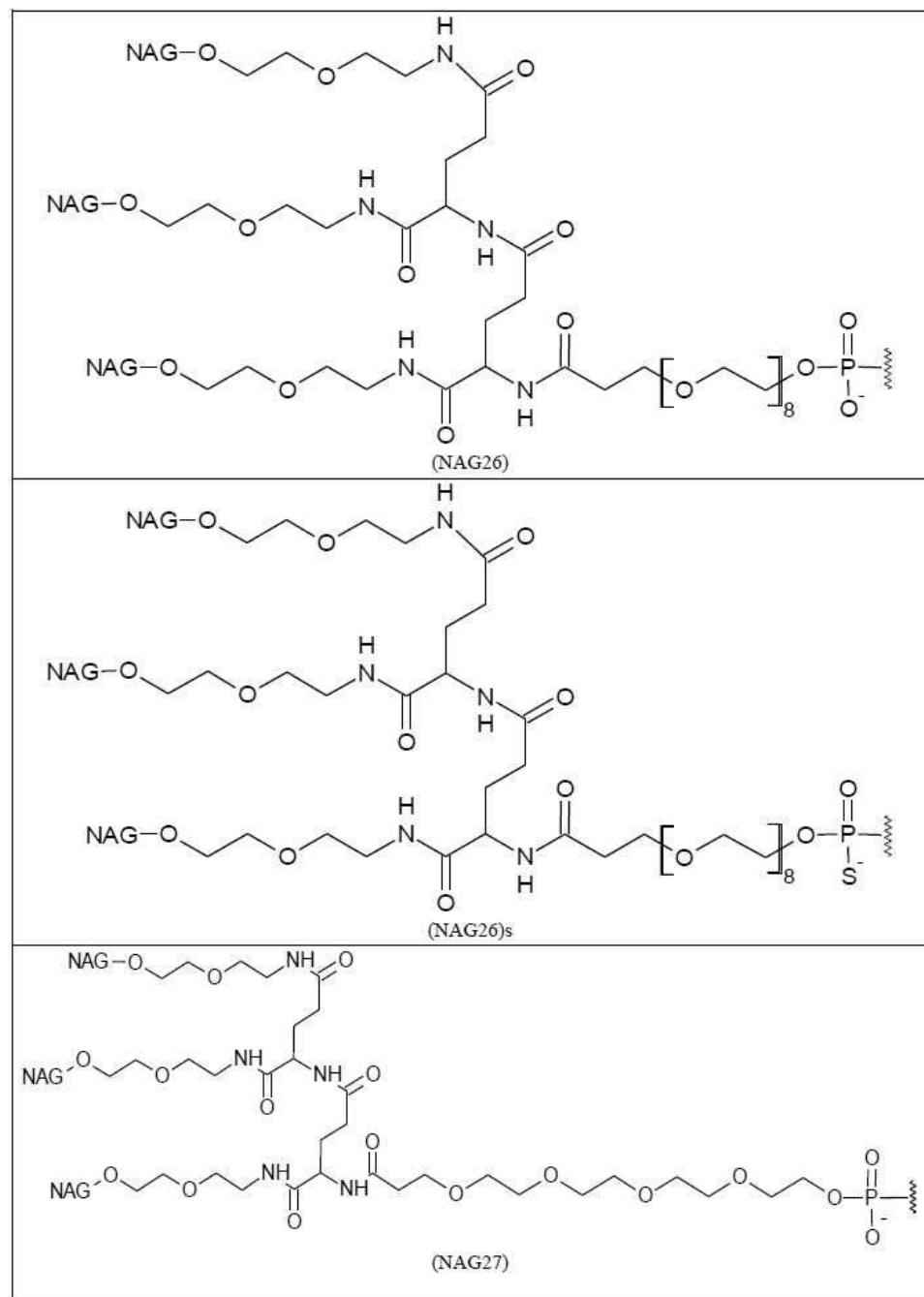
[0531]



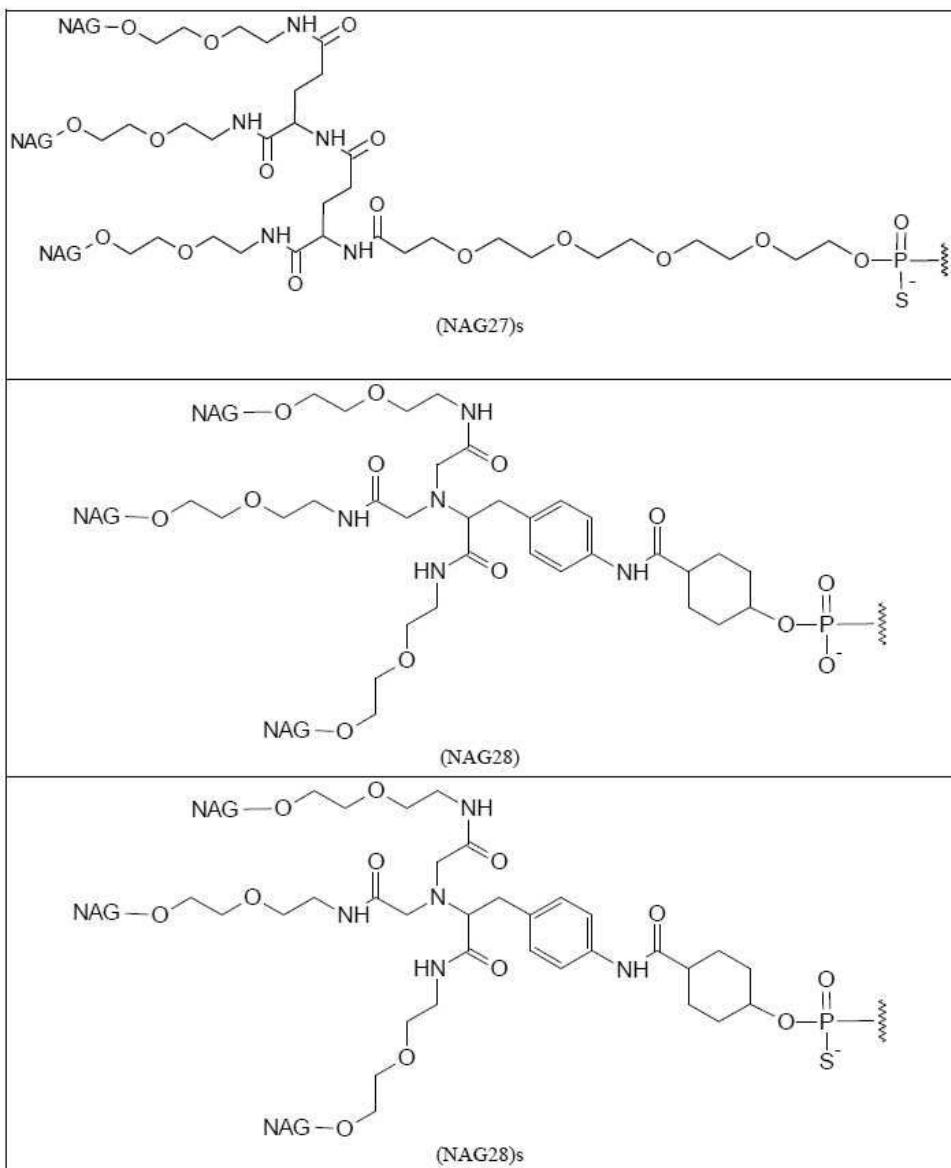
[0532]



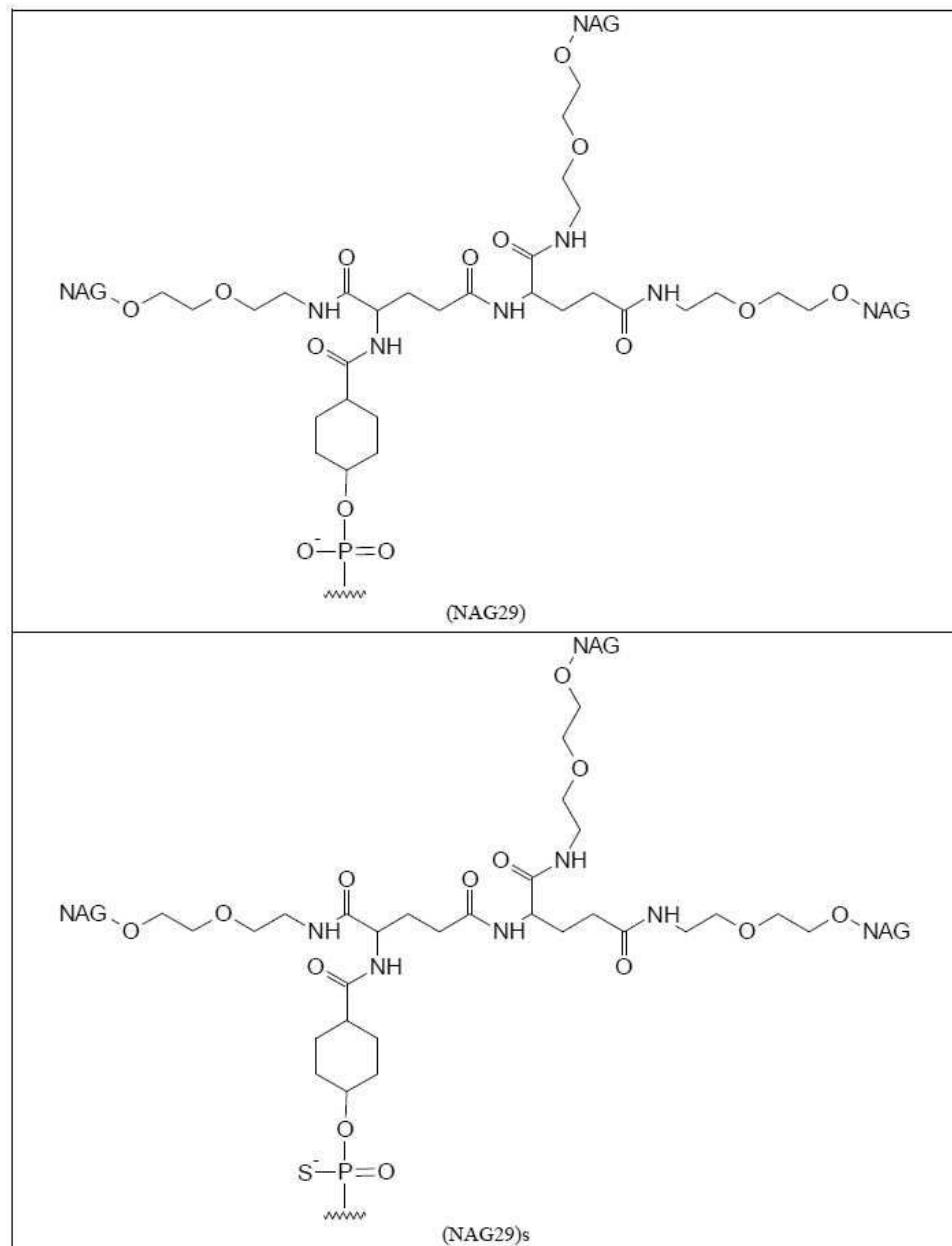
[0533]



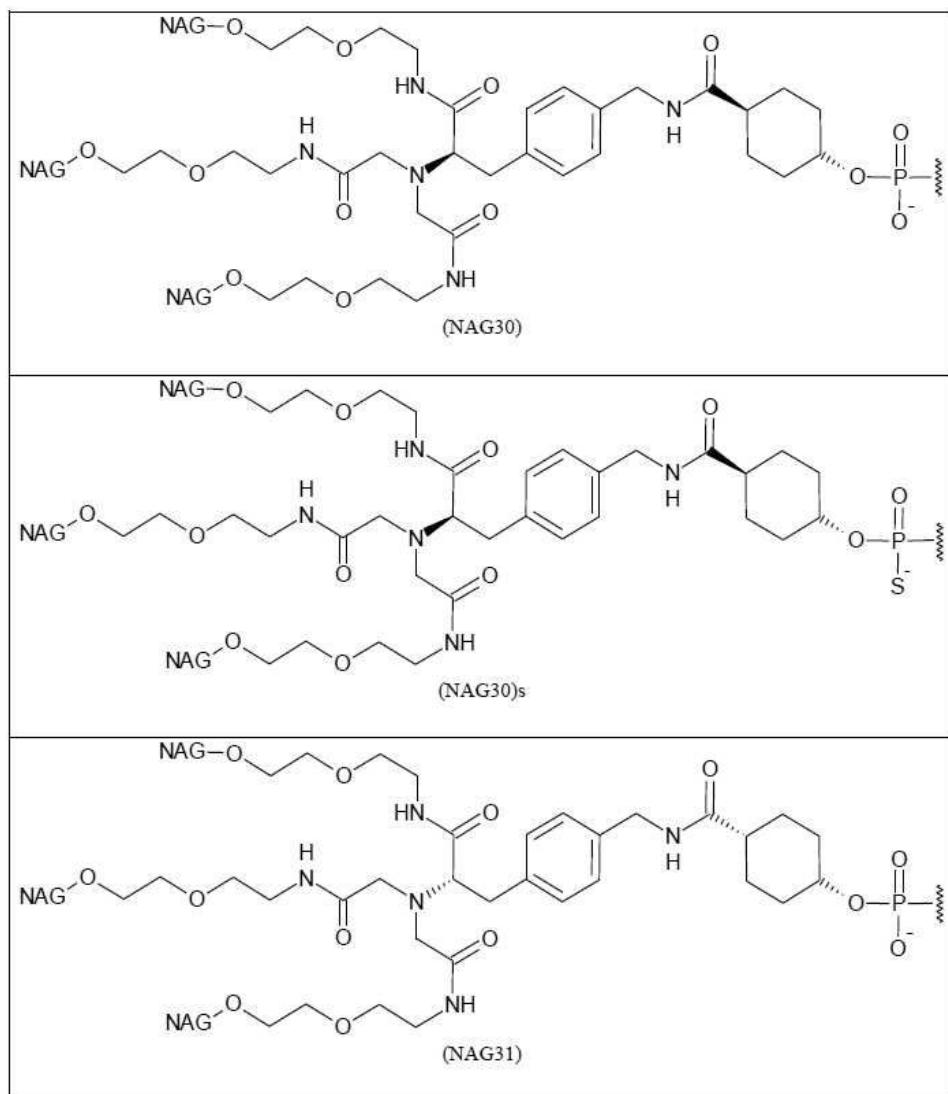
[0534]



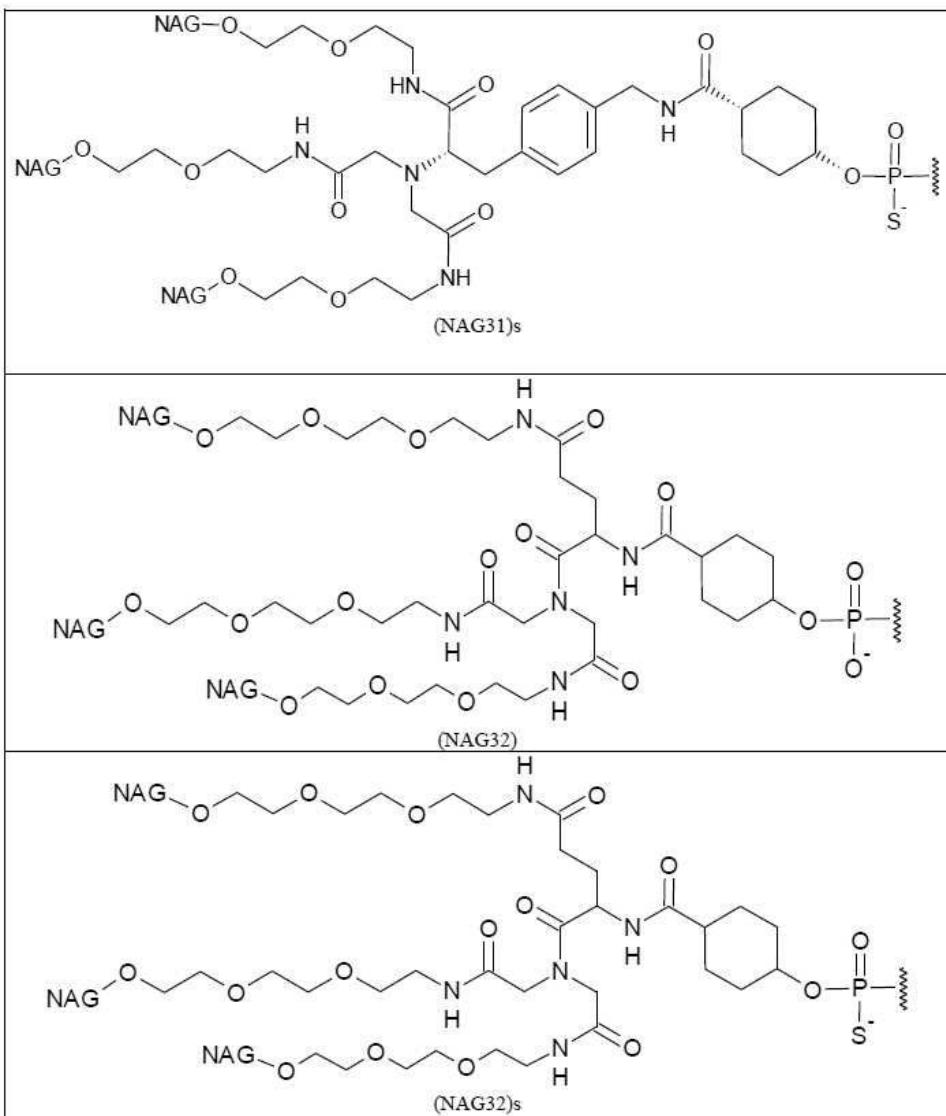
[0535]



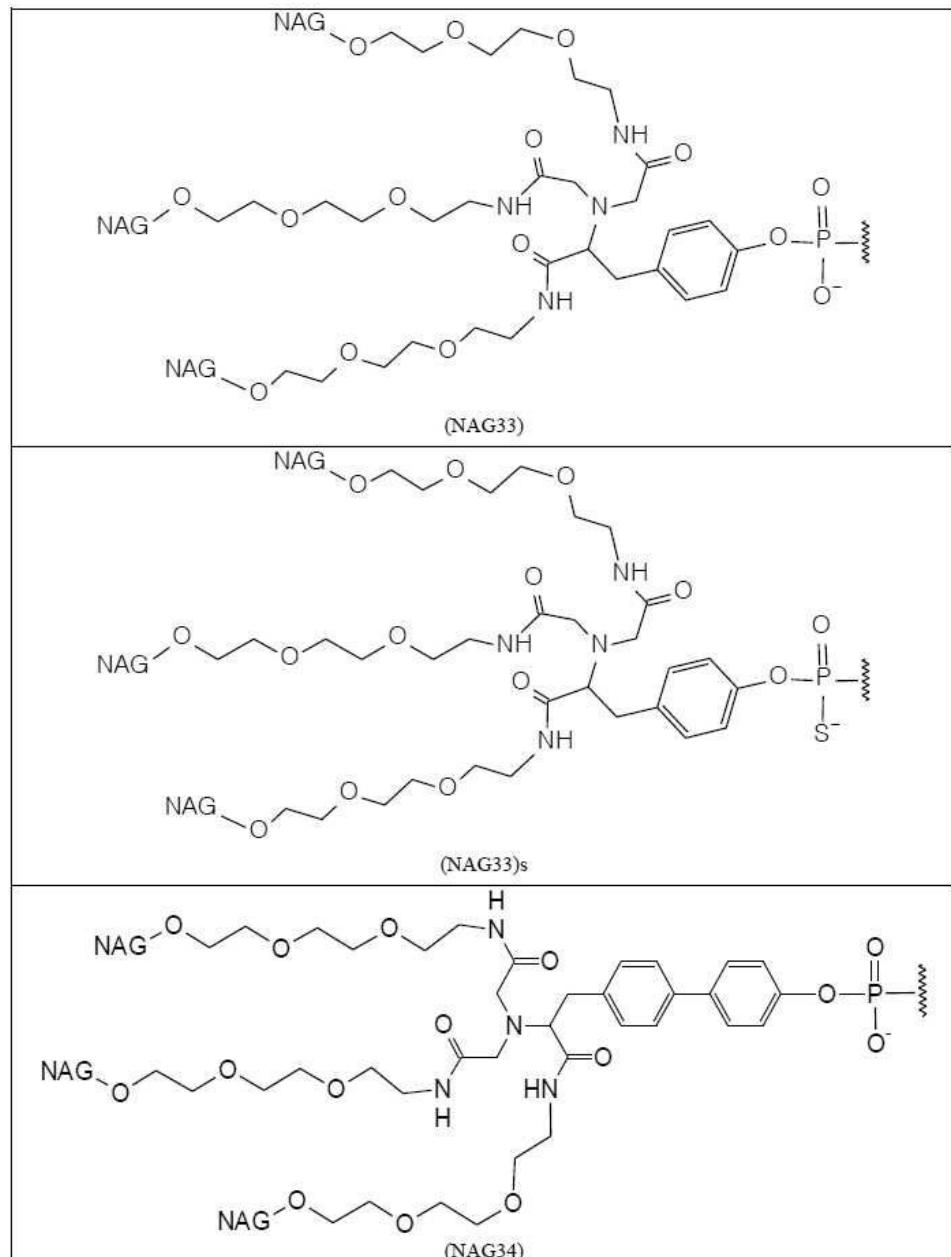
[0536]



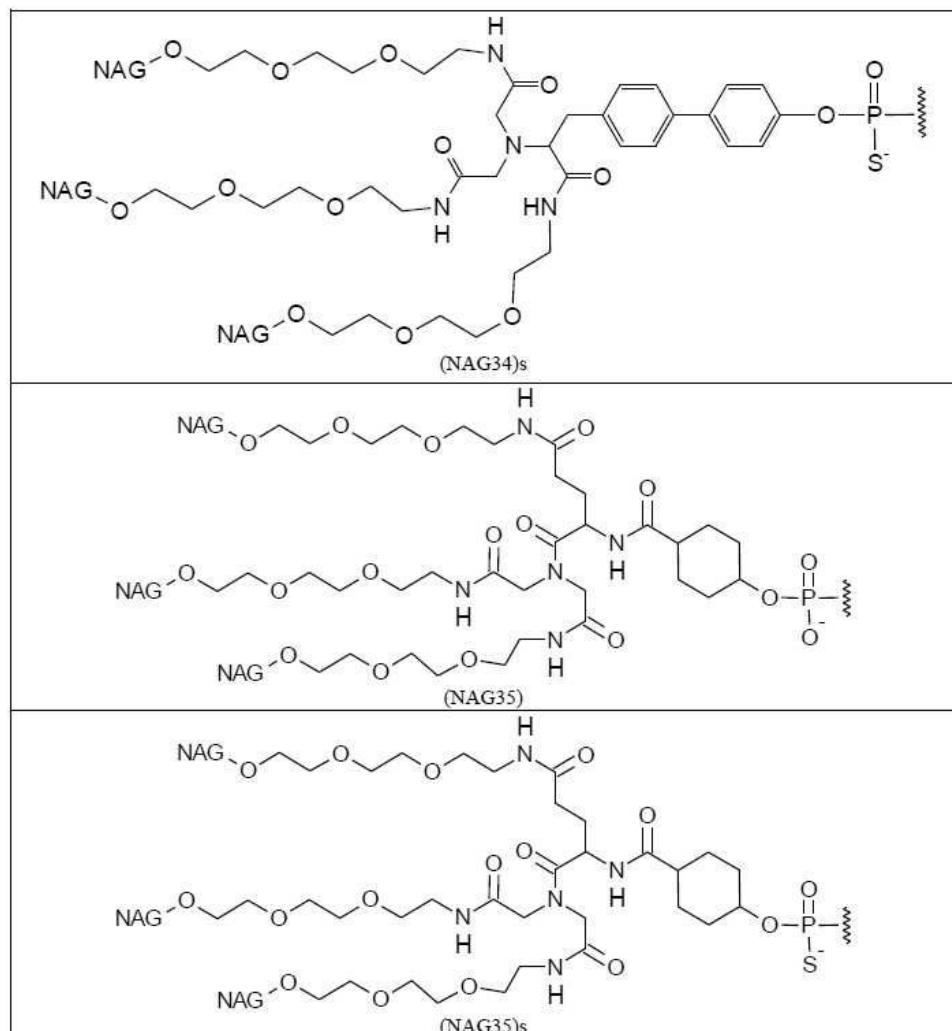
[0537]



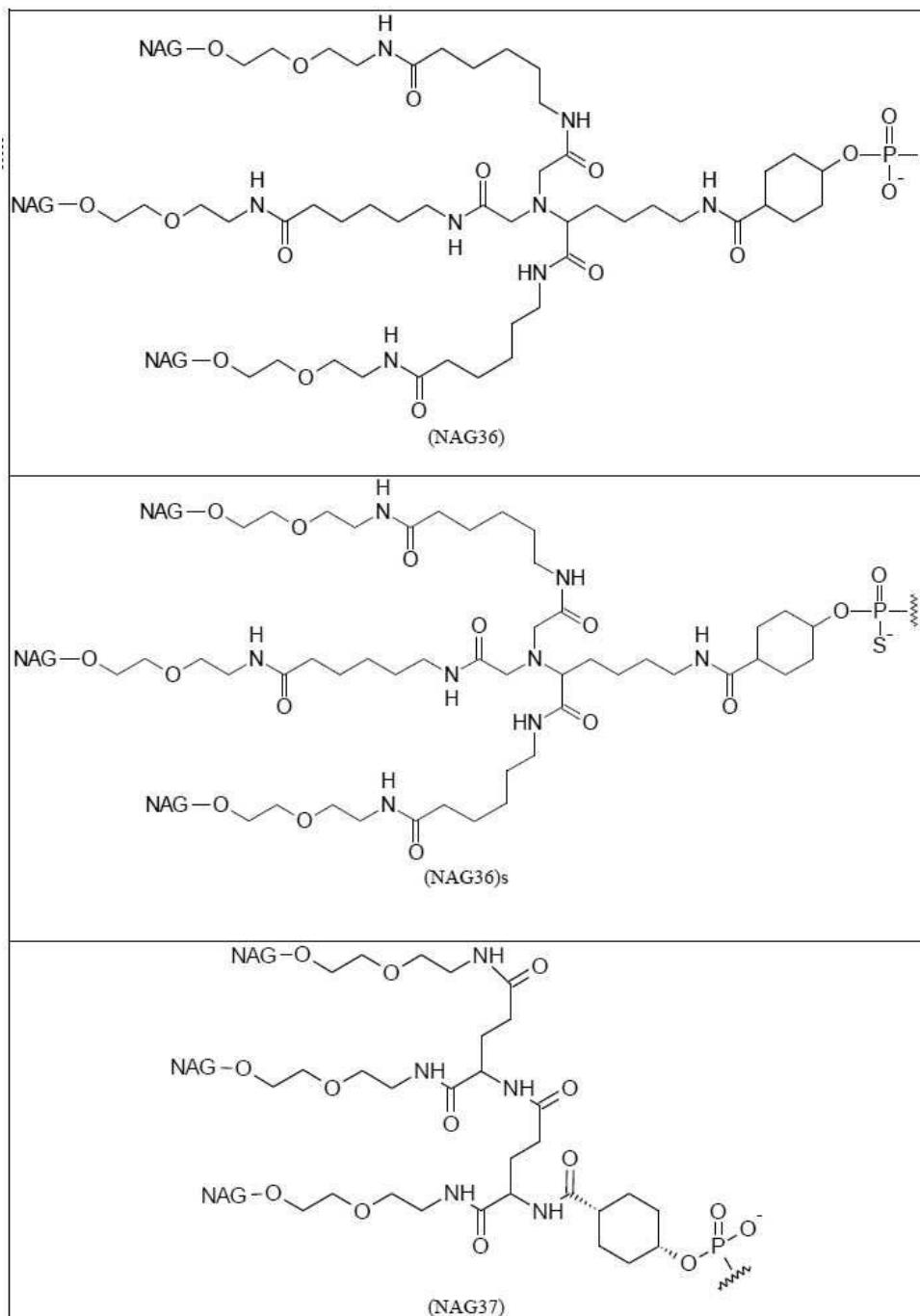
[0538]



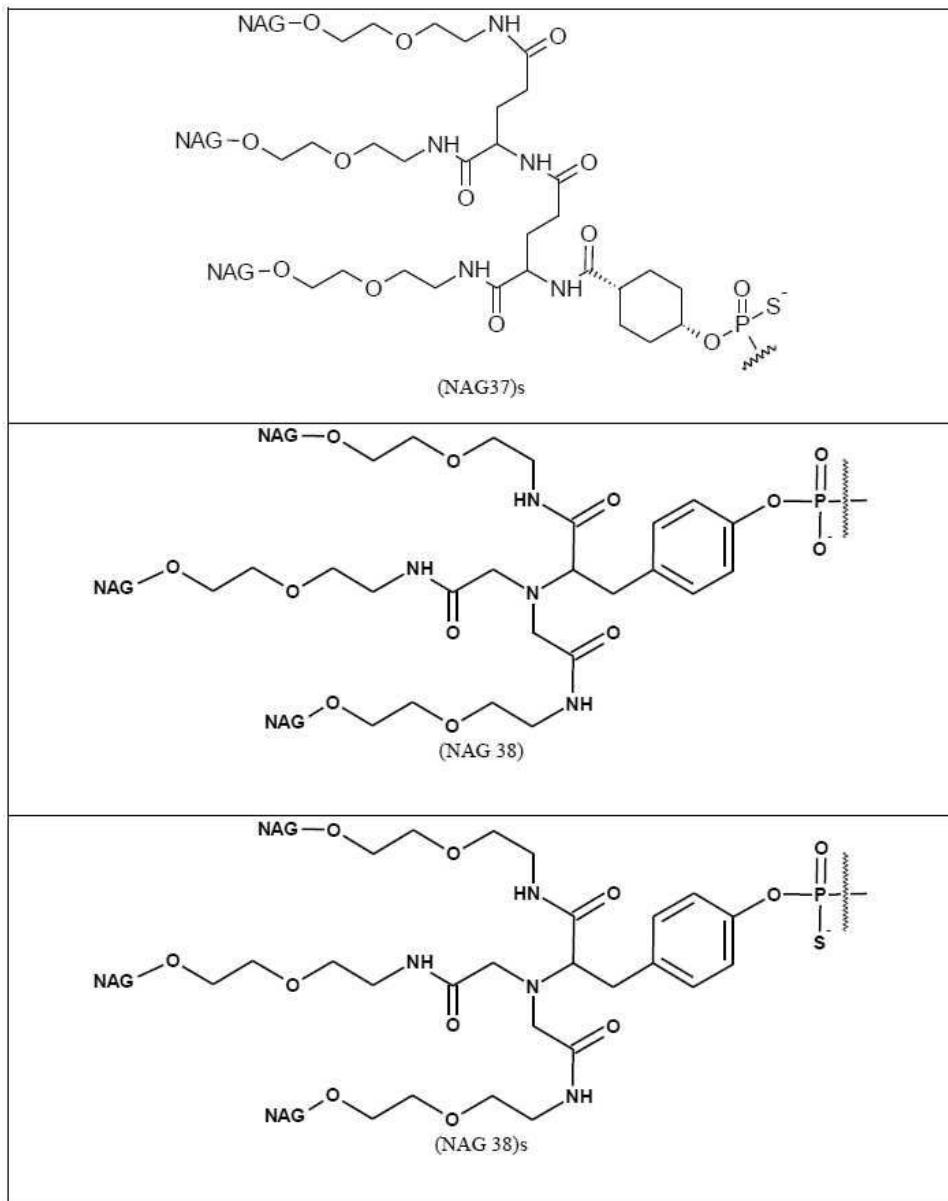
[0539]



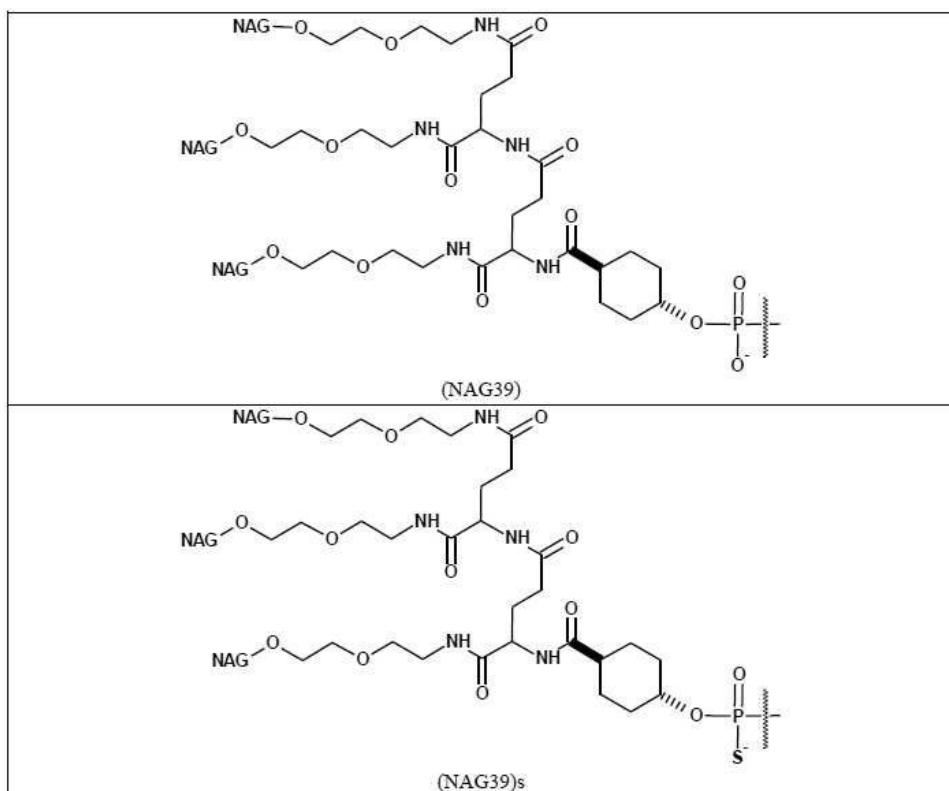
[0540]



[0541]



[0542]



[0543]

[0544]

표 6의 각각의 상기 구조에서, NAG는 N-아세틸-갈락토사민 또는 다른 ASGPr 리간드를 포함하고, 이는 상기 구조 및 본 명세서에 제공된 설명을 고려하여 부착되는 것으로 당업자에 의해 이해될 것이다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 표 6에 제공된 구조에서 NAG는 하기 구조로 표시된다:

[0545]

(N-아세틸-갈락토사민)



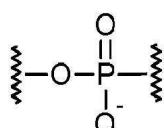
[0546]

[0547]

각각의 (NAGx)는 ((NAG25), (NAG30), 및 (NAG31)에서와 같이) 포스페이트 기, 또는 ((NAG25)s, (NAG29)s, (NAG30)s, (NAG31)s, 또는 (NAG37)s에서와 같이) 포스포로티오에이트 기, 또는 다른 연결 기를 통해 HBV RNAi 작용제에 부착될 수 있다.

[0548]

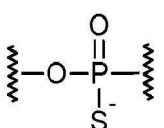
포스페이트 기



[0549]

[0550]

포로티오에이트 기



[0551]

[0552]

당업계에 공지된 다른 연결기가 사용될 수 있다.

[0553] 전달 비히클

일부 실시 형태에 있어서, 전달 비히클은 세포 또는 조직에 RNAi 작용제를 전달하는 데 사용될 수 있다. 전달 비히클은 세포 또는 조직으로의 RNAi 작용제의 전달을 개선시키는 화합물이다. 전달 비히클은 다음을 포함하거나 이로 이루어질 수 있지만, 이로 한정되지 않는다: 중합체, 예를 들어 양친매성 중합체, 막 활성 중합체, 펩티드, 멜리틴 펩티드(melittin peptide), 멜리틴 유사 펩티드(melittin-like peptide, MLP), 지질, 가역적으로 변형된 중합체 또는 펩티드, 또는 가역적으로 변형된 막 활성 폴리아민.

[0555] 일부 실시 형태에 있어서, RNAi 작용제는 지질, 나노입자, 중합체, 리포좀, 미셀, DPC 또는 당업계에서 이용 가능한 다른 전달 시스템과 조합될 수 있다. RNAi 작용제는 또한 표적화 기, 지질 (콜레스테롤 및 콜레스테릴 유도체를 포함하지만 이로 한정되지 않음), 나노입자, 중합체, 리포좀, 미셀, DPC (예를 들어, 각각 본 명세서에 참고로 포함된, 국제특허 공개 WO 2000/053722호, WO 2008/0022309호, WO 2011/104169호, 및 WO 2012/083185호, WO 2013/032829호, WO 2013/158141호 참조), 또는 당업계에서 이용가능한 다른 전달 시스템에 화학적으로 접합될 수 있다.

[0556] 약제학적 조성물 및 제형

본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 약제학적 조성물 또는 제형으로서 제조될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 약제학적 조성물은 적어도 하나의 HBV RNAi 작용제를 포함한다. 이들 약제학적 조성물은 표적 세포, 세포 군, 조직, 또는 유기체에서 표적 mRNA의 발현의 저해에 특히 유용하다. 약제학적 조성물은 표적 mRNA의 수준의 감소 또는 표적 유전자의 발현의 저해로부터 이익이 얻어지는 질병 또는 장애를 갖는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 약제학적 조성물은 표적 mRNA의 수준의 감소 또는 표적 유전자의 발현의 저해로부터 이익이 얻어지는 질병 또는 장애를 발생할 위험이 있는 대상체를 치료하는데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 방법은 치료될 대상체에게 본 명세서에 기재된 바와 같은 표적화 리간드에 연결된 HBV RNAi 작용제를 투여하는 단계를 포함한다. 일부 실시 형태에서, 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제 (비히클, 담체, 희석제 및/또는 전달 중합체를 포함함)가 HBV RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물에 첨가되어, 인간으로의 생체내 전달에 적합한 약제학적 제형을 형성한다.

[0558] 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물 및 방법은 세포, 세포 군, 세포 군, 조직, 또는 대상체에서 표적 RNA의 수준을 감소시킬 수 있으며, 치료적 유효량의 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제를 대상체에게 투여하여, 대상체에서 표적 mRNA의 발현을 저해하는 단계를 포함한다.

[0559] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제를 포함하는 기재된 약제학적 조성물은 HBV 감염과 관련된 임상 표현 (clinical presentation)을 치료 또는 관리하는 데 사용된다. 일부 실시 형태에서, 치료적 또는 예방적 유효량의 하나 이상의 약제학적 조성물은 그러한 치료, 예방 또는 관리를 필요로 하는 대상체에게 투여된다. 일부 실시 형태에서, 개시된 임의의 HBV RNAi 작용제의 투여가 대상체에서 질병의 증상의 수, 중증도, 및/또는 빈도를 감소시키는 데 사용될 수 있다.

[0560] HBV RNAi 작용제를 포함하는 기재된 약제학적 조성물은 HBV mRNA 발현의 감소 또는 저해로부터 이익이 얻어지는 질병 또는 장애를 갖는 대상체에서 적어도 하나의 증상을 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 대상체에게 치료적 유효량의 HBV RNAi 작용제를 포함하는 하나 이상의 약제학적 조성물을 투여함으로써 증상을 치료한다. 다른 실시 형태에서, 대상체에게 예방적 유효량의 하나 이상의 HBV RNAi 작용제를 투여함으로써 적어도 하나의 증상을 예방한다.

[0561] 투여 경로는 HBV RNAi 작용제가 신체와 접촉하게 되는 경로이다. 일반적으로, 포유동물의 치료를 위해 약물 및 핵산을 투여하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 본 명세서에 기재된 조성물의 투여에 적용될 수 있다. 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 특정 경로에 맞게 적절하게 만들어진 제제로 임의의 적합한 경로를 통해 투여될 수 있다. 따라서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 주사에 의해, 예를 들어 정맥내, 근육내, 피내, 피하, 관절내, 또는 복강내로 투여될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 피하 주사를 통한 약제학적 조성물이 본 명세서에 기재되어 있다.

[0562] 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제를 포함하는 약제학적 조성물은 당업계에 공지된 올리고뉴클레오티드 전달 기술을 이용하여 세포, 세포 군, 종양, 조직, 또는 대상체에 전달될 수 있다. 일반적으로, (시험관내에서 또는 생체내에서) 핵산 분자를 전달하기 위한 당업계에서 인식되는 임의의 적합한 방법은 본 명세서에 기재된 조성물과 함께 사용되도록 구성될 수 있다. 예를 들어, 전달은 국부 투여 (예를 들어, 직접 주사, 이식, 또는 국소 투여), 전신 투여, 또는 두개내 (예를 들어, 심실내, 간엽내 및 척수강내), 근육내, 경피, 기도 (에어로졸), 비

강, 구강, 직장, 또는 국소 (협측 및 설하를 포함함) 투여를 비롯한 피하, 정맥내, 복강내, 또는 비경구 경로에 의해 이루어질 수 있다. 특정 구체예에서, 조성물은 피하 또는 정맥내 주입 또는 주사에 의해 투여된다.

[0563] 따라서, 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 하나 이상의 약학적으로 허용가능한 부형제를 포함할 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 대상체에게 투여하기 위해 제형화될 수 있다.

[0564] 본 명세서에 사용되는 바와 같이, 약제학적 조성물 또는 의약은 약리학적 유효량의 적어도 하나의 기재된 치료화합물 및 하나 이상의 약제학적으로 허용가능한 부형제를 포함한다. 약제학적으로 허용가능한 부형제(부형제)는 약물 전달 시스템에 의도적으로 포함되는 활성 약제 구성성분(Active Pharmaceutical ingredient, API, 치료용 생성물, 예를 들어 HBV RNAi 작용제) 이외의 물질이다. 부형제는 의도된 투여량에서 치료 효과를 발휘하지 않거나 치료 효과를 발휘하도록 의도되지 않는다. 부형제는 a) 제조 동안 약물 전달 시스템의 가공에서 도움을 주고, b) API의 안정성, 생체이용률 또는 환자 수용성을 보호하거나, 지지하거나, 향상시키고, c) 제품 식별을 보조하고/하거나, d) 저장 또는 사용 동안 API의 전달의 전반적인 안전성, 유효성의 임의의 다른 속성을 향상시키도록 작용할 수 있다. 약제학적으로 허용가능한 부형제는 비활성 물질이거나 비활성 물질이 아닐 수 있다.

[0565] 부형제는 다음을 포함하지만, 이로 한정되지 않는다: 흡수 향상제, 부착방지제, 소포제, 산화방지제, 결합제, 완충제, 담체, 코팅제, 착색제, 전달 향상제, 전달 종합체, 텍스트란, 텍스트로스, 희석제, 봉해제, 유화제, 증량제, 충전제, 착향제, 할택제, 보습제, 윤활제, 오일, 중합체, 방부제, 식염수, 염, 용매, 당, 혼탁제, 지속방출 매트릭스, 감미제, 증점제, 긴장성 작용제, 비히클, 발수제, 및 습윤제.

[0566] 주사가능한 용도에 적합한 약제학적 조성물은 멸균 수용액 (수용성인 경우) 또는 분산물 및 멸균 주사 용액 또는 분산물의 즉석 제조를 위한 멸균 분말을 포함한다. 정맥내 투여의 경우, 적합한 담체는 생리 식염수, 정세균수, Cremophor ELTM (미국 뉴저지주 파시페니 소재의 BASF) 또는 포스페이트 완충 식염수 (PBS)를 포함한다. 이것은 제조 및 저장 조건 하에서 안정해야 하며, 세균 및 진균과 같은 미생물의 오염 작용에 대해 보존되어야 한다. 담체는, 예를 들어 물, 에탄올, 폴리올 (예를 들어, 글리세롤, 프로필렌 글리콜, 및 액체 폴리에틸렌 글리콜), 및 이의 적합한 혼합물을 함유하는 용매 또는 분산 매체일 수 있다. 적절한 유동성은, 예를 들어 레시틴과 같은 코팅의 사용에 의해, 분산물의 경우 필요한 입자 크기의 유지에 의해, 그리고 계면활성제의 사용에 의해 유지될 수 있다. 많은 경우에, 등장화제, 예를 들어 당, 폴리알코올, 예를 들어 만니톨, 소르비톨, 및 염화나트륨을 조성물에 포함시키는 것이 바람직할 것이다. 주사가능한 조성물의 장기간 흡수는 조성물에 흡수를 지연시키는 작용제, 예를 들어 알루미늄 모노스테아레이트 및 젤라틴을 포함시킴으로써 가져올 수 있다.

[0567] 멸균 주사 용액은 필요한 양의 활성 화합물을 필요에 따라 상기 열거된 구성성분들 중 하나 또는 이들의 조합과 함께 적절한 용매에 혼입시킨 다음 멸균 여과시킴으로써 제조될 수 있다. 대체로, 분산물은 기본 분산 매체 및 상기 열거된 것으로부터의 필요한 다른 구성성분을 함유하는 멸균 비히클에 활성 화합물을 혼입시킴으로써 제조된다. 멸균 주사 용액의 제조를 위한 멸균 분말의 경우, 제조 방법은 미리 멸균 여과된 용액으로부터의 활성 구성성분 및 임의의 추가의 요망되는 성분의 분말을 생성시키는 진공 진조 및 동결 진조를 포함한다.

[0568] 관절내 투여에 적합한 제형은 미정질 형태로 존재할 수 있는 약물의 멸균 수성 제제의 형태, 예를 들어, 수성 미정질 혼탁액의 형태일 수 있다. 리포좀 제형 또는 생분해성 중합체 시스템이 또한 관절내 및 안과적 투여 둘 모두를 위한 약물을 제시하기 위해 사용될 수 있다.

[0569] 활성 화합물은 임플란트 및 미세캡슐화 전달 시스템을 포함하는 제어 방출 제형과 같은 신체로부터 급속한 제거에 대해 화합물을 보호하는 담체로 제조될 수 있다. 생분해성 생체적합성 중합체, 예를 들어 에틸렌 비닐 아세테이트, 폴리안하이드라이드, 폴리글리콜산, 콜라겐, 폴리오르토에스테르 및 폴리락트산이 사용될 수 있다. 이러한 제형의 제조 방법은 당업자에게 명백할 것이다. 리포좀 혼탁액은 또한 약제학적으로 허용가능한 담체로서 사용될 수 있다. 이것은, 예를 들어 미국 특허 제4,522,811호에 기술된 바와 같은 당업자에게 공지된 방법에 따라 제조될 수 있다.

[0570] HBV RNAi 작용제는 투여의 용이성 및 투여량의 균일성을 위하여 투여 단위 형태의 조성물로 제형화될 수 있다. 투여 단위 형태는 치료될 대상체에 대한 단위 투여량으로 적합한 물리적으로 별개의 단위를 지칭하며; 각각의 단위는 필요한 약학적 담체와 관련하여 원하는 치료 효과를 생성하도록 계산된 소정량의 활성 화합물을 함유한다. 본 개시의 투여 단위 형태에 대한 규격(specification)은 활성 화합물의 독특한 특성 및 성취될 치료 효과, 및 개체의 치료를 위한 그러한 활성 화합물을 배합하는 기술 분야에 내재된 제한 사항에 의해 영향을 받

고 또한 이들에 직접적으로 좌우된다.

[0571] 약제학적 조성물은 약제학적 조성물에서 흔히 발견되는 다른 추가의 성분을 함유할 수 있다. 그러한 추가의 성분은 항소양제, 수렴제, 국부 마취제, 또는 항염증제 (예를 들어, 항히스타민, 다이펜하이드라민 등)를 포함하지만, 이로 한정되지 않는다. 본 명세서에 정의된 RNAi 작용제를 발현하거나 포함하는 세포, 조직 또는 단리된 기관이 "약제학적 조성물"로서 사용될 수 있음이 또한 고려된다. 본 명세서에 사용되는 바와 같이, "약리학적 유효량", "치료적 유효량", 또는 간단히 "유효량"은 약리학적, 치료적 또는 예방적 결과를 생성하는 RNAi 작용제의 양을 지칭한다.

[0572] 일반적으로, 활성 화합물의 유효량은 일당 체중 kg당 약 0.1 내지 약 100 mg, 예를 들어 체중 kg당 약 1.0 내지 약 50 mg의 범위일 것이다. 일부 실시 형태에서, 활성 화합물의 유효량은 용량당 체중 kg당 약 0.25 내지 약 5 mg의 범위일 것이다. 일부 실시 형태에서, 활성 성분의 유효량은 용량당 체중 kg당 약 0.5 내지 약 3 mg의 범위일 것이다. 투여되는 양은 또한 환자의 전반적인 건강 상태, 전달되는 화합물의 상대적 생물학적 효능, 약물의 제형, 제형 내 부형제의 존재 및 유형, 및 투여 경로와 같은 변수에 아마도 의존할 것이다. 또한, 투여되는 초기 투여량은 원하는 혈액 수준 또는 조직 수준을 신속하게 달성하기 위하여 상기 상위 수준을 넘어 증가될 수 있거나, 초기 투여량은 최적보다 작을 수 있음이 이해되어야 한다.

[0573] 질병의 치료를 위하여 또는 질병의 치료를 위한 의약 또는 조성물의 형성을 위하여, HBV RNAi 작용제를 포함하는 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 부형제와 또는 다음을 포함하지만 이로 한정되지 않는 제2 치료제 또는 치료와 병용될 수 있다: 제2 또는 다른 RNAi 작용제, 소분자 약물, 항체, 항체 단편, 및/또는 백신.

[0574] 기재된 HBV RNAi 작용제는, 약제학적으로 허용가능한 부형제 또는 애주번트에 첨가될 때, 키트, 용기, 팩 또는 디스펜서 내로 포장될 수 있다. 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물은 사전 충전된 주사기 또는 바이알 내에 포장될 수 있다.

치료 방법 및 발현의 저해

[0576] 본 명세서에 개시된 HBV RNAi 작용제는 화합물의 투여로부터 이익이 얻어지는 질병 또는 장애를 갖는 대상체 (예를 들어, 인간 또는 포유동물)를 치료하는 데 사용될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 개시된 RNAi 작용제는 HBV mRNA 발현의 감소 또는 저해로부터 이익이 얻어지는 질병 또는 장애를 갖는 대상체 (예를 들어, 인간)를 치료하는 데 사용될 수 있다. 대상체에게 치료적 유효량의 임의의 하나 이상의 RNAi 작용제가 투여된다. 대상체는 인간, 환자, 또는 인간 환자일 수 있다. 대상체는 성인, 청소년, 어린이, 또는 영아일 수 있다. HBV RNAi 작용제를 포함하는 기재된 약제학적 조성물은 질병의 치료적 처치를 위한 방법을 제공하는 데 사용될 수 있다. 그러한 방법은 본 명세서에 기재된 약제학적 조성물을 인간 또는 동물에게 투여하는 것을 포함한다.

[0577] 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제는 HBV로 감염된 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제는 HBV 감염을 갖는 대상체에서 적어도 하나의 증상을 치료하는 데 사용된다. 대상체에게 치료적 유효량의 임의의 하나 이상의 기재된 RNAi 작용제가 투여된다.

[0578] 일부 실시 형태에서, 대상체는 HBV 감염 및 HDV 감염 둘 모두를 가진다. 일부 실시 형태에서, 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제는 HBV와 HDV 둘 모두로 감염된 대상체를 치료하는 데 사용된다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제는 HBV 또는 HDV 감염을 갖는 대상체에서 적어도 하나의 증상을 치료하는 데 사용된다. 대상체에게 치료적 유효량의 임의의 하나 이상의 기재된 RNAi 작용제가 투여된다.

[0579] 일부 실시 형태에서, HBV RNAi 작용제는 HBV로 감염된 대상체의 임상 표현을 치료하거나 관리하는 데 사용된다. 대상체에게 치료적 유효량의 하나 이상의 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제 또는 HBV RNAi 작용제 함유 조성물이 투여된다. 일부 실시 형태에서, 방법은 본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제를 포함하는 조성물을 치료될 대상체에게 투여하는 단계를 포함한다.

[0580] 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제가 투여되는 대상체에서의 HBV 유전자의 유전자 발현 수준 및/또는 mRNA 수준은 HBV RNAi 작용제가 투여되기 전의 대상체 또는 HBV RNAi 작용제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 넘게 감소된다. 대상체에서의 유전자 발현 수준 및/또는 mRNA 수준은 대상체의 세포, 세포 군, 및/또는 조직에서 감소될 수 있다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제가 투여된 대상체에서의 HBV 유전자의 발현된 단백질 수준은 HBV RNAi 작용제가 투여되기 전의 대상체 또는 HBV RNAi 작용제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%,

65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 넘게 감소된다. 대상체에서의 단백질 수준은 대상체의 세포, 세포 군, 조직, 혈액, 및/또는 다른 유체에서 감소될 수 있다. 예를 들어, 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제가 투여된 대상체에서의 B형 간염 표면 항원(HBsAg)의 양 또는 수준은 HBV RNAi 작용제가 투여되기 전의 대상체 또는 HBV RNAi 작용제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 넘게 감소된다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제가 투여된 대상체에서의 B형 간염 e-항원(HBeAg)의 양 또는 수준은 HBV RNAi 작용제가 투여되기 전의 대상체 또는 HBV RNAi 작용제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 넘게 감소된다. 일부 실시 형태에서, 기재된 HBV RNAi 작용제가 투여된 대상체에서의 혈청 HBV DNA의 양 또는 수준은 HBV RNAi 작용제가 투여되기 전의 대상체 또는 HBV RNAi 작용제를 투여받지 않은 대상체에 비해 적어도 약 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 또는 99% 넘게 감소된다. 혈청 HBV DNA, HBV 유전자 발현, HBV mRNA, 또는 HBV 단백질의 양 또는 수준의 감소는 당업계에 공지된 방법에 의해 평가될 수 있다. HBV mRNA의 양 또는 수준, 발현된 단백질의 양 또는 수준, 및/또는 혈청 HBV DNA의 양 또는 수준의 감소 또는 저하는 HBV의 감소 또는 저하로 또는 HBV의 발현을 저해 또는 감소시키는 것으로 본 명세서에서 촉진된다.

세포 및 조직 및 비인간(non-human) 유기체

본 명세서에 기재된 HBV RNAi 작용제 중 적어도 하나를 포함하는 세포, 조직, 및 비인간 유기체가 고려된다. 세포, 조직, 또는 비인간 유기체는 RNAi 작용제를 세포, 조직, 또는 비인간 유기체에 전달함으로써 만들어진다.

이제, 상기 제공된 실시 형태 및 항목이 하기의 비제한적인 예로 예시된다.

실시예

실시예 1. *HBV RNAi* 작용제의 합성.

표 5에 나타낸 HBV RNAi 작용제 이중체를 다음에 따라 합성하였다:

A. 합성. 올리고뉴클레오티드 합성에서 사용되는 고체상에서 포스포르아미다이트 기술에 따라 HBV RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥을 합성하였다. 규모에 따라, MerMade96E® (Bioautomation), MerMade12® (Bioautomation), 또는 OP Pilot 100 (GE Healthcare)을 사용하였다. 제어된 기공 유리 (CPG, 500 Å 또는 600Å, 미국 펜실베이니아주 애스톤 소재의 Prime Synthesis로부터 입수함)로 제조된 고체 지지체 상에서 합성을 수행하였다. 모든 RNA 및 2'-변형된 포스포라미다이트는 Thermo Fisher Scientific (미국 위스콘신주 밀워키 소재)으로부터 구매하였다. 구체적으로, 하기 2'-0-메틸 포스포르아미다이트를 사용하였다: (5' -0-다이메톡시트라이틸 -N⁶-(벤조일)-2'-0-메틸-아데노신-3'-0-(2-시아노에틸-N,N-다이아이소프로필아미노) 포스포르아미다이트, 5'-0-다이메톡시-트라이틸-N⁴-(아세틸)-2'-0-메틸-시티딘-3'-0-(2-시아노에틸 -N, N-다이아이소프로필-아미노) 포스포르아미다이트, (5'-0-다이메톡시트라이틸-N²-(아이소부티릴)-2'-0-메틸-구아노신-3'-0-(2-시아노에틸-N, N-다이아이소프로필아미노) 포스포르아미다이트, 및 5'-0-다이메톡시트라이틸-2'-0-메틸-우리딘-3'-0-(2-시아노에틸-N,N-다이아이소프로필아미노) 포스포르아미다이트. 2'-데옥시-2'-플루오로-포스포라미다이트는 2'-0-메틸 아미다이트와 동일한 보호기를 지녔다. 염기성 (3'-0-다이메톡시트라이틸-2'-데옥시리보스-5'-0-(2-시아노에틸-N,N-다이아이소프로필아미노) 포스포르아미다이트를 ChemGenes (미국 매사추세츠주 월밍턴 소재)로부터 구매하였다. 포스포르아미다이트를 함유하는 표적화 리간드를 무수 다이클로로메탄 또는 무수 아세토니트릴 (50 mM) 중에 용해시키는 한편, 모든 다른 아미다이트를 무수 아세토니트릴 (50 mM)에 용해시키고, 분자체 (3Å)를 첨가하였다. 5-벤질티오-1H-테트라졸 (BTT, 아세토니트릴 중 250 mM) 또는 5-에틸티오-1H-테트라졸 (ETT, 아세토니트릴 중 250 mM)을 활성화제 용액으로서 사용하였다. 커플링 시간은 12 분 (RNA), 15 분 (표적화 리간드), 90 초 (2'¹OMe), 및 60 초 (2'¹F)였다. 포스포로티오에이트 결합을 도입하기 위하여, 무수 아세토니트릴 중 3-페닐 1,2,4-다이티아졸린-5-온 (POS, 미국 매사추세츠주 레오밍스터 소재의 PolyOrg, Inc.로부터 입수함)의 100 mM 용액을 이용하였다.

B. 지지체 결합된 올리고머의 절단 및 탈보호. 고체상 합성의 완료 후에, 건조된 고체 지지체를 30°C에서 1.5시간 동안 물 중 40 중량% 메틸아민의 1:1 부피 용액과 28% 수산화암모늄 용액 (Aldrich)으로 처리하였다. 용액을 증발시키고 고체 잔사를 물에서 재구성하였다 (하기 참조).

- [0589] C. 정제 TSKgel SuperQ-5 PW 13 μm 컬럼 및 Shimadzu LC-8 시스템을 사용하여 음이온 교환 HPLC에 의해 미정제 올리고머를 정제하였다. 완충제 A는 20 mM Tris, 5 mM EDTA, pH 9.0이며 20% 아세토니트릴을 함유하였고, 완충제 B는 완충제 A와 동일한 것으로 1.5 M 염화나트륨이 추가되었다. 260 nm에서의 UV 트레이스(trace)를 기록하였다. 적절한 분획을 풀링한 후, 여과된 탈이온수 또는 100 mM 중탄산암모늄, pH 6.7 및 20% 아세토니트릴의 러닝(running) 완충액과 함께 세파덱스 G-25 파인(Sephadex G-25 fine)으로 패킹된 GE Healthcare XK 26/40 컬럼을 사용하는 크기 배제 HPLC에서 러닝시켰다.
- [0590] D. 어닐링. 1× 포스페이트 완충 식염수 (Corning, Cellgro)에서 등몰 RNA 용액 (센스 및 안티센스)을 조합함으로써 상보적 가닥을 혼합하여 RNAi 작용제를 형성하였다. 일부 RNAi 작용제를 동결건조하고 -15°C 내지 -25°C에서 보관하였다. 1× 포스페이트 완충 식염수 내에서 UV-Vis 분광계 상에서 용액 흡광도를 측정함으로써 이 중체 농도를 결정하였다. 이어서, 260 nm에서의 용액 흡광도에 변환 인자 및 희석 인자를 곱하여 이중체 농도를 결정하였다. 달리 언급되지 않는 한, 모든 변환 인자는 0.037 mg/(mL · cm) 이었다. 일부 실험의 경우, 실험적으로 결정된 흡광 계수로부터 변환 인자를 계산하였다.
- [0591] **실시예 2. pHBV 모델 마우스.**
- [0592] 6주령 내지 8주령 암컷 NOD.CB17-Prkdcscid/NcrCr1 (NOD-SCID) 마우스를, HBV RNAi 작용제 또는 대조군을 투여하기 30 일 내지 45 일 전에 투여되는 유체동역학적 꼬리 정맥 주사 (문헌[Yang PL et al. "Hydrodynamic injection of viral DNA: a mouse model of acute hepatitis B virus infection," PNAS USA 2002 Vol. 99: p. 13825-13830])에 의해 MC-HBV1.3로 생체내에서 일시적으로 트랜스펙션시켰다. MC-HBV1.3은 플라스미드 pHBV1.3에서와 그리고 HBV1.3.32 트랜스제닉(transgenic) 마우스 (GenBank 수탁 번호 V01460) (문헌[Guidotti LG et al., "High-level hepatitis B virus replication in transgenic mice," J Virol 1995 Vol. 69, p6158-6169])에서와 동일한 말단 중복 인간 B형 간염 바이러스 서열을 함유하는 플라스미드 유래 미니써클(minicircle)이다. 동물의 체중의 10%의 총 부피의 렇거 용액 중 5 또는 10 μg MC-HBV1.3을 꼬리 정맥을 통해 마우스에 주사하여 만성 HBV 감염의 pHBV 모델을 생성하였다. 용액을 이전에 기재된 바와 같이 (문헌[Zhang G et al., "High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injection of naked plasmid DNA." Human Gene Therapy 1999 Vol. 10, p1735-1737.]) 5 내지 7 초 내에 27-케이지 바늘을 통해 주사하였다. 투여 전에 (투여 전 1 일째, -1 일째 또는 -2 일째), 혈청에서의 B형 간염 항원(HBsAg) 발현 수준을 ELISA로 측정하고, 마우스를 평균 HBsAg 발현 수준에 따라 그룹화하였다.
- [0593] 분석: HBV RNAi 작용제의 투여 전 및 후의 다양한 시간에서, 혈청 HBsAg, 혈청 HBeAg, 혈청 HBV DNA, 또는 간 HBV RNA를 측정할 수 있다. HBV 발현 수준을 투여 전 발현 수준에 대해 그리고 포스페이트 완충 식염수("PBS")가 주사된 대조군 마우스에 대해 정규화하였다.
- [0594] i) 혈청 수집: 마우스를 2% 내지 3% 아이소플루란으로 마취시키고, 혈액 샘플을 하악골하 영역으로부터 혈청 분리 튜브 (독일 네브레히트 소재의 Sarstedt AG & Co.) 내로 수집하였다. 혈액을 주위 온도에서 20 분 동안 응고시켰다. 튜브를 8,000 $\times g$ 에서 3 분 동안 원심분리하여 혈청을 분리하고, 4°C에서 보관하였다.
- [0595] ii) 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준: 혈청을 수집하고, 5% 무지방 분유를 함유하는 PBS 중에 10배 내지 8000배 희석시켰다. 10 μg HBsAg 발현 플라스미드 pRc/CMV-HBs (미국 노스다코다주 파고 소재의 Aldevron)로 트랜스펙션시킨 ICR 마우스 (Harlan Sprague Dawley)의 혈청으로부터 무지방 우유 용액 중에 희석된 2차 HBsAg 표준물을 제조하였다. GS HBsAg EIA 3.0 키트 (미국 위싱턴주 레드몬드 소재의 Bio-Rad Laboratories, Inc.)로 제조사에 의해 기술된 바와 같이 HBsAg 수준을 결정하였다. PBS 중 무지방 우유 중에 또한 희석된 재조합 HBsAg 단백질인 ayw 서브타입을 1차 표준물 (Aldevron)로 사용하였다.
- [0596] MC-HBV1.3의 발현에서의 비치료 관련 감소를 설명하기 위하여 각 동물에 대한 HBsAg 발현을 PBS가 주사된 마우스의 대조군에 대해 정규화하였다. 먼저, 일정 시점에서의 각 동물에 대한 HBsAg 수준을 그 동물에서의 처리 전 발현 수준으로 나누어, "처리 전에 대해 정규화된" 발현의 비를 결정하였다. 이어서, 개별 동물에 대한 "처리 전에 대해 정규화된" 비를 정상 PBS 대조군에서의 모든 마우스의 "처리 전에 대해 정규화된" 평균 비로 나눔으로써 특정 시점에서의 발현을 대조군에 대해 정규화하였다.
- [0597] iii) 혈청 B형 간염 e-항원(HBeAg) 수준: 5% 무지방 분유 중에 4배 내지 20배 희석된 혈청을 사용하여 HBeAg 효소 결합 면역흡착 검정(ELISA)으로 제조사 (DiaSorin)에 의해 기술된 바와 같이 HBeAg 분석을 수행하였다. 항원의 양을 검정의 선형 범위에서 결정하고, HBeAg 단백질 표준물 (미국 매사추세츠주 엑튼 소재의 Fitzgerald Industries International, catalog # 30-AH18)에 대해 정량화하였다.

[0598] MC-HBV1.3의 발현에서의 비치료 관련 감소를 설명하기 위하여 각 동물에 대한 HBeAg 발현을 PBS가 주사된 마우스의 대조군에 대해 정규화하였다. 혈청 중의 HBeAg의 평가를 위하여, 풀링된 그룹 또는 하위 그룹의 혈청 샘플로부터 HBeAg를 분석한다. 먼저, 각각의 풀링된 그룹 또는 하위 그룹에 대한 HBeAg 수준을 동일한 그룹 또는 하위 그룹에서의 처리 전 발현 수준으로 나누어, "처리 전에 대해 정규화된" 발현의 비를 결정하였다. 이어서, 일정 그룹 또는 하위 그룹에 대한 "처리 전에 대해 정규화된" 비를 정상 PBS 대조군에서의 모든 샘플의 "처리 전에 대해 정규화된" 평균 비로 나눔으로써 특정 시점에서의 발현을 대조군에 대해 정규화하였다.

[0599] iv) 혈청 *HBV DNA* 수준: 일정 그룹 또는 하위그룹에서의 마우스로부터의 혈청의 동일한 부피를 100 μ L의 최종 부피로 풀링하였다. QIAamp 민일루트 바이러스 스핀 키트(QIAamp MinElute Virus Spin Kit) (미국 캘리포니아주 발렌시아 소재의 Qiagen)를 사용하여 제조사의 사용 설명서에 따라 혈청 샘플로부터 DNA를 단리하였다. 멸균 0.9% 식염수를 각각의 샘플에 200 μ L의 최종 부피로 첨가하였다. 혈청 샘플을 완충액과 프로테아제를 함유하는 퓨브에 첨가하였다. 담체 RNA를 첨가하여 소량의 DNA의 단리를 보조하였다. 1 ng의 pHCR/Ubc-SEAP 플라스미드 DNA (문헌[Wooddell CI, et al. "Long-term RNA interference from optimized siRNA expression constructs in adult mice." *Biochem Biophys Res Commun* (2005) 334, 117-127])를 회복 대조군으로서 첨가하였다. 15 분 동안 56°C에서 인큐베이션한 후에, 에탄올로 핵산을 용해물로부터 침전시키고, 전체 용액을 컬럼에 적용하였다. 세척 후에, 샘플을 50 μ L 버퍼(Buffer) AVE의 부피 내로 용리시켰다.

[0600] pHBV 마우스 모델 혈청으로부터 단리된 DNA 내의 HBV 계놈의 카피 수를 qPCR에 의해 결정하였다. S 유전자 내의 HBV 계놈의 짧은 세그먼트 (GenBank 수탁 번호 V01460의 염기 353-777)를 인코딩하는 플라스미드 pSEAP-HBV353-777을 사용하여 식스 로그 표준 곡선(six log standard curve)을 생성하였다. pHCR/Ubc-SEAP의 검출에 기초하여 평균으로부터 2 표준 편차 미만의 DNA의 회복을 갖는 샘플은 제외하였다. 풀루오르/ZEN/IBFQ를 갖는 TaqMan 화학 기반 프라이머 및 프로브를 이용한다.

[0601] 7500 패스트(Fast) 또는 스텝원 플러스 리얼-타임(StepOne Plus Real-Time) PCR 시스템 (Life Technologies) 상에서 qPCR 검정을 수행하였다. 혈청 중의 HBV DNA의 평가를 위하여, 풀링된 그룹의 혈청 샘플로부터 DNA를 단일 또는 이중 정제 단계로부터 단리하였다. HBV DNA 및 회복 대조군 플라스미드의 정량화를 삼중으로 수행된 qPCR 반응에 의해 결정하였다. HBV 및 pHCR/Ubc-SEAP를 정량화하기 위한 프로브를 각각의 반응에 포함시켰다.

[0602] 실시예 3. pHBV 모델 마우스에서의 *HBV RNAi* 작용제.

[0603] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 1 일째에, 각각의 마우스에게, 2 mg/kg(mpk)의 포스페이트 완충 식염수("PBS") 중에 제형화된 *HBV RNAi* 작용제를 함유하는 200 μ l의 단일 피하 주사액, 또는 대조군으로 사용될 *HBV RNAi* 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 투여하였다. 각각의 *HBV RNAi* 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 시험한 *HBV RNAi* 작용제는 하기 표 7에 나타낸 이중체 번호를 갖는 것을 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0604] 혈청을 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0605] [표 7]

실시예 3으로부터의 *HBV RNAi* 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준 (표준 편자는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
PBS	1.000 \pm 0.185	1.000 \pm 0.288	1.000 \pm 0.540	1.000 \pm 0.326
AD04178	0.164 \pm 0.043	0.206 \pm 0.044	0.293 \pm 0.050	0.348 \pm 0.099
AD04579	0.083 \pm 0.028	0.099 \pm 0.022	0.112 \pm 0.022	0.138 \pm 0.056
AD04580	0.048 \pm 0.007	0.073 \pm 0.012	0.085 \pm 0.012	0.126 \pm 0.014
AD04570	0.241 \pm 0.076	0.294 \pm 0.071	0.276 \pm 0.068	0.474 \pm 0.092
AD04572	0.190 \pm 0.040	0.279 \pm 0.011	0.323 \pm 0.049	0.441 \pm 0.046
AD04573	0.333 \pm 0.143	0.505 \pm 0.106	0.361 \pm 0.060	0.444 \pm 0.068
AD04574	0.291 \pm 0.032	0.650 \pm 0.056	0.388 \pm 0.048	0.485 \pm 0.070
AD04575	0.397 \pm 0.189	0.514 \pm 0.234	0.574 \pm 0.204	0.689 \pm 0.207
AD04419	0.262 \pm 0.038	0.174 \pm 0.042	0.258 \pm 0.064	0.311 \pm 0.089
AD04578	0.210 \pm 0.056	0.235 \pm 0.033	0.298 \pm 0.035	0.336 \pm 0.049

[0606] [0607] RNAi 작용제 AD04178, AD04579, AD04580, AD04570, AD04572, AD04573, AD04574, AD04575, AD04419, 및

AD04578을, 상기 표 1 및 표 2에 나타낸 HBV 게놈의 위치 1781-1789에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 각각 설계하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 상당한 감소를 보였다. 예를 들어, AD04580은 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화될 때 8 일째에 s-항원 수준의 95% 초과의 감소 (0.048 ± 0.007 HBsAg 수준)를 나타내었다.

[0608] 추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, PBS, AD04579, 및 AD04580 그룹에 대해 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 43 일째 및 50 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 각 그룹으로부터의 혈청을 풀링하고, 이어서 DNA를 이중 단리로 혈청으로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0609] [표 8]

실시예 3으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
PBS	1.0000 ± 0.1185	1.0000 ± 0.0591	1.0000 ± 0.0322	1.0000 ± 0.0597
AD04579	0.1541 ± 0.0070	0.1776 ± 0.0027	0.1810 ± 0.0450	0.3738 ± 0.0302
AD04580	0.0921 ± 0.0253	0.0869 ± 0.0117	0.1444 ± 0.0755	0.0950 ± 0.0026
그룹	36 일째	43 일째	50 일째	
PBS	1.0000 ± 0.1625	1.0000 ± 0.0055	1.0000 ± 0.1484	
AD04579	0.9670 ± 0.1247	0.7643 ± 0.1334	0.6299 ± 0.1319	
AD04580	0.4949 ± 0.0096	0.4350 ± 0.0344	0.6819 ± 0.0266	

[0610]

표 8의 데이터는 조사된 둘 모두의 RNAi 작용제가 PBS 군과 비교하여 HBV DNA 수준의 상당한 감소를 제공하였음을 나타내며, AD04580은 최저점(예를 들어, 15 일째의 0.0869 ± 0.0117 의 평균 혈청 DNA 수준)에서 1 로그 녹다운(log knockdown)보다 약간 높은 녹다운을 달성하였다.

[0611]

실시예 4. pHBV 모델 마우스에서의 HBV RNAi 작용제.

[0612]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 1 일째에, 각각의 마우스에게, 2 mg/kg(mpk)의 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제를 함유하는 $200 \mu\text{l}$ 의 단일 피하 투여, 또는 대조군으로 사용될 HBV RNAi 작용제가 없는 $200 \mu\text{l}$ 의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 투여된 HBV RNAi 작용제는 하기 표 9에 나열된 것을 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서(즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다($n = 3$).

[0613]

혈청을 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0614]

[표 9]

실시예 4로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
PBS	1.000 ± 0.085	1.000 ± 0.235	1.000 ± 0.171	1.000 ± 0.099
AD04010	0.229 ± 0.141	0.165 ± 0.091	0.142 ± 0.085	0.116 ± 0.076
AD04581	0.379 ± 0.042	0.221 ± 0.066	0.135 ± 0.040	0.112 ± 0.050
AD04591	0.285 ± 0.101	0.145 ± 0.064	0.086 ± 0.024	0.081 ± 0.026
AD04434	0.295 ± 0.041	0.191 ± 0.008	0.147 ± 0.016	0.187 ± 0.049
AD04583	0.488 ± 0.018	0.545 ± 0.037	0.511 ± 0.086	0.663 ± 0.112
AD04584	0.392 ± 0.136	0.337 ± 0.073	0.364 ± 0.075	0.515 ± 0.155
AD04585	0.099 ± 0.016	0.042 ± 0.014	0.030 ± 0.009	0.044 ± 0.014
AD04586	0.222 ± 0.056	0.107 ± 0.034	0.074 ± 0.016	0.106 ± 0.039
AD04588	0.255 ± 0.065	0.205 ± 0.021	0.185 ± 0.021	0.207 ± 0.024
AD04438	0.265 ± 0.106	0.113 ± 0.045	0.091 ± 0.031	0.130 ± 0.038

[0615]

RNAi 작용제 AD04010, AD04581, AD04591, AD04434, AD04583, AD04584, AD04585, AD04586, AD04588, 및 AD04438을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 게놈의 위치 257-275에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. 바로 위의 표 9에 나타낸 각각의 HBV RNAi 작용제

제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 상당한 감소를 보였다. 예를 들어, AD04585는 대략 8 일째에 HBsAg의 90% 감소, 15 일째에 95% 감소, 22 일째에 97% 감소, 및 29 일째에 95% 감소를 보였다.

[0618] 추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, PBS, AD04585 그룹에 대해 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 43 일째 및 50 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 각 그룹으로부터의 혈청을 풀링하고, 이어서 DNA를 이중 단리로 혈청으로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0619] [표 10]

실시예 4으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
PBS	1.000 ± 0.248	1.000 ± 0.089	1.000 ± 0.195	1.000 ± 0.180
AD04585	0.901 ± 0.183	0.225 ± 0.003	0.187 ± 0.023	0.191 ± 0.004
그룹	36 일째	43 일째	50 일째	
PBS	1.000 ± 0.018	1.000 ± 0.033	1.000 ± 0.778	
AD04585	0.209 ± 0.017	0.171 ± 0.019	0.305 ± 0.010	

[0620]

표 10의 데이터는 HBV RNAi 작용제 AD04585가 PBS 그룹과 비교하여 HBV DNA 수준의 감소를 제공하였음을 나타낸다.

[0621] 실시예 5. pHBV 모델 마우스에서의 HBV RNAi 작용제의 용량 반응 및 조합.

[0623] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 11에 기재된 것을 포함하는 다양한 그룹으로 나누고, 표 11에 기재된 투여 요법에 따라 200 μl의 피하 주사액을 마우스에게 제공하였다:

[0624] [표 11]

실시예 5에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
B	3.0 mg/kg AD04585	1 일째의 단일 주사
C	3.0 mg/kg AD04585	1 일째, 8 일째, 및 15 일째에 주사(즉, 3 회의 매주 주사)
D	3.0 mg/kg AD04580	1 일째의 단일 주사
E	3.0 mg/kg AD04580	1 일째, 8 일째, 및 15 일째의 주사(즉, 3 회의 매주 주사)
F	1.0 mg/kg AD4585 + 1.0 mg/kg AD04580	1 일째의 주사, 및 22 일째의 다른 주사
G	1.0 mg/kg AD4585 + 1.0 mg/kg AD04580	1 일째, 8 일째, 15 일째, 및 43 일째의 주사
H	1.5 mg/kg AD4585 + 1.5 mg/kg AD04580	1 일째, 22 일째, 및 43 일째의 주사
I	1.5 mg/kg AD4585 + 1.5 mg/kg AD04580	1 일째, 8 일째, 15 일째, 및 43 일째의 주사

[0625]

각각의 마우스에게, 표 11에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μl의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μl의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 (n = 3).

[0627] 혈청을 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 43 일째, 50 일째, 및 57 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0628]

[표 12]

실시예 5로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.162	1.000 ± 0.138	1.000 ± 0.083	1.000 ± 0.204
B	0.060 ± 0.015	0.010 ± 0.003	0.006 ± 0.002	0.007 ± 0.002
C	0.087 ± 0.014	0.004 ± 0.001	0.001 ± 0.0003	0.0002 ± 0.0001
D	0.026 ± 0.009	0.035 ± 0.013	0.037 ± 0.014	0.046 ± 0.006
E	0.023 ± 0.005	0.002 ± 0.001	0.001 ± 0.0003	0.001 ± 0.0004
F	0.063 ± 0.046	0.083 ± 0.051	0.086 ± 0.016	0.027 ± 0.006
G	0.062 ± 0.011	0.022 ± 0.008	0.009 ± 0.003	0.008 ± 0.002
H	0.055 ± 0.015	0.062 ± 0.002	0.072 ± 0.013	0.011 ± 0.001
I	0.031 ± 0.006	0.008 ± 0.001	0.003 ± 0.0004	0.003 ± 0.0003
그룹	36 일째	43 일째	50 일째	57 일째
A	1.000 ± 0.211	1.000 ± 0.189	1.000 ± 0.179	1.000 ± 0.062
B	0.013 ± 0.005	0.027 ± 0.004	0.026 ± 0.004	0.057 ± 0.012
C	0.001 ± 0.0002	0.002 ± 0.001	0.008 ± 0.004	0.020 ± 0.015
D	0.116 ± 0.019	0.214 ± 0.056	0.263 ± 0.046	0.404 ± 0.030
E	0.003 ± 0.0001	0.007 ± 0.001	0.012 ± 0.002	0.033 ± 0.011
F	0.029 ± 0.003	0.065 ± 0.005	0.064 ± 0.004	0.161 ± 0.033
G	0.014 ± 0.008	0.039 ± 0.011	0.018 ± 0.008	0.046 ± 0.008
H	0.017 ± 0.005	0.039 ± 0.008	0.007 ± 0.001	0.013 ± 0.003
I	0.007 ± 0.001	0.020 ± 0.002	0.005 ± 0.001	0.011 ± 0.002

[0629]

[0630]

HBV RNAi 작용제 AD04580 및 AD04585는 각각 개별적으로 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. 더욱이, 상기 실시예에 기재된 바와 같이 HBV 계놈의 상이한 영역을 표적화하는 AD04585와 AD04580의 조합 처리는 또한 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다.

[0631]

추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, 표 11의 각각의 그룹에 대해 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 및 36 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 각 그룹으로부터의 혈청을 풀링하고, 이어서 DNA를 이중 반응으로 혈청으로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0632]

[표 13]

실시예 5으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.063	1.000 ± 0.059	1.000 ± 0.372	1.000 ± 0.237
B	0.267 ± 0.003	0.043 ± 0.016	0.038 ± 0.008	0.044 ± 0.004
C	0.236 ± 0.016	0.023 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.002 ± 0.000
D	0.058 ± 0.016	0.085 ± 0.017	0.252 ± 0.071	0.217 ± 0.009
E	0.056 ± 0.002	0.0009 ± 0.0004	0.0005 ± 0.0002	0.003 ± 0.002
F	0.298 ± 0.013	0.351 ± 0.032	0.823 ± 0.127	0.217 ± 0.007
G	0.276 ± 0.035	0.112 ± 0.020	0.061 ± 0.002	0.073 ± 0.002
H	0.232 ± 0.012	0.213 ± 0.028	0.403 ± 0.047	0.079 ± 0.005
I	0.092 ± 0.026	0.055 ± 0.000	0.002 ± 0.003	0.010 ± 0.004
그룹	36 일째			
A	1.000 ± 0.024			
B	0.046 ± 0.007			
C	0.003 ± 0.000			
D	0.319 ± 0.034			
E	0.002 ± 0.000			
F	0.122 ± 0.004			
G	0.047 ± 0.006			
H	0.056 ± 0.003			
I	0.021 ± 0.007			

[0633]

[0634]

표 13의 데이터는 조사된 RNAi 작용제가, 개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, PBS 그룹과 비교하여 HBV DNA 수준의 감소를 제공하였음을 나타낸다. 재투여 또는 투여량의 증가는 추가의 HBV DNA 감소를 가져왔다.

[0635]

실시예 6. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제: 용량 반응 및 조합 연구.

[0636] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 14에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 14에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0637] [표 14]

실시예 6에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
B	4.0 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
C	1.0 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
D	2.0 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
E	1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
F	2.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
G	3.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
H	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
I	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
J	3.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사

[0638]

[0639] 각각의 마우스에게, 표 14에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0640]

혈청을 투여 전 -1 일째에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 및 36 일째에 수집하고, 혈청 HBsAg 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 15에 나타내며, 평균 HBsAg는 HBsAg의 정규화된 평균값을 반영한다:

[0641] [표 15]

실시예 6으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해
정규화된 평균 HBsAg 수준 (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
A	1.000 \pm 0.068	1.000 \pm 0.183	1.000 \pm 0.181
B	0.085 \pm 0.020	0.068 \pm 0.005	0.089 \pm 0.014
C	0.283 \pm 0.039	0.343 \pm 0.055	0.436 \pm 0.004
D	0.161 \pm 0.052	0.137 \pm 0.036	0.190 \pm 0.068
E	0.182 \pm 0.040	0.233 \pm 0.023	0.436 \pm 0.029
F	0.078 \pm 0.024	0.093 \pm 0.015	0.167 \pm 0.028
G	0.066 \pm 0.030	0.013 \pm 0.002	0.010 \pm 0.002
H	0.033 \pm 0.012	0.016 \pm 0.005	0.020 \pm 0.005
I	0.040 \pm 0.011	0.028 \pm 0.003	0.032 \pm 0.007
J	0.035 \pm 0.010	0.019 \pm 0.002	0.021 \pm 0.001

그룹	29 일째	36 일째
A	1.000 \pm 0.032	1.000 \pm 0.141
B	0.148 \pm 0.016	0.194 \pm 0.047
C	0.622 \pm 0.041	0.741 \pm 0.132
D	0.234 \pm 0.055	0.280 \pm 0.071
E	0.623 \pm 0.116	0.782 \pm 0.114
F	0.259 \pm 0.014	0.368 \pm 0.068
G	0.010 \pm 0.003	0.009 \pm 0.004
H	0.022 \pm 0.005	0.024 \pm 0.009
I	0.065 \pm 0.014	0.087 \pm 0.015
J	0.031 \pm 0.0001	0.044 \pm 0.002

[0642]

[0643] 시험된 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. 또한, 실

시례 6의 그룹 H, I, 및 J에 나타낸, AD04872 (표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 261-279에 있는 S ORF에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함함)와, AD04981 또는 AD04963 (둘 모두 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X ORF에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함함)의 조합 처리는, 하나는 HBV 계놈의 S ORF를 표적화하고 다른 하나는 X ORF를 표적화하는 2개의 RNAi 작용제의 조합 처리가 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 유사하게 나타내었음을 예시한다.

[0644] 추가로, 혈청 B형 간염 e-항원(HBeAg) 수준을 또한 평가하였다. 각각의 그룹의 마우스로부터의 샘플을 먼저 풀링하고, 생성된 혈청 샘플을 단일의 샘플로 하여 검정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0645] [표 16]

실시예 6으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBeAg 수준.

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째	36 일째
A	1.000	1.000	1.000	0.183	1.000
B	0.138	0.180	0.274	0.005	0.089
C	0.316	0.376	0.588	0.055	0.436
D	0.167	0.250	0.262	0.036	0.190
E	0.301	0.327	0.447	0.023	0.436
F	0.167	0.172	0.305	0.015	0.167
G	0.275	0.135	0.158	0.002	0.010
H	0.080	0.053	0.094	0.005	0.020
I	0.165	0.124	0.185	0.003	0.032
J	0.120	0.057	0.101	0.002	0.021

[0646]

표 16에 나타낸 바와 같이, AD04872 (HBV 계놈의 S ORF를 표적화함)와, AD04981 또는 AD04963 (둘 모두 HBV 계놈의 X ORF를 표적화함)의 조합은 AD04872 단독의 투여에 비해 HBeAg 수준의 추가의 감소를 보였다.

[0647]

실시예 7. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제: 추가의 용량 반응 및 조합 연구.

[0648]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 17에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 17에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0649]

[표 17]

실시예 7에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
B	4.0 mg/kg AD04776	1 일째의 단일 주사
C	1.0 mg/kg AD04982	1 일째의 단일 주사
D	2.0 mg/kg AD04982	1 일째의 단일 주사
E	1.0 mg/kg AD04776	1 일째의 단일 주사
F	2.0 mg/kg AD04776	1 일째의 단일 주사
G	3.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
H	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04982	1 일째의 단일 주사
I	3.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD04982	1 일째의 단일 주사

[0650]

각각의 마우스에게, 표 17에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에

서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 4 마리의 마우스를 -1 일째 및 8 일째에 시험하고 ($n = 4$), 이어서 조직학적 평가를 위하여 그룹당 1 마리의 마우스를 안락사시켰다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 22 일째 및 29 일째에 시험하였다 ($n = 3$).

[0653] 혈청을 투여 전 -1 일째에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 18에 나타낸다:

[0654] [표 18]

실시예 7으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 (-1 일째) 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준 (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.347	1.000 ± 0.278	1.000 ± 0.194	1.000 ± 0.318
B	0.117 ± 0.069	0.085 ± 0.039	0.148 ± 0.045	0.198 ± 0.049
C	0.519 ± 0.058	0.375 ± 0.012	0.422 ± 0.046	0.525 ± 0.037
D	0.342 ± 0.062	0.255 ± 0.046	0.272 ± 0.122	0.314 ± 0.068
E	0.279 ± 0.057	0.245 ± 0.032	0.374 ± 0.121	0.304 ± 0.035
F	0.224 ± 0.018	0.161 ± 0.009	0.310 ± 0.016	0.482 ± 0.053
G	0.029 ± 0.010	0.005 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.006 ± 0.001
H	0.016 ± 0.005	0.004 ± 0.001	0.010 ± 0.006	0.015 ± 0.008
I	0.026 ± 0.012	0.008 ± 0.001	0.010 ± 0.002	0.015 ± 0.005

[0655]

시험된 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다.

[0657]

추가로, 혈청 B형 간염 e-항원(HBeAg) 수준을 또한 평가하였다. 각각의 그룹의 마우스로부터의 샘플을 먼저 풀링하고, 생성된 혈청 샘플을 단일의 샘플로 하여 검정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0658] [표 19]

실시예 7로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBeAg 수준.

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째	36 일째
A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.193	0.213	0.260	0.307	0.464
C	0.471	0.424	0.562	0.513	0.705
D	0.335	0.310	0.411	0.442	0.500
E	0.381	0.368	0.355	0.564	0.483
F	0.275	0.255	0.370	0.495	0.449
G	0.323	0.218	0.205	0.250	0.190
H	0.124	0.102	0.099	0.156	0.156
I	0.081	0.059	0.045	0.063	0.086

[0659]

[표 19-1]

실시예 7로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBeAg 농다운 배수.

그룹	8 일째 (배수 KD)	15 일째 (배수 KD)	22 일째 (배수 KD)	29 일째 (배수 KD)	36 일째 (배수 KD)
A	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
B	5.2	4.7	3.8	3.3	2.2
C	2.1	2.4	1.8	2.0	1.4
D	3.0	3.2	2.4	2.3	2.0
E	2.6	2.7	2.8	1.8	2.1
F	3.6	3.9	2.7	2.0	2.2
G	3.1	4.6	4.9	4.0	5.3
H	8.1	9.8	10.1	6.4	6.4
I	12.3	17.0	22.3	15.7	11.6

[0660]

표 19-1은 대조군과 비교한 HBeAg의 농다운 배수 비를 반영하고, 이는 대조군 (PBS) 그룹의 정규화된 HBeAg 수준/각각의 RNAi 작용제(들) 그룹의 정규화된 HBeAg 수준 (즉, 1.000/HBeAg 수준)으로 계산된다. 표 19-1의 데이터는 AD04872 (상기에 언급된 바와 같이 HBV 게놈의 위치 261-279에 있는 S ORF에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함함)와 AD04982 (HBV 게놈의 위치 1781-1799에 있는 X ORF에 적어도 부분적으로 상

보적인 안티센스 가닥 서열을 포함함)의 조합이 개별 RNAi 작용제 단독의 투여에 비해 HBeAg 수준의 추가의 감소를 보였음을 나타낸다(예를 들어, 그룹 H 및 I에 대해 표 19 및 표 19-1 참조). 또한, 본 실시예로부터의 데이터는 AD04872와 AD04982의 조합이 개별적으로 투여되는 AD04872 및 AD04982에서의 HBeAg의 감소 배수의 합보다 큰 HBeAg의 감소 배수를 가져온다는 것을 또한 보여준다. 예를 들어, 그룹 I (3.0 mg/kg AD04872+ 2.0 mg/kg AD04982의 투여임)은 15 일째에 17.0의 HBeAg의 감소 배수를 가져왔고, 이는 그룹 G (3.0 mg/kg AD04872)에 대한 4.6의 감소 배수와 그룹 D (2.0 mg/kg AD04982)에 대한 3.2의 감소 배수의 합보다 크다.

[0663] 또한, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, 표 17의 각각의 그룹에 대해 -1 일째, 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 및 36 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 혈청 HBV DNA를 각 시점에서 각 동물로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0664]

[표 20]

실시예 7으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.493	1.000 ± 0.358	1.000 ± 0.424	1.000 ± 0.387
B	0.224 ± 0.150	0.263 ± 0.185	0.335 ± 0.204	0.449 ± 0.108
C	0.358 ± 0.207	0.428 ± 0.073	0.433 ± 0.220	0.474 ± 0.090
D	0.516 ± 0.163	0.523 ± 0.264	0.244 ± 0.123	0.241 ± 0.085
E	0.601 ± 0.388	0.319 ± 0.125	0.279 ± 0.138	0.506 ± 0.525
F	0.363 ± 0.128	0.374 ± 0.197	0.275 ± 0.146	0.385 ± 0.141
G	0.071 ± 0.032	0.022 ± 0.009	0.015 ± 0.015	0.025 ± 0.005
H	0.069 ± 0.070	0.018 ± 0.014	0.019 ± 0.020	0.022 ± 0.001
I	0.044 ± 0.024	0.033 ± 0.016	0.017 ± 0.012	0.022 ± 0.014

그룹	36 일째
A	1.000 ± 0.326
B	0.603 ± 0.068
C	0.509 ± 0.163
D	0.543 ± 0.079
E	0.444 ± 0.407
F	0.721 ± 0.043
G	0.058 ± 0.030
H	0.047 ± 0.021

[0665]

표 20의 데이터는 조사된 RNAi 작용제가, 개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, PBS 그룹과 비교하여 HBV DNA 수준의 감소를 제공하였음을 나타내고, 또한 AD04872 (S ORF를 표적화함)와 AD04982 (X ORF를 표적화함)의 조합이 혈청 HBV DNA를 동일한 양의 AD04872 단독과 유사한 정도로 감소시킴을 추가로 보여준다.

[0666]

실시예 8. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제: 추가의 용량 반응 및 조합 연구.

[0667]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 21에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 21에 기재된 투여 요법에 따라 200 µl의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0669]

[표 21]

실시예 8에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법	동물의 수(n)
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사	4
2A	4.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
2B	4.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
3A	3.3 mg/kg AD04872 + 1.7 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
3B	3.3 mg/kg AD04872 + 1.7 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
4A	3.2 mg/kg AD04872 + 0.8 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
4B	3.2 mg/kg AD04872 + 0.8 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
5A	2.7 mg/kg AD04872 + 1.3 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
5B	2.7 mg/kg AD04872 + 1.3 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
6A	4.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
6B	4.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
7A	1.7 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
7B	1.7 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
8A	0.8 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
8B	0.8 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	4
9	1.7 mg/kg AD05148	1 일째의 단일 주사	4
10	2.7 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사	3
11	1.7 mg/kg AD05147	1 일째의 단일 주사	3
12	4.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사	3
13	1.7 mg/kg AD05149	1 일째의 단일 주사	3

[0670]

추가로, 마우스가 하기 일정에 따라 안락사되도록 일정을 계획한다:

[0671]

- 11 일째: 그룹 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A 및 8A로부터 2 마리의 마우스를 안락사시키고, 그룹 9로부터 1 마리의 마우스를 안락사시킨다.

[0672]

- 14 일째: 그룹 2A, 3A, 4A, 5A, 6A, 7A, 및 8A로부터 2 마리의 마우스를 안락사시킨다.

[0673]

- 21 일째: 그룹 2B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B, 및 8B로부터 2 마리의 마우스를 안락사시킨다.

[0674]

- 28 일째: 그룹 1, 2B, 3B, 4B, 5B, 6B, 7B, 및 8B로부터 2 마리의 마우스를 안락사시키고, 그룹 10 및 12로부터 모든 마우스(4 마리)를 안락사시킨다.

[0675]

각각의 마우스에게, 표 21에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 상기 표 14에 나타낸 바와 같이, 3 마리의 마우스를 시험한 ($n = 3$) 그룹 10, 11, 12 및 13을 제외하고는, 각 그룹에서 4 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 4$).

[0676]

혈청을 투여 전 -1 일째에, 그리고 8 일째, 14 일째, 21 일째, 및 28 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0678]

[표 22]

실시예 8로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹 번호	8 일째	14 일째	21 일째	28 일째
1	1.000 ± 0.089	1.000 ± 0.087	1.000 ± 0.132	1.000 ± 0.138
2A	0.009 ± 0.003	0.005 ± 0.001		
2B	0.006 ± 0.003	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001	0.005 ± 0.001
3A	0.032 ± 0.021	0.009 ± 0.004		
3B	0.028 ± 0.027	0.008 ± 0.006	0.012 ± 0.005	0.015 ± 0.005
4A	0.036 ± 0.020	0.012 ± 0.006		
4B	0.029 ± 0.025	0.010 ± 0.008	0.015 ± 0.005	0.022 ± 0.004
5A	0.027 ± 0.014	0.008 ± 0.002		
5B	0.027 ± 0.013	0.007 ± 0.003	0.019 ± 0.004	0.031 ± 0.005
6A	0.058 ± 0.035	0.069 ± 0.039		
6B	0.117 ± 0.058	0.079 ± 0.047	0.145 ± 0.082	0.135 ± 0.061
7A	0.189 ± 0.100	0.084 ± 0.029		
7B	0.099 ± 0.010	0.147 ± 0.025	0.267 ± 0.048	0.345 ± 0.063
8A	0.355 ± 0.099	0.366 ± 0.069		
8B	0.271 ± 0.058	0.334 ± 0.060	0.464 ± 0.055	0.624 ± 0.053
9	0.239 ± 0.148	0.179 ± 0.127	0.309 ± 0.213	0.345 ± 0.225
10	0.018 ± 0.009	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.002	0.007 ± 0.003
11	0.129 ± 0.068	0.138 ± 0.060	0.239 ± 0.092	0.315 ± 0.119
12	0.033 ± 0.022	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.001	0.002 ± 0.0004
13	0.200 ± 0.093	0.239 ± 0.114	0.367 ± 0.123	0.477 ± 0.125

[0679]

[0680] 단독으로 그리고 조합으로 둘 모두로 시험된 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 상당한 감소를 보였다.

[0681]

실시예 9. *RNAi* 작용제 전달.

[0682]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 1 일째에, 각각의 마우스에게, 10 mg/kg(mpk)의 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제를 함유하는 200 μl의 단일 피하 주사액, 또는 대조군으로 사용될 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μl의 포스페이트 완충 식염수를 투여하였다. 시험된 HBV RNAi 작용제는 하기 표 23에 나타낸 이중체 번호를 갖는 것을 포함하였고, 이들 각각은 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같은 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 (n = 3).

[0683]

[0683] 혈청을 투여 전에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0684]

[표 23]

실시예 9로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

RNAi 작용제	최저점에서의 혈청 중의 HBsAg (정규화된 분획)	최저점에서의 KD %	최저점의 일수
PBS	1.000	해당 없음	해당 없음
AD03498	0.087 ± 0.016	91.3%	8
AD03499	0.069 ± 0.011	93.1%	15
AD03500	0.095 ± 0.031	90.5%	8
AD03501	0.046 ± 0.020	95.4%	15

[0685]

[0686] 상기 표 23에 나타낸 각각의 HBV RNAi 작용제는 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X ORF에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함하였다. 각각의 RNAi 작용제는 PBS 대조군과 비교하여 유의한 녹다운을 보였다.

[0687]

실시예 10. *pHBV* 마우스에서의 *HBV RNAi* 작용제: 추가의 조합 연구.

[0688]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 24에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 24에 기재된 투여 요법에 따라 200 μl의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게

투여하였다:

[0689] [표 24]

실시예 10에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS 그룹 I (RNAi 작용제 없음)	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
B	PBS 그룹 II (RNAi 작용제 없음)	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
C	3.0 mg/kg AD04585	1 일째, 22 일째, 50 일째, 및 64 일째의 단일 주사
D	3.0 mg/kg AD04771	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
E	3.0 mg/kg AD04580	1 일째, 22 일째, 50 일째, 및 64 일째의 단일 주사
F	3.0 mg/kg AD04776	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
G	1.5 mg/kg AD04585 + 1.5 mg/kg AD04580	1 일째, 22 일째, 50 일째, 및 64 일째의 단일 주사
H	1.5 mg/kg AD04771 + 1.5 mg/kg AD04776	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
I	2.0 mg/kg AD04771 + 1.0 mg/kg AD04776	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
J	2.25 mg/kg AD04771 + 0.75 mg/kg AD04776	1 일째 및 22 일째의 단일 주사

[0690]

각각의 마우스에게, 표 24에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0692]

혈청을 투여 전에, 이어서 -1 일째, 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 43 일째, 50 일째, 57 일째, 및 64 일째에 수집하였다. 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 다음과 같이 나타낸다:

[0693]

[표 25]

실시예 10로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군
(그룹 A가 대조군으로서 사용됨)에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
A	1.000 ± 0.146	1.000 ± 0.095	1.000 ± 0.202
B	0.931 ± 0.161	1.091 ± 0.156	1.132 ± 0.259
C	0.071 ± 0.050	0.031 ± 0.022	0.024 ± 0.013
D	0.134 ± 0.035	0.130 ± 0.024	0.119 ± 0.028
E	0.015 ± 0.001	0.041 ± 0.012	0.087 ± 0.015
F	0.197 ± 0.081	0.308 ± 0.138	0.476 ± 0.156
G	0.029 ± 0.015	0.069 ± 0.029	0.094 ± 0.016
H	0.191 ± 0.057	0.315 ± 0.094	0.420 ± 0.126
I	0.153 ± 0.050	0.194 ± 0.076	0.233 ± 0.116
J	0.155 ± 0.059	0.177 ± 0.067	0.316 ± 0.117
그룹	29 일째	36 일째	43 일째
A	1.000 ± 0.182	1.000 ± 0.287	1.000 ± 0.298
B	1.417 ± 0.414	1.166 ± 0.248	
C	0.007 ± 0.005	0.004 ± 0.003	0.006 ± 0.001
D	0.048 ± 0.023	0.036 ± 0.020	0.052 ± 0.027
E	0.014 ± 0.006	0.021 ± 0.011	0.026 ± 0.011
F	0.246 ± 0.081	0.244 ± 0.097	0.179 ± 0.061
G	0.023 ± 0.009	0.027 ± 0.009	0.037 ± 0.013
H	0.200 ± 0.080	0.185 ± 0.081	0.194 ± 0.055
I	0.141 ± 0.082	0.133 ± 0.051	0.151 ± 0.082
J	0.133 ± 0.064	0.102 ± 0.039	0.129 ± 0.050
그룹	50 일째	57 일째	64 일째
A	1.000 ± 0.296	1.000 ± 0.394	1.000 ± 0.395
B			
C	0.015 ± 0.0001	0.002 ± 0.001	0.004 ± 0.001
D			
E	0.052 ± 0.015	0.009 ± 0.002	0.018 ± 0.007
F			
G	0.076 ± 0.020	0.012 ± 0.003	0.020 ± 0.007
H			
I			
J			

[0694]

[0695]

RNAi 작용제 AD04585 및 AD04771을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 257-275에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. HBV RNAi 작용제 AD04580 및 AD04776을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. 시험된 이러한 HBV RNAi 작용제는, 단독으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. 각각의 후속 용량은 HBsAg 감소의 최저점을 추가로 감소시켰다.

[0696]

추가로, 표24 중의 그룹 C (3.0 mg/kg AD04585), 그룹 E (3.0 mg/kg AD04580), 및 그룹 G (1.5 mg/kg AD04585 + 1.5 mg/kg AD04580)에 대해, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 -1 일째, 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 및 36 일째, 43 일째 및 50 일째 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 혈청 HBV DNA를 각 동물에 대해 이러한 각각의 시점에서 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0697]

[표 26]

실시예 10으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군 (PBS 그룹 A 와 B 둘 모두)에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준 (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A/B (PBS)	1.000 ± 0.316	1.000 ± 0.427	1.000 ± 0.428	1.000 ± 0.475
C	0.172 ± 0.151	0.142 ± 0.079	0.252 ± 0.132	0.072 ± 0.086
E	0.024 ± 0.015	0.042 ± 0.037	0.449 ± 0.184	0.053 ± 0.048
G	0.093 ± 0.053	0.083 ± 0.037	0.370 ± 0.153	0.211 ± 0.060

그룹	36 일째	43 일째	50 일째
A/B (PBS)	1.000 ± 0.623	1.000 ± 0.532	1.000 ± 0.532
C	0.044 ± 0.020	0.104 ± 0.033	0.156 ± 0.016
E	0.012 ± 0.004	0.061 ± 0.031	0.161 ± 0.019
G	0.048 ± 0.022	0.147 ± 0.010	0.295 ± 0.041

[0698]

[0699] 표 26의 데이터는 조사된 HBV RNAi 작용제가, 개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, PBS 그룹과 비교하여 HBV DNA 수준의 감소를 제공하였음을 나타낸다.

실시예 11. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제: 조합 연구.

[0701] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 27에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 27에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0702]

[표 27]

실시예 11에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
B	3.0 mg/kg AD04962	1 일째의 단일 주사
C	3.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
D	1.5 mg/kg AD04962 + 1.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
E	2.0 mg/kg AD04962 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
F	2.25 mg/kg AD04962 + 0.75 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
G	1.5 mg/kg AD04962 + 1.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
H	3.0 mg/kg AD04962 + 3.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
I	1.5 mg/kg AD04962 + 1.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
J	4.5 mg/kg AD04962 + 4.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
K	3.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
L	3.0 mg/kg AD04882	1 일째의 단일 주사
M	3.0 mg/kg AD04885	1 일째의 단일 주사

[0703]

[0704] 각각의 마우스에게, 표 24에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0705]

혈청을 투여 전 -1 일째에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 및 36 일째에 수집하고 (그룹 L (AD04882)과 그룹 M (AD04885)은 제외함), 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0706]

[표 28]

실시예 11로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
A	1.000 ± 0.048	1.000 ± 0.144	1.000 ± 0.083
B	0.125 ± 0.025	0.083 ± 0.014	0.063 ± 0.016
C	0.019 ± 0.005	0.035 ± 0.008	0.052 ± 0.009
D	0.054 ± 0.013	0.079 ± 0.009	0.108 ± 0.021
E	0.099 ± 0.025	0.098 ± 0.053	0.142 ± 0.050
F	0.070 ± 0.015	0.103 ± 0.036	0.140 ± 0.020
G	0.041 ± 0.021	0.012 ± 0.008	0.021 ± 0.013
H	0.020 ± 0.006	0.044 ± 0.010	0.062 ± 0.019
I	0.077 ± 0.017	0.019 ± 0.004	0.004 ± 0.001
J	0.012 ± 0.002	0.021 ± 0.001	0.032 ± 0.002
K	0.045 ± 0.014	0.013 ± 0.005	0.008 ± 0.005
L	0.106 ± 0.020	0.176 ± 0.044	0.215 ± 0.082
M	0.275 ± 0.029	0.378 ± 0.080	0.572 ± 0.043
그룹	29 일째	36 일째	
A	1.000 ± 0.209	1.000 ± 0.270	
B	0.079 ± 0.020	0.096 ± 0.007	
C	0.087 ± 0.014	0.164 ± 0.026	
D	0.176 ± 0.014	0.292 ± 0.030	
E	0.223 ± 0.082	0.373 ± 0.150	
F	0.213 ± 0.020	0.328 ± 0.034	
G	0.031 ± 0.013	0.078 ± 0.064	
H	0.97 ± 0.028	0.160 ± 0.060	
I	0.008 ± 0.001	0.002 ± 0.0003	
J	0.044 ± 0.008	0.069 ± 0.009	
K	0.011 ± 0.007	0.011 ± 0.009	
L	0.299 ± 0.009		
M	0.792 ± 0.057		

[0707]

[0708]

RNAi 작용제 AD04962를, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 257-275에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. RNAi 작용제 AD04872를, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 261-279에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. RNAi 작용제 AD04963을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. RNAi 작용제 AD04882 및 AD04885를, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1780-1798에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 설계하였다. 바로 위의 표 9에 나타낸 각각의 HBV RNAi 작용제는, 개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. 재투여는 추가의 HBsAg 감소를 가져왔다.

[0709]

추가로, 혈청 B형 간염 e-항원(HBeAg) 수준을 또한 그룹 L 및 M을 제외한 모든 그룹에 대해 평가하였다. 각각의 그룹의 마우스로부터의 샘플을 먼저 풀링하고, 생성된 혈청 샘플을 단일의 샘플로 하여 검정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0710]

[표 29]

실시예 11로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBeAg 수준.

그룹	8 일째	22 일째	29 일째	36 일째
A	1.000	1.000	1.000	1.000
B	0.425	0.291	0.371	0.365
C	0.152	0.170	0.328	0.356
D	0.266	0.249	0.456	0.440
E	0.278	0.295	0.589	0.561
F	0.306	0.291	0.718	0.522
G	0.183	0.138	0.291	0.249
H	0.091	0.131	0.315	0.238
I	0.183	0.052	0.069	0.036
J	0.089	0.114	0.190	0.236
K	0.458	0.172	0.322	0.207

[0711]

[0712]

또한, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, 표 27의 각각의 그룹에 대해 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일

째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 혈청 HBV DNA를 각 시점에서 각 동물로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[표 30]

실시예 7으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해
정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.232	1.000 ± 0.463	1.000 ± 0.272	1.000 ± 0.205
B	0.577 ± 0.219	0.222 ± 0.064	0.196 ± 0.055	0.261 ± 0.117
C	0.165 ± 0.051	0.070 ± 0.042	0.142 ± 0.105	0.228 ± 0.174
D	0.343 ± 0.125	0.307 ± 0.091	0.300 ± 0.092	0.356 ± 0.032
E	0.262 ± 0.033	0.216 ± 0.018	0.227 ± 0.028	0.279 ± 0.090
F	0.320 ± 0.134	0.332 ± 0.208	0.344 ± 0.209	0.338 ± 0.211
G	0.231 ± 0.036	0.034 ± 0.024	0.069 ± 0.039	0.077 ± 0.020
H	0.229 ± 0.101	0.155 ± 0.121	0.148 ± 0.079	0.215 ± 0.035
I	0.281 ± 0.129	0.109 ± 0.071	0.023 ± 0.019	0.011 ± 0.009
J	0.078 ± 0.050	0.061 ± 0.020	0.074 ± 0.029	0.056 ± 0.030
K	0.314 ± 0.064	0.119 ± 0.043	0.076 ± 0.067	0.078 ± 0.095
L	0.295 ± 0.077	0.305 ± 0.101	0.213 ± 0.088	0.186 ± 0.084
M	0.515 ± 0.247	0.505 ± 0.293	0.488 ± 0.318	0.478 ± 0.267

[0714] 표 30의 데이터는 조사된 RNAi 작용제가, 개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두에서, PBS 그룹과 비교하여 HBV DNA 수준의 감소를 제공하였음을 나타낸다. 재투여는 HBV DNA의 추가의 감소를 가져왔다.

실시예 12. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제

[0715] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 31에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 31에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[표 31]

실시예 12에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
A	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
B	2.0 mg/kg AD04871	1 일째의 단일 주사
C	2.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
D	2.0 mg/kg AD04874	1 일째의 단일 주사
E	2.0 mg/kg AD04875	1 일째의 단일 주사
F	2.0 mg/kg AD04876	1 일째의 단일 주사
G	2.0 mg/kg AD04881	1 일째의 단일 주사
H	2.0 mg/kg AD04883	1 일째의 단일 주사

[0716]

[0717] 각각의 마우스에게, 표 24에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토 사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0718] 혈청을 투여 전에, 이어서 8 일째, 15 일째, 및 22 일째에 수집하였다. 그룹 A (PBS), 그룹 B (2.0 mg/kg AD04871), 그룹 C (2.0 mg/kg AD04872), 그룹 D (2.0 mg/kg AD04874), 그룹 E (2.0 mg/kg AD04875), 및 그룹 F (2.0 mg/kg AD04876)는 또한 29 일째, 36 일째, 43 일째, 및 50 일째에 수집된 혈청을 가졌다. 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0722]

[표 32]

실시예 12로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
A	1.000 ± 0.132	1.000 ± 0.089	1.000 ± 0.080	1.000 ± 0.098
B	0.102 ± 0.034	0.041 ± 0.021	0.049 ± 0.033	0.048 ± 0.031
C	0.153 ± 0.064	0.064 ± 0.032	0.063 ± 0.034	0.042 ± 0.017
D	0.123 ± 0.022	0.049 ± 0.017	0.039 ± 0.010	0.023 ± 0.001
E	0.190 ± 0.075	0.094 ± 0.038	0.107 ± 0.061	0.081 ± 0.051
F	0.190 ± 0.031	0.076 ± 0.035	0.084 ± 0.038	0.049 ± 0.024
G	0.159 ± 0.047	0.216 ± 0.057	0.235 ± 0.151	
H	0.508 ± 0.078	0.666 ± 0.131	0.543 ± 0.048	
I	0.279 ± 0.087	0.357 ± 0.078	0.614 ± 0.156	
그룹	36 일째	43 일째	50 일째	
A	1.000 ± 0.065	1.000 ± 0.242	1.000 ± 0.224	
B	0.054 ± 0.038	0.064 ± 0.030	0.092 ± 0.025	
C	0.049 ± 0.017	0.054 ± 0.015	0.085 ± 0.010	
D	0.037 ± 0.004	0.037 ± 0.010	0.065 ± 0.012	
E	0.126 ± 0.077	0.125 ± 0.063	0.170 ± 0.079	
F	0.089 ± 0.044	0.082 ± 0.034	0.115 ± 0.028	
G				
H				
I				

[0723]

[0724]

RNAi 작용제 AD04871, AD04872, AD04874, AD04875, 및 AD04876을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 261-279에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 각각 설계하였다. 이러한 각각의 HBV RNAi 작용제는 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 상당한 감소를 나타내어야 한다. 예를 들어, AD04871 (그룹 B), AD04872 (그룹 C), AD04874 (그룹 D), 및 AD04876 (그룹 F) 각각의 단일 2 mg/kg 용량은 대조군과 비교하여 15 일째부터 43 일째까지 측정된 각각의 시점에 대해 90% 초과의 HBsAg의 감소를 나타내었다. RNAi 작용제 AD04881, AD04883, AD04884를, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1780-1798에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 각각 설계하였다.

[0725]

실시예 13. X 영역 녹아웃 모델 마우스에서의 HBV RNAi 작용제의 용량 반응 및 조합.

[0726]

HBV mRNA의 S ORF에 위치하는 영역에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함하는 RNAi 작용제 와, HBV mRNA의 X ORF에 위치하는 영역에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 포함하는 제2 RNAi 작용제의 조합의 효과를 평가하는 대안적인 수단으로서, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 위치 1780 및 1781을 표적화하는 HBV RNAi 작용제에 대한 결합 부위가 녹아웃된 HBV 계놈을 포함하는 플라스미드를 생성하였다 (이하, X 영역 녹아웃 마우스로 지칭됨). 이 모델은 이들 RNAi 작용제의 결합 부위 내에서 pHBV1.3 플라스미드 중의 10개의 염기를 돌연변이시킴으로써 생성하였다. S-영역을 포함하는 HBV mRNA의 나머지는 기능적인 상태로 남아있었다. 따라서, 이 HBV 마우스 모델에서, 본 명세서에 개시된 HBV 계놈의 위치 1780 및 1781을 표적화하는 안티센스 가닥을 갖는 HBV RNAi 작용제의 포함은 발현을 침묵시키는 데 효과적이지 않을 것으로 예상된다.

[0727]

마우스를 하기 표 33에 기재된 것을 포함하는 다양한 그룹으로 나누고, 하기 표에 기재된 투여 요법에 따라 200 μl의 피하 주사액을 마우스에게 제공하였다:

[0728]

[표 33]

실시예 13에 대한 X 영역 녹아웃 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법	동물의 수 (n)
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사	4
2	2.0 mg/kg AD04585 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사	4
3	2.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사	4
4	2.5 mg/kg AD04585 + 0.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사	4
5	2.5 mg/kg AD04872 + 0.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사	4
6	3.0 mg/kg AD04963	15 일째의 단일 주사	1

[0729]

각각의 마우스에게, 표 33에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 (n = 3).

[0730]

혈청을 5 일째, 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 36 일째 및 43 일째에 그룹 1 내지 5에 대해 혈청을 수집하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 34에 나타낸다:

[0731]

[표 34]

실시예 13로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 X 영역 녹아웃 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
1	1.000 ± 0.186	1.000 ± 0.165	1.000 ± 0.132
2	0.061 ± 0.034	0.041 ± 0.035	0.030 ± 0.015
3	0.020 ± 0.011	0.007 ± 0.003	0.003 ± 0.002
4	0.063 ± 0.039	0.022 ± 0.011	0.029 ± 0.013
5	0.027 ± 0.014	0.003 ± 0.003	0.001 ± 0.001
6	0.948	1.360	1.652
	29 일째	36 일째	43 일째
1	1.000 ± 0.059	1.000 ± 0.044	1.000 ± 0.045
2	0.051 ± 0.029	0.062 ± 0.029	
3	0.004 ± 0.003	0.008 ± 0.003	0.018 ± 0.007
4	0.040 ± 0.022	0.061 ± 0.030	
5	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.002	0.014 ± 0.006
6	1.831		

[0732]

예상되는 바와 같이, 3.0 mg/kg의 HBV RNAi 작용제 AD04963의 단일 용량이고 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함하는 그룹 6은 HBsAg의 녹다운을 제공할 수 없었다. 추가로, 그룹 2 내지 5 각각은 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 상당한 녹다운을 제공하였으며, 그룹 3과 그룹 5 둘 모두는 최저점에서 2 로그 초과의 HBsAg의 감소를 나타낸다 (22 일째).

[0733]

실시예 14. X 영역 녹아웃 모델 마우스에서의 HBV RNAi 작용제의 용량 반응 및 조합.

[0734]

상기 실시예 13에 기재된 X 영역 녹아웃 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 31에 기재된 것을 포함하는 다양한 그룹으로 나누고, 표 35에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0737]

[표 35]

실시예 14에 대한 X 영역 녹아웃 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
2	2.0 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
3	2.0 mg/kg AD04872 + 0.7 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
4	2.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
5	2.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사

[0738]

[0739]

각각의 마우스에게, 표 35에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 표 35에 나타낸 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0740]

혈청을 1 일째 (투여 전), 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[0741]

[표 36]

실시예 14로부터의 X 영역 녹아웃 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준.

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
1	1.000 \pm 0.120	1.000 \pm 0.255	1.000 \pm 0.224	1.000 \pm 0.143
2	0.104 \pm 0.104	0.009 \pm 0.009	0.005 \pm 0.004	0.005 \pm 0.003
3	0.076 \pm 0.041	0.010 \pm 0.009	0.006 \pm 0.005	0.005 \pm 0.005
4	0.036 \pm 0.008	0.002 \pm 0.001	0.001 \pm 0.001	0.002 \pm 0.001
5	0.019 \pm 0.017	0.003 \pm 0.002	0.003 \pm 0.001	0.004 \pm 0.000

[0742]

[0743]

표 36은 단독으로 투여된 HBV RNAi 작용제 AD04872, 및 AD04872 (HBV 계놈의 위치 261-279에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함함)와 AD05070 (HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함함)의 조합이, 측정된 각 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 유의한 높다운을 제공하였음을 보여준다. 이 X 영역 녹아웃 모델에서 돌연변이된 표적 부위가 존재하는 0.7 mg/kg 내지 2 mg/kg의 HBV RNAi 작용제 AD05070의 첨가는 2 mg/kg의 HBV RNAi 작용제 AD04872의 활성을 감소시키지 않았다.

[0744]

추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 8 일째, 15 일째, 및 22 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 각 그룹으로부터의 혈청을 풀링하고, 이어서 DNA를 단일 단리로 혈청으로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0745]

[표 37]

실시예 14 으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 X 영역 녹아웃 마우스에서의 처리 전 및 PBS

대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준 (표준 편자는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
1	1.000 \pm 0.007	1.000 \pm 0.011	1.000 \pm 0.066
2	0.225 \pm 0.019	0.022 \pm 0.001	0.036 \pm 0.001
3	0.151 \pm 0.002	0.029 \pm 0.001	0.042 \pm 0.003
4	0.140 \pm 0.006	0.016 \pm 0.000	0.018 \pm 0.000
5	0.069 \pm 0.002	0.018 \pm 0.003	0.043 \pm 0.002

[0746]

[0747]

이 X 영역 녹아웃 모델에서 돌연변이된 표적 부위가 존재하는 0.7 mg/kg 내지 2 mg/kg의 HBV RNAi 작용제 AD05070의 첨가는 2 mg/kg의 HBV RNAi 작용제 AD04872의 활성을 감소시키지 않았다.

[0748]

실시예 15. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제

[0749] 상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 38에 기재된 것을 포함하는 다양한 그룹으로 나누고, 표 38에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0750] [표 38]

실시예 15에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
2	2.0 mg/kg AD04776	1 일째의 단일 주사
3	2.0 mg/kg AD05069	1 일째의 단일 주사
4	2.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
5	2.0 mg/kg AD05071	1 일째의 단일 주사
6	2.0 mg/kg AD05073	1 일째의 단일 주사
7	2.0 mg/kg AD05074	1 일째의 단일 주사
8	2.0 mg/kg AD05075	1 일째의 단일 주사
9	2.0 mg/kg AD05076	1 일째의 단일 주사
10	2.0 mg/kg AD05077	1 일째의 단일 주사
11	2.0 mg/kg AD05078	1 일째의 단일 주사
12	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04776	1 일째의 단일 주사
13	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05069	1 일째의 단일 주사
14	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
15	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05071	1 일째의 단일 주사
16	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05073	1 일째의 단일 주사
17	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05074	1 일째의 단일 주사
18	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05075	1 일째의 단일 주사
19	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05076	1 일째의 단일 주사
20	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05077	1 일째의 단일 주사
21	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05078	1 일째의 단일 주사

[0751]

[0752] 각각의 마우스에게, 표 38에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0753]

혈청을 투여 전 -1 일째에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 43 일째, 및 50 일째에 수집하였다. 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 39에 나타내며, 평균 HBsAg는 HBsAg의 정규화된 평균값을 반영한다:

[0754]

[표 39]

실시예 15로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg.

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
1	1.000 ± 0.119	1.000 ± 0.047	1.000 ± 0.080	1.000 ± 0.027
2	0.339 ± 0.076	0.414 ± 0.126	0.385 ± 0.067	0.450 ± 0.075
3	0.240 ± 0.096	0.361 ± 0.078	0.446 ± 0.073	0.508 ± 0.114
4	0.081 ± 0.026	0.127 ± 0.031	0.223 ± 0.057	0.330 ± 0.112
5	0.452 ± 0.020	0.431 ± 0.126	0.373 ± 0.079	0.383 ± 0.080
6	0.375 ± 0.181	0.632 ± 0.192	0.463 ± 0.117	0.567 ± 0.159
7	0.325 ± 0.032	0.438 ± 0.125	0.393 ± 0.056	0.443 ± 0.096
8	0.155 ± 0.031	0.322 ± 0.019	0.333 ± 0.077	0.463 ± 0.043
9	0.245 ± 0.063	0.467 ± 0.090	0.477 ± 0.045	0.562 ± 0.049
10	0.120 ± 0.062	0.173 ± 0.029	0.289 ± 0.019	0.331 ± 0.042
11	0.128 ± 0.042	0.172 ± 0.046	0.179 ± 0.015	0.215 ± 0.049
12	0.040 ± 0.015	0.014 ± 0.004	0.014 ± 0.006	0.015 ± 0.004
13	0.050 ± 0.020	0.015 ± 0.011	0.017 ± 0.008	0.022 ± 0.009
14	0.020 ± 0.011	0.011 ± 0.006	0.015 ± 0.006	0.023 ± 0.004
15	0.043 ± 0.005	0.013 ± 0.005	0.010 ± 0.002	0.011 ± 0.004
16	0.021 ± 0.017	0.008 ± 0.004	0.012 ± 0.003	0.011 ± 0.001
17	0.032 ± 0.011	0.009 ± 0.003	0.007 ± 0.002	0.008 ± 0.0003
18	0.023 ± 0.014	0.010 ± 0.006	0.009 ± 0.006	0.009 ± 0.004
19	0.025 ± 0.006	0.010 ± 0.004	0.009 ± 0.002	0.010 ± 0.003
20	0.061 ± 0.013	0.027 ± 0.006	0.020 ± 0.003	0.029 ± 0.006
21	0.061 ± 0.050	0.013 ± 0.010	0.012 ± 0.005	0.018 ± 0.006
그룹	36 일째	43 일째	50 일째	
1	1.000 ± 0.031	1.000 ± 0.114	1.000 ± 0.112	
2	0.617 ± 0.116	0.643 ± 0.154	0.665 ± 0.199	
3	0.638 ± 0.067	0.743 ± 0.015	0.792 ± 0.115	
4	0.472 ± 0.121	0.515 ± 0.126	0.689 ± 0.167	
5	0.591 ± 0.159	0.604 ± 0.086	0.709 ± 0.115	
6	0.717 ± 0.136	0.686 ± 0.194	0.781 ± 0.301	
7	0.586 ± 0.069	0.775 ± 0.143	0.747 ± 0.095	
8	0.666 ± 0.066	0.803 ± 0.096	0.856 ± 0.180	
9	0.801 ± 0.047	0.667 ± 0.055	0.765 ± 0.208	
10	0.640 ± 0.059	0.667 ± 0.034	0.742 ± 0.133	
11	0.429 ± 0.063	0.383 ± 0.005	0.497 ± 0.060	
12	0.037 ± 0.013	0.044 ± 0.012	0.056 ± 0.014	
13	0.046 ± 0.011	0.055 ± 0.010	0.070 ± 0.010	
14	0.054 ± 0.016	0.070 ± 0.018	0.096 ± 0.012	
15	0.029 ± 0.011	0.032 ± 0.015	0.051 ± 0.020	
16	0.033 ± 0.005	0.038 ± 0.007	0.062 ± 0.004	
17	0.021 ± 0.002	0.031 ± 0.004	0.061 ± 0.005	
18	0.034 ± 0.014	0.047 ± 0.016	0.079 ± 0.017	
19	0.028 ± 0.005	0.037 ± 0.006	0.060 ± 0.011	
20	0.070 ± 0.009	0.063 ± 0.018	0.097 ± 0.018	
21	0.040 ± 0.012	0.066 ± 0.007	0.120 ± 0.036	

[0755]

RNAi 작용제 AD04776, AD05069, AD05070, AD05071, AD05073, 및 AD05074를, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1781-1799에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 각각 설계하였다. RNAi 작용제 AD05075, AD05076, AD05077, 및 AD05078을, 표 1 및 표 2에 나타낸 바와 같은 HBV 계놈의 위치 1780-1798에 있는 X 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥 서열을 갖도록 각각 설계하였다.

[0757]

표 39는 단독으로 투여된 HBV RNAi 작용제 AD04776, AD05069, AD05070, AD05071, AD05073, 및 AD05074 또는 이들과 AD04872 (HBV 계놈의 위치 261-279에 있는 S 개방 판독 프레임에 적어도 부분적으로 상보적인 안티센스 가닥을 포함함)의 조합은 측정된 각각의 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 유의한 녹다운을 제공하였음을 보여준다.

[0758]

실시예 16. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제: 용량 반응 및 조합 연구.

[0759]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 40에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 40에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0760]

[표 40]

실시예 16에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
2	3.2 mg/kg AD04872	1 일째의 단일 주사
3	3.2 mg/kg AD04872	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
4	3.0 mg/kg AD04872 + 0.8 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
5	3.0 mg/kg AD04872 + 0.8 mg/kg AD05070	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
6	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
7	3.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD05070	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
8	2.7 mg/kg AD04872 + 1.3 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사
9	2.7 mg/kg AD04872 + 1.3 mg/kg AD05070	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
10	2.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD04776	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
11	0.8 mg/kg AD05070	1 일째 및 22 일째의 단일 주사
12	1.3 mg/kg AD05070	1 일째 및 22 일째의 단일 주사

[0761]

[0762]

각각의 마우스에게, 표 40에 기재된 바와 같이, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 6 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 6$).

[0763]

혈청을 투여 전에, 이어서 8 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 41에 나타낸다:

[0764]

[표 41]

실시예 16로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준 (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
1	1.000 \pm 0.117	1.000 \pm 0.213	1.000 \pm 0.169	1.000 \pm 0.130
2	0.050 \pm 0.018	0.015 \pm 0.007	0.011 \pm 0.005	0.009 \pm 0.006
3	0.051 \pm 0.037	0.014 \pm 0.011	0.010 \pm 0.006	0.002 \pm 0.001
4	0.029 \pm 0.018	0.010 \pm 0.006	0.011 \pm 0.006	0.010 \pm 0.005
5	0.022 \pm 0.003	0.007 \pm 0.001	0.009 \pm 0.003	0.001 \pm 0.001
6	0.027 \pm 0.012	0.007 \pm 0.004	0.008 \pm 0.005	0.011 \pm 0.005
7	0.028 \pm 0.012	0.010 \pm 0.005	0.009 \pm 0.005	0.001 \pm 0.000
8	0.033 \pm 0.016	0.016 \pm 0.008	0.020 \pm 0.009	0.021 \pm 0.011
9	0.034 \pm 0.025	0.015 \pm 0.011	0.018 \pm 0.013	0.003 \pm 0.002
10	0.038 \pm 0.021	0.015 \pm 0.005	0.019 \pm 0.004	0.003 \pm 0.001
11	0.446 \pm 0.143	0.376 \pm 0.120	0.474 \pm 0.149	0.338 \pm 0.123
12	0.307 \pm 0.111	0.257 \pm 0.122	0.236 \pm 0.057	0.138 \pm 0.031

[0765]

[0766]

개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두로 시험된 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 PBS 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. HBsAg 발현은 22 일째에 재투여된 모든 그룹에서 추가로 감소되었다.

[0767]

추가로, 혈청 B형 간염 e-항원(HBeAg) 수준을 또한 평가하였다. 8 일째 측정을 위하여, 각각의 그룹에서 모든 6 마리의 마우스에 대한 혈청 샘플을 풀링하고, 생성된 샘플을 단일 샘플로 하여 검정하였다. -1 일째, 15 일째, 22 일째, 및 29 일째 측정을 위하여, 각각의 그룹으로부터의 6 마리의 마우스를 각각의 그룹 내에서 쌍을 이루게 하고, 이들 각각의 혈청 샘플을 풀링하여, 각각의 그룹에 대해 3개의 하위 그룹을 형성하였다. 이어서, 각각의 그룹에 대한 3개의 서브그룹 각각에 대한 혈청 샘플을 검정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 42에 나타낸다:

[0768]

[표 42]

실시예 16로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBeAg 수준 (15 일째, 22 일째, 및 29 일째에 대한 표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째
1	1.000	1.000 ± 0.011	1.000 ± 0.170	1.000 ± 0.173
2	0.510	0.308 ± 0.031	0.217 ± 0.021	0.226 ± 0.035
3	0.488	0.301 ± 0.065	0.283 ± 0.081	0.147 ± 0.030
4	0.213	0.216 ± 0.067	0.192 ± 0.029	0.141 ± 0.048
5	0.192	0.211 ± 0.053	0.216 ± 0.088	0.047 ± 0.016
6	0.176	0.163 ± 0.022	0.238 ± 0.069	0.117 ± 0.011
7	0.165	0.175 ± 0.046	0.215 ± 0.061	0.028 ± 0.012
8	0.128	0.166 ± 0.065	0.386 ± 0.284	0.167 ± 0.118
9	0.172	0.171 ± 0.037	0.244 ± 0.052	0.032 ± 0.010
10	0.180	0.211 ± 0.012	0.283 ± 0.034	0.034 ± 0.001
11	0.634	0.594 ± 0.082	0.840 ± 0.152	0.271 ± 0.029
12	0.486	0.441 ± 0.066	0.804 ± 0.096	0.214 ± 0.039

[0769]

개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두로 시험된 HBV RNAi 작용제는 모든 측정된 시점에 걸쳐 식염수 대조군과 비교하여 HBeAg의 감소를 보였다. HBeAg 발현은 22 일째에 재투여된 모든 그룹에서 추가로 감소되었다.

[0771]

또한, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라, 표 40의 각각의 그룹에 대해 -1 일째, 8 일째, 15 일째, 및 22 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 마우스의 각 쌍으로부터의 혈청을 풀링하고, 이어서 각각의 혈청 풀로부터 DNA를 단일 단리로 단리하였다. 데이터를 하기 표에 제시한다:

[0772]

[표 43]

실시예 16 으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준 (표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	15 일째	22 일째
1	1.000 ± 0.122	1.000 ± 0.299	1.000 ± 0.241
2	0.312 ± 0.016	0.126 ± 0.008	0.087 ± 0.018
3	0.264 ± 0.065	0.081 ± 0.023	0.073 ± 0.028
4	0.321 ± 0.254	0.120 ± 0.066	0.134 ± 0.101
5	0.319 ± 0.081	0.108 ± 0.038	0.098 ± 0.051
6	0.260 ± 0.095	0.068 ± 0.010	0.076 ± 0.031
7	0.170 ± 0.028	0.082 ± 0.013	0.062 ± 0.018
8	0.188 ± 0.020	0.192 ± 0.160	0.307 ± 0.309
9	0.242 ± 0.003	0.100 ± 0.042	0.075 ± 0.028
10	0.322 ± 0.028	0.159 ± 0.025	0.086 ± 0.016
11	1.124 ± 0.142	0.742 ± 0.127	0.807 ± 0.192
12	1.004 ± 0.144	0.541 ± 0.340	0.569 ± 0.060

[0773]

개별적으로 그리고 조합으로 둘 모두로 시험된 HBV RNAi 작용제는 8 일째에 혈청 HBV DNA의 감소가 없는 그룹 11 및 12를 제외하고 모든 측정된 시점에 걸쳐 식염수 대조군과 비교하여 혈청 HBV DNA의 감소를 보였다.

[0775]

실시예 17. pHBV 마우스에서의 HBV RNAi 작용제

[0776]

상기 실시예 2에 기재된 pHBV 마우스 모델을 사용하였다. 마우스를 하기 표 44에 기재된 바와 같이 다양한 그룹으로 나누고, 표 44에 기재된 투여 요법에 따라 200 μ l의 단일 피하 주사액을 각각의 마우스에게 투여하였다:

[0777]

[표 44]

실시예 17에 대한 pHBV 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법
1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사
2	5 mg/kg AD04585 + 1 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
3	5 mg/kg AD04872 + 1 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
4	5 mg/kg AD04585 + 1 mg/kg AD04963	1 일째 및 8 일째의 단일 주사
5	5 mg/kg AD04872 + 1 mg/kg AD04963	1 일째 및 8 일째의 단일 주사
6	2.5 mg/kg AD04585 + 0.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
7	2.0 mg/kg AD04585 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
8	2.5 mg/kg AD04872 + 0.5 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
9	2.0 mg/kg AD04872 + 1.0 mg/kg AD04963	1 일째의 단일 주사
10	5 mg/kg AD04872 + 1 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
11	2.5 mg/kg AD04872 + 0.5 mg/kg AD04981	1 일째 및 8 일째의 단일 주사
12	2.5 mg/kg AD04872 + 0.5 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
13	2 mg/kg AD04872 + 1 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
14	2.5 mg/kg AD04585 + 0.5 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
15	2 mg/kg AD04585 + 1 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사
16	0.5 mg/kg AD04981	1 일째의 단일 주사

[0778]

각각의 마우스에게, 표 44에 기재된 바와 같은, 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는 200 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 200 μ l의 포스페이트 완충 식염수를 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다. 각 그룹에서 3 마리의 마우스를 시험하였다 ($n = 3$).

[0780]

혈청을 투여 전에, 이어서 8 일째, 14 일째, 21 일째, 및 29 일째 및 36 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표 45에 나타낸다:

[0781]

[표 45]

실시예 17로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	14 일째	21 일째	29 일째
1	1.000 ± 0.068	1.000 ± 0.125	1.000 ± 0.152	1.000 ± 0.110
2	0.058 ± 0.033	0.059 ± 0.022	0.085 ± 0.023	0.158 ± 0.021
3	0.025 ± 0.009	0.014 ± 0.006	0.015 ± 0.008	0.026 ± 0.015
4	0.032 ± 0.007	0.005 ± 0.001	0.006 ± 0.002	0.014 ± 0.002
5	0.024 ± 0.009	0.003 ± 0.001	0.001 ± 0.0004	0.001 ± 0.0005
6	0.063 ± 0.020	0.077 ± 0.013	0.131 ± 0.011	0.214 ± 0.026
7	0.041 ± 0.018	0.059 ± 0.017	0.091 ± 0.016	0.140 ± 0.045
8	0.070 ± 0.008	0.046 ± 0.016	0.043 ± 0.009	0.055 ± 0.012
9	0.043 ± 0.006	0.027 ± 0.003	0.064 ± 0.017	0.064 ± 0.014
10	0.015 ± 0.008	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.003	0.005 ± 0.003
11	0.047 ± 0.014	0.005 ± 0.003	0.003 ± 0.002	0.003 ± 0.003
12	0.062 ± 0.006	0.025 ± 0.007	0.027 ± 0.005	0.033 ± 0.005
13	0.092 ± 0.029	0.050 ± 0.021	0.050 ± 0.022	0.054 ± 0.0019
14	0.310 ± 0.180	0.056 ± 0.010	0.081 ± 0.010	0.112 ± 0.0018
15	0.304 ± 0.044	0.083 ± 0.021	0.115 ± 0.013	0.165 ± 0.025
16	1.667 ± 0.217	0.416 ± 0.163	0.341 ± 0.179	0.511 ± 0.0011

그룹	36 일째
1	1.000 ± 0.225
2	
3	0.049 ± 0.019
4	
5	0.004 ± 0.0004
6	
7	
8	0.081 ± 0.010
9	0.108 ± 0.026
10	0.009 ± 0.004
11	0.005 ± 0.003
12	0.060 ± 0.014
13	0.094 ± 0.027
14	
15	
16	0.634 ± 0.005

[0782]

시험된 HBV RNAi 작용제 조합은 모든 측정된 시점에 걸쳐 식염수 대조군과 비교하여 HBsAg의 감소를 보였다. AD04872를 함유하는 조합은 AD04872 대신에 AD04585를 지닌 동등한 조합보다 큰 감소를 보였다.

[0784]

추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 8 일째, 14 일째, 21 일째, 및 29 일째에 수집된 혈청 샘플에 대해 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 혈청 HBV DNA를 각 시점에서 각 동물로부터 단리하였다. 데이터를 하기 표 46에 제시한다:

[0785]

[표 46]

실시예 17으로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 pHBV 마우스에서의 처리 전 및 PBS 대조군에 대해 정규화된 평균 혈청 HBV DNA 수준(표준 편차는 (+/-)로 반영됨).

그룹	8 일째	14 일째	21 일째	29 일째
1	1.000 ± 0.280	1.000 ± 0.269	1.000 ± 0.418	1.000 ± 0.383
2	0.136 ± 0.068	0.192 ± 0.071	0.173 ± 0.032	0.292 ± 0.039
3	0.097 ± 0.034	0.068 ± 0.016	0.076 ± 0.034	0.131 ± 0.061
4	0.061 ± 0.039	0.002 ± 0.001	0.003 ± 0.001	0.019 ± 0.013
5	0.068 ± 0.025	0.003 ± 0.002	0.0009 ± 0.0003	0.0009 ± 0.0003
6	0.354 ± 0.299	0.345 ± 0.187	0.522 ± 0.234	0.509 ± 0.106
7	0.103 ± 0.064	0.291 ± 0.025	0.203 ± 0.043	0.203 ± 0.015
8	0.336 ± 0.142	0.185 ± 0.071	0.183 ± 0.065	0.162 ± 0.064
9	0.198 ± 0.055	0.093 ± 0.023	0.118 ± 0.054	0.143 ± 0.032
10	0.122 ± 0.071	0.024 ± 0.026	0.023 ± 0.020	0.014 ± 0.017
11	0.160 ± 0.069	0.016 ± 0.023	0.003 ± 0.001	0.005 ± 0.004
12	0.158 ± 0.039	0.120 ± 0.044	0.100 ± 0.049	0.091 ± 0.034
13	0.190 ± 0.038	0.169 ± 0.025	0.066 ± 0.015	0.081 ± 0.015
14	0.434 ± 0.136	0.318 ± 0.104	0.144 ± 0.094	0.240 ± 0.029
15	0.358 ± 0.185	0.287 ± 0.108	0.279 ± 0.080	0.303 ± 0.038
16	0.713 ± 0.085	0.674 ± 0.140	0.496 ± 0.128	0.590 ± 0.093

[0786]

시험된 HBV RNAi 작용제 조합은 모든 측정된 시점에 걸쳐 식염수 대조군과 비교하여 혈청 HBV DNA의 감소를 보였다. AD04872를 함유하는 조합은 AD04872 대신에 AD04585를 지닌 동등한 조합보다 큰 감소를 보였다. 이러한

더 큰 감소는 22 일째 및 29 일째에 관찰되었다.

[0788] 실시예 18. HBV 감염된 인간화 마우스 모델에서의 HBV RNAi 작용제

[0789] 이 연구를 위하여, C57BL/6 백그라운드 상의 수컷 FRG ® (유전자형 Fah -/-/ Rag2 -/-/ I12rg -/-) 삼중 녹아웃 마우스 (Yecuris)에, 이들이 1 개월령 내지 2 개월령이었을 때 인간 간세포를 이식하였다. 인간 간세포가 대략 6 개월 동안 간을 다시 채우게 하였으며, 주기적인 NTBC 처리로 마우스 간세포의 성장을 방해하였다. 9 개월령째에, 마우스에 4×10^8 계놈/kg HBV 유전자형 C의 정맥내 접종을 제공하여, 인간 간세포를 감염시켰다. 2 내지 3 개월 후, 혈청 HBV DNA 수준은 인간 간세포가 최대로 감염되었음을 나타내는 평탄역(plateau)에 도달하였다 (마우스 간세포는 HBV에 의해 감염될 수 없음). HBV RNAi 작용제에 의한 치료 시작시 마우스는 1 세령이었으며, 이에 따라 이들의 수명의 마지막에 가까웠다.

[0790] 처리 전 혈청 샘플을 -10 일째 및 -3 일째에 채취하였다. 1 일째에 시작하여, 물 중에 용해된 0.01 mg/kg의 엔테카비어를 매일 경구 위관영양으로 각각의 마우스에 투여하여 HBV 복제를 저해하였다. 마우스를 안락사시킬 때까지 엔테카비어의 매일 투여를 계속하였다. 엔테카비어 투여는 만성 감염된 인간 환자에서 혈청 HBV DNA를 감소시키지만, HBsAg를 감소시키지는 않을 것으로 예상된다.

[0791] 마우스를 하기 표 47에 기재된 것을 포함하는 다양한 그룹으로 나누었다:

[표 47]

실시예 18에 대한 HBV 감염된 FRG 인간화 모델 마우스의 투여 그룹.

그룹	RNAi 작용제 및 용량	투여 요법	최종일
A- 마우스 1	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째의 단일 주사	21 일째에 안락사시킴 (건강하지 않은 동물)
A- 마우스 2	PBS (RNAi 작용제 없음)	1 일째 및 29 일째의 단일 주사	36 일째에 안락사시킴
B- 마우스 1	4.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD05070	1 일째 및 29 일째의 단일 주사	36 일째에 안락사시킴
B- 마우스 2	4.0 mg/kg AD04872 + 2.0 mg/kg AD05070	1 일째 및 29 일째의 단일 주사	40 일째에 안락사시킴
C- 마우스 1	4.5 mg/kg AD04872 + 1.5 mg/kg AD05070	1 일째의 단일 주사	15 일째에 안락사시킴
C- 마우스 2	4.5 mg/kg AD04872 + 1.5 mg/kg AD05070	1 일째 및 29 일째의 단일 주사	36 일째에 안락사시킴
C- 마우스 3	4.5 mg/kg AD04872 + 1.5 mg/kg AD05070	1 일째 및 29 일째의 단일 주사	40 일째에 안락사시킴

[0793]

[0794] 바로 위의 표 47에 기재된 바와 같은 일정에 따라, 1 일째 및 29 일째에 (29 일째에 여전히 살아있는 경우), 포스페이트 완충 식염수 중에 제형화된 HBV RNAi 작용제(들)의 양을 함유하는, 체중 20 g당 100 μ l의 피하 투여, 또는 HBV RNAi 작용제가 없는 동일한 부피의 포스페이트 완충 식염수를 각각의 마우스에 또한 제공하였다. 각각의 HBV RNAi 작용제는 표 4 및 표 5에 나타낸 바와 같이 센스 가닥의 5'-말단부에 접합된 N-아세틸-갈락토사민 표적화 리간드를 포함하였다. 주사는 목과 어깨에 걸쳐 있는 느슨한 피부 내로 피부와 근육 사이에서 (즉, 피하 주사로) 수행하였다.

[0795] 혈청을 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36 일째, 및 40 일째에 수집하고, 혈청 B형 간염 표면 항원(HBsAg) 수준을 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 결정하였다. 실험으로부터의 데이터를 하기 표에 나타낸다:

[표 48]

실시예 18로부터의 각각의 개별 HBV 감염된 인간화 FRG 모델 마우스에 대해 처리 전 (-3 일째)에 대해 정규화된 평균 HBsAg 수준.

그룹	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째	36 일째	40 일째
A-1	0.830	0.828	0.932	0.858	1.107	
A-2	1.303	1.328				
B-1	0.548	0.314	0.272	0.207	0.138	
B-2	0.592	0.337	0.243	0.215	0.160	0.175
C-1	0.643	0.460	0.415	0.251	0.164	
C-2	0.353	0.228	0.182	0.172	0.224	0.216
C-3	0.814	0.674				

[0797]

[0798] 추가로, 상기 실시예 2에 기재된 절차에 따라 -10 일째, -3 일째, 8 일째, 15 일째, 22 일째, 29 일째, 36

일째, 및 40 일째에 수집된 혈청 샘플로부터 혈청 HBV DNA 수준을 결정하였다. 테이터를 하기 표 49에 제시한다:

[표 49]

실시예 14로부터의 HBV RNAi 작용제의 투여 후 각각의 HBV 감염된 FRG 인간화 마우스에 대한 -10 일째 및 -3 일째의 처리 전의 평균에 대해 정규화된 혈청 HBV DNA 수준.

그룹	-10 일째	-3 일째	8 일째	15 일째	22 일째	29 일째	36 일째	40 일째
A-1	0.883	1.117	0.072	0.038	0.015	0.027	0.060	
A-2	1.070	0.930	0.130	0.075				
B-1	1.538	0.462	0.032	0.017	0.011	0.006	0.010	
B-2	1.350	0.650	0.042	0.018	0.012	0.007	0.008	0.007
C-1	1.348	0.652	0.041	0.020	0.016	0.005	0.004	
C-2	1.030	0.970	0.031	0.015	0.006	0.011	0.008	0.008

[0800] 예상되는 바와 같이, 엔테카비어의 투여는 HBV RNAi 작용제의 부재 및 존재 하에 바이러스 복제를 감소시켰다.

다른 실시예

[0803] 본 발명이 이의 상세한 설명과 함께 기재되었지만, 전술한 설명은 예시하고자 하는 것이고, 첨부된 청구범위의 범주에 의해 규정되는 본 발명의 범주를 제한하고자 하는 것이 아님이 이해되어야 한다. 다른 측면, 이점 및 변형이 하기 청구범위 내에 속한다.

서 열 목 록

SEQUENCE LISTING

<110> ARROWHEAD PHARMACEUTICALS, INC.

Zhen Li

Rui Zhu

Christine I. Wooddell

Bruce D. Given

Tao Pei

David L. Lewis

Lauren J. Almeida

David B. Rozema

Darren H. Wakefield

<120> RNAi Agents for Hepatitis B Virus Infection

<130> 30647-W01

<150> 62/370,754

<151> 2016-08-04

<150> 62/534,733

<151> 2017-07-20

<150> 62/540,639

<151> 2017-08-03

<160> 334

<210> 1

<211> 3221

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> Hepatitis B virus (subtype ADW2), genotype A, complete gene (AM282986.1)

<400> 1

ttccactgcc ttccaccaag ctctgcagga tcccaaagtc aggggtctgt atttcctgc	60
tggggctcc agttcaggaa cagtaaaccc tgctccgaat attgcctctc acatctcgac	120
aatctccgca aggactgggg accctgtgac gaataatggag aacatcacat caggattcct	180
aggaccctg ctctgttac aggccccgtt tttcttgtg acaagaatcc tcacaatacc	240
gcagagtcta gactcgtggt ggacttctct caatttcta gggggatcac ccgtgtgtct	300
tggccaaaat tcgcagtccc caacctccaa tcactcacca acctccgtc ctccaaatttg	360
tcctggttat cgctggatgt gtctgcggcg ttttatcata ttccctttca tcctgctgct	420
atgcctcatc ttcttgggg ttcttctgaa ttatcaaggt atgttgcgg tttgtctct	480
aattccagga acaacaacaa ccagtacggg accatgcaaa acctgcacga ctccgtctca	540
aggcaactct atgttccct catgttgctg tacaaaacct tcggatggaa attgcacctg	600
tattccatc ccatcgtctt gggcttgcg aaaataccta tgggagtggtt cctcagtccg	660
tttctttgg cttagttac tagtgcatt tggtagtgg ttcttagggc tttccccac	720
tgtttggctt tcagctatat ggatgatgtg gtattgggg ccaagtcgt acagcatcg	780
gagtcctttt ataccgtgt taccaatttt ctttgtctc tgggtataca tttaaacct	840
aacaaaacaa aaagatgggg ttattcccta aacttcatgg gttacataat tggaagttgg	900
ggaacgttgc cacaggatca tattgtacaa aagatcaaact actgttttag aaaacttct	960
gttaacaggc ctattgattt gaaagtatgt caaagaattt tgggtctttt gggcttgc	1020
gctccattta cacaatgtgg atatcctgcc ttaatgcctt tgtatgcctg tatacaagct	1080
aaacaggctt tcacttctc gcacaacttac aaggcccttc taagtaaaca gtacatgaac	1140
ctttaccccg ttgtcgcca acggcctgggt ctgtgccttga tggttgcgtga cgcaaccccc	1200
actggctggg gcttggccat aggccatcg cgcatgcgtt gaaaccttgc ggctccctgt	1260
ccgatccata ctggaaact cctagccgt tggttgcgtt gcagccggc tggggcaag	1320
ctcatcgaa ctgacaattt tgcgtctc tgcggaaat atacatcggtt tccatggctg	1380
ctaggttgc tgcacaactg gatccttcgc gggacgtctt ttgttacgtt cccgtcgccg	1440
ctgaatcccg cggacgaccc ctctcgggcc cgcttggac tctctcgcc ccttctccgt	1500

ctgccgttcc agccgaccac ggggcgcacc tctcttacg cggtctcccc gtctgtgcct	1560
tctcatctgc cggccgtgt gcacttcgct tcacctctgc acgttgcatg gagaccaccg	1620
tgaacgcca tcagatcctg cccaaggct tacataagag gactcttgg ctcccagcaa	1680
tgtcaacgac cgacccgttag gctacttca aagactgtgt gttaaggac tggaggagc	1740
tggggagga gattaggta aaggctttg tattaggagg ctgtaggcat aaattggct	1800
gcccaccagg accatgcaac ttttccact ctgcctaatac atctcttgc catgtccac	1860
tgttcaagcc tccaagctgt gccttgggtg gctttgggc atggacattt acccttataa	1920
agaatttgga gctactgtgg agttactctc gttttgcct tctgacttt ttccctccgt	1980
cagagatctc ctagacaccg cctcagctct gtatcgaa gccttagagt ctcctgagca	2040
ttgctcacct caccataactg cactcaggca agcaattctc tgctggggg aattgtatgac	2100
tctagctacc tgggtggta ataatttgga agatccagca tccaggatc tagtagtcaa	2160
ttatgttaat actaacatgg gttaaagat caggcaacta ttgtgggatc atatatcttgc	2220
ccttactttt ggaagagaga ctgtacttga atattggc tcttcggag tgtggattcg	2280
cactcctcca gcctatagac caccaaatgc ccctatctt tcaacacttc cgaaaactac	2340
tgttgttaga cgacgggacc gaggcaggc ccctagaaga agaactccct cgcctcgcag	2400
acgcagatct caatcgccgc gtcgcagaag atctcaatct cggaaatctc aatgttagta	2460
ttccttggac tcataagggtg ggaaacttta ctgggcttta ttcccttaca gtacccatct	2520
ttaatcctga atggcaaact ctttccttc ctaagattca ttacaagag gacattatta	2580
atagggtca acaatttggtg gcccctctca ctgtaaatga aaagagaaga ttgaaattaa	2640
ttatgcctgc tagattctat cttaccaca ctaaatattt gcccttagac aaaggaatta	2700
aaccttatta tccagatcgt gtagttatc attactcaa aaccagacat tatttacata	2760
ctcttggaa ggctggatt ctatataaga gggaaaccac acgttagcga tcattttgcg	2820
ggtcaccata ttcttggaa caagagctac agcatgggag gttggcatac gaaacctcgc	2880
aaaggcatgg ggacgaatct ttctgttccc aaccctctgg gattcttcc cgatcatcag	2940
ttggaccctg cattcggagc caactcaaacc aatccagatt gggacttcaa ccccatcaag	3000
gaccactggc cagcagccaa ccaggttagga gtggagcat tcggccagg gttcaccct	3060
ccacacggcg gtgtttggg gtggagccct caggctcagg gcatattgac cacagtgtca	3120
acaattcctc ctccctgcctc caccaatcgg cagtcaggaa ggcagccctac tcccatctct	3180

ccacctctaa gagacagtca tcctcaggcc atgcagtggaa a 3221

<210> 2

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV cDNA target sequence

<400> 2

gtggtggact tctctcaat

19

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV cDNA target sequence

<400> 3

tggggactt ctctcaatt

19

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HBV cDNA target sequence

<400> 4

ggacttctct caatttct

19

<210> 5

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220>

<223> HBV cDNA target sequence

<400> 5

gctgtaggca taaatttgt

19

<210> 6

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV cDNA target sequence

<400> 6

ctgttaggcat aaattggtc 19

<210> 7

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 7

auugagagaa guccaccac 19

<210> 8

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 8

uuugagagaa guccaccac 19

<210> 9

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 9

auugagagaa guccacca 19

<210> 10

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 10

uuugagagaa guccacca 19

<210> 11

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 11

nuugagagaa guccacca 19

<210> 12

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 12

aauugagaga aguccacca 19

<210> 13

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 13

uauugagaga aguccacca 19

<210> 14

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 14

aauugagaga aguccaccn

19

<210> 15

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 15

uauugagaga aguccaccn

19

<210> 16

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 16

nauugagaga aguccaccn

19

<210> 17

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 17

agaaaaauuga gagaagucc

19

<210>
 > 18
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<400> 18
 ugaaaauuga gagaagucc 19
<210> 19
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 19
<223> n = any nucleotide
<400> 19
 agaaaauuga gagaagucn 19
<210> 20

<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 19
<223> n = any nucleotide
<400> 20
 ugaaaauuga gagaagucn 19
<210> 21
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 21

ngaaaauuga gagaagucn 19

<210> 22

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 22

accaaauuuau gccuacagc 19

<210> 23

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 23

uccaaauuuau gccuacagc 19

<210> 24

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 24

accaaauuuau gccuacagn 19

<210> 25

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base
<222> 19
<223> n = any nucleotide
<400> 25
uccaauuuau gccuacagn 19
<210> 26
<211>
> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 1,19
<223> n = any nucleotide
<400> 26
nccaaauuuau gccuacagn 19
<210> 27
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<400> 27
gaccaaauua ugccuacag 19
<210> 28
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<400> 28
aaccaaauua ugccuacag 19
<210> 29
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<400> 29

uaccaauuuua ugccuacag 19

<210> 30

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 30

gaccaauuuua ugccuacan 19

<210> 31

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 31

aaccaauuuua ugccuacan 19

<210> 32

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 19

<223> n = any nucleotide

<400> 32

uaccaauuuua ugccuacan 19

<210> 33
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent antisense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 1, 19
<223> n = any nucleotide
<400> 33
naccaaauua ugccuacan 19

<210> 34
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<400> 34
gugguggacu ucucucaau 19
<210> 35
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<400> 35
gugguggacu ucucucaaa 19
<210> 36
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 1
<223> n = any nucleotide

<400> 36

nugguggacu ucucucaaau 19

<210> 37

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 37

nugguggacu ucucucaaau 19

<210> 38

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 38

nugguggacu ucucucaaau 19

<210> 39

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 39

ugguggacuu cucucaaau 19

<210> 40

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 40

ugguggacuu cucucaaua 19

<210> 41

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 41

ngguggacuu cucucaauu 19

<210> 42

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 42

ngguggacuu cucucaaua 19

<210> 43

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 43

ngguggacuu cucucaun 19

<210> 44

<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 44
ggacuucucu caauuuuucu 19

<210> 45
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 45
ggacuucucu caauuuuucu 19

<210> 46
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base
<222> 1
<223> n = any nucleotide
<400> 46

ngacuucucu caauuuuucu 19

<210> 47
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 1
<223> n = any nucleotide
<400> 47

ngacuucucu caauuuuucu 19

<210> 48
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<220><221> modified_base
<222> 1, 19
<223> n = any nucleotide
<400> 48
ngacuuucucu caauuuuucn 19

<210> 49
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<400> 49
gcuguaggca uaaaauuggu 19

<210> 50
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
<400> 50

gcuguaggca uaaaauugga 19
<210> 51
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base
<222> 1
<223> n = any nucleotide

<400> 51
 ncuguaggca uaaaauuggu 19
 <210> 52
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
 <220><221> modified_base
 <222> 1
 <223> n = any nucleotide
 <400> 52
 ncuguaggca uaaaauugga 19
 <210> 53
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
 <220><221> modified_base
 <222> 1, 19
 <223> n = any nucleotide
 <400> 53
 ncuguaggca uaaaauuggn 19
 <210> 54
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence
 <400> 54
 cuguaggcau aaauugguc 19
 <210> 55
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 55

cuguaggcau aaauugguu 19

<210> 56

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<400> 56

cuguaggcau aaauuggua 19

<210> 57

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 57

nuguaggcau aaauugguc 19

<210> 58

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 58

nuguaggcau aaauugguu 19

<210> 59

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1

<223> n = any nucleotide

<400> 59

nuguaggcau aaauuggua

19

<210> 60

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi agent sense strand core stretch sequence

<220><221> modified_base

<222> 1, 19

<223> n = any nucleotide

<400> 60

nuguaggcau aaauuggun

19

<210> 61

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 61

uaccaaauua ugccuacagg ccuuau

26

<210> 62

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 62

uaccaaauua ugccuacagg ccu

23

<210> 63

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 63

uaccaaauua ugccuacagg ccu 23

<210> 64

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 64

uaccaaauua ugccuacagg c 21

<210> 65

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 65

ugugaagcga agugcacacu u 21

<210> 66

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 66

uaccaaauua ugccuacagc cuccgc 26

<210> 67

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 67

uaccaaauua ugccuacagc cuccgc 26

<210> 68

<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 68

uaccaauua ugccuacagu u 21

<210> 69
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 69

uaccaauua ugccuacagg c 21

<210> 70
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 70

uaccaauua ugccuacagg c 21

<210> 71
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 71

uaccaauua ugccuacagu u 21

<210> 72
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 72

auugagagaa guccaccacg a	21
<210> 73	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 73	
auugagagaa guccaccacg a	21
<210> 74	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 74	
auugagagaa guccaccacu u	21
<210> 75	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 75	
uuugagagaa guccaccacg a	21
<210> 76	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 76	
aauugagaga aguccaccac g	21
<210> 77	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 77

aauugagaga aguccaccac g 21

<210> 78

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 78

aauugagaga aguccaccau u 21

<210> 79

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 79

uauugagaga aguccaccac g 21

<210> 80

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 80

uaccaaauua ugccuacagg u 21

<210> 81

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 81

uaccaaauua ugccuacagu u 21

<210> 82

<211> 21

<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 82
uaccaauuu uggcuacagc c 21
<210> 83
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 83
uaccaauuu uggcuacagc cuu 23
<210> 84
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 84
uaccaauuu uggcuacagc cuc 23
<210> 85
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 85
uaccaauuu uggcuacagc c 21
<210> 86
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 86
uaccaauuu uggcuacagc cuu 23

<210> 87
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 87
uaccaaauua uggcuacagc cuc 23
<210> 88
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 88
auugagagaa guccaccacu u 21
<210> 89
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 89
uuugagagaa guccaccacu u 21
<210> 90
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 90
auugagagaa guccaccacg guu 23
<210> 91
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 91

auugagagaa guccaccacg guu	23
<210> 92	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 92	
auugagagaa guccaccacg agu	23
<210> 93	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 93	
uauugagaga aguccaccac g	21
<210> 94	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 94	
uauugagaga aguccaccac g	21
<210> 95	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 95	
uauugagaga aguccaccac guu	23
<210> 96	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 96

uauugagaga aguccaccac gag

23

<210> 97

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 97

uauugagaga aguccaccac gag

23

<210> 98

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 98

uauugagaga aguccaccac ga

22

<210> 99

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 99

uauugagaga aguccaccac ga

22

<210> 100

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 100

agaaaaauuga gagaagucca c

21

<210> 101

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 101

uaccaaauua ugccuacagu u

21

<210> 102

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 102

uaccaaauua ugccuacagc c

21

<210> 103

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 103

uaccaaauua ugccuacagc uu

22

<210> 104

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 104

uaccaaauua ugccuacagc cu

22

<210> 105

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 105

uaccaaauua ugccuacagc cuu

23

<210> 106
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 106

uaccaaauua ugccuacagc cuc 23

<210> 107
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 107

uaccaaauua ugccuacagu u 21

<210> 108
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 108

uauugagaga aguccaccac g 21

<210> 109
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 109

uauugagaga aguccaccau u 21

<210> 110
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 110
 uauugagaga aguccaccac g 21
<210> 111
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 111
 uauugagaga aguccaccac uu 22

<210> 112
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 112
 uauugagaga aguccaccac ga 22
<210> 113
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 113
 uauugagaga aguccaccac g 21
<210> 114
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 114
 uuugagagaa guccaccacu u 21
<210> 115
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 115

uuugagagaa guccaccacg a 21

<210> 116

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 116

uuugagagaa guccaccacg uu 22

<210> 117

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 117

uuugagagaa guccaccacg ag 22

<210> 118

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 118

uuugagagaa guccaccacu u 21

<210> 119

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 119

uauugagaga aguccaccac uu 22

<210> 120

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 120

uauugagaga aguccaccac uu 22

<210> 121

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 121

uauugagaga aguccaccac guu 23

<210> 122

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 122

uauugagaga aguccaccac uu 22

<210> 123

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 123

uauugagaga aguccaccac gag 23

<210> 124

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 124

uauugagaga aguccaccac uu	22
<210> 125	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 125	
agaaaauuga gagaaguccu u	21
<210> 126	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 126	
agaaaauuga gagaagucca c	21
<210> 127	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 127	
agaaaauuga gagaagucca cuu	23
<210> 128	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence	
<400> 128	
agaaaauuga gagaagucca cc	22
<210> 129	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 129

ugaaaauuga gagaaguccu u 21

<210> 130

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 130

ugaaaauuga gagaagucca c 21

<210> 131

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 131

accaauuuau gccuacagcu u 21

<210> 132

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 132

accaauuuau gccuacagcc uu 22

<210> 133

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 133

accaauuuau gccuacagcc uc 22

<210> 134

<211> 21

<212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 134
 uccaaauuuau gccuacagcu u 21
 <210> 135
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
 <400> 135
 uccaaauuuau gccuacagcc uu 22
 <210> 136
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
 <400> 136
 uaccaaauuuua ugccuacagc c 21

<210> 137
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
 <400> 137
 uaccaaauuuua ugccuacagc c 21
 <210> 138
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
 <400> 138
 uaccaaauuuua ugccuacagc c 21

<210> 139
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 139
uaccaaauua ugccuacagc u 21
<210> 140
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 140
uaccaaauua ugccuacagc g 21
<210> 141
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 141
aaccaaauua ugccuacagc c 21

<210> 142
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence
<400> 142
uaccaaauua ugccuacagu u 21
<210> 143
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 143
uaccaaauua uggcuacagc c

21

<210> 144
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 144
accaauuuau gccuacagcc u

21

<210> 145
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 145
uccaaauuuau gccuacagcc u

21

<210> 146
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 146
accaauuuau gccuacagcc g

21

<210> 147
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 147
uccaaauuuau gccuacagcc g

21

<210> 148
<211> 21
<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand modified sequence

<400> 148

uaccaaauua ugccuacagg g 21

<210> 149

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 149

uaccaaauua ugccuacagg ccuuau 26

<210> 150

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 150

uaccaaauua ugccuacagg ccu 23

<210> 151

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 151

uaccaaauua ugccuacagg c 21

<210> 152

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 152

ugugaagcga agugcacacu u 21

<210> 153

<211> 26

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 153

uaccaauuu uggcuacagc cuccgc 26

<210> 154

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 154

uaccaauuu uggcuacagu u 21

<210> 155

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 155

auugagagaa guccaccacg a 21

<210> 156

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 156

auugagagaa guccaccacu u 21

<210> 157

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 157

uuugagagaa guccaccacg a	21
<210> 158	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 158	
aauugagaga aguccaccac g	21
<210> 159	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223>	
> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 159	
aauugagaga aguccaccau u	21
<210> 160	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 160	
uauugagaga aguccaccac g	21
<210> 161	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 161	
uaccaauuu uggcuacagg u	21
<210> 162	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 162

uaccaaauua ugccuacagc c 21

<210> 163

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 163

uaccaaauua ugccuacagc cuu 23

<210> 164

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 164

uaccaaauua ugccuacagc cuc 23

<210> 165

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 165

uuugagagaa guccaccacu u 21

<210> 166

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 166

auugagagaa guccaccacg guu 23

<210> 167

<211> 23

<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 167
auugagagaa guccaccacg agu 23
<210> 168
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 168
uauugagaga aguccaccac guu 23
<210> 169
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223>
> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 169
uauugagaga aguccaccac gag 23
<210> 170
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 170
uauugagaga aguccaccac ga 22
<210> 171
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 171
agaaaauuga gagaagucca c 21

<210> 172
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 172
uaccaauua ugccuacagc uu 22
<210> 173
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 173
uaccaauua ugccuacagc cu 22
<210> 174
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223>
> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 174
uauugagaga aguccaccau u 21
<210> 175
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 175
uauugagaga aguccaccac uu 22
<210> 176
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence
<400> 176

uuugagagaa guccaccacg uu	22
<210> 177	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 177	
uuugagagaa guccaccacg ag	22
<210> 178	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 178	
agaaaaauuga gagaaguccu u	21
<210> 179	
<211> 23	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223>	
> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 179	
agaaaaauuga gagaagucca cuu	23
<210> 180	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence	
<400> 180	
agaaaaauuga gagaagucca cc	22
<210> 181	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 181

ugaaaaauuga gagaagucca c

21

<210> 182

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 182

accaauuuau gccuacagcu u

21

<210> 183

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 183

accaauuuau gccuacagcc uu

22

<210> 184

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223>

> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 184

accaauuuau gccuacagcc uc

22

<210> 185

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 185

uccaaauuuau gccuacagcu u

21

<210> 186

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 186

uccaauuuau gccuacagcc uu 22

<210> 187

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 187

uaccaauuuua ugccuacagc u 21

<210> 188

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 188

uaccaauuuua ugccuacagc g 21

<210>

> 189

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 189

aaccaauuuua ugccuacagc c 21

<210> 190

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 190

accuuuuau gccuacagcc u 21

<210> 191

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 191

uccaauuuau gccuacagcc u

21

<210> 192

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 192

accaauuuau gccuacagcc g

21

<210> 193

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 193

uccaauuuau gccuacagcc g

21

<210> 194

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent antisense strand unmodified sequence

<400> 194

uaccaauuuua ugccuacagg g

21

<210> 195

<211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 195

uugccuguag gcauaaauug guaut 25
 <210> 196

<211> 26
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 196

uauaugccug uaggcauaaa uuggua 26

<210> 197
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 197

gcggaggcug uaggcauaaa uuggta 26

<210> 198
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 198

cuguaggcau aaauuggua u 21
 <210> 199
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 199

gccuguaggc auaaaauuggu a 21

<210> 200
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 200

gccuguaggc auaaauuggu a 21

<

210> 201
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 201

gccuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 202

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 202

gccuguaggc auaaauuggt a 21

<210> 203

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 203

aacuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 204

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 204

ucguggugga cuucucucaa u

21

<210> 205

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 205

aaguggugga cuucucucaa u

21

<210> 206

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 206

ucguggugga cuucucucaa t

21

<210> 207

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 207

cgugguggac uucucucaa u

21

<210> 208

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 208

aaugguggac uucucucaa u

21

<210> 209

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 209

cgugguggac uucucucaat t

21

<210> 210

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 210

ggacuucucu caauuuucua a

21

<

210> 211

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 211

cgugguggac uucucucaa a

21

<210> 212

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 212

ucguggugga cuucucucaa a

21

<210> 213

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 213

accuguaggc auaaaauuggu a

21

<210> 214
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 214
cuguaggcau aaauuggua 19
<210> 215
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 215
cuguaggcau aaauuggua 19
<
210> 216
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 216
cuguaggcau aaauuggua 19
<210> 217
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 217
acuguaggca uaaauggua 20
<210> 218
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 218
 ggcuguaggc auaaauuggu a 21
 <210> 219
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 219
 aaguggugga cuucucucaa u 21
 <210> 220
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 220
 aaguggugga cuucucucaa a 21
 <
 210> 221
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 221
 ccguggugga cuucucucaa u 21
 <210> 222
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 222
 ccguggugga cuucucucaa u 21
 <210> 223
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 223

cucguggugg acuuucucuca au 22

<210> 224

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 224

gugguggacu ucucucaaau 19

<210> 225

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 225

gugguggacu ucucucaaauu u 21

<

210> 226

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 226

ucguggugga cuucucucaa uu 22

<210> 227

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 227

ugguggacuu cucucaaau 19

<210> 228

<211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 228
 ugguggacuu cucucaauu 19
 <210> 229
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 229
 guggacuucu cucaaauuuc u 21
 <210> 230
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 230
 cuguaggcau aaauuggua u 21
 <
 210> 231
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 231
 gcuguaggca uaaaauuggua uu 22
 <210> 232
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
 <400> 232
 ggcuguaggc auaaaauuggu auu 23

<210> 233
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 233
aacuguaggc auaaauuggu auu 23

<210> 234
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 234
ugguggacuu cucucaauau u 21

<210> 235
<211> 22
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 235
gugguggacu ucucucaaua uu 22

<
210> 236
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 236
aaugguggac uucucucaau auu 23

<210> 237
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 237
 cgugguggac uucucucaaau auu 23
 <210> 238
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 238
 cgugguggac uucucucaaau a 21
 <210> 239
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 239
 aaggugguga cuucucucaaau 21
 <210> 240
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 240
 gugguggacu ucucucaaau u 21
 <
 210> 241
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 241
 cgugguggac uucucucaaaa uu 22
 <210> 242
 <211> 23
 <212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 242

aaggugguga cuucucucaa auu 23

<210> 243

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 243

ucguggugga cuucucucaa auu 23

<210> 244

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 244

gugguggacu ucucucaaua uu 22

<210> 245

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 245

cgugguggac uucucucaau auu 23

<

210> 246

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 246

cucguggugg acuuucucuca aua 23

<210> 247

<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 247

cucguggugg acuucucuca auauu 25

<210> 248
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 248

ggcuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 249
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 249

gaggcuguag gcauaauug gua 23

<210> 250
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 250

gaggcuguag gcauaauug guauu 25

<
210> 251
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 251

ggacuucucu caauuuuucu	19
<210> 252	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence	
<400> 252	
guggacuucu cucaauuuuc u	21
<210> 253	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence	
<400> 253	
gguggacuuc ucucaaauuu cu	22
<210> 254	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence	
<400> 254	
ggacuucucu caauuuuca	19
<210> 255	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence	
<400> 255	
ggacuucucu caauuuuca	19
<	
210> 256	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 256

gcuguaggca uaaaauuggu

19

<210> 257

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 257

ggcuguaggc auaaauuggu

20

<210> 258

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 258

gaggcuguag gcauaauug gu

22

<210> 259

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 259

gcuguaggca uaaaauugga

19

<210> 260

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 260

ggcuguaggc auaaauugga

20

<

210> 261

<211> 21

<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 261
agcuguaggc auaaauuggu a
21
<210> 262
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 262
cgcuguaggc auaaauuggu a
21
<210> 263
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 263
ggcuguaggc auaaauuggu u
21
<210> 264
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 264
cuguaggcau aaauuggua u
21
<210> 265
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 265

cuguaggcau aaauugguaau u 21

<210> 266
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 266

aggcuguagg cauaauuagg u 21

<210> 267
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 267

aggcuguagg cauaauuagg a 21
<210> 268
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 268

cggcuguagg cauaauuagg u 21
<210> 269
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence
<400> 269

cggcuguagg cauaauuagg a 21
<210> 270
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 270

cccuguaggc auaaauuggu a

21

<

210> 271

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 271

cgcuguaggc auaaauuggu a

21

<210> 272

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 272

cccuguaggc auaaauuggu a

21

<210> 273

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 273

guggacuucu cucaaauuuuc u

21

<210> 274

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand modified sequence

<400> 274

cgcuguaggc auaaauuggu a

21

<210> 275

<211> 25

<212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 275

uugccuguag gcauaaauug guaut 25

<210> 276
 <211> 26
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 276

uauaugccug uaggcauaaa uuggua 26

<210> 277
 <211> 26
 <212> DNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 277

gcggaggcug uaggcauaaa uuggta 26

<210> 278
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 278

cuguaggcau aaauuggua u 21

<210> 279
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 279

gccugaguaggc auaaaauuggu a 21

<210> 280
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 280

gccuguaggc auaaauuggt a 21

<210> 281
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 281

aacuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 282
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 282

ucguggugga cuucucucaa u 21

<210> 283
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 283

aaguggugga cuucucucaa u 21

<210> 284
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 284

ucguggugga cuucucucaa t 21

<210> 285

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 285

cgugguggac uucucucaaau u 21

<210> 286

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 286

aaugguggac uucucucaaau u 21

<210> 287

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 287

cgugguggac uucucucaat t 21

<210> 288

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 288

ggacuucucu caauuuucua a 21

<210> 289

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 289
cgugguggac uucucucaa a
21
<210> 290
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 290
ucguggugga cuucucucaa a
21
<210> 291
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 291
accuguaggc auaaauuggu a
21
<210> 292
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 292
cuguaggcau aaauuggua
19
<210> 293
<211> 20
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 293
acuguaggca uaaaauuggua
20
<210> 294

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 294

ggcuguaggc auaaaauggu a 21

<210> 295

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 295

aaguggugga cuucucucaa a 21

<210> 296

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 296

ccguggugga cuucucucaa u 21

<210> 297

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 297

cucguggugg acuuucuca au 22

<210> 298

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 298	
gugguggacu ucucucaaau	19
<210> 299	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 299	
gugguggacu ucucucaaauu u	21
<210> 300	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 300	
ucguggugga cuucucucaa uu	22
<210> 301	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 301	
ugguggacuu cucucaaau	19
<210> 302	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 302	
guggacuucu cucaaauuuuc u	21
<210> 303	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 303

gcuguaggca uaaaauuggua uu 22

<210> 304

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 304

ggcuguaggc auaaauuggu auu 23

<210> 305

<211> 23

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 305

aacuguaggc auaaauuggu auu 23

<210> 306

<211> 21

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 306

ugguggacuu cucucaauau u 21

<210> 307

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 307

gugguggacu ucucucaaua uu 22

<210> 308

<211> 23

<212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 308
 aaugguggac uucucucaa auu 23
 <210> 309
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 309
 cgugguggac uucucucaa auu 23
 <210> 310
 <211> 21
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 310
 gugguggacu ucucucaaau u 21
 <210> 311
 <211> 22
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 311
 cgugguggac uucucucaa auu 22
 <210> 312
 <211> 23
 <212> RNA
 <213> Artificial sequence
 <220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
 <400> 312
 aaguggugga cuucucucaa auu 23

<210> 313
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 313
ucguggugga cuucucucaa auu 23

<210> 314
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 314
cucguggugg acuuucuca aua 23

<210> 315
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 315
cucguggugg acuuucuca auauu 25

<210> 316
<211> 23
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 316
gaggcuguag gcauaauug gua 23

<210> 317
<211> 25
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 317	
gaggcuguag gcauaauaauug guauu	25
<210> 318	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 318	
ggacuucucu caauuuuucu	19
<210> 319	
<211> 22	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 319	
gguggacuuc ucucaauuuu cu	22
<210> 320	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 320	
ggacuucucu caauuuuca	19
<210> 321	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 321	
guggacuucu cucaaauuuuc a	21
<210> 322	
<211> 19	
<212> RNA	

<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 322

gcuguaggca uaaaauuggu 19

<210> 323

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 323

ggcuguaggc auaaauuggu 20

<210> 324

<211> 22

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 324

gaggcuguag gcauaauug gu 22

<210> 325

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 325

gcuguaggca uaaaauugga 19

<210> 326

<211> 20

<212> RNA

<213> Artificial sequence

<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 326

ggcuguaggc auaaauugga 20

<210> 327

<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 327

agcuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 328
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence

<400> 328

cgcuguaggc auaaauuggu a 21

<210> 329
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 329

ggcuguaggc auaaauuggu u 21

<210> 330
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 330

aggcuguagg cauaauugg u 21

<210> 331
<211> 21
<212> RNA
<213> Artificial sequence
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence
<400> 331

aggcuguagg cauaauugg a	21
<210> 332	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 332	
cgccuguagg cauaauugg u	21
<210> 333	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 333	
cgccuguagg cauaauugg a	21
<210> 334	
<211> 21	
<212> RNA	
<213> Artificial sequence	
<220><223> HBV RNAi Agent sense strand unmodified sequence	
<400> 334	
cccuguaggg auaaauuggu a	21