202313069

(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公開本 (11)公開編號：TW 202313069 A

(43)公開日： 中華民國 112 (2023) 年 04 月 01 日

(21)申請案號：111120883 (22)申請日： 中華民國 111 (2022) 年 06 月 06 日

(51)Int. Cl.： *A61K31/713 (2006.01)* *C12N15/113 (2010.01)*

A61P27/02 (2006.01)

(30)優先權：2021/06/08 美國 63/208,027

(71)申請人：美商艾拉倫製藥股份有限公司 (美國) ALNYLAM PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72)發明人：戈洛布 賈里德A GOLLOB, JARED A. (US)；夫特葛拉德 凱文 FITZGERALD, KEVIN (US)；厄爾貝 大衛 ERBE, DAVID (US)；蒂考 西米娜 TICAU, SIMINA (US)；祖伯 傑佛瑞 ZUBER, JEFFREY (US)

(74)代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：137 項 圖式數：11 共 276 頁

(54)名稱

用於治療或預防斯特格氏症及／或視黃醛－相關疾患的組成物及方法

(57)摘要

本發明係關於抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性的試劑，例如雙股 RNA(dsRNA)試劑或其鹽，或靶向 TTR 的反義寡核苷酸或基因療法，以及該些藥劑用於治療或預防斯特格氏症的方法、降低維生素 A 量級或形成有毒維生素 A 代謝物的方法、及/或阻止個體視力喪失進展的方法。

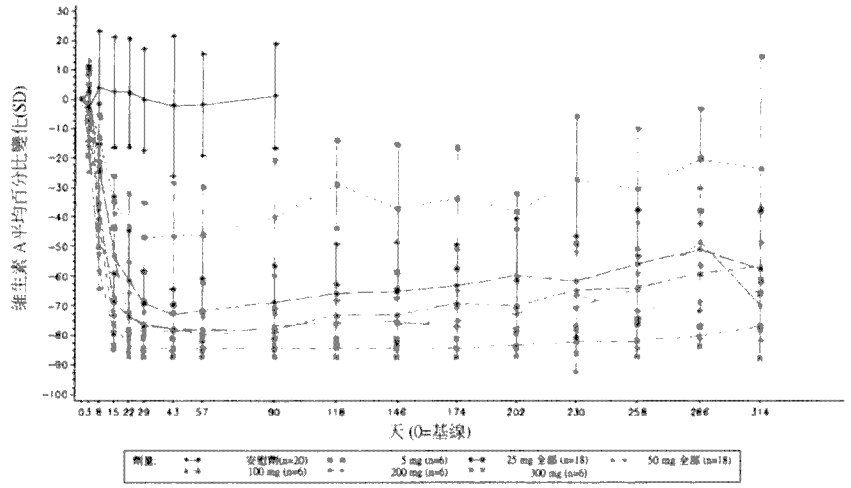
本發明亦係關於靶向視網膜結合蛋白 4(RBP4)基因之 RNAi 試劑，例如雙股 RNA(dsRNA)試劑。本發明亦係關於使用此類 RNAi 試劑抑制 RBP4 基因表現的方法。本發明更提供靶向 RBP4 的 RNAi 試劑及/或靶向 TTR 的核酸試劑的用途於預防及治療 RBP4 相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病之方法。

The present invention relates to agents which inhibit the expression and/or activity of transthyretin (TTR), e.g., a double stranded RNA (dsRNA) agent, or salt thereof, or an antisense oligonucleotide or a gene therapy targeting TTR, and the use of these agents in methods of treating or preventing Startgardt's disease, methods of decreasing Vitamin A levels or formation of toxic Vitamin A metabolites, and/or methods of halting progression of vision loss in a subject.

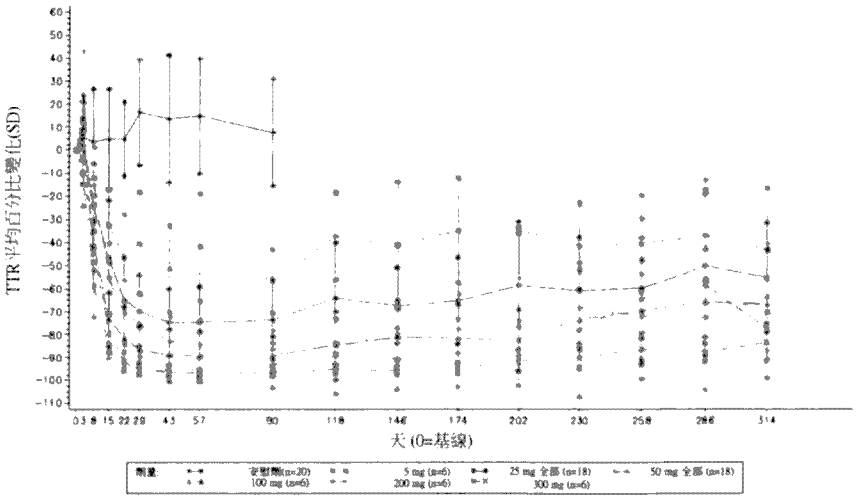
The present invention also relates to RNAi agents, e.g., double stranded RNA (dsRNA) agents, targeting the retinal binding protein 4 (RBP4) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of an RBP4 gene. The invention futher provides the use of RNAi agent targeting RBP4 and/or nucleic acid agents targeting TTR in methods of preventing and treating an RBP4-associated disorder, e.g., an ocular disease, e.g., Stargardt's disease, diabetic retinopathy, age-related macular degeneration (AMD), e.g., dry AMD and wet AMD; or a metabolic disorder, e.g., a disorder of glucose and lipid homeostasis, e.g., insulin resistance associated with type II diabetes, or a cardiovascular disease.

指定代表圖：

維生素 A


維生素 A 平均百分比變化(SD)
天 (0=基線)
劑量:
安慰劑(n=20)
100 mg (n=6)
5 mg (n=6)
200 mg (n=6)
25 mg 全部 (n=18)
300 mg (n=6)
50 mg 全部 (n=18)

TTR


TTR 平均百分比變化(SD)
天 (0=基線)
劑量:
安慰劑(n=20)
100 mg (n=6)
5 mg (n=6)
200 mg (n=6)
25 mg 全部 (n=18)
300 mg (n=6)
50 mg 全部 (n=18)

【圖1】

202313069

【發明摘要】

【中文發明名稱】 用於治療或預防斯特格氏症及/或視黃醛-相關疾患的組成物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING OR PREVENTING STARGARDT'S DISEASE AND/OR RETINAL BINDING PROTEIN 4 (RBP4)-ASSOCIATED DISORDERS

【中文】

本發明係關於抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性的試劑，例如雙股RNA (dsRNA)試劑或其鹽，或靶向 TTR 的反義寡核苷酸或基因療法，以及該些藥劑用於治療或預防斯特格氏症的方法、降低維生素 A 量級或形成有毒維生素 A 代謝物的方法、及/或阻止個體視力喪失進展的方法。

本發明亦係關於靶向視網膜結合蛋白 4 (RBP4)基因之 RNAi 試劑，例如雙股 RNA(dsRNA)試劑。本發明亦係關於使用此類 RNAi 試劑抑制 RBP4 基因表現的方法。本發明更提供靶向 RBP4 的 RNAi 試劑及/或靶向 TTR 的核酸試劑的用途於預防及治療 RBP4 相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病之方法。

【英文】

The present invention relates to agents which inhibit the expression and/or activity of transthyretin (TTR), e.g., a double stranded RNA (dsRNA) agent, or salt thereof, or an antisense oligonucleotide or a gene therapy targeting TTR, and the use of these agents in methods of treating or preventing Startgardt's disease, methods of decreasing Vitamin A levels or formation of toxic Vitamin A metabolites, and/or methods of halting progression of vision loss in a subject.

The present invention also relates to RNAi agents, e.g., double stranded RNA (dsRNA) agents, targeting the retinal binding protein 4 (RBP4) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of an RBP4 gene. The invention futher provides the use of RNAi agent targeting RBP4 and/or nucleic acid agents targeting TTR in methods of preventing and treating an RBP4-associated disorder, e.g., an ocular disease, e.g., Stargardt's disease, diabetic retinopathy, age-related macular degeneration (AMD), e.g., dry AMD and wet AMD; or a metabolic disorder, e.g., a disorder of glucose and lipid homeostasis, e.g., insulin resistance associated with type II diabetes, or a cardiovascular disease.

【指定代表圖】 圖1

【代表圖之符號簡單說明】無。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 用於治療或預防斯特格氏症及/或視黃醛-相關疾患的組成物及方法

【英文發明名稱】 COMPOSITIONS AND METHODS FOR TREATING OR PREVENTING STARGARDT'S DISEASE AND/OR RETINAL BINDING PROTEIN 4 (RBP4)-ASSOCIATED DISORDERS

相關應用

【0001】 本申請主張於 2021 年 6 月 8 日提交的美國臨時專利申請案第 63/208,027 號的優先權，其全部內容藉由引用併入本文中。

【技術領域】本揭露總體係關於用於治療或預防斯特格氏症及/或視黃醛-相關疾患的組成物及方法。

【先前技術】

【0002】 斯特格氏症為一種導致視網膜退化及視力喪失的遺傳性眼病。斯特格氏症係黃斑部病變的一種形式，亦稱為「青少年黃斑部病變(juvenile macular degeneration)」或「斯特格氏黃斑部病變(Stargardt macular degeneration)」。斯特格氏症是最常見的遺傳性黃斑部病變形式，在美國影響約 3 萬人。與斯特格氏症相關的進行性視力喪失係由於視網膜中央部分稱為黃斑的光感受體細胞退化所引起的。黃斑負責清晰的中央視覺，其為閱讀、駕駛及識別臉部等細部任務所必

需的。在大多數罹患斯特格氏症的人中，黃斑下方的細胞中會積聚一種脂肪黃色素(脂褐質)。隨著時間的經過，這種物質的異常積累會損害對清晰的中央視力至關重要的細胞。除了中心視力喪失外，斯特格氏症病人亦存在夜視問題，其可能導致在低光源下難以行進。一些受影響的個人也產生色覺受損。斯特格氏症的體徵和症狀通常出現在兒童晚期至成年早期，並隨著時間的推移而惡化，且目前尚無治療方法。所能做的就是藉由避免維生素 A 補充及強光(尤其是藍光)、視覺復健療法及使用助視器以減緩病程進展。

【0003】 在罹患斯特格氏症的個體中，於黃斑下方的細胞 RPE 中積累的脂褐質為一種脂質-蛋白質-類視色素(lipid-protein-retinoid)聚集體。 RPE 脂褐質的主要細胞毒性成分為雙類視色素(bisretinoid)。雙類視色素為一種維生素 A 代謝物，由維生素 A 醛於感光受體細胞中的非酵素性反應所形成，經證明視網膜中的脂褐質合成需依賴血清視黃醇從循環系統流入 RPE，而此種流入需要於血清中形成三級 RBP4/TTR/視黃醇複合物。

【0004】 基於這些發現，假設經由抑制 RBP4 及/或 TTR 而藉由破壞維生素 A 向眼睛的轉運使降低維生素 A 量級抑制脂褐質形成可能對於罹患斯特格氏症的個體為一種可行的治療方法。

【0005】 事實上，Racz*et al.*,(*J Biol Chem.* (2018) 293(29):11574-11588)已證明，將非類視色素 RBP4 拮抗劑施用於本技術領域認知的斯特格氏症小鼠模式，即 Abca4-/- 基因剔除小鼠模式，其顯著降低血清 RBP4 量級並抑制雙類視色素合成。

【0006】 然而，於帶有靶向破壞 TTR 的小鼠(TTR-小鼠)，雖然其血漿視黃醇量級低於野生型小鼠 6%，但其肝臟、睾丸、腎臟、脾臟及眼杯中的視黃醇及

視黃酯量級卻與在野生型小鼠中觀察到的量級相似。此外，TTR-小鼠如同具有類似的維生素 A 缺乏症的野生型小鼠一樣，並沒有失明並發生極度體重減輕。反之，TTR-小鼠於表型上是正常且肥育的，並具有與野生型小鼠相同的壽命(Wei, *et al.*,(1995) *J Biol Chem.* 273(2):866-870)。

【0007】 這些不同的結果導致了本技術領域的困惑，且無法實現預期藉由抑制參與維生素 A、TTR 及 RBP4 向眼睛轉運的蛋白質的表現及活性，以降低維生素 A 量級及治療斯特格氏症。

【0008】 因此，本技術領域需要用於罹患斯特格氏症及/或 RBP4-相關病症例如眼部疾病、代謝疾病(例如葡萄糖及脂質體內恆定異常)或心血管疾病的個體的替代療法。

【發明內容】

【0009】 本發明係至少部分基於以下發現：儘管 TTR 剔除小鼠的肝臟、睪丸、腎臟、脾臟及眼杯中的維生素 A 量級沒有降低，然而施用抑制 TTR 表現之藥劑，如靶向 TTR 的核酸試劑(例如雙股 RNA(dsRNA)試劑、武特裡西蘭(vutrisiran))，出乎意料地減少維生素 A 藉由血清輸往眼睛，而此方式可用於治療眼部維生素 A 過量的情形。另發現，例如血清中的維生素 A 量級與 TTR 量級高度相關。此外，還出乎意料地發現，儘管維生素 A 量級顯著降低，但以抑制 TTR 表現之如靶向 TTR 的核酸試劑(例如 dsRNA 試劑)處理的動物至少 12 週無功能性視力減損，此顯示經處理的動物視力保存完好。由於如斯特格氏症等疾病是由過量的有毒維生素 A 代謝物所引起的，故此方法可安全地減少維生素 A 向眼睛的輸送，卻不會因維生素 A 缺乏而導致視覺缺陷，據此提供一新穎的介入機會。

因此，抑制 TTR 表現之如靶向 TTR 的核酸試劑(例如雙股 RNA (dsRNA)試劑、武特裡西蘭)，可用於治療罹患斯特格氏症的個體。

【0010】 本發明還至少部分基於 iRNA 組成物的發現，其影響編碼視網膜結合蛋白 4(retinal binding protein 4，RBP4)基因的 RNA 轉錄本的 RNA 誘導型緘默化複合體(RNA-induced silencing complex，RISC)調節的切割。 RBP4 基因可於細胞內，例如人類個體內的細胞。本發明亦提供使用本發明的 iRNA 組成物以抑制 RBP4 基因表現及/或用於治療因抑制或降低 RBP4 基因表現而受益的個體的方法，這些個體如罹患或容易罹患 RBP4 相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體。

【0011】 因此，於一個態樣中，本發明提供治療或預防罹患或易於罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀的方法，該方法包括向個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性藥劑，從而治療或預防罹患或易於罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀。

【0012】 於一個態樣中，本發明提供一種降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級的方法，該方法包括向個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的藥劑，從而降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛的維生素 A 量級。

【0013】 於一個態樣中，本發明提供一種減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法，該方法包括向個體投藥有效量

的抑制斯特格氏症運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性的藥劑，從而減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物的形成。

【0014】 於一個態樣中，本發明提供一種停止罹患或易罹患斯特格氏症的個體視力喪失的進展的方法，該方法包括向個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)表現及/或活性的藥劑，從而停止罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛視力喪失的進展。

【0015】 於一些實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的劑係選自由 TTR 小分子抑制劑、靶向 TTR 的核酸劑及抗 TTR 抗體所組成的群組。

【0016】 於一些實施態樣中，個體為人類。

【0017】 於一些實施態樣中，該劑長期投藥個體。

【0018】 於一些實施態樣中，該劑藉由皮下、肌肉內、靜脈內或玻璃體內投藥於個體。

【0019】 於一些實施態樣中，該劑藉由皮下投藥施用於個體。於一些實施態樣中，皮下投藥係自行投藥。於一些實施態樣中，自行投藥係藉由預填充注射器或自動注射的注射器。

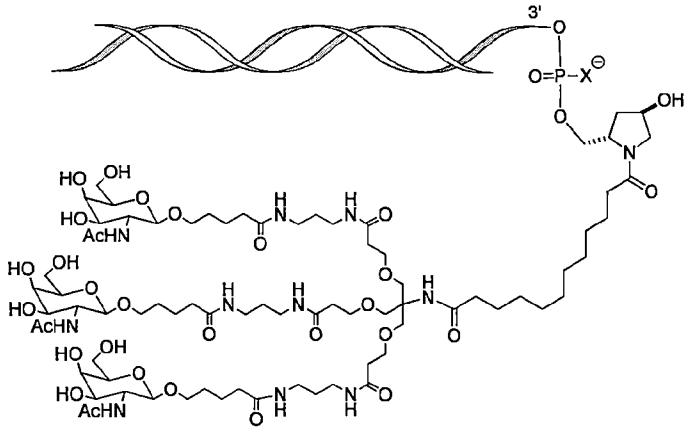
【0020】 於一些實施態樣中，該劑以基於體重的劑量投藥於個體。

【0021】 於一些實施態樣中，該劑以固定劑量投藥於個體。

【0022】 於一些實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係雙股 RNA(dsRNA)劑或其鹽，或反義寡核苷酸或靶向 TTR 的基因療法。

【0023】 於一些實施態樣中，核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義

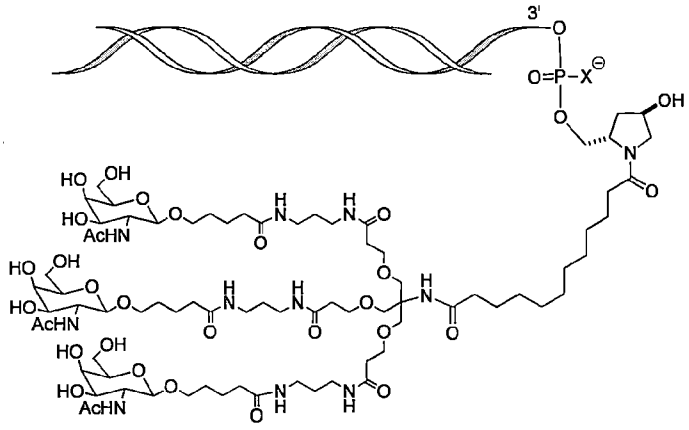
股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3’端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【0024】 於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25 mg 的劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，約每三個月一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽存在於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25mg 的劑量約每三個月一次投藥於個體。

【0025】 於一些實施態樣中，核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5’- UfgGfgAfuUfuCfAfUfgUfaacCfaAfgAf-3’ (SEQ ID NO：22)的有義股及含有核苷酸序列 5’- uCfuUfgGfUfUfaCfaugAfaAfuCfcCfasUfsc-3’ (SEQ ID NO：23)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體接合至有義股的 3’端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【0026】於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 50 至 500 mg 的劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，約每週一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑存在於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，dsRNA 劑持續 5 天以 500 mg 每天一次的劑量投藥於個體，隨後以 500 mg 每週一次的劑量投藥。

【0027】於一些實施態樣中，核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'-GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT-3' (SEQ ID NO：24)的有義股及含有核苷酸序列 5'-AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT-3' (SEQ ID NO：25)的反義股，其中 A 為腺苷，C 為胞嘧啶，G 為鳥苷，U 為尿核苷，a 為 2'-O-甲基腺苷，c 為 2'-O-甲基胞嘧啶，g 為 2'-O-甲基鳥苷，u 為 2'-O-甲基尿核苷，以及 dT 為 2'-去氧胸苷。

【0028】於一些實施態樣中，個體體重小於約 100 kg 且投藥約 0.3 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。於一些實施態樣中，個體體重超過約 100 kg 且投藥約 30 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。

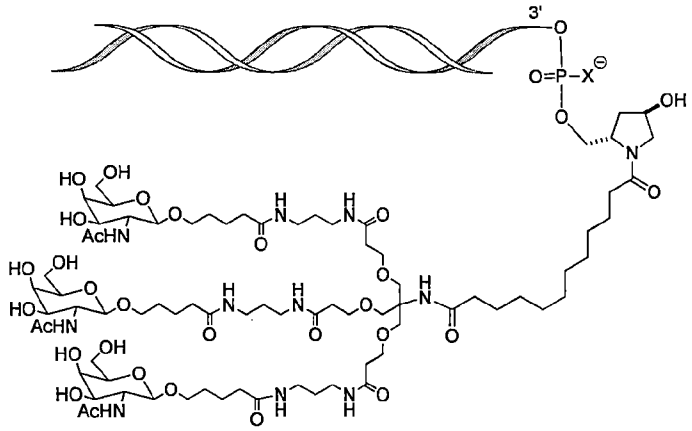
【0029】 於一些實施態樣中，每 3 週一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，藉由靜脈內輸注將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑存在於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，以約 0.3 mg/kg 的 dsRNA 劑或其鹽的劑量，每三週一次投藥於體重小於約 100 kg 的個體，或以約 30 mg/kg 的 dsRNA 劑或其鹽的劑量，每三週一次投藥於體重大於約 100 kg 的個體。

【0030】 於一些實施態樣中，核酸劑係由 20 個連接的核苷所組成的單股經修飾的寡核苷酸，其具有由 5'-TCTTGGTTACATGAAATCCC-3' (SEQ ID NO：26)所組成的核鹼基序列，其中該經修飾的寡核苷酸包含：由十個連接的去氧核苷所組成的間隙段；由五個連接的核苷所組成的 5′ 翼段；及由五個連接的核苷所組成的 3′ 翼段；其中該間隙段位於 5′ 翼段及 3′ 翼段之間，其中每個翼段的每個核苷包含 2′-O-甲氧基乙基糖，其中每個核苷間鍵結係硫代磷酸酯鍵結，且其中每個經修飾的寡核苷酸的胞嘧啶係 5-甲基胞嘧啶。

【0031】 於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸以約 284 mg 的固定劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸以約每週一次投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸存在於醫藥物組成物中。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸每週一次以約 284 mg 的劑量投藥於個體。

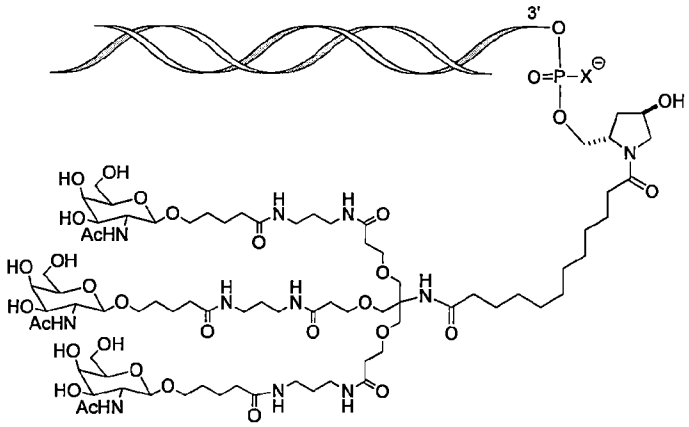
【0032】 於一個態樣中，本發明提供治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 劑或其鹽，該 dsRNA 劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'-

usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體接合至有義股的 3’端，如下方案所示：



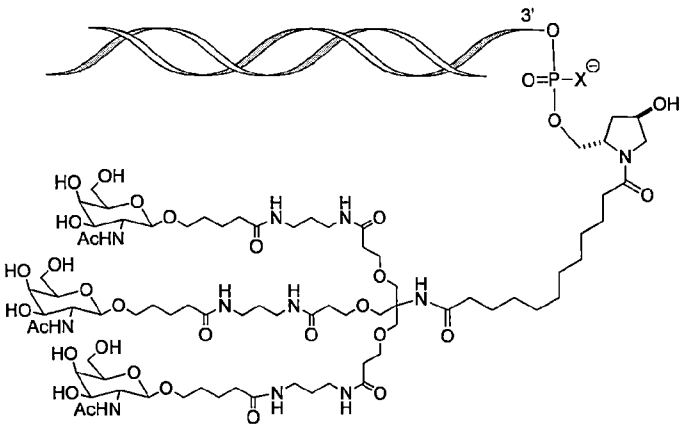
其中 X 為 O，從而治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀。

【0033】 於另一個態樣中，本發明提供一種降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 劑或其鹽，該 dsRNA 劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5’-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3’ (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5’- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體結合至有義股的 3’端，如下方案所示：



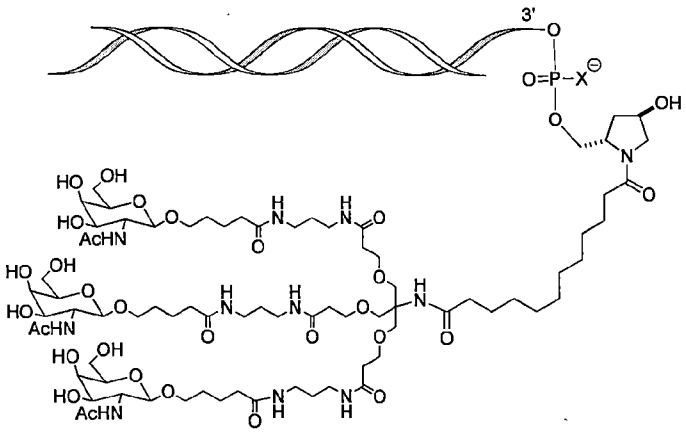
其中 X 為 O，從而降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級。

【0034】於另一個態樣中，本發明提供一種減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 劑或其鹽，該 dsRNA 劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體結合至有義股的 3'端，如下方案所示：



其中 X 為 O，從而減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成。

【0035】於另一個態樣中，本發明提供一種停止罹患或易罹患斯特格氏症的個體視力喪失的進展的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 劑或其鹽，該 dsRNA 劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體結合至有義股的 3'端，如下方案所示：



其中 X 為 O，從而停止罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛視力喪失的進展。

【0036】於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25 mg 的劑量投藥個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽約每三個月一次投藥個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽存在於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。

【0037】 於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽約每三個月一次以約 25 mg 的劑量投藥個體。

【0038】 於一些實施態樣中，向個體投藥會降低由眼底自發螢光攝影(Fundus Autoflourescence Photography，FAF)所測定的眼底自發螢光。

【0039】 於一些實施態樣中，該方法進一步包括向個體投藥額外的治療劑以治療斯特格氏症。

【0040】 於一些實施態樣中，該額外的治療劑係選自由抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的劑、合成的類視色素非瑞替尼(fenretinide)、抗 VEGF 治療劑、皮質類固醇激素、胰島素、昇糖素類胜肽 1(glucagon-like peptide 1)促效劑、磺醯脲(sulfonylurea)、司格列替尼(seglitinide)、雙胍(biguanide)、噻唑烷二酮(thiazolidinedione)、α-葡萄糖苷酶抑制劑、SGLT2 抑制劑、DPP-4 抑制劑、HMG-CoA 還原酶抑制劑及前述任何組合所組成的群組。

【0041】 於一些實施態樣中，該方法進一步包括測定來自個體的樣本中的 RBP4 及/或 TTR 的量級。

【0042】 於一個態樣中，本發明提供用以抑制細胞中視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現的雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其中該 dsRNA 劑包含形成雙股區的有義股及反義股，其中該有義股包含與 SEQ ID NO：1 的核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的至少 15 個(例如 15、16、17、18、19 或 20 個)連續核苷酸，且反義股包含與 SEQ ID NO：2 的核苷酸序列相差不超過 1、2 或 3 個核苷酸的至少 15 個(例如 15、16、17、18、19 或 20 個)連續核苷酸。

【0043】 於另一個態樣中，本發明提供用以於細胞中抑制視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現的雙股核糖核酸(dsRNA)，其中該 dsRNA 包含形成雙股區域的有

義股及反義股，其中該反義股包含與編碼 RBP4 的 mRNA 互補的區域，其中該互補區域包含與表 2 至 3 任一者中的任一反義核苷酸序列相差不超過 0、1、2 或 3 個核苷酸的至少 15 個(例如 15、16、17、18、19 或 20 個)連續核苷酸。

【0044】 於一個實施態樣中，該 dsRNA 劑包含至少一種經修飾的核苷酸。

【0045】 於一個實施態樣中，有義股的實質上所有核苷酸、反義股的實質上所有核苷酸包含修飾；或有義股及反義股的實質上所有核苷酸均包含修飾。

【0046】 於一個實施態樣中，有義股的所有核苷酸包含修飾；反義股的所有核苷酸包含修飾；或有義股的所有核苷酸及反義股的所有核苷酸包含修飾。

【0047】 於一個實施態樣中，至少一種經修飾的核苷酸係選自由去氧核苷酸、3'-末端去氧胸腺嘧啶核苷(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-氟修飾的核苷酸、2'-去氧修飾的核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸、構象受限的核苷酸、拘限的乙基核苷酸、無鹼基核苷酸、2'-胺基修飾的核苷酸、2'-O-烯丙基-修飾的核苷酸、2'-C-烷基修飾的核苷酸、2'-羥基修飾的核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾的核苷酸、2'-O-烷基修飾的核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯(phosphoramidate)、非-天然含核苷酸鹼基、四氫吡喃修飾的核苷酸、1,5-脫水己糖醇修飾的核苷酸、環己烯基修飾的核苷酸、含硫代磷酸酯基團的核苷酸、含甲基膦酸酯基團的核苷酸、含 5'-磷酸的核苷酸、含 5'-磷酸模擬物的核苷酸、熱去穩定核苷酸、二醇修飾的核苷酸 (GNA)、含 2' 磷酸的核苷酸及 2-O- (N-甲基乙醯胺)修飾的核苷酸及其組合所組成的群組。

【0048】 於一個實施態樣中，核苷酸的修飾係選自由 LNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-氟、2'-去氧、2'-羥基及二醇以及其組合所組成的群組。

【0049】 於一個實施態樣中，至少一種經修飾的核苷酸係選自由去氧核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-氟修飾的核苷酸、2'-去氧修飾的核苷酸、二醇修飾的核苷酸(GNA)(例如 Ggn、Cgn、Tgn 或 Agn)、具有 2'磷酸的核苷酸(例如 G2p、C2p、A2p 或 U2p)及乙烯膦酸酯核苷酸以及其組合所組成的群組。

【0050】 於另一個實施態樣中，核苷酸的至少一個修飾為熱去穩定的核苷酸修飾。

【0051】 於一個實施態樣中，該熱去穩定核苷酸修飾係選自由無鹼基修飾、與雙鏈體中的相對核苷酸錯配、去穩定糖修飾、2'-去氧修飾、非環狀核苷酸、未鎖核酸 (UNA)及甘油核酸 (GNA)所組成的群組。

【0052】 於一些實施態樣中，該經修飾的核苷酸包含 3'-端去氧胸腺嘧啶核苷酸(dT)的短序列。

【0053】 於一些實施態樣中，該 dsRNA 劑進一步包含至少一個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結。於一些實施態樣中，該 dsRNA 劑包含 6-8 個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結。於一個實施態樣中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結位於一股的 3'-末端。視需要地，該股為反義股。於另一個實施態樣中，該股為有義股。於相關的實施態樣中，硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結位於一股的 5'-末端。視需要地，該股為反義股。於另一個實施態樣中，該股為有義股。於另一個實施態樣中，硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結均位於一股的 5'-及 3'-末端。視需要地，該股為反義股。於另一個實施態樣中，該股為有義股。

【0054】 該雙股區域可為 19 至 30 個核苷酸對長度、19 至 25 個核苷酸對長度、19 至 23 個核苷酸對長度、23 至 27 個核苷酸對長度或 21 至 23 個核苷酸對長度。

【0055】 於一個實施態樣中，每一股長度各自獨立地不超過 30 個核甘酸。

【0056】 在一個實施態樣中，有義股的長度為 21 個核苷酸，反義股的長度為 23 個核苷酸。

【0057】 互補區域的長度可至少為 17 個核苷酸；長度於 19 至 23 個核苷酸之間；或長度為 19 個核苷酸。

【0058】 在一個實施態樣中，至少一股包含至少 1 個核苷酸的 3’突出。在另一個實施態樣中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3’突出。

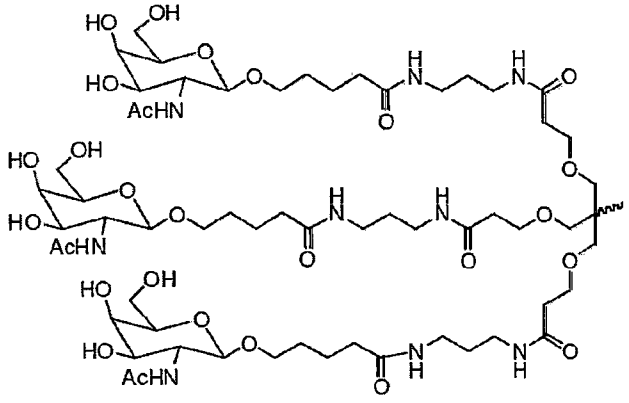
【0059】 在一個實施態樣中，dsRNA 劑更包含配體。

【0060】 在一個實施態樣中，配體與 dsRNA 劑有義股的 3'端接合。

【0061】 在一個實施態樣中，配體係 N-乙醯半乳胺糖 (GalNAc)衍生物。

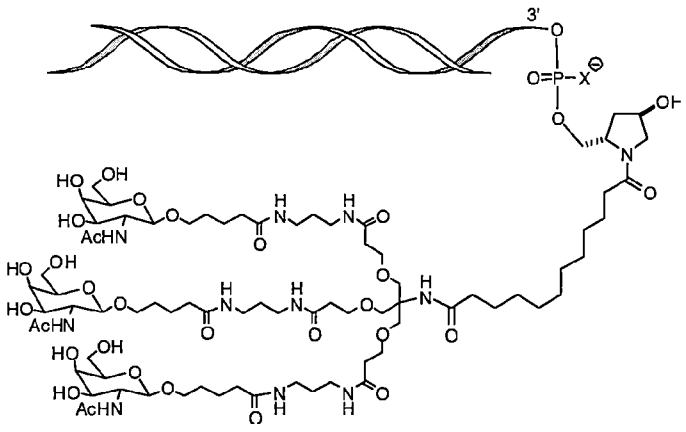
【0062】 在一個實施態樣中，配體係一或多種藉由單價、二價或三價支連接子附接的 GalNAc 衍生物。

【0063】 於一個實施態樣中，該配體係



。

【0064】 在一個實施態樣中，該 dsRNA 劑與配體接合，如下圖所示



且其中 X 係 O 或 S。

【0065】在一個實施例中，X 為 O。

【0066】在一個實施態樣中，該 dsRNA 劑更包含至少一個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結。

【0067】在一個實施態樣中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結位於一股的 3'-終端，例如反義股或有義股。

【0068】在另一個實施態樣中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結位於一股的 5'-終端，例如反義股或有義股。

【0069】在一個實施態樣中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鍵結位於一股的 5'及 3'-終端。在一個實施態樣中，該股為反義股。

【0070】在一個實施態樣中，雙鏈體反義股 5'-端 1 位的鹼基對為 AU 鹼基對。

【0071】本發明亦提供含本發明的任何 dsRNA 劑的細胞及包含本發明的任何 dsRNA 劑的醫藥組成物。

【0072】本發明的醫藥組成物可包含於非緩衝溶液如鹽水或水中的 dsRNA 劑，或本發明的醫藥組成物可包含於緩衝溶液(例如包含醋酸鹽、檸檬酸

鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任何組合的緩衝溶液)或磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)中的 dsRNA 劑。

【0073】 於一個態樣中，本發明提供一種於細胞中抑制視網膜結合蛋白 4 (RBP4)基因表現的方法。該方法包括使細胞與本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物接觸，從而抑制細胞中 RBP4 基因的表現。

【0074】 於另一個態樣中，本發明提供一種於細胞中抑制視網膜結合蛋白 4 (RBP4)基因的表現及/或活性的方法。該方法包括使細胞與抑制 TTR 表現及/或活性的劑接觸，例如靶向基因運甲狀腺素蛋白 (TTR)的小分子或核酸劑，例如靶向 TTR 的 siRNA 或反義寡核苷酸或基因治療劑，從而抑制細胞中 RBP4 基因的表現。

【0075】 在一個實施態樣中，該細胞於個體內，例如人類個體，例如罹患與視網膜結合蛋白 4 (RBP4)-相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體。

【0076】 於某些實施態樣中，該 RBP4-相關病症為斯特格氏症。於某些實施態樣中，該 RBP4-相關病症為糖尿病視網膜病。於某些實施態樣中，該 RBP4 相關病症為老年性黃斑部病變(AMD)，例如乾性 AMD 或濕性 AMD。

【0077】 於某些實施態樣中，該 RBP4 相關病症為與第二型糖尿病相關的胰島素抗性。

【0078】 於某些實施態樣中，該 RBP4 表現至少被抑制約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 95%。在一個實施態樣中，該抑制 RBP4 的表現使個

體血清中的 RBP4 蛋白量級降低至少 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 95%。

【0079】 於某些實施態樣中，TTR 表現及/或活性量級至少被抑制約 30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或 95%。於某些實施態樣中，該 TTR 的活性量級(例如視黃醇與 TTR 及/或 RBP4 的接合、視黃醇/RBP4/TTR 複合物的形成或視黃醇向標靶組織的轉運或遞送)至少被抑制約 30%，40%、50%、60%、70%、80%、90% 或 95%。

【0080】 於一個態樣中，本發明提供一種治療罹患將受益於視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現降低的疾病的個體的方法。該方法包括向個體投藥治療有效量的本發明的任何 dsRNA 或任何醫藥組成物，從而治療罹患將受益於 RBP4 表現降低的病症的個體。

【0081】 於另一個態樣中，本發明提供一種預防罹患將受益於視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現降低的疾病的個體至少一種症狀的方法。該方法包括向個體投藥預防有效量的本發明的任何 dsRNA 或任何醫藥組成物，從而預防罹患將受益於 RBP4 表現降低的病症的個體的至少一種症狀。

【0082】 於一個態樣中，本發明提供一種治療罹患將受益於視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現降低的疾病的個體的方法。該方法包括向個體投藥治療有效量的抑制 TTR 表現及/或活性的劑，例如靶向基因運甲狀腺素蛋白 (TTR)的小分子或核酸劑，例如靶向 TTR 的 siRNA 或反義寡核苷酸或基因治療劑，從而治療罹患將受益於 RBP4 表現降低的病症的個體。

【0083】 於另一個態樣中，本發明提供一種預防罹患將受益於視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現降低的疾病的個體至少一種症狀的方法。該方法包括向個體

投藥預防有效量的抑制 TTR 表現及/或活性的劑，例如靶向基因運甲狀腺素蛋白(TTR)的小分子或核酸劑，例如靶向 TTR 的 siRNA 或反義寡核苷酸或基因治療劑，從而預防罹患將受益於 RBP4 表現降低的病症的個體的至少一種症狀。

【0084】 於某些實施態樣中，該病症係與視網膜結合蛋白 4 (RBP4)-相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。

【0085】 於一些實施態樣中，該 RBP4-相關病症為斯特格氏症。在一些實施態樣中，該 RBP4-相關病症為老年性黃斑部病變，例如乾性 AMD 或濕性 AMD。在一些實施態樣中，該 RBP4-相關病症為糖尿病視網膜病。在一些實施態樣中，該 RBP4 相關病症為與第二型糖尿病相關的胰島素抗性。

【0086】 於某些實施態樣中，向個體投藥 dsRNA 導致個體 RBP4 及/或 TTR 蛋白聚積減少。

【0087】 於某些實施態樣中，向個體投藥 dsRNA 減少脂褐質色素於眼中聚積。於某些實施態樣中，向個體投藥 dsRNA 導致眼中新生血管形成減少及/或眼中隱結聚積減少。

【0088】 於某些實施態樣中，向個體投藥 dsRNA 增加個體的胰島素敏感性。

【0089】 於另一態樣中，本發明亦提供抑制個體 RBP4 表現的方法。該方法包括向個體投藥治療有效量的本文提供的任何 dsRNA，從而抑制個體 RBP4 的表現。

【0090】 在一個實施態樣中，該個體為人類。

【0091】在一個實施態樣中，該 dsRNA 劑以約 0.01 mg/kg 至約 50 mg/kg 的劑量投藥該個體。

【0092】在一個實施態樣中，該 dsRNA 劑經皮下投藥個體。

【0093】於某些實施態樣中，該 dsRNA 劑經由眼周、結膜、Tenon 氏囊下 (subtenon)、眼房內、玻璃體內、眼內、前部或後部近鞏膜、視網膜下、結膜下、眼球後或小管內投藥個體。

【0094】在一個實施態樣中，該 dsRNA 劑經玻璃體內投藥個體。

【0095】在一個實施態樣中，本發明的方法包括進一步測定來自個體樣本中 RBP4 及/或 TTR 的量級。

【0096】在一個實施態樣中，個體樣本中的 RBP4 及/或 TTR 量級為血液、血清或眼或肝組織樣本中的 RBP4 及/或 TTR 蛋白量級。

【0097】於某些實施態樣中，本發明的方法更包括向個體投藥額外的治療劑。

【0098】於某些實施態樣中，該額外的治療劑係選自由抑制 TTR 表現及/或活性的劑(例如靶向 TTR 的小分子或核酸劑、靶向 TTR 的 siRNA 或反義寡核苷酸或基因治療劑)、 TTR 小分子抑制劑或抗 TTR 抗體、抗 VEGF 治療劑、皮質類固醇激素、胰島素、昇糖素類胜肽 1 促效劑、磺醯脲、司格列替尼、雙胍、噻唑烷二酮、α-葡萄糖苷酶抑制劑、SGLT2 抑制劑、 DPP-4 抑制劑、 HMG-CoA 還原酶抑制劑及前述任何組合所組成的群組。

【0099】本發明亦提供包含本發明的任何 dsRNA 或本發明的任何醫藥組成物的套組，以及視需要的使用說明。在一個實施態樣中，本發明提供一種執行藉由使細胞與細胞中抑制 RBP4 表現的有效量的本發明雙股 RNAi 劑接觸以抑

制 RBP4 基因於細胞中表現的方法的套組。該套組包含 RNAi 劑及使用說明，以及視需要地，將 RNAi 劑投藥個體的手段。

【圖式簡單說明】

【0100】 圖 **1** 係描述於個體皮下投藥單次指定劑量的 武特裡西蘭(5mg、25mg、50mg、100mg、200mg 或 300mg)，其血清維生素 A(上圖)及血清 TTR(下圖)濃度隨時間推移相對於基線的平均百分比變化的圖示。基線值定義為投藥 武特裡西蘭之前所有測量值的平均值。

【0101】 圖 **2** 係描述於 18 個月治療期間，個體每三個月一次皮下投藥 25 mg 武特裡西蘭或每三個月一次靜脈投藥 0.3 mg/kg 帕替西蘭(patisiran)後其血清維生素 A 量級的平均百分比變化(上圖)，以及該個體血清維生素 A 及血清 TTR 量級之間的相關性(下圖)。

【0102】 圖 **3** 係描述個體每三個月一次皮下投藥單劑量 25 mg 武特裡西蘭，其隨時間觀察到的(虛線)及模擬的(實線)基線維生素 A 量級變化的相關性的圖式。陰影區域係源自模擬的 90%預測區間。

【0103】 圖 **4** 係描述為期 96 週的期間，個體每三個月皮下投藥 25 mg 武特裡西蘭後，其血清維生素 A 量級相對基線預測降低的圖表。線條代表中位數，陰影區域代表源自模擬的 90%預測區間。

【0104】 圖 **5** 係描述成人及青少年個體於 96 週內，每三個月一次皮下投藥 25 mg 武特裡西蘭，其預測降低的血清維生素 A 及 TTR 量級。線條係中位數，陰影區域係源自模擬的 90%預測區間。成人體重：78.6 (39.1, 231)公斤，12 至 17 歲體重：61.7 (29.1, 150)公斤。

【0105】 圖 **6A** 係描述於 12 週，每三週一次向野生型 (WT)小鼠及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 0.3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其肝臟 TTR mRNA 量級的平均百分比變化的圖式。

【0106】 圖 **6B** 係描述於 12 週，每三週一次向野生型 (WT)小鼠及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其相對於投藥前量級，於基線及研究的第 21、42、63 及 84 天的血清 TTR 蛋白剩餘百分比的圖式。

【0107】 圖 **7A** 係描述於 12 週，每三週一次向野生型 (WT)小鼠及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其相對於投藥前量級，於基線及研究的第 21、42、63 及 84 天的血清 RPB4 蛋白剩餘百分比的圖式。

【0108】 圖 **7B** 係描述於 12 週，每三週一次向野生型 (WT)小鼠及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其於基線及研究的第 21、42、63 及 84 天的血清視黃醇量級的圖示。

【0109】 圖 **8** 係描述於 12 週，每三週一次向野生型 (WT)小鼠及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其血清視黃醇及 RBP4 量級的相關性的圖式。

【0110】 圖 **9A** 係描述於 12 週，每三週一次向 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其於基線及第 12 週的視網膜色素上皮(retinal pigment epithelium，RPE)的示例性雙光子圖像。上排為 730 nm 螢光影像，下排為 850 nm 螢光影像。

【0111】 圖 **9B** 係圖 9A 的顯微影像中的 850 nm/730 nm 螢光比率的圖式。

【0112】 圖 **10** 係描述於 12 週，每三週一次向 DKO 小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其於基線及研究第 12 週的暗視力 ERG 反應的圖示。

【0113】 圖 **11** 係描述於 12 週，每三週一次向 DKO 小鼠皮下投藥 3 mg/kg 靶向 TTR 的 dsRNA 劑 AD-64958 後，其於基線及研究第 12 週的光視力 ERG 反應的圖示。

【實施方式】

【0114】 本發明係至少部分基於以下發現：儘管 TTR 剔除小鼠的肝臟、睾丸、腎臟、脾臟及眼杯中的維生素 A 量級沒有降低，然而投藥(例如全身投藥)抑制 TTR 表現之藥劑，如靶向 TTR 的核酸劑(例如雙股 RNA(dsRNA)劑、武特裡西蘭)，出乎意料地減少維生素 A 藉由血清輸往眼睛，而此方式可用於治療眼部維生素 A 過量的情形。另發現，例如血清中的維生素 A 量級與 TTR 量級高度相關。此外，還出乎意料地發現，儘管維生素 A 量級顯著降低，但以抑制 TTR 表現之如靶向 TTR 的核酸劑(例如 dsRNA 劑)處理的動物至少 12 週無功能性視力減損，此顯示經處理的動物視力保存完好。由於如斯特格氏症等疾病是由過量的有毒維生素 A 代謝物所引起的，安全地減少維生素 A 向眼睛的輸送，不因維生素 A 缺乏而導致視覺缺陷的方案，據此提供一種新的介入機會。因此，抑制 TTR 表現之如靶向 TTR 的核酸劑(例如雙股 RNA (dsRNA)劑、武特裡西蘭)，可用於治療罹患斯特格氏症的個體。

【0115】因此，本發明提供用於治療罹患斯特格氏症的個體的方法，包括向個體投藥治療有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(運甲狀腺素蛋白，TTR)表現及/或活性的劑，從而治療罹患斯特格氏症的個體。

【0116】本發明亦提供用於減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中的維生素 A 量級的方法、減少罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法，以及阻止罹患或易罹患斯特格氏症的個體視力喪失的進展的方法。該方法包括向個體投藥治療有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(運甲狀腺素蛋白，TTR)表現及/或活性的劑。

【0117】此外，本發明提供了影響 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)-調節的視網膜結合蛋白 4(RBP4)基因的 RNA 轉錄本裂解的 iRNA 組成物。該基因可於細胞內，例如於人等個體的細胞內。利用該 iRNA 可於哺乳動物中靶向降解相應基因 (RBP4)的 mRNA。

【0118】本發明的 iRNA 經設計以靶向人類視網膜結合蛋白 4(RBP4)基因，包括在其他哺乳動物物種的 RBP4 異種同源物中保留的部分基因。不受理論的限制，據信前述特性的組合或子組合及該 iRNA 中特定靶位點或特定修飾賦予本發明的 iRNA 改進的功效、穩定性、效力、耐久性及安全性。

【0119】因此，本發明提供治療及預防與視網膜結合蛋白 4(RBP4)相關的病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的方法，該方法係利用影響 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)-調節的 RBP4 基因的 RNA 轉錄本裂解的 iRNA 組成物。

【0120】本發明的iRNA包括RNA股(反義股)，其具有區域長度多達約30個核苷酸，例如長度為19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22個核苷酸，該區域與RBP4基因的mRNA轉錄本的至少一部分實質上互補。

【0121】於某些實施態樣中，本發明的雙股RNAi劑的一股或雙股長度多達66個核苷酸，例如長度為36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53個核苷酸，其具有至少19個連續核苷酸與RBP4基因的mRNA轉錄本的至少一部分實質上互補的區域。於一些實施態樣中，具有較長反義股的此類iRNA劑可包括例如長度為20至60個核苷酸的第二RNA股(有義股)，其中該有義股及反義股形成18至30個連續核苷酸的雙鏈體。

【0122】本發明的 iRNA 的使用能夠於哺乳動物中靶向降解相應基因(RBP4基因)的mRNA。利用體外測定，本發明人已證實靶向RBP4基因的iRNA可有效調節RNAi，導致RBP4基因表現的顯著抑制。因此，包含該 iRNA 的方法及組成物可用於治療罹患RBP4相關病症病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體。

【0123】 以下詳細描述揭露如何製備及使用含有 iRNA 的組成物以抑制 RBP4 基因的表現，以及用於治療將受益於 RBP4 基因表現的抑制及/或降低的個體(例如易罹患或被診斷罹患 RBP4 相關疾病的個體)的組成物、用途及方法。

【0124】 I. 定義

【0125】 為了更容易理解本發明，首先定義某些術語。此外，應當注意，每當列舉參數的值或值的範圍時，旨在所述值的中間值和範圍也旨在成為本發明的一部分。

【0126】 於本文中所用冠詞「一(a)」和「一(an)」係指冠詞的語法對像中的一個或多於一個(即，至少一個)。舉例來說，「一元件」係指一個元件或多於一個元件，例如，多個元件。

【0127】 於本文中所用術語「包括」表示片語「包括但不限於」，並且可互換使用。

【0128】 於本文中所用術語「或」表示術語「及/或」，並且可互換使用，除非上下文另有明確說明。例如，「有義股或反義股」可理解為「有義股或反義股或者有義股及反義股」。

【0129】 於本文中所用術語「約」係指本技術領域的通常公差範圍內。例如，「約」可理解為與平均值相差約 2 個標準差。於某些實施態樣中，約為平均值+10%。於某些實施態樣中，約為+5%。當約出現於一系列數字或範圍之前時，應理解「約」可調整該系列或範圍中的每個數字。

【0130】 於一個數字或一系列數字之前的術語「至少」、「不少於」或「或更多」被理解為包括與術語「至少」相鄰的數字，以及從上下文可以清楚地看出於邏輯上可包含的所有後續數字或整數。例如，核酸分子中的核苷酸數必須為整

數。例如，「21 個核苷酸的核酸分子的至少 19 個核苷酸」係指具有指定性質的 19、20 或 21 個核苷酸。當至少出現於一系列數字或範圍之前時，可理解「至少」可調整該系列或範圍中的每個數字。

【0131】 如本文所用「不大於」或「或少於」應理解為與片語相鄰的值且邏輯上較低的值或整數，從上下文邏輯到零。例如，具有「不大於 2 個核苷酸」的突出的雙鏈體具有 2、1 或 0 個核苷酸突出。當於一系列數字或範圍之前出現「不大於」時，可理解「不大於」可調整該系列或範圍中的每個數字。如本文所用，範圍包括上限和下限。

【0132】 如本文所用，檢測方法可包括判定存在的分析物的量低於該方法的檢測量級。

【0133】 如果指定的靶位點與有義或反義股的核苷酸序列出現衝突，則指定的序列優先。

【0134】 如序列與其在轉錄本或其他序列的指定位點發生衝突，則以說明書中所述的核苷酸序列優先。

【0135】 如本文所用，與術語「RBP4」可互換使用的「視網膜結合蛋白 4」係指循環中疏水分子視黃醇(也稱為維生素 A)的脂質運載蛋白(lipocalin)家族主要轉運蛋白的成員(Kanai, M., Raz, A., 及 Goodman, D. S. (1968). *J. Clin. Invest.* 47, 2025–2044)。 RBP4 亦稱為血漿視黃醇結合蛋白(plasma retinol-binding protein)、MCOPCB10、RDCCAS、PRBP 或 RBP。 RBP4 於肝臟中表現最高，而身體的大部分維生素 A 儲備都以視黃酯(retinyl ester)的形式儲存於此。為了從肝臟中調動維生素 A，視黃酯水解為視黃醇，然後與肝細胞中的 RBP4 結合。與運甲狀腺素蛋白 (TTR)耦合後，藉由與專一性膜受體結合將視黃醇/RBP4/TTR 複合物釋放到

血流中並將視黃醇輸送到組織。一旦視黃醇被釋放且 RBP4 從 TTR 中解離出來，循環中不含視黃醇的 RBP4 即經腎臟過濾。其中超過 99 %經近端腎小管再吸收，據此使尿液 RBP4 成為腎小管功能異常的高靈敏度標記(Bonventre, J. V., *et al.*,, (2010). *Nat. Biotechnol.* 28, 436–440)。 RBP4 的量級藉由 TTR 進一步調節。

【0136】 維生素 A 的缺乏由受損的視力予以證實，從而導致夜盲甚至全盲(Blegvad O. (1924). *Am. J. Ophthalmol.* 7, 89–117)。孕期營養不良導致的維生素 A 缺乏是開發中國家新生兒視力缺陷的主要原因(Pirie A, (1983) *Proc. Nutr. Soc.* 42, 53–64)。確實地，缺乏 RBP4 的小鼠顯示出受損的視網膜功能及視覺銳度，而於該小鼠中以人類 RBP4 於肌肉中(Quadro L.*et al.*,, (2002). *J. Biol. Chem.* 277, 30191–30197)或來自鼠 Rbp4 基因座 (Liu L.,*et al.*, (2017). *Lab. Invest.* 97, 395–408)的轉殖基因表現挽救了血清視黃醇量級並壓制由於內源性 RBP4 缺失導致的視覺缺陷。這些結果顯示視覺性能取決於 RBP4/TTR-調節的視黃醇轉運。

【0137】 雖然 RBP4 的大部分作用及其於視黃醇轉運及體內平衡中的角色都集中在視力及眼部疾病上，但 RBP4 於其他疾病中的作用也進行了研究。例如，多年前經報導第二型糖尿病個體循環中 RBP4 升高(Basualdo C, *et al.*,, (1997). *J. Am. Coll. Nutr.* 16, 39–45; Abahusain *et al.*,, (1999). *Eur. J. Clin. Nutr.* 53, 630–635)及於正常小鼠中的 RBP4 的轉殖基因過度表現或注射人類 RBP4，已顯示引起胰島素抗性。反之，RBP4 的基因缺失或循環 RBP4 量級的降低具有相反的效果，並保護小鼠免於發展胰島素抗性 (Yang, Q.,*et al.*,. (2005). *Nature* 436, 356–362)。此外，循環 RBP4 或 RBP4 表現量級與已確定的心血管疾病 (CVD) 風險因子(包括代謝症候群、整體/中央型肥胖、血脂異常、發炎標記及高血壓)呈現正相關(Qi Q, *et al.*,, *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92：4827–4834; Ingelsson E, et al.,

Atherosclerosis. 2009; 206:239–244)。因此，RBP4 與多種人類病狀有關，其中不僅包括視力受損及眼部疾病，尚包括代謝疾病，例如葡萄糖及脂質失衡及心血管疾病(Li, Z.*et al.*,, (2010). *J. Int. Med. Res.* 38, 95–99; Yang, Q., *et al.*, (2005). *Nature* 436, 356–362; Sun, Q., *et al.*, (2013). *Circulation* 127, 1938–1947)。

【0138】人類 RBP4 mRNA 轉錄本的序列可見於如 GenBank 登錄號 GI：1519313037 (NM_006744.4; SEQ ID NO：1；反向互補，SEQ ID NO：2)。小鼠 RBP4 mRNA 的序列可見於如 GenBank 登錄號 GI:226958687 (NM_001159487.1; SEQ ID NO：3； 反向互補，SEQ ID NO：4)。大鼠 RBP4 mRNA 的序列可見於如 GenBank 登錄號 GI：158187534 (NM_013162.1； SEQ ID NO：5； 反向互補，SEQ ID NO：6)。食蟹獼猴(Macaca fascicularis) RBP4 mRNA 的序列可見於如 GenBank 登錄號 GI：982269650 (XM_005565974.2； SEQ ID NO：7； 反向互補，SEQ ID NO:8)。恆河獼猴(Macaca mulatta) RBP4 mRNA 的序列可見於如 GenBank 登錄號 GI：1622966559 (XM_015147709.2； SEQ ID NO：9； 反向互補，SEQ ID NO：10)。

【0139】RBP4 mRNA 序列的其他示例可藉由公共數據庫輕易取得，例如 GenBank、UniProt、OMIM 及 Macaca 基因組計劃網站。

【0140】有關 RBP4 的更多訊息可見於如 www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=RBP4。

【0141】自提交本申請之日起，前述 GenBank 登錄號及 Gene 數據庫號碼中的每一個的全部內容均藉由引用併入本文。

【0142】如本文所用，術語 RBP4 亦指包括 SNP 數據庫中提供的變體的 RBP4 基因的變異。 RBP4 基因內的許多序列變異已被鑑定且可見於如 NCBI

dbSNP 及 UniProt(參見如 www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=RBP4)，其全部內容自提交本申請之日起藉由引用併入本文。

【0143】 如本文所用，運甲狀腺素蛋白 (TTR)，亦稱為前白蛋白、ATTR、CTS、CTS1、HEL111、HsT2651、PALB、TBPA 及 TTN，係指一種高度保守(highly conserved)的蛋白質，其作為甲狀腺激素甲狀腺素 (T4)及經結合至視黃醇(維生素 A)之視黃醇結合蛋白 (RBP)的運輸蛋白。具體來說，TTR 藉由與血液及 CSF 中的 RBP 耦合以作為視黃醇(維生素 A)的載體。 TTR 為四個相同的 127 個胺基酸次單元(單體)的四聚體，其富含 β 摺疊結構。每個單體都有兩個 4 鏈 β 摺疊及長橢圓體形狀。反平行的 β 摺疊交互作用將單體連接成二聚體。每個單體的一個短環形成主要的二聚體-二聚體交互作用。此兩對環將二聚體相對的凸出 β 摺疊分開以形成內部通道。肝臟係 TTR 表現的主要部位，而身體的大部分維生素 A 儲備以視黃酯儲存其中。其他重要的表現部位包括脈絡叢、視網膜(特別是視網膜色素上皮)及胰臟。為了從肝臟中調動維生素 A，視黃酯水解為視黃醇，其可與肝細胞中的 RBP4 結合。隨後，TTR 與 RBP4 結合以形成視黃醇/RBP4/TTR 複合物，然後藉由與專一性膜受體結合將該複合物釋放到血流中並將視黃醇輸送到全身組織。一旦視黃醇經釋放且 RBP4 從 TTR 中解離出來，循環中不含視黃醇的 RBP4 即經腎臟過濾。其中超過 99 %經近端腎小管再吸收(Bonventre, J. V., *et al.*, (2010). Nat. Biotechnol. 28, 436–440)。

【0144】 如本文所用，「標靶序列」係指於 RBP4 基因轉錄過程中所形成的 mRNA 分子的核苷酸序列的連續部分，包括作為初級轉錄產物的 RNA 加工產物的 mRNA。在一個實施態樣中，該序列的標靶部分將至少夠長以作為於

RBP4 基因轉錄期間形成的 mRNA 分子的核苷酸序列部分處或附近的 iRNA 引導的裂解基質。

【0145】 該標靶序列長度可為約 19 至 36 個核苷酸，例如長度為約 19 至 30 個核苷酸。例如，該標靶序列長度可為約 19 至 30 個核苷酸、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 3、19 至 22、 19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30 、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個核苷酸。於某些實施態樣中，該標靶序列的長度為 19 至 23 個核苷酸，視需要地長度為 21 至 23 個核苷酸。上述範圍及長度中間的範圍及長度亦被認為是本揭露的一部分。

【0146】 如本文所用，術語「包含序列的股」係指包含核苷酸鏈的寡核苷酸，該核苷酸鏈依使用標準核苷酸命名法所指稱的序列描述。

【0147】 「G」、「C」、「A」、「T」及「U」通常各分別代表包含鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶核苷及尿嘧啶作為鹼基的核苷酸。然而，應當理解，術語「核糖核苷酸」或「核苷酸」也可指稱經修飾的核苷酸，如下文進一步詳述，或代用替代部分(參見如表 1)。本技術領域具通常知識者非常清楚，鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤及尿嘧啶可經其他部分替代，而不會實質改變包含帶有這種替代部分的核苷酸的寡核苷酸的鹼基配對特性。例如但不限於，包含以肌核苷作為其鹼基的核苷酸可與包含腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶的核苷酸進行鹼基配對。因此，含有尿嘧啶、鳥嘌呤或腺嘌呤的核苷酸可於具本發明特徵的 dsRNA 的核苷酸序列中經含有例如肌核苷的核苷酸取代。於另一個例子中，寡核苷酸中任何地方的腺嘌呤及胞嘧啶可分別以鳥嘌呤及尿嘧啶代替，以與標靶 mRNA 形成 G-U

Wobble 鹼基配對。含有此類替代部分的序列適用於具本發明特徵的組成物及方法。

【0148】 如本文可互換使用的「iRNA」、「RNAi 劑」、「iRNA 劑」、「RNA 干擾劑」等術語係指包含如本文所定義的術語的 RNA 且藉由 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)路徑調節 RNA 轉錄本的靶向裂解的劑，iRNA 藉由稱為 RNA 干擾 (RNAi)的過程以引導 mRNA 序列專一性降解。該 iRNA 調節細胞(例如哺乳動物等個體內的細胞)中 RBP4 基因的表現(例如抑制表現)。

【0149】 在一個實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包括與標靶 RNA 序列(例如 RBP4 標靶 mRNA 序列)交互作用以引導標靶 RNA 裂解的單股 RNA。不希望受理論拘束，據信引入細胞的長雙股 RNA 被稱為 Dicer 的第三型核酸內切酶分解成 siRNA(Sharp *et al.,* (2001) *Genes Dev.* 15:485)。 Dicer 為一種似第三型核糖核酸酶的酶，將 dsRNA 加工成 19 至 23 個鹼基對的短干擾 RNA，其具有特徵性的兩個鹼基於 3'突出端(Bernstein *et al.,*，(2001) *Nature* 409:363)。然後該 siRNA 併入 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC) 中，其中一或多個解旋酶解開 siRNA 雙鏈體，使互補反義股能夠導引標靶識別 (Nykanen, *et al.,*, (2001) *Cell* 107:309)。經與合適的標靶 mRNA 結合後，RISC 內的一或多種核酸內切酶裂解標靶以誘導緘默(Elbashir*et al.,*，(2001) *Genes Dev.* 15:188)。因此，於一個態樣中，本發明係關於於細胞內產生的單股 RNA(siRNA)，且其促進 RISC 複合體的形成以實現標靶基因(即 RBP4 基因)的緘默。因此，於本文中術語「siRNA」亦用以指稱如上所述的 iRNA。

【0150】 於某些實施態樣中，RNAi 劑可為被引入細胞或生物體以抑制標靶 mRNA 的單股 siRNA (ssRNAi)。單股 RNAi 劑與 RISC 核酸內切酶 Argonaute

2 結合，然後裂解標靶 mRNA。單股 siRNA 通常為 15 至 30 個核苷酸且經化學修飾。單股 siRNA 的設計及測於美國專利第 8,101,348 號及 Lima*et al.*,((2012)*Cell* 150:883 894)中進行描述，其每個經描述的全部內容藉由引用併入本文。本文所述的任何反義核苷酸序列可作為本文所述或藉由 Lima *et al.*,((2012)*Cell* 150:883 894)所述的方法進行化學修飾的單股 siRNA。

【0151】 於某些實施態樣中，用於本發明的組成物、用途及方法的「iRNA」為雙股 RNA，並於本文中被稱為「雙股 RNA 劑」、「雙股 RNA(dsRNA)分子」、「dsRNA 劑」或「dsRNA」。術語「dsRNA」係指核糖核酸分子的複合體，具有包含兩條反平行且實質上互補的核酸股的雙鏈體結構，其相對於標靶 RNA(即 RBP4 基因)稱為具有「有義」及「反義」方向。於本發明的一些實施態樣中，雙股 RNA (dsRNA)藉由本文所稱 RNA 干擾或 RNAi 的轉錄後基因緘默機制引發標靶 RNA(例如 mRNA)的降解。

【0152】 一般而言，dsRNA 分子的每股的核苷酸主要為核糖核苷酸，但如本文詳細描述的，每股或兩股亦可包括一或多種非核糖核苷酸，例如去氧核糖核苷酸或經修飾的核苷酸。此外，如本說明書中所用，「iRNA」可包括具有化學修飾的核糖核苷酸； iRNA 可包括多個核苷酸的實質性修飾：如本文所用，術語「經修飾的核苷酸」係指獨立地具有經修飾的糖部分、經修飾的核苷酸間鏈結或經修飾的核鹼基或其任何組合的核苷酸。因此，該術語「經修飾的核苷酸」涵括對核苷間鍵結、糖部分或核鹼基的取代、加成或去除如官能基或原子。適用於本發明的劑的修飾包括本文所揭露的或本技術領域已知的所有類型的修飾。出於本說明書及申請專利範圍的目的，於 siRNA 類型分子中使用的任何此類修飾均涵括於「iRNA」或「RNAi 劑」中。

【0153】於本揭露的某些實施態樣中，於RNAi劑中包含去氧核苷酸(如果存在的話)可視為構成經修飾的核苷酸。

【0154】雙鏈體區域可為任何長度，以允許藉由 RISC 途徑所期望的標靶RNA的專一性降解，並且可於長度範圍約19至36個鹼基對，例如長度約19至30個鹼基對，例如長度約9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或36個鹼基對，例如長度約19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22個鹼基對。於某些實施態樣中，雙鏈體區域的長度為19至21個鹼基對，例如長度為21個鹼基對。上述範圍及長度中間的範圍及長度亦被認為是本揭露的一部分。

【0155】形成雙鏈體結構的兩股可為一個較大 RNA 分子的不同部分，或者其可為分開的RNA分子。如兩股為一個較大分子的一部分，且因此於一股的3'-端及形成雙鏈體結構的另一股的5'-端之間藉由不間斷的核苷酸鏈連結，該連結的RNA鏈即稱為「髮夾環圈」。髮夾環圈可包含至少一個未配對的核苷酸。於一些實施態樣中，髮夾環圈可包含至少2、3、4、5、6、7、8、9、10、20、23或更多個未配對的核苷酸。於一些實施態樣中，髮夾環圈可為10個或更少的核苷酸。於一些實施態樣中，髮夾環圈可為8個或更少的未配對核苷酸。於一些實施態樣中，髮夾環圈可為4至10個未配對的核苷酸。於一些實施態樣中，髮夾環圈可為4至8個核苷酸。

【0156】一旦 dsRNA 的兩條實質上互補的股由分開的 RNA 分子組成，該分子非必要但可共價連結。當兩股藉由一股的 3'-端與形成雙鏈體結構的相應另一股的 5'-端之間的不間斷核苷酸鏈以外的方式共價連結時，該連結結構稱為「連接子」。該 RNA 股可具有相同或不同數量的核苷酸。鹼基對的最大數量為 dsRNA 最短股中的核苷酸數量減去雙鏈體中存在的任何突出。除雙鏈體結構之外，RNAi 可包含一或多個核苷酸突出。於 RNAi 劑的一個實施態樣中，至少一股包含至少 1 個核苷酸的 3' 突出。於另一個實施態樣中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3' 突出，例如 2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸。於其他實施態樣中，RNAi 劑的至少一股包含至少 1 個核苷酸的 5' 突出。於某些實施態樣中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 5' 突出，例如 2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸。於其他實施態樣中，RNAi 劑的一股的 3' 及 5' 端均包含至少 1 個核苷酸的突出。

【0157】於某些實施態樣中，本發明的 iRNA 劑為 dsRNA，其每股包含 19 至 23 個核苷酸，並與標靶 RNA 序列如 RBP4 基因交互作用以引導標靶 RNA 的裂解。

【0158】於某些實施態樣中，本發明的 iRNA 係 24 至 30 個核苷酸的 dsRNA，其與標靶 RNA 序列(例如 RBP4 標靶 mRNA 序列)交互作用以引導標靶 RNA 的裂解。

【0159】如本文所用，術語「核苷酸突出」係指至少一個從雙股 iRNA 的雙鏈體結構突出的未配對核苷酸。例如，當 dsRNA 一股的 3'-端延伸超出另一股的 5'-端時，或反之，則存在核苷酸突出。dsRNA 可包含至少一個核苷酸的突出，或者該突出可以包含至少兩個核苷酸、至少三個核苷酸、至少四個核苷酸、至少

五個核苷酸或更多。核苷酸突出可包含核苷酸/核苷類似物或由其組成，包括去氧核苷酸/核苷。突出端可於有義股、反義股或其任何組合。此外，突出的核苷酸可存在於 dsRNA 的反義股或有義股的 5'-端、3'-端或兩端。

【0160】 在一個實施態樣中，dsRNA 的反義股於 3'-端或 5'-端具有 1 至 10 個核苷酸，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸的突出。在一個實施態樣中，dsRNA 的有義股於 3'-端或 5'-端具有 1 至 10 個核苷酸，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸的突出。於另一個實施態樣中，突出中的一或多個核苷酸經核苷硫代磷酸鹽取代。

【0161】 於某些實施態樣中，dsRNA 的反義股於 3'-端或 5'-端具有 1 至 10 個核苷酸，例如 0 至 3、1 至 3、2 至 4、2 至 5、4 至 10、5 至 10，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸的突出。在一個實施態樣中，dsRNA 的有義股於 3'-端或 5'-端具有 1 至 10 個核苷酸，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸的突出。於另一個實施態樣中，突出中的一或多個核苷酸經核苷硫代磷酸鹽取代。

【0162】 於某些實施態樣中，dsRNA 的反義股於 3'-端或 5'-端具有 1 至 10 個核苷酸，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸的突出。於某些實施方態樣中，有義股或反義股或兩者的突出可包括延伸超過 10 個核苷酸的長度，例如長度為 1 至 30 個核苷酸、2 至 30 個核苷酸、10 至 30 個核苷酸、10 至 25 個核苷酸、10 至 20 個核苷酸，或 10 至 15 個核苷酸。於某些實施態樣中，延伸的突出位於雙鏈體的有義股。於某些實施態樣中，延伸的突出存在於雙鏈體的有義股的 3' 端。於某些實施態樣中，延伸的突出存在於雙鏈體的有義股的 5' 端。於某些實施態樣中，延伸的突出位於雙鏈體的反義股。於某些實施態樣中，延伸的

突出存在於雙鏈體的反義股的 3' 端。於某些實施態樣中，延伸的突出存在於雙鏈體的反義股的 5' 端。於某些實施態樣中，延伸的突出中的一個或多個核苷酸經核苷硫代磷酸鹽取代。於某些實施態樣中，突出包括自我互補部分，使得突出能夠於生理條件下形成穩定的髮夾結構。

【0163】「鈍端」係指於雙股 RNA 劑的端沒有未配對的核苷酸，意即沒有核苷酸突出。「鈍端」雙股 RNA 劑在其全長上為雙股，即在分子的任一端沒有核苷酸突出。本發明的 RNAi 劑包括於一端沒有核苷酸突出(即，具有一個突出端及一個鈍端的劑)或任一端沒有核苷酸突出的 RNAi 劑。大多數情況下，該分子於其整個長度上都為雙股的。

【0164】術語「反義股」或「導引股」係指 iRNA 的股，例如 dsRNA，其包括與標靶序列(例如 RBP4 mRNA)實質上互補的區域。

【0165】如本文中所用，術語「互補區域」係指反義股實質上與序列 (例如，如本文所定義之標靶序列 (例如 RBP4 核苷酸序列))互補的區域。當該互補區域與標靶序列不完全互補，該錯配可能位於分子的內部或末端區域。通常，最耐受的錯配發生在末端區域，例如，在 iRNA 的 5'-或 3'-端的 5、4 或 3 個核苷酸內。於某些實施態樣中，本發明的雙股 RNA 劑包括反義股中的核苷酸錯配。於某些實施態樣中，本發明之雙股 RNA 劑的反義股包括不超過 4 個與標靶 mRNA 的錯配，例如，該反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與標靶 mRNA 的錯配。於某些實施態樣中，本發明之雙股 RNA 劑的反義股包括不超過 4 個與該有義股的錯配，例如，該反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與該有義股的錯配。於某些實施態樣中，本發明之雙股 RNA 劑的包含於有義股的核苷酸錯配。於某些實施態樣中，本發明之雙股 RNA 劑的有義股包括不超過 4 條與反義股的錯配，例如，該有義

股包括 4、3、2、1 或 0 與反義股的錯配。於某些實施態樣中，該核苷酸錯配為，例如，自該 iRNA 的 3'-端 5、4、3 個內之核苷酸。於另一實施態樣中，該核苷酸錯配為，例如，在該 iRNA 劑的 3'-末端核苷酸。於某些實施態樣中，該錯配不在種子區。

【0166】 因此，本文中所述的 RNAi 劑可包含一或多個與靶序列的錯配。於一實施態樣中，本文中所述的 RNAi 劑包含不超過 3 個錯配(即 3、2、1 或 0 個錯配)。於一實施態樣中，本文中所述的 RNAi 劑含有不超過 2 個錯配。於一實施態樣中，本文中所述的 RNAi 劑含有不超過 1 個錯配。於一實施態樣中，如本文所述的 RNAi 劑包含 0 個錯配。於特定實施態樣中，若該 RNAi 劑之反義股包含與靶序列的錯配，則可視需要地將錯配限制為位於來自互補區域的 5'-或 3'-端的最後 5 個核苷酸內。例如，於此實施例中，對於具有 23 核苷酸之 RNAi 劑，其與 RBP4 基因的一個區域互補的股通常不包含中心 13 個核苷酸內的任何錯配。本文中描述的方法或本領域已知的方法可用於確定含有與靶序列錯配的 RNAi 劑是否有效抑制 RBP4 基因的表現。考慮具有錯配的 RNAi 藥物在抑制 RBP4 基因表現方面的功效非常重要，特別是如果已知 RBP4 基因中的互補特定區域在群體內具有多形性序列變異。

【0167】 本文使用的術語「有義股」或「客股(passenger strand)」係指 iRNA 的股，其包括與此處定義之術語「反義股」之區域實質上互補的區域。

【0168】 如本文所用，「實質上所有核苷酸均經修飾」係很大程度上但不是完全修飾的，且可包括不超過 5、4、3、2 或 1 個未經修飾的核苷酸。

【0169】 如本文所用，術語「裂解區域」係指位於緊鄰裂解位點的區域。該裂解位點為標靶發生裂解的位點。於某些實施態樣中，該裂解區域包括位於該

裂解位點之任一端並緊鄰該切解位點的三個鹼基。於某些實施態樣中，該裂解區域包括位於該裂解位點之任一端並緊鄰該切解位點的兩個鹼基。於某些實施態樣中，該裂解位點專一性地發生在由反義股的核苷酸 10 和 11 結合的位點，且該裂解區域包括核苷酸 11、12 及 13。

【0170】 除非另行指示，本文中所用之術語「互補」，用以揭示關於第二核苷酸序列之第一核苷酸序列時，意指包含該第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸於某些條件下與包含該第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸雜交且形成雙鏈體結構的能力，而其為該技術領域人士所能理解。舉例而言，此條件可為嚴苛條件，其中嚴苛條件可包括：400 mM NaCl、40 mM PIPES pH 6.4、1 mM EDTA、於 50 ℃或 70 ℃ 12 至 16 小時，之後洗滌(參見如「Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, *et al.*, (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press)。可應用其他例如可於生物體內遇到的生理相關條件。通常知識者將能夠根據所雜交之核苷酸的最終應用而確定最適用於兩個序列之互補性測試的條件組。

【0171】 iRNA 內 (例如，本文中所述的 dsRNA 內)的互補序列，包括包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸對包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸於其一或兩者核苷酸序列整個長度上的鹼基配對。此序列於本文中可稱為「完全互補」。然而，當本文中第一序列相對於第二序列被稱為「實質上互補」，則此兩者序列可以是完全互補，或它們可形成一或多個，但在長度多達 30 個鹼基對之雙鏈體雜交的情況下通常不超過 5、4、 3 或 2 個錯配的鹼基對，同時保留在與其最終應用最相關的條件下雜交的能力，例如，於體外或體內抑制基因表現。然而，一旦兩個寡核苷酸設計為雜交時形成一個或多個單股突出，則此類突出不應被視為互補上的錯配。舉例而言，包含一個長度為 21 個核苷酸之寡核苷

酸及另一個長度為 23 個核苷酸之寡核苷酸的 dsRNA，其中該較長之核苷酸包含一個與該較短之核苷酸完全互補的 21 個核苷酸之序列，對於本文所揭示之目的，仍可稱為「完全互補」。

【0172】 如本文所用，「互補」序列亦可包括或完全由非 Watson-Crick 鹼基對或由非天然及經修飾的核苷酸所形成的鹼基對形成，只要上述關於它們雜交能力的要求得到滿足。此類非 瓦特生 克里克(Watson Crick) 鹼基對包括但不限於 G：U 搖擺(Wobble) 或 胡斯坦(Hoogsteen) 鹼基對。

【0173】 本文中，術語「互補」、「完全互補」及「實質上互補」可用於有關 dsRNA 之有義股與反義股之間或於兩個寡核苷酸或多核苷酸之間(例如雙股 RNA 劑的反義股及標靶序列)的鹼基對，其將從所用之處的上下文理解。

【0174】 如本文中所用，與信使 RNA (mRNA)之「至少一部分實質上互補」之多核苷酸意指與感興趣之 mRNA (例如，編碼 RBP4 基因的 mRNA)之連續部分實質上互補的多核苷酸。舉例而言，如該序列與編碼 RBP4 的 mRNA 的非中斷部分實質上互補，則該多核苷酸與 RBP4 mRNA 的至少一部分互補。

【0175】 因此，於某些實施態樣中，本文揭露的反義多核苷酸與標靶 RBP4 序列完全互補。於其他實施例中，本文揭露的反義多核苷酸與標靶 RBP4 序列實質上互補，且包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少 80 % 互補於 SEQ ID NOs：1、3、5、7 或 9 中任一核苷酸序列的等效區域，或例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%或約 99%互補於 SEQ ID NOs：1、 3、5、7 或 9 中任一序列之片段。

【0176】 於其他實施例中，本文揭露的反義多核苷酸與標靶 RBP4 序列實質上互補，且包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80

%互補於表 2 至 3 任一者的任一有義股核苷酸序列，或與表 2 至 3 任一者的任一有義股核苷酸序列之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或 100%互補。。

【0177】 在一個實施態樣中，本揭露的 RNAi 劑包括與反義多核苷酸實質上互補的有義股，反義多核苷酸又與標靶 RBP4 序列相同，且其中該有義股多核苷酸包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80%互補於 SEQ ID NO：2、4、6、8 或 10 的核苷酸序列的等效區域，或與 SEQ ID NO：2、4、6、8 或 10 中任一的片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%，或 100% 互補。

【0178】 於某些實施態樣中，本發明的 iRNA 包括與反義多核苷酸實質上互補的有義股，而反義多核苷酸又與標靶 RBP4 序列互補，且其中該有義股多核苷酸包含連續的核苷酸序列，該核苷酸序列在其整個長度上至少約 80%互補於表 2 至 3 任一者的任一反義股核苷酸序列，或與表 2 至 3 任一者的任一反義股核苷酸序列之片段，例如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98%、約 99%或 100%互補。

【0179】 通常，「iRNA」包括具有化學修飾之核糖核苷酸。此類修飾可包括本文中所公開或本領域已知之所有類型的修飾。用於 dsRNA 類型分子中的任何此類修飾皆藉由本說明書及專利申請範圍目的之「iRNA」予以涵蓋。

【0180】 於本揭露之特定實施態樣中，若去氧核苷酸存在於 RNAi 劑中，則該去氧-核苷酸可被認為是構成修飾的核苷酸。

【0181】 於本發明一態樣中，用於本發明之方法和組成物中的劑為單股反義寡核苷酸分子，其藉由反義抑制機制抑制標靶 mRNA。該單股反義寡核苷酸

分子與標靶 mRNA 內的序列互補。該單股反義寡核苷酸分子可藉由與 mRNA 進行鹼基配對並物理性地阻礙轉譯機制以抑制轉譯(以化學計量測定)，參見 Dias, N. *et al.,* ((2002) *Mol Cancer Ther* 1：347-355)。該單股反義寡核苷酸分子的長度可約為 14 至約 30 個核苷酸，且具有與標靶序列互補之序列。例如，該單股反義寡核苷酸分子可包含本文所述任一反義序列之至少約 14、15、16、17、18、19、20 或更多個連續核苷酸的序列。

【0182】本文中所用的片語「以 iRNA 接觸細胞」，例如使用 dsRNA，包括藉由任何可能的手段接觸細胞。以 iRNA 接觸細胞包括將細胞在體外(*in vitro*)與 iRNA 接觸或於體內(*in vivo*)接觸細胞與 iRNA。該接觸可直接或間接進行。因此，例如，iRNA 可由執行該方法之個體與細胞進行物理接觸，或者，iRNA 可被置於允許或導致其隨後與細胞接觸的情況中。

【0183】可例如藉由將細胞與 iRNA 共培養以完成在體外接觸細胞。於體內接觸細胞可例如藉由將 iRNA 注射到細胞所位於的組織內或附近，或藉由將 iRNA 注射到另一個區域，例如，血流或皮下空間，使劑隨後抵達待接觸之細胞所在的組織。例如，iRNA 可以包含或接合到配體，例如，GalNAc，其將 iRNA 引導到感興趣的位點(例如，肝臟)。亦可能組合體外和體內之接觸方法。例如，細胞可在體外與 iRNA 接觸後移植到個體體內。

【0184】於特定實施態樣中，與 iRNA 接觸細胞包括藉由促進或影響對細胞的攝取或吸收以「導入」或「將 iRNA 遞送到細胞中」。iRNA 的吸收或攝取可藉由無輔助擴散或主動細胞過程，或藉由輔助劑或裝置發生。將 iRNA 導入細胞可以體外或體內之方式。例如，對於體內導入，iRNA 可注射到組織部位或全

身給藥。體外導入細胞包括本領域已知的方法，例如電穿孔和脂質轉染。進一步的方法係描述於本文中或為本領域所習知。

【0185】 術語「脂質奈米粒子」或「LNP」為包含封裝藥物活性分子(例如核酸分子)之脂質層的囊泡，例如，iRNA 或轉錄 iRNA 的質體。LNP 描述於例如美國專利案 6,858,225、6,815,432、8,158,601 及 8,058,069 中，其各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0186】 如本文所用，「個體」為動物 (例如哺乳動物)，包括靈長類動物(例如人類、非人類靈長類動物，例如，猴子和黑猩猩)、非靈長類動物(例如牛、豬、馬、山羊、兔子、綿羊、倉鼠、豚鼠、貓、狗、大鼠或小鼠)，或不論以內源性還是異源性表現標靶基因之鳥類。於一實施態樣中，該個體為人類，例如正在治療或評估的疾病或病症的人類，該疾病或病症將受益於 TTR 及/或 RBP4 表現減少；有疾病或病症風險的人類，該疾病或病症將受益於 TTR 及/或 RBP4 表現減少；患有受益於 TTR 及/或 RBP4 表現減少之疾病或病症的人類；或正接受疾病或病症治療的人類，該疾病或病症將受益於本文中描述之 TTR 及/或 RBP4 表現的減少。於某些實施態樣中，該個體為女性人類。於其他實施例中，該個體為男性人類。於一實施態樣中，該個體為成人個體。於另一實施態樣中，該個體為兒童個體。

【0187】 如本文中所用，術語「治療(treating)」或「療法(treatment)」意指有益或所期望之結果，例如減少個體中斯特格氏症或 RBP4 相關疾病之至少一種體徵或症狀。治療亦包括減少與不需要的 TTR 及/或 RBP4 表現相關的一或多個體徵或症狀；減少不需要的 TTR 及/或 RBP4 活化或穩定的程度；改善或緩解不

需要的 TTR 及/或 RBP4 活化或穩定。「治療」亦可意旨相比於未治療時之預期壽命的壽命延長。

【0188】 在個體或疾病標記或症狀之 TTR 及/或 RBP4 量級的上下文中，術語「下降」意指該量級於統計學上顯著減少。例如，可減少至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多。於特定實施態樣中，至少減少 20%。於特定實施態樣中，疾病標記 (例如，蛋白質或基因表現量級)減少至少為 50%。在個體 TTR 及/或 RBP4 量級之上下文中，「下降」為減少到沒有此種病症之個體在正常範圍內可接受的量級。於特定實施態樣中，「下降」係指罹患疾病之個體的標記或症狀量級與個體在正常範圍內可接受的量級之間差異的減少。術語「下降」亦可與使疾病或病狀的症狀正常化相關聯使用，即，降低罹患斯特格氏症或 RBP4 相關疾病的個體量級與未罹患斯特格氏症或 RBP4 相關疾病的正常個體的量級之間的差異。如本文所用，如果疾病與症狀的升高值相關，則「正常」被認為是正常的上限。如果疾病與症狀的減少值相關，則「正常」被認為是正常的下限。

【0189】 如本文所用，「預防」當用於提及疾病、病症或病狀時，可藉由降低 TTR 及/或 RBP4 基因的表現以治療或改善，係指降低個體將出現與此類疾病、病症或病狀相關的症狀的可能性，例如，斯特格氏症或 RBP4 相關病症的症狀(例如，眼部疾病、視網膜中形成有毒的維生素 A 代謝物及/或視力喪失)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)、裂虹膜、粉刺性痤瘡症候群、小眼症、基底層隱結、糖尿病性黃斑水腫或視網膜靜脈阻塞；或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。未形成疾病、病症或病狀，或與此類疾病、病症或病狀相關的症

狀的發展減少(例如，在該疾病或病症的臨床可接受的量表上減少至少約 10%)，或延遲症狀的表現延遲(例如，數天、數週、數月或數年)係認為為有效的預防。

【0190】 如本文所用，術語「斯特格氏症」係指導致視網膜退化及視力喪失的遺傳性眼病。斯特格氏症係黃斑部病變的一種形式，亦稱為「青少年黃斑部病變」或「斯特格氏黃斑部病變」。斯特格氏症是最常見的遺傳性黃斑部病變形式，在美國影響約 3 萬人。與斯特格氏症相關的進行性視力喪失係由於視網膜中央部分稱為黃斑的光感受體細胞退化所引起的。黃斑負責清晰的中央視覺，其為閱讀、駕駛及識別臉部等細部任務所必需的。在大多數罹患斯特格氏症的人中，黃斑下方的細胞中會積聚一種脂肪黃色素(脂褐質)。隨著時間的經過，這種物質的異常積累會損害對清晰的中央視力至關重要的細胞。除了中心視力喪失外，斯特格氏症病人亦存在夜視問題，其可能導致在低光源下難以行進。一些受影響的人也產生色覺受損。斯特格氏症的體徵和症狀通常出現在兒童晚期至成年早期，並隨著時間的推移而惡化。

【0191】 於斯特格氏症($Abca4^{-/-}$) 的小鼠模式中顯示了 RPE 中細胞毒性脂褐質的合成增加及過度積累，例如脂質-蛋白-類視色素聚集體。RPE 脂褐質的主要細胞毒性成分為雙維甲酸。視網膜中的脂褐質合成依賴血清視黃醇從循環系統流入 RPE，而此種流入需要於血清中形成三級 RBP4/TTR/視黃醇複合物。

【0192】 如本文所用，術語「視網膜結合蛋白 4-相關病症」或「RBP4-相關病症」係由 RBP4 基因表現或 RBP4 蛋白產生引起或與之相關的疾病或病症。術語「「RBP4-相關病症」包括將受益於 RBP4 基因表現、複製或蛋白質活性降低的疾病、病症或病症。於一些實施態樣中，RBP4-相關病症係眼部疾病，例如斯特格氏症、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕

性AMD)、裂虹膜、粉刺性痤瘡症候群、小眼症、基底層隱結、糖尿病性黃斑水腫或視網膜靜脈阻塞。於一些實施態樣中，RBP4-相關病症係代謝疾病(例如葡萄糖及脂質恆定性疾患、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。

【0193】 如本文所用，術語「老年性黃斑部病變(AMD)」或「黃斑部病變」係指在55歲以上的人之中黃斑(視網膜的中央部分)的進行性退化。AMD佔全球失明總數的8.7%。 AMD的特徵在於視網膜下的大隱結沉積物(含有脂質和蛋白質的沉積物)。當 AMD 損害黃斑時，人的視力中心部分可能會變得模糊或波浪狀，並且可能會出現盲點。AMD會迅速或緩慢地導致視力喪失，並且會使需要敏銳視力的事情變得非常困難，例如閱讀、縫紉、烹飪或開車，其亦會使在昏暗的光線下看不清東西。 AMD有兩種類型，稱為濕性AMD及乾性AMD。

【0194】 黃斑部病變是由視網膜色素上皮 (RPE)中有毒維生素A衍生物的積累所引發及延續的。RPE 中維生素 A 輸送或新陳代謝的藥理抑制作用可顯著減緩和減少黃斑部病變動物模型中的視力喪失。阻斷 RBP4 與其受體 STRA6 之間交互作用的抑制肽被證明可減少維生素 A 向 RPE 的輸送，並且可作為開發治療黃斑部病變的治療劑的基礎(Farjo, *et al.*,,2013, *ARVO Annual Meeting*, 54(15), 1702)。

【0195】 「濕性AMD」亦稱為「新生血管性AMD」或「濕性黃斑部病變」，其特徵是病理性血管從脈絡膜生長到視網膜(脈絡膜新生血管)，主要由視網膜色素上皮(RPE)驅動而產生過多的血管內皮生長因子 (VEGF)。

【0196】 「乾性AMD」亦稱為「地圖狀萎縮」或「乾性黃斑部病變」，其係由 RPE 細胞死亡和感光細胞退化所引起的，並導致視力喪失。

【0197】 如本文所用，術語「糖尿病視網膜病變(DR)」係指可導致糖尿病個體視力喪失和失明的眼病。它是由眼睛後部(視網膜)感光組織的血管受損引起的。起初，糖尿病視網膜病變可能不會引起任何症狀或僅引起輕微的視力問題。最終，它會導致失明。儘管進行了嚴格的血糖控制，80%的第二型型糖尿病個體會在發病的15年內進展為DR。此外，70至100%的第一型型糖尿病個體會出現糖尿病視網膜病變。在早期階段，個體可能會出現眼底微動脈瘤、硬質滲出物、出血和棉絮斑點。隨著疾病的進展，新的血管可能會因局部缺血而生長，但它們很脆弱，會導致出血並最終破壞視網膜。DR的管理圍繞著增生性疾病的全視網膜雷射光凝術進行，而糖尿病黃斑水腫藉由焦點或網格雷射治療以及眼內抗VEGF藥物和類固醇進行治療。目前的DR療法為不方便的給藥(雷射手術、頻繁的眼內注射)和令人不適的副作用(類固醇誘導的青光眼和白內障)。最近的研究顯示，RBP4血漿量級與第二型糖尿病個體的糖尿病視網膜病變相關，RBP4量級較高的個體發生糖尿病視網膜病變的風險更大(Li *et al.*,, *Biosci Rep.* 2018 Oct 31; 38(5): BSR20181100)，其提示了RBP4在DR併發症的發病機制中可能發揮作用。

【0198】 如本文所用，術語「糖尿病黃斑水腫(DME)」係指糖尿病視網膜病變(DR)的一種形式，其中視網膜中的病變血管將流體從循環中洩漏到黃斑中，導致嚴重的視力喪失。

【0199】 如本文所用，術語「基底層隱結(BLD)」亦稱為「角質隱結」或「成年早期發病、成群的隱結」，其係指小隱結隨機沉積在黃斑中的病症。在晚期，這些隱結變得更多並分散在整個視網膜中，最終可能導致黃斑的嚴重色素上皮脫離並導致視力喪失。隱結沉積物通常為自發螢光的。

【0200】 如本文所用，術語「視網膜靜脈阻塞(RVO)」係指將血液從視網膜帶走的小靜脈阻塞，其被細分為中央和分支 RVO。中央 RVO 係由視網膜中央靜脈的流出受損引起的，而當中央靜脈的分支被阻塞時會出現分支 RVO。由於閉塞，視網膜很可能發生局部缺血，導致 VEGF 和發炎蛋白增加，如果不治療，可能會導致黃斑水腫、新生血管形成、青光眼，而最終失明。 RVO 的閉塞無法治療，但併發症可以藉由局部雷射治療黃斑水腫或抗 VEGF 治療新生血管等方法進行管理。

【0201】 「RBP4- 相關疾病」包括與眼睛中的 RBP4 基因或蛋白質相關的任何眼部疾病，且將受益於 RBP4 表現的減少。此與 RBP4-相關的眼部疾病的特徵係例如脂褐質色素積累(斯特格氏症)、黃斑中稱為隱結的眼細胞代謝副產物的沉積物(AMD 和 BLD)或積聚並導致光傳輸受阻、組織損傷和視覺失能或喪失的脈絡膜或視網膜中的新血管生成 (AMD、DR、DME、RVO)。

【0202】 RBP4-相關的眼部疾病的其他症狀包括例如於視覺中心看不清楚，其為閱讀、縫紉、烹飪、識臉及駕駛所必需的，於昏暗的光線下看不清楚，檢測小盲點，視力模糊和扭曲，暗適應能力下降，光敏感，色覺差，或漂浮點或暗弦。本文提供了關於各種疾病或病症的體徵和症狀的進一步細節且於本技術領域中是眾所周知的。

【0203】 除了眼部疾病外，RBP4 還與多種人類代謝失調有關，例如葡萄糖和脂質的恆定性疾患以及心血管疾病。例如，RBP4 已被證明與胰島素抗性和糖尿病的發生和發展有關(Yang, Q., *et al.,* (2005). *Nature* 436, 356–362)；Graham TE., *et al.,*, 2006, *N Engl J Med*; 354: 2552 – 2563)，特別是，據報導，在患有肥胖症、葡萄糖耐受性受損和第二型糖尿病的胰島素抗性個體中，以及在具有強第二

型糖尿病家族史的瘦的正常血糖個體中，RBP4 的血清濃度升高(Yang, Q.,*et al.*,. (2005). *Nature* 436, 356–362); Graham TE., *et al.*,,2006, *N Engl J Med*; 354: 2552 – 256)。在正常小鼠中 RBP4 的轉殖基因過表現或注射人 RBP4 被證明會導致胰島素抗性。相較之下，RBP4 的基因缺失或體循環 RBP4 量級的降低具有相反的效果，並保護小鼠免於產生胰島素抗性 (Yang, Q., *et al.,* (2005). *Nature* 436, 356–362)。

【0204】 血清 RBP4 亦已被證明與已確定的心血管疾病風險因子相關，包括代謝症候群、整體/中心性肥胖、血脂異常、發炎標誌物和高血壓(Qi Q, *et al.*,, *J Clin Endocrinol Metab.* 2007; 92:4827–4834; Ingelsson E, *et al.*,, *Atherosclerosis.* 2009; 206:239–244)。此外，建議 RBP4 作為一種脂肪激素，將肥胖與胰島素抗性聯繫起來。在血清 RBP4 和脂肪 RBP4 mRNA 與腹內脂肪量之間發現了正相關，而血清 RPB4 與胰島素敏感性呈負相關，並因運動而降低((Klöting *et al.,* (2007) *Cell Metab.* 6, 79–87; Graham *et al.*,, 2006, *N Engl J Med*; 354: 2552 – 2563)。 其他研究顯示 RBP4 量級不僅與肥胖和胰島素抗性指數相關，亦與發炎因子相關(Balagopal P, *et al.*,, *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 1971 – 1974)，而 RBP4 可能係關於糖尿病視網膜病的發炎症過程。

【0205】 如本文所用，「代謝失調」係指破壞正常代謝(即在細胞量級上將食物轉化為能量的過程)的任何疾病或病症。代謝失調會影響細胞進行關鍵生化反應的能力，這些反應係關於蛋白質(胺基酸)、碳水化合物(糖和澱粉)或脂質(脂肪酸)的加工或運輸。於一些實施態樣中，RBP4-相關病症係代謝失調，例如，葡萄糖及脂質體內恆定異常或心血管疾病。

【0206】如本文所用，「葡萄糖及脂質的恆定性疾患」係指破壞正常葡萄糖及/或脂質代謝的任何疾病或病症。葡萄糖及脂質體內恆定異常的例子包括但不限於糖尿病、第一型糖尿病、第二型糖尿病、半乳糖血症、遺傳性果糖不耐症、果糖 1,6-二磷酸酶缺乏症、肝醣儲積症、碳水化合缺乏醣蛋白症、胰島素抗性、胰島素不足、高胰島素血症、葡萄糖耐受性異常(IGT)、動脈粥樣硬化、血脂異常、高三酸甘油脂血症(包括藥物誘導的高三酸甘油脂血症、利尿劑誘導的高三酸甘油脂血症、酒精誘導的高三酸甘油脂血症、B-腎上腺素能阻斷劑誘導的高三酸甘油脂血症、雌激素誘導的高三酸甘油脂血症、糖皮質激素誘導的高三酸甘油脂血症、類視色素誘導的高三酸甘油脂血症、西咪替丁誘導的高三酸甘油脂血症和家族性高三酸甘油脂血症)、與高三酸甘油脂血症相關的急性胰臟炎、乳糜微粒症候群、家族性乳糜微粒血症、 Apo-E 缺乏或抗性、 LPL 缺乏或低活性、高脂血症(包括家族性混合性高脂血症)、高膽固醇血症、與高膽固醇血症相關的痛風、黃瘤病(皮下膽固醇沉積)、具異質性 LPL 缺乏的高脂血症、具高 LDL 及異質性 LPL 缺乏的高脂血症、脂肪肝病或非酒精性脂肪肝病(NASH)

【0207】如本文所用，術語「糖尿病」係指一群以高血糖(葡萄糖)量級為特徵的代謝疾病，其由胰島素分泌或作用或兩者的缺陷所引起。兩種最常見的糖尿病類型即 第一型糖尿病和第二型糖尿病，它們都是因身體無法調節胰島素所引起的。胰島素係以應對血液中血糖(葡萄糖)量級的升高而由胰釋放的一種激素。

【0208】如本文所用，術語「第一型糖尿病」係指當胰產生太少的胰島素而無法適當調節血糖量級時發生的慢性疾病。第一型糖尿病亦稱為胰島素依賴型糖尿病、IDDM 及幼年型糖尿病。患有第一型糖尿病(胰島素依賴型糖尿病)的人產生很少或根本不產生胰島素。儘管大約 6%的美國人口患有某種形式的糖尿

病，但只有大約 10%的糖尿病個體患有第一型疾病。大多數患有第一型糖尿病的人在 30 歲之前就患上了此種疾病。第一型糖尿病係胰腺 β 細胞的進行性自身免疫破壞以及隨後的胰島素缺乏所導致的結果。胰中超過 90%產生胰島素的細胞(β 細胞)被永久破壞。由此胰島素缺乏的後果很嚴重，為了生存，第一型糖尿病個體必須定期注射胰島素。

【0209】 在第二型糖尿病(亦稱為非胰島素依賴型糖尿病，NDDM)中，胰持續製造胰島素，有時甚至高於正常量級。然而，身體會出現胰島素抗性和胰島素分泌失調。第二型糖尿病可能發生在兒童和青少年中，但通常在 30 歲以後開始，並隨著年齡的增長逐漸變得更為常見：70 歲以上的人中約有 15%患有第二型糖尿病。肥胖係第二型糖尿病的危險因子，80%至 90%的患有此疾病的人為肥胖。於一些實施態樣中，糖尿病包括糖尿病前期。「糖尿病前期」係指一種或多種早期糖尿病病症，包括葡萄糖利用受損、空腹葡萄糖量級異常或受損、葡萄糖耐受性受損、胰島素敏感性受損及胰島素抗性。糖尿病前期係第二型糖尿病、心血管疾病及死亡率發展的主要危險因素。藉由有效治療糖尿病前期以開發預防第二型糖尿病發展的治療介入措施已經得到了很多關注。

【0210】 糖尿病可藉由葡萄糖耐受試驗以診斷。臨床上，糖尿病通常分為幾個基本類別。這些類別的主要例子包括，自體免疫糖尿病、非胰島素依賴型糖尿病(第一型 NDDM)、胰島素依賴型糖尿病(第二型 IDDM)、非自體免疫糖尿病、非胰島素依賴型糖尿病(第二型 NIDDM))及年輕人成年型糖尿病(MODY)。另一個通常稱為繼發性糖尿病的類別係指由某些可識別的疾病引發的糖尿病，該些疾病會導致或允許糖尿病症候群的發展。次要類別的例子包括由胰腺疾病誘導的糖尿病、激素異常、藥物或化學物質誘導的糖尿病、由胰島素受體異常誘導的

糖尿病、與遺傳症候群相關的糖尿病及其他原因的糖尿病。(參見如 Harrison's (1996) 14th ed., New York, McGraw-Hill)。

【0211】 如本文所定義，心血管疾病亦被認為是「代謝疾患」。這些疾病可能包括冠狀動脈疾病(亦稱為缺血性心臟病)、與冠狀動脈疾病相關的發炎、再狹窄、周邊血管疾病和中風。

【0212】 如本文所定義的，與體重相關的疾病也被認為是「代謝疾患」。此類疾病可能包括肥胖症、包括代謝症候群的獨立組成(例如，中心性肥胖、FBG/前驅糖尿病/糖尿病、高膽固醇血症、高三酸甘油脂血症及高血壓)的代謝症候群、低甲狀腺性功能症、尿毒症及其他與體重增加(包括體重快速增加)、體重減輕、維持體重減輕相關的病症或體重減輕後體重反彈的風險。

【0213】 如本文所用，術語「抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性的劑」係指降低 TTR 的表現及/或活性的任何藥劑。TTR 係甲狀腺素的轉運蛋白和 RBP4 的結合配偶體(binding partner)，參與在循環中轉運視黃醇。RBP4 與 TTR 結合會降低 RBP4 的腎小球濾過率並將其保留在血液中。因此，TTR 結合是血清 RBP4 量級的關鍵決定因素。在肝細胞中視黃醇與 RBP4 結合後，形成視黃醇/RBP4/TTR 複合物並釋放到血流中，並藉由與特定膜受體的結合將視黃醇輸送到組織。藉由抑制 TTR 的表現及/或活性，亦可降低 RBP4 的量級。因此，抑制 TTR 表現及/或活性的藥劑亦可用於抑制 RBP4 的表現及/或活性，並用於治療或預防 RBP4 相關病症的方法，如本文所述。

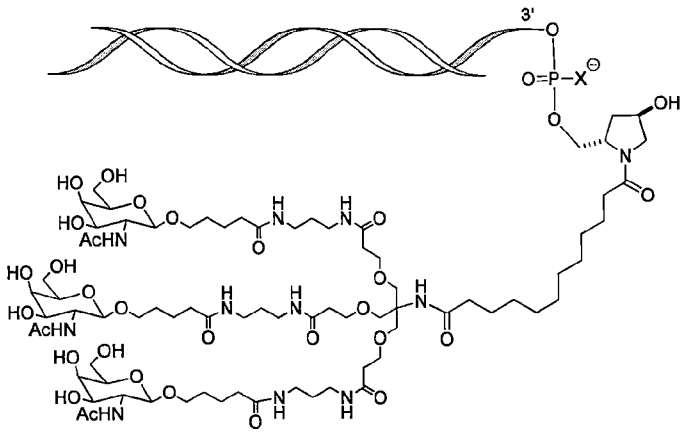
【0214】 在一些實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的藥劑抑制或減少 TTR 與 RBP4 的結合、抑制或減少視黃醇與 TTR/ RBP4 的結合、抑制或減少視黃醇/ RBP4/ TTR 複合物的形成，或抑制或減少視黃醇轉運或遞送至目標組織。

抑制 TTR 表現及/或活性的示例性藥劑可包括但不限於 TTR 小分子抑制劑、靶向 TTR 的核酸藥劑例如 siRNA 或反義寡核苷酸或靶向 TTR 的基因療法，或抗 TTR 抗體。

【0215】 於一些實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 siRNA 或反義寡核苷酸或靶向 TTR 的基因療法。

【0216】 於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 武特裡西蘭。

【0217】 於一實施態樣中，核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3'端，如下方案所示：

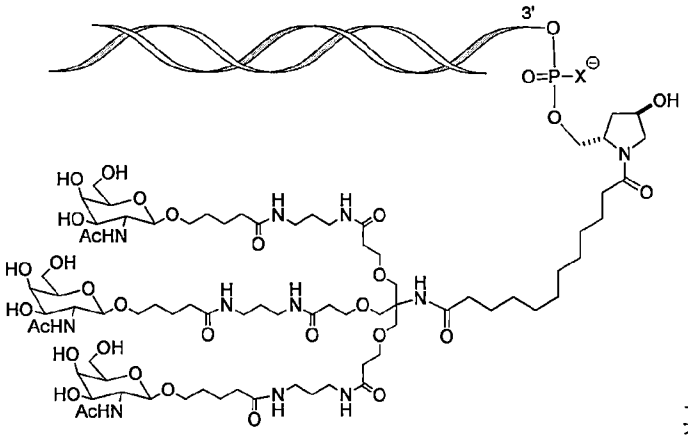


其中 X 為 O。

【0218】 於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 雷烏西蘭(revusiran)。

【0219】 於一實施態樣中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'- UfgGfgAfuUfuCfAfUfgUfaacCfaAfgAf-3' (SEQ ID NO：22)的有義股及含有核苷酸序列 5'- uCfuUfgGfUfUfaCfaugAfaAfuCfcCfasUfsc-3' (SEQ ID

NO：23)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U；Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體接合至有義股的 3’端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【0220】 於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 帕替西蘭。

【0221】 於一實施態樣中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5’-GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT-3’ (SEQ ID NO：24)的有義股及含有核苷酸序列 5’-AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT-3’ (SEQ ID NO：25)的反義股，其中 A 為腺苷，C 為胞嘧啶，G 為鳥苷，U 為尿核苷，a 為 2′-O-甲基腺苷，c 為 2′-O-甲基胞嘧啶，g 為 2′-O-甲基鳥苷，u 為 2′-O-甲基尿核苷，以及 dT 為 2′-去氧胸苷。

【0222】 適用於要求保護的方法中的合適的 dsRNA 劑描述於 PCT 公開號 WO 2013/075035、WO 2017/023660 和 WO 2010/048228 中，全部內容以引用的方式併入本文。

【0223】 於一實施態樣中，該靶向 TTR 的核酸劑係依諾特森(inotersen)。

【0224】 於一實施態樣中，該核酸劑係由 20 個連接的核苷所組成的單股經修飾的寡核苷酸，其具有由 5’-TCTTGGTTACATGAAATCCC-3’ (SEQ ID

NO：26)所組成的核鹼基序列，其中該經修飾的寡核苷酸包含：由十個連接的去氧核苷所組成的間隙片段；由五個連接的核苷所組成的 5′ 翼段；及由五個連接的核苷所組成的 3′ 翼段；其中該間隙片段位於 5′ 翼段及 3′ 翼段之間，其中每個翼段的每個核苷包含 2′-O-甲氧基乙基糖，其中每個核苷間鍵結係硫代磷酸酯鍵結，且其中每個經修飾的寡核苷酸的胞嘧啶係 5-甲基胞嘧啶。

【0225】 又一個實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的劑是運甲狀腺素蛋白的四級結構的穩定劑，例如，他法米迪(Tafamidis)(參見，例如，美國專利號 8,653,119、8,168,663、7,214,696 和 7,214,695，每個專利的全部內容藉由引用併入本文)。

【0226】 本文中所用之「治療有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述之量，當將該 RNAi 劑投藥罹患斯特格氏症或 RBP4 相關疾病的個體時，其量足以對該疾病之治療造成功效(例如，藉由削弱、緩解或維持現有疾病或疾病之一或多種症狀)。「治療有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投藥、疾病及其嚴重性及待治療之個體的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

【0227】 本文中使用的「預防有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述的量，當將該 RNAi 劑投藥罹患斯特格氏症或 RBP4 相關疾病之個體時，其量足以預防或改善該疾病或該疾病之一或多種症狀。改善疾病包括減緩疾病之進程或降低晚期疾病之嚴重程度。「預防有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投藥、疾病風險程度及待治療之個體的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

【0228】「治療有效量」或「預防性有效量」亦包括以適用於任何治療之合理益處/風險比產生一些所期待效果之 RNAi 藥物的量。本發明方法中採用的 iRNA 可以足夠的量投藥以產生適用於此類治療之合理益處/風險比。

【0229】本文中使用的片語「藥學上可接受的」係指那些在合理的醫學判斷範圍內適合與人類個體和動物個體的組織接觸而沒有過度毒性，刺激性，過敏反應或其他問題或併發症的化合物、材料、組成物或劑型，並與合理的益處/風險比相稱。

【0230】本文中使用的片語「藥學上可接受的載體」是指藥學上可接受的材料、組成物或媒劑，例如液體或固體填料、稀釋劑、賦形劑、製造助劑(例如，潤滑劑、滑石鎂、硬脂酸鈣或硬脂酸鋅、或硬脂酸)或溶劑封裝材料，其參與從一個器官或身體之一部分攜帶或運輸主要化合物至另一個器官或身體的一部分。每個載體必須為「可接受的」，即與製劑的其他成分相容，並且對所治療的個體沒有傷害。這類載體為本技術領域已知的。藥學上可接受的載體包括用於注射投藥的載體。

【0231】本文中使用的術語「樣本」包括從個體內分離出的類似液體、細胞或組織的採集物，及個體內存在的液體、細胞或組織。生物體液之實例包括血液、血清和血清液、血漿、腦脊液、眼液、淋巴液、尿液、唾液等。組織樣本可能包括來自組織、器官或局部區域之樣本。例如，樣本可能來自特定器官、器官之一部分或這些器官內的液體或細胞。於特定實施態樣中，樣本可來自肝臟(例如，全肝或肝臟之某些片段或肝臟中特定類型之細胞，例如，肝細胞)。於特定實施態樣中，樣本可來自視網膜或部分視網膜(例如，視網膜色素上皮及/或睫狀上皮)。在一些實施態樣中，「源自個體的樣本」係指源自個體的視網膜組織。

在一些實施態樣中，「源自個體的樣本」係指從個體獲得的尿液。「源自個體的樣本」可指來自個體的血液或血液來源的血清或血漿。

【0232】 II.本發明之 iRNA

【0233】 本發明提供了抑制 RBP4 基因表現的 iRNA。於特定實施態樣中，該 iRNA 包括用於抑制 RBP4 基因在細胞中表現的雙股核糖核酸(dsRNA)分子，例如個體 (例如哺乳動物，例如易罹患 RBP4-相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質恆定性疾患、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的人)內的細胞。該 dsRNAi 劑包括具有互補性區域的反義股，該區域與 RBP4 基因表現中形成之 mRNA 的至少一部分互補。互補區域的長度約為 19 至 30 個核苷酸(例如，長度約為 30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20 或 19 個核苷酸)。

【0234】 在與表現 RBP4 基因的細胞接觸時，該 iRNA 抑制 RBP4 基因(例如，人類、靈長類動物、非靈長類動物或大鼠之 RBP4 基因)的表現至少約 50%，例如藉由 PCR 或基於分枝 DNA(bDNA)之方法測定，或藉由基於蛋白質的方法(例如藉由免疫螢光分析 (例如，使用西方墨點法或流式細胞儀技術)測定。於特定實施態樣中，表現之抑制係藉由本文提供之使用 siRNA 的實施例(例如 10 nM 濃度下於適當生物體細胞株)中提供的 qPCR 方法測定。於特定實施態樣中，體內表現之抑制係藉由減弱表現人類基因之嚙齒動物中的人類基因以測定，例如，表現人類標靶基因 (例如，當以單劑量投藥時(例如，在 RNA 表現的最低點以 3 mg /kg 投藥))的小鼠或經 AAV 感染的小鼠。

【0235】 dsRNA 包括兩條互補之 RNA 股，其在該 dsRNA 將被使用之情況下雜交形成雙螺旋結構。 dsRNA 之一股(反義股)包括一個互補區域，該區域與標靶序列實質上互補，且通常完全互補。該標靶序列可衍生自 RBP4 基因表現過程中形成的 mRNA 序列。另一股(有義股)包括與該反義股互補之區域 ，使兩股在合適的條件下結合時雜交並形成雙鏈體結構。如本文中其他地方所述以及本技術領域公知，dsRNA 之互補序列亦可包含在單一核酸分子內作為自行互補區域，而非在分開的寡核苷酸。

【0236】 該雙鏈體結構通常長度為 15 至 30 個鹼基對，例如，長度為 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、 18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、 18 至 25、18 至 24、 18 至 23、 18 至 22、 18 至 21、18 至 20、 19 至 30、 19 至 29、 19 至 28、19 至 27、 19 至 26、 19 至 25、 19 至 24、19 至 23、 19 至 22、 19 至 21、 19 至 20、 20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、 20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個鹼基對。於特定實施態樣中，該雙鏈體結構長度為 18 至 25 個鹼基對，例如，長度為 18 至 25、 18 至 24、 18 至 23、 18 至 22、 18 至 21、 18 至 20、 19 至 25、 19 至 24、 19 至 23、 19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 25、 20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 25、21 至 24、21 至 23、21 至 22、22 至 25、 22 至 24、 22 至 23、 23 至 25、 23 至 24 或 24 至 25 個鹼基對，例如，19 至 21 個鹼基對。介於上述範圍與長度間的範圍和長度亦被認為是本揭露之一部分。

【0237】 同理，標靶序列的互補區域長度為 15 至 30 個核苷酸，例如 15 至 29 、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、 15 至 21、 15 至 20、 15 至 19、 15 至 18、 15 至 17、 18 至 30、 18 至 29、 18 至 28、 18 至 27、 18 至 26、 18 至 25、 18 至 24、 18 至 23、 18 至 22、 18 至 21、 18 至 20、 19 至 30、 19 至 29、 19 至 28、 19 至 27、 19 至 26、 19 至 25、 19 至 24、 19 至 23、 19 至 22、 19 至 21、 19 至 20、 20 至 30、 20 至 29、 20 至 28、 20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、 21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23 或 21 至 22 個核苷酸，例如長度為 19 至 23 個核苷酸或長度為 21 至 23 個核苷酸。介於上述範圍與長度間的範圍和長度亦被認為是本揭露之一部分。

【0238】 於某些實施態樣中，該雙鏈體結構之長度為 19 至 30 個鹼基對。同理，該標靶序列互補區域的長度為 19 至 30 個核苷酸。

【0239】 於某些實施態樣中，dsRNA 之長度約為 19 至約 23 個核苷酸，或長度約為 25 至約 30 個核苷酸。通常，該 dsRNA 具有足夠之長度可作為切丁酶 (Dicer)之基質。例如，本技術領域所周知，長度超過約 21 至 23 個核苷酸的 dsRNA 可作為切丁酶之基質。如通常技術人員所能理解，靶向裂解之 RNA 區域通常為較大 RNA 分子之一部分，通常為 mRNA 分子。於相關情況下，mRNA 標靶之「部分」為 mRNA 標靶的連續序列，其具有足夠之長度使其成為 RNAi 導向裂解(即藉由 RISC 途徑裂解)之基質。

【0240】 本領域技術人員亦理解，雙螺旋區域為 dsRNA 之主要功能部分，例如，約 19 至約 30 個鹼基對 (例如，約 19 至 30、約 19 至 29、約 19 至 28、約 19 至 27、約 19 至 26、約 19 至 25、約 19 至 24、約 19 至 23、 19 至 22、19 至

21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、 21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22鹼基對)之雙鏈體區域。因此，於一實施態樣中，只要其係加工成功能性雙鏈體(例如，15至30個鹼基對)，靶向其欲進行裂解之RNA，RNA分子或具有大於30個鹼基對之雙鏈體區域的RNA分子的複合體即為 dsRNA。因此，該技術領域具通常知識人士將理解，於一實施態樣中，miRNA 為 dsRNA。於另一實施態樣中，dsRNA 非為天然存在之miRNA。於另一實施態樣中，可用於靶向 RBP4 基因表現之 iRNA 劑並非於標靶細胞中經由裂解較大的 dsRNA 所產生。

【0241】 本文中所述 dsRNA 可再包括一或多個單股核苷酸突出(例如，1至4、2至4、1至3、2至3、1、2、3或4個核苷酸)。與鈍端對應物相比，具有至少一個核苷酸突出之 dsRNA 可具有優異之抑制特性。核苷酸突出可包含或由核苷酸/核苷類似物組成，包括去氧核苷酸/核苷。突出可位於有義股、反義股或其任意組合。此外，突出的核苷酸可存於 dsRNA 之反義或有義股的 5'-端、3'-端或兩端。

【0242】 dsRNA 可藉由本領域已知的標準方法合成。本發明之雙股 RNAi 化合物可使用兩步驟之過程製備。首先，單獨製備雙股 RNA 分子之單股。而後將成分股低溫黏合。siRNA 化合物之單股可使用溶液相有機合成、固相有機合成、或兩者以製備。有機合成的優點為包含非天然或修飾之核苷酸的寡核苷酸鏈可以很容易地製備。同理，本發明之單股寡核苷酸可使用溶液相有機合成、固相有機合成、或兩者以製備。

【0243】 於一態樣中，本發明的 dsRNA 包括至少兩個核苷酸序列，一個有義序列及一反義序列。從表 2 至 3 任一者提供的序列組選擇該有義股，並且從表 2 至 3 任一者的序列組選擇該有義股之相應反義股。於此態樣中，兩個序列的一者與兩序列的另一者互補，其中一序列與 RBP4 基因表現中產生的 mRNA 序列實質上互補。因此，於此態樣中，dsRNA 將包括兩個寡核苷酸，其中一個寡核苷酸被描述為表 2 至 3 任一者之有義股，以及第二個寡核苷酸被描述為表 2 至 3 任一者之有義股之相應反義股。

【0244】 於某些實施態樣中，該 dsRNA 之實質上互補的序列包含於分開的寡核苷酸。於其他實施例中，該 dsRNA 的實質上互補的序列包含於單一寡核苷酸。

【0245】 應理解的是，儘管如表 3 中之序列未被描述為經修飾或接合序列，然本發明之 iRNA 的 RNA (例如，本發明之 dsRNA)可包含表 2 至 3 任一者列出之未經修飾、未接合、或與其中描述具有不同之經修飾或接合的任一序列。換句話說，本發明涵括如本文所述之表 2 至 3 的未經修飾、未接合、經修飾或接合的 dsRNA。

【0246】 如本領域技術人員所理解，具有約 20 至 23 個鹼基對 (例如，21 個鹼基對)之雙鏈體結構的 dsRNA 已被譽為於誘導 RNA 干擾方面特別有效 (Elbashir *et al.*,, EMBO 2001，20：6877-6888)。然而，較短或較長之 RNA 雙鏈體結構亦經由他人發現有效(Chu 和 Rana(2007) RNA 14：1714-1719；Kim *et al.*,。(2005) *Nat Biotech* 23：222-226)。於上述實施例中，由於表 2 至 3 任一者提供之寡核苷酸序列的性質，本文中描述之 dsRNA 可包括至少一條長度最小為 21 個核苷酸的股。可合理預期，與上述 dsRNA 相比之具有表 2 至 3 任一者之任一序

列減去一端或兩端的少數幾個核苷酸的較短雙鏈體可同等有效。因此，具有至少19、20 個或更多個衍生自表 2 至 3 任一者之任一序列之連續核苷酸序列的dsRNA，且其在抑制 RBP4 基因表現的能力上與包含完整序列之 dsRNA 的差異不超過約 5、10、15、20、25 或 30%，係被認為在本發明之保護範圍內。

【0247】 此外，表 2 至 3 中提供之 RNA 可識別 RBP4 轉錄本中易受 RISC 調節之裂解影響的位點。因此，本發明更具有 iRNA 靶向該位點中之一的特徵。如本文中所用，若 iRNA 促進轉錄本於該特定位點內任何地方之轉錄本的裂解，則稱該 iRNA 靶向 RNA 轉錄本之特定位點。此類 iRNA 通常包括來自表 2 至 3 任一者提供之任一序列中至少約 19 個連續核苷酸的序列，該序列接合至從 RBP4 基因中所選序列相鄰之區域獲取的其他核苷酸序列。

【0248】 III. 本發明的修飾 iRNA

【0249】 於特定實施態樣中，本發明之 iRNA 的 RNA (例如，dsRNA)係未修飾的，且不包含如本領域已知及本文中描述的化學修飾或接合。於其他實施態樣中，本發明之 iRNA 的 RNA(例如，dsRNA)係經化學修飾以增強穩定性或其它有益之特性。於本發明之特定實施態樣中，實質上本發明之 iRNA 的所有核苷酸皆被修飾。於本發明之其他實施態樣中，iRNA 之所有核苷酸或 iRNA 之實質上所有核苷酸皆被修飾，即不超過 5、4、3、2 或 1 個未修飾的核苷酸存在於該 iRNA 之股中。

【0250】 本發明特徵的核酸可以藉由本領域公認的方法合成或修飾，該方法於「Current protocols in nucleic acid chemistry」, Beaucage, S.L. *et al.*,. (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA)中揭示者，該文獻藉由引用而併入本文。修飾包括，舉例而言，末端修飾，例如，5'-端修飾(磷醯化、接合、反向

鏈結)或 3-端修飾(接合、DNA 核苷酸、反向鏈結等)；鹼基修飾，例如，置換為穩定化鹼基、去穩定化鹼基、或與配偶體(partner)之擴展組庫(expanded repertoire)進行鹼基對之鹼基，鹼基之移除(無鹼基之核苷酸)或接合之鹼基；糖修飾(例如，在 2'-位置或 4'-位置)或糖之置換；及/或主幹修飾，包括磷酸二酯類鏈結之修飾或置換。可用於本文所述具體實施例中之 iRNA 化合物之具體實例係包括，但不限於含有經修飾之主幹或不含天然核苷酸間鏈結之 RNA。除此之外，具有經修飾之主幹的 RNA 亦包括該些在主幹中不具有磷原子者。對於本說明書之目的，且如該領域中有時參照者，在其核苷酸間主幹中不具有磷原子的經修飾之 RNA 亦可視為寡核苷酸。於一些具體實施例中，經修飾之 RNA 將在其核苷酸間主幹中具有磷原子。

【0251】 經修飾之 RNA 主幹包括，舉例而言，具有正常 3'-5'鏈結之硫代磷酸酯類、手性硫代磷酸酯類、二硫代磷酸酯類、磷酸三酯類、胺基烷基磷酸三酯類、包括 3'-伸烷基磷酸酯類及手性磷酸酯類之甲基及其他烷基磷酸酯類、膦酸酯類、包括 3'-胺基磷醯胺化物及胺基烷基磷醯胺化物之磷醯胺化物、硫羰基磷醯胺化物類、硫羰基烷基磷酸酯類、硫羰基烷基磷酸三酯類、以及硼磷酸酯類；該些 2'-5'鏈結類似物；以及該些具有反向極性者，其中相鄰至核苷單元對係將 3'-5'鏈接至 5'-3'或將 2'-5'鏈接至 5'-2'。亦可包括多種鹽類、混合鹽類及游離酸形式。於本發明之某些實施態樣中，本發明之 dsRNA 劑為遊離酸形式。於本發明之其他實施例中，本發明之 dsRNA 劑為鹽形式。於一實施態樣中，本發明的 dsRNA 劑呈鈉鹽形式。於特定實施態樣中，當本發明之 dsRNA 劑以鈉鹽形式存在時，鈉離子作為反離子存在於劑中幾乎所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯基團。實質上所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯鍵具有鈉反離子的劑包括不超過 5、4、3、

2 或 1 個磷酸二酯和/或硫代磷酸酯鍵沒有鈉反離子。於某些實施態樣中，當本發明之 dsRNA 劑呈鈉鹽形式時，鈉離子作為劑中存在之所有磷酸二酯和/或硫代磷酸酯基團的反離子存在於劑中。

【0252】 教示上述含磷鏈結之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 3,687,808 號、第 4,469,863 號、第 4,476,301 號、第 5,023,243 號、第 5,177,195 號、第 5,188,897 號、第 5,264,423 號、第 5,276,019 號、第 5,278,302 號、第 5,286,717 號、第 5,321,131 號、第 5,399,676 號、第 5,405,939 號、第 5,453,496 號、第 5,455,233 號、第 5,466,677 號、第 5,476,925 號、第 5,519,126 號、第 5,536,821 號、第 5,541,316 號、第 5,550,111 號、第 5,563,253 號、第 5,571,799 號、第 5,587,361 號、第 5,625,050 號、第 6,028,188 號、第 6,124,445 號、第 6,160,109 號、第 6,169,170 號、第 6,172,209 號、第 6,239,265 號、第 6,277,603 號、第 6,326,199 號、第 6,346,614 號、第 6,444,423 號、第 6,531,590 號、第 6,534,639 號、第 6,608,035 號、第 6,683,167 號、第 6,858,715 號、第 6,867,294 號、第 6,878,805 號、第 7,015,315 號、第 7,041,816 號、第 7,273,933 號、第 7,321,029 號、及美國再公告專利第 39464 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0253】 其內部不包括磷原子之經修飾之 RNA 主幹具有藉由短鏈烷基或環烷基類核苷酸間鏈結、混合雜原子及烷基或環烷基核苷酸間鏈結、或一個或多個短鏈雜原子或雜環核苷酸間鏈結形成的主幹。此等包括彼等具有 N-嗎啉基鏈結(部分由核苷至糖部分形成)；矽氧烷主幹；硫醚、亞碸及碸主幹；甲醯基及硫代甲醯基主幹；亞甲基甲醯基及硫代甲醯基主幹；含有伸烷基之主幹；胺基磺酸酯主幹；亞甲基亞胺基及亞甲基肼基主幹；磺酸酯及磺醯胺主幹；醯胺主幹；以及其他具有混合之 N、O、S 及 CH2 組分部分者。

【0254】 教示上述寡核苷酸之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,034,506 號、第 5,166,315 號、第 5,185,444 號、第 5,214,134 號、第 5,216,141 號、第 5,235,033 號、第 5,64,562 號、第 5,264,564 號、第 5,405,938 號、第 5,434,257 號、第 5,466,677 號、第 5,470,967 號、第 5,489,677 號、第 5,541,307 號、第 5,561,225 號、第 5,596,086 號、第 5,602,240 號、第 5,608,046 號、第 5,610,289 號、第 5,618,704 號、第 5,623,070 號、第 5,663,312 號、第 5,633,360 號、第 5,677,437 號、及第 5,677,439 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0255】 於本文中，適宜之 RNA 模擬物係考慮用於 iRNA 中，其中該核苷酸單元之糖以及核苷酸間鏈結(即主幹)經置換為新穎基團。鹼基單元係保留與適宜之核酸標靶化合物雜交。一種此類寡聚化合物，業經顯示具有優異雜交特性之 RNA 模擬物，意指為肽核酸(PNA)。於 PNA 化合物中，RNA 之糖主幹替換為含有醯胺之主幹，尤其是胺基乙基甘油主幹。核酸鹼基得以保留，且直接或間接地鍵結至主幹之醯胺部分的氮雜氮原子。教示 PNA 化合物之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,539,082 號、第 5,714,331 號、及第 5,719,262 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。適用於本發明之 iRNA 中之額外之 PNA 化合物揭示於，舉例而言，Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500 中。

【0256】 本發明提出之一些具體實施例包括具有硫代磷酸酯主幹之 RNA 以及具有雜原子管之寡核苷酸，尤其是上文引用之美國專利第 5,489,677 號的--CH_2--NH--CH_2-、--CH_2--N(CH3)--O--CH_2-- [稱為亞甲基(甲基亞胺基)或 MMI 主幹]、--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--、--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2--及--N(CH_3)--CH_2-CH_2--，以及上文引用之美國專利第 5,602,240 號的醯胺主幹。於一些具體實施例

中，本文提出之 RNA 具有上文引用之美國專利第 5,034,506 號的嗎啉基主幹結構。天然磷酸二酯主幹表示為 O-P(O)(OH)-OCH2-。

【0257】 經修飾之 RNA 亦可含有一個或多個經取代之糖部分。本文提出之 iRNA 如 dsRNA 可包括位於 2'位置之下述之一者：OH；F；O-、S-或 N-烷基；O-、S-或 N-烯基；O-、S-或 N-炔基；或 O-烷基-O-烷基，其中該烷基、烯基及炔基可係經取代或未經取代之 C_1 至 C_{10} 烷基或 C_2 至 C_{10} 烯基及炔基。例示性之適宜修飾包括 $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$、$O(CH_2)_nOCH_3$、$O(CH_2)_nNH_2$、$O(CH_2)_nCH_3$、$O(CH_2)_nONH_2$、及 $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3)]_2$，其中 n 及 m 係從 1 至約 10。於其他具體實施例中，dsRNA 包括位於 2'位置之下述之一者：C_1 至 C_{10} 低級烷基、經取代之低級烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或 O-芳烷基、SH、SCH_3、OCN、Cl、Br、CN、CF_3、OCF_3、$SOCH_3$、SO2CH_3、ONO_2、NO_2、N_3、NH_2、雜環烷基、雜環烷基芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經取代之矽烷基、RNA 裂解基團、保護基團、嵌入劑、用於改善 iRNA 之藥物動力學特性之基團、或用於改善 iRNA 之藥效動力學特性之基團、以及其他具有類似特性之取代基。於一些具體實施例中，該修飾包括 2' 甲氧基乙氧基(2'-O--$CH_2CH_2OCH_3$，亦稱為 2'-O-(2-甲氧基乙基)或 2'-MOE) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78：486-504)，亦即，烷氧基-烷氧基基團。另一例示性修飾為 2'-二甲基胺基氧乙氧基，亦即，$O(CH_2)_2ON(CH_3)_2$ 基團，亦稱為 2'-DMAOE，如下文實施例中所述；以及 2'-二甲基胺基乙氧基乙氧基(該領域中亦稱為 2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基或 2'-DMAEOE)，亦即，2'-O--CH2--O--CH_2--$N(CH_3)_2$。進一步的示例性修飾包括：5'-Me-2'-F 核苷酸、5'-Me-2'-OMe 核苷酸、5'-Me-2'-去氧核苷酸(此三個家族中的 R 和 S 異構體)； 2'-烷氧基烷基；和 2'-NMA(N-甲基乙醯胺)

【0258】其他修飾包括 2'-甲氧基(2'-OCH3)、2'-胺基丙氧基(2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$)及 2'-氟(2'-F)。類似之修飾亦可在 iRNA 之 RNA 之其他位置作成，尤其是 3'端核苷酸之糖的 3' 位置或 2'-5'鏈結之 dsRNA 中以及 5'端核苷酸之 5'位置。iRNA 亦可具有替代呋喃戊糖基糖的糖模擬物如環丁基部分。教示此類經修飾之糖結構之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 4,981,957 號、第 5,118,800 號、第 5,319,080 號、第 5,359,044 號、第 5,393,878 號、第 5,446,137 號、第 5,466,786 號、第 5,514,785 號、第 5,519,134 號、第 5,567,811 號、第 5,576,427 號、第 5,591,722 號、第 5,597,909 號、第 5,610,300 號、第 5,627,053 號、第 5,639,873 號、第 5,646,265 號、第 5,658,873 號、第 5,670,633 號、及第 5,700,920 號，此等中之某些為本案所共有。前述者各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0259】iRNA 亦可包括核酸鹼基(該領域中一般簡稱為「鹼基」)修飾或取代。如本文中所用，「未經修飾」或「天然」核酸鹼基包括嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。經修飾之核酸鹼基包括其他合成及天然核酸鹼基，諸如去氧-胸腺嘧啶(dT)、5-甲基胞嘧啶(5-me-C)；5-羥甲基胞嘧啶；黃嘌呤；次黃嘌呤；2-胺基腺嘌呤；腺嘌呤及鳥嘌呤之 6-甲基及其他烷基衍生物；腺嘌呤及鳥嘌呤之 2-丙基及其他烷基衍生物；2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶、2-硫胞嘧啶；5-鹵尿嘧啶、5-鹵胞嘧啶；5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶；6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶；5-尿嘧啶(假尿嘧啶)；4-硫尿嘧啶；8-鹵、8-胺基、8-巯基、8-硫烷基、8-羥基及其他 8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤；5-鹵尤其是 5-溴、5-三氟甲基及其他 5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及 7-甲基腺嘌呤；8-氮雜鳥嘌呤及 8-氮雜腺嘌呤；7-去氮鳥嘌

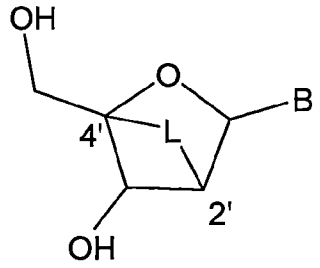
吟及 7-去氮腺嘌呤；以及 3-去氮鳥嘌呤及 3-去氮腺嘌呤。其他核酸鹼基包括該些揭露於美國專利第 3,687,808 號中者；該些揭露於《生物化學、生物技術及醫藥中之經修飾之核苷酸》(Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P.編. Wiley-VCH, 2008)中者；該些揭露於《聚合物科學及工程之簡明百科》(The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L,編. John Wiley & Sons, 1990)中者；該些由 Englisch *et al.*,., Angewandte Chemie, International Edition, 1991, 30, 613 揭露者；以及該些由《dsRNA 研究及應用》第 15 章第 289 至 302 頁(Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B.,編, CRC Press, 1993)揭露者。此等核酸鹼基中之某些尤其可用於增加本發明提出之寡聚化合物的結合親和性。此等包括 5-取代之嘧啶、6-氮雜嘧啶及 N-2、N-6 及 O-6 取代之嘌呤，包括 2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙基尿嘧啶及 5-丙基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代業經顯示將核酸雙螺旋穩定性增加 0.6 至 1.2°C(Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. 及 Lebleu, B., 編., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)且係示例性之鹼基取代，尤其是當與 2'-O-甲氧基乙基糖修飾合用時尤甚。

【0260】 教示某些上述經修飾之核酸鹼基以及其他經修飾之核酸鹼基的代表性美國專利包括但不限於，上述之美國專利第 3,687,808 號、第 4,845,205 號、第 5,130,30 號、第 5,134,066 號、第 5,175,273 號、第 5,367,066 號、第 5,432,272 號、第 5,457,187 號、第 5,459,255 號、第 5,484,908 號、第 5,502,177 號、第 5,525,711 號、第 5,552,540 號、第 5,587,469 號、第 5,594,121 號、第 5,596,091 號、第 5,614,617 號、第 5,681,941 號、第 5,750,692 號、第 6,015,886 號、第 6,147,200 號、第 6,166,197

號、第 6,222,025 號、第 6,235,887 號、第 6,380,368 號、第 6,528,640 號、第 6,639,062 號、第 6,617,438 號、第 7,045,610 號、第 7,427,672 號、及第 7,495,088 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0261】 於某些實施態樣中，本揭露之 RNAi 劑亦可被修飾為包括一或多個雙環糖部分。「雙環糖」是由兩個碳(無論相鄰或非相鄰)橋接形成之環修飾的呋喃糖基環。「雙環核苷」(BNA)是一種具有糖部分的核苷，其糖部分包括藉由橋接糖環的兩個碳(無論相鄰或非相鄰)而形成的環，從而形成雙環系統。於特定實施態樣中，該橋視需要地藉由 2'-無環氧原子連接糖環的 4'-碳和 2'-碳。因此，於某些實施態樣中，本發明之劑可包括一或多種鎖核酸(LNA)。鎖核酸為具有修飾核糖部分的核苷酸，其中該核糖部分包括額外之 2'和 4'碳橋接。換言之，LNA 為一種由包含 4'-CH_2-O-2'橋的雙環糖部分組成之核苷酸。該結構有效地將核糖「鎖定」在 3'-內結構構型中。在 siRNA 中添加鎖核酸已被證明可提高血清中的 siRNA 穩定性，並減少脫靶效應(Elmen, J. *et al.*,., (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*,., (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*,, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193)。用於本發明之多核苷酸的雙環核苷酸的實例包括但不限於包含 4′和 2′核糖基環原子之間橋接的核苷。於特定實施態樣中，本發明之反義多核苷酸劑包括一或多個包含 4′至 2′橋接的雙環核苷酸。

【0262】 鎖核苷可以結構表示(省略立體化學)，



【0263】 其中 B 為核鹼基或修飾之核鹼基，L 為將 2'-碳連接到核糖環之 4'-碳的連接基團。此類 4′至 2′橋接雙環核苷的例子包括但不限於 4′-(CH_2)—O-2′ (LNA); 4′-(CH_2)—S-2′; 4′-$(CH_2)_2$—O-2′ (ENA); 4′-CH(CH_3)—O-2′(也稱為「拘束乙基」或「cEt」)和 4′-CH(CH_2OCH_3)—O-2′(及其類似物；例如參見美國專利案 7,399,845)；4′-C$(CH_3)(CH_3)$—O-2′(及其類似物；例如參見美國專利案 8,278,283)；4′-CH_2—N(OCH_3)-2′(及其類似物；例如參見美國專利案 8,278,425)；4′-CH_2—O—N(CH3)-2′(例如參見美國專利公開號：2004/0171570)；4′-CH_2—N(R)—O-2′，其中 R 為 H、C1-C12 烷基或氮保護基(例如參見，美國專利案 7,427,672)；4′-CH_2—C(H)(CH3)-2′(例如參見，Chattopadhyaya *et al.*,., *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134)；和 4′-CH_2—C(=CH_2)-2′(及其類似物；例如參見，美國專利案 8,278,426)。上述各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0264】 教示鎖核酸核苷酸之製備的附加代表性美國專利及美國專利公開號包括但不限於下列者：美國專利第 6,268,490 號、第 6,525,191 號、第 6,670,461 號、第 6,770,748 號、第 6,794,499 號、第 6,998,484 號、第 7,053,207 號、第 7,034,133 號、第 7,084,125 號、第 7,399,845 號、第 7,427,672 號、第 7,569,686 號、第 7,741,457 號、第 8,022,193 號、第 8,030,467 號、第 8,278,425 號、第 8,278,426 號、第 8,278,283 號、美國專利公開號 US 2008/0039618；和 US 2009/0012281，其各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0265】 任何上述之雙環核苷皆可製備以具有一或多種立體化學糖構型，包括例如 α-L-核呋喃糖和 β-D-核糖呋喃糖(參見專利案 WO 99/14226)。

【0266】 該 iRNA 之 RNA 亦可被修飾以包括一或多個拘束之乙基核苷酸。如本文中所用，「拘束之乙基核苷酸」或「cEt」為包含包含 4'-CH(CH_3)-O-2'橋接(即前述結構中的 L)之雙環糖部分的鎖核酸。於一實施態樣中，約束之乙基核苷酸在本文中稱為「S-cEt」的 S 構型。

【0267】 本發明的 iRNA 可亦包括一或多個「構型限制之核苷酸」(「CRN」)。CRN 為核苷酸類似物，其連接子連接核糖之 C2'和 C4'碳或核糖的 C3 和-C5'碳。CRN 將核糖環鎖定為穩定的構型，並增加與 mRNA 的雜交親和力。該連接子之長度足以將氧氣置於最佳位置，以實現穩定性和親和力，從而減少核糖環縮攏(puckering)。

【0268】 教示上述某些 CRN 之製備的代表性專利包括但不限於美國專利公開號：2013/0190383、及 PCT 公開號 WO 2013/036868，其各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0269】 於某些實施態樣中，本發明之 iRNA 包括一或多種 UNA(未鎖核酸)核苷酸單體。UNA 為未鎖之無環核酸，其中糖之任何鍵結皆被移除，形成未鎖的「糖」殘基。於一實例中，UNA 亦包括在 C1'至 C4'之間鍵結(即 C1'和 C4'碳之間的共價碳 - 氧 - 碳鍵)已被去除的單體。於另一實例中，糖之 C2'-C3'鍵(即 C2'和 C3'碳之間的共價碳-碳鍵)已被去除(參見 引用併入本文之 *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008)及 Fluiter*et al.*,., *Mol. Biosyst.*, 2009, 10, 1039)。

【0270】 教示 UNA 之製備的代表性美國專利公開號包括但不限於美國專利第 8,314,227 號、和美國專利公開號 2013/0096289、2013/0011922；和 2011/0313020，其各者之整體內容藉由引用併入本文。

【0271】 對 RNA 分子末端之潛在穩定修飾可包括 N-(乙醯胺基己醯基)-4-羥脯醇(Hyp-C6-NHAc)、N-(己醯基)-4-羥脯醇 (Hyp-C6)、N-(乙醯基-4-羥基脯胺酸醇(Hyp-NHAc)、胸苷-2'-O-去氧胸苷(醚)，N-(胺基己醯基)-4-羥基脯胺酸醇(Hyp-C6-胺基)、2-二十二烷醯基尿苷-3'-磷酸、倒置的 dT(idT)及其他等。此類修飾之揭露可參見專利案 WO 2011/005861 中。

【0272】 本發明之 iRNA 核苷酸的其它修飾包括 5'磷酸鹽或 5'磷酸鹽類似物，例如，iRNA 之反義股的 5'-末端磷酸鹽或磷酸鹽類似物。適宜之磷酸鹽類似物係揭露於例如美國專利公開號 2012/0157511 中，其整體內容藉由引用併入本文。

【0273】 A. 包含本發明模體之修飾 iRNA

【0274】 於本發明之特定態樣中，本發明之雙股 RNA 劑包括如所揭露之具有化學修飾的劑，例如，在 WO2013/075035 中，其整體內容藉由引用併入本文。如本文和 WO2013/075035 所示，在三個連續核苷酸具有三個相同修飾之一個或多個模體可引入 dsRNAi 劑之有義股或反義股中，特別是在裂解位點或附近。於某些實施態樣中，dsRNAi 劑之有義股和反義股可以別樣方式被完全修飾。引入這些模體干擾了有義或反義股之修飾模式(若存在)。該 dsRNAi 劑可視需要與 GalNAc 衍生配體接合，例如於有義股。

【0275】更具體地說，當雙股 RNA 劑之有義股和反義股被完全修飾為在 dsRNAi 劑之至少一股的裂解位點或附近在三個連續核苷酸具有三個相同修飾的一或多個模體時，係觀察到該 dsRNAi 劑的基因沉默活性。

【0276】因此，本發明提供了能夠在體內抑制靶基因(即 RBP4 基因)表現的雙股 RNA 劑。該 RNAi 劑包括有義股和反義股。該 RNAi 劑之每一股的長度可例如為 17 至 30 個核苷酸、25 至 30 個核苷酸、27 至 30 個核苷酸、19 至 25 個核苷酸、19 至 23 個核苷 酸、19 至 21 個核苷 酸、21 至 25 個核苷酸或 21 至 23 個核苷酸。

【0277】該有義股和反義股通常形成雙鏈體之雙股 RNA(「dsRNA」)，在本文中也稱為「dsRNAi 劑」。該 dsRNAi 劑之雙鏈體區域可為，例如，該雙鏈體區域之長度可為 27 至 30 個核苷酸對、19 至 25 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 25 個核苷酸對、19 至 23 個核苷酸對、19 至 23 個核酸對、19 至 21 個核苷酸對、21 至 25 個核苷酸對或 21 至 23 個核苷酸對。於另一實例中，該雙鏈體區域之長度係從 19、20、21、22、23、24、25、26 和 27 個核苷酸中選擇。

【0278】於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑可在一股或雙股之 3'-端、5'-端或兩端包含一或多個突出區域或封帽基團。該突出之長度可獨立地為 1 至 6 個核苷酸 (例如 2 至 6 個核苷酸)、1 至 5 個核苷酸、2 至 5 個核苷酸、1 至 4 個核苷酸、2 至 4 個核苷酸、1 至 3 個核苷酸、2 至 3 個核苷酸或 1 至 2 個核苷酸。於特定實施態樣中，該突出區域可包括如上述提供之擴展突出區域。該突出可為一股較之另一股長的結果，也可為相同長度之兩股交錯的結果。該突出可與標靶

mRNA 形成錯配，或可與被靶向之基因序列互補，或可為另一個序列。該第一股與第二股亦可連接於彼此，例如，藉由額外之鹼基以形成髮夾(hairpin)，或藉由其他非鹼基連接子。

【0279】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之突出區域中的核苷酸獨立地可經修飾或未修飾，包括但不限於 2'-糖修飾，例如，2'-F、2'-O-甲基、胸苷(T)、2'-O-甲 氧基乙基-5-甲基尿苷(Teo)、2'-O-甲氧基乙基腺苷(Aeo)、2'-O-甲氧基乙基-5-甲基胞嘧啶(m5Ceo)、及其任意之組合。

【0280】 例如，TT 可為任一股任一端之突出序列。該突出可與標靶 mRNA 形成錯配，或它可與被靶向的基因序列互補，或可為另一個序列。

【0281】 該 dsRNAi 劑之有義股、反義股或兩股之 5'- 或 3'- 突出可被磷酸化。於某些實施態樣中，該突出區域含有兩個核苷酸，在該兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯，其中該兩個核苷酸可相同或不同。於某些實施態樣中，該突出存在於有義股、反義股或兩股之 3'-端。於某些實施態樣中，此類 3'-突出存在於反義股。於某些實施態樣中，此類 3'-突出存在於有義股。

【0282】 該 dsRNAi 劑可只含有單個突出，以增強該 RNAi 的干擾活性而不會影響其整體穩定性。例如，該單股突出可位於有義股之 3'-端，或位於反義股之 3'-端。該 RNAi 也可能具有鈍端，位於反義股之 5'-端(即有義股的 3'-端)，反之亦然。通常，該 dsRNAi 劑之反義股在 3"-端具有核苷酸突出，且在 5"-端具有鈍端。不欲受縛於理論，反義股 5'-端之不對稱鈍端和反義股之 3'-端突出有利於該引導股載入到 RISC 過程中。

【0283】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 19 個核苷酸，其中該有義股在自 5'端位置 7、8、9 的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少

一個模體。該反義股在自 5'端位置 11、12 及 13 的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0284】 於其他實施例中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 20 個核苷酸，其中該有義股在自 5'端位置 8、9 及 10 的三個連續核苷酸含有三個 2'-F 修飾的至少一個模體。該反義股在自 5'端位置 11、12 及 13 的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0285】 於又一其它實施例中，該 dsRNAi 劑為雙鈍端且長度為 21 個核苷酸，其中該有義股在自 5'端位置 9、10 及 11 的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少一個模體。該反義股在自 5'端位置 11、12 及 13 的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0286】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑包括 21 核苷酸之有義股和 23 核苷酸之反義股，其中該有義股在自 5'端位置 9、10 及 11 的三個連續核苷酸含有 2'-F 修飾的至少一個模體；該反義股在自 5'端位置 11、12 及 13 的三個連續核苷酸含有 2'-O-甲基修飾的至少一個模體，其中該 RNAi 劑之一端為鈍端，而另一端包括 2 個核苷酸突出。於一實施態樣中，該 2 個核苷酸突出位於該反義股之 3'-端。

【0287】 當該 2 個核苷酸突出位於反義股之 3'-端時，該末端三個核苷酸之間可能存在兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結，其中該三個核苷酸中兩者為突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁之配對核苷酸。於一實施態樣中，該 RNAi 劑在有義股之 5'-端和反義股之 5'-端的三個末端核苷酸之間另外具有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結。於特定實施態樣中，該 dsRNAi 劑之有義股及反義股之每核苷酸股，包括作為模體一部分之核苷酸，皆為經修飾之核苷酸。於某些實施態樣中，每個

殘基獨立地經修飾以 2'-O-甲基或 3'-氟，例如，在替換的模體中。視需要地，該 dsRNAi 劑復包括配體(諸如 GalNAc3)。

【0288】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑包括有義股和反義股，其中該有義股之長度為 25 至 30 個核苷酸殘基，其中從 5'末端核苷酸(位置 1)開始，第一股位置 1 至 23 包含至少 8 個核糖核苷酸；該反義股之長度為 36 至 66 個核苷酸殘基，從 3'末端核苷酸開始，在與有義股位置 1 至 23 配對的位置包含至少 8 個核糖核苷酸以形成雙鏈體；其中，該反義股之至少 3'末端核苷酸與有義股不配對，且至多 6 個連續的 3'末端核苷酸與有義股不配對，從而形成 1 至 6 個核苷酸的 3'單股突出；其中，該反義股之 5'末端包括 10 至 30 個與有義股不配對之連續核苷酸，從而形成 10 至 30 個核苷酸單股 5'突出；其中，當有義股和反義股對齊以實現最大互補性時，至少該有義股之 5'末端和 3'末端核苷酸與反義股之核苷酸鹼基配對，從而在有義股和反義股之間形成實質上為雙鏈體之區域；且反義股與靶 RNA 沿反義股之至少 19 個核糖核苷酸的長度實質上互補，以降低該雙鏈體核酸被引入哺乳動物細胞時的靶基因表現；其中，該有義股在三個連續的核苷酸含有三個 2'-F 修飾的至少一個模體，其中至少一個模體出現在裂解位點或附近。該反義股在裂解位點或附近的三個連續核苷酸含有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體。

【0289】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑包括有義股和反義股，其中該 dsRNAi 劑包括具有至少 25 和最多 29 個核苷酸長度之第一股和具有最多 30 個核苷酸長度之第二股，該第二股具有自 5'端位置 11、12、13 處的三個連續核苷酸具有三個 2'-O-甲基修飾的至少一個模體；其中，該第一股之 3'端和第二股的 5'端形成鈍端，且該第二股在其 3'端比第一股長 1 至 4 個核苷酸，其中該雙旋體

區域之長度至少為 25 個核苷酸，且該第二股與標靶 RNA 沿該第二股長度之至少 19 個核苷酸實質上互補，以於該 RNAi 劑引入哺乳動物細胞時降低靶基因表現，且其中該 dsRNAi 劑之切丁酶進行裂解，形成包含該第二股 3'端之 siRNA，從而降低哺乳動物中靶基因的表現。視需要地，該 dsRNAi 劑復包括配體。

【0290】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之有義股在三個連續的核苷酸含有三個相同修飾的至少一個模體，其中一個模體出現在有義股的裂解位點。

【0291】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之反義股還可在三個連續的核苷酸含有相同修飾的至少一個模體，其中一個模體出現在反義股的裂解位點或附近。

【0292】 對於具有 19 至 23 個核苷酸長度之雙鏈體區域的 dsRNAi 劑，該反義股之裂解位點通常位於從 5'端的 10、11 和 12 位置周圍。因此，三個相同修飾之模體可能發生在反義股之位置 9、10、11；位置 10、11、12；位置 11、12、13；位置 12、13、14；或位置 13、14、15，該計數從反義股 5'-端的第一個核苷酸開始或該計數從反義股 5'-端之雙鏈體區域內的第一個成對核苷酸開始。該反義股中的裂解位點也可能根據從 5'-端之該 dsRNAi 劑的雙鏈體長度發生改變。

【0293】 該 dsRNAi 劑之有義股可在該股之裂解位點的三個連續核苷酸含有相同修飾的至少一個模體；且該反義股可在該股之裂解位點或附近在三個連續的核苷酸具有相同修飾的至少一個模體。當該有義股和該反義股形成 dsRNA 雙鏈體時，該有義股和反義股可就此對齊，以至於該有義股三個核苷酸的一個模體和該反義股三個核苷酸的一個模體具有至少一個核苷酸重疊，即，該有義股中模體之三個核苷酸中的至少一個與該反義股中模體的三個核苷酸中的至少一個形成鹼基對。或者，至少兩個核苷酸重疊，或所有三個核苷酸重疊。

【0294】 於一些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之有義股可含有三個連續核苷酸三個相同修飾的多個模體。第一個模體可出現在該股之裂解位點或附近，且其他模體可能為側翼修飾。術語「側翼修飾」在本文中是指發生在該股之另一部分的模體，該模體在同一股之裂解位點或附近與模體分離。側翼修飾要麼與第一個模體相鄰，要麼被至少一或多個核苷酸分開。當模體彼此緊鄰時，模體的化學成分彼此不同，且當模體被一或多個核苷酸分開時，其化學成分可相同或不同。可能存在兩個或多個側翼修飾。例如，當存在兩個側翼修飾時，每個側翼修飾皆可能出現在相對於第一個模體的一端，該模體位於或靠近裂解位點或領導模體的任一側。

【0295】 與有義股一樣，該 dsRNAi 劑之反義股可能在三個連續的核苷酸包含三個相同修飾的多個模體，其中至少一個模體出現在該股之裂解位點或附近。此反義股亦可含有一或多個側翼修飾，其對齊方式類似於有義股可能存在之側翼修飾。

【0296】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之有義股或反義股的側翼修飾通常不包括在的 3'-端、5 股'-端或兩端之最前一個或最前兩個末端核苷酸。

【0297】 於其他實施例中，該 dsRNAi 劑之有義股或反義股的側翼修飾通常不包括在股的 3'-端、5'-端或兩端之雙鏈體區域內的最前一個或最前兩個配對核苷酸。

【0298】 當該 dsRNAi 劑之有義股和反義股各自含有至少一個側翼修飾時，該側翼修飾可能落在該雙鏈體區域之同一端，且具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊。

【0299】 當該 dsRNAi 劑之有義股和反義股各自含有至少兩個側翼修飾時，該有義股和該反義股可就此對齊，使來自一股之兩個修飾分別落在該雙鏈體區域之一端，並具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊；來自一股之兩個修飾分別落在該雙鏈體之另一端，並具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊；一股之兩個修飾落在領導模體之每一側，在該雙鏈體區域具有一個、兩個或三個核苷酸的重疊。

【0300】 於一些實施態樣中，該 dsRNAi 劑之有義股與反義股的每一個核苷酸，包括作為模體一部分之核苷酸皆可經修飾。每個核苷酸具有相同或不同之修飾，可包括對一或兩個非連接磷酸氧或一或多個連接磷酸氧的一種或多種改換；核糖成分之改換，例如，核糖之 2′-羥基；用「去磷酸」連接子大規模改換磷酸部分；修飾或取代天然存在之鹼基；以及核糖 - 磷酸主鏈之取代或修飾。

【0301】 由於核酸為次單元之聚合物，因此許多修飾出現於核酸中重複的位置，例如，鹼基之修飾，或磷酸鹽部分之修飾，或磷酸鹽部分之非連接氧。在某些情況下，修飾將出現在核酸中的所有主要位置，但在許多情況下不會發生。作為示例，修飾可能僅出現於 3'或 5'的末端位置、可能僅出現在末端區域，例如，在末端核苷酸之一個位置或一股之最後 2、3、4、5 或 10 個核苷酸中。修飾可能出現於雙股區域、單鏈區域或兩者中。修飾可能僅出現於 RNA 之雙股區域，也可能僅出現在 RNA 之單股區域。例如，在非連接氧位置之硫代磷酸酯修飾可能僅出現在一或兩個末端，可能僅出現在末端區域，例如，在末端核苷酸之一個位置或一股之最後 2、3、4、5 或 10 個核苷酸中，或可能出現在雙股和單股區域，尤其是在終端。5'-端或多個端可以磷酸化。

【0302】 為了例如增強穩定性，可以在突出中包括特定的鹼基，或在單股突出(例如，在 5'-或 3'-突出中，或兩者兼而有之)中包括修飾之核苷酸或核苷酸替代物。例如，可在突出包括嘌呤核苷酸。於某些實施態樣中，3'-或 5'-突出的全部或部分鹼基可經修飾，例如，以本文所述之修飾。修飾可包括，例如，在核糖之 2'位置使用本領域已知的修飾 (例如，使用去氧核糖核苷酸、2'-去氧-2'-氟(2'-F)或 2'-O-甲基修飾代替核鹼基的核糖)，以及磷酸基團的修飾，例如，硫代磷酸酯修飾。突出不必與靶序列同源。

【0303】 於一些實施態樣中，該有義股與反義股之每個殘基均獨立地以 LNA、CRN、cET、UNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-去氧、2'-羥基或 2'-氟獨立修飾。該股可含有多個修飾。於一實施態樣中，該有義股和反義股之每個殘基均獨立地以 2'-O-甲基或 2'-氟修飾。

【0304】 該有義股和該反義股通常至少存在兩種不同的修飾。此兩種修飾可為 2'-O-甲基或 2'-氟修飾，或者其他修飾。

【0305】 於某些實施態樣中，N_a 或 N_b 包括改換模式之修飾。本文中使用之術語「交替模體」是指具有一或多種修飾之模體，每種修飾出現於一股之交替核苷酸。改換核苷酸可指每隔一個核苷酸一個或每三個核苷酸一個，或類似的模式。例如，如果 A、B 和 C 各自代表一種類型的核苷酸修飾，則交替模體可為「ABABABABABAB...」、「AABBAABBAABB...」、「AABAABAABAAB...」、「AAABAABAAAB...」、「AAABBBAAAB...」或「ABCABCABCABC...」等。

【0306】 交替模體中含有之修飾類型可相同或不同。例如，如果 A、B、C、D 各自代表核苷酸之一種修飾類型，則交替模式 (即對每隔幾個核苷酸的修

飾)，可為相同的，但每個有義股或反義股皆可從改換模體內的幾種修飾可能中選擇，例如「ABABAB...」、「ACACAC...」、「BDBDBD...」或「CDCDCD...」等 。

【0307】 於一些實施態樣中，本發明之 dsRNAi 劑包括於該有義股交替模體之修飾圖案相對於該反義股交替模體之修飾圖案具有偏移。此類偏移可能是這樣的，即該有義股之核苷酸修飾基團對應於該反義股之核苷酸的不同修飾基團，反之亦然。例如，當與該 dsRNA 雙鏈體中的反義股配對時，該有義股中的交替模體可能自該股之 5'到 3'以「ABABAB」開頭，該反義股中的交替模體可能自該雙鏈體區域該股之 5'到 3'以「BABABA」開頭。作為另一實例，該有義股中之交替模體可自該股之 5'到 3'以「AABBAABB」開頭，而該反義股中的交替模體可自該雙鏈體區域中該股之 5'到 3'以「BBAABBAA」開頭，因此在該有義股和該反義股之間存在完全或部分偏移的修飾模式。

【0308】 於一些實施態樣中，該 dsRNAi 劑包括該起始於該有義股具有 2'-O-甲基修飾和 2'-F 修飾之交替模體的模式相對於起始於該反義股具有 2'-O-甲基修飾和 2'-F 修飾之交替模體的模式具有偏移，即該有義股 2'-O-甲基修飾之核苷酸與該反義股 2'-F 修飾之核苷酸鹼基配對，反之亦然。該有義股之位置 1 可自 2'-F 修飾開始，該反義股之位置 1 可自 2'-O-甲基修飾開始。

【0309】 在該有義股或該反義股的三個連續的核苷酸引入一或多個相同修飾之模體干擾該有義股或該反義股存在的初始修飾模式。藉由將三個連續核苷酸之三個相同修飾的一或多個模體引入該有義股或該反義股的修飾模式，此類干擾可以增強對靶基因的基因沉默活性。

【0310】 於某些實施態樣中，當將三個連續核苷酸之三個相同修飾的模體引入任何一股時，該模體旁之核苷酸修飾與該模體之修飾不同。例如，包含模體之序列部分為「...N_aYYYN_b...」，其中「Y」表示在三個連續核苷酸之三個相同修飾之模體的修飾，「N_a」和「N_b」表示位於模體「YYY」旁之核苷酸的修飾，其中該修飾與 Y 的修飾不同，且 N_a 和 N_b 可為相同或不同的修飾。或者，當存在側翼修飾時，N_a 或 N_b 可存在或不存在。

【0311】 該 iRNA 可復包含至少一種硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間鏈結。該硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間鏈結修飾可能出現於有義股、反義股或兩股之任何位置的任何核苷酸。例如，該核苷酸間鏈結修飾可能出現於有義股或反義股的每個核苷酸；每個核苷酸間鏈結修飾可以交替模式出現於有義股或反義股；或者有義股或反義股可以交替模式包含兩種核苷酸間鏈結修飾。該有義股核苷酸間鏈結修飾之交替模式可能與該反義股相同或不同，且該有義股核苷酸間鏈結修飾之交替模式可能相對於該反義股的核苷酸間鏈結修飾之交替模式具有偏移。於一實施態樣中，該雙股 RNAi 劑包含 6 至 8 個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結。於某些實施態樣中，該反義股包括兩個位於 5'-端的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結和位於 3'-端的兩個硫代磷酸體核苷酸間鏈結，且該有義股於 5'-端或 3'-端包含至少兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結。

【0312】 於一些實施態樣中，dsRNAi 劑包括在突出區域中的硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間鏈結修飾。例如，該突出區域可含有兩個核苷酸，該兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽的核苷酸間鏈結。還可以進行核苷酸間鏈結修飾，以將突出核苷酸與雙鏈體區域內的末端成對核苷酸連接起來。例如，至少 2、3、4 或所有突出核苷酸可以藉由硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸間

鏈結連接，且視需要地，可有額外的硫代磷酸酯或甲基膦酸鹽核苷酸核苷酸間鏈結將該突出核苷酸與該突出核苷酸旁的成對核苷酸連接起來。例如，在末端三個核苷酸之間可能存在至少兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結連接，其中該三個核苷酸中之兩者為突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁的成對核苷酸。此些末端三個核苷酸可位在反義股的 3'-端、有義股的 3'-端、反義股的 5'-端或有義股的 5'-端。

【0313】 於一些實施態樣中，該 2-核苷酸突出位於反義股之 3'端，且在該三個核苷酸末端之間有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結，其中該三個核苷酸中之兩者為突出核苷酸，第三者為突出核苷酸旁的成對核苷酸。視需要地，該 dsRNAi 劑還可在該有義股之 5'端和反義股 之 5'端的三個核苷酸末端之間具有兩個硫代磷酸鹽核苷酸間鏈結。

【0314】 於一實施態樣中，該 dsRNAi 劑包括與標靶、雙旋體內或其組合之錯配。該錯配可能出現於該突出區域或雙鏈體區域。該鹼基對可根據其促進解離或熔化的傾向進行排名(例如，關於特定配對之鍵結或解離之自由能，最簡單之方法是在單個對的基礎上檢查對，儘管也可使用近鄰分析(next neighbor analysis)或類似的分析)。在促進解離方面：A：U 較佳於 G：C、G：U 較佳於 G：C、且 I：C 較佳於 G：C(I=肌苷)。錯配 (例如，非標準或非標準配對(如本文其他地方所述)) 較佳於標準(A：T，A：U，G：C)配對；且包含通用鹼基之配對較佳於標準配對。

【0315】 於某些實施態樣中，該 dsRNAi 劑於自反義股 5'端之雙鏈體區域中包含第 1、2、3、4 或第 5 個鹼基對之至少一者且獨立地選自 A：U、G：U、I：C 及錯配，例如，非標準或非標準配對或包含通用鹼基之配對，以促進雙鏈體 5'端之反義股的解離。

【0316】 於某些實施態樣中，自反義股之的 5'-端之雙鏈體區域中之位置 1 的核苷酸係選自 A、dA、dU、U 和 dT。或者，於該雙鏈體區域中自反義股 5'-端起算之雙鏈體區域中第 1、2 或第 3 個鹼基對中至少有一個是 AU 鹼基對。例如，自反義股 5'端之雙鏈體區域中的第一個鹼基對為 AU 鹼基對。

【0317】 於其他實施態樣中，該有義股 3'端之核苷酸為去氧胸苷(dT)，或該反義股 3'端之核苷酸為去氧胸苷(dT)。例如，有去氧胸苷核苷酸之短序列，例如，於該有義股、該反義股或兩股之 3'端具有兩個 dT 核苷酸。

【0318】 於某些實施態樣中，該有義股之序列可用式(I)表示：

$$5'\ n_p\text{-}N_a\text{-}(X\,X\,X)i\text{-}N_b\text{-}Y\,Y\,Y\text{-}N_b\text{-}(Z\,Z\,Z)_j\text{-}N_a\text{-}n_q\ 3' \qquad (I)$$

其中：

i 和 j 各自獨立為 0 或 1；

p 和 q 各自獨立為 0 至 6；

每個 Na 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 25 個修飾的核苷酸，每個序列包含至少兩個不同的修飾之核苷酸；

每個 Nb 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10 個修飾的核苷酸；

每個 np 和 nq 獨立地代表一個突出核苷酸；

其中 Nb 和 Y 不具有相同的修飾；且

XXX、YYY 和 ZZZ 各自獨立地代表三個連續核苷酸的三個相同修飾之模體。於一實施態樣中，YYY 為所有 2'-F 修飾的核苷酸。

【0319】 於一些實施態樣中，N_a 或 N_b 包括交替模式之修飾。

【0320】 於一些實施態樣中，YYY 模體出現於該有義股之裂解位點或附近。例如，當該 dsRNAi 劑具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙鏈體區域時，YYY

模體可出現於有義股之裂解位點或附近(例如：可出現於位置 6、7、8；7、8、9；8、9、10；9、10、11；10、11、12；或 11、12、13 的位置)，計數自 5'-端第一個核苷酸開始；或視需要地，計數自 5'-端雙鏈體區域內的第一個配對核苷酸開始。

【0321】 於一實施態樣中，i 為 1 且 j 為 0、或 i 為 0 且 j 為 1、或者 i 和 j 均為 1。因此，該有義股可用以下公式表示：

5' n_p-N_a-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3'(Ib)；

5' n_p-Na-XXX-N_b-YYY-N_a-n_q 3' (Ic)；或

5' n_p-Na-XXX-N_b-YYY-N_b-ZZZ-N_a-n_q 3' (Id)。

當該有義股由式(Ib)表示時，N_b 表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個 N_a 可獨立地表示一個包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個經修飾之核苷酸寡核苷酸序列。

【0322】 當該有義股由式(Ic)表示時，N_b 表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個 N_a 可獨立地表示一個包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個經修飾之寡核苷酸序列。

【0323】 當有義股由式(Id)表示時，每個 N_b 獨立地表示一個包括 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。於一實施態樣中，N_b 為 0、1、2、3、4、5 或 6，每個 Na 可獨立地表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0324】 X、Y 和 Z 中之各者可彼此相同或不同。

【0325】 在其它實施例中，i 為 0 且 j 為 0，且該有義股可用以下公式表示：

5' n_p-N_a-YYY- N_a-n_q 3' (Ia)。

當該有義股由式(Ia)表示時，每個 N_a 可獨立地表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0326】 於一實施態樣中，該 RNAi 的反義股序列可以用式(II)表示：

5' $n_{q'}$-N_a'-$(Z'Z'Z')_k$-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-$(X'X'X')_l$-N'_a-$n_{p'}$ 3'(II)

其中：

k 和 l 各自獨立為 0 或 1；

p' 和 q' 各自獨立為 0-6；

每個 N_a 獨立地代表一個包括 0 至 25 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列，每個序列包含至少兩個不同之修飾的核苷酸；

每個 N_b 獨立地代表一個包括 0 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列；

每個 n_p 和 n_q 獨立地代表一個突出核苷酸；

其中 N_b 和 Y' 不具有相同的修改；以及

X'X'X'、Y'Y'Y' 和 Z'Z'Z' 各自獨立地表示三個連續核苷酸之三個相同修飾的模體。

【0327】 於某些實施態樣中，N_a 或 N_b 包括交替模式之修飾。

【0328】 Y'Y'Y' 模體出現於該反義股之裂解位點或附近。例如，當該 dsRNAi 劑具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙旋體區域時，Y'Y'Y' 模體可出現在該反義股之位置 9、10、11；10、11、12；11、12、13；12、13、14；或 13、14、15，計數從 5'-端第一個核苷酸開始；或視需要地，計數從該雙鏈體區域內 5'-端之第一個成對核苷酸開始。於一實施態樣中，Y'Y'Y' 模體出現在位置 11、12、13。

【0329】在某些實施態樣中，Y'Y'Y'模體皆為經 2'-OMe 修飾的核苷酸。

【0330】在某些實施態樣中，k 為 1 且 l 為 0，或 k 為 0 且 l 為 1，或 k 和 l 均為 1。

【0331】因此，該反義股可用以下公式表示：

5' n_q'-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_p' 3'　　(IIb)；

5' n_q'-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'-n_p' 3' (IIc)；

5' n_q'-N_a'- Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'- X'X'X'-N_a'-n_p' 3'(IId)。

當反義股由式(IIb)表示時，N_b' 表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0-2 或 0 修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個 N_a'獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0332】當反義股表示為式(IIc)時，N_b'表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。每個 N_a'獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0333】當反義股表示為式(IId)時，每個 N_b'獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個修飾的核苷酸。每個 N_a'獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。於一實施態樣中，N_b 為 0、1、2、3、4、5 或 6。

【0334】在其它實施態樣中，k 為 0，l 為 0，反義股可以用以下式表示：

5' $n_{p'}$-$N_{a'}$-Y'Y'Y'- $N_{a'}$-$n_{q'}$ 3' (Ia)。

【0335】當反義股表示為式(IIa)時，每個 $N_{a'}$獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0336】 X′、Y′ 和 Z′ 中的每一個都可以彼此相同或不同。

【0337】 有義股和反義股的每個核苷酸可以用 LNA、CRN、UNA、cEt、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羥基或 2'-氟獨立修飾。例如，有義股和反義股的每個核苷酸都用 2'-O-甲基或 2'-氟獨立修飾。特別是，每個 X，Y，Z，X′，Y′和 Z′可以代表 2'-O-甲基修飾或 2'-氟修飾。

【0338】 於一些實施態樣中，dsRNAi 劑的有義股可以含有 YYY 模體，當雙鏈體區域為 21 nt 時，出現在股的 9、10 和 11 位置，計數從第一核苷酸開始，從 5'-端開始，或者視需要地，從雙鏈體區域內的第一對核苷酸開始計數，從 5'-端開始；和 Y 表示 2'-F 修改。有義股可能另外包含 XXX 模體或 ZZZ 模體作為雙鏈體區域另一端的側翼修飾；和 XXX 和 ZZZ 各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0339】 於一些實施態樣中，反義股可含有 Y'Y'Y'模體，該模體出現在股的位置 11、12、13，該計數從第一核苷酸開始，從 5'-末端開始，或者視需要地，該計數從雙鏈體區域內的第一對核苷酸開始，從 5'-末端開始；以及 Y′代表 2'-O-甲基修飾。反義股可能另外含有 X'X'X'模體或 Z'Z'Z'模體作為雙鏈體區域另一端的側翼修飾；和 X′X′X′ 和 Z′Z′Z′ 各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0340】 由上述任何一式 (Ia)、(Ib)、(Ic) 和 (Id) 表示的有義股，與反義股分別由任何一個公式 (IIa)、(IIb)、(IIc) 和 (IId) 表示的反義股形成雙鏈體。

【0341】 因此，用於本發明方法的 dsRNAi 劑可包括有義股和反義股，每股具有 14 至 30 個核苷酸，iRNA 雙鏈體由式(III)表示：

有義： 5' n_p -N_a-(X X X)$_i$ -N_b- Y Y Y -N_b -(Z Z Z)$_j$-N_a-n_q 3'

反義： 3' $n_{p'}$-N_a'-(X'X'X')$_k$-N_b'-Y'Y'-N_b'-(Z'Z'Z')$_l$-N_a'-n_q' 5'

(III)

其中：

i、j、k 和 l 各自獨立為 0 或 1；

p、p′、q 和 q′ 各自獨立地為 0-6；

每個 N_a 和 N_a' 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 25 個修飾的核苷酸，每個序列包含至少兩個不同的修飾之核苷酸；

每個 N_b 和 N_b' 獨立代表一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10 個修飾的核苷酸；

其中，每個 n_p'、n_p,、n_q'和 n_q,可能存在也可能不存在，獨立地代表一個突出核苷酸；

XXX、YYY、ZZZ、X′X′X′、Y′Y′Y′和 Z′Z′各自獨立地表示三個連續核苷酸之三個相同修飾的一個模體。

【0342】在一個實施態樣中，i 為 0，j 為 0；或者 i 是 1，j 是 0；或者 i 是 0，j 是 1；或者 i 和 j 都是 0；或者 i 和 j 都是 1。在另一實施態樣中，k 為 0，l 為 0；或 k 為 1，l 為 0；k 為 0，l 為 1；或者 k 和 l 都是 0；或者 k 和 l 都是 1。

【0343】形成 iRNA 雙鏈體的有義股和反義股的示例性組合包括以下公式：

5' n_p - N_a -Y Y Y -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y′Y′Y′ -$N_a'$$n_q'$ 5'

(IIIa)

5' n_p -N_a -Y Y Y -N_b -Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-Y′Y′Y′-N_b'-Z′Z′Z′-$N_a'$$n_q'$ 5'

(IIIb)

5' n_p-N_a- X X X -N_b -Y Y Y - N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 5'

(IIIc)

5' n_p -N_a -X X X -N_b-Y Y Y -N_b- Z Z Z -N_a-n_q 3'

3' n_p'-N_a'-X'X'X'-N_b'-Y'Y'-N_b'-Z'Z'Z'-N_a-n_q' 5'

(IIId)

【0344】 當 dsRNAi 劑用式(IIIa)表示時，每個 N_a 獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0345】 當 dsRNAi 劑由式(IIIb)表示時，每個 N_b 獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 1 至 10、1 至 7、1 至 5 或 1 至 4 個修飾的核苷酸。每個 N_a 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0346】 當 dsRNAi 劑表示為式(IIIc)時，每個 N_b, 、N_b'獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個修飾的核苷酸。每個 N_a 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2-20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。

【0347】 當 dsRNAi 劑表示為式(IIId)時，每個 N_b, 、N_b'獨立地表示一個寡核苷酸序列，包括 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 修飾之核苷酸。每個 N_a, 、N_a' 獨立地代表一個寡核苷酸序列，包括 2 至 20 個、2 至 15 個或 2 至 10 個修飾的核苷酸。N_a, 、N_a'、N_b 和 N_b'中的每一 個都獨立地包含交替模式的修飾。

【0348】 式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc) 和 (IIId) 中的 X、Y 和 Z 中的每一個都可能彼此相同或不同。

【0349】 當 dsRNAi 劑由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示時，至少一個 Y 核苷酸可能與其中一個 Y'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 Y 核苷酸與相應的 Y'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 Y 核苷酸都與相應的 Y'核苷酸形成鹼基對。

【0350】 當 dsRNAi 劑由式(IIIb)或(IIId)表示時，至少一個 Z 核苷酸可能與其中一個 Z'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 Z 核苷酸與相應的 Z'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 Z 核苷酸都與相應的 Z'核苷酸形成鹼基對。

【0351】 當 dsRNAi 劑表示為式(IIIc)或(IIId)時，至少一個 X 核苷酸可能與其中一個 X'核苷酸形成鹼基對。或者，至少兩個 X 核苷酸與相應的 X'核苷酸形成鹼基對；或者所有三個 X 核苷酸都與相應的 X'核苷酸形成鹼基對。

【0352】 在某些實施態樣中，對 Y 核苷酸的修飾不同於對 Y'核苷酸的修飾，對 Z 核苷酸的修飾與對 Z'核苷酸的修飾不同，或者對 X'核苷酸的修飾與對 X'核苷酸的修飾不同。

【0353】 在某些實施態樣中，當 dsRNAi 劑由式(IIId)表示時，Na 修飾是 2-O′-甲基或 2′-氟修飾。在其它實施態樣中，當 RNAi 劑由式(IIId)表示時，所述 Na 修飾是 2-O′-甲基或 2′-氟修飾，並且 np′ >0 和至少一個 np′藉由 硫代磷酸酯鍵與相鄰核苷 酸鏈接。在又一個實施態樣中，當 RNAi 劑由式(IIId)表示時，Na 修飾是 2-O-甲基或 2-氟修飾，np'>0 和至少一個 np'藉由 硫代磷酸酯鏈結鏈接到相鄰的核苷酸，並且有義股與藉由二價或三價支鏈連接子連接的一個或多個 GalNAc 衍生物接合(如下所述)。在其它實施態樣中，當 RNAi 劑由式(IIId)表示時，Na 修飾是 2-O-甲基或 2-氟修飾，np'>0 和至少一個 np'藉由 硫代磷酸酯鏈結連接到相鄰的核苷酸，有義股包含至少一個硫代磷酸酯鍵結，並且該有義股藉由二價或二

價或多種 GanAc 衍生物附接三價分支連結子。

【0354】 於一些實施態樣中，當 dsRNAi 劑由式(IIIa)表示時，Na 修飾是 2-O′-甲基或 2′-氟修飾，np′>0 和至少一個 np'藉由硫代磷酸酯鏈結連接到相鄰的核苷酸，有義股包含至少一個硫代磷酸酯鏈結，並且該有義股藉由二價或二價連接與一個或多個 GalNAc 衍生物附接三價分支連結子。

【0355】 於一些實施態樣中，dsRNAi 劑是含有至少兩個由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的雙鏈體的多聚體，其中雙鏈體藉由連接子連接。連接子可以是可裂解的，也可以是不可裂解的。視需要地，多聚體還包括配體。每個雙鏈體可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每個雙鏈體可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

【0356】 於一些實施態樣中，dsRNAi 劑是包含三、四、五、六或更多由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的雙鏈體的多聚體，其中雙鏈體藉由連接子連接。連接子可以是可裂解的，也可以是不可裂解的。視需要地，多聚體還包括配體。每個雙鏈體可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每個雙鏈體可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

【0357】 於一實施態樣中，由至少一個式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)中的至少一個表示的 dsRNAi 劑在 5'末端相互連接，並且 3'末端的一個或兩個，並且視需要地與配體接合。每種劑可以靶向相同的基因或兩個不同的基因；或者每種劑可以在兩個不同的靶位點靶向相同的基因。

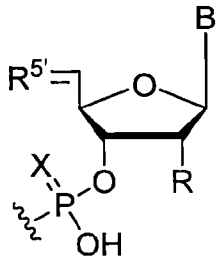
【0358】 在某些實施態樣中，本發明的 RNAi 劑可以含有少量含有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，10 個或更少的具有 2'-氟修飾的核苷酸。例如，RNAi 劑可含有 10、9、8、7、6、5、4、3、2、1 或 0 個具有 2'-氟修飾的核苷酸。在一個具體

實施態樣中，本發明的 RNAi 劑含有 10 個具有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，4 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在在有義股和 6 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。在另一個具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑含有 6 個具有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，4 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在有義股和 2 個具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。

【0359】 在其它實施態樣中，本發明的 RNAi 劑可以含有超低數量的含 2'-氟修飾的核苷酸，例如，2 或更少個含有 2'-氟修飾的核苷酸。例如，RNAi 劑可含有 2、1 或 0 個具有 2'-氟修飾的核苷酸。在具體實施態樣中，RNAi 劑可含有 2'-氟修飾的核苷酸，例如，0 個具有 2-氟修飾的核苷酸在有義股和具有 2'-氟修飾的核苷酸在反義股。

【0360】 各種出版物描述了可用於本發明方法的多聚體 iRNA。這些出版物包括美 WO2007/091269、美國專利號 7,858,769、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887 和 WO2011/031520，其中每一項的全部內容特此藉由引用併入本文。

【0361】 在某些實施態樣中，本公開的組成物和方法包括如本文所述的 RNAi 劑的膦酸乙烯酯(VP)修飾。在示例性實施態樣中，本公開內容的 5'膦酸乙烯酯修飾之核苷酸具有以下結構：



其中 X 是 O 或 S；

R 為氫、羥基、氟或 C_{1-20}烷氧基(例如，甲氧基或正十六烷氧基)；

$R^{5'}$ 是 =C(H)-P(O)$(OH)_2$ ，C5'碳和 $R^{5'}$ 之間的雙鍵位於 *E* 或 *Z* 方向(例如 *E* 方向)；並且

B 是核鹼基或修飾的核鹼基，視需要地 B 是腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

【0362】 本公開的膦酸乙烯酯可以附接在 dsRNA 的反義股或有義股。在某些實施態樣中，本公開的膦酸乙烯酯附接在 dsRNA 的反義股，視需要地在 dsRNA 的反義股的 5'端。

【0363】 磷酸乙烯酯修飾也考慮用於本公開的組成物和方法。一個示例性的磷酸乙烯酯結構包括前面的結構，其中 R5' 是=C(H)-OP(O)(OH)2，C5'碳和 R5' 之間的雙鍵在 E 或 Z 取向(例如，E 取向)。

【0364】 如下所述，包含一個或多個碳水化合物部分與 iRNA 的接合的 iRNA 可以優化 iRNA 的一個或多個性質。在許多情況下，碳水化合物部分將附著在 iRNA 的修飾亞基上。例如，iRNA 的一個或多個核糖核苷酸亞基的核糖糖可以被另一部分取代，例如，非碳水化合物(如環狀)載體，其附著碳水化合物配體。核糖核苷酸亞基，其中核糖的亞基已被如此取代，本文稱為核糖替代修飾亞基(RRMS)。環狀載體可以是碳環系，即，所有環原子都是碳原子，或者雜環系統，即，一個或多個環原子可以是雜原子，例如，氮、氧、硫。該環載體可以是單環系統，或者可以包含兩個或多個環，例如稠合環。環狀載體可以是完全飽和的環體系，或者它可以包含一個或多個雙鍵。

【0365】 配體可以藉由載體附著在多核苷酸。載體包括(i)至少一個「主幹接合點」，例如兩個「主幹接合點」和(ii)至少一個「繫接接合點」。 本文中使

用的「主幹接合點」是指官能團，例如 羥基，或通常可用於的鍵，並且適合於將載體併入主鏈中，例如，磷酸鹽，或改性的磷酸鹽，例如,含硫的核糖核酸的主鏈。「繫接接合點」(TAP)在一些具體實施方式中是指環狀載體的組成環原子，例如，碳原子或雜原子(不同於提供主幹接合點的原子)，其連接選定的部分。該部分可以是，例如，碳水化合物，例如 單糖、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖。或者，所選部分藉由中間繫接連接到環狀載體。因此，環狀載體通常包括官能團，例如，胺基，或者通常提供鍵，其適合於併入或繫接另一化學實體，例如，配體到組成環。

【0366】 iRNA 可經由載體與配體接合，其中載體可以是環基團或無環基團。於一實施態樣中，環基團選自吡咯烷基、吡唑啉基、吡唑烷基、咪唑啉基、咪唑烷基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧雜環戊烷、噁唑烷基、異噁唑烷基、嗎啉基、噻唑烷基、異噻唑烷基、喹噁啉基、噠嗪酮基、四氫呋喃基和十氫萘。於一實施態樣中，無環基團是絲胺酸醇主鏈或二乙醇胺主鏈。

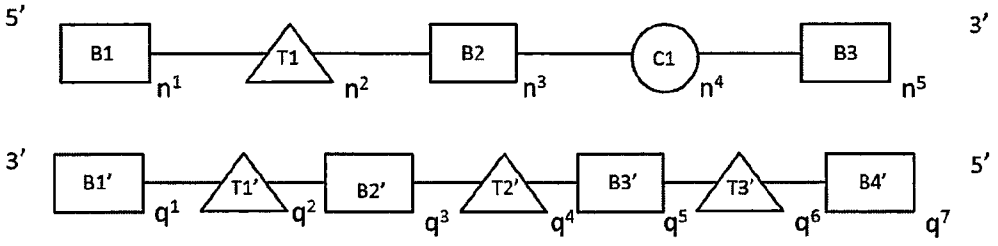
【0367】 i.熱去穩定修飾

在某些實施態樣中，dsRNA 分子可以藉由在反義股的種子區域併入熱去穩定修飾來優化 RNA 干擾。本文所用的「種子區域」是指在所指股的 5'端的 2-9 位置。例如，可以在反義股的種子區域併入熱去穩定修飾，以減少或抑制脫靶基因沉默。

【0368】 術語「熱去穩定修飾」包括相較於不具有此等修飾的 dcRNA 的 Tm 導致 dsRNA 具有較低的總熔化溫度(T_m)的修飾。例如，熱去穩定修飾可以將 dsRNA 的 T_m 降低 1 至 4°C，例如 1、2、3 或 4 攝氏度。並且，術語「熱去穩定核苷酸」是指含有一個或多個熱去穩定修飾的核苷酸。

【0369】已經發現，具有在反義股的前 9 個核苷酸位置內至少包含一個雙鏈體的熱去穩定修飾的反義股的 dsRNA，從反義股的 5'端計數，降低了脫靶基因沉默活性。因此，於某些實施態樣中，反義股包括至少一個(例如，一個、兩個、三個、四個、五個或更多個)在反義股的 5'區域的前 9 個核苷酸位置內的雙鏈體的熱去穩定修飾。在一些實施態樣中，雙鏈體的一個或多個熱去穩定修飾位於位置 2 至 9，例如，位置 4 至 8，從反義股的 5'端。在一些進一步的實施態樣中，雙鏈體的熱去穩定修飾位於反義股 5'端的位置 6、7 或 8。在還有一些進一步的實施態樣中，雙鏈體的熱去穩定修飾位於反義股的 5'端位置 7。在一些實施態樣中，雙鏈體的熱去穩定修飾位於反義股的 5'端的位置 2、3、4、5 或 9。

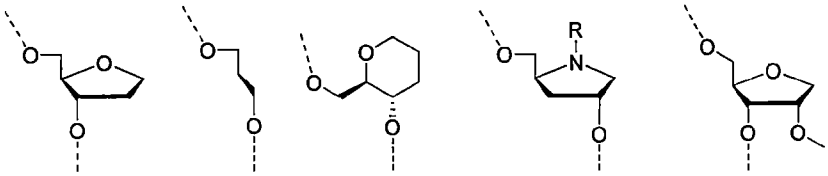
【0370】iRNA 劑包括有義股和反義股，每股具有 14 至 40 個核苷酸。RNAi 劑可以用式(L)表示：



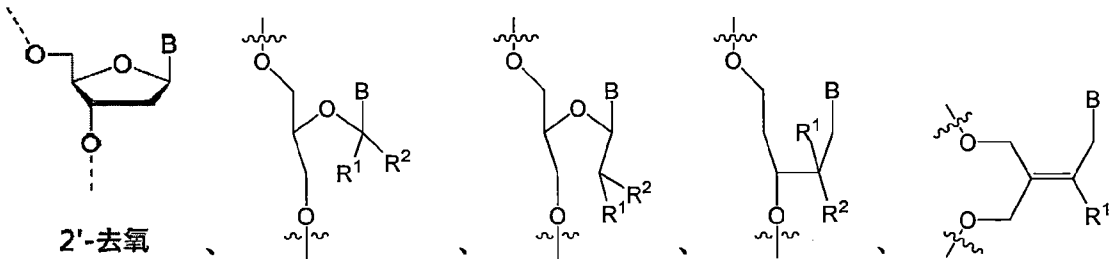
(L)，

【0371】在式(L)中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'和 B4'各自獨立地是一個核苷酸，含有從 2'-O-烷基、2'-取代烷氧基、2'-取代烷基、2'-鹵素、ENA 和 BNA/LNA 組成的群組中選擇的修飾。於一實施態樣中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'和 B4'各含有 2'-OMe 修飾。於一實施態樣中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'和 B4'各含有 2'-OMe 或 2'-F 修飾。於一實施態樣中，B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'和 B4'的至少一者含有 2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA，2'O-CH2C(O)N(Me)H)修飾。

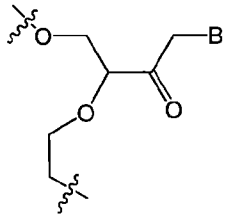
【0372】 C1 是一種熱去穩定核苷酸，放置在與反義股的種子區域相反的位點(即，在反義股 5'-端的位置 2 至 8 處)。例如，C1 位於有義股的位置，該位置與反義股 5'--端位置 2 至 8 處的核苷酸配對。在一個示例中，C1 位於有義股 5' 端的位置 15。C1 核苷酸具有熱去穩定性的修飾，其中可能包括非鹼性修飾；與雙鏈體中相反的核苷酸錯配；和糖修飾，例如 2'-去氧修飾或無環核苷 酸，例如，未鎖聚核酸(UNA)或甘油核酸(GNA)或 2'-5'-連接核糖核苷酸(「3'-RNA」)。於一實施態樣中，C1 具有熱去穩定修飾，選自由下列組成的組：i)與反義股中相反的核苷酸錯配；ii) 從以下組中選出的 無鹼基修飾：



；(iii)糖修飾選自下列組：

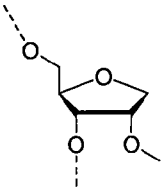


2'-去氧 、 、 、 、 和



，其中 B 是修飾或未修飾的核鹼基，R^1 和 R^2 獨立地為 H、鹵素、OR_3、或烷基；和 R_3 是 H、烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖。在一個實施態樣中，C1 中的熱去穩定修飾是從選自 G：G、G：A、G：U、G：T、A：A、A：C、C：C、C：U、C：U、C：T、U：T 和 U：T 組成的組中的錯配；視

需要地，錯配對中的至少一個核鹼基是 2'-去氧核鹼基。在一個例子中，C1 中的



熱去穩定修飾是 GNA 或 。

【0373】 T1、T1'、T2'和 T3'各自獨立地代表一個核苷酸，該核苷酸包含一種修飾，為核苷酸提供小於或等於 2'-OMe 修飾的空間位阻體積。空間位阻體積是指修改的空間位阻效應的總和。用於確定核苷酸修飾的空間位阻效應的方法為本領域技術人員所熟知。修飾可以在核苷酸的核糖的 2'位置，或修飾非核糖核苷酸，無環核苷酸或核苷酸的主鏈，其相似或等效於核糖的 2'位置，且為核苷酸提供小於或等於 2'-OMe 修飾的空間位阻體積。例如，T1、T1'、T2'和 T3'都是從 DNA、RNA、LNA、2'-F 和 2'-F-5'-甲基中獨立選擇的。於一實施態樣中，T1 是 DNA。於一實施態樣中，T1'是 DNA、RNA 或 LNA。於一實施態樣中，T2'是 DNA 或 RNA。於一實施態樣中，T3'是 DNA 或 RNA。

【0374】 n^1、n^3 和 q^1 的長度獨立為 4 至 15 個核苷酸。

【0375】 n^5、q^3 和 q^7 的長度獨立為 1 至 6 個核苷酸。

【0376】 n^4、q^2 和 q^6 的長度獨立為 1 至 3 個核苷酸；或者，n^4 為 0。

【0377】 q^5 的長度獨立為 0 至 10 個核苷酸。

【0378】 n^2 和 q^4 的長度獨立為 0 至 3 個核苷酸。

【0379】 或者，n^4 的長度為 0 至 3 個核苷酸。

【0380】 在一個實施態樣中，n^4 可以是 0。在一個示例中，n^4 為 0，q^2 和 q^6 為 1。在另一個示例中，n^4 為 0，q^2 和 q^6 各為 1，在有義股的位置 1-5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義股的位置 1

和 2 處有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾，位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'端計數)。

【0381】 於一實施態樣中，n^4、q^2和 q^6 各為 1。

【0382】 於一實施態樣中，n^2、n^4、q^2、q^4和 q^6 各為 1。

【0383】 於一實施態樣中，C1 位於有義股 5'端的位置 14 至 17，當有義股長度為 19-22 個核苷酸時，n^4 為 1。於一實施態樣中，C1 位於有義股 5'-端的位置 15。

【0384】 於一實施態樣中，T3'從反義股 5'端位置 2 開始。在一個示例中，T3' 位於反義股 5' 端的位置 2 且 q^6 等於 1。

【0385】 於一實施態樣中，T1'從反義股 5'端位置 14 開始。在一個示例中，T1' 位於反義股 5' 端的位置 14 且 q^2 等於 1。

【0386】 在示例性實施態樣中，T3'從反義股 5'端從位置 2 開始，T1'從反義股 5'端位置 14 開始。在一個示例中，T3' 從反義股 5' 端位置 2 開始且 q^6 等於 1，以及 T1' 從反義股的 5' 端位置 14 開始且 q^2 等於 1。

【0387】 於一實施態樣中，T1'和 T3'被長度為 11 個核苷酸分開(即不計算 T1'和 T3'核苷酸)。

【0388】 於一實施態樣中，T1'位於反義股 5'端位置 14。在一個示例中，T1' 位於反義股 5'端的位置 14 且 q^2 等於 1，並且在非核糖、無環或骨架中 2'位置或位置處的修飾提供比 2'-OMe 核糖較少的立體位阻。

【0389】 於一實施態樣中，T3'位於反義股 5'端的位置 2。在一個示例中，T3'位於反義股 5'端的位置 2，及 q^6 等於 1，並且在非核糖、無環或骨架中 2'位置或位置處的修飾提供小於或等於 2'-OMe 核糖的立體位阻。

【0390】於一實施態樣中，T1 位於有義股的裂解位點。在一個示例中，T1 位於自有義股 5'端的位置 11，當有義股的長度為 19 至 22 個核苷酸時，及 n^2 為 1。在示例性實施態樣中，T1 位於自有義股 5'端的位置 11 的有義股裂解位點，當有義股長度為 19 至 22 個核苷酸時，及 n^2 為 1，

【0391】於一實施態樣中，T2'從反義股 5'端位置 6 開始。在一個示例中，T2' 位於反義股 5' 端的位置 6 至 10 及 q^4 為 1。

【0392】在示例性實施態樣中，T1 位於有義股的裂解位點，例如，在自有義股 5'端的位置 11，當有義股的長度為 19 至 22 個核苷酸時，及 n^2 為 1；T1'位於反義股 5'端的位置 14，及 q^2 等於 1，及對 T1'的修飾位於核糖的 2'位置或非核糖，無環或主鏈中的位置而提供比 2'-OMe 核糖更少的立體位阻；T2' 位於反義股 5' 端的位置 6 至 10 ，及 q^4 為 1；T3' 位於反義股 5' 端的位置 2，及 q^6 等於 1，以及對 T3' 的修改位於非核糖、無環或主鏈中的 2' 位置或位置，其提供小於或等於 2'-OMe 核糖的立體位阻。

【0393】於一實施態樣中，T2'從反義股 5'端的位置 8 開始。在一個示例中，T2' 從反義股的 5' 端的位置 8 開始，及 q^4 為 2。

【0394】於一實施態樣中，T2'從反義股 5'端的位置 9 開始。在一個示例中，T2' 位於反義股 5' 端的位置 9，及 q^4 為 1。

【0395】於一實施態樣中，B1' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1' 為 2'-F，q^2 為 1，B2' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 6，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義

股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'端計數)。

【0396】 於一實施態樣中，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2'為 2'-F，q^4 為 1，B3'為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 6，T3'為 2'-F，q^6 為 1，B4'為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'端計數)。

【0397】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。

【0398】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股 的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義股位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'端計數)。

【0399】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 6，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-

F，q^1為 7，T1'為 2'-F，q^2為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3為 4，T2' 為 2'-F，q^4為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5為 5，T3' 為 2'-F，q^6為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7為 1。

【0400】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1為 6，T1 為 2'F，n^2為 3，B2 為 2'-OMe，n^3為 7，n^4為 0，B3 為 2'-OMe，n^5為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1為 7，T1'為 2'-F，q^2為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3為 4，T2' 為 2'-F，q^4為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5為 5，T3' 為 2'-F，q^6為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7為 1；在有義股 的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 位置內有ˇ兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0401】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1為 8，T1 為 2'F，n^2為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1為 9，T1'為 2'-F，q^2為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3為 4，T2' 為 2'-F，q^4為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5為 6，T3' 為 2'-F，q^6為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7為 1。

【0402】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1為 8，T1 為 2'F，n^2為 3，B2 為 2'-OMe，n^3為 7，n^4為 0，B3 為 2'-OMe，n^5為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1為 9，T1'為 2'-F，q^2為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3為 4，T2' 為 2'-F，q^4為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5為 6，T3' 為 2'-F，q^6為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及載返義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及

位置 18 至 23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0403】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 5，T2' 為 2'-F，q^4 為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；視需要地在反義股的 3'-端具有至少 2 個額外的 TT。

【0404】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 5，T2' 為 2'-F，q^4 為 1，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；視需要的在反義股的 3'-端有至少 2 個額外的 TT；在有義股 1 至 5 的位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間連鎖修飾(從有義股的 5'端開始計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0405】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。

【0406】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為

2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股 的位置 1 至 5 的位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)。

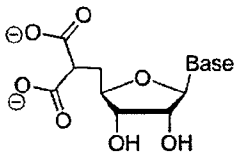
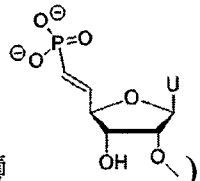
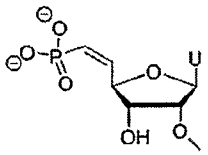
【0407】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。

【0408】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 位置內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。

【0409】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。

【0410】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為

2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸鹽核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。

【0411】 RNAi 劑可以包含位於有義股或反義股 5'-端的含磷基團。5'-端含磷基團可以是 5'-端磷酸鹽(5'-P)，5'端硫代磷酸酯(5'-PS)，5'端二硫代磷酸鹽(5'-PS2)，5'端乙烯基膦酸鹽(5'-VP)，5'-端甲基膦酸鹽(MePhos)或 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基()。當 5-'端含磷基團為 5'-端乙烯基膦酸鹽(5'-VP)時，5'-VP 可以是 5'-*E*-VP 異構體(即，反式乙烯基磷酸鹽 )，5'-*Z*-VP 異構體(即，順式-乙烯基磷酸鹽， )，或其混合物。

【0412】 於一實施態樣中，RNAi 劑包括在有義股的 5'-端的含磷基團。於一實施態樣中，RNAi 劑包括在反義股的 5'-端的含磷基團。

【0413】 於一實施態樣中，RNAi 劑包括 5'-P。於一實施態樣中，RNAi 劑包括反義股的 5'-P。

【0414】 於一實施態樣中，RNAi 劑包括 5'-PS。於一實施態樣中，RNAi 劑包括反義股的 5'-PS。

【0415】於一實施態樣中，RNAi 劑包括 5'-VP。於一實施態樣中，RNAi 劑包括反義股的 5'-VP。於一實施態樣中，RNAi 劑包括反義股的 5'-*E*-VP。於一實施態樣中，RNAi 劑包括在反義股中的 5'-*Z*-VP。

【0416】於一實施態樣中，RNAi 劑包括 5'-PS_2。於一實施態樣中，RNAi 劑包括反義股的 5'-PS_2 。

【0417】於一實施態樣中，RNAi 劑包括 5'-PS_2。於一實施態樣中，RNAi 劑包括在反義股的 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0418】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0419】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0420】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0421】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0422】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0423】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0424】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為

1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0425】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23)內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0426】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0427】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-

F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0428】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0429】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。dsRNA 劑還包括 5'-PS。

【0430】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0431】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0432】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0433】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及在位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0434】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在

反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及在位置 18 至 23 內兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0435】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0436】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及在位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS_2。

【0437】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及

在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0438】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，q^7 為 1。RNAi 劑還包括一個 5'-P。

【0439】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0440】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'- VP。 5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0441】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為

2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。dsRNAi RNA 劑還包括 5'-PS_2。

【0442】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0443】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0444】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置

18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0445】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0446】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0447】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；

在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0448】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0449】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0450】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'- VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0451】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為

2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0452】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0453】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P。

【0454】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23

內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5-'端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS。

【0455】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5' VP。5'-VP 可以是 5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合。

【0456】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間節修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2。

【0457】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股

的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基。

【0458】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0459】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0460】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 處有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP(例如，5'-*E*-VP，5'-*Z*-VP 或其組合)和靶向配體。

【0461】 於一實施態樣中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0462】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2 和靶向配體。於一實施態樣中，5'- PS_2 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0463】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為

2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基和靶向配體。於一實施態樣中，5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0464】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0465】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS 和靶向

配體。於一實施態樣中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0466】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸核酯苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5 端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP(例如，5'-*E*-VP，5'-*Z*-VP 或其組合)和靶向配體。於一實施態樣中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0467】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2 和靶向配體。於一實施態樣中，5'- PS_2 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0468】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-

F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-OMe，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾 (從 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基和靶向配體。於一實施態樣中，5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0469】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0470】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鍵結修飾及位置

18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0471】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP(例如，5'-*E*-VP，5'-*Z*-VP 或其組合)和靶向配體。於一實施態樣中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0472】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'- PS_2 和靶向配體。於一實施態樣中，5'- PS_2 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0473】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，T2' 為 2'-F，q^4 為 2，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 5，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基和靶向配體。於一實施態樣中，5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0474】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-P 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-P 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0475】於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股

的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾 (從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-PS 和靶向配體。於一實施態樣中，5'-PS 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0476】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-VP(例如，5'-*E*-VP、5'-*Z*-VP 或其組合)和靶向配體。於一實施態樣中，5'-VP 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0477】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括

5'- PS_2 和靶向配體。於一實施態樣中，5'- PS_2 位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0478】 於一實施態樣中，B1 為 2'-OMe 或 2'-F，n^1 為 8，T1 為 2'F，n^2 為 3，B2 為 2'-OMe，n^3 為 7，n^4 為 0，B3 為 2'-OMe，n^5 為 3，B1'為 2'-OMe 或 2'-F，q^1 為 9，T1'為 2'-F，q^2 為 1，B2'為 2'-OMe 或 2'-F，q^3 為 4，q^4 為 0，B3' 為 2'-OMe 或 2'-F，q^5 為 7，T3' 為 2'-F，q^6 為 1，B4' 為 2'-F，及 q^7 為 1；在有義股的位置 1 至 5 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從有義股的 5'-端計數)，以及在反義股的位置 1 和 2 有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾及位置 18 至 23 內有兩個硫代磷酸酯核苷酸間鏈結修飾(從反義股的 5'-端計數)。RNAi 劑還包括 5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基和靶向配體。於一實施態樣中，5'-去氧-5'-*C*-丙二醯基位於反義股的 5'-端，靶向配體位於有義股的 3'-端。

【0479】 在一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的三個 GalNAc 衍生物；及

(iii) 於位置 1、3、5、7、9 至 11、13、17、19 及 21 的 2'-F 修飾，以及於位置 2、4、6、8、12、14 至 16、18 及 20 的 2'-OMe 修飾，(從 5'端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3、5、9、11 至 13、15、17、19、21 及 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、4、6 至 8、10、14、16、18、20 及 22 的 2'F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中 dsRNA 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0480】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三個 GalNAc 衍生物；

(iii) 於位置 1、3、5、7、9 至 11、13、15、17、19 及 21 的 2'-F 修飾，以及於位置 2、4、6、8、12、14 、 16、18 及 20 的 2'-OMe 修飾，(從 5'端計數)；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3、5、7、9、11 至 13、15、17、19 及 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、4、6、8、10、14、16、18 及 20 的 2'F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0481】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 6、8、10 及 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，於位置 7 及 9 的 2'F 修飾，以及於位置 11 的去氧核苷酸 (如 dT) (從 5'端計數)；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3、7、9、11、13、15、17 及 19 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、4 至 6、8、10、12、14、16 及 18 的 2'-F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端開始計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0482】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 6、8、 10、12、14 及 16 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 7、9、11、13 及 15 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、5、7、9、11、13、15、17、19 及 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2 至 4、6、8、10、12、14、16、18 及 20 的 2'-F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；

其中 該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有平端。

【0483】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 9 及 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 10 至 11 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；及

(b) 一反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3、5、7、9、11 至 13、15、17、19 及 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、4、6、8、10、14、16、18 及 20 的 2'-F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0484】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1、3、5、7、9 至 11 及 13 的 2'-F 修飾，以及於位置 2、4、6、8、12 及 14 至 21 的 2'-OMe 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3、5 至 7、9、11 至 13、15、17 至 19 及 21 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、4、6、8、10、14、16 及 20 的 2'-F 修飾，(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0485】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1、2、4、6、8、12 、14、15、17 及 19 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 3、5、7、9 至 11、13、16 及 18 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 25 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、4、6、7、9、11 至 13、15、17 及 19 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、3、5、8、10、14、16 及 18 的 2'-F 修飾，以及於位置 24 及 25 的去氧-核苷酸(如 dT) (從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有四個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0486】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 6，8 及 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 7 及 9 至 11 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3 至 5、7、8、10 至 13、15 及 17 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、6、9、14 及 16 的 2'-F 修飾(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0487】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 6、8 及 12 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 7 及 9 至 11 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 23 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3 至 5、7、10 至 13、15 及 17 至 23 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、6、8、9、14 及 16 的 2'-F 修飾(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 21 和 22 之間以及核苷酸位置 22 和 23 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鍵結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'-端具有鈍端。

【0488】 在另一具體實施態樣中，本發明的 RNAi 劑包含：

(a) 有義股具有：

(i) 19 個核苷酸長度；

(ii) ASGPR 配體附接於 3'-端，其中該 ASGPR 配體包括藉由三價分支連接子附接的 三個 GalNAc 衍生物；

(iii)於位置 1 至 4、6 及 10 至 19 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 5 及 7 至 9 的 2'-F 修飾；及

(iv) 核苷酸位置 1 和 2 之間以及核苷酸位置 2 和 3 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；及

(b) 反義股具有：

(i) 21 個核苷酸長度；

(ii)於位置 1、3 至 5、7、10 至 13、15 及 17 至 21 的 2'-OMe 修飾，以及於位置 2、6、8、9、14 及 16 的 2'-F 修飾(從 5'端計數)；及

(iii) 核苷酸位置 1 和 2 之間、核苷酸位置 2 和 3 之間、核苷酸位置 19 和 20 之間以及核苷酸位置 20 和 21 之間的硫代磷酸酯核苷酸間鏈結(從 5' 端計數)；

其中該 RNAi 劑在反義股的 3'-端具有兩個核苷酸突出，在反義股的 5'端具有鈍端。

【0489】 在某些實施態樣中，用於本發明方法的 iRNA 係選自表 2 至 3 任一者中所列的劑。該些劑可進一步包含配體。

【0490】 III. iRNA 與配體接合

本發明的 iRNA 的 RNA 的另一種修飾係關於化學連結到 iRNA 的一個或多個配體、部分體或接合物，其增強 iRNA 的活性，細胞分佈或細胞攝取，例如，進入細胞。這種部分包括但不限於脂質部分，例如膽固醇部分(Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acid. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556)。在其它實施態樣中，配體是膽酸(Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Let.*, 1994, 4:1053-1060)、硫醚例如

己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309；Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765-2770)、硫代膽固醇(Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538、脂肪鏈例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118；Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330；Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54)、磷脂質例如二-十六烷基-rac-甘油或 1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸三乙銨(Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654；Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783)、聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973)、或金剛烷乙酸(Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654)、棕櫚醯基部分(Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237)、或十八烷基胺或己基胺-羰氧基膽固醇部分(Crooke *et al.*, J. *Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937)。

【0491】 在某些實施態樣中，配體改變其摻入其中的 iRNA 劑的分佈、靶向或壽命。於某些實施例中，配體為選定的標靶提供了增強的親和力，例如，分子、細胞或細胞類型、隔室，例如，細胞或器官區室、組織、器官或身體區域，，例如，與不存在這種配體的物種相比。於某些實施例中，配體不參與雙鏈體核酸中的雙鏈體配對。

【0492】 配體可包括天然存在的物質，例如蛋白質(例如，人血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白 (LDL) 或球蛋白)；碳水化合物(例如，葡聚糖、支鏈澱粉、幾丁質、殼聚糖、菊粉、環糊精、N-乙醯胺基葡萄糖、N-乙醯半乳糖胺或透明質

酸)；或脂質。配體也可以是重組分子或合成分子，例如合成聚合物，例如, 合成聚胺基酸。聚胺基酸的實例包括聚胺基酸是聚賴胺酸(PLL)、聚 L-天冬胺酸、聚 L-谷胺酸、苯乙烯-馬來酸酐共聚物、聚(L-丙交酯共糖化)共聚物、二乙烯基醚-馬來酸酐共聚物、N-(2-羥丙基)甲基丙烯醯胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)、聚胺酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-異丙基丙烯醯胺聚合物或聚磷嗪。聚胺的實例包括：聚乙烯亞胺、聚賴胺酸(PLL)、精胺、亞精胺、聚胺、假肽聚胺、肽聚胺、樹枝狀多胺、精胺酸、脒、魚精蛋白、魚精蛋白、陽離子脂質、陽離子卟啉、聚胺的季鹽或 α 螺旋肽。

【0493】 配體還可以包括靶向基團，例如，細胞或組織靶向劑，例如, 凝集素、糖蛋白、脂質或蛋白質，例如, 抗體，其與指定的細胞類型(例如腎細胞)結合。靶向基團可以是促甲狀腺激素、黑素促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性劑蛋白 A、粘蛋白碳水化合物、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯半乳糖胺、N-乙醯基葡糖胺、多價岩藻糖、糖基化多胺基酸、多價半乳糖、轉鐵蛋白、雙膦酸鹽、聚谷胺酸、聚天冬胺酸、脂質、膽固醇、類固醇、膽汁酸、葉酸、維生素 B12、維生素 A、生物素或 RGD 肽模擬物。在某些實施方案中，配體是多價半乳糖，例如，N-乙醯半乳糖胺。

【0494】 配體的其它實例包括染料、插層劑(例如 吖啶)、交聯劑(例如，補骨脂林、絲裂黴素 C)、卟啉(TPPC4、德沙卟啉、Sapphyrin)、多環芳烴(例如，吩嗪、二氫吩嗪)、人工內切酶(例如 EDTA)、親脂性分子，例如，膽固醇、膽酸、金剛烷乙酸、1-芘丁酸、二氫睾酮、1, 3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉氧基己基、十六烷基甘油、冰片醇、薄荷醇、1, 3-丙二醇、七庚基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽酸、二甲氧基三苯甲基或苯噁嗪)和肽接合物(例

如，觸角肽、Tat 肽)，烷化劑、磷酸鹽、胺基、巯基、PEG(例如，PEG-40K)、MPEG、$[MPEG]_2$、多胺基、烷基、取代烷基、放射性標記標記物、酶、半抗原(例如 生物素)、轉運/吸收促進劑(例如,、阿司匹林、維生素 E、葉酸)、合成核糖核酸酶(例如，咪唑、雙咪唑、組胺、咪唑簇、吖啶 - 咪唑接合物、四氮唑環的 Eu3 +複合物)、二硝基苯基、HRP 或 AP。

【0495】 配體可以是蛋白質，例如，糖蛋白或肽，例如，對共配體具有特定親和力的分子或抗體，例如抗體，其與指定的細胞類型(例如肝細胞)結合。配體也可以包括激素和激素受體。它們還可以包括非肽物種，例如脂質、凝集素、碳水化合物、維生素、輔助因數、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯半乳糖胺、N-乙醯基胺基葡萄糖多價甘露糖或多價岩藻糖。配體可以是脂多糖，p38 MAP 激酶的啟動劑或 NF-κB 的啟動劑。

【0496】 配體可以是一種物質，例如，藥物，它可以增加 iRNA 劑對細胞的攝取，例如，藉由破壞細胞的細胞骨架，例如，藉由破壞細胞的微管，微絲或中間絲。該藥物可以是，例如紫杉醇、長春新鹼、長春花鹼、細胞鬆弛素、諾考達唑、促進微絲聚合劑(japlakinolide)、紅海海綿蛋白 A(latrunculin A)、鬼筆環肽(phalloidin)、紅海海綿抗菌素(swinholide A)、吲達諾欣(indanocine)、或邁爾素(myoservin)。

【0497】 於某些實施例中，附著在本文所述的 iRNA 上的配體充當葯代動力學調節劑(PK 調節劑)。PK 調節劑包括親脂性劑、膽汁酸、類固醇、磷脂類似物、肽、蛋白質結合劑、PEG、 維生素等。示例性的 PK 調節劑包括但不限於膽固醇、脂肪酸、膽酸、石膽酸、二烷基甘油酯、二醯基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生、布洛芬、維生素 E、生物素。包含許多硫代磷酸酯鍵的寡核苷酸也已知與

血清蛋白結合，因此短寡核苷酸，例如，約 5 個鹼基、10 個鹼基、15 個鹼基或 20 個鹼基的寡核苷酸，在主鏈中包含多個硫代磷酸酯鍵，也適合於作為配體(例如 作為 PK 調節配體)。此外，結合血清成分的適配體(例如 血清蛋白)也適合用作本文所述的實施方案中的 PK 調節配體。

【0498】 本發明的配體接合 iRNA 可以藉由使用具有吊墜反應官能的寡核苷酸來合成，例如從連接分子附著到寡核苷酸上的寡核苷酸(如下所述)。這種反應性寡核苷酸可以直接與市售配體、合成的配體帶有各種保護基團中的任何一個或具有連接部分的配體反應。

【0499】 用於本發明接合物的寡核苷酸可以藉由眾所周知的固相合成技術方便和常規地製造。用於這種合成的設備由幾家供應商出售，例如，包括應用生物系統®公司(Applied Biosystems®)(加利福尼亞州福斯特城)。用於這種合成的任何其他方法可以另外或替代地採用本領域已知的。還已知使用類似的技術來製備其它寡核苷酸，例如硫代磷酸酯和烷基化衍生物。

【0500】 在本發明的配體接合 iRNA 和含序列的配體分子特異性連接核苷中，寡核苷酸和寡核苷可以組裝在合適的 DNA 合成器，利用標準核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸或核苷酸和寡核苷可以組裝在合適的 DNA 合成器，利用標準核苷酸或核苷酸或核苷中，寡核苷酸和寡核%前體，或已經具有連接部分的核苷酸或核苷接合前體，配體核苷酸或核苷接合前體已經具有配體分子，或非核苷配體構建塊。

【0501】 當使用已經具有連接部分的核苷酸 -接合前體時，序列特異性連接核苷酸的合成通常完成，然後配體分子與連接部分反應以形成配體接合寡核苷酸。於某些實施例中，本發明的寡核苷酸或連接核苷酸由自動合成器合成，除

了市售且常規用於寡核苷酸合成的標準亞磷醯胺和非標準亞磷醯胺外，還使用衍生自配體-核苷酸接合物的亞磷醯胺合成。

【0502】 A. 脂質接合物

在某些實施方案中，配體或接合物是基於脂質或脂質的分子。於一實施例中，這種脂質或基於脂質的分子結合血清蛋白，例如，人血清白蛋白(HSA)。HSA結合配體允許將接合物分佈到靶組織，例如，身體的非腎臟靶組織。例如，目標組織可以是肝臟，包括肝臟的實質細胞。其他可以結合 HSA 的分子也可以用作配體。例如，可以使用芐普生或阿司匹林。脂質或脂質基配體可以(a)增加對接合物降解的抵抗力，(b)增加靶向或轉運到靶細胞或細胞膜中，或(c)可用於調節與血清蛋白的結合，例如 HSA。

【0503】 基於脂質的配體可用於抑制，例如，控制接合物與靶組織的結合。例如，與 HSA 結合更強的脂質或脂質基配體不太可能靶向腎臟，因此不太可能從體內清除。與 HSA 結合較弱的脂質或脂質基配體可用於靶向腎臟的接合物。

【0504】 在某些實施方案中，基於脂質的配體結合 HSA。於一實施例中，它與 HSA 結合具有足夠的親和力，使得接合物將分佈到非腎臟組織。然而，優選親和力不能太強，以至於 HSA 配體結合不能逆轉。

【0505】 在其它實施態樣中，基於脂質的配體結合 HSA 較弱或根本不結合。於一實施例中，接合物將分佈到腎臟。靶向腎細胞的其他部分也可以代替或補充基於脂質的配體。

【0506】 於另一具體實施態樣中，配體是部分，例如，維生素，其被靶細胞(例如增殖細胞)吸收。這些對於治療以不需要的細胞增殖為特徵的疾病特別有用，例如，惡性或非惡性類型，例如, 癌細胞。典型的維生素包括維生素 A、E 和

K。其它示例性維生素包括 B 族維生素，例如，葉酸、B12、核黃素、生物素、吡哆醛或其它維生素或被靶細胞如肝細胞吸收的營養素。還包括 HSA 和低密度脂蛋白(LDL)。

【0507】 B. 細胞滲透劑

於另一具體實施態樣中，配體是細胞滲透劑，例如，鏈體細胞滲透劑。於一實施例中，該藥劑是兩性。示例性劑是肽，例如 tat 或觸角足突變肽(antennopedia)。如果該劑是肽，則可以對其進行修飾，包括肽基模擬物、嵌入體(invertomers)、非肽或假肽鏈結，以及使用 D-胺基酸。於一實施例中，螺旋劑是 α-螺旋劑，其具有親脂相和疏脂相。

【0508】 配體可以是肽或肽模擬物。肽模擬物(在本文中也稱為寡肽單胞菌)是一種能夠摺疊成類似於天然肽的定義的三維結構的分子。肽和肽酶對 iRNA 劑的附著可以影響 iRNA 的藥物代謝動力學分佈，例如藉由增強細胞識別和吸收。肽或肽模擬物部分體的長度可以是約 5-50 個胺基酸，例如，約 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸長。

【0509】 肽或肽模擬物可以是，例如，細胞滲透肽、陽離子肽、兩性肽或疏水肽(例如，主要由 Tyr、Trp 或 Phe 組成)。該肽部分可以是樹枝狀聚體肽、約束肽或交聯肽。在另一種選擇中，肽部分可以包括疏水膜易位序列(MTS)。一種示例性的疏水性 MTS 含肽是 RFGF，其胺基酸序列 AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO：14)。含有疏水性 MTS 的 RFGF 類似物(例如，胺基酸序列 AALLPVLLAAP(SEQ ID NO：15)也可以是靶向部分。肽部分可以是「遞送」肽，它可以攜帶大極性分子，包括肽，寡核苷酸和蛋白質穿過細胞膜。例如，來自 HIV Tat 蛋白 (GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO：16) 和果蠅天線蛋白

(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO：17))的序列已被發現能夠作為遞送肽發揮作用。肽或肽模擬物可以藉由隨機的 DNA 序列進行編碼，例如從噬菌體展示庫中鑑定的肽，或單珠一化合物(OBOC)組合文庫(Lam *et al.*,, Nature, 354：82-84，1991)。肽或肽模擬物的實例是藉由 摻入的單體單元繫接在 dsRNA 劑用於細胞靶向目的的精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸(RGD)肽，或 RGD 模擬物。肽部分的長度範圍從約 5 個胺基酸到約 40 個胺基酸。肽部分可以具有結構修飾，例如增加穩定性或直接構象性質。可以使用下面描述的任何結構修改。

【0510】 用於本發明的組成物和方法的 RGD 肽可以是線性的或環狀的，並且可以被修飾，例如，糖基化或甲基化，以促進靶向特定組織。含 RGD 的肽和肽二元組學可能包括 D-胺基酸，以及合成的 RGD 模擬物。除了 RGD 之外，還可以使用靶向整合素配體的其他部分，例如 PECAM-1 或 VEGF。

【0511】 「細胞滲透肽」是能夠滲透細胞的，例如，微生物細胞，例如細菌或真菌細胞，或哺乳動物細胞，例如人類細胞。微生物細胞滲透肽可以是例如 α 螺旋線性肽(例如，LL-37 或 Ceropin P1)，含二硫鍵的肽(例如，α-防禦素，β-防禦素或巴藤內辛)，或者僅包含一種或兩種主要胺基酸的肽(例如, PR-39 或吲哚苷)。細胞滲透肽還可以包括核定位信號(NLS)。例如，細胞滲透肽可以是二分兩性肽，如 MPG，其衍生自 HIV-1 gp41 的融合肽結構域和 SV40 大 T 抗原的 NLS(Simeoni *et al.*,, *Nucl.Acids Res* 31:2717-2724, 2003)。

【0512】 C. 碳水化合物接合物

在本發明的組成物和方法的一些實施方案中，iRNA 還包括碳水化合物。碳水化合物接合的 iRNA 有利於 核酸的體內遞送，以及適合 於體內治療用途的組成物，如本文所述。如本文所用，「碳水化合物」是指一種化合物，其本身 是

由一個或多個單糖單元組成的化合物，該單元具有至少 6 個碳原子(其可以是線性的、支鏈的或環狀的)，並且氧、氮或硫原子鍵結到每個碳原子；或者具有作為其一部分的化合物，該碳水化合物部分體由一個或多個單糖單元組成，每個單元具有至少六個碳原子(其中可以是線性的、支鏈的或環狀的)，用氧、氮或硫原子鍵結到每個碳原子。代表性碳水化合物包括糖(含有約 4、5、6、7、8 或 9 個單糖單位的單糖、二糖、三糖和低聚糖)和多糖，如澱粉、糖原、纖維素和多糖膠。特定的單糖包括 C5 及以上(例如，C5、 C6、C7 或 C8)糖；二糖和三糖包括具有兩個或三個單糖單元的糖(例如，C5、 C6、C7 或 C8)。

【0513】 在某些實施態樣中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合物接合物是單糖。

【0514】 在某些實施態樣中，單糖是 N-乙醯半乳糖胺(GalNAc)。GalNAc 接合物，其包含一種或多種 N-乙醯半乳糖胺(GalNAc)衍生物，例如在 US 8，106，022 中描述，其全部內容特此藉由引用併入本文。於某些實施例中，GalNAc 接合物用作將 iRNA 靶向特定細胞的配體。於某些實施例中，GalNAc 接合物將 iRNA 靶向肝細胞，例如，藉由充當肝細胞(例如，肝細胞)的積層蛋白受體的配體。

【0515】 於一些實施態樣中，碳水化合物接合物包含一種或多種 GalNAc 衍生物。GalNAc 衍生物可以藉由連接子連接，例如，二價或三價支鏈連接子。在一些實施態樣中，GalNAc 接合物被接合到有義股的 3'端。於一些實施態樣中，GalNAc 接合物藉由連接子(例如，藉由本文所述的連接子)與 iRNA 劑接合(例如，到有義股的 3'端)。，在一些實施態樣中，GalNAc 接合物被接合到有義股的 5 端。於某些實施例中，GalNAc 接合物藉由連接子(例如，藉由本文所述的連接子)與

iRNA 劑接合(例如，到有義股的 5'端)。

【0516】 在本發明的某些實施方案中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由單價連接子連接到本發明 的 iRNA 劑。於一些實施態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由 二價連接子附著在本發明的 iRNA 劑上。在本發明的又一實施態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由三價連接子附接在本發明的 iRNA 劑。在本發明的其它實施態樣 中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由 四價連接子附接在本發明的 iRNA 劑。

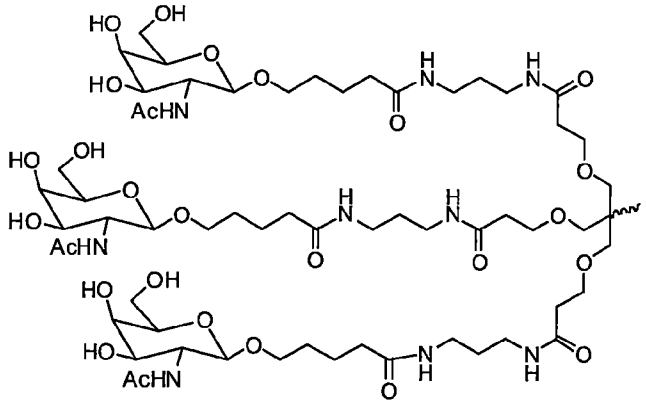
【0517】 在某些實施態樣中，本發明的雙鏈體 RNAi 劑包括一種附接在 iRNA 劑的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。在某些實施態樣中，本發明的雙鏈體 RNAi 劑包括多個(例如，2、3、4、5 或 6)GalNAc 或 GalNAc 衍生物，每個衍生物獨立地藉由多個單價連接子連接到雙鏈體 RNAi 劑的多個核苷酸。

【0518】 於一些實施態樣中，例如，當本發明的 iRNA 劑的兩股是一個較大分子的一部分時，由一股的 3'-端和分別另一股的 5'-端間的不間斷的核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結基接附之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾環圈亦可藉由雙鏈體之一股中的延伸突出形成。

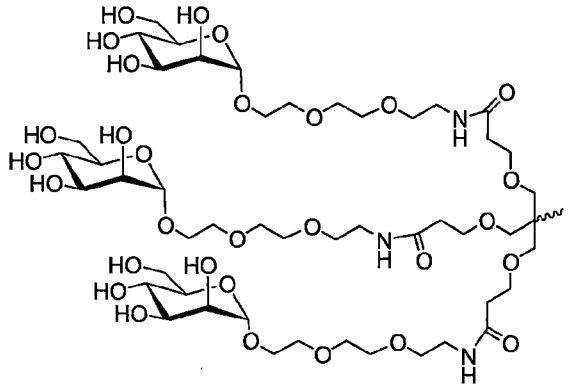
【0519】 於一些實施態樣中，例如，當本發明的 iRNA 劑的兩股是一個較大分子的一部分時，由一股的 3'-端和分別另一股的 5'-端間的不間斷的核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結基接附之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾環圈亦可藉由雙鏈體之一股中的延伸突出形成。

【0520】 於一實施態樣中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合

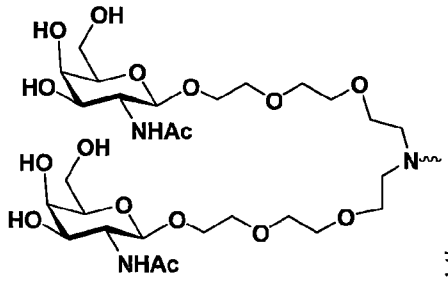
物接合物選自下列組成的組：



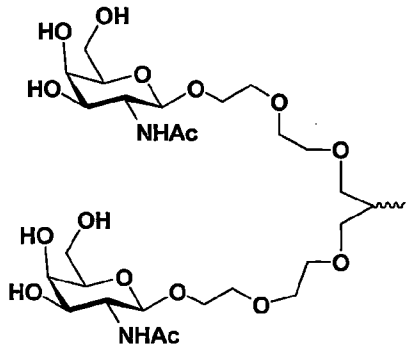
式 II，



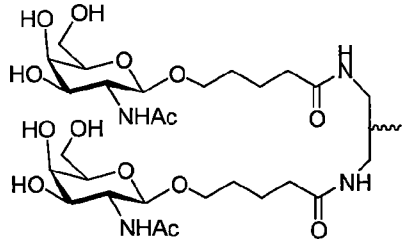
式 III，



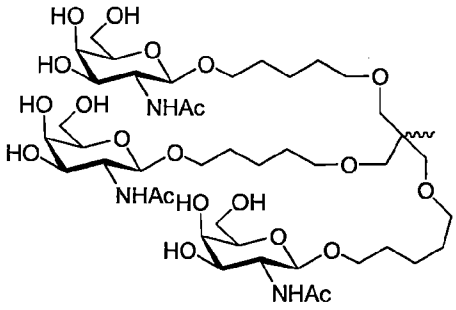
式 IV，



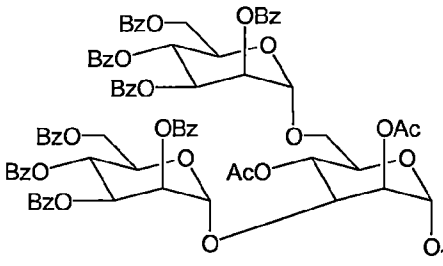
式 V，



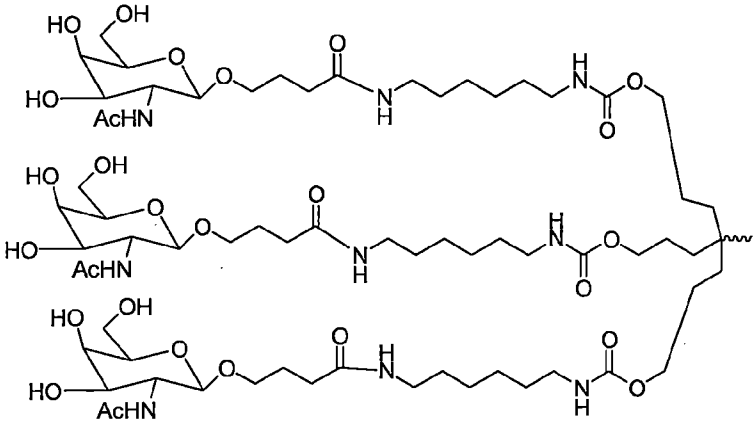
式 VI，



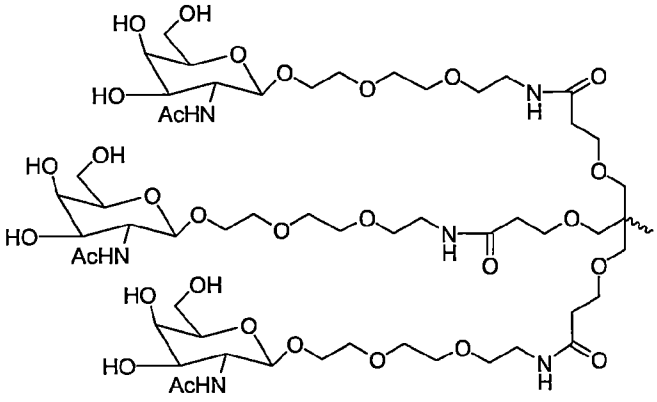
式 VII，



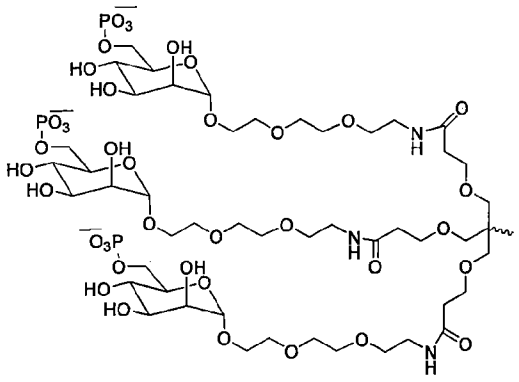
式 VIII，



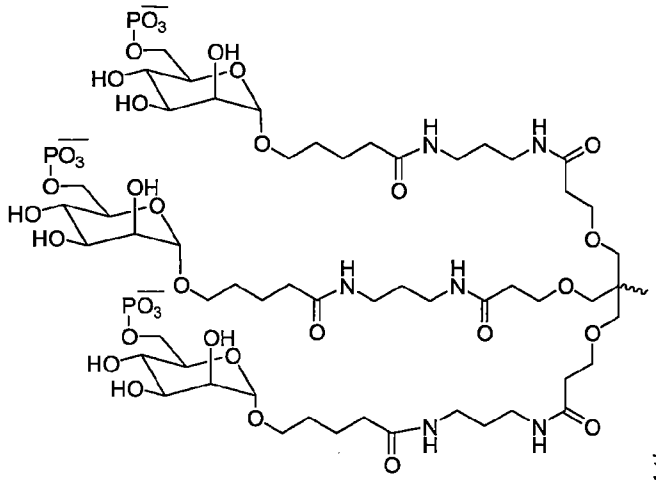
式 IX，



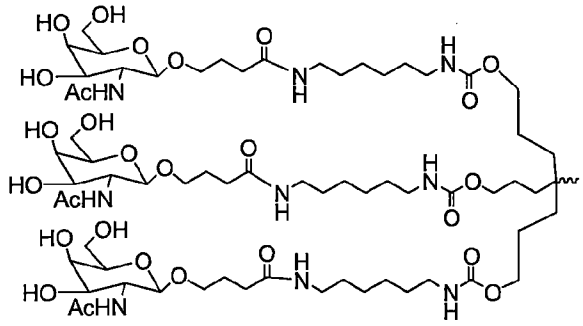
式 X，



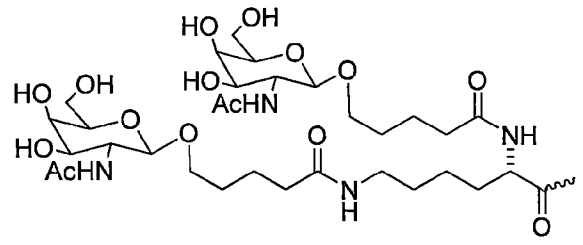
式 XI，



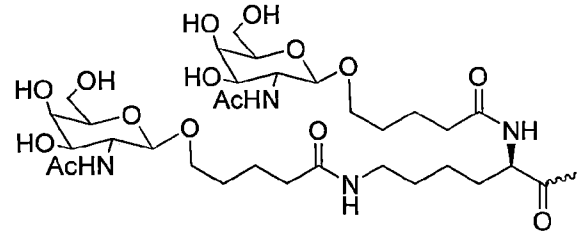
式 XII，



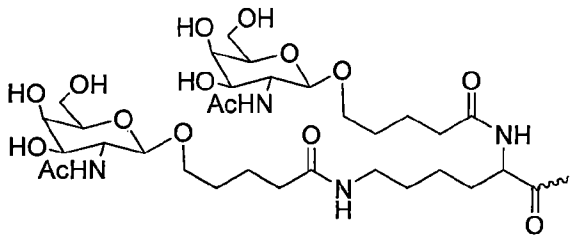
式 XIII，



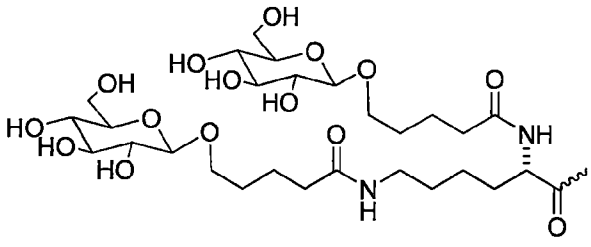
式 XIV，



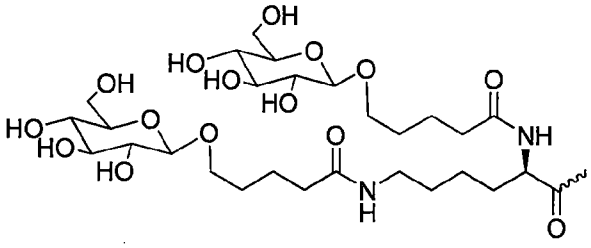
式 XV，



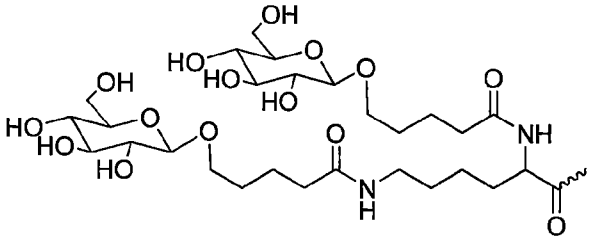
式XVI，



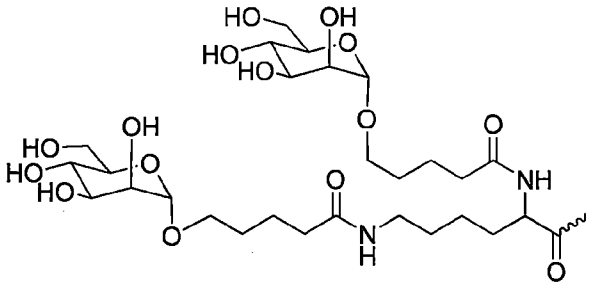
式XVII，



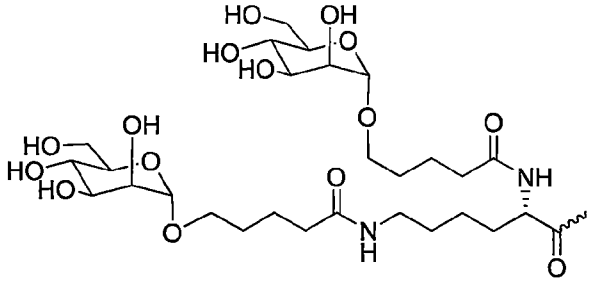
式XVIII，



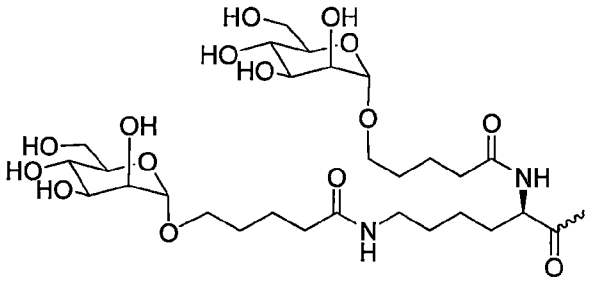
式XIX，



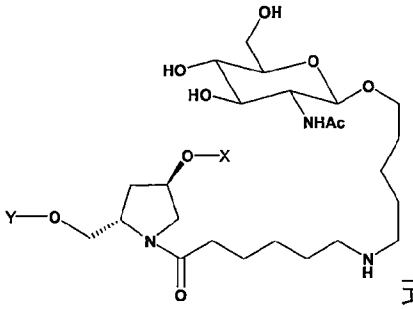
式XX，



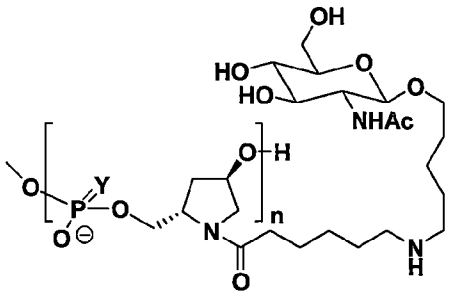
式XXI，



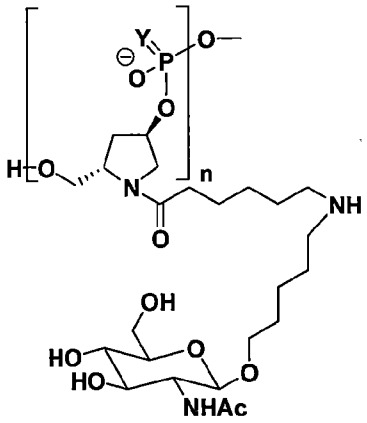
式 XXII，



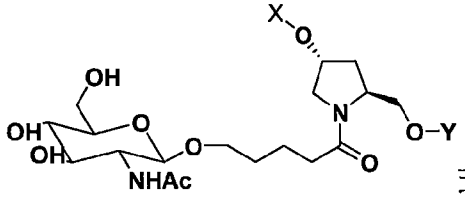
式 XXIII；



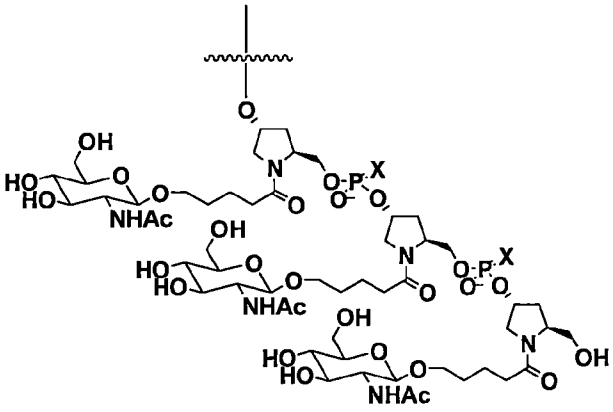
，其中 Y 是 O 或 S，n 是 3 至 6(式 XXIV)；



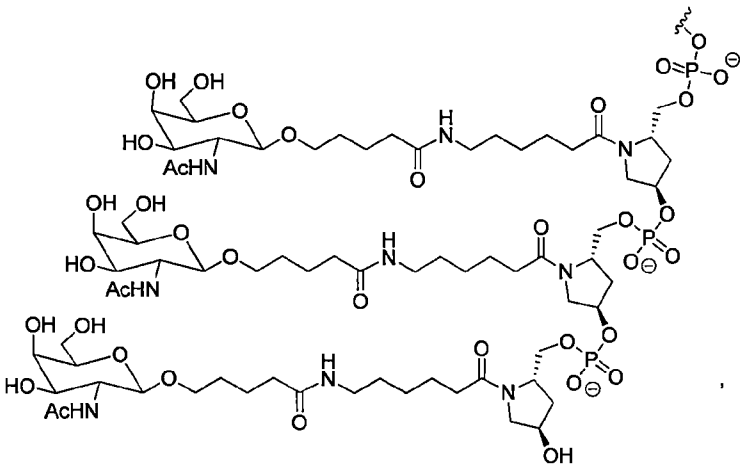
，其中 Y 為 O 或 S，n 為 3 至 6(式 XXV)；



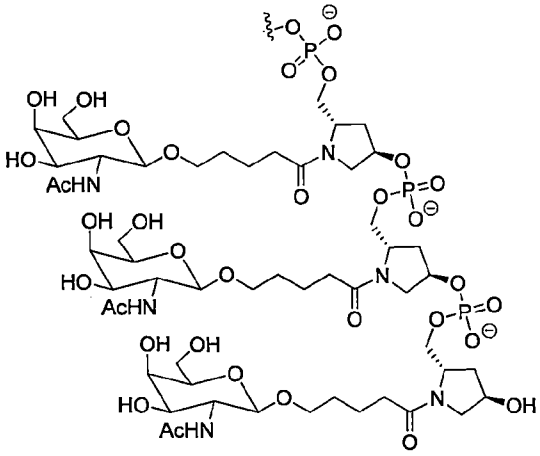
式 XXVI；



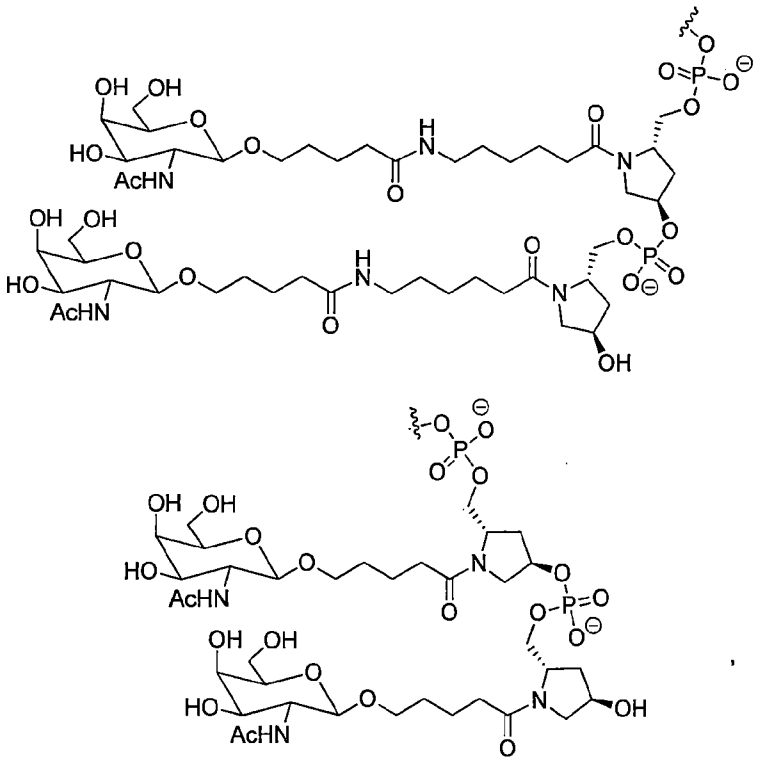
，其中 X 是 O 或 S(式 XXVII)；



，

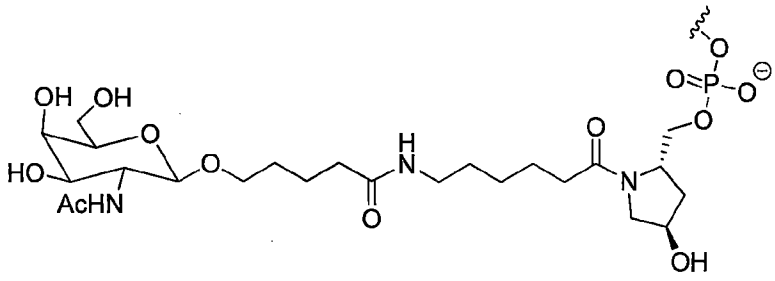


式 XXVII；式 XXIX；

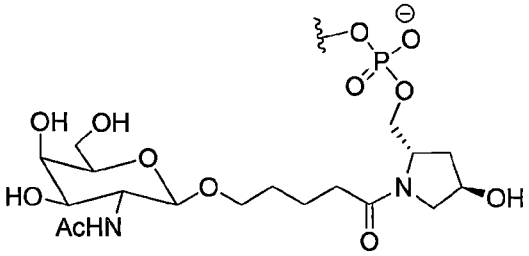


式 XXX；

式 XXXI；

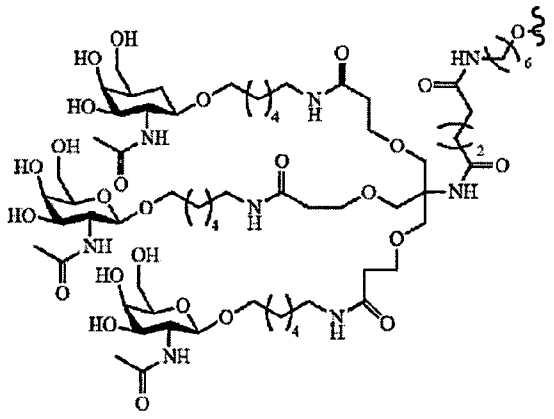


，以及



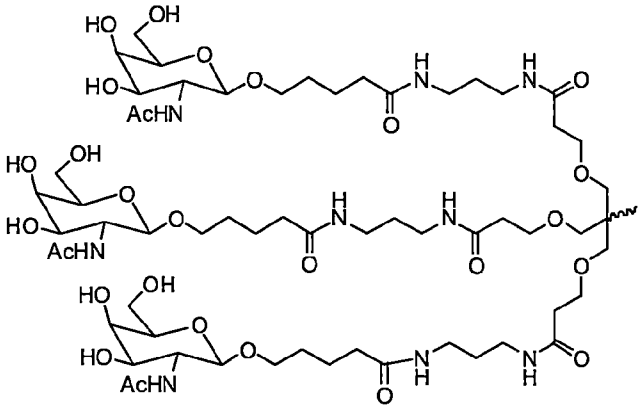
式 XXXII；

式 XXXIII。



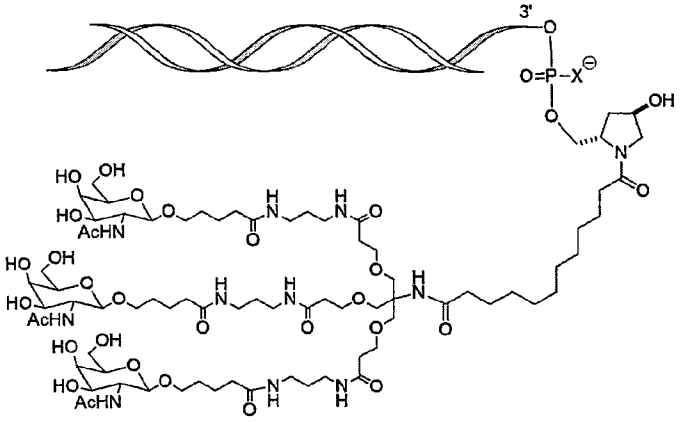
式 XXXIV。

【0521】於另一實施態樣中，用於本發明的組成物和方法中使用的碳水化合物接合物是單糖。於一實施態樣中，該單糖是 N-乙醯半乳糖胺，例如



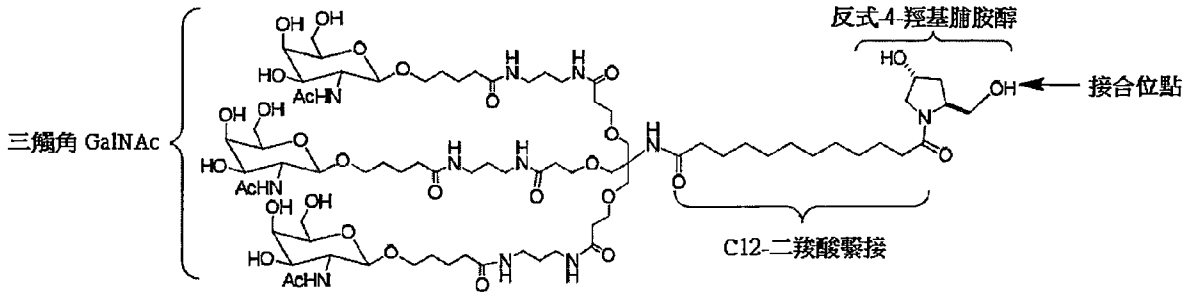
式 II。

【0522】於一些實施態樣中，RNAi 劑藉由如下方案所示的連接子附接在碳水化合物接合物，其中 X 為 O 或 S。

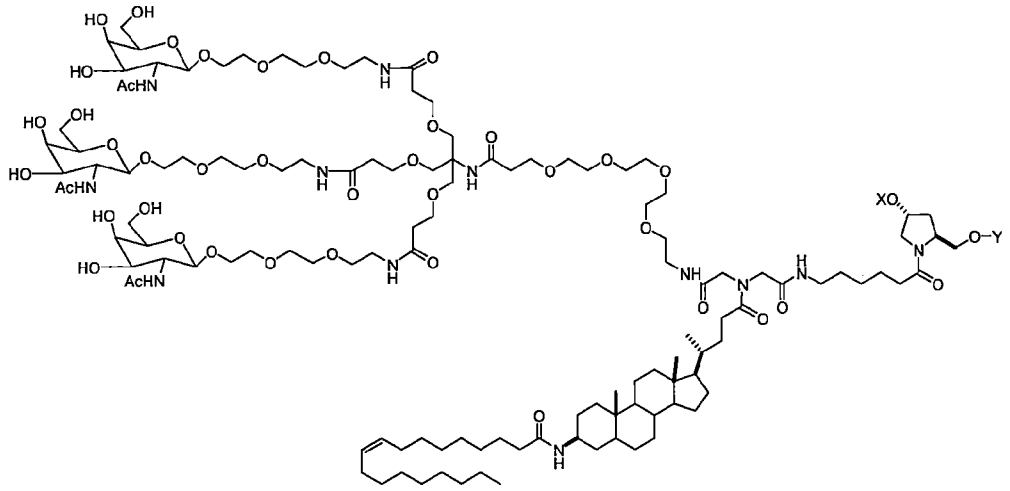


。

【0523】於一些實施態樣中，RNAi 劑與 L96 接合如表 1 所示，如下所示：

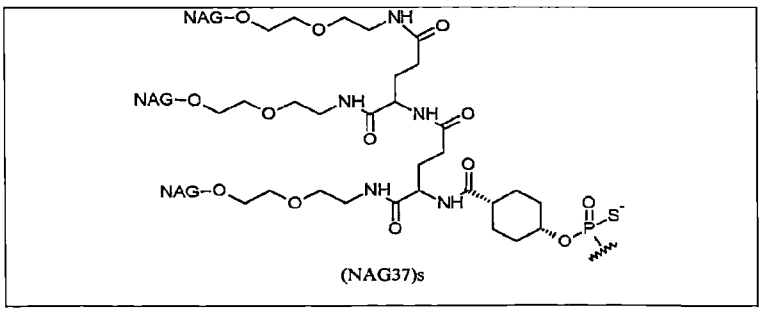


【0524】用於本文所述的實施方案中的另一種代表性碳水化合物接合物包括但不限於，



(式 XXXVI)，當 X 或 Y 中的一個是寡核苷酸時，另一個是氫。

【0525】於一些實施態樣中，合適的配體是 WO 2019/055633 中公開的配體，其全部內容藉由引用併入本文。於一實施例中，配體包括如下結構：



【0526】 在本發明的某些實施態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由單價連接子附接到本發明 的 iRNA 劑。於一些實施態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由二價連接子附接在本發明 的 iRNA 劑。在本發明的又一實施態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物藉由三價連接子附接在本發明 的 iRNA 劑。

【0527】 於一實施態樣中，本發明的雙鏈體 RNAi 劑包括一個或多個附接在 iRNA 劑的 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。GalNAc 可以藉由有義股或反義股的連接子附接到任何核苷酸。GalNac 可以附接到有義股的 5'-端、有義股的 3'-端、反義股的 5'-端或反義股的 3'-端。在一個實施態樣中，GalNAc 被附接到有義股的 3'-端，例如，藉由三價連接子。

【0528】 在其它實施態樣中，本發明的雙鏈體 RNAi 劑包括多個(例如，2、3、4、5 或 6)GalNAc 或 GalNAc 衍生物，每個衍生物獨立地藉由多個連接子連接到多個雙鏈體 RNAi 劑的核苷酸，例如，一價連接子。

【0529】 於一些實施態樣中，例如，當本發明之 iRNA 劑之兩股皆係一個更大分子之一部分且藉由位於一股之 3'-末端與另一股之 5'-末端之間的不間斷核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結子接附之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。

【0530】 於一些實施態樣中，碳水化合物接合物還包括一個或多個如上所述的附加配體，例如，但不限於，PK 調節劑或細胞滲透肽。

【0531】 適合在本發明中使用的其他碳水化合物接合物和連接子包括 PCT 公開號中描述的那些。WO 2014/179620 和 WO 2014/179627，其全部內容藉由引用併入本文。

【0532】 D. 連接子

於些實施態樣中，本文中描述的接合物或配體可以附接到具有可裂解或不可裂解的各種連接子的 iRNA 寡核苷酸。

【0533】 術語「連結子」或「連結基團」是指連接化合物的兩個部分的有機部分，例如，共價連接化合物的兩個部分。直接鍵或原子如氧或硫的連接子，如 NR8、C(O)、C(O)NH、SO、SO_2、SO_2NH 或原子鏈，例如，但不限於，被取代或未取代的烷基、被取代或未取代的烯基、被取代或未取代的炔基、芳基烷基、芳烯基、芳基烷基、 雜芳基烷基、雜芳基烯基、雜芳基烷基、雜環基烷基、雜環基烷基、雜環基烷基、芳基、雜芳基、雜環基、環烷基、環烯基、環烯基、烷基芳基、烷基芳基、烷基芳基烯基、烷基芳基烷 基、烯基芳基烷基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、烯基芳基烯基、炔基芳基烷基、烷基芳基烯基、烷基芳基烯基、烷基芳基烯基、烷基異芳基烷基、烯基異芳基烷基、烯基雜芳基烷基、炔基異芳基烷基、炔基異芳基烯基、炔基雜芳基烷基、烷基雜環基烷基、烷基雜環基烯基、烷基異環基烯基、烷基異環基烯基、烯基異環基烷基、烯基異環基烷基、烯基雜環 烯基、烯基雜環烯基、炔基雜環基烷基、炔基雜環基烯基、炔基雜環烯基、炔基雜環烯基、烷基異環基烷基、烷基芳基、烷基異環烯基、烷基異芳基，其中一種或多種亞甲基乙烯被 O、S、S(O)、SO_2、N(R8)、C(O)、取代或未取代的芳基、取代或未取代的雜芳基、或取代或未取代的雜環中斷或終止；其中 R8 是氫、醯基、脂肪族或取代的脂肪族。於一實施例中，所述連接子約為 1 至 24 個原子、2 至 24、3 至 24、4 至 24、5 至 24、6 至 24、6 至 18、7 至 18、8 至 18、7 至 17、8 至 17、6 至 16、7 至 17 或 8 至 16 個原子。

【0534】 可裂解的連接基團是在細胞外足夠穩定的基團，但在進入靶細胞

時被裂解以釋放連接子保持在一起的兩個部分。在示例性實施方案中，可裂解連接基團在目標細胞中或在第一參考條件下(例如，可以選擇模擬或表示細胞內條件)中比在個體血液中裂解至少約 10 次、20 次、30 次、40 次、50 次、60 次、70 次、80 次、90 倍或更多，或至少快 100 倍，或在第二個參考條件下(例如，可以選擇其來模仿或代表在血液或血清中發現的條件)。

【0535】 可裂解的連接基團容易受到裂解劑的影響，例如 pH 值、氧化還原電位或降解分子的存在。通常，與血清或血液相比，乳裂劑在細胞內更普遍或更高量級或活動。這種降解劑的例子包括：為特定受質選擇的氧化還原劑或沒有受質特異性的氧化還原劑，例如，包括存在於細胞中的氧化或還原酶或還原劑如硫醇，其可以藉由還原降解氧化可裂解的連接基團；酯酶；內體或可以產生酸性環境的劑，例如那些導致 pH 值為 5 或更低的；酶，藉由作為一般酸、肽酶(可以是受質特異性)和磷酸酶，可以水解或降解酸可裂解連接基團。

【0536】 可裂解的鍵結基團，如二硫鍵，可對 pH 值敏感。人血清的 pH 值為 7.4，而細胞內平均 pH 值略低，範圍約為 7.1 至 7.3。內體具有更酸性的 pH 值，在 5.5 至 6.0 的範圍內，而溶酶體在 5.0 左右具有更酸性的 pH 值。一些連接子將具有可裂解的連接基團，該基團在選定的 pH 下被裂解，從而從細胞內的配體釋放陽離子脂質，或釋放到細胞的所需隔室中。

【0537】 連接子可以包括可由特定酶裂解的可裂解連結基團。合併到連接子中的可裂解連結基團的類型可能取決於要靶向的細胞。例如，肝臟靶向配體可以藉由包含酯基的連接子與陽離子脂質連接。肝細胞富含酯酶，因此與不富含酯酶的細胞類型相比，肝細胞中的連接子將被更有效地裂解。其他富含酯酶的細胞類型包括肺細胞、腎皮質細胞和睾丸細胞。

【0538】 含有肽鍵的連接子可用於靶向富含肽酶的細胞類型，例如肝細胞和滑膜細胞。

【0539】 通常，可以藉由測降解劑(或條件)裂解候選連結組的能力來評估候選可裂解連結組的適用性。還希望測候選可裂解連接基團是否能夠抵抗血液中的裂解或與其它非靶組織接觸時。因此，可以確定第一和第二條件之間的相對易碎性，其中第一個條件被選為指示靶細胞中的裂解，並且選擇第二個條件以指示其它組織或生物體液(例如血液或血清)中的裂解。評估可以在無細胞系統、細胞、細胞培養、器官或組織培養物或整個動物中進行。在無細胞或培養條件下進行初步評估並藉由對整個動物的進一步評估進行確認是有用的。在某些實施方案中，有用的候選化合物在細胞中(或在體外條件下選擇模仿細胞內條件)比血液或血清(或在 體外條件下選擇模仿細胞內條件)裂解至少約 2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90 或 100 倍。

【0540】 i. 氧化還原可裂解連結基團

在某些實施態樣中，可裂解連接基團是在還原或氧化時被裂解的氧化還原可裂解連接基團。可還原裂解連結基團的一個例子是二硫化物連接基團(-S-S-)。為了確定候選可裂解連結基團是否是合適的「可還原可裂解鏈接基團」，或者例如適合與特定的 iRNA 部分和特定的靶向劑一起使用，可以查看本文中描述的方法。例如，候選物可以藉由與二硫磷脂醇(DTT)或其它還原劑一起孵育來評估，使用本領域已知的劑，其模擬將在細胞中觀察到的裂解速率，例如，靶細胞。候選人也可以在選擇模擬血液或血清條件的條件下進行評估。在其中一種情況下，候選化合物在血液中最多被裂解約 10%。在其它實施態樣中，有用的候選化合物在細胞中降解的速度至少比血液(或在 體外 條件下選擇模擬細胞內條件)快約

2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90或約100倍。候選化合物的裂解速率可以在選擇模擬細胞內培養基的條件下使用標準酶動力學測定來確定，並與選擇模擬細胞外培養基的條件進行比較。

【0541】 ii. 基於磷酸酯可裂解連接基團

在其它實施態樣中，可裂解連接子包括基於磷酸酯的可裂解連接基團。基於磷酸酯的可裂解連接基團被降解或水解磷酸酯基團的劑裂解。在細胞中裂解磷酸酯基團的一個例子是細胞中的磷酸酶等酶。基於磷酸酯之連接基團的例子是-O-P(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(SRk)-O-、-S-P(ORk)-O-、-O-P(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)-O-、-S-P(O)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-，其中Rk在每次出現時可以獨立地為C1-C20烷基，C1-C20鹵代烷基，C6-C10芳基或C7-C12芳烷基。示例性實施態樣包括-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)-S-、-S-P(O)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O，-S-P(O)(H)-S-S-、--和-O-P(S)(H)-S-S-。在某些實施態樣中，基於磷酸酯連接基團是-O-P(O)(OH)-O-。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

【0542】 iii.酸性可裂解連接基團

在其它實施態樣中，可裂解連接子包括酸性可裂連接基團。酸性可裂解連結基團是在酸性條件下被裂解的連結基團。在某些實施態樣中，酸可裂解連接基團在pH值約為6.5或更低(例如，約6.0、5.5、5.0或更低)的酸性環境中裂解，或藉由可充當一般酸的酶等劑進行裂解。在細胞中，特定的低pH細胞器，如內體和溶酶體，可以為酸裂解連接基團提供裂解環境。酸可裂解連接基團的實例包括

但不限於腙、酯和胺基酸的酯。酸性可裂解基團可以具有通式-C＝NN-、C(O)O或-OC(O)。一個示例性實施態樣是當附接在氧的碳(烷氧基)是芳基、取代的烷基或三級烷基，例如二甲基戊基或三級丁基時。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

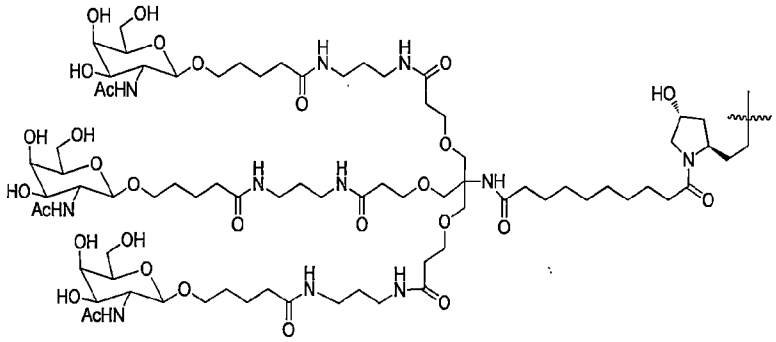
【0543】 iv. 基於酯的連結基團

在其它實施態樣中，可裂解連接子包括基於酯的可裂解連結基團。基於酯的可裂解連接基團被細胞中的酯酶和醯胺酶等酶裂解。酯基可裂解連接基團的實例包括但不限於伸烷基、伸烯基及伸炔基的酯類。酯可裂解連結基團的一般式為-C(O)O-或-OC(O)-。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

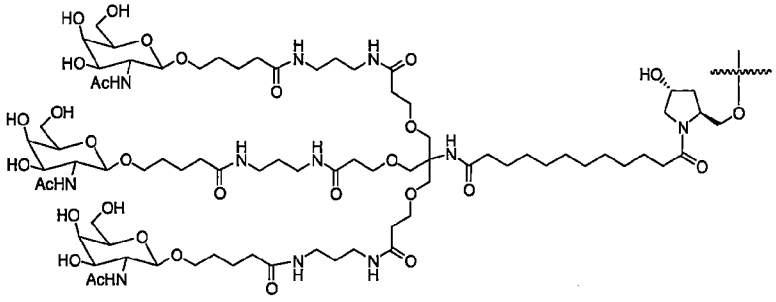
【0544】 v. 基於肽的裂解基團

在又一個其它實施態樣中，可裂解連接子包括基於肽的可裂解連接基團。基於肽的可裂解連接基團由細胞中的肽酶和蛋白酶等酶裂解。基於肽的可裂解連接基團是在胺基酸之間形成的肽鍵，以產生寡肽(例如，二肽、三肽 等)和多肽。基於肽的可裂解基團不包括醯胺基團(-C(O)NH-)。醯胺基可以在任何亞烷基、亞克尼基或炔烴之間形成。肽鍵是胺基酸之間形成的一種特殊類型的醯胺鍵，用於產生肽和蛋白質。基於肽的裂解基團通常局限於在產生肽和蛋白質的胺基酸之間形成的肽鍵(即醯胺鍵)，並且不包括整個醯胺官能團。基於肽的可裂解連接基團具有一般式 - NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-，其中 RA 和 RB 是兩個相鄰胺基酸的 R 基團。可以使用類似於上述方法評估這些候選項。

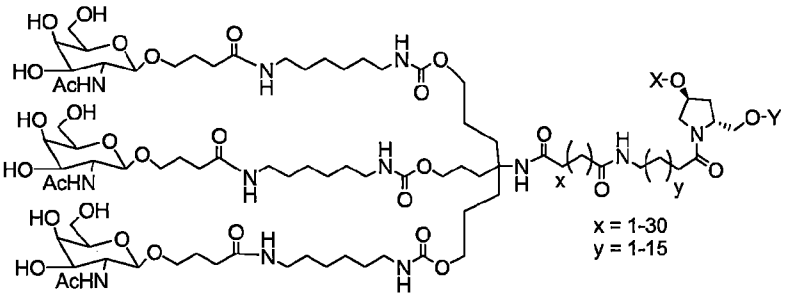
【0545】 於一些實施態樣中，本發明的 iRNA 藉由連接子與碳水化合物接合。iRNA 碳水化合物接合物與本發明組成物和方法的接合物的非限制性實例包括但不限於，



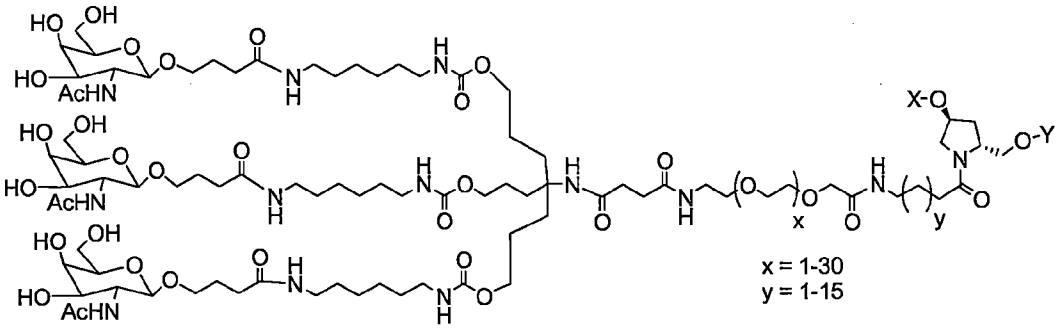
(式 XXXVII)，



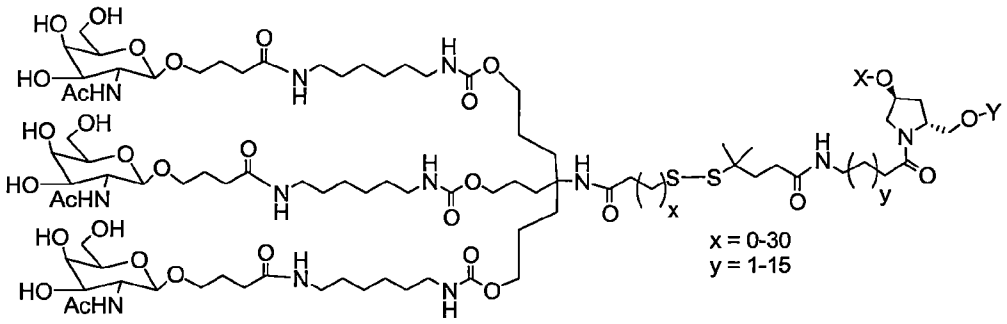
(式 XXXVIII)，



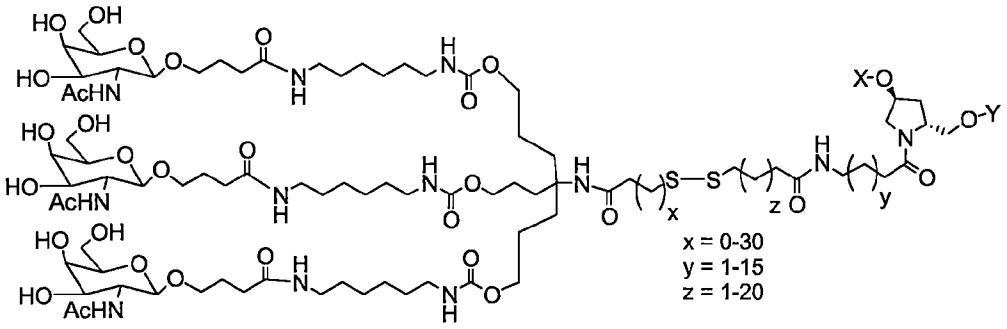
(式 XXXVIIII)，



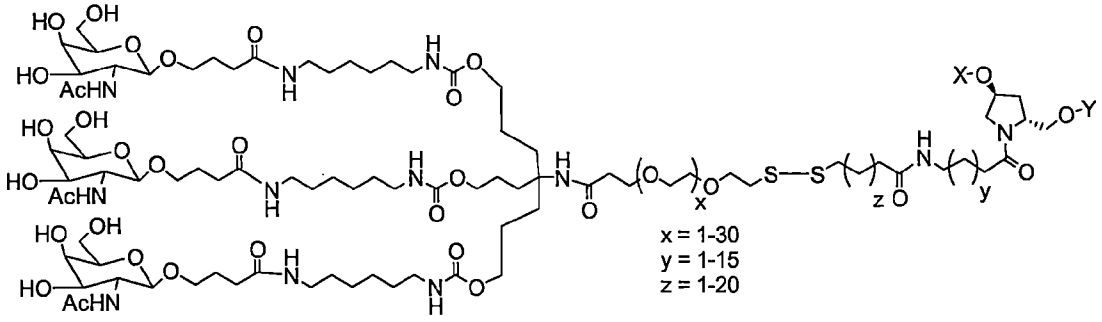
(式 XL)，



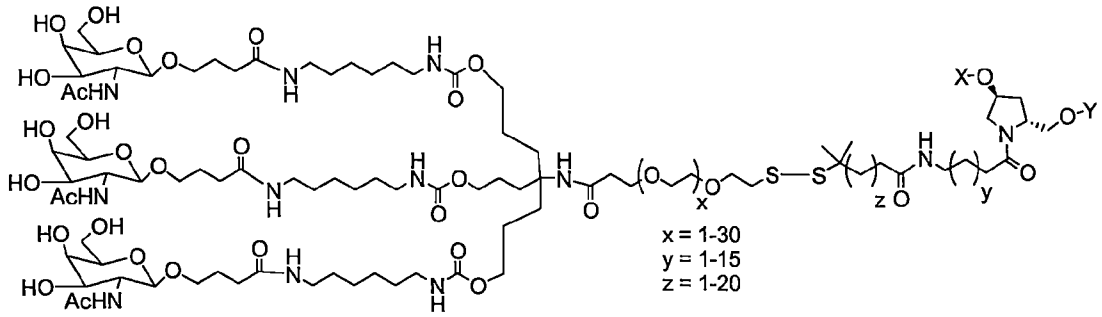
(式 XLI)，



(式 XLII)，



(式 XLIII)，以及



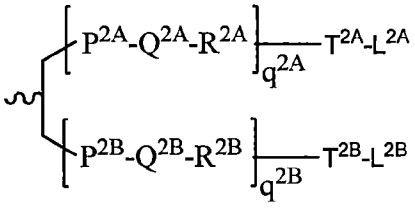
(式 XLIV)，當 X 或 Y 中的一個是寡核苷酸時，另一個是氫。

【0546】 在本發明的組成物和方法的某些實施態樣中，配體是藉由二價或

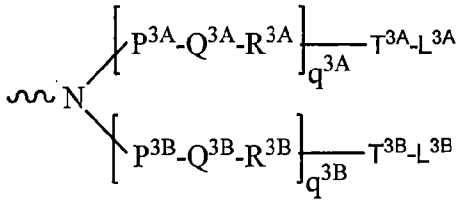
三價支鏈連接子復接的一種或多種「GalNAc」(N-乙醯半乳糖胺)衍生物。

【0547】於一實施態樣中，本發明的 dsRNA 與選自式(XLV)至(XLVIII)任一者所示的結構組的二價或三價支鏈連接子接合：

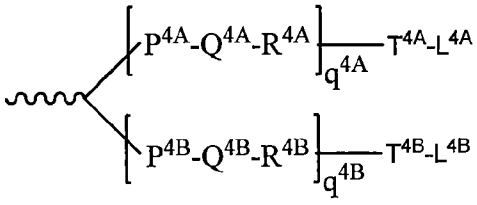
式 XXXXV

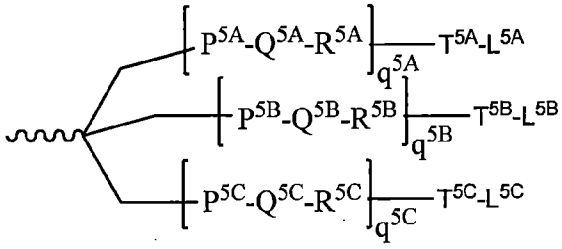


式 XLVI



，





；

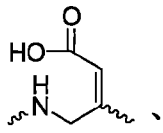
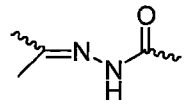
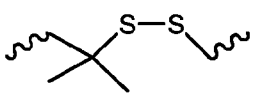
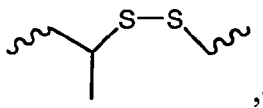
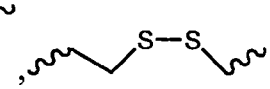
式 XLVII　　或　　式 XLVIII

其中：

q2A、q2B、q3A、q3B、q4A、q4B、q5A、q5B 和 q5C 分別表示每個出現 0-20，其中重複單元可以相同或不同；

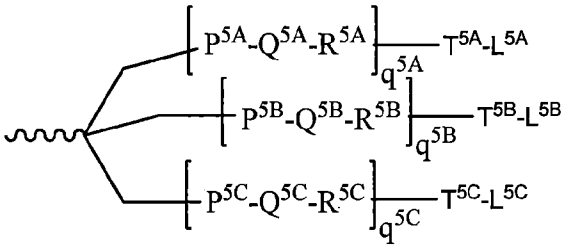
P^{2A}、P^{2B}、P^{3A}、P^{3B}、P^{4A}、P^{4B}、P^{5A}、P^{5B}、P^{5C}、T^{2A}、T^{2B}、T^{3A}、T^{3B}、T^{4A}、T^{4B}、T^{4A}、T^{5B}、T^{5C}分別獨立地用於每次出現，CO、NH、O、S、OC((O))、NHC((O))、CH_2 、CH_2NH 或 CH_2O；

Q^{2A}、Q^{2B}、Q^{3A}、Q^{3B}、Q^{4A}、Q^{4B}、Q^{5A}、Q^{5B}、Q^{5C}對於每次出現均獨立不存在亞烷基、取代亞烷基，其中一種或多種亞甲基可以被 O、S、S(O)、SO_2、N(RN)、C(R')=C(R")、C≡C 或 C(O)中的一種或多種干擾或封端；

R^{2A}、R^{2B}、R^{3A}、R^{3B}、R^{4A}、R^{4B}、R^{5A}、R^{5B}、R^{5C}對於每次出現均獨立存在，NH、O、S、CH_2、C(O)O、C(O)NH、$NHCH(R^a)C(O)$、-C(O)-$CH(R^a)$-NH-、CO、CH=N-O、  、  、  、  、  或雜環基；

L^{2A}、L^{2B}、L^{3A}、L^{3B}、L^{4A}、L^{4B}、L^{5A}、L^{5B}及L^{5C}代表配體；即每個獨立地為每種單糖(如 GalNAc)、二糖、三糖、四糖、寡糖或多糖而單獨出現；而 Ra 是 H 或胺基酸的側鏈。三價接合 GalNAc 衍生物特別適用於與 RNAi 劑一起用於抑制靶基因的表現，例如式(XLIX)的那些：

式 XLIX



，

其中 L5A, 、L5B 和 L5C 代表單糖，如 GalNAc 衍生物。

【0548】 合適的二價和三價支鏈連接子基團接合 GalNAc 衍生物的實例包括但不限於上述列舉的結構為式 II、VII、XI、X 和 XIII。

【0549】 美國代表教示 RNA 接合物製備的專利包括但不限於美國。專利號 4,828,979；4,948,882；5,218,105；5,525,465；5,541,313；5,545,730；5,552,538；5,578,717, 5,580,731；5,591,584；5,109,124；5,118,802；5,138,045；5,414,077；5,486,603；5,512,439；5,578,718；5,608,046；4,587,044；4,605,735；4,667,025；

4,762,779；4,789,737；4,824,941；4,835,263；4,876,335；4,904,582；4,958,013；5,082,830；5,112,963；5,214,136；5,082,830；5,112,963；5,214,136；5,245,022；5,254,469；5,258,506；5,262,536；5,272,250；5,292,873；5,317,098；5,371,241, 5,391,723；5,416,203, 5,451,463；5,510,475；5,512,667；5,514,785；5,565,552；5,567,810；5,574,142；5,585,481；5,587,371；5,595,726；5,597,696；5,599,923；5,599,928；5,688,941；6,294,664；6,320,017；6,576,752；6,783,931；6,900,297；7,037,646；和 8,106,022，其中每一項的全部內容特此藉由引用併入本文。

【0550】 沒有必要對給定化合物中的所有位置進行均勻修飾，事實上，上述修飾中的一種以上可以摻入單個化合物中，甚至可以摻入 iRNA 中的單個核苷中。本發明還包括作為嵌合化合物的 iRNA 化合物。

【0551】 在本發明的上下文中，「嵌合體」iRNA 化合物或「嵌合體」是 iRNA 化合物，例如 dsRNAi 劑，它們包含兩個或多個化學上不同的區域，每個區域由至少一個單體單元組成，即, 在 dsRNA 化合物的情況下具有核苷酸。這些 iRNA 通常包含至少一個區域，其中 RNA 被修飾，以使 iRNA 增加對核酸酶降解的抵抗力，增加細胞攝取或增加對靶核酸的結合親和力。iRNA 的另一個區域可以作為能夠裂解 RNA：DNA 或 RNA：RNA 雜交種的酶的受質。例如，RNase H 是一種細胞內切酶，可裂解 RNA：DNA 雙鏈體的 RNA 鏈。因此，RNase H 的活化導致 RNA 標靶的裂解，從而大大提高了 iRNA 抑制基因表現的效率。因此，與硫代磷酸酯去氧 dsRNA 雜交到同一靶區相比，當使用嵌合 dsRNA 時，通常可以使用較短的 iRNA 獲得可比的結果。RNA 標靶的裂解可以藉由凝膠電泳和必要時與本領域已知的核酸雜交技術相關的常規檢測。

【0552】在某些情況下，iRNA的RNA可藉由非配體基團予以修飾。大量非配體分子業經接合至iRNA以提升iRNA之活性、細胞分佈或細胞攝取，且執行此類接合之過程可在科技文獻中獲得。此類非配體部分業經包括脂質部分，如膽固醇(Kubo, T. *et al., Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61；Letsinger *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:65533)、膽酸(Manoharan *et al., Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan *et al., Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306；Manoharan *et al., Bioorg. Med. Chem. Let.*, 1993, 3:2765)、硫代膽固醇(Oberhauser *et al., Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533)、脂肪鏈例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras *et al., EMBO J.*, 1991, 10:111；Kabanov *et al., FEBS Lett.*, 1990, 259:327；Svinarchuk *et al., Biochimie*, 1993, 75:49)、磷脂質例如二-十六烷基-rac-甘油或1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸三乙銨(Manoharan *et al., Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651；Shea *et al., Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777)、聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan *et al., Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969)、或金剛烷乙酸(Manoharan *et al., Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651)、棕櫚醯基部分(Mishra *et al., Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229)、或十八烷基胺或己基胺-羰氧基膽固醇部分(Crooke *et al., J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923)。教示此類RNA接合物之製備的代表性美國專利列述於上文中。典型之接合策略牽涉在該序列之一個或多個位置承載胺基鏈結子之RNA的合成。胺基隨後與使用合適之偶聯劑或活化劑接合之分子反應。接合反應可使用仍鍵結至固體支撐物之RNA執

行，或在 RNA 於溶液相中裂解後執行。藉由 HPLC 純化 RNA 接合物通常提供純接合物。

【0553】 IV. 遞送本發明的 iRNA

【0554】 可藉由許多不同的方式將本發明的 iRNA 遞送到細胞，例如人類個體內的細胞(例如，需要本發明的 iRNA 的個體如易罹患或經診斷患有 RBP4-相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體)。例如，遞送可以藉由於體外或體內以本發明的 iRNA 與細胞接觸以進行遞送。體內遞送也可以藉由向個體施用含有 iRNA 的組成物(例如 dsRNA)直接進行。或者，可以藉由施用一個或多個編碼和指導 iRNA 表現的載體間接進行體內遞送。下文將進一步討論這些備選辦法。

【0555】 一般而言，任何遞送核酸分子的方法(體外或體內)都可以適於與本發明的iRNA一起使用(參見，例如，Akhtar S. and Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 及 WO94/02595，其藉由引用而以其整體併入本文)。對於活體內遞送，為了遞送 iRNA 分子而慮及之因素包括，舉例而言，所遞送至分子的生物學穩定性、非特異性效應之預防、及所遞送之分子在標靶組織內之蓄積。RNA 干擾亦業經顯示藉由直接注射進行之局部遞送的成功(Dorn, G., *et al.* (2004) *Nucleic Acids* 32:e49；Tan, PH., *et al* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66；Makimura, H., *et al* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18；Shishkina, GT., *et al* (2004) *Neuroscience* 129:521-528；Thakker, ER., *et al* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275；Akaneya,Y., *et*

al (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602)。修飾 RNA 或藥物載體還可以允許將 iRNA 靶向靶向組織並避免不良的脫靶效應。iRNA 分子可以藉由化學接合與親脂性基團(如膽固醇)進行修飾，以增強細胞攝取並防止降解。例如，將針對 ApoB 與親脂性膽固醇部分接合的 iRNA 全身注射到小鼠體內，並導致肝臟和空腸中 apoB mRNA 的減弱(Soutschek，J.*et al.*,(2004) Nature 432：173-178)。

【0556】 在替代實施態樣中，iRNA 可以使用藥物遞送系統，例如奈米顆粒、樹枝狀聚合物、聚合物、脂質體或陽離子遞送系統。帶正電的陽離子遞送系統有助於 iRNA 分子(帶負電荷)的結合，並且還增強帶負電荷的細胞膜上的相互作用，以允許細胞有效地攝取 iRNA。陽離子脂質，樹枝狀聚合物或聚合物可以結合到 iRNA，或誘導形成囊泡或微胞 (參見，例如，Kim SH. *et al.*, (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116)。囊泡或微胞的形成進一步防止了全身給藥時 iRNA 的降解。製造和施用陽離子-iRNA 複合物的方法完全符合本領域技術人員的能力(參見，例如，Sorensen, DR., *et al.* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766；Verma, UN. *et al.*, (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300；Arnold, AS *et al.* (2007) *J. Hypertens. 25:197-205*，其皆藉由引用而整體併入本文)。可用於 iRNA 之系統性遞送的藥物遞送系統之一些非限制性示例包括 DOTAP (Sorensen, DR., et al (2003)，同上；Verma, UN. et al., (2003)，同上)、「固體核酸脂質顆粒」(Zimmermann, TS. et al., (2006) Nature 441:111-114)、心磷脂(Chien, PY. et al., (2005) Cancer Gene Ther. 12:321-328；Pal, A. et al., (2005) Int J. Oncol. 26:1087-1091)、聚乙亞胺(Bonnet ME. et al., (2008) Pharm. Res. Aug 16 電子優先發佈；Aigner, A. (2006) J. Biomed. Biotechnol. 71659)、Arg-Gly-Asp (RGD)肽(Liu, S.

(2006) Mol. Pharm. 3:472-487)及聚醯胺基胺(Tomalia, DA. et al., (2007) Biochem. Soc. Trans. 35:61-67；Yoo, H. et al., (1999) Pharm. Res. 16:1799-1804)。於一些實施態樣中，iRNA與環糊精形成複合物用於全身給藥。iRNA和環糊精的給藥方法和醫藥組成物可可見於美國專利第7,427,605號，其藉由引用併入本文的全部內容。本揭露的某些方面係關於降低細胞中RBP4基因表現的方法，包括使該細胞與本揭露的雙股 RNAi 劑接觸。在一個實施態樣中，細胞是肝的細胞，視需要地是肝細胞。在一個實施態樣中，細胞是肝外細胞，視需要地是視網膜或眼細胞。

【0557】 A. 本發明的載體編碼 iRNA

【0558】 靶向 RBP4 基因的 iRNA 可以從插入 DNA 或 RNA 載體的轉錄單元中表現(參見，例如，Couture, A, *et al.*, *TIG.* (1996), 12:5-10；Skillern, A., *et al.*, 國際 PCT 公開案第 WO 00/22113 號；Conrad, 國際 PCT 公開案第 WO 00/22114 號；以及 Conrad, 美國專利第 6,054,299 號)。表現可以是短暫的(大約數小時至數週)或持續的(數週至數月或更長時間)，具體取決於所使用的特定構建體和靶組織或細胞類型。這些轉基因可以作為線性構建體、環形質粒或病毒載體引入，病毒載體可以是積分載體，也可以是非整合載體。轉基因也可以構建以允許其作為染色體外質粒遺傳(Gassmann, *et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995)92：1292)。

【0559】 可與本文所述的方法和組成物一起使用的病毒載體系統包括但不限於：(a)腺病毒載體；(b)逆轉錄病毒載體，包括但不限於慢病毒載體、莫洛尼鼠白血病病毒等；(c) 與腺相關的病毒載體；(d) 單純皰疹病毒載體；(e) SV 40 載體；(f) 多瘤病毒載體；(g) 乳頭狀瘤病毒載體；(h) 小核糖核酸病毒載體；

(i)痘病毒載體，如正痘，例如，牛痘病毒載體或鳥類痘病毒，例如 金絲雀痘或禽流感；和(j) 幫手依賴性或裸腺病毒載體。複製有缺陷的病毒也可能是有利的。不同的載體將或不會被納入細胞的基因組。如果需要，這些構建體可以包括用於轉染的病毒序列。或者，可以將構建體摻入能夠進行表泌體複製的載體中，例如 EPV 和 EBV 載體。用於 iRNA 重組表現的構建體通常需要調節元件，例如，啟動子、增強子等，以確保 iRNA 在靶細胞中的表現。載體及構造需考慮的其他態樣於本技術領域為已知的。

【0560】 V.本發明的醫藥組成物

【0561】 本發明尚包括包含本發明的 iRNA 的醫藥組成物及製劑。於一實施例中，本文提供的醫藥組成物含有如本文所述的 iRNA，以及藥學上可接受的載體。含有 iRNA 的醫藥組成物可用於預防或治療 RBP4-相關疾病(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質恆定性疾患、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。

【0562】 此類醫藥組成物係基於遞送方式而配製的。一個實例是配製用於藉由腸胃外遞送全身給藥的組成物，例如，藉由皮下注射(SC)、肌內(IM)或靜脈內(IV)給藥。本發明的醫藥組成物可投藥足以抑制 RBP4 基因表現的劑量。

【0563】 於一些實施態樣中，本發明的醫藥組成物是無菌的。於另一實施態樣中，本發明的醫藥組成物不含熱原。

【0564】 本發明的醫藥組成物可以足夠抑制 RBP4 基因表現的劑量施用。一般而言，本發明的 iRNA 的合適劑量將在每天每公斤體重約 0.001 至約 200.0 毫克的範圍內，一般在每公斤體重每天約 1 至 50 毫克的範圍內。通常，本發明

的 iRNA 的合適劑量將在約 0.1 毫克/千克至約 5.0 毫克/千克的範圍內，例如，約 0.3 毫克/千克和約 3.0 毫克/千克。重複劑量方案可能包括定期給予治療量的 iRNA，例如每月一次，每 3-6 個月一次或每年一次。在某些實施態樣中，iRNA 大約每月施用一次至約每六個月施用一次。

【0565】 在初始治療方案之後，治療可以以較低的頻率進行。治療持續時間可根據疾病的嚴重程度確定。

【0566】 在其它實施態樣中，單劑量的醫藥組成物可以持久，使得劑量以不超過 1、2、3 或 4 個月的間隔施用。在本發明的一些實施態樣中，單劑量的本發明醫藥組成物大約每月施用一次。在本發明的其它實施態樣中，每季度施用一次本發明醫藥組成物的單劑量(即，大約每三個月施用一次)。在本發明的其它實施態樣中，單劑量的本發明醫藥組成物每年施用兩次(即,，大約每六個月一次)。

【0567】 本技術領域具通常知識者將理解，某些因素可以影響有效治療個體所需的劑量和時間，包括但不限於個體中存在的突變，先前的治療，個體的一般健康情況或年齡以及存在的其他疾病。此外，以適當情況下，以預防性或治療有效量的組成物治療個體可以包括單一治療或一系列治療。

【0568】 本揭露的醫藥組成物可以多種方式施用，這取決於是否需要局部或全身治療以及取決於待治療的區域。投藥可以是局部的(包括眼用的、陰道的、直腸的、鼻內的、透皮的)、口服的或腸胃外的。腸胃外投藥包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注、皮下如藉由植入裝置；或顱內投藥，例如，藉由實質內、鞘內或心室內。

【0569】 於某些實施態樣中，醫藥組成物可藉由眼部組織注射直接投藥於眼睛，例如眼周、結膜、Tenon 氏囊下、眼房內、玻璃體內、眼內、前部或後部

近鞏膜、視網膜下、結膜下、球後或小管內注射；藉由使用導管或其他置放裝置，例如視網膜丸、眼內插入物、栓劑或包含多孔、無孔或凝膠狀材料的植入物，藉由外用滴眼劑或軟膏直接應用於眼睛；或藉由在盲管中或植入鞏膜附近(經鞏膜)或鞏膜(鞏膜內)或眼內的緩釋裝置。眼房內注射可經由角膜進入眼房，使藥劑到達小樑網。小管內注射可以進入引流舒萊姆管的靜脈收集通道或進入舒萊姆管。

【0570】 於一個實施態樣中，醫藥組成物可藉由玻璃體內注射(例如用預填充注射器以準備注射形式供醫務人員使用)投藥到眼睛如眼睛的玻璃體腔中。

【0571】 iRNA 可以靶向特定組織的方式遞送，例如肝臟、眼睛或肝臟和眼睛兩者。

【0572】 用於局部投藥的醫藥組成物和製劑可以包括透皮貼劑、軟膏、洗劑、乳膏、凝膠、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體和粉末。常規藥物載體、水性、粉末或油性基質、增稠劑等可能是必要的或合乎需要的。帶塗層的避孕套、手套等也可能有用。合適的外用製劑包括本揭露內容中具特徵的 RNAi 劑與外用遞送劑例如脂質、脂質體、脂肪酸、脂肪酸酯、類固醇、螯合劑和表面活性劑的混合物。合適的脂質和脂質體包括中性(例如二油醯磷脂醯 DOPE 乙醇胺、二肉荳蔻醯磷脂醯膽鹼 DMPC、二硬脂醯磷脂醯膽鹼)、陰性(例如二肉荳蔻醯磷脂醯甘油 DMPG)和陽離子型(例如二油醯四甲基胺基丙基 DOTAP 及二油醯磷脂醯乙醇胺 DOTMA)。本揭露內容中具特徵的 RNAi 劑可包封在脂質體中或可與其形成複合物，特別是與陽離子脂質體形成複合物。或者，RNAi 劑可與脂質複合，特別是陽離子脂質。合適的脂肪酸和酯包括但不限於花生四烯酸、油酸、二十烷酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉荳蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞油酸、亞麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸酯、甘油 1-單癸酸酯、1-十二烷基氮雜環庚

烷-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼或C1至20烷基酯(例如肉荳蔻酸異丙酯IPM)，甘油單酯、甘油二酯或其藥學上可接受的鹽。美國專利第6,747,014號中詳細描述了外用製劑，該專利藉由引用併入本文。

【0573】對於眼部投藥，可以藉由本領域已知的眼部遞送系統例如塗藥器或滴眼器以遞送軟膏或可滴液。此組合物可包括諸如透明質酸、硫酸軟骨素、羥丙基甲基纖維素或聚(乙烯醇)的類黏液模擬物，諸如山梨酸、EDTA或氯化苄基氯的防腐劑，以及通常量的稀釋劑或載體。

【0574】對於眼部投藥，本發明的siRNA、雙股RNA劑可投藥於眼睛表面或附近組織，例如眼瞼內部。其可為外用，例如，藉由噴霧、滴劑、洗眼液或軟膏。可由個體或其他人(例如醫療保健提供者)進行投藥。藥物可依計量劑量或在分配計量劑量的分配器中提供。藥物也可投藥於眼睛內部，並且可藉由針頭或其他可以將藥物引入選定區域或結構的輸送裝置引入。

【0575】於一個實施態樣中，本發明的siRNA、雙股RNA劑藉由外部投藥途徑以醫藥組成物的形式向眼部細胞投藥。在一個實施態樣中，適用於眼部遞送的醫藥組成物可包括與外部遞送劑混合的siRNA複合物。外部遞送劑可為多個微觀囊泡。微觀囊泡可為脂質體。於一些實施態樣中，脂質體係陽離子脂質體。

【0576】於另一個實施態樣中，dsRNA劑與外部滲透增強劑混合。於一個實施態樣中，外部滲透增強劑為脂肪酸。脂肪酸可為花生四烯酸、油酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉荳蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞油酸、亞麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油精、二月桂酸甘油酯、1-單癸酸甘油酯、1-十二烷基氮雜環庚烷-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼或C1-10烷基酯、甘油單酯、甘油二酯或其藥學上可接受的鹽。

【0577】於另一個實施態樣中，外部滲透增強劑為膽鹽。膽鹽可為膽酸、去氫膽酸、去氧膽酸、葡萄糖酸、乙醇酸、甘氨去氧膽酸、牛磺膽酸、牛磺去氧膽酸、鵝去氧膽酸、熊去氧膽酸、牛磺-24,25-二氫夫西酸鈉、醣基二氫夫西酸鈉、聚氧乙烯-9-月桂基醚或其藥學上可接受的鹽。

【0578】在另一個實施態樣中，該滲透增強劑為螯合劑。該螯合劑可為EDTA、檸檬酸、水楊酸鹽、膠原的N-醯基衍生物、月桂醇聚醚-9、β-二酮的N-氨基醯基衍生物或其混合物。

【0579】在另一個實施態樣中，滲透增強劑係表面活性劑，例如離子或非離子表面活性劑。該表面活性劑可為月桂基硫酸鈉、聚氧乙烯-9-月桂基醚、聚氧乙烯-20-十六烷基醚、全氟化物乳液其混合物。

【0580】在另一個實施態樣中，滲透增強劑可選自由不飽和環狀尿素、1-烷基-烷酮、1-烯基氮雜環-阿拉烷酮、甾體抗炎劑及其混合物所組成的群組。在又一個實施態樣中，滲透增強劑可為乙二醇、吡咯、氮酮或萜烯。

【0581】於一個態樣中，本發明的特徵在於適用於眼部投藥的醫藥組成物，包括siRNA化合物和遞送媒劑。於一個實施態樣中，siRNA化合物係(a) 19至25個核苷酸長，例如21至23個核苷酸，(b)與內源性標靶RNA互補，並且視需要地，(c)包括至少一個3'突出的1-5個核苷酸長度。

【0582】在一個實施態樣中，遞送媒劑可藉由外部投藥途徑遞送siRNA化合物，例如雙股siRNA化合物，或ssiRNA化合物(例如前體，例如可以加工成ssiRNA化合物的更大的siRNA化合物，或編碼為siRNA化合物的DNA，例如雙股siRNA化合物，或ssiRNA化合物或其前體)到達眼部細胞。遞送媒劑可為微觀囊泡。在一個實例中，微觀囊泡係脂質體。於一些實施態樣中，該脂質體係

陽離子脂質體。在另一個實例中，微觀囊泡係微胞。於一個態樣中，本發明的特徵在於醫藥組成物包括注射劑型的 siRNA 化合物，例如雙股 siRNA 化合物或 ssiRNA 化合物(例如前體，例如可以加工成 ssiRNA 化合物的更大的 siRNA 化合物，或編碼為 siRNA 化合物的 DNA，例如雙股 siRNA 化合物，或 ssiRNA 化合物或其前體)。在一個實施態樣中，該醫藥組成物的可注射劑型包括無菌水溶液或分散液和無菌粉劑。在一些實施態樣中，該無菌溶液可包括稀釋劑如水、生理鹽水、非揮發性油、聚乙二醇、甘油或丙二醇。

【0583】 本發明的 iRNA 分子可摻入適合眼部投藥的醫藥組成物中。這樣的組成物通常包括一種或多種 iRNA 和藥學上可接受的載體。如本文所用語言「藥學上可接受的載體」旨在包括任何及所有與對眼睛細胞的藥物投藥相容的溶劑、分散介質、塗料、抗菌和抗真菌劑、等張及吸收延遲劑等。此類介質和藥劑用於藥理學上活性物質的用途於本技術領域是眾所周知的。除非任何常規介質或劑與活性化合物不相容，否則考慮其在組合物中的用途。補充活性化合物也可摻入組合物中。

【0584】 對於眼部遞送，雙股 iRNA 劑可與眼科可接受的防腐劑、共溶劑、表面活性劑、黏度增強劑、滲透增強劑、緩衝劑、氯化鈉或水組合以形成水性、無菌眼用懸浮液或溶液。溶液製劑可藉由將結合物溶解在生理上可接受的等滲水性緩衝液中以製備。此外，溶液可包括可接受的表面活性劑以幫助溶解雙股 iRNA 劑。增黏劑，例如羥甲基纖維素、羥乙基纖維素、甲基纖維素、聚乙烯吡咯烷酮等可以添加到醫藥組成物中以改善雙股 iRNA 劑的保存。

【0585】 為製備無菌眼用軟膏製劑，該雙股 iRNA 藥劑與防腐劑結合於適當的載體中，例如礦物油、液態羊毛脂或白凡士林。根據本領域中已知的方法，

可藉由將雙股 iRNA 劑懸浮於親水性鹼中以製備無菌眼用凝膠製劑，該親水性鹼由例如 CARBOPOL®-940 (BF Goodrich, Charlotte, N.C.)等組合所製備。

【0586】 本發明的醫藥組成物包括但不限於溶液、乳液和含脂質體的製劑。這些組成物可以由各種組分產生，這些組分包括但不限於預製液體、自乳化固體和自乳化半固體。製劑包括那些靶向肝臟的製劑。

【0587】 本發明的藥物製劑，其可以方便地以單位劑型呈現，可以根據製藥工業中公知的常規技術製備。這些技術包括使活性成分與藥物載體或賦形劑結合的步驟。通常，製劑是藉由均勻和緊密地將活性成分與液體載體結合來製備的。

【0588】 A. 其他配方

【0589】 i. 乳液

【0590】 本發明的組成物可以製備和配製成乳液。乳液通常是一種液體分散在另一種液體中的異質體系，其形式通常直徑超過 0.1μm(參見 例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199；Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245；Block in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335；Higuchi *et al.*, in Remington's Pharmaceutical Sciences,

Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301)。乳液通常是雙相體系，由兩個不混溶的液相組成，它們彼此緊密混合和分散。一般來說，乳液可以是油包水(w/o)或水包油(o/w)品種。當水相被精細地分成並作為微小的液滴分散成塊狀油相時，所得的組成物稱為油包水(w / o)乳液。或者，當油相被精細地分成並作為微小的液滴分散到本體水相中時，所得組成物稱為水包油(o/ w)乳液。乳液除了分散相外，還可以含有其他組分，活性藥物可以作為溶液存在於水相，油相或本身作為單獨的相存在。乳化劑、穩定劑、染料和抗氧化劑等藥用賦形劑也可以根據需要存在於乳液中。藥物乳液也可以是由兩個以上相組成的多種乳液，例如，在油包水包油(o/w/o)和水包油包水(w/o/w)乳液的情況下。這種複雜的配方通常提供簡單的二元乳液所沒有的某些優點。多個乳液，其中 O / w 乳液的單個油滴包圍著小水滴，構成 w / o / w 乳液。同樣，封閉在油性連續相中穩定的水球中的油滴系統提供 o / w / o 乳液。

【0591】乳液的特點是熱力學穩定性很小或沒有熱力學穩定性。通常，乳液的分散相或不連續相被很好地分散到外相或連續相中，並藉由乳化劑的手段或製劑的粘度以這種形式保持。穩定乳液的其他方法需要使用乳化劑，乳化劑可以摻入乳液的任一相中。乳化劑大致可分為四類：合成表面活性劑，天然存在的乳化劑，吸收鹼和精細分散的固體(例如，參見 Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Idson，in Pharmaceutical Drug Drug Forms，Lieberman，Rieger and Banker (Eds.)，1988，Marcel Dekker，Inc.，New York，N.Y.，Volume 1，p. 199)。

【0592】合成界面活性劑，也稱為表面活性劑，在乳液的配方中具有廣泛的適用性，並且已經在文獻中進行了審查(例如，參見 Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285；Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199)。界面活性劑通常是兩親性的，包括親水和疏水部分。界面活性劑的親水性與疏水性的比例被稱為親水性/親脂性平衡(HLB)，是在製劑製備中對表面活性劑進行分類和選擇的寶貴工具。表面活性劑可以根據親水基團的性質分為不同的類別：非離子，陰離子，陽離子和兩性(參見 例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.，volume 1, p. 285)。

【0593】乳液配方中還包括各種各樣的非乳化材料，並有助於乳液的性能。這些包括脂肪，油，蠟，脂肪酸，脂肪醇，脂肪酯，保濕劑，親水膠體，防腐劑和抗氧化劑 Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.，volume 1, p. 335；Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman,

Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y.，volume 1, p. 199)。

【0594】 乳液製劑經由護膚途徑、口服途徑及腸胃外途徑之應用及其製造方法業經在文獻中回顧(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199)。

【0595】 ii. 微乳液

【0596】 在本發明的一個實施態樣中，iRNA 和核酸的組成物被配製成微乳液。微乳液可以定義為水，油和兩親物的系統，它是單個光學各向同性和熱力學穩定的液體溶液(參見，例如， Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY；Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245)。通常，微乳液是藉由將油首先分散在表面活性劑水溶液中，然後加入足夠量的第四組分(通常是中間鏈長醇)以形成透明體系來製備的體系。因此，微乳液也被描述為兩種不混溶液體的熱力學穩定，各向同性透明分散體，其由表面活性分子的界面膜穩定(Leung and Shah, in：Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215).

【0597】 iii. 微粒

【0598】 本發明的 iRNA 可以摻入到顆粒中，例如，微粒。微粒可以藉由噴霧乾燥生產，但也可以藉由其他方法生產，包括凍乾、蒸發、流動床乾燥、真空乾燥或這些技術的組合。

【0599】 iv. 滲透增強劑

【0600】 於一實施例中，本發明採用各種滲透增強劑來有效地將核酸，特別是 iRNA 遞送到動物的皮膚上。大多數藥物以電離和非電離形式存在於溶液中。然而，通常只有脂溶性或親脂性藥物容易穿透細胞膜。已經發現，如果用滲透增強劑處理要穿透的膜，即使是非親脂性藥物也可以穿過細胞膜。除了說明非親脂性藥物在細胞膜上擴散外，滲透增強劑還增強了親脂性藥物的通透性。

【0601】 滲透增強劑可分為五大類之一，即, 表面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑和非螯合非表面活性劑(參見例如，Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92)。上述各類滲透增強劑及其在製造醫藥組成物和遞送藥物劑中的用途是本領域公知的。

【0602】 v. 賦形劑

【0603】 與載體化合物相反，「藥物載體」或「賦形劑」是藥學上可接受的溶劑、懸浮劑或任何其他藥理學惰性載體，用於向動物遞送一種或多種核酸。輔料可以是液體或固體，並且選擇時，考慮到計劃的給藥方式，以便提供所需的體積，稠度等，當與核酸和給定醫藥組成物的其它組分結合時。這種劑是本領域公知的。

【0604】 vi. 其他組分

【0605】 本發明的組成物可以另外地含有傳統上在醫藥組成物中發現的其它輔助組分，在其技術上確定的使用量級。因此，例如，組成物可以含有額外的、相容的、藥學活性的材料，例如，例如，止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或抗炎劑，或者可以含有可用於物理配製本發明組成物的各種劑型的附加材料，例如染料、矯味劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑和穩定劑。然而，當添加這種材料時，不應過度干擾本發明組成物組分的生物活性。製劑可以滅菌，如果需要，可以與輔助劑混合，例如，潤滑劑、防腐劑、穩定劑、潤濕劑、乳化劑、用於影響滲透壓的鹽、緩衝劑、著色劑、調味劑或芳香物質等，它們不會與製劑的核酸產生有害的交互作用。

【0606】 水懸浮液可以含有增加懸浮液黏度的物質，例如包括羧甲基纖維素鈉，山梨糖醇或葡聚糖。懸浮液亦可含有穩定劑。。

【0607】 於某些實施例中，本發明中特徵的醫藥組成物包括(a)一種或多種 iRNA 和(b)一種或多種藉由非 iRNA 機制起作用並且可用於治療 RBP43-相關疾病的劑，例如，脂質代謝紊亂。

【0608】 這些化合物的毒性和預防功效可以藉由細胞培養物或實驗動物的標準藥物程序來確定，例如，用於確定 LD50(對 50%人群的致死劑量)和 ED50(在 50%人群中預防性有效的劑量)。毒性和治療效果之間的劑量比是治療指數，可以表示為 LD50 / ED50 的比例。具有高治療指數的化合物是優選的。

【0609】 從細胞培養測定和動物研究中獲得的數據可用於制定用於人類的劑量範圍。本發明中特有的組成物的劑量通常位於包括 ED50 的迴圈濃度範圍內，例如 ED80 或 ED90，具有很少或沒有毒性。劑量可以在此範圍內變化，具

體取決於所使用的劑型和使用的給藥途徑。對於本發明特徵方法中使用的任何化合物，可以首先從細胞培養測定中估計預防性有效劑量。可以在動物模型中配製劑量，以達到化合物的迴圈血漿濃度範圍，或者在適當的時候，達到目標序列的多肽產物(例如，實現多肽濃度的降低)，其中包括 IC50(即，達到癥狀半最大抑制的測化合物的濃度)或細胞培養中確定的更高量級的抑制。這些資訊可用於更準確地確定人體的有用劑量。血漿中的量級可以測量，例如，藉由高效液相色譜法。

【0610】 除了它們的施用之外，如上所述，本發明中特徵的 iRNA 可以與用於預防或治療 RBP4-相關疾病的其它已知劑聯合施用，例如, 脂質代謝紊亂。無論如何，投藥的醫師可根據使用本領域已知的或本文描述的療效標準測量值觀察到的結果來調整 iRNA 給藥的量和時間。

【0611】 VI. 抑制 TTR 及/或 RBP4 表現的方法

【0612】 本發明提供抑制 TTR 基因在細胞中表現的方法。該方法包括使細胞與抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)表現及和/或活性的劑接觸，例如靶向 TTR 的小分子或核酸劑，例如 iRNA 或反義寡核苷酸或靶向 TTR 的基因療法，其量可有效抑制細胞中 TTR 的表現，從而抑制細胞中 TTR 的表現。

【0613】 本發明還提供了抑制細胞中 RBP4 基因表現的方法。該方法包括使細胞與有效抑制細胞中 RBP4 表現的量的 RNAi 劑例如雙股 RNA 劑接觸，從而抑制細胞中 RBP4 的表現。

【0614】 本揭露的一些實施態樣中，TTR 及/或 RBP4 基因的表現在肝臟(例如，肝細胞)中被優先抑制。在本揭露其他實施態樣中，TTR 及/或 RBP4 基因的表現在眼(例如，眼或視網膜)和肝臟(例如，肝細胞)細胞中被抑制。

【0615】使細胞與本發明的 iRNA 接觸，例如靶向 RPB4 的雙股 RNA 劑；或靶向 TTR 的核酸劑或小分子，可在體外或體內進行。使體內細胞與本發明的 iRNA 或靶向 TTR 的核酸劑或小分子接觸包括使個體(例如人類個體)內的細胞或細胞群與本發明的 iRNA 或核酸或靶向 TTR 的小分子藥物接觸。接觸細胞的體外和體內方法的組合亦為可能的。如上所述，接觸細胞可為直接的或間接的。此外，接觸細胞可以藉由靶向配體實現，包括本文描述的或本領域已知的任何配體。在一些實施態樣中，靶向配體係碳水化合物部分，例如 $GalNAc_3$ 配體或將 RNAi 劑引導至感興趣位點的任何其他配體。

【0616】如本文所用，術語「抑制」與「減少」、「沉默」、「下調」、「壓制」及其他類似術語可互換使用，包括任何級別的抑制。

【0617】片語「抑制 TTR 及/或 RBP4 基因的表現」旨於意指抑制任何 TTR 及/或 RBP4 基因(例如，小鼠 TTR 及/或 RBP4 基因、大鼠 TTR 及/或 RBP4 基因、猴 TTR 及/或 RBP4 基因或人 TTR 及/或 RBP4 基因)以及 TTR 及/或 RBP4 基因的變體或突變。因此，TTR 及/或 RBP4 基因可為野生型 TTR 及/或 RBP4 基因、突變 TTR 及/或 RBP4 基因，或於基因操作細胞、細胞群或生物體的背景下的轉殖的 TTR 及/或 RBP4 基因。

【0618】「抑制 TTR 及/或 RBP4 基因的表現」包括任何量級的 TTR 及/或 RBP4 基因抑制，例如至少部分抑制 TTR 及/或 RBP4 基因的表現。 TTR 及/或 RBP4 基因的表現可基於與 TTR 及/或 RBP4 基因表現相關的任何變量的量級或量級變化以評估，例如 TTR 及/或 RBP4 mRNA 量級及/或 TTR 及/或 RBP4 蛋白量級。可以理解，TTR 或 RBP4 主要於肝臟中表現。

【0619】 亦可基於與TTR或RBP4基因表現相關的其他變量間接評估TTR及/或RBP4的表現，例如脂褐質積累量級、藉由眼底自發螢光攝影(FAF)確定的眼底自發螢光量級、Bruch氏膜(BM)增厚，隱結沉積的程度(例如亞-RPE基底層狀沉積及基底線狀沉積(即隱結)、RPE的變化(例如基底折疊的損失程度)、萎縮及增生、光感受器萎縮、視網膜或脈絡膜新生血管及纖維化，及/或反映光感受器萎縮減少的視網膜電圖(ERGS)的訊號。可於單個眼細胞或一組眼細胞中評估該量級，包括例如來自個體的樣本。

【0620】 抑制可以藉由與對照量級相比與 TTR 及/或 RBP4 表現相關的一種或多種變量的絕對或相對量級的降低以評估。對照量級可為本領域中使用的任何類型的對照量級，例如給藥前基線量級，或從未經處理或以對照處理的類似個體、細胞或樣本確定的量級(例如，僅有對照或去活性劑對照的緩衝液)。

【0621】 在本發明方法的一些實施態樣中，TTR及/或RBP4基因的表現被抑制至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%，或低於檢測的偵測量級。於一些實施態樣中，TTR 及/或 RBP4 基因的表現被抑制至少70%。還應理解抑制某些組織(例如肝臟)中的 TTR 及/或 RBP4 表現而不顯著抑制其他組織(例如腦)中的表現可能是合乎需要的。在一些實施態樣中，使用實施例 2 中提供的用 10nM siRNA 濃度於合適的物種匹配細胞株中的測定方法以確定表現量級。

【0622】 TTR 及/或 RBP4 抑制的程度或量級可根據要治療的疾病的類型而變化。例如，對於 RBP4 相關代謝失調，TTR 表現的完全或最大抑制(例如約85%、86%、87%、88%、89%。 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%抑制)可能為達到最大效果是有益的。反之，對於斯特格氏症，

以例如約 30%、40%、50%、60%、70%、80%或 85%的抑制量級抑制 TTR 表現可能是更理想的，如此可藉由降低 TTR/RPB4 的表現及降低向眼睛輸送視黃醇的量以減少有毒脂褐質的形成，且同時仍將因產生維生素 A 缺乏引起的毒性(例如夜盲症)的機會降至最低。

【0623】 在某些實施態樣中，體內表現的抑制藉由減弱(knockdown)表現人類基因的嚙齒動物中的人類基因以測定，例如，表現人類標靶基因 (例如，當以單劑量 (例如，在 RNA 表現的最低點以 3 mg /kg 投藥)投藥時)的小鼠或經 AAV 感染的小鼠。亦可測定模式動物系統中內源基因表現的減落，例如，在 RNA 表現的最低點以例如 3 mg/kg 單劑量投藥之後。當人基因及模式動物基因的核酸序列足夠接近以致人 iRNA 提供模式動物基因的有效減落時，此類系統是有用的。使用實施例 2 中提供的 PCR 方法測定肝臟中的 RNA 表現。

【0624】 TTR 及/或 RBP4 基因表現的抑制可藉由減少由第一細胞或細胞群(例如，此細胞可存在於來自個體的樣本中)表現的 mRNA 的量以證明，其中 TTR 及/或 RBP4 基因被轉錄並且已經被處理(例如，藉由使細胞或細胞與本發明的 iRNA 接觸，或藉由將本發明的 iRNA 投藥存在或曾經存在細胞的個體)使得 TTR 及/或 RBP4 基因的表現被抑制，與第二細胞或細胞群相比，第二細胞或細胞群與第一細胞或細胞群基本上相同，但沒有或尚未如此處理(未用 iRNA 處理或未用靶向目的基因的 iRNA 處理的對照細胞)。在一些實施態樣中，抑制情形藉由實施例 2 中提供的使用物種匹配細胞株中的 10nM siRNA 濃度的方法並使用以下公式將經處理細胞中的 mRNA 量級表現為對照細胞中 mRNA 量級的百分比以評估：

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

【0625】 於其他實施態樣中，TTR 及/或 RBP4 基因表現的抑制可根據與 TTR 及/或 RBP4 基因表現功能相關的參數的降低以評估，例如於個體 TTR 及/或 RBP4 蛋白量級。來自 TTR 及/或 RBP4 基因沉默對象的血液或血清可於任何表現 TTR 及/或 RBP4 的細胞中測定，無論是來自表現構體的內源性的亦或異源性的細胞，且藉由本領域已知的任何方法測定。

【0626】 TTR 及/或 RBP4 蛋白表現的抑制可藉由細胞或細胞群或個體樣本(例如來自個體的血液樣本中的蛋白質)中表現的 TTR 及/或 RBP4 蛋白量級的降低而呈現出來。如上所述，為了評估 mRNA 抑制，經理的細胞或細胞群中蛋白質表現量級的抑制可類似地表示為對照細胞或細胞組中蛋白質量級的百分比，或受樣本中的蛋白質量級，例如源自其個體之血液或血清。

【0627】 可用於評估 TTR 或 RBP4 基因表現抑制的對照細胞、細胞群或個體樣本包括尚未與本發明的 RNAi 劑接觸的細胞、細胞群或個體樣本。例如，在以 RNAi 劑或適當匹配的群體對照治療個體之前，對照細胞、細胞群或個體樣本可來自個體個體(例如，人或動物個體)。

【0628】 可使用本領域已知用於評估 mRNA 表現的任何方法以測定由細胞或細胞群表現的 TTR 及/或 RBP4 mRNA 的量級。於一個實施態樣中，樣本 TTR 及/或 RBP4 的表現量級藉由檢測轉錄的多核苷酸或其部分(例如 TTR 及/或 RBP4 基因的 mRNA)以確定。可使用 RNA 萃取技術從細胞中萃取 RNA，包括例如使用酸性酚/胍硫氰酸鹽萃取(RNAzol B； Biogenesis)。 RNeasyTM RNA 製備套組 (Qiagen®) 或 PAXgeneTM (PreAnalytixTM, Switzerland)。利用核糖核酸

雜交的典型測定形式包括核連續測定、RT-PCR、RNase保護測定、北方墨點法、原位雜交及微陣列分析。

【0629】於一些實施態樣中，使用核酸探針測定 TTR 及/或 RBP4 的表現量級。如本文所用，術語「探針」係指能夠選擇性結合特定 TTR 及/或 RBP4 的任何分子。探針可由本領域技術人員合成，或衍生自適當的生物製劑。探針可專門設計用於標記。可用作探針的分子的實例包括但不限於 RNA、DNA、蛋白質、抗體及有機分子。

【0630】分離的 mRNA 可用於雜交或擴增測定，包括但不限於南方或北方墨點分析、聚合酶連鎖反應 (PCR)分析及探針陣列。用於測定 mRNA 量級的一種方法包括將萃取的 mRNA 與可與 TTR 及/或 RBP4 mRNA 雜交的核酸分子(探針)接觸。於一個實施態樣中，將 mRNA 固定在固體表面並與探針接觸，例如藉由於瓊脂糖凝膠上運行萃取的 mRNA，並將 mRNA 從凝膠轉移至膜(例如硝化纖維素膜)。於另一個實施態樣中，探針被固定在固體表面並且 mRNA 與探針接觸，例如於 Affymetrix®基因晶片陣列中。本技術領域具通常知識者可以輕易地採用已知的 mRNA 檢測方法以測定 TTR 及/或 RBP4 mRNA 的量級。

【0631】用於測定樣本中 TTR 及/或 RBP4 表現量級的替代方法係係關於如樣本中 mRNA 的核酸擴增或反轉錄酶(以製備 cDNA)方法，例如，藉由 RT-PCR(Mullis 於 1987 年於美國專利第 4,683,202 號中詳述之實驗性態樣)、連接酶連鎖反應(Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193)、自我持續之序列複製(Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878)、轉錄擴增系統(Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177)、Q-β 複製酶(Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology*

6:1197)、滾環式複製(Lizardi *et al.*,美國專利第 5,854,033 號)或任何其他核酸擴增方法，然後使用本領域技術人員熟知的技術檢測擴增的分子。如果該等分子以非常低的數量存在，這些檢測方案對於檢測核酸分子特別有用。於本發明的特定態樣，TTR 及/或 RBP4 的表現量級藉由定量螢光 RT-PCR (即 TaqManTM 系統)測定。於一些實施態樣中，藉由實施例 2 中提供的方法使用例如 10 nM siRNA 濃度於物種匹配的細胞株中測定表現量級。

【0632】 TTR 及/或 RBP4 mRNA 的表現量級可使用膜墨點(例如用於雜交分析如北方、南方、點狀等)，或微孔、樣本管、凝膠、珠子或纖維(或任何包含結合核酸的固體支持物)以觀察。參見美國專利號 5,770,722、5,874,219、5,744,305、5,677,195 及 5,445,934，該些專利藉由引用併入本文。 RBP4 表現量級的測定亦可包括於溶液中使用核酸探針。

【0633】 在一些實施態樣中，使用分支 DNA (bDNA)測定或即時 PCR(qPCR)評估 mRNA 表現量級。這些方法的使用於本文呈現的實施例中進行了描述及舉例說明。於一些實施態樣中，表現量級藉由實施例 2 中提供的使用物種匹配細胞株中的 10 nM siRNA 濃度的方法以測定。

【0634】 TTR 及/或 RBP4 蛋白質表現的量級可使用本領域已知的用於測量蛋白質量級的任何方法以測定。該些方法包括例如：電泳、毛細管電泳、高效能液相層析法 (HPLC)、薄層層析 (TLC)、超擴散層析、流體或凝膠沉澱反應、吸收光譜、比色測定、分光光度測定、流式細胞儀、免疫擴散(單或雙)、免疫電泳、西方墨點法、放射免疫測定(RIA)、酶聯免疫吸附測定(ELISA)、免疫螢光測定、電化致發光測定等。

【0635】於一些實施態樣中，本發明方法的功效藉由 RBP4 mRNA 或蛋白質量級(例如，於肝生檢或眼部樣本中)降低以評估。

【0636】於一些實施態樣中，可藉由檢測或監測脂褐質及/或隱結沉積物的減少以監測本發明方法的功效。如本文所用，減少脂褐質及/或隱結沉積物包括於個體的眼睛或眼睛區域的脂褐質及/或隱結沉積物的大小、數量或嚴重程度的任何減少，或防止或減少脂褐質及/或隱結內沉積物的形成，其可使用本領域已知的任何方法於體外或體內評估。例如，於【Hunter, A.A.*et al.*, (2014) J Clin Exp Ophthalmol 5：327】中描述了對隱結沉積物進行成像的非侵入性方法，並且可與電腦化評估一起使用。彩色視基底攝影術及螢光素血管造影可用於確定隱結數量的存在。例如，基底自發螢光的量級可藉由基底自發螢光攝影(FAF)以測定。OCT 掃描能夠產生覆蓋中央黃斑的三維橫截面圖像，並提供更多的定量參數，例如沉積物的面積及體積。其他方法可能包括生化分析及眼組織中血管網絡的視覺或電腦化評估，例如免疫組織化學染色、螢光標記、螢光顯微鏡或其他類型的顯微鏡。

【0637】於一些實施態樣中，可藉由檢測或監測脈絡膜或視網膜中新生血管形成的減少以監測本發明方法的功效。如本文所用，減少新生血管形成包括於個體的眼睛或眼睛區域內新生血管形成的數量或大小的任何減少，或新生血管形成的預防或減少，其可使用本領域已知的任何方法於體外或體內進行評估。評估新生血管形成的方法可能包括非侵入性視網膜成像方法，例如彩色視基底攝影術及 OCT 掃描。其他方法可能包括生化分析以及眼組織中血管網絡的視覺或電腦化評估，例如免疫組織化學染色、螢光標記、螢光顯微鏡或其他類型的顯微鏡。

【0638】 在本發明方法的一些實施態樣中，將 iRNA 投藥於個體，使得 iRNA 被遞送至個體內的特定位點。 TTR 及/或 RBP4 表現的抑制可使用來自個體體內特定部位(例如，肝臟或血液或眼睛)的體液或組織的樣本中 TTR 及/或 RBP4 mRNA 或 RBP4 蛋白的量級或變化的測量以評估。

【0639】 如本文所用，術語檢測或測定分析物的量級應理解為表示執行步驟以測定材料如蛋白質、RNA 是否存在。如本文所用，檢測或測定的方法包括檢測或測定低於所用方法的檢測量級的分析物量級。

【0640】 VII. 本發明的預防和治療方法

【0641】 本發明亦提供包括使用抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)表現及/或活性的藥劑以治療或預防罹患或易於罹患斯特格氏症個體中的至少一種症狀的方法；降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中的維生素 A 量級的方法；降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法；及/或阻止罹患或易罹患斯特格氏症的個體視力喪失的進展的方法。

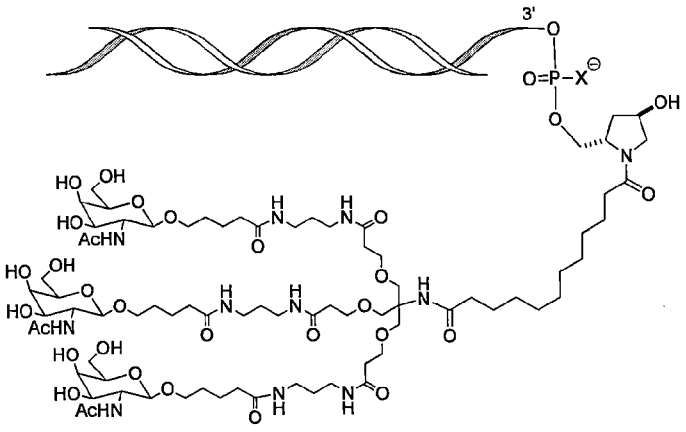
【0642】 斯特格氏症係最常見的遺傳性黃斑營養不良，其可導致漸進性視力喪失。斯特格氏症的估計患病率為 8,000 至 10,000 人之 1。此疾病會影響視網膜，即眼睛後部的特殊感光組織。具體來說，斯特格氏症影響視網膜中心附近的一個小區域，稱為黃斑。黃斑負責清晰的中央視覺，其為閱讀、駕駛及識別面部等詳細任務所必需的。在大多數罹患斯特格氏症的人中，黃斑下方的細胞中會積聚一種脂肪黃色素(脂褐質)。隨著時間的經過，這種物質的異常積累會損害對清晰的中央視力至關重要的細胞。除了中心視力喪失外，斯特格氏症病人亦存在夜視問題，其可能導致在低光源下難以行進。一些受影響的人也產生色覺受損。斯

特格氏症的體徵和症狀通常出現在兒童晚期至成年早期，並隨著時間的推移而惡化。

【0643】該方法包括向個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)表現及/或活性的藥劑。於一些實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的劑係選自由 TTR 小分子抑制劑、靶向 TTR 的核酸劑及抗 TTR 抗體所組成的群組。

【0644】於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 武特裡西蘭。武特裡西蘭 為一種專一於 TTR 的 siRNA，專為皮下投藥而配製。武特裡西蘭 藉由肝臟抑制產生引起疾病的 TTR 蛋白，導致血液中的 TTR 量級降低。武特裡西蘭的描述可於 PCT 公開號 WO 2017/023660 中找到，其內容以引用的方式整體併入。

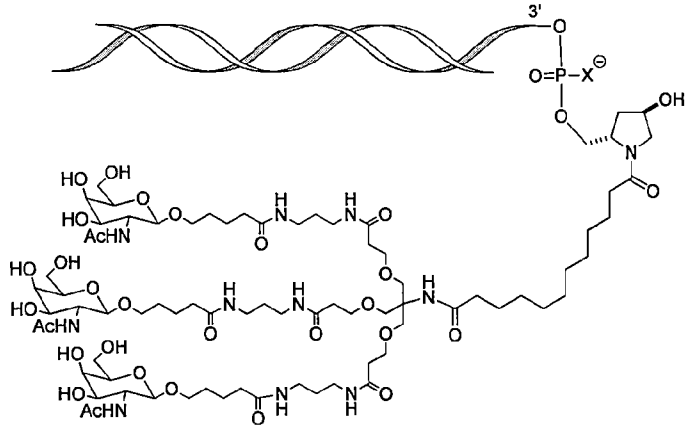
【0645】於一實施態樣中，核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3'端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【0646】 於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 雷烏西蘭。 雷烏西蘭為一種專一於 TTR 的 siRNA，其與三價 GalNAc 碳水化合物簇接合。雷烏西蘭的完整描述可於 PCT 公開號 WO 2013/075035 及美國專利公開號 2014/0315835 中找到，其內容以引用的方式整體併入。

【0647】 於一實施態樣中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'- UfgGfgAfuUfuCfAfUfgUfaacCfaAfgAf-3' (SEQ ID NO：22)的有義股及含有核苷酸序列 5'- uCfuUfgGfUfUfaCfaugAfaAfuCfcCfasUfsc-3' (SEQ ID NO：23)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，其中配體接合至有義股的 3'端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【0648】 於一實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 帕替西蘭。帕替西蘭為一種專一於 TTR 的小干擾核糖核酸 (siRNA)，其配製為用於靜脈內 (IV) 投藥的親肝脂質奈米顆粒 (LNP) (Akinc A, *et al.*, Nat Biotechnol. 2008；26(5)：561-569)。該 TTR siRNA 於 TTR 基因的 3' UTR 區域內有一個標靶區域，以確保和確認與野生型 TTR 及所有報告的 TTR 突變的同源性。在 LNP 介導的遞送至肝臟後，

帕替西蘭靶向 TTR mRNA 進行降解，從而藉由 RNAi 機制有效且持續地減少突變型及野生型 TTR 蛋白。

【0649】 於一實施態樣中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5'-GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT-3' (SEQ ID NO：24)的有義股及含有核苷酸序列 5'-AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT-3' (SEQ ID NO：25)的反義股，其中 A 為腺苷，C 為胞嘧啶，G 為鳥苷，U 為尿核苷，a 為 2'-O-甲基腺苷，c 為 2'-O-甲基胞嘧啶，g 為 2'-O-甲基鳥苷，u 為 2'-O-甲基尿核苷，以及 dT 為 2'-去氧胸苷。

【0650】 於一實施態樣中，該靶向 TTR 的核酸劑係 依諾特森。 依諾特森為一種對 TTR 專一的反義寡核苷酸，其藉由結合 TTR mRNA 導致突變型及野生型 TTR mRNA 的降解，從而導致血清和組織中的 TTR 蛋白減少(參見如美國專利號 8,101,743、8,697,860、9,061,044 及 9,399,774；每篇的全部內容藉由引用併入本文)。

【0651】 於一實施態樣中，該核酸劑係由 20 個連接的核苷所組成的單股經修飾的寡核苷酸，其具有由 5'-TCTTGGTTACATGAAATCCC-3' (SEQ ID NO：26)所組成的核鹼基序列，其中該經修飾的寡核苷酸包含：由十個連接的去氧核苷所組成的間隙片段；由五個連接的核苷所組成的 5′ 翼段；及由五個連接的核苷所組成的 3′ 翼段；其中該間隙片段位於 5′ 翼段及 3′ 翼段之間，其中每個翼段的每個核苷包含 2'-O-甲氧基乙基糖，其中每個核苷間鍵結係硫代磷酸酯鍵結，且其中每個經修飾的寡核苷酸的胞嘧啶係 5-甲基胞嘧啶。

【0652】 於另一個實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的劑為 他法米迪。於一些實施態樣中，藥劑以基於體重的劑量投藥於個體。於其他實施態樣中，藥劑以固定劑量投藥於個體。

【0653】 於一個實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，例如 武特裡西蘭。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25 mg 的劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，約每三個月一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽存於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25mg 的劑量約每三個月一次投藥於個體。

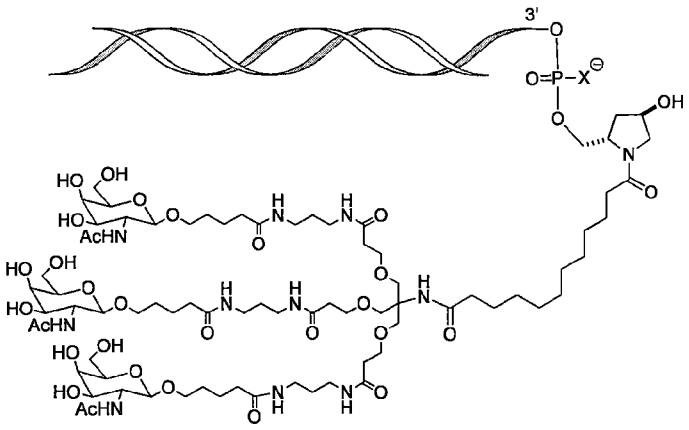
【0654】 於一個實施態樣中，靶向 TTR 的核酸係 dsRNA 劑或其鹽，例如 雷烏西蘭。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 50-500 mg 的劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，約每週一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，該 dsRNA 劑存於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，該 dsRNA 劑持續 5 天以 500 mg 每天一次的劑量投藥於個體，隨後以 500 mg 每週一次的劑量投藥。

【0655】 於一個實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，例如 帕替西蘭。於一些實施態樣中，個體體重小於約 100 kg 且投藥約 0.3 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。於一些實施態樣中，個體體重超過約 100 kg 且投藥約 30 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。 於一些實施態樣中，每 3 週一次將 該 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。於一些實施態樣中，藉由靜脈內輸注將 dsRNA 劑或其鹽

投藥於個體。於一些實施態樣中，該 dsRNA 劑存於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，以約 0.3 mg/kg 的 dsRNA 劑或其鹽的劑量，每三週一次投藥於體重小於約 100kg 的個體，或以約 30 mg/kg 的 dsRNA 劑或其鹽的劑量，每三週一次投藥於體重大於約 100kg 的個體。

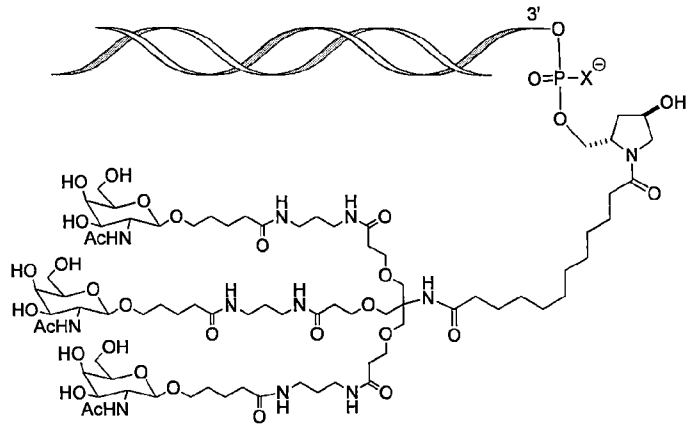
【0656】 於一個實施態樣中，靶向 TTR 的核酸劑係單股經修飾寡核苷酸，例如 依諾特森。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸以約 284 mg 的固定劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸以約每週一次投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸經皮下投藥於個體。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸存於醫藥物組成物中。於一些實施態樣中，單股經修飾的寡核苷酸每週一次以約 284 mg 的劑量投藥於個體。

【0657】 本發明亦提供治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO : 20) 的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U；s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3'端，如下方案所示：



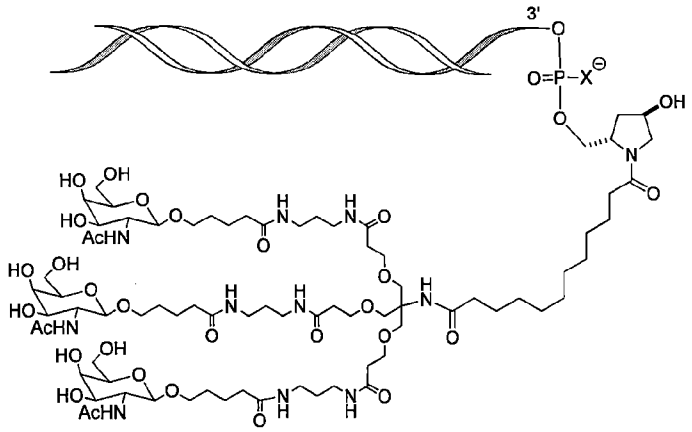
其中 X 為 O，從而治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀。

【0658】於另一個態樣中，本發明提供降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3' 端，如下方案所示：



其中 X 為 O，從而降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級。

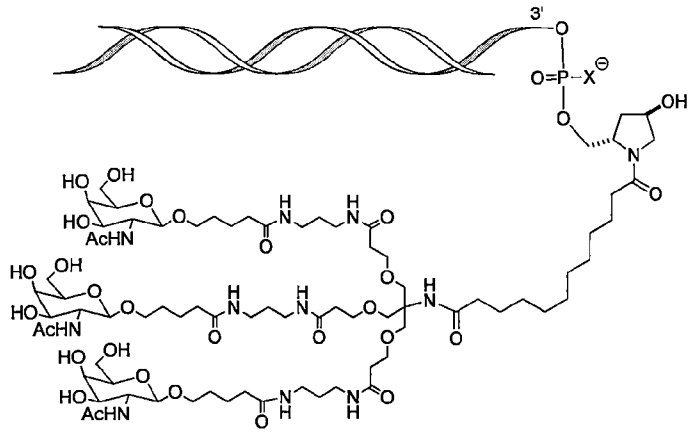
【0659】 於另一個態樣中，本發明提供一種減少罹患或易罹患斯特格症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2'-O-甲基 (2'-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2'-氟 A、C、G 及 U；s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鍵結，其中配體接合至有義股的 3' 端，如下方案所示：



其中 X 為 O，從而減少罹患或易罹患斯特格症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成。

【0660】 於又另一個態樣中，本發明提供一種停止罹患或易罹患斯特格症的個體視力喪失的進展的方法，該方法包括向個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5'-usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列

5’- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，其中 a、c、g 及 u 係 2′-O-甲基 (2′-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2′-氟 A、C、G 及 U；s 係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鏈結，其中配體接合至有義股的 3’端，如下方案所示：



其中 X 為 O，從而停止罹患或易罹患斯特格症的個體眼睛視力喪失的進展。

【0661】 於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25 mg 的劑量投藥於個體。於一些實施態樣中，約每三個月一次將 dsRNA 劑或其鹽投藥於個體。

【0662】 於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽經皮下投藥於個體。

【0663】 於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽存在於醫藥組成物中。於一些實施態樣中，dsRNA 劑係鹽形式。於一些實施態樣中，dsRNA 劑或其鹽以約 25 mg 的劑量約每三個月一次投藥於個體。

【0664】 於一些實施態樣中，可以藉由檢測或監測脂褐質及/或隱結沉積物的減少以監測本發明方法的功效。如本文所用，減少脂褐質及/或隱結沉積物包括脂褐質及/或隱結沉積物的大小、數量或嚴重程度的任何減少，或預防或減少脂褐質及/或隱結沉積物的形成，其可以使用本領域已知的任何方法在體外或體內評估個體的眼睛或眼睛區域。例如，對隱結沉積物進行成像的非侵入性方法於

Hunter, A.A. *et al.,* (2014)J Clin Exp Ophthalmol 5：327 中描述，其可用於電腦化評估。彩色視基底攝影及螢光素血管造影可用於確定隱結數量的存在。例如，眼底自發螢光的量級可藉由眼底自發螢光攝影 (FAF) 以測定。OCT 掃描能夠產生覆蓋中心黃斑的三維橫截面圖像，並提供更多的定量參數，例如沉積物的面積和體積。其他方法可能包括生化分析以及眼組織中血管網絡的視覺或電腦化評估，例如免疫組織化學染色、螢光標記、螢光顯微鏡或其他類型的顯微鏡。

【0665】 於一些實施態樣中，可以藉由檢測或監測脈絡膜或視網膜中新生血管形成的減少以監測本發明方法的功效。如本文所用，減少新生血管形成包括新生血管形成的數量或大小的任何減少，或預防或減少個體眼睛或眼睛區域內新生血管的形成，其可使用本領域已知的任何方法於體外或體內進行評估。評估新生血管形成的方法可能包括非侵入性視網膜成像方法，例如彩色視基底攝影及 OCT 掃描。其他方法可能包括生化分析以及眼組織中血管網絡的視覺或電腦化評估，例如免疫組織化學染色、螢光標記、螢光顯微鏡或其他類型的顯微鏡。

【0666】 於一些實施態樣中，向個體投藥會降低由眼底自發螢光攝影(Fundus Autoflourescence Photography, FAF)所測定的眼底自發螢光。

【0667】 於一些實施態樣中，該方法進一步包括向個體投藥附加治療劑以治療斯特格氏症。該附加治療劑係選自由抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的劑、合成的類視色素 非瑞替尼、抗 VEGF 治療劑、皮質類固醇激素、胰島素、昇糖素類胜肽 1 促效劑、硫醯脲、司格列替尼、雙胍、噻唑烷二酮、α-葡萄糖苷酶抑制劑、SGLT2 抑制劑、 DPP-4 抑制劑、 HMG-CoA 還原酶抑制劑及前述任何組合所組成的群組。

【0668】 於一些實施態樣中，該方法進一步包括測定來自個體的樣本中的RBP4 及/或 TTR 的量級。

【0669】 本發明還提供了使用本發明的 iRNA 或含有本發明的 iRNA 的組成物以抑制 RBP4 的表現的方法，從而預防或治療 RBP4 相關病症(例如眼部疾病、斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝疾病(例如葡萄糖及脂質恆定性疾患、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。 在本發明的方法中，細胞可以在體外或體內與 siRNA 接觸，即，細胞可以在個體體內。

【0670】 適合使用本發明方法治療的細胞可為表現 RBP4 基因及/或 TTR 基因的任何細胞，例如肝細胞。適用於本發明方法的細胞可為哺乳動物細胞，例如靈長類動物細胞(例如人類細胞，包括嵌合非人類動物中的人類細胞，或非人類靈長類動物細胞，例如，猴細胞或黑猩猩細胞)，或非靈長類動物細胞。於某些實施態樣中，該細胞係人細胞，例如人肝細胞。於本發明的方法中，RBP 及/或 TTR 於細胞中表現被抑制至少 30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90 或 95，或低於檢驗的檢測量級。

【0671】 可藉由本領域已知的任何方式投藥劑或組成物，包括但不限於口服、腹膜內或腸胃外途徑，包括顱內(例如，腦室內、實質內和鞘內)、靜脈內、肌內、皮下、經皮、氣道(氣態膠體)、鼻腔、直腸、眼內(例如眼周、結膜、Tenon 氏囊下、眼房內、玻璃體內、眼內、前或後鞏膜旁、視網膜下、結膜下、球後或小管內注射)、靜脈內、肌肉內、皮下、透皮、氣道(氣態膠體)及外用(包括口腔和舌下)投藥。

【0672】 於某些實施態樣中，該劑或組成物經眼內投藥於個體。眼內投藥可藉由眼周、結膜、Tenon 氏囊下、眼房內、玻璃體內、眼內、前或後鞏膜旁、視網膜下、結膜下、球後或小管內注射。

【0673】 於某些實施態樣中，該劑或組成物藉由靜脈輸注或注射投藥。於某些實施態樣中，該劑或組成物藉由皮下注射投藥。於某些實施態樣中，該劑或組成物藉由肌內注射投藥。於一些實施態樣中，皮下投藥係自行投藥，例如，藉由預填充注射器或自動注射器。可以基於是否需要局部或全身治療以及基於需治療的區域以選擇投藥方式。可選擇投藥途徑及部位以增強靶向性。

【0674】 於一些實施態樣中，該劑或組成物長期投藥至個體。

【0675】 於一個態樣中，本發明亦提供抑制哺乳動物中 RBP4 基因表現的方法。該方法包括向哺乳動物投藥包含靶向哺乳動物細胞中的 RBP 基因的 dsRNA 的組成物，並維持哺乳動物足夠的時間以獲得 RBP4 基因的 mRNA 轉錄本的降解，從而抑制 RBP4 基因在細胞中的表現。

【0676】 基因表現的降低可以通藉由本領域已知的任何方法及藉由本文(例如實施例 2)中描述的方法(例如 qRT-PCR)以評估。蛋白質產物的降低可藉由本領域已知的任何方法以評估，例如 ELISA。於某些實施態樣中，穿刺肝生檢樣本用於監測 RBP4 及/或 TTR 基因或蛋白質表現減少的組織材料。在其他實施態樣中，血液樣本用於監測 RBP 及/或 TTR 蛋白表現減少的個體樣本。

【0677】 本發明更提供於有需要的個體中治療的方法，例如，經診斷罹患 RBP4 相關病症如眼部疾病(例如斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝失調(例如葡萄糖及脂質失衡、

與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體。該方法包括向個體投藥本發明的 iRNA 及/或靶向 TTR 的核酸劑。

【0678】 於一個態樣中，本發明提供治療罹患將受益於 RBP4 表現降低的病症的方法，例如 RBP4 相關病症例如眼部疾病(例如斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝失調(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。將受益於 RBP4 基因表現的降低及/或抑制的個體的治療包括治療性治療(例如，個體患有眼部疾病)及預防性治療(例如，個體沒有罹患眼部疾病或個體可能有患眼部疾病的風險)。

【0679】 於一些實施態樣中，RBP4-相關病症係選自由斯特格氏症、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)、裂虹膜、粉刺性痤瘡症候群、小眼畸形、基底層隱結、糖尿病黃斑水腫及視網膜靜脈阻塞所組成的群組的眼部疾病。

【0680】 於一些實施態樣中，該 RBP4-相關病症係代謝病失調，例如葡萄糖及脂質失衡，例如與第二型糖尿病相關的胰島素抗性或心血管疾病。

【0681】 於一些實施態樣中，以有效量向個體投藥 RNAi 劑以抑制 RBP4 於眼細胞中表現，例如 RPE 及/或於個體眼組織駐留的巨噬細胞。以有效量抑制個體眼細胞中 RBP4 表現及/或活性可使用上述討論的方法以評估，包括係關於評估 RBP4 及/或 TTR mRNA、RBP4 及/或 TTR 蛋白質或相關變量，例如脂褐質或隱結沉積，或新生血管形成的方法。

【0682】 本發明的 iRNA 可以「游離 iRNA」形式投藥。於沒有醫藥組成物的情況下投藥游離 iRNA。裸 iRNA 可於合適的緩衝溶液中。該緩衝溶液可包含

乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽、或磷酸鹽或其任何組合。於一個實施態樣中，該緩衝溶液係磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。含有 iRNA 的緩衝溶液的 pH 值及滲透壓可調整以使其適合投藥於個體。

【0683】 另外，本發明的 iRNA 可作為醫藥組成物投藥，例如 dsRNA 脂質體製劑。

【0684】 將從抑制 RBP4 基因表現中受益的個體係易罹患或被診斷患有 RBP4 相關疾病例如眼部疾病(例如斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝失調(例如葡萄糖及脂質恆定性疾患、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病的個體。

【0685】 在一個實施態樣中，該方法包括投藥具本文特徵的組成物使得 RBP4 及/或 TTR 基因的表現降低，例如約 1、2、3、4、5、6、1-6、1-3 或 3 至 6 個月每劑。在某些實施態樣中，該組成物每 3 至 6 個月投藥一次。

【0686】 在一個實施態樣中，可用於具本文特徵的方法及組成物的 iRNA 專一性地靶向標靶 RBP4 基因的 RNA(原始的或加工的)。可如本文所述製備及實施使用 iRNA 以抑制該些基因表現的組成物及方法。

【0687】 根據本發明的方法投藥 iRNA 及/或靶向 TTR 的核酸劑可導致 RBP4 相關病症的預防或治療，例如眼部疾病(例如斯特格氏症)、糖尿病視網膜病、老年性黃斑部病變(AMD)(例如乾性 AMD 及濕性 AMD)或代謝失調(例如葡萄糖及脂質失衡、與第二型糖尿病相關的胰島素抗性)或心血管疾病。可以向個體投藥本發明治療量的 iRNA 或靶向 TTR 的核酸劑，例如約 0.01 mg/kg 至約 200 mg/kg。

【0688】 在一個實施態樣中，本發明的 iRNA 及/或靶向 TTR 核酸劑係皮下投藥，即藉由皮下注射。可使用一次或多次注射以遞送所需劑量的 iRNA 及/或靶向 TTR 的核酸劑至個體。注射可能會於一段時間內重複。

【0689】 可以定期重複投藥。於某些實施態樣中，於初始治療方案之後，可以較低頻率投藥治療。重複給藥方案可包括定期投藥本發明治療量的 iRNA 及/或靶向 TTR 的核酸劑，例如每月一次至每年一次。於某些實施態樣中，本發明的 iRNA 及/或靶向 TTR 的核酸劑約每月一次至約每三個月一次投藥，或約每三個月一次至約每六個月一次投藥。

【0690】 本發明更提供用於治療將受益於 RBP4 基因表現的降低及/或抑制的個體的本發明的 iRNA 劑及/或靶向 TTR 的核酸劑或其醫藥組成物的方法及用途，例如患有 RBP4 相關病症個體與其他藥物及/或其他治療方法(例如與已知藥物及/或已知治療方法，例如目前用於治療這些病症)的組合。

【0691】 因此，於本發明的一些態樣，包括投藥本發明的 iRNA 劑的方法，更包括向個體投藥一種或多種額外的治療劑。

【0692】 例如，在某些實施態樣中，靶向 RBP4 的 iRNA 與例如可用於治療 RBP4-相關病症的藥劑組合施用。用於治療 RBP4 -相關病症的示例性附加療法和治療可以包括抑制 TTR 表現和/或活性的劑，例如靶向 TTR 的核酸劑，例如 siRNA 或反義寡核苷酸或靶向 TTR 的基因療法，TTR 小分子抑製劑，跑抗 TTR 抗體；降低 RBP4 的療法，例如全反式維甲酸的合成小分子衍生物，例如類維生素 A 芬維 A 胺，小分子 RBP4 配體，例如 A1120 或 BPN-14136；抗 VEGF 療法，例如抗 VEGF 抗體，例如貝伐單抗、布羅盧珠單抗、雷珠單抗，或施用 VEGF 的重組蛋白抑制劑(例如，阿柏西普)，激光治療，例如激光光凝術，用於

眼科的皮質類固醇(例如，氟米龍、地塞米松、利美松、氯替潑諾、二氟潑尼酯、潑尼松龍、氟輕鬆和曲安奈德)、胰島素、胰高血糖素樣肽 1 激動劑(例如，艾塞那肽、利拉魯肽、度拉魯肽、索馬魯肽和普蘭林肽，一種磺醯脲類藥物(例如，氯磺丙脲、格列吡嗪))、司格列奈(例如瑞格列奈、那格列尼)、雙胍類(例如二甲雙胍)、噻唑烷二酮(例如羅格列酮、曲格列酮)、α-葡萄糖苷酶抑制劑(例如阿卡波糖和美格列醇)、SGLT2 抑制劑(例如達格列淨)、DPP-4 抑制劑(例如，利格列汀)或 HMG-CoA 還原酶抑制劑。例如，他汀類藥物，例如阿托伐他汀(立普妥)、氟伐他汀(Lescol)、洛伐他汀(Mevacor)。洛伐他汀緩釋片 (Altoprev)、匹伐他汀 (Livalo)、普伐他汀 (Pravachol)、瑞舒伐他汀 (Crestor)和辛伐他汀 (Zocor)。

【0693】 在一些方面，另外的治療劑是靶向 TTR 基因的 iRNA 劑，例如 siRNA，例如用於抑制 TTR 基因表現的 dsRNA，例如 PCT 公開號 WO 2013/074972 中所述；PCT 公開號 WO 2015/042564； PCT 公開號 WO 2017/023660； PCT 公開號 WO 2018/112320，PCT 公開號 WO2020/069055；國際申請號 PCT/US2020/059070；國際申請號 PCT/US2021/021049；美國專利公開號 2012/0294905，美國專利公開號 2010/0120893；美國專利公開號 2009/0239814；美國專利公開號 2011/0237646；美國專利號 8,101,743；美國專利公開號 20110294868；美國專利公開號 20110237646；PCT 公開號 WO 2010/048228；PCT 公開號 WO 2009/073809；PCT 公開號 WO 2010/048228 和 PCT 公開號 WO2011/056883，其各自的全部內容通過引用併入本文。

【0694】 在一個實施態樣中，抑制 TTR 表現和/或活性的另外的治療劑是帕替西蘭。帕替西蘭 是一種對 TTR 專一性的小干擾核糖核酸 (siRNA)，配製成親肝脂質奈米顆粒 (LNP)，用於靜脈內 (IV)投藥 (Akine A, *et al.*,, *Nat Biotechnol.*

2008；26(5):561- 569)。該 TTR siRNA 在 TTR 基因的 3-UTR 區域內有一個目標區域，以確保和確認與野生型 TTR 以及所有報導的 TTR 突變的同源性。伴隨 LNP 介導的肝臟遞送，帕替西蘭 靶向 TTR mRNA 進行降解，導致藉由 RNAi 機制有效且持續地減少突變型和野生型 TTR 蛋白。

【0695】 在一個實施態樣中，抑制 TTR 的表現及/或活性的另外的治療劑是武特裡西蘭。武特裡西蘭是一種對 TTR 專一性的 siRNA。配製用於皮下投藥。武特裡西蘭 藉由肝臟抑制引起疾病的 TTR 蛋白質產生，導致血液中 TTR 量級的降低。武特裡西蘭的描述可以在 PCT 公開號 WO/2017/023660 中找到，其內容是藉由引用將其全部併入。

【0696】 在另一個實施態樣中，抑制 TTR 表現及/或活性的另外的治療劑是 revisiran，一種與三價 GalNAc 碳水化合物簇接合的對 TTR 專一性的 siRNA。revisiran 的完整描述可以在 PCT 公開號 WO/2013/075035 和美國專利公開號 2014/0315835 中找到，其內容藉由引用整體併入。

【0697】 在一個實施態樣中，抑制 TTR 的表現及/或活性的另外的治療劑是依諾特森。依諾特森是一種對 TTR 專一性的反義寡核苷酸，其藉由結合 TTR mRNA 導致突變型和野生型 TTR mRNA 的降解，從而導致血清和組織中的 TTR 蛋白減少(參見例如美國專利號 8,101,743、8,697,860、9,061,044 和 9,399.774；每一個的內容是藉由引用將其全部併入。)

【0698】 在另一個實施態樣中，抑制 TTR 的表現及/或活性的另外的治療劑是他法米迪 他法米迪是一種小分子抑製劑，其選擇性地結合人血漿中的 TTR 並且在動力學上穩定野生型 TTR 和許多不同突變體的四聚體結構。(J de Lartigue,*Drugs Today (Barc),* 2012 May：48(5):331-7)。

【0699】 抑制 TTR 表現及/或活性的合適藥劑的其他實例包括降低 TTR 量級、穩定 TTR 的天然四聚體結構、抑制 TTR 聚集、破壞 TTR 原纖維或澱粉樣蛋白形成或抵消細胞毒性的藥物。參見，例如，Almeida 和 Saraiva，*FEBS Letters* 586:2891-2896 (2012)； Saraiva, *FEBS Letters* 498:201-203 (2001)； Ando *et al.*, *Orphanet Journal of Rare Diseases* 8:31 (2013)； Ruberg and Berk，*Circulation* 126:1286-1300 (2012)；Johnson*et al., J. Mol. Biol.* 421(2 3):185-203 (2012, Ueda and Ando, *Translational Neurodegeneration* 3:19 (2014), 及 Hawkins*et al.*, *Annals of Medicine* 47:625-638 (2015))。

【0700】 iRNA 和另外的治療劑可以同時及/或以相同的組成例如腸胃外施用，或者另外的治療劑可以作為單獨組成物的一部分或在分開的時間和/或藉由另一種已知的方法施用在本領域中或在本文中描述。

【0701】 iRNA 劑和另外的治療劑和/或治療可以同時和/或以相同的組合投藥，例如腸胃外，或者另外的治療劑可以作為單獨組成物的一部分或在分開的時間投藥，並且/或藉由本領域已知或本文描述的另一種方法。

【0702】 VIII. 套組

【0703】 在某些方面，該即時揭露提供的套組包括包含 siRNA 化合物的藥物製劑的合適容器，例如，雙鏈體 siRNA 化合物或 siRNA 化合物(例如，前體，例如，可以加工成 siRNA 化合物的較大 siRNA 化合物，或編碼 siRNA 化合物的 DNA，例如，雙鏈體 siRNA 化合物，或 ssiRNA 化合物，或其前體)。

【0704】 此類套組包括一種或多種 dsRNA 劑和使用說明，例如，用於施用預防性或治療有效量的 dsRNA 劑的說明。dsRNA 劑可以在小瓶或預填充注射器中。該套組可視需要地包括用於投藥 dsRNA 劑的裝置(例如，注射裝置，例如預

填充注射器)，或用於測量 RBP4 抑制的裝置(例如，用於測量抑制 RBP4 mRNA、RBP4 蛋白及/或 RBP4 活性的裝置)。這種用於測量 RBP4 抑制的裝置可以包括用於從個體獲得樣本的裝置，例如，血漿樣本。本發明的套組可視需要地進一步包括用於確定治療有效或預防有效量的裝置。

【0705】 在某些實施態樣中，藥物製劑的各個組分可以放在一個容器中，例如，小瓶或預填充注射器。或者，可以期望在兩個或多個容器中分別提供藥物製劑的組分，例如，一個容器用於 siRNA 化合物製劑，另一個容器用於載體化合物。該套件可以包裝在許多不同的配置中，例如單個盒子中的一個或多個容器。不同的元件可以組合，例如，根據套組提供的說明。這些組分可以根據本文中描述的方法組合，例如，製備和施用醫藥組成物。該套組還可以包括一個輸送設備。

【0706】 本發明藉由以下實施例進一步說明，其不應被解釋為限制。本申請中引用的所有參考文獻、專利和已公佈專利申請的全部內容，以及非正式的序列表和圖表，特此藉由引用併入本文。

【0707】 實施例

【0708】 實施例 1. 接受 武特裡西蘭的臨床驗個體中維生素 A 量級隨著 TTR 量級的降低而降低。

【0709】 以皮下投藥 武特裡西蘭 (TTRsc02) (NCT02797847)進行 1 期、隨機、單盲、安慰劑對照、單次遞增劑量(5 mg、25 mg、50 mg、100 mg、 200 mg 或 300 mg)研究以測定對健康人類個體投藥於安全性及耐受性上的影響。血清 TTR 量級之測定係藉由血清 TTR 從基線的降低來測量(第 1 天到第 314 天)；而

血清維生素 A 量級之測定係藉由血清維生素 A 從基線的降低來測量(篩選至第 314 天)

【0710】 令人驚訝的，如圖 1 所示，血清維生素 A 量級的降低(上圖)及血清 TTR 蛋白量級的降低(下圖)顯示出高度相關。例如，接受 25 mg 武特裡西蘭 (n=18) 劑量的個體中，於第 43 天血清維生素 A 的平均下降百分比約為 72.7%，而 TTR 血清量級的平均下降百分比約為 74.8%。因此，維生素 A 減少量級及 TTR 量級的下降比預計約為 1：1。

【0711】 於 HELIOS-A 研究亦檢驗藉由皮下投藥 武特裡西蘭或靜脈投藥帕替西蘭以抑制 TTR 對維生素 A 量級的影響。

【0712】 HELIOS-A (NCT03759379)為一項第三期的全球、隨機、開放標籤試驗，用以評估 武特裡西蘭的療效及安全性。該研究於 22 個國家的 57 個地點招募了 164 名患有多發性神經病變的 hATTR 類澱粉蛋白變性個體。個體於 18 個月內以 3：1 隨機分配接受每三個月一次皮下注射 25 mg 武特裡西蘭 (N=122) 或每三週一次靜脈輸注 0.3 mg/kg 帕替西蘭 (N=42)(作為參考比較)。

【0713】 在其他測量中，於整個研究期間測定血清維生素 A 量級及血清 TTR 蛋白量級。如圖 2 所示，出乎意料地測定，於試驗期間，投藥 武特裡西蘭或 帕替西蘭的個體的血清維生素 A 量級下降(上圖)，且觀察到的血清維生素 A 量級的下降與觀察到的 TTR 蛋白量級的下降顯著相關(下圖)。

【0714】 亦進行電腦模擬以評估接受 武特裡西蘭的個體維生素 A 量級的變化，以及維生素 A 量級的變化如何與 TTR 量級的變化產生相關性。如圖 3 所示，觀察到的維生素 A/TTR 量級下降對應於預測的下降。藉由假設維生素 A 量級和 TTR 量級之間存在 1：1 的關係，預測的峰值減少量提高了 20%(圖 4)，成

人和青少年也獲得了類似的減少量(圖 5)。這些數據進一步證實，藉由以武特裡西蘭靶向 TTR 基因而降低 TTR 量級將導致維生素 A 量級類似的降低。

【0715】因此，抑制 TTR 表現的劑如靶向 TTR 的核酸劑、雙股 RNA(dsRNA)劑、武特裡西蘭，可用於降低維生素 A 的量級(例如在眼睛中)，並治療罹患斯特格氏症的病人。

【0716】實施例 2. 於野生型、Abca4-/-及 Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠中靶向 TTR 的 dsRNA 劑的功效。

【0717】本實施例中評估靶向 TTR 的 dsRNA 劑(例如 AD-64958)於野生型小鼠和 Abca4 及 Rdh8 均缺乏的小鼠中的功效。

【0718】AD-64958 的有義股及反義股的未修飾和經修飾核苷酸序列如下所示

AD-64958	有義股	asascaguGfuUfCfUfugcucuauaaL96	AACAGUGUUCUUGCUCUAUAA
	反義股	usUfsauaGfagcaagaAfcAfcuguususu	UUAUAGAGCAAGAACACUGUUUU

【0719】ABCA4 基因編碼 Rim 蛋白，其為一種視網膜專一性跨膜蛋白，可將維生素 A 中間體從感光細胞轉運回視網膜色素上皮 (RPE)，以作為視覺循環的一部分進行回收。

【0720】RDH8 編碼為視黃醇去氫酶，可催化全反式視黃醛至全反式視黃醇的還原。

【0721】ABCA4 (ABCR)基因突變導致包含斯特格氏症的視網膜退化(RD)而失明。缺乏 ABCA4 的小鼠具有以下概括斯特格氏症的表型，包括於光感

細胞中增加含雙維甲酸的脂褐質的積累，以及光感受器及 RPE 損失，導致失明，因此其為技術領域公認的斯特格氏症動物模型。

【0722】 Abca4 和 Rdh8 缺陷的小鼠表現出視網膜失養、光依賴性進行性視網膜退化，所以為技術領域公認的老年性黃斑部病變動物模型。這些小鼠的表型包括脂褐質、隱結、基底層狀沉積物、Bruch 氏膜增厚及脈絡膜新生血管。光線會加劇視覺功能障礙和視網膜病變的嚴重程度。

【0723】 評估靶向 TTR 的 dsRNA 劑(例如 AD-64958)的功效，於野生型及 Abca4-/- Rdh8-/-雙剔除 (DKO)小鼠皮下投藥 3 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑(AD-64958)或 PBS(對照)，每三週一次，共 12 週(見下表中的處理組)。

投藥	品種	年齡	動物數量	劑量	投藥途徑	頻率
PBS	DKO	1-1.5 月大 (研究開始)	7	3 mg/kg	SC	每 3 週一次
AD-64958	DKO		7			
PBS	野生型		3			
AD-64958	野生型		3			

【0724】 於基線(第 -1/第 -4 天)、第 21 天、第 42 天、第 63 天及第 84 天測定血清 TTR 及 RBP4 蛋白量級和血清視黃醇量級。

【0725】 在研究結束時亦測定肝臟 TTR mRNA 量級。

【0726】 如圖 6A 及 6B 所示，分別投藥 AD-64958 的野生型及 DKO 小鼠中，肝臟 TTR mRNA 及血清 TTR 蛋白量級顯著降低。

【0727】 投藥 AD-64958 後，血清 RBP4 蛋白(圖 7A)及血清視黃醇量級(圖 7B)亦顯著降低。於血清視黃醇量級及血清 RBP4 蛋白量級的減少顯示高度相關(圖 8)。

【0728】 於基線及研究的第 12 週，亦評估了 DKO 及野生型小鼠視網膜中類視色素的雙光子自發螢光顯微鏡檢查。簡而言之，以 730 nm 光子激發成像視網膜小體，而 850 nm 光子主要激發與全反式視黃醛(例如 A2E、A2DHP-PE 及視網黃醛二聚體)凝聚相關的螢光團。在視網膜色素上皮 (RPE)中，全反式視網膜凝聚產物的量級隨著年齡的增長而增加，且為毒性的指標。這兩個波長激發後的發射螢光比可用於監測視網膜的健康狀況並評估治療劑於小鼠中的功效。

【0729】 如圖 9A 和 9B 所示，投藥靶向 TTR 的 dsRNA 劑可預防 DKO 小鼠視網膜中類視色素的積累，而投藥靶向 TTR 的 dsRNA 劑對野生型小鼠中類視色素的積累影響最小。

【0730】 藉由視網膜電圖 (ERG)分析投藥過的 DKO 小鼠的視網膜功能。ERG 測量視網膜響應光刺激的電活動。暗視力(暗適應 ERG 反應)a 波是桿狀光受體活性的產物，而暗視力 b 波反映桿狀驅動雙極細胞及繆氏細胞的活性。明視力(光刺激 ERG 反應)b 波係錐狀細胞活動的產物。

【0731】 如圖 10 所示，與經 dsRNA 處理的小鼠相比，PBS 處理的小鼠在第 12 週觀察到視網膜視桿反應的更大降低，而在第 12 週觀察到兩組的明視 b 波幅度的相似降低(圖 11)。這些數據顯示，儘管維生素 A 顯著減少，但以靶向 TTR 的 dsRNA 藥物治療的動物至少 12 週沒有視力受損，其顯示以靶向 TTR 的 dsRNA 藥物治療的這些小鼠的視力得到了很好的保護。

【0732】 實施例 3. iRNA 合成

【0733】 劑來源

【0734】 如果本文未具體說明劑的來源，則可以從任何分子生物學試劑供應商處獲得該劑，其品質/純度標準在分子生物學中的應用。

【0735】 siRNA 設計

【0736】 siRNA 靶向人類視網膜結合蛋白 4 (RBP4)基因(人類：NCBI refseqID NM_006744.4, NCBI GeneID: 5950) 係使用自定義 R 和 Python 腳本設計的。人類 NM_006744.4 REFSEQ mRNA 的長度為 1070 個鹼基。

【0737】 未修飾的 RBP4 有義和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 2 所示。修飾的 RBP4 有義和反義股核苷酸序列的詳細清單如表 3 所示。

【0738】 需要理解的是，在整個應用程式中，不帶小數的雙鏈體名稱等效於具有十進位的雙鏈體名稱，後者僅引用雙鏈體的批號。例如，AD-959917 相當於 AD-959917.1。

【0739】 siRNA 合成

【0740】 siRNA 是使用本領域已知的方法設計、合成和製備的。

【0741】 簡而言之，使用 Mermade 192 合成器(BioAutomation)在固體載體上具有亞磷醯胺化學，以 1μmol 尺度合成 siRNA 序列。 固體載體是受控孔隙玻璃(500-1000 Å)，其中裝有定製的 GalNAc 配體(3'-GalNAc 接合物)，通用固體載體(AM 化學品)或感興趣的第一個核苷酸。 從 Thermo-Fisher(威斯康星州密爾沃基)，Hongene(中國)或 Chemgenes(美國馬薩諸塞州威爾明頓)獲得輔助合成劑和標準 2-氰乙基亞磷醯胺單體(2'-去氧-2'-氟，2'-O-甲基，RNA，DNA)。其他亞磷醯胺單體從商業供應商處採購，內部製備，或使用各種 CMO 的定製合成法採購。在乙腈或 9：1 乙腈：DMF 中以 100 mM 的濃度製備亞磷醯胺，並使用 5-乙硫基-1H-四氮唑(ETT，乙腈中 0.25 M)接合，反應時間為 400 s。使用 3-((二甲基胺基-亞甲基)胺基)-3H-1, 2, 4-二噻唑-3-硫酮(DDTT，從 Chemgenes(Wilmington，MA，

USA)獲得的)溶液在無水乙腈/吡啶(9：1 v / v)中生成硫代磷酸酯鍵。氧化時間為5分鐘。所有序列均藉由最終去除 DMT 組(「DMT-Off」)進行合成。

【0742】 在固相合成完成後，在 96 孔板於室溫用 300μL 甲胺(40%水溶液)處理固體負載的寡核糖核苷酸約 2 小時，以提供從固體載體中裂解並隨後除去所有額外的鹼不穩定保護基團。對於含有任何天然核糖核苷酸鍵(2'-OH)的序列，用叔丁基二甲基矽烷基(TBDMS)保護，使用 TEA.3HF(三乙胺三氫氟化物)進行第二個脫保護步驟。向每個寡核苷酸溶液中加入 200μL 二甲基亞碸(DMSO)和300μLTEA.3HF，並將該溶液在 60°C 下孵育約 30 分鐘。孵育後，將板置於室溫，藉由加入 1mL 的 9：1 丙腈：乙醇或 1：1 乙醇：異丙醇沉澱粗寡核苷酸。 然後將板在 4°C 離心 45 分鐘，並在多通道移液器的說明下小心地傾析上清液。將寡核苷酸沉澱重新懸浮於 20 mM NaOAc 中，隨後在配備自動進樣器，紫外檢測器，電導率儀和餾分收集器的安捷倫 LC 系統使用 HiTrap 尺寸排阻管柱(5 mL，GE Healthcare)脫鹽。將脫鹽樣本收集在 96 個孔板中，然後藉由 LC-MS 和紫外光譜法進行分析，以分別確認身份並量化材料量。

【0743】 在 Tecan 液體理機器人上執行單股雙鏈體。將感感和反義單鏈以等莫耳比與 10 μM 的終濃度在 96 孔板中的 1x PBS 中接合，板密封，在 100°C 孵育 10 分鐘，隨後在 2-3 小時內緩慢返回室溫。確認每個雙相的濃度和身份，然後用於體外篩選測定。

【0744】 細胞培養及 384 孔轉染

【0745】 對於轉染，細胞(ATCC, Manassas, VA)於添加 10% FBS (ATCC)的 Eagle's Minimum Essential Medium (Gibco)中，且於 37°C 含 5% CO2 的空氣中生長至接近匯合，之後於盤中藉由胰蛋白酶化刮除。藉由將每孔 7.5 1 的 Opti-

MEM 加 0.1　l 的 Lipofectamine RNAiMax (Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150)添加到 384 孔盤的單個孔中的每個 2.5　l siRNA 雙鏈體以進行轉染。然後將混合物於室溫下培育 15 分鐘。然後向 siRNA 混合物中加入 40　l不含抗生素且含有約 1.5 x10^4細胞的完全生長培養基。細胞於 RNA 純化前培育 24 小時。單劑量實驗在 10 nM、1 nM 及 0.1 nM 最終雙鏈體濃度下進行。

【0746】 使用 DYNABEADS mRNA Isolation Kit (Invitrogen™, part #：610-12) 分離總 RNA

【0747】 細胞於每孔含 3 μL 珠子的 75　l溶解/結合緩衝液中溶解，並於靜電振盪器上混合 10 分鐘。清洗步驟於 Biotek EL406 使用磁性板支架自動進行。珠子於緩衝液 A 中洗滌一次(在 90 L 中)，在緩衝液 B 中洗滌一次，在緩衝液 E 中洗滌兩次，其中間有抽吸步驟。於最終抽吸後，將完整的 10　L 混合物添加到每個孔中，如下所述。

【0748】 使用 ABI 高容量 cDNA 反轉錄套組(Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)合成 cDNA

【0749】 每孔加入 1 μl 10X 緩衝液、0.4 μl 25X dNTP、1 μl 隨機引子、0.5 μl 反轉錄酶、0.5 μl RNase 抑制劑及 6.6 μl 水的主混合液。將盤密封，在靜電振盪器上攪拌 10 分鐘，然後於 37°C 培育 2 小時。此後，將盤於 80°C 攪拌 8 分鐘。

【0750】 實時 PCR

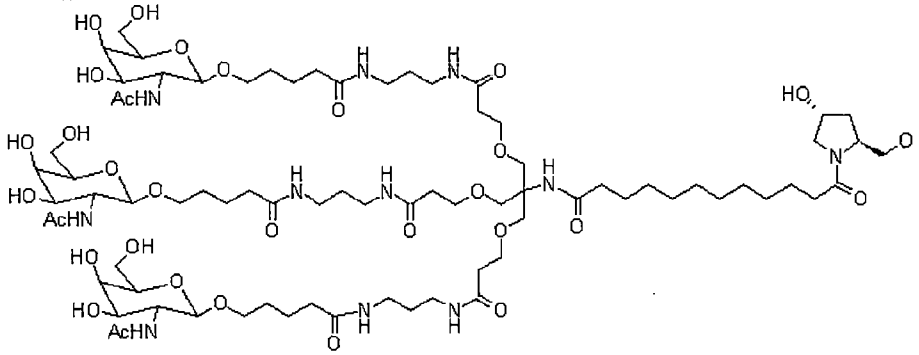
【0751】 於 384 孔盤(Roche cat # 04887301001)中將 2 μl cDNA 加入到每孔含有 0.5 μl 人 GAPDH TaqMan 探針(4326317E)、0.5 ul 人 RBP4、2 μl 無核酸酶水及 5 μl Lightcycler 480 探針主混合液 (Roche Cat # 04887301001)的主混合液中。即時 PCR 於 LightCycler480 即時 PCR 系統 (Roche)中進行。

【0752】 為了計算相對倍數變化，使用 ΔΔCt 方法分析數據，並根據以 10 nM AD-1955 轉染的細胞或模擬轉染細胞進行的測定進行標準化。 IC50s 使用 XLFit 的 4 參數擬合模型計算，並針對轉染 AD-1955 或模擬轉染的細胞進行標準化。AD-1955 的有義及反義序列係：有義為 cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT；反義為 UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT。

【0753】 Hep3B 細胞中靶向 RBP4 的雙鏈體的單劑量篩選結果提供於表 4 中。

【0754】 表 1. 核酸序列表示中使用的核苷酸單體的縮寫。應當理解，當這些單體存在於寡核苷酸中時，其藉由 5'-3'-磷酸二酯鍵相互連接，並且應當理解，當核苷酸含有 2'-氟修飾時，氟取代羥基於親本核苷酸中的那個位置(即，其為 2'-去氧-2'-氟核苷酸)。

縮寫	核苷酸
A	磷酸腺苷-3'-磷酸
Ab	β-L-腺苷-3`-磷酸
Abs	β-L-腺苷-3`-硫代磷酸酯
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸酯
As	腺苷-3'-硫代磷酸酯
C	胞苷-3'-磷酸
Cb	β-L-胞苷-3`-磷酸
Cbs	β-L-胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cf	2'-氟胞苷-3'-磷酸
Cfs	2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸酯
G	鳥苷-3'-磷酸
Gb	β-L-鳥苷-3'-磷酸
Gbs	β-L-鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gf	2'-氟鳥苷-3'-磷酸
Gfs	2'-氟鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gs	鳥苷-3'-硫代磷酸酯

縮寫	核苷酸
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸
Tfs	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
Ts	5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
U	尿苷-3'-磷酸鹽
Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯
Us	尿苷-3'-硫代磷酸酯
N	任何核苷酸，修飾或未修飾
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸
cs	2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸酯
g	2'-O-甲基鳥苷-3'-磷酸
gs	2'-O-甲基鳥苷-3'-硫代磷酸酯
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
s	硫代磷酸酯鏈結
L10	氮-(膽固醇羧醯胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇
L96	N-[三(GalNAc-烷基)-胺基癸醯基)]-4-羥基脯胺醇 (Hyp-(GalNAc-烷基)3) 
Y34	2-羥甲基四氫呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯
Y44	反相無鹼基 DNA(2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸)
(Agn)	腺苷-乙二醇核酸 (GNA)
(Cgn)	胞苷二醇核酸(GNA)
(Ggn)	鳥苷-乙二醇核酸(GNA)
(Tgn)	胸苷二醇核酸(GNA)
P	磷酸酯

縮寫	核苷酸
VP	膦酸乙烯酯
dA	2`-去氧腺苷-3`-磷酸
dAs	2`-去氧腺苷-3`-硫代磷酸酯
dC	2`-去氧胞苷-3`-磷酸
dCs	2`-去氧胞苷-3`-硫代磷酸酯
dG	2`-去氧鳥苷-3`-磷酸
dGs	2`-去氧鳥苷-3`-硫代磷酸酯
dT	2`-去氧胸苷-3`-磷酸
dTs	2`-去氧胸苷-3`-硫代磷酸酯
dU	2`-去氧尿苷
dUs	2`-去氧尿苷-3`-硫代磷酸酯
(C2p)	胞苷-2`-磷
(G2p)	鳥苷-2`-磷酸
(U2p)	尿苷-2`-磷酸
(A2p)	腺苷-2`-磷酸
(Chd)	2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸
(Ahd)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸
(Ghd)	2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸
(Uhd)	2'-O-十六烷基尿苷-3'-磷酸

【0755】表 2 RBP4 dsRNA劑之未經修飾的有義股及反義股序列

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623155	GGGCGGAUUCCUGGGCAAGAU		85	AUCUUGCCCAGGAAUCCGCCCAC		85
AD-1623159	GGAUUCCUGGGCAAGAUGAAU		89	AUUCAUCUUGCCCAGGAAUCCGC		89
AD-1623164	CCUGGGCAAGAUGAAGUGGGU		94	ACCCACUUCAUCUUGCCCAGGAA		94
AD-1623169	GCAAGAUGAAGUGGGUGUGGU		99	ACCACACCCACUUCAUCUUGCCC		99
AD-1623173	GAUGAAGUGGGUGUGGGCGCU		103	AGCGCCCACACCCACUUCAUCUU		103
AD-1623179	GUGGGUGUGGGCGCUCUUGCU		109	AGCAAGAGCGCCCACACCCACUU		109
AD-1623186	UGGGCGCUCUUGCUGUUGGCU		116	AGCCAACAGCAAGAGCGCCCACA		116
AD-1623206	ACUGCCGAGUGAGCAGCUUCU		145-165	AGAAGCUGCUCACUCGGCAGUCG		143-165
AD-1623213	AGUGAGCAGCUUCCGAGUCAU		152-172	AUGACUCGGAAGCUGCUCACUCG		150-172
AD-1623217	AGCAGCUUCCGAGUCAAGGAU		156-176	AUCCUUGACUCGGAAGCUGCUCA		154-176
AD-1623222	CUUCCGAGUCAAGGAGAACUU		161-181	AAGUUCUCCUUGACUCGGAAGCU		159-181
AD-1623229	GUCAAGGAGAACUUCGACAAU		168-188	AUUGUCGAAGUUCUCCUUGACUC		166-188
AD-1623234	GGAGAACUUCGACAAGGCUCU		173-193	AGAGCCUUGUCGAAGUUCUCCUU		171-193
AD-1623241	UUCGACAAGGCUCGCUUCUCU		180-200	AGAGAAGCGAGCCUUGUCGAAGU		178-200

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623248	AGGCUCGCUUCUCUGGGACCU		187-207	AGGUCCCAGAGAAGCGAGCCUUG		185-207
AD-1623252	UCGCUUCUCUGGGACCUGGUU		191-211	AACCAGGUCCCAGAGAAGCGAGC		189-211
AD-1623257	UCUCUGGGACCUGGUACGCCU		196-216	AGGCGUACCAGGUCCCAGAGAAG		194-216
AD-1623261	UGGGACCUGGUACGCCAUGGU		200-220	ACCAUGGCGUACCAGGUCCCAGA		198-220
AD-1623267	CUGGUACGCCAUGGCCAAGAU		206-226	AUCUUGGCCAUGGCGUACCAGGU		204-226
AD-1623272	ACGCCAUGGCCAAGAAGGACU		211-231	AGUCCUUCUUGGCCAUGGCGUAC		209-231
AD-1623275	GAGGGCCUCUUUCUGCAGGAU		234-254	AUCCUGCAGAAAGAGGCCCUCGG		232-254
AD-1623279	GCCUCUUUCUGCAGGACAACU		238-258	AGUUGUCCUGCAGAAAGAGGCCC		236-258
AD-1623284	UUUCUGCAGGACAACAUCGUU		243-263	AACGAUGUUGUCCUGCAGAAAGA		241-263
AD-1623292	GGACAACAUCGUCGCGGAGUU		251-271	AACUCCGCGACGAUGUUGUCCUG		249-271
AD-1623297	ACAUCGUCGCGGAGUUCUCCU		256-276	AGGAGAACUCCGCGACGAUGUUG		254-276
AD-1623301	CGUCGCGGAGUUCUCCGUGGU		260-280	ACCACGGAGAACUCCGCGACGAU		258-280
AD-1623307	GGAGUUCUCCGUGGACGAGAU		266-286	AUCUCGUCCACGGAGAACUCCGC		264-286
AD-1623311	UUCUCCGUGGACGAGACCGGU		270-290	ACCGGUCUCGUCCACGGAGAACU		268-290
AD-1623346	CAAGGGCCGAGUCCGUCUUUU		308-328	AAAAGACGGACUCGGCCCUUGGC		306-328

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623350	GGCCGAGUCCGUCUUUUGAAU		312-332	AUUCAAAAGACGGACUCGGCCCU		310-332
AD-1623354	GAGUCCGUCUUUUGAAUAACU		316-336	AGUUAUUCAAAAGACGGACUCGG		314-336
AD-1623358	CCGUCUUUUGAAUAACUGGGU		320-340	ACCCAGUUAUUCAAAAGACGGAC		318-340
AD-1623362	CUUUUGAAUAACUGGGACGUU		324-344	AACGUCCCAGUUAUUCAAAAGAC		322-344
AD-1623366	UGAAUAACUGGGACGUGUGCU		328-348	AGCACACGUCCCAGUUAUUCAAA		326-348
AD-1623372	ACUGGGACGUGUGCGCAGACU		334-354	AGUCUGCGCACACGUCCCAGUUA		332-354
AD-1623378	ACGUGUGCGCAGACAUGGUGU		340-360	ACACCAUGUCUGCGCACACGUCC		338-360
AD-1623382	GUGCGCAGACAUGGUGGGCAU		344-364	AUGCCCACCAUGUCUGCGCACAC		342-364
AD-1623392	AUGGUGGGCACCUUCACAGAU		354-374	AUCUGUGAAGGUGCCCACCAUGU		352-374
AD-1623397	GGGCACCUUCACAGACACCGU		359-379	ACGGUGUCUGUGAAGGUGCCCAC		357-379
AD-1623402	CCUUCACAGACACCGAGGACU		364-384	AGUCCUCGGUGUCUGUGAAGGUG		362-384
AD-1623413	ACCGAGGACCCUGCCAAGUUU		375-395	AAACUUGGCAGGGUCCUCGGUGU		373-395
AD-1623421	CCCUGCCAAGUUCAAGAUGAU		383-403	AUCAUCUUGAACUUGGCAGGGUC		381-403
AD-1623427	CAAGUUCAAGAUGAAGUACUU		389-409	AAGUACUUCAUCUUGAACUUGGC		387-409
AD-1623436	AGCCUCCUUUCUCCAGAAAGU		416-436	ACUUUCUGGAGAAAGGAGGCUAC		414-436

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623443	UUUCUCCAGAAAGGAAAUGAU		423-443	AUCAUUUCCUUUCUGGAGAAAGG		421-443
AD-1623448	CCAGAAAGGAAAUGAUGACCU		428-448	AGGUCAUCAUUUCCUUUCUGGAG		426-448
AD-1623452	AAAGGAAAUGAUGACCACUGU		432-452	ACAGUGGUCAUCAUUUCCUUUCU		430-452
AD-1623456	GAAAUGAUGACCACUGGAUCU		436-456	AGAUCCAGUGGUCAUCAUUUCCU		434-456
AD-1623463	UGACCACUGGAUCGUCGACAU		443-463	AUGUCGACGAUCCAGUGGUCAUC		441-463
AD-1623469	CUGGAUCGUCGACACAGACUU		449-469	AAGUCUGUGUCGACGAUCCAGUG		447-469
AD-1623473	AUCGUCGACACAGACUACGAU		453-473	AUCGUAGUCUGUGUCGACGAUCC		451-473
AD-1623477	UCGACACAGACUACGACACGU		457-477	ACGUGUCGUAGUCUGUGUCGACG		455-477
AD-1623482	ACAGACUACGACACGUAUGCU		462-482	AGCAUACGUGUCGUAGUCUGUGU		460-482
AD-1623486	ACUACGACACGUAUGCCGUGU		466-486	ACACGGCAUACGUGUCGUAGUCU		464-486
AD-1623491	GACACGUAUGCCGUGCAGUAU		471-491	AUACUGCACGGCAUACGUGUCGU		469-491
AD-1623498	AUGCCGUGCAGUACUCCUGCU		478-498	AGCAGGAGUACUGCACGGCAUAC		476-498
AD-1623511	CUCCUGCCGCCUCCUGAACCU		491-511	AGGUUCAGGAGGCGGCAGGAGUA		489-511
AD-1623520	CCUCCUGAACCUCGAUGGCAU		500-520	AUGCCAUCGAGGUUCAGGAGGCG		498-520
AD-1623524	CUGAACCUCGAUGGCACCUGU		504-524	ACAGGUGCCAUCGAGGUUCAGGA		502-524

雙鏈體名稱	有義序列 5'至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5'至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623531	UCGAUGGCACCUGUGCUGACU		511-531	AGUCAGCACAGGUGCCAUCGAGG		509-531
AD-1623536	GGCACCUGUGCUGACAGCUAU		516-536	AUAGCUGUCAGCACAGGUGCCAU		514-536
AD-1623543	GUGCUGACAGCUACUCCUUCU		523-543	AGAAGGAGUAGCUGUCAGCACAG		521-543
AD-1623550	CAGCUACUCCUUCGUGUUUUU		530-550	AAAAACACGAAGGAGUAGCUGUC		528-550
AD-1623556	CUCCUUCGUGUUUUCCCGGGU		536-556	ACCCGGGAAAACACGAAGGAGUA		534-556
AD-1623562	GAAGCGCAGAAGAUUGUAAGU		576-596	ACUUACAAUCUUCUGCGCUUCUG		574-596
AD-1623566	CGCAGAAGAUUGUAAGGCAGU		580-600	ACUGCCUUACAAUCUUCUGCGCU		578-600
AD-1623571	AAGAUUGUAAGGCAGCGGCAU		585-605	AUGCCGCUGCCUUACAAUCUUCU		583-605
AD-1623606	GCCAGGCAGUACAGGCUGAUU		621-641	AAUCAGCCUGUACUGCCUGGCCA		619-641
AD-1623611	GCAGUACAGGCUGAUCGUCCU		626-646	AGGACGAUCAGCCUGUACUGCCU		624-646
AD-1623617	CAGGCUGAUCGUCCACAACGU		632-652	ACGUUGUGGACGAUCAGCCUGUA		630-652
AD-1623624	AUCGUCCACAACGGUUACUGU		639-659	ACAGUAACCGUUGUGGACGAUCA		637-659
AD-1623631	ACAACGGUUACUGCGAUGGCU		646-666	AGCCAUCGCAGUAACCGUUGUGG		644-666
AD-1623635	CGGUUACUGCGAUGGCAGAUU		650-670	AAUCUGCCAUCGCAGUAACCGUU		648-670
AD-1623641	CUGCGAUGGCAGAUCAGAAAU		656-676	AUUUCUGAUCUGCCAUCGCAGUA		654-676

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623646	AUGGCAGAUCAGAAAGAAACU		661-681	AGUUUCUUUCUGAUCUGCCAUCG		659-681
AD-1623651	AGAUCAGAAAGAAACCUUUUU		666-686	AAAAAGGUUUCUUUCUGAUCUGC		664-686
AD-1623655	CAGAAAGAAACCUUUUGUAGU		670-690	ACUACAAAAGGUUUCUUUCUGAU		668-690
AD-1623659	AAGAAACCUUUUGUAGCAAUU		674-694	AAUUGCUACAAAAGGUUUCUUUC		672-694
AD-1623664	ACCUUUUGUAGCAAUAUCAAU		679-699	AUUGAUAUUGCUACAAAAGGUUU		677-699
AD-1623668	UUUGUAGCAAUAUCAAGAAUU		683-703	AAUUCUUGAUAUUGCUACAAAAG		681-703
AD-1623675	CAAUAUCAAGAAUCUAGUUUU		690-710	AAAACUAGAUUCUUGAUAUUGCU		688-710
AD-1623679	AUCAAGAAUCUAGUUUCAUCU		694-714	AGAUGAAACUAGAUUCUUGAUAU		692-714
AD-1623683	AGAAUCUAGUUUCAUCUGAGU		698-718	ACUCAGAUGAAACUAGAUUCUUG		696-718
AD-1623688	CUAGUUUCAUCUGAGAACUUU		703-723	AAAGUUCUCAGAUGAAACUAGAU		701-723
AD-1623694	UCAUCUGAGAACUUCUGAUUU		709-729	AAAUCAGAAGUUCUCAGAUGAAA		707-729
AD-1623698	CUGAGAACUUCUGAUUAGCUU		713-733	AAGCUAAUCAGAAGUUCUCAGAU		711-733
AD-1623702	GAACUUCUGAUUAGCUCUCAU		717-737	AUGAGAGCUAAUCAGAAGUUCUC		715-737
AD-1623707	UCUGAUUAGCUCUCAGUCUUU		722-742	AAAGACUGAGAGCUAAUCAGAAG		720-742
AD-1623712	UUAGCUCUCAGUCUUCAGCUU		727-747	AAGCUGAAGACUGAGAGCUAAUC		725-747

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623716	CUCUCAGUCUUCAGCUCUAUU		731-751	AAUAGAGCUGAAGACUGAGAGCU		729-751
AD-1623720	CAGUCUUCAGCUCUAUUUAUU		735-755	AAUAAAUAGAGCUGAAGACUGAG		733-755
AD-1623724	CUUCAGCUCUAUUUAUCUUAU		739-759	AUAAGAUAAAUAGAGCUGAAGAC		737-759
AD-1623728	AGCUCUAUUUAUCUUAGGAGU		743-763	ACUCCUAAGAUAAAUAGAGCUGA		741-763
AD-1623732	CUAUUUAUCUUAGGAGUUUAU		747-767	AUAAACUCCUAAGAUAAAUAGAG		745-767
AD-1623738	AUCUUAGGAGUUUAAUUUGCU		753-773	AGCAAAUUAAACUCCUAAGAUAA		751-773
AD-1623742	UAGGAGUUUAAUUUGCCCUUU		757-777	AAAGGGCAAAUUAAACUCCUAAG		755-777
AD-1623746	AGUUUAAUUUGCCCUUCUCUU		761-781	AAGAGAAGGGCAAAUUAAACUCC		759-781
AD-1623751	UCUUCCCUCAGUUCCCAUAAU		786-806	AUUAUGGGAACUGAGGGAAGAUG		784-806
AD-1623758	UCAGUUCCCAUAAAACCUUCU		793-813	AGAAGGUUUUAUGGGAACUGAGG		791-813
AD-1623762	UUCCCAUAAAACCUUCAUUAU		797-817	AUAAUGAAGGUUUUAUGGGAACU		795-817
AD-1623767	AUAAAACCUUCAUUACACAUU		802-822	AAUGUGUAAUGAAGGUUUUAUGG		800-822
AD-1623771	AACCUUCAUUACACAUAAAGU		806-826	ACUUUAUGUGUAAUGAAGGUUUU		804-826
AD-1623775	UUCAUUACACAUAAAGAUACU		810-830	AGUAUCUUUAUGUGUAAUGAAGG		808-830
AD-1623779	UUACACAUAAAGAUACACGUU		814-834	AACGUGUAUCUUUAUGUGUAAUG		812-834

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍
AD-1623785	UCAGUGAAUCUGCUUGCCUUU		839-859	AAAGGCAAGCAGAUUCACUGACC		837-859
AD-1623789	UGAAUCUGCUUGCCUUUCCUU		843-863	AAGGAAAGGCAAGCAGAUUCACU		841-863
AD-1623793	UCUGCUUGCCUUUCCUGAAAU		847-867	AUUUCAGGAAAGGCAAGCAGAUU		845-867
AD-1623799	UGCCUUUCCUGAAAGUUUCUU		853-873	AAGAAACUUUCAGGAAAGGCAAG		851-873
AD-1623804	GCUUAAGAUUCCAGACUCUGU		876-896	ACAGAGUCUGGAAUCUUAAGCCC		874-896
AD-1623809	AGAUUCCAGACUCUGAUUCAU		881-901	AUGAAUCAGAGUCUGGAAUCUUA		879-901
AD-1623814	CCAGACUCUGAUUCAUUAAAU		886-906	AUUUAAUGAAUCAGAGUCUGGAA		884-906
AD-1623819	CUCUGAUUCAUUAAACUAUAU		891-911	AUAUAGUUUAAUGAAUCAGAGUC		889-911
AD-1623823	GAUUCAUUAAACUAUAGUCAU		895-915	AUGACUAUAGUUUAAUGAAUCAG		893-915
AD-1623829	UUAAACUAUAGUCACCCGUGU		901-921	ACACGGGUGACUAUAGUUUAAUG		899-921
AD-1623833	ACUAUAGUCACCCGUGUCCUU		905-925	AAGGACACGGGUGACUAUAGUUU		903-925
AD-1623838	AGUCACCCGUGUCCUGUGAUU		910-930	AAUCACAGGACACGGGUGACUAU		908-930
AD-1623842	ACCCGUGUCCUGUGAUUUUAU		914-934	AUAAAAUCACAGGACACGGGUGA		912-934
AD-1623846	GUGUCCUGUGAUUUUAGUUUU		918-938	AAAACUAAAAUCACAGGACACGG		916-938
AD-1623852	GUGAUUUUAGUUUUCAUUUGU		925-945	ACAAAUGAAAACUAAAAUCACAG		923-945

雙鏈體名稱	有義序列 5' to 3'	SEQ ID NO.	於 NM_006744.4 中之範圍	反義序列 5' to 3'	SEQ ID NO.	範圍於 NM_006744.4
AD-1623861	UUUUCAUUUGUGUUUAUGUCU		935-955	AGACAUAAACACAAAUGAAAACU		933-955
AD-1623867	UUUGUGUUUAUGUCUGUGCUU		941-961	AAGCACAGACAUAAACACAAAUG		939-961
AD-1623872	GUUUAUGUCUGUGCUGCAGAU		946-966	AUCUGCAGCACAGACAUAAACAC		944-966
AD-1623877	UGUCUGUGCUGCAGACGGAUU		951-971	AAUCCGUCUGCAGCACAGACAUA		949-971
AD-1623888	GCGCUUCUUUAUACCAGGAGU		980-1000	ACUCCUGGUAUAAAGAAGCGCAC		978-1000
AD-1623892	UUCUUUAUACCAGGAGCACGU		984-1004	ACGUGCUCCUGGUAUAAAGAAGC		982-1004
AD-1623904	GGAGCACGUGGCUCUUUCUGU		996-1016	ACAGAAAGAGCCACGUGCUCCUG		994-1016
AD-1623911	GUGGCUCUUUCUGACCUUUGU		1003-1023	ACAAAGGUCAGAAAGAGCCACGU		1001-1023
AD-1623915	CUCUUUCUGACCUUUGGCCUU		1007-1027	AAGGCCAAAGGUCAGAAAGAGCC		1005-1027
AD-1623921	CUGACCUUUGGCCUGUUCUAU		1013-1033	AUAGAACAGGCCAAAGGUCAGAA		1011-1033
AD-1623928	UUGGCCUGUUCUAGUGCCUAU		1020-1040	AUAGGCACUAGAACAGGCCAAAG		1018-1040
AD-1623933	CUGUUCUAGUGCCUAAUCUCU		1025-1045	AGAGAUUAGGCACUAGAACAGGC		1023-1045
AD-1623938	CUAGUGCCUAAUCUCCAUUAU		1030-1050	AUAAUGGAGAUUAGGCACUAGAA		1028-1050
AD-1623943	GCCUAAUCUCCAUUAUUAAAU		1035-1055	AUUUAAUAAUGGAGAUUAGGCAC		1033-1055
AD-1623947	UCUCCAUUAUUAAAUACUGGU		1041-1061	ACCAGUAUUUAAUAAUGGAGAUU		1039-1061

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM 006744.4 中之範圍	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	於 NM 006744.4 中之範圍
AD-1623952	AUUAUUAAAUACUGGCUUCUU		1046-1066	AAGAAGCCAGUAUUUAAUAAUGG		1044-1066

【0756】表 3 RBP4 dsRNA 劑之經修飾的有義股及反義股序列

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623155	gsgsgcggAfuUfCfCfugggcaagauL96		asUfscuuGfcCfCfaggaAfuCfcgcccsasc		GUGGGCGGAUUCCUGGGCAAGAU	
AD-1623159	gsgsauucCfuGfGfGfcaagaugaauL96		asUfsucaUfcUfUfgcccAfgGfaauccsgsc		GCGGAUUCCUGGGCAAGAUGAAG	
AD-1623164	cscsugggCfaAfGfAfugaaguggguL96		asCfsccaCfuUfCfaucuUfgCfccaggsasa		UUCCUGGGCAAGAUGAAGUGGGU	
AD-1623169	gscsaagaUfgAfAfGfugggugugguL96		asCfscacAfcCfCfacuuCfaUfcuugcscsc		GGGCAAGAUGAAGUGGGUGUGGG	
AD-1623173	gsasugaaGfuGfGfGfugugggcgcuL96		asGfscgcCfcAfCfacccAfcUfucaucsusu		AAGAUGAAGUGGGUGUGGGCGCU	
AD-1623179	gsusggguGfuGfGfGfcgcucuugcuL96		asGfscaaGfaGfCfgcccAfcAfcccacsusu		AAGUGGGUGUGGGCGCUCUUGCU	
AD-1623186	usgsggcgCfuCfUfUfgcuguuggcuL96		asGfsccaAfcAfGfcaagAfgCfgcccascsa		UGUGGGCGCUCUUGCUGUUGGCG	
AD-1623206	ascsugccGfaGfUfGfagcagcuucuL96		asGfsaagCfuGfCfucacUfcGfgcagusccsg		CGACUGCCGAGUGAGCAGCUUCC	
AD-1623213	asgsugagCfaGfCfUfuccgagucauL96		asUfsgacUfcGfGfaagcUfgCfucacuscsg		CGAGUGAGCAGCUUCCGAGUCAA	
AD-1623217	asgscagcUfuCfCfGfagucaaggauL96		asUfsccuUfgAfCfucggAfaGfcugcuscsa		UGAGCAGCUUCCGAGUCAAGGAG	

雙鏈體名稱	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623222	csusuccgAfgUfCfAfaggagaacuuL96		asAfsguuCfuCfCfuugaCfuCfggaagscsu		AGCUUCCGAGUCAAGGAGAACUU	
AD-1623229	gsuscaagGfaGfAfAfcuucgacaauL96		asUfsuguCfgAfAfguucUfcCfuugacsusc		GAGUCAAGGAGAACUUCGACAAG	
AD-1623234	gsgsagaaCfuUfCfGfacaaggcucuL96		asGfsagcCfuUfGfucgaAfgUfucuccsusu		AAGGAGAACUUCGACAAGGCUCG	
AD-1623241	ususcgacAfaGfGfCfucgcuucucuL96		asGfsagaAfgCfGfagccUfuGfucgaasgsu		ACUUCGACAAGGCUCGCUUCUCU	
AD-1623248	asgsgcucGfcUfUfCfucugggaccuL96		asGfsgucCfcAfGfagaaGfcGfagccususg		CAAGGCUCGCUUCUCUGGGACCU	
AD-1623252	uscsgcuuCfuCfUfGfggaccugguuL96		asAfsccaGfgUfCfccagAfgAfagcgasgsc		GCUCGCUUCUCUGGGACCUGGUA	
AD-1623257	uscsucugGfgAfCfCfugguacgccuL96		asGfsgcgUfaCfCfagguCfcCfagagasasg		CUUCUCUGGGACCUGGUACGCCA	
AD-1623261	usgsggacCfuGfGfUfacgccaugguL96		asCfscauGfgCfGfuaccAfgGfucccasgsa		UCUGGGACCUGGUACGCCAUGGC	
AD-1623267	csusgguaCfgCfCfAfuggccaagauL96		asUfscuuGfgCfCfauggCfgUfaccagsgsu		ACCUGGUACGCCAUGGCCAAGAA	
AD-1623272	ascsgccaUfgGfCfCfaagaaggacuL96		asGfsuccUfuCfUfuggcCfaUfggcgusasc		GUACGCCAUGGCCAAGAAGGACC	
AD-1623275	gsasgggcCfuCfUfUfucugcaggauL96		asUfsccuGfcAfGfaaagAfgGfcccucsgsg		CCGAGGGCCUCUUUCUGCAGGAC	
AD-1623279	gscscucuUfuCfUfGfcaggacaacuL96		asGfsuugUfcCfUfgcagAfaAfgaggcscsc		GGGCCUCUUUCUGCAGGACAACA	
AD-1623284	ususucugCfaGfGfAfcaacaucguuL96		asAfscgaUfgUfUfguccUfgCfagaaasgsa		UCUUUCUGCAGGACAACAUCGUC	
AD-1623292	gsgsacaaCfaUfCfGfucgcggaguuL96		asAfscucCfgCfGfacgaUfgUfuguccsusg		CAGGACAACAUCGUCGCGGAGUU	

雙鏈體名稱	有義序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623297	ascsaucgUfcGfCfGfgaguucuccuL96		asGfsgagAfaCfUfccgcGfaCfgaugususg		CAACAUCGUCGCGGAGUUCUCCG	
AD-1623301	csgsucgcGfgAfGfUfucuccgugguL96		asCfscacGfgAfGfaacuCfcGfcgacgsasu		AUCGUCGCGGAGUUCUCCGUGGA	
AD-1623307	gsgsaguuCfuCfCfGfuggacgagauL96		asUfscucGfuCfCfacggAfgAfacuccsgsc		GCGGAGUUCUCCGUGGACGAGAC	
AD-1623311	ususcuccGfuGfGfAfcgagaccgguL96		asCfscggUfcUfCfguccAfcGfgagaascsu		AGUUCUCCGUGGACGAGACCGGC	
AD-1623346	csasagggCfcGfAfGfuccgucuuuuL96		asAfsaagAfcGfGfacucGfgCfccuugsgsc		GCCAAGGGCCGAGUCCGUCUUUU	
AD-1623350	gsgsccgaGfuCfCfGfucuuuugaauL96		asUfsucaAfaAfGfacggAfcUfcggccscsu		AGGGCCGAGUCCGUCUUUUGAAU	
AD-1623354	gsasguccGfuCfUfUfuugaauaacuL96		asGfsuuaUfuCfAfaaagAfcGfgacucsgsg		CCGAGUCCGUCUUUUGAAUAACU	
AD-1623358	cscsgucuUfuUfGfAfauaacuggguL96		asCfsccaGfuUfAfuucaAfaAfgacggsasc		GUCCGUCUUUUGAAUAACUGGGA	
AD-1623362	csusuuugAfaUfAfAfcugggacguuL96		asAfscguCfcCfAfguuaUfuCfaaaagsasc		GUCUUUUGAAUAACUGGGACGUG	
AD-1623366	usgsaauaAfcUfGfGfgacgugugcuL96		asGfscacAfcGfUfcccaGfuUfauucasasa		UUUGAAUAACUGGGACGUGUGCG	
AD-1623372	ascsugggAfcGfUfGfugcgcagacuL96		asGfsucuGfcGfCfacacGfuCfccagususa		UAACUGGGACGUGUGCGCAGACA	
AD-1623378	ascsguguGfcGfCfAfgacaugguguL96		asCfsaccAfuGfUfcugcGfcAfcacguscsc		GGACGUGUGCGCAGACAUGGUGG	
AD-1623382	gsusgcgcAfgAfCfAfuggugggcauL96		asUfsgccCfaCfCfauguCfuGfcgcacsasc		GUGUGCGCAGACAUGGUGGGCAC	
AD-1623392	asusggugGfgCfAfCfcuucacagauL96		asUfscugUfgAfAfggugCfcCfaccausgsu		ACAUGGUGGGCACCUUCACAGAC	

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623397	gsgsgcacCfuUfCfAfcagacaccguL96		asCfsgguGfuCfUfgugaAfgGfugcccsasc		GUGGGCACCUUCACAGACACCGA	
AD-1623402	cscsuucaCfaGfAfCfaccgaggacuL96		asGfsuccUfcGfGfugucUfgUfgaaggsusg		CACCUUCACAGACACCGAGGACC	
AD-1623413	ascscgagGfaCfCfCfugccaaguuuL96		asAfsacuUfgGfCfagggUfcCfucggusgsu		ACACCGAGGACCCUGCCAAGUUC	
AD-1623421	cscscugcCfaAfGfUfucaagaugauL96		asUfscauCfuUfGfaacuUfgGfcagggsusc		GACCCUGCCAAGUUCAAGAUGAA	
AD-1623427	csasaguuCfaAfGfAfugaaguacuuL96		asAfsguaCfuUfCfaucuUfgAfacuugsgsc		GCCAAGUUCAAGAUGAAGUACUG	
AD-1623436	asgsccucCfuUfUfCfuccagaaaguL96		asCfsuuuCfuGfGfagaaAfgGfaggcusasc		GUAGCCUCCUUUCUCCAGAAAGG	
AD-1623443	ususucucCfaGfAfAfaggaaaugauL96		asUfscauUfuCfCfuuucUfgGfagaaasgsg		CCUUUCUCCAGAAAGGAAAUGAU	
AD-1623448	cscsagaaAfgGfAfAfaugaugaccuL96		asGfsgucAfuCfAfuuucCfuUfucuggsasg		CUCCAGAAAGGAAAUGAUGACCA	
AD-1623452	asasaggaAfaUfGfAfugaccacuguL96		asCfsaguGfgUfCfaucaUfuUfccuuuscsu		AGAAAGGAAAUGAUGACCACUGG	
AD-1623456	gsasaaugAfuGfAfCfcacuggaucuL96		asGfsaucCfaGfUfggucAfuCfauuucscsu		AGGAAAUGAUGACCACUGGAUCG	
AD-1623463	usgsaccaCfuGfGfAfucgucgacauL96		asUfsgucGfaCfGfauccAfgUfggucasusc		GAUGACCACUGGAUCGUCGACAC	
AD-1623469	csusggauCfgUfCfGfacacagacuuL96		asAfsgucUfgUfGfucgaCfgAfuccagsusg		CACUGGAUCGUCGACACAGACUA	
AD-1623473	asuscgucGfaCfAfCfagacuacgauL96		asUfscguAfgUfCfugugUfcGfacgauscsc		GGAUCGUCGACACAGACUACGAC	
AD-1623477	uscsgacaCfaGfAfCfuacgacacguL96		asCfsgugUfcGfUfagucUfgUfgucgascsg		CGUCGACACAGACUACGACACGU	

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623482	ascsagacUfaCfGfAfcacguaugcuL96		asGfscauAfcGfUfgucgUfaGfucugusgsu		ACACAGACUACGACACGUAUGCC	
AD-1623486	ascsuacgAfcAfCfGfuaugccguguL96		asCfsacgGfcAfUfacguGfuCfguagucsu		AGACUACGACACGUAUGCCGUGC	
AD-1623491	gsascacgUfaUfGfCfcgugcaguauL96		asUfsacuGfcAfCfggcaUfaCfgugucsgsu		ACGACACGUAUGCCGUGCAGUAC	
AD-1623498	asusgccgUfgCfAfGfuacuccugcuL96		asGfscagGfaGfUfacugCfaCfggcausasc		GUAUGCCGUGCAGUACUCCUGCC	
AD-1623511	csusccugCfcGfCfCfuccugaaccuL96		asGfsguuCfaGfGfaggcGfgCfaggagsusa		UACUCCUGCCGCCUCCUGAACCU	
AD-1623520	cscsuccuGfaAfCfCfucgauggcauL96		asUfsgccAfuCfGfagguUfcAfggaggscsg		CGCCUCCUGAACCUCGAUGGCAC	
AD-1623524	csusgaacCfuCfGfAfuggcaccuguL96		asCfsaggUfgCfCfaucgAfgGfuucagsgsa		UCCUGAACCUCGAUGGCACCUGU	
AD-1623531	uscsgaugGfcAfCfCfugugcugacuL96		asGfsucaGfcAfCfagguGfcCfaucgasgsg		CCUCGAUGGCACCUGUGCUGACA	
AD-1623536	gsgscaccUfgUfGfCfugacagcuauL96		asUfsagcUfgUfCfagcaCfaGfgugccsasu		AUGGCACCUGUGCUGACAGCUAC	
AD-1623543	gsusgcugAfcAfGfCfuacuccuucuL96		asGfsaagGfaGfUfagcuGfuCfagcacsasg		CUGUGCUGACAGCUACUCCUUCG	
AD-1623550	csasgcuaCfuCfCfUfucguguuuuuL96		asAfsaaaCfaCfGfaaggAfgUfagcugsusc		GACAGCUACUCCUUCGUGUUUUC	
AD-1623556	csusccuuCfgUfGfUfuuucccggguL96		asCfsccgGfgAfAfaacaCfgAfaggagsusa		UACUCCUUCGUGUUUUCCCGGGA	
AD-1623562	gsasagcgCfaGfAfAfgauuguaaguL96		asCfsuuaCfaAfUfcuucUfgCfgcuucsusg		CAGAAGCGCAGAAGAUUGUAAGG	
AD-1623566	csgscagaAfgAfUfUfguaaggcaguL96		asCfsugcCfuUfAfcaauCfuUfcugcgscsu		AGCGCAGAAGAUUGUAAGGCAGC	

雙鏈體名稱	有義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623571	asasgauuGfuAfAfGfgcagcggcauL96		asUfsgccGfcUfGfccuuAfcAfaucuuscsu		AGAAGAUUGUAAGGCAGCGGCAG	
AD-1623606	gscscaggCfaGfUfAfcaggcugauuL96		asAfsucaGfcCfUfguacUfgCfcuggcscsa		UGGCCAGGCAGUACAGGCUGAUC	
AD-1623611	gscsaguaCfaGfGfCfugaucguccuL96		asGfsgacGfaUfCfagccUfgUfacugcscsu		AGGCAGUACAGGCUGAUCGUCCA	
AD-1623617	csasggcuGfaUfCfGfuccacaacguL96		asCfsguuGfuGfGfacgaUfcAfgccugsusa		UACAGGCUGAUCGUCCACAACGG	
AD-1623624	asuscgucCfaCfAfAfcgguuacuguL96		asCfsaguAfaCfCfguugUfgGfacgauscsa		UGAUCGUCCACAACGGUUACUGC	
AD-1623631	ascsaacgGfuUfAfCfugcgauggcuL96		asGfsccaUfcGfCfaguaAfcCfguugusgsg		CCACAACGGUUACUGCGAUGGCA	
AD-1623635	csgsguuaCfuGfCfGfauggcagauuL96		asAfsucuGfcCfAfucgcAfgUfaaccgsusu		AACGGUUACUGCGAUGGCAGAUC	
AD-1623641	csusgcgaUfgGfCfAfgaucagaaauL96		asUfsuucUfgAfUfcugcCfaUfcgcagsusa		UACUGCGAUGGCAGAUCAGAAAG	
AD-1623646	asusggcaGfaUfCfAfgaaagaaacuL96		asGfsuuuCfuUfUfcugaUfcUfgccauscsg		CGAUGGCAGAUCAGAAAGAAACC	
AD-1623651	asgsaucaGfaAfAfGfaaaccuuuuuL96		asAfsaaaGfgUfUfucuuUfcUfgaucusgsc		GCAGAUCAGAAAGAAACCUUUUG	
AD-1623655	csasgaaaGfaAfAfCfcuuuuguaguL96		asCfsuacAfaAfAfgguuUfcUfuucugsasu		AUCAGAAAGAAACCUUUUGUAGC	
AD-1623659	asasgaaaCfcUfUfUfuguagcaauuL96		asAfsuugCfuAfCfaaaaGfgUfuucuususc		GAAAGAAACCUUUUGUAGCAAUA	
AD-1623664	ascscuuuUfgUfAfGfcaauaucaauL96		asUfsugaUfaUfUfgcuaCfaAfaaggususu		AAACCUUUUGUAGCAAUAUCAAG	
AD-1623668	ususuguaGfcAfAfUfaucaagaauuL96		asAfsuucUfuGfAfuauuGfcUfacaaasasg		CUUUUGUAGCAAUAUCAAGAAUC	

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623675	csasauauCfaAfGfAfaucuaguuuuL96		asAfsaacUfaGfAfuucuUfgAfuauugscsu		AGCAAUAUCAAGAAUCUAGUUUC	
AD-1623679	asuscaagAfaUfCfUfaguuucaucuL96		asGfsaugAfaAfCfuagaUfuCfuugausasu		AUAUCAAGAAUCUAGUUUCAUCU	
AD-1623683	asgsaaucUfaGfUfUfucaucugaguL96		asCfsucaGfaUfGfaaacUfaGfauucususg		CAAGAAUCUAGUUUCAUCUGAGA	
AD-1623688	csusaguuUfcAfUfCfugagaacuuuL96		asAfsaguUfcUfCfagauGfaAfacuagsasu		AUCUAGUUUCAUCUGAGAACUUC	
AD-1623694	uscsaucuGfaGfAfAfcuucugauuuL96		asAfsaucAfgAfAfguucUfcAfgaugasasa		UUUCAUCUGAGAACUUCUGAUUA	
AD-1623698	csusgagaAfcUfUfCfugauuagcuuL96		asAfsgcuAfaUfCfagaaGfuUfcucagsasu		AUCUGAGAACUUCUGAUUAGCUC	
AD-1623702	gsasacuuCfuGfAfUfuagcucucauL96		asUfsgagAfgCfUfaaucAfgAfaguucsusc		GAGAACUUCUGAUUAGCUCUCAG	
AD-1623707	uscsugauUfaGfCfUfcucagucuuuL96		asAfsagaCfuGfAfgagcUfaAfucagasasg		CUUCUGAUUAGCUCUCAGUCUUC	
AD-1623712	ususagcuCfuCfAfGfucuucagcuuL96		asAfsgcuGfaAfGfacugAfgAfgcuaasusc		GAUUAGCUCUCAGUCUUCAGCUC	
AD-1623716	csuscucaGfuCfUfUfcagcucuauuL96		asAfsuagAfgCfUfgaagAfcUfgagagscsu		AGCUCUCAGUCUUCAGCUCUAUU	
AD-1623720	csasgucuUfcAfGfCfucuauuuauuL96		asAfsuaaAfuAfGfagcuGfaAfgacugsasg		CUCAGUCUUCAGCUCUAUUUAUC	
AD-1623724	csusucagCfuCfUfAfuuuaucuuauL96		asUfsaagAfuAfAfauagAfgCfugaagsasc		GUCUUCAGCUCUAUUUAUCUUAG	
AD-1623728	asgscucuAfuUfUfAfucuuaggaguL96		asCfsuccUfaAfGfauaaAfuAfgagcusgsa		UCAGCUCUAUUUAUCUUAGGAGU	
AD-1623732	csusauuuAfuCfUfUfaggaguuuauL96		asUfsaaaCfuCfCfuaagAfuAfaauagsasg		CUCUAUUUAUCUUAGGAGUUUAA	

雙鏈體名稱	有義序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623738	asuscuuaGfgAfGfUfuuaauuugcuL96		asGfscaaAfuUfAfaacuCfcUfaagausasa		UUAUCUUAGGAGUUUAAUUUGCC	
AD-1623742	usasggagUfuUfAfAfuuugcccuuuL96		asAfsaggGfcAfAfauuaAfaCfuccuasasg		CUUAGGAGUUUAAUUUGCCCUUC	
AD-1623746	asgsuuuaAfuUfUfGfcccuucucuuL96		asAfsgagAfaGfGfgcaaAfuUfaaacuscsc		GGAGUUUAAUUUGCCCUUCUCUC	
AD-1623751	uscsuuccCfuCfAfGfuucccauaauL96		asUfsuauGfgGfAfacugAfgGfgaagasusg		CAUCUUCCCUCAGUUCCCAUAAA	
AD-1623758	uscsaguuCfcCfAfUfaaaaccuucuL96		asGfsaagGfuUfUfuaugGfgAfacugasgsg		CCUCAGUUCCCAUAAAACCUUCA	
AD-1623762	ususcccaUfaAfAfAfccuucauuauL96		asUfsaauGfaAfGfguuuUfaUfgggaascsu		AGUUCCCAUAAAACCUUCAUUAC	
AD-1623767	asusaaaaCfcUfUfCfauuacacauuL96		asAfsuguGfuAfAfugaaGfgUfuuuausgsg		CCAUAAAACCUUCAUUACACAUA	
AD-1623771	asasccuuCfaUfUfAfcacauaaaguL96		asCfsuuuAfuGfUfguaaUfgAfagguususu		AAAACCUUCAUUACACAUAAAGA	
AD-1623775	ususcauuAfcAfCfAfuaaagauacuL96		asGfsuauCfuUfUfauguGfuAfaugaasgsg		CCUUCAUUACACAUAAAGAUACA	
AD-1623779	ususacacAfuAfAfAfgauacacguuL96		asAfscguGfuAfUfcuuuAfuGfuguaasusg		CAUUACACAUAAAGAUACACGUG	
AD-1623785	uscsagugAfaUfCfUfgcuugccuuuL96		asAfsaggCfaAfGfcagaUfuCfacugascsc		GGUCAGUGAAUCUGCUUGCCUUU	
AD-1623789	usgsaaucUfgCfUfUfgccuuuccuuL96		asAfsggaAfaGfGfcaagCfaGfauucascsu		AGUGAAUCUGCUUGCCUUUCCUG	
AD-1623793	uscsugcuUfgCfCfUfuuccugaaauL96		asUfsuucAfgGfAfaaggCfaAfgcagasusu		AAUCUGCUUGCCUUUCCUGAAAG	
AD-1623799	usgsccuuUfcCfUfGfaaaguuucuuL96		asAfsgaaAfcUfUfucagGfaAfaggcasasg		CUUGCCUUUCCUGAAAGUUUCUG	

雙鏈體名稱	有義序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5'至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623804	gscsuuaaGfaUfUfUfCfcagacucuguL96		asCfsagaGfuCfUfggaaUfcUfuaagcscsc		GGGCUUAAGAUUCCAGACUCUGA	
AD-1623809	asgsauucCfaGfAfCfucugauucauL96		asUfsgaaUfcAfGfagucUfgGfaaucususa		UAAGAUUCCAGACUCUGAUUCAU	
AD-1623814	cscsagacUfcUfGfAfuucauuaaauL96		asUfsuuaAfuGfAfaucaGfaGfucuggsasa		UUCCAGACUCUGAUUCAUUAAAC	
AD-1623819	csuscugaUfuCfAfUfuaaacuauauL96		asUfsauaGfuUfUfaaugAfaUfcagagsusc		GACUCUGAUUCAUUAAACUAUAG	
AD-1623823	gsasuucaUfuAfAfAfcuauagucauL96		asUfsgacUfaUfAfguuuAfaUfgaaucsasg		CUGAUUCAUUAAACUAUAGUCAC	
AD-1623829	ususaaacUfaUfAfGfucacccguguL96		asCfsacgGfgUfGfacuaUfaGfuuuaasusg		CAUUAAACUAUAGUCACCCGUGU	
AD-1623833	ascsuauaGfuCfAfCfccguguccuuL96		asAfsggaCfaCfGfggugAfcUfauagususu		AAACUAUAGUCACCCGUGUCCUG	
AD-1623838	asgsucacCfcGfUfGfuccugugauuL96		asAfsucaCfaGfGfacacGfgGfugacusasu		AUAGUCACCCGUGUCCUGUGAUU	
AD-1623842	ascsccguGfuCfCfUfgugauuuuauL96		asUfsaaaAfuCfAfcaggAfcAfcgggusgsa		UCACCCGUGUCCUGUGAUUUUAG	
AD-1623846	gsusguccUfgUfGfAfuuuuaguuuuL96		asAfsaacUfaAfAfaucaCfaGfgacacsgsg		CCGUGUCCUGUGAUUUUAGUUUU	
AD-1623852	gsusgauuUfuAfGfUfuuucauuugu L96		asCfsaaaUfgAfAfaacuAfaAfaucacsasg		CUGUGAUUUUAGUUUUCAUUUGU	
AD-1623861	ususuucaUfuUfGfUfguuuaugucu L96		asGfsacaUfaAfAfcacaAfaUfgaaaascsu		AGUUUUCAUUUGUGUUUAUGUCU	
AD-1623867	ususugugUfuUfAfUfgucugugcuu L96		asAfsgcaCfaGfAfcauaAfaCfacaaasusg		CAUUUGUGUUUAUGUCUGUGCUG	
AD-1623872	gsusuuauGfuCfUfGfugcugcagauL96		asUfscugCfaGfCfacagAfcAfuaaacsasc		GUGUUUAUGUCUGUGCUGCAGAC	

雙鏈體名稱	有義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	反義序列 5' 至 3'	SEQ ID NO:	mRNA 靶序列	SEQ ID NO:
AD-1623877	usgsucugUfgCfUfGfcagacggauuL96		asAfsuccGfuCfUfgcagCfaCfagacasusa		UAUGUCUGUGCUGCAGACGGAUG	
AD-1623888	gscsgcuuCfuUfUfUfAfuaccaggaguL96		asCfsuccUfgGfUfauaaAfgAfagcgcsasc		GUGCGCUUCUUUAUACCAGGAGC	
AD-1623892	ususcuuuAfuAfCfCfaggagcacguL96		asCfsgugCfuCfCfugguAfuAfaagaasgsc		GCUUCUUUAUACCAGGAGCACGU	
AD-1623904	gsgsagcaCfgUfGfGfGfcucuuucuguL96		asCfsagaAfaGfAfGfccaCfgUfgcuccsusg		CAGGAGCACGUGGCUCUUUCUGA	
AD-1623911	gsusggcuCfuUfUfCfUfgaccuuugguL96		asCfsaaaGfgUfCfagaaAfgAfgccacsgsu		ACGUGGCUCUUUCUGACCUUUGG	
AD-1623915	csuscuuuCfuGfAfCfcuuuggccuuL96		asAfsggcCfaAfAfggucAfgAfaagagscsc		GGCUCUUUCUGACCUUUGGCCUG	
AD-1623921	csusgaccUfuUfGfGfGfccuguucuauL96		asUfsagaAfcAfGfgccaAfaGfgucagsasa		UUCUGACCUUUGGCCUGUUCUAG	
AD-1623928	ususggccUfgUfUfCfUfuagugccuauL96		asUfsaggCfaCfUfagaaCfaGfgccaasasg		CUUUGGCCUGUUCUAGUGCCUAA	
AD-1623933	csusguucUfaGfUfGfGfccuaaaucucuL96		asGfsagaUfuAfGfgcacUfaGfaacagsgsc		GCCUGUUCUAGUGCCUAAUCUCC	
AD-1623938	csusagugCfcUfAfAfAfucuccauuauuL96		asUfsaauGfgAfGfauuaGfgCfacuagsasa		UUCUAGUGCCUAAUCUCCAUUAU	
AD-1623943	gscscuaaUfcUfCfCfCfauuauuaaauL96		asUfsuuaAfuAfAfuggaGfaUfuagggcsasc		GUGCCUAAUCUCCCAUUAUUAAAU	
AD-1623947	uscsuccaUfuAfUfUfUfaaauacugguL96		asCfscagUfaUfUfuaauAfaUfggagasusu		AAUCUCCCAUUAUUAAAUACUGGC	
AD-1623952	asusuauuAfaAfUfAfAfcuggcuucuuL96		asAfsgaaGfcCfAfguauUfuAfauaausgsg		CCAUUAUUAAAUACUGGCUUCUC	

【0757】 表 4 Hep3B 細胞單一劑量篩查

雙鏈體 ID	RBP4/gapdh	
	10	
	平均	標準差
AD-1623952	101.716	2.634
AD-1623947	112.337	4.270
AD-1623943	107.188	5.043
AD-1623938	87.458	3.366
AD-1623933	104.085	7.243
AD-1623928	91.850	4.771
AD-1623921	104.835	3.970
AD-1623915	107.560	4.668
AD-1623911	109.273	3.910
AD-1623904	113.323	7.186
AD-1623892	115.083	3.964
AD-1623888	112.541	2.728
AD-1623877	109.293	6.105
AD-1623872	108.431	3.292
AD-1623867	107.283	3.805
AD-1623861	110.341	1.877
AD-1623852	111.135	6.581
AD-1623846	109.242	6.565
AD-1623842	91.678	3.912
AD-1623838	85.104	6.160
AD-1623833	63.874	4.339
AD-1623829	12.074	0.754
AD-1623823	6.528	0.359
AD-1623819	3.826	0.176
AD-1623814	4.731	0.100
AD-1623809	4.999	0.574
AD-1623804	7.861	0.429
AD-1623799	13.171	0.074
AD-1623793	5.465	0.228
AD-1623789	6.580	0.312
AD-1623785	5.480	0.460
AD-1623779	8.296	0.724
AD-1623775	7.766	0.764
AD-1623771	25.273	2.606
AD-1623767	10.765	0.931
AD-1623762	7.339	0.407
AD-1623758	14.707	1.530
AD-1623751	9.433	0.871
AD-1623746	5.250	0.382
AD-1623742	3.772	0.113

雙鏈體 ID	RBP4/gapdh	
	10	
	平均	標準差
AD-1623738	6.873	1.034
AD-1623732	4.140	0.210
AD-1623728	5.536	0.349
AD-1623724	4.049	0.406
AD-1623720	3.783	0.351
AD-1623716	3.973	0.320
AD-1623712	4.910	0.337
AD-1623707	3.493	0.958
AD-1623702	5.471	0.302
AD-1623698	6.846	0.526
AD-1623694	4.019	0.375
AD-1623688	5.031	0.381
AD-1623683	4.776	0.441
AD-1623679	3.836	0.078
AD-1623675	3.239	0.139
AD-1623668	7.617	0.349
AD-1623664	8.704	0.719
AD-1623659	3.544	0.231
AD-1623655	4.715	0.368
AD-1623651	4.172	0.171
AD-1623646	3.382	0.355
AD-1623641	8.785	0.262
AD-1623635	11.219	0.682
AD-1623631	14.874	5.736
AD-1623624	4.850	0.232
AD-1623617	5.514	0.220
AD-1623611	4.752	1.354
AD-1623606	7.456	1.711
AD-1623571	41.195	2.740
AD-1623566	28.534	2.199
AD-1623562	17.250	1.336
AD-1623556	22.726	2.606
AD-1623550	6.174	3.816
AD-1623543	5.699	0.554
AD-1623536	4.166	0.409
AD-1623531	6.002	1.438
AD-1623524	7.892	4.217
AD-1623520	7.663	2.835
AD-1623511	42.430	3.710
AD-1623498	54.164	1.640
AD-1623491	11.329	0.244
AD-1623486	66.817	9.518
AD-1623482	8.190	1.558

雙鏈體 ID	RBP4/gapdh	
	10	
	平均	標準差
AD-1623477	4.779	0.683
AD-1623473	6.221	0.201
AD-1623469	6.661	0.247
AD-1623463	5.140	0.477
AD-1623456	7.415	0.647
AD-1623452	5.711	0.682
AD-1623448	17.006	0.805
AD-1623443	4.425	0.455
AD-1623436	10.950	0.893
AD-1623427	2.762	0.169
AD-1623421	10.242	2.415
AD-1623413	6.032	1.072
AD-1623402	22.213	2.870
AD-1623397	27.365	4.995
AD-1623392	25.156	2.012
AD-1623382	19.192	2.431
AD-1623378	67.783	3.130
AD-1623372	78.920	10.408
AD-1623366	80.810	3.465
AD-1623362	10.098	1.052
AD-1623358	25.960	2.600
AD-1623354	4.568	0.602
AD-1623350	9.383	1.048
AD-1623346	56.767	4.749
AD-1623311	36.350	7.081
AD-1623307	33.009	3.436
AD-1623301	90.697	7.863
AD-1623297	62.698	5.434
AD-1623292	15.249	0.352
AD-1623284	4.844	0.296
AD-1623279	8.031	0.993
AD-1623275	29.742	7.482
AD-1623272	70.182	10.710
AD-1623267	15.903	2.216
AD-1623261	114.679	7.697
AD-1623257	15.807	1.115
AD-1623252	20.602	1.284
AD-1623248	87.067	9.032
AD-1623241	4.476	0.404
AD-1623234	9.886	0.449
AD-1623229	4.465	0.170
AD-1623222	6.672	0.136
AD-1623217	23.972	1.584

雙鏈體 ID	RBP4/gapdh	
	10	
	平均	標準差
AD-1623213	6.319	0.306
AD-1623206	7.830	1.382
AD-1623186	16.831	2.980
AD-1623179	9.127	1.424
AD-1623173	60.183	2.063
AD-1623169	18.326	1.444
AD-1623164	21.466	1.243
AD-1623159	7.356	0.737
AD-1623155	18.520	4.115
	6.306	0.345

【0758】均等

【0759】本領域技術人員將了解或能夠僅使用常規實驗以確定本文描述的具體實施態樣和方法的許多均等物。這樣的均等物旨在包含在所附申請專利範圍的範圍內。

【0760】非正式序列表

SEQ ID NO：1

>NM_006744.4 智慧人視網膜結合蛋白 4(RBP4), 轉錄本變異體 1, mRNA

GCCTCCCTCGCTCCACGCGCGCCCGGACTCGGCGGCCAGGCTTGCGCGCGGTTCCCCTCCCGGTGGGCGGATTCC
TGGGCAAGATGAAGTGGGTGTGGGCGCTCTTGCTGTTGGCGGCGCTGGGCAGCGGCCGCGCGGAGCGCGACTGCC
GAGTGAGCAGCTTCCGAGTCAAGGAGAACTTCGACAAGGCTCGCTTCTCTGGGACCTGGTACGCCATGGCCAAGA
AGGACCCCGAGGGCCTCTTTCTGCAGGACAACATCGTCGCGGAGTTCTCCGTGGACGAGACCGGCCAGATGAGCG
CCACAGCCAAGGGCCGAGTCCGTCTTTTGAATAACTGGGACGTGTGCGCAGACATGGTGGGCACCTTCACAGACA
CCGAGGACCCTGCCAAGTTCAAGATGAAGTACTGGGGCGTAGCCTCCTTTCTCCAGAAAGGAAATGATGACCACT
GGATCGTCGACACAGACTACGACACGTATGCCGTGCAGTACTCCTGCCGCCTCCTGAACCTCGATGGCACCTGTG
CTGACAGCTACTCCTTCGTGTTTTCCCGGGACCCCAACGGCCTGCCCCCAGAAGCGCAGAAGATTGTAAGGCAGC
GGCAGGAGGAGCTGTGCCTGGCCAGGCAGTACAGGCTGATCGTCCACAACGGTTACTGCGATGGCAGATCAGAAA
GAAACCTTTTGTAGCAATATCAAGAATCTAGTTTCATCTGAGAACTTCTGATTAGCTCTCAGTCTTCAGCTCTAT
TTATCTTAGGAGTTTAATTTGCCCTTCTCTCCCCATCTTCCCTCAGTTCCCATAAAACCTTCATTACACATAAAG
ATACACGTGGGGGTCAGTGAATCTGCTTGCCTTTCCTGAAAGTTTCTGGGGCTTAAGATTCCAGACTCTGATTCA
TTAAACTATAGTCACCCGTGTCCTGTGATTTTAGTTTTCATTTGTGTTTATGTCTGTGCTGCAGACGGATGGGTG
GGGTGCGCTTCTTTATACCAGGAGCACGTGGCTCTTTCTGACCTTTGGCCTGTTCTAGTGCCTAATCTCCATTAT
TAAATACTGGCTTCTCCCAA

SEQ ID NO：2 SEQ ID NO：1 的反向互補

TTGGGAGAAGCCAGTATTTAATAATGGAGATTAGGCACTAGAACAGGCCAAAGGTCAGAAAGAGCCACGTGCTCC
TGGTATAAAGAAGCGCACCCCACCCATCCGTCTGCAGCACAGACATAAACACAAATGAAAACTAAAATCACAGGA
CACGGGTGACTATAGTTTAATGAATCAGAGTCTGGAATCTTAAGCCCCAGAAACTTTCAGGAAAGGCAAGCAGAT
TCACTGACCCCCACGTGTATCTTTATGTGTAATGAAGGTTTTATGGGAACTGAGGGAAGATGGGGAGAGAAGGGC
AAATTAAACTCCTAAGATAAATAGAGCTGAAGACTGAGAGCTAATCAGAAGTTCTCAGATGAAACTAGATTCTTG
ATATTGCTACAAAAGGTTTCTTTCTGATCTGCCATCGCAGTAACCGTTGTGGACGATCAGCCTGTACTGCCTGGC
CAGGCACAGCTCCTCCTGCCGCTGCCTTACAATCTTCTGCGCTTCTGGGGGCAGGCCGTTGGGGTCCCGGGAAAA
CACGAAGGAGTAGCTGTCAGCACAGGTGCCATCGAGGTTCAGGAGGCGGCAGGAGTACTGCACGGCATACGTGTC
GTAGTCTGTGTCGACGATCCAGTGGTCATCATTTCCTTTCTGGAGAAAGGAGGCTACGCCCCAGTACTTCATCTT
GAACTTGGCAGGGTCCTCGGTGTCTGTGAAGGTGCCCACCATGTCTGCGCACACGTCCCAGTTATTCAAAAGACG
GACTCGGCCCTTGGCTGTGGCGCTCATCTGGCCGGTCTCGTCCACGGAGAACTCCGCGACGATGTTGTCCTGCAG
AAAGAGGCCCTCGGGGTCCTTCTTGGCCATGGCGTACCAGGTCCCAGAGAAGCGAGCCTTGTCGAAGTTCTCCTT
GACTCGGAAGCTGCTCACTCGGCAGTCGCGCTCCGCGCGGCCGCTGCCCAGCGCCGCCAACAGCAAGAGCGCCCA
CACCCACTTCATCTTGCCCAGGAATCCGCCCACCGGGAGGGGAACCGCGCGCAAGCCTGGCCGCCGAGTCCGGGC
GCGCGTGGAGCGAGGGAGGC

SEQ ID NO：3

>NM_001159487.1 小鼠視網膜結合蛋白4, 血漿 (Rbp4), 轉錄本變異體 1, mRNA

GGGGGAAAAAAAAACAGCCAAAATATGCCAAAAAGCTTCTCACAACAGCTCCTCAGTAGAAGCAGGGGCCA
CTTGGGAAAGCCAGGGCCTGGACGCTAATGTTCCAGGCTACATCATAGGTCCCTTTTCGCTCAGTGAGGCC
ACCATCACCACACCATGGCCACGTAGGCCTCCAGCCAGGGCAACAGGACCTGGAGGCCACCCAAGACTGC
AGCTGGCTGCCGCTGGGTCCCCGGGCCAGCTCTTGGCCCCGATGGATCCTCTGGGCTGGAGAGTTTGGCT
CCACCGAGACCACCCTGAGCGGAGCTCGGAGCATAGGCGACGTGGGACGGCAAGGCTGACGGAGGGGCC
CCGCGTGCGTTCAGGAGGCAGACTCCGGGGTGAGATGGAGTGGGTGTGGGCGCTCGTGCTGCTGGCGGC
TCTGGGAGGCGGCAGCGCCGAGCGCGACTGCAGGGTGAGCAGCTTCCGAGTCAAGGAGAACTTCGACAA
GGCTCGTTTCTCTGGGCTCTGGTATGCCATCGCCAAAAAGGACCCCGAGGGTCTCTTTTTGCAAGACAACAT
CATCGCTGAGTTTTCTGTGGACGAGAAGGGTCATATGAGCGCCACAGCCAAGGGACGAGTCCGTCTTCTGA
GCAACTGGGAAGTGTGTGCAGACATGGTGGGCACTTTCACAGACACTGAAGATCCTGCCAAGTTCAAGATG
AAGTACTGGGGTGTAGCCTCCTTTCTCCAGCGAGGAAACGATGACCACTGGATCATCGACACGGACTACGA
CACCTTCGCTCTGCAGTACTCCTGCCGCCTGCAGAATCTGGATGGCACCTGTGCAGACAGCTACTC
CTTTGTGTTTTCTCGTGACCCCAATGGCCTGAGCCCAGAGACACGGAGGCTGGTGAGGCAGCGGCAGGAG
GAGCTGTGCCTAGAGAGGCAGTACAGATGGATTGAACACAATGGTTACTGTCAAAGCAGGCCCTCCAGAAA
CAGTTTGTAGCAACGTCTAGGATGTGAAGTTTGAAGATTTCTGATTAGCTTTCATCCGGTCTTCATCTCTATTT
ATCTTAGAAGTTTAGTTTCCCCCACCTCCCCTACCTTCTCTAGGTGGACATTAAACCATCGTCCAAAGTACAT
GAGAGTCACTGACTCTGTTCACACAACTGTATGTCTTACTGAAGGTCCCTGAAAGATGTTTGAGGCTTGGGA
TTCCAAACTTGGTTTATTAAACATATAGTCACCATCTTCCTAT

SEQ ID NO：4 SEQ ID NO：3 的反向互補

ATAGGAAGATGGTGACTATATGTTTAATAAACCAAGTTTGGAATCCCAAGCCTCAAACATCTTTCAGGGACCTTC
AGTAAGACATACAGTTGTGTGAACAGAGTCAGTGACTCTCATGTACTTTGGACGATGGTTTAATGTCCACCTAGA
GAAGGTAGGGGAGGTGGGGGAAACTAAACTTCTAAGATAAATAGAGATGAAGACCGGATGAAAGCTAATCAGAAA
TCTTCAAACTTCACATCCTAGACGTTGCTACAAACTGTTTCTGGAGGGCCTGCTTTGACAGTAACCATTGTGTTC
AATCCATCTGTACTGCCTCTCTAGGCACAGCTCCTCCTGCCGCTGCCTCACCAGCCTCCGTGTCTCTGGGCTCAG
GCCATTGGGGTCACGAGAAAACACAAAGGAGTAGCTGTCTGCACAGGTGCCATCCAGATTCTGCAGGCGGCAGGA
GTACTGCAGAGCGAAGGTGTCGTAGTCCGTGTCGATGATCCAGTGGTCATCGTTTCCTCGCTGGAGAAAGGAGGC
TACACCCCAGTACTTCATCTTGAACTTGGCAGGATCTTCAGTGTCTGTGAAAGTGCCCACCATGTCTGCACACAC
TTCCCAGTTGCTCAGAAGACGGACTCGTCCCTTGGCTGTGGCGCTCATATGACCCTTCTCGTCCACAGAAAACTC
AGCGATGATGTTGTCTTGCAAAAAGAGACCCTCGGGGTCCTTTTTGGCGATGGCATACCAGAGCCCAGAGAAACG
AGCCTTGTCGAAGTTCTCCTTGACTCGGAAGCTGCTCACCCTGCAGTCGCGCTCGGCGCTGCCGCCTCCCAGAGC
CGCCAGCAGCACGAGCGCCCACACCCACTCCATCTCACCCCGGAGTCTGCCTCCTGAACGCACGCGGGGCCCCTC
CGTCAGCCTTGCCGTCCCACGTCGCCTATGCTCCGAGCTCCGCTCAGGGTGGTCTCGGTGGAGCCAAACTCTCCA
GCCCAGAGGATCCATCGGGGCCAAGAGCTGGCCCGGGGACCCAGCGGCAGCCAGCTGCAGTCTTGGGTGGCCTCC
AGGTCCTGTTGCCCTGGCTGGAGGCCTACGTGGCCATGGTGTGGTGATGGTGGCCTCACTGAGCGAAAAGGGACC
TATGATGTAGCCTGGAACATTAGCGTCCAGGCCCTGGCTTTCCCAAGTGGCCCCTGCTTCTACTGAGGAGCTGTT
GTGAGAAGCTTTTTGGCATATTTTGGCTGTTTTTTTTCCCCC

SEQ ID NO：5

>NM_013162.1 溝鼠視網膜結合蛋白 4(Rbp4), mRNA

GCGGCGGCCAGGCTTGCACGCGGCTTCTGCTGGGCAGACTCCGGTGTGAAATGGAGTGGGTGTGGGCGCTCGTGC
TGCTGGCGGCTCTGGGAGGCGGCAGCGCCGAGCGCGACTGCAGGGTGAGCAGCTTCAGAGTCAAGGAGAACTTCG
ACAAGGCTCGTTTCTCTGGGCTCTGGTATGCCATCGCCAAAAAGGATCCCGAGGGTCTCTTTTTGCAAGACAACA
TCATCGCTGAGTTTTCTGTGGACGAGAAGGGTCATATGAGCGCTACAGCCAAGGGACGAGTCCGTCTTCTGAGCA
ACTGGGAAGTGTGTGCAGACATGGTGGGCACTTTCACAGACACAGAAGATCCTGCCAAGTTCAAGATGAAGTACT
GGGGTGTAGCCTCCTTTCTCCAGCGAGGAAACGATGACCACTGGATCATCGATACGGACTACGACACCTTCGCTC
TGCAGTATTCCTGCCGCCTGCAGAATCTGGATGGCACCTGTGCAGACAGCTACTCCTTTGTGTTTTCTCGTGACC
CCAATGGCCTGACCCCGGAGACACGGAGGCTGGTGAGGCAGCGACAGGAGGAGCTGTGCCTAGAGAGGCAGTACA
GATGGATCGAGCACAATGGTTACTGTCAAAGCAGACCCTCAAGAAACAGTTTGTAGCAACGTCAAGGATGTATAA
AGTTGGAAAACTTCTGATTAGCTCTCATCCAGTCTTCATCTCTATTTATCTTAGAAGTTTAGTTTCCCCACCTCC
CCTCCCTTCTCTAGGTGGACATTAAAACCATCGTCCAAATACATGGGAATGCCTGAATCCATTCACACAAACGTG
TATCTTACTGAGAAGTTCCCCGAGAGACGTTTGAGGCTTGGGATTCCAAACTTGATTTATTAAACGTATAGTCAC
CATC

SEQ ID NO：6 SEQ ID NO：5 的反向互補

GATGGTGACTATACGTTTAATAAATCAAGTTTGGAATCCCAAGCCTCAAACGTCTCTCGGGGAACTTCTCAGTAA
GATACACGTTTGTGTGAATGGATTCAGGCATTCCCATGTATTTGGACGATGGTTTTAATGTCCACCTAGAGAAGG
GAGGGGAGGTGGGGAAACTAAACTTCTAAGATAAATAGAGATGAAGACTGGATGAGAGCTAATCAGAAGTTTTCC
AACTTTATACATCCTTGACGTTGCTACAAACTGTTTCTTGAGGGTCTGCTTTGACAGTAACCATTGTGCTCGATC
CATCTGTACTGCCTCTCTAGGCACAGCTCCTCCTGTCGCTGCCTCACCAGCCTCCGTGTCTCCGGGGTCAGGCCA

TTGGGGTCACGAGAAAACACAAAGGAGTAGCTGTCTGCACAGGTGCCATCCAGATTCTGCAGGCGGCAGGAATAC
TGCAGAGCGAAGGTGTCGTAGTCCGTATCGATGATCCAGTGGTCATCGTTTCCTCGCTGGAGAAAGGAGGCTACA
CCCCAGTACTTCATCTTGAACTTGGCAGGATCTTCTGTGTCTGTGAAAGTGCCCACCATGTCTGCACACACTTCC
CAGTTGCTCAGAAGACGGACTCGTCCCTTGGCTGTAGCGCTCATATGACCCTTCTCGTCCACAGAAAACTCAGCG
ATGATGTTGTCTTGCAAAAAGAGACCCTCGGGATCCTTTTTGGCGATGGCATACCAGAGCCCAGAGAAACGAGCC
TTGTCGAAGTTCTCCTTGACTCTGAAGCTGCTCACCCTGCAGTCGCGCTCGGCGCTGCCGCCTCCCAGAGCCGCC
AGCAGCACGAGCGCCCACACCCACTCCATTTCACACCGGAGTCTGCCCAGCAGAAGCCGCGTGCAAGCCTGGCCG
CCGC

SEQ ID NO：7

>XM_005565974.2 預測：食蟹獼猴視網膜結合蛋白 4(RBP4), 轉錄本變異體 X1, mRNA

GCGCTATAAAGCAGCGGGGCGGCCGCTGCGCGCTGGCCTCACTAGCTCCACGCGCGCCCGGACGCGGCGGCCAGG
CTTGCGCGCGGTTCCCCTCCCAGTGGGCTGATTCCTGGGCAAGATGAAGTGGGTGTGGGCGCTCTTGCTGCTGGC
GGCGCTGGGCAGCGGCCGGGCGGAGCGCGACTGCCGAGTGAGCAGCTTCCGAGTCAAGGAGAACTTCGACAAGGC
TCGCTTCTCCGGGACCTGGTACGCCATGGCCAAGAAGGACCCCGAGGGCCTCTTTCTGCAGGACAACATCGTCGC
GGAGTTCTCCGTGGACGAGACCGGCCAGATGAGCGCCACGGCCAAGGGCCGAGTCCGTCTTTTGAATAACTGGGA
CGTGTGCGCAGACATGGTGGGCACCTTCACAGACACCGAGGACCCTGCCAAGTTCAAGATGAAGTACTGGGGCGT
AGCCTCCTTTCTCCAGAAAGGAAATGATGACCACTGGATCATCGACACGGACTACGACACGTATGCCGTGCAGTA
CTCCTGCCGCCTCCTGAACCTTGACGGCACCTGTGCTGACAGCTACTCCTTCGTGTTTTCCCGGGACCCCAACGG
CCTGCCCCCAGAAGCGCAAAGGATTGTAAGGCAGCGGCAGGAGGAGCTGTGCCTGGCCAGGCAGTACAGGCTGAT
CGTCCACAACGGTTACTGTGATGGCAGATCAGAAAGAAACCTTTTGTAGCAAGATCAATAATCTAGTTTCATCTG
AGAACTTCTGATTATTTCTCAGTCTTCAACTCTATTTATCTTAGGAGTTTAATTTGCCCTTCTCTTCCCATCTTC
CGTCATTTCCCAGAAAACCTTCATTACACATAAGGATACACGTGGGGGTCAGTGAATCTGCTTGCAGGTAAATGT
CTTTCCTGAAAGTTTCTGAGGCTTAAGATTCCAGACTCTGATTCATTAAAATATAGTCACCCATGTCA

SEQ ID NO：8 SEQ ID NO：7 的反向互補

TGACATGGGTGACTATATTTTAATGAATCAGAGTCTGGAATCTTAAGCCTCAGAAACTTTCAGGAAAGACATTTA
CCTGCAAGCAGATTCACTGACCCCCACGTGTATCCTTATGTGTAATGAAGGTTTTCTGGGAAATGACGGAAGATG
GGAAGAGAAGGGCAAATTAAACTCCTAAGATAAATAGAGTTGAAGACTGAGAAATAATCAGAAGTTCTCAGATGA
AACTAGATTATTGATCTTGCTACAAAAGGTTTCTTTCTGATCTGCCATCACAGTAACCGTTGTGGACGATCAGCC
TGTACTGCCTGGCCAGGCACAGCTCCTCCTGCCGCTGCCTTACAATCCTTTGCGCTTCTGGGGGCAGGCCGTTGG
GGTCCCGGGAAAACACGAAGGAGTAGCTGTCAGCACAGGTGCCGTCAAGGTTCAGGAGGCGGCAGGAGTACTGCA
CGGCATACGTGTCGTAGTCCGTGTCGATGATCCAGTGGTCATCATTTCCTTTCTGGAGAAAGGAGGCTACGCCCC
AGTACTTCATCTTGAACTTGGCAGGGTCCTCGGTGTCTGTGAAGGTGCCCACCATGTCTGCGCACACGTCCCAGT
TATTCAAAAGACGGACTCGGCCCTTGGCCGTGGCGCTCATCTGGCCGGTCTCGTCCACGGAGAACTCCGCGACGA
TGTTGTCCTGCAGAAAGAGGCCCTCGGGGTCCTTCTTGGCCATGGCGTACCAGGTCCCGGAGAAGCGAGCCTTGT
CGAAGTTCTCCTTGACTCGGAAGCTGCTCACTCGGCAGTCGCGCTCCGCCCGGCCGCTGCCCAGCGCCGCCAGCA
GCAAGAGCGCCCACACCCACTTCATCTTGCCCAGGAATCAGCCCACTGGGAGGGGAACCGCGCGCAAGCCTGGCC
GCCGCGTCCGGGCGCGCGTGGAGCTAGTGAGGCCAGCGCGCAGCGGCCGCCCCGCTGCTTTATAGCGC

SEQ ID NO：9

>XM_015147709.2 預測：恆河獼猴視網膜結合蛋白 4(RBP4), 轉錄本變異體 X1, mRNA

CTTTCACCCCGCGCGGTTACGAAAGCGCGACCCCCTCCCCCCGGCGCTATAAAGCAGCGGGGCGGCCGCGGCGCG
CTGGCCTCACTAGCTCCACGCGCGCCCGGACGCGGCGGCCAGGCTTGCGCGCGGTTCCCCTCCCAGTGGGCAGAT
TCCTGGGCAAGATGAAGTGGGTGTGGGCGCTCTTGCTGCTGGCGGCGCTGGGCAGCGGCCGGGCGGAGCGCGACT
GCCGAGTGAGCAGCTTCCGAGTCAAGGAGAACTTCGACAAGGCTCGCTTCTCCGGGACCTGGTACGCCATGGCCA
AGAAGGACCCCGAGGGCCTCTTTCTGCAGGACAACATCGTCGCGGAGTTCTCCGTGGACGAGACCGGCCAGATGA
GCGCCACGGCCAAGGGCCGAGTCCGTCTTTTGAATAACTGGGACGTGTGCGCAGACATGGTGGGCACCTTCACAG
ACACCGAGGACCCTGCCAAGTTCAAGATGAAGTACTGGGGCGTAGCCTCCTTTCTCCAGAAAGGAAATGATGACC
ACTGGATCATCGACACGGACTACGACACGTATGCCGTGCAGTACTCCTGCCGCCTCCTGAACCTTGACGGCACCT
GTGCTGACAGCTACTCCTTCGTGTTTTCCCGGGACCCCAACGGCCTGCCCCCAGAAGCGCAAAGGATTGTAAGGC
AGCGGCAGGAGGAGCTGTGCCTGGCCAGGCAGTACAGGCTGATCGTCCACAACGGTTACTGTGATGGCAGATCAG
AAAGAAACCTTTTGTAGCAAGATCAATAATCTAGTTTCATCTGAGAACTTCTGATTATTTCTCAGTCTTCAACTC
TATTTATCTTAGGAGTTTAATTTGCCCTTCTCTTCCCATCTTCCGTCATTTCCCAGAAAACCTTCATTACACATA
AGGATACACGTGGGGGTCAGTGAATCTGCTTGCAGGTAAATGTCTTTCCTGAAAGTTTCTGAGGCTTAAGATTCC
AGACTCTGATTCATTAAAATATAGTCACCCATGTCA

SEQ ID NO：10 SEQ ID NO：9 的反向互補

TGACATGGGTGACTATATTTTAATGAATCAGAGTCTGGAATCTTAAGCCTCAGAAACTTTCAGGAAAGACATTTA
CCTGCAAGCAGATTCACTGACCCCCACGTGTATCCTTATGTGTAATGAAGGTTTTCTGGGAAATGACGGAAGATG
GGAAGAGAAGGGCAAATTAAACTCCTAAGATAAATAGAGTTGAAGACTGAGAAATAATCAGAAGTTCTCAGATGA
AACTAGATTATTGATCTTGCTACAAAAGGTTTCTTTCTGATCTGCCATCACAGTAACCGTTGTGGACGATCAGCC
TGTACTGCCTGGCCAGGCACAGCTCCTCCTGCCGCTGCCTTACAATCCTTTGCGCTTCTGGGGGCAGGCCGTTGG
GGTCCCGGGAAAACACGAAGGAGTAGCTGTCAGCACAGGTGCCGTCAAGGTTCAGGAGGCGGCAGGAGTACTGCA
CGGCATACGTGTCGTAGTCCGTGTCGATGATCCAGTGGTCATCATTTCCTTTCTGGAGAAAGGAGGCTACGCCCC
AGTACTTCATCTTGAACTTGGCAGGGTCCTCGGTGTCTGTGAAGGTGCCCACCATGTCTGCGCACACGTCCCAGT
TATTCAAAAGACGGACTCGGCCCTTGGCCGTGGCGCTCATCTGGCCGGTCTCGTCCACGGAGAACTCCGCGACGA
TGTTGTCCTGCAGAAAGAGGCCCTCGGGGTCCTTCTTGGCCATGGCGTACCAGGTCCCGGAGAAGCGAGCCTTGT
CGAAGTTCTCCTTGACTCGGAAGCTGCTCACTCGGCAGTCGCGCTCCGCCCGGCCGCTGCCCAGCGCCGCCAGCA
GCAAGAGCGCCCACACCCACTTCATCTTGCCCAGGAATCTGCCCACTGGGAGGGGAACCGCGCGCAAGCCTGGCC
GCCGCGTCCGGGCGCGCGTGGAGCTAGTGAGGCCAGCGCGCCGCGGCCGCCCCGCTGCTTTATAGCGCCGGGGGG
AGGGGGTCGCGCTTTCGTAACCGCGCGGGGTGAAAG

【符號說明】無。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】 一種治療或預防罹患或易於罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性劑，從而治療或預防罹患或易於罹患斯特格氏症的該個體的至少一種症狀。

【請求項2】 一種降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的劑，從而降低罹患或易罹患斯特格症的該個體眼睛的維生素 A 量級。

【請求項3】 一種減少罹患或易罹患斯特格症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的抑制斯特格氏症運甲狀腺素蛋白(TTR)的表現及/或活性的劑，從而減少罹患或易罹患斯特格症的該個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物的形成。

【請求項4】 一種停止罹患或易罹患斯特格症的個體視力喪失的進展的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的抑制運甲狀腺素蛋白(TTR)表現及/或活性的劑，從而停止罹患或易罹患斯特格症的該個體眼睛視力喪失的進展。

【請求項5】 如請求項 1 至 4 中任一向所述之方法，其中，抑制 TTR 表現及/或活性的該劑係選自由 TTR 小分子抑制劑、靶向 TTR 的核酸劑及抗 TTR 抗體所組成的群組。

【請求項6】 如請求項 1 至 5 中任一項所述之方法，其中，該個體為人類。

【請求項7】 如請求項 1 至 6 中任一項所述之方法，其中，該劑係長期投藥於該個體。

【請求項8】 如請求項1至7中任一項所述之方法，其中，該係劑藉由皮下、肌肉內、靜脈內或玻璃體內投藥於該個體。

【請求項9】 如請求項8所述之方法，其中，該劑係藉由皮下投藥施用於該個體。

【請求項10】 如請求項9所述之方法，其中，該皮下投藥係自行投藥。

【請求項11】 如請求項10所述之方法，其中，該自行投藥係藉由預填充注射器或自動注射注射器。

【請求項12】 如請求項1至11中任一項所述之方法，其中，該劑係基於體重的劑量投藥於該個體。

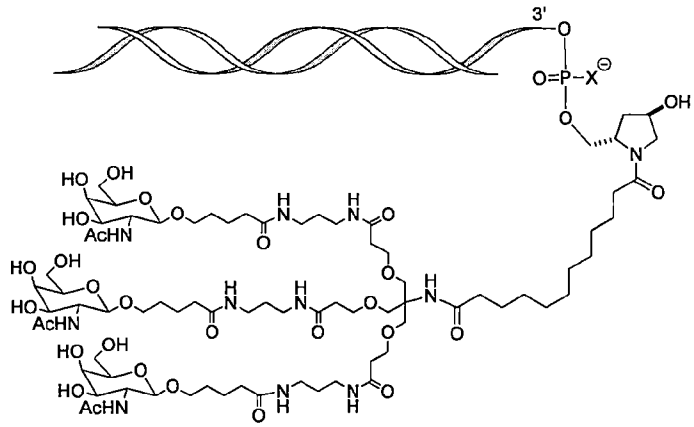
【請求項13】 如請求項1至11中任一項所述之方法，其中，該劑係以固定劑量投藥於該個體。

【請求項14】 如請求項5至13中任一項所述之方法，其中，該靶向TTR的核酸劑係靶向TTR的雙股RNA(dsRNA)劑或其鹽、或反義寡核苷酸或基因療法。

【請求項15】 如請求項14所述之方法，其中，該核酸劑係dsRNA劑或其鹽，包含含有核苷酸序列 5’- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3’ (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5’- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，

其中，a、c、g及u係2´-O-甲基 (2´-OMe) A、C、G及U； Af、Cf、Gf及Uf係2´-氟 A、C、G及U； s係硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體係接合至有義股的3’ 端，如下方案所示：



其中 X 為 O。

【請求項16】 如請求項 15 所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係以約 25 mg 的劑量投藥於該個體。

【請求項17】 如請求項 15 或 16 所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係約每三個月一次投藥於該個體。

【請求項18】 如請求項 15 至 17 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係經皮下投藥於該個體。

【請求項19】 如請求項 15 至 18 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係存在於醫藥組成物中。

【請求項20】 如請求項 15 至 19 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係為鹽形式。

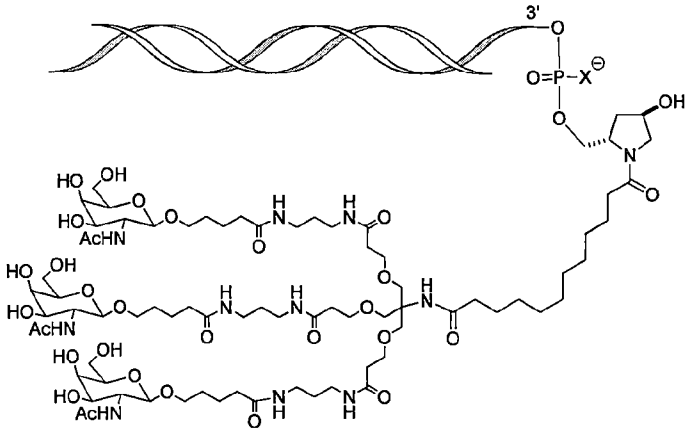
【請求項21】 如請求項 15 至 20 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係以約 25 mg 的劑量約每三個月一次投藥於該個體。

【請求項22】 如請求項 14 所述之方法，其中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，其包含含有核苷酸序列 5’ - UfgGfgAfuUfuCfAfUfgUfaacCfaAfgAf-3’ (SEQ ID

NO：22)的有義股及含有核苷酸序列5’-uCfuUfgGfUfUfaCfaugAfaAfuCfcCfasUfsc-3’ (SEQ ID NO：23)的反義股，

其中，a、c、g及u係2´-O-甲基(2´-OMe) A、C、G及U； Af、Cf、Gf及Uf係2´-氟A、C、G及U； s係硫代磷酸酯(phosphorothioate)鏈結，以及

其中，配體係接合至有義股的3’端，如下方案所示：



其中X為O。

【請求項23】如請求項22所述之方法，其中，該dsRNA劑或其鹽係以約50至500 mg的劑量投藥於該個體。

【請求項24】如請求項22或23所述之方法，其中，該dsRNA劑或其鹽係約每週一次投藥於該個體。

【請求項25】如請求項22至24中任一項所述之方法，其中，該dsRNA劑或其鹽係經皮下投藥於該個體。

【請求項26】如請求項22至25中任一項所述之方法，其中，該dsRNA劑係存在於醫藥組成物中。

【請求項27】如請求項22至26中任一項所述之方法，其中，該dsRNA劑係為鹽形式。

【請求項28】 如請求項 22 至 27 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係持續 5 天以 500 mg 每天一次的劑量投藥於個體，隨後以 500 mg 每週一次的劑量投藥。

【請求項29】 如請求項 14 所述之方法，其中，該核酸劑係 dsRNA 劑或其鹽，包含含有核苷酸序列 5’ -GuAAccAAGAGuAuuccAudTdT-3’ (SEQ ID NO：24)的有義股及含有核苷酸序列 5’ -AUGGAAuACUCUUGGUuACdTdT-3’ (SEQ ID NO：25)的反義股，其中 ，A 為腺苷，C 為胞嘧啶，G 為鳥苷，U 為尿核苷，a 為 2´-O-甲基腺苷，c 為 2´-O-甲基胞嘧啶，g 為 2´-O-甲基鳥苷，u 為 2´-O-甲基尿核苷，以及 dT 為 2´-去氧胸苷。

【請求項30】 如請求項 29 所述之方法，其中，該個體體重小於約 100 kg 且投藥約 0.3 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。

【請求項31】 如請求項 29 所述之方法，其中，該個體體重超過約 100 kg 且投藥約 30 mg/kg 劑量的 dsRNA 劑或其鹽。

【請求項32】 如請求項 29 至 31 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係每三週一次投藥於該個體。

【請求項33】 如請求項 29 至 32 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係經靜脈輸液投藥於該個體。

【請求項34】 如請求項 29 至 33 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係存在於醫藥組成物中。

【請求項35】 如請求項 29 至 34 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係為鹽形式。

【請求項36】 如請求項 29 至 35 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽以約 0.3 mg/kg 的劑量，每三週一次投藥於體重小於約 100 kg 的個體，或以約 30 mg/kg 的 劑量，每三週一次投藥於體重大於約 100 kg 的個體。

【請求項37】 如請求項 14 之方法，其中，該核酸劑係由 20 個連接的具有由 5’ -TCTTGGTTACATGAAATCCC-3’ (SEQ ID NO：26)所組成的核鹼基序列核苷所組成的單股經修飾寡核苷酸，其中，該經修飾寡核苷酸包含：

由十個連接的去氧核苷所組成的間隙片段；

由五個連接的核苷所組成的 5' 翼段；及

由五個連接的核苷所組成的 3' 翼段；

其中，該間隙片段位於 5'翼段及 3'翼段之間，其中，各翼段的各核苷包含 2'-O-甲氧基乙基糖，

其中，各核苷間鍵結係硫代磷酸酯鍵結，且其中，該經修飾寡核苷酸的胞嘧啶各自係 5-甲基胞嘧啶。

【請求項38】 如請求項 37 所述之方法，其中，該單股經修飾寡核苷酸係以約 284 mg 的固定劑量投藥於該個體。

【請求項39】 如請求項 37 或 38 所述之方法，其中，該單股經修飾寡核苷酸係約每週一次投藥於該個體。

【請求項40】 如請求項 37 至 39 中任一項所述之方法，其中，該單股經修飾寡核苷酸係經皮下投藥於該個體。

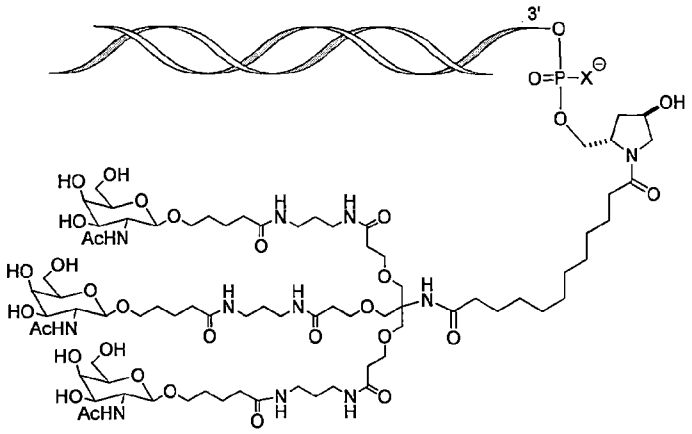
【請求項41】 如請求項 37 至 40 中任一項所述之方法，其中，該單股經修飾寡核苷酸係存在於醫藥組成物中。

【請求項42】 如請求項 34 至 38 中任一項所述之方法，其中，該單股經修飾寡核苷酸係以約 284 mg 的劑量每週一次投藥於該個體。

【請求項43】 一種治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的個體的至少一種症狀的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5’ - usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3’ (SEQ ID NO：20) 的有義股及含有核苷酸序列 5’ - usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，

其中，a、c、g 及 u 係 2´-O-甲基 (2´-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2´-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，以及

其中，配體係接合至有義股的 3’ 端，如下方案所示：



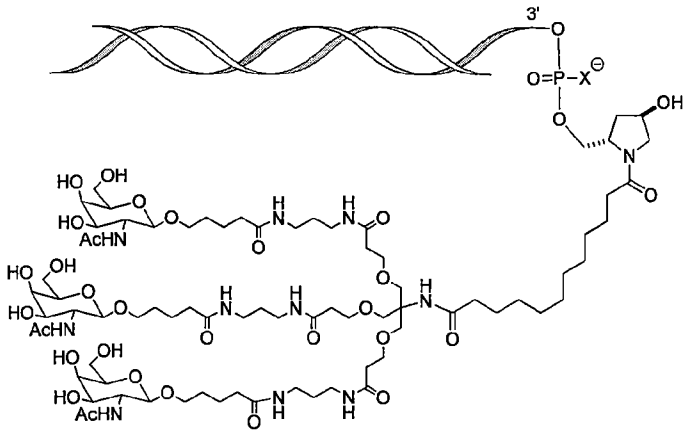
其中，X 為 O，從而治療或預防罹患或易罹患斯特格氏症的該個體的至少一種症狀。

【請求項44】 一種降低罹患或易罹患斯特格氏症的個體眼睛中維生素 A 量級的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5’- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3’ (SEQ ID

NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5’- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，

其中，a、c、g及u係2´-O-甲基(2´-OMe) A、C、G及U； Af、Cf、Gf及Uf係2´-氟A、C、G及U； s係硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體係接合至有義股的3’端，如下方案所示：

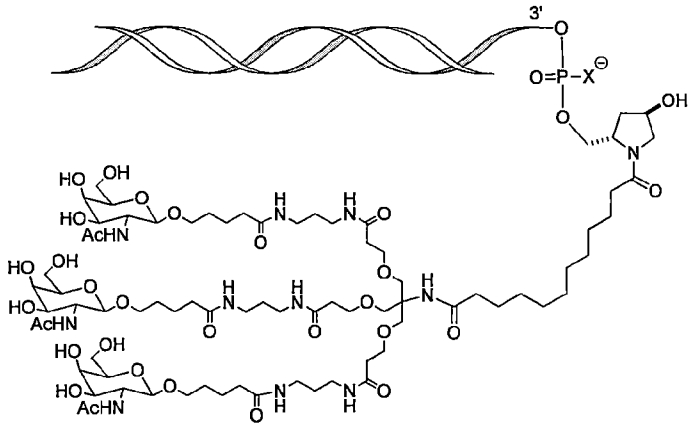


其中，X為O，從而降低罹患或易罹患斯特格氏症的該個體眼睛中維生素A量級。

【請求項45】一種減少罹患或易罹患斯特格症的個體視網膜中有毒維生素A代謝物形成的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的dsRNA藥劑或其鹽，該dsRNA藥劑或其鹽包含含有核苷酸序列 5’- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3’ (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5’- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3’ (SEQ ID NO：21)的反義股，

其中，a、c、g及u係2´-O-甲基(2´-OMe) A、C、G及U； Af、Cf、Gf及Uf係2´-氟A、C、G及U； s係硫代磷酸酯鏈結，以及

其中，配體係接合至有義股的3’端，如下方案所示：

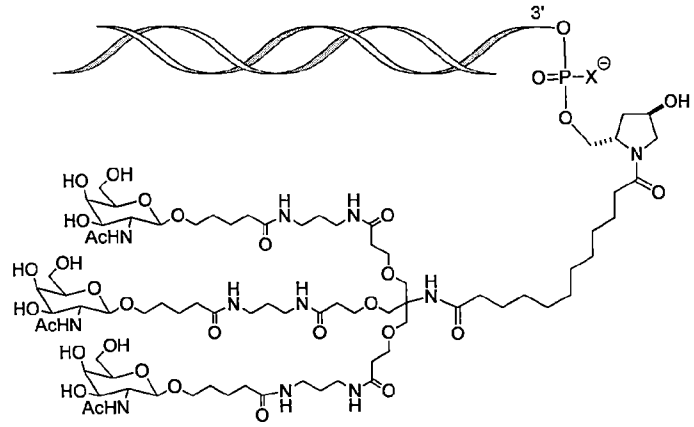


其中，X 為 O，從而減少罹患或易罹患斯特格症的個體視網膜中有毒維生素 A 代謝物形成。

【請求項46】 一種停止罹患或易罹患斯特格症的個體視力喪失的進展的方法，該方法包括向該個體投藥有效量的 dsRNA 藥劑或其鹽，該 dsRNA 藥劑或其鹽，包含含有核苷酸序列 5'- usgsggauUfuCfAfUfguaaccaaga – 3' (SEQ ID NO：20)的有義股及含有核苷酸序列 5'- usCfsuugGfuuAfcaugAfaAfucccasusc – 3' (SEQ ID NO：21)的反義股，

其中，a、c、g 及 u 係 2´-O-甲基 (2´-OMe) A、C、G 及 U； Af、Cf、Gf 及 Uf 係 2´-氟 A、C、G 及 U； s 係硫代磷酸酯鍵結，以及

其中，配體係接合至有義股的 3' 端，如下方案所示：



其中，X為O，從而停止罹患或易罹患斯特格症的該個體眼睛視力喪失的進展。

【請求項47】如請求項43至46中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係以約25 mg的劑量投藥於個體。

【請求項48】如請求項43或47所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係約每三個月一次投藥於個體。

【請求項49】如請求項43至48中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係經皮下投藥於該個體。

【請求項50】如請求項43至49中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係存在於醫藥組成物中。

【請求項51】如請求項43至50中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係為鹽形式。

【請求項52】如請求項43至51中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑或其鹽係以約25 mg的劑量約每三個月一次投藥於該個體。

【請求項53】如請求項1至52中任一項所述之方法，其中，向該個體投藥藥該劑會降低由眼底自發螢光攝影(Fundus Autoflourescence Photography, FAF)所測定的眼底自發螢光。

【請求項54】如請求項1至53中任一項所述之方法，復包括向該個體投藥藥額外的治療劑以治療斯特格氏症。

【請求項55】如請求項 54 所述之方法，其中，該額外的治療劑係選自由抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的劑、合成的類視色素 非瑞替尼、抗VEGF 治療劑、皮質類固醇激素、胰島素、昇糖素類胜肽 1 促效劑、硫醯脲、司

格列替尼、雙胍、噻唑烷二酮、α-葡萄糖苷酶抑制劑、SGLT2 抑制劑、 DPP-4 抑制劑、 HMG-CoA 還原酶抑制劑及前述任何組合所組成的群組。

【請求項56】 如請求項 1 至 55 中任一項所述之方法，復包括測定來自該個體的樣本中的 RBP4 及/或 TTR 的量級。

【請求項57】 一種抑制細胞中視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現的雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其中，該 dsRNA 劑包含形成雙股區的有義股及反義股，其中，該有義股包含與來自 SEQ ID NO：1 的任一核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 15 個連續核苷酸，且反義股包含與來自 SEQ ID NO：2 的任一核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 15 個連續核苷酸。

【請求項58】 一種用以抑制細胞中視網膜結合蛋白 4 (RBP4)表現的雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其中，該 dsRNA 劑包含形成雙股區的有義股及反義股，其中該反義股包含與編碼 RBP4 的 mRNA 互補的區域，其中，該互補區域包含與表 2 至 3 任一者的任一種反義核苷酸序列相差不超過 3 個核苷酸的至少 15 個連續核苷酸。

【請求項59】 如請求項 57 或 58 所述之 dsRNA 劑，其中，該 dsRNA 劑包含至少一種經修飾的核苷酸。

【請求項60】 如請求項 57 至 59 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，實質上所有有義股的核苷酸、實質上所有反義股的核苷酸含有修飾；或實質上有義股及反義股的所有核苷酸均含修飾。

【請求項61】 如請求項 57 至 60 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，有義股的所有核苷酸均含修飾；反義股的所有核苷酸均含修飾；或有義股的所有核苷酸及反義股的所有核苷酸均含修飾。

【請求項62】 如請求項 59 至 61 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一種經修飾的核苷酸係選自由去氧核苷酸、3’-端去氧胸腺嘧啶核苷(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-氟修飾的核苷酸、2'-去氧修飾的核苷酸、鎖核苷酸、未鎖核苷酸、構象受限的核苷酸、受限的乙基核苷酸、缺鹼基核苷酸、2’-胺基修飾的核苷酸、2’-O-烯丙基-修飾的核苷酸、2’-C-烷基修飾的核苷酸、2’-羥基修飾的核苷酸、2’-甲氧基乙基修飾的核苷酸、2’-O-烷基修飾的核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、非-天然含核苷酸鹼基、四氫吡喃修飾的核苷酸、1,5-脫水己糖醇修飾的核苷酸、環己烯基修飾的核苷酸、含硫代磷酸酯基團的核苷酸、含甲基膦酸酯基團的核苷酸、含 5’-磷酸鹽的核苷酸、含 5’-磷酸鹽模擬物的核苷酸、熱去穩定核苷酸、二醇修飾的核苷酸 (GNA)、含 2’ 磷酸鹽的核苷酸及 2-O- (N-甲基乙醯胺)修飾的核苷酸及其組合所組成的群組。

【請求項63】 如請求項 59 至 61 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該核苷酸的修飾係選自由 LNA、HNA、CeNA、2’-甲氧基乙基、2’-O-烷基、2’-O-烯丙基、2’-C-烯丙基、2’-氟、2’-去氧、2'-羥基及乙二醇以及其組合所組成的群組。

【請求項64】 如請求項 59 至 61 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一種經修飾的核苷酸係選自由去氧核苷酸、2'-O-甲基修飾的核苷酸、2'-氟修飾的核苷酸、2'-去氧修飾的核苷酸、二醇修飾的核苷酸(GNA)、具有 2’磷酸的核苷酸及乙烯膦酸酯核苷酸以及其組合所組成的群組。

【請求項65】 如請求項 59 至 61 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，於核苷酸上的至少一種修飾係熱去穩定的核苷酸修飾。

【請求項66】 如請求項 65 所述之 dsRNA 劑，其中，該熱去穩定核苷酸修飾係選自由缺鹼基修飾、與雙鏈體中的相對核苷酸錯配、去穩定糖修飾、2'-去氧修飾、鏈體排列的核苷酸、未鎖核酸 (UNA)及甘油核酸 (GNA)所組成的群組。

【請求項67】 如請求項 57 至 66 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區長度為 19 至 30 個核苷酸對。

【請求項68】 如請求項 67 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區長度為 19 至 25 個核苷酸對。

【請求項69】 如請求項 67 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區長度為 19 至 23 個核苷酸對。

【請求項70】 如請求項 67 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區長度為 23 至 27 個核苷酸對。

【請求項71】 如請求項 67 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區長度為 21 至 23 個核苷酸對。

【請求項72】 如請求項 57 至 71 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，各股的長度係獨立地不超過 30 個核苷酸。

【請求項73】 如請求項 57 至 72 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該有義股的長度為 21 個核苷酸，而該反義股的長度為 23 個核苷酸。

【請求項74】 如請求項 57 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該互補區域的長度至少為 17 個核苷酸。

【請求項75】 如請求項 57 至 74 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該互補區域的長度係於 19 至 23 個核苷酸之間。

【請求項76】 如請求項 57 至 75 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該互補區域的長度為 19 個核苷酸。

【請求項77】 如請求項 57 至 76 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一條股包含至少 1 個核苷酸的 3' 突出。

【請求項78】 如請求項 57 至 76 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一條股包含至少 2 個核苷酸的 3' 突出。

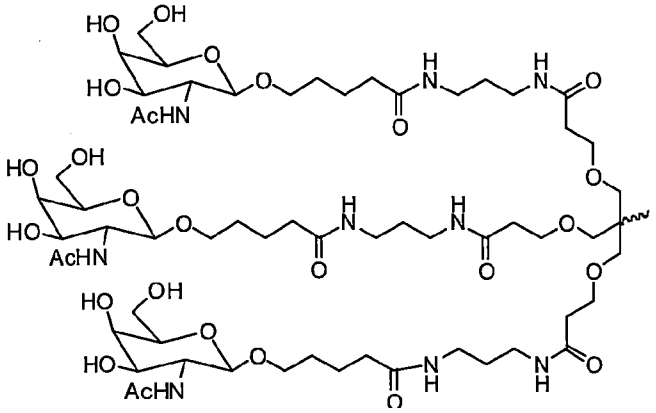
【請求項79】 如請求項 47 至 78 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含配體。

【請求項80】 如請求項 79 所述之 dsRNA 劑，其中，該配體與該 dsRNA 劑有義股的 3'端接合。

【請求項81】 如請求項 79 或 80 所述之 dsRNA 劑，其中，該 配體係 N-乙醯半乳胺糖(GalNAc)衍生物。

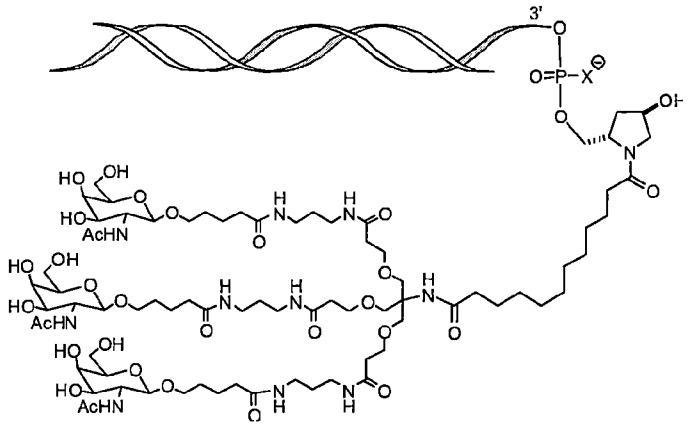
【請求項82】 如請求項 79 至 81 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該配體係一或多種藉由單價、二價或三價支連接子附接的 GalNAc 衍生物。

【請求項83】 如請求項 81 或 82 所述之 dsRNA 劑，其中，該配體係



。

【請求項84】 如請求項 83 所述之 dsRNA 劑，其中，該 dsRNA 劑與該配體接合，如下方案所示



且其中，X係O或S。

【請求項85】 如請求項84所述之dsRNA劑，其中，該X係O。

【請求項86】 如請求項57至85中任一項所述之dsRNA劑，其中，該dsRNA劑復包含至少一個硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鏈結。

【請求項87】 如請求項86所述之dsRNA劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鏈結位於一股的3’-終端。

【請求項88】 如請求項87所述之dsRNA劑，其中，該股係反義股。

【請求項89】 如請求項87所述之dsRNA劑，其中，該股係有義股。

【請求項90】 如請求項86所述之dsRNA劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鏈結位於一股的5’-終端。

【請求項91】 如請求項90所述之dsRNA劑，其中，該股係反義股。

【請求項92】 如請求項90所述之dsRNA劑，其中，該股係有義股。

【請求項93】 如請求項86所述之dsRNA劑，其中，該硫代磷酸酯或甲基膦酸酯核苷酸間鏈結位於一股的5’-終端及3’-終端。

【請求項94】 如請求項93所述之dsRNA劑，其中，該股係反義股。

【請求項95】 如請求項 57 至 94 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該雙鏈體反義股 5'-端 1 位的鹼基對為 AU 鹼基對。

【請求項96】 一種細胞，含有如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑。

【請求項97】 一種用於抑制編碼視網膜結合蛋白 4(RBP4)的基因表現的醫藥組成物，其包含如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑及藥學上可接受的載體。

【請求項98】 如請求項 97 所述之醫藥組成物，其中，該 dsRNA 劑於非緩衝溶液中。

【請求項99】 如請求項 98 所述之醫藥組成物，其中，該非緩衝溶液係鹽水或水。

【請求項100】 如請求項 97 所述之醫藥組成物，其中，該 dsRNA 劑於緩衝溶液中。

【請求項101】 如請求項 100 所述之醫藥組成物，其中，該緩衝溶液包含乙酸鹽、檸檬酸鹽、醇溶蛋白、碳酸鹽或磷酸鹽或其任何組合。

【請求項102】 如請求項 101 所述之醫藥組成物，其中，該緩衝溶液係磷酸鹽緩衝生理鹽水(PBS)。

【請求項103】 一種抑制細胞中視網膜結合蛋白 4(RBP4)基因表現的方法，該方法包括使該細胞與如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 97 至 102 中任一項所述之醫藥組成物接觸，從而抑制該細胞中 RBP4 基因的表現。

【請求項104】 如請求項 103 所述之方法，其中，該細胞係於個體中。

【請求項105】 如請求項 104 所述之方法，其中，該個體為人類。

【請求項106】 如請求項 104 或 105 所述之方法，其中，該個體罹患 RBP4-相關病症。

【請求項107】 如請求項 106 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係選自由斯特格氏症、糖尿病視網膜病變、濕性黃斑部病變、乾性黃斑部病變、裂虹膜、粉刺性痤瘡症候群、小眼畸形、基底層隱結、糖尿病性黃斑水腫及視網膜靜脈阻塞所組成的群組的眼部疾病。

【請求項108】 如請求項 107 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係斯特格氏症。

【請求項109】 如請求項 107 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係糖尿病視網膜病變。

【請求項110】 如請求項 107 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係濕性黃斑部病變。

【請求項111】 如請求項 107 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係乾性黃斑部病變。

【請求項112】 如請求項 106 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係選自由葡萄糖和脂質恆定性疾患及心血管疾病所組成的群組的代謝失調。

【請求項113】 如請求項 112 所述之方法，其中，該代謝失調係與第二型糖尿病相關之胰島素抗性。

【請求項114】 如請求項 103 至 113 中任一項所述之方法，其中，該細胞與該 dsRNA 劑接觸至少抑制 RBP4 表現 50%、60%、70%、80%、90% 或 95%。

【請求項115】 如請求項 103 至 114 中任一項所述之方法，其中，抑制 RBP4 的表現使該個體血清中的 RBP4 蛋白量級降低至少 50%、60%、70%、80%、90% 或 95%。

【請求項116】 一種治療罹患將受益於視網膜結合蛋白 4(RBP4)表現降低的疾病的個體的方法，其包括向該個體投藥治療有效量的如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 藥劑、或如請求項 97 至 102 中任一項所述之醫藥組成物，從而治療罹患將受益於 RBP4 表現降低之病症的個體。

【請求項117】 一種至少預防一種症狀於將受益於視網膜結合蛋白 4(RBP4)表現降低的疾病的個體的方法，其包括向該個體投藥預防有效量的如請求項 57 至 95 中任一項所述之該 dsRNA 藥劑、或如請求項 97 至 102 中任一項所述之該醫藥組成物，從而至少預防一種症狀於將受益於 RBP4 表現降低之病症的該個體。

【請求項118】 如請求項 116 或 117 所述之方法，其中，該病症係 RBP4-相關病症。

【請求項119】 如請求項 118 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係選自由斯特格氏症、糖尿病視網膜病變、濕性黃斑部病變、乾性黃斑部病變、裂虹膜、粉刺性痤瘡症候群、小眼畸形、基底層隱結、糖尿病性黃斑水腫及視網膜靜脈阻塞所組成的群組的眼部疾病。

【請求項120】 如請求項 119 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係斯特格氏症。

【請求項121】 如請求項 119 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係糖尿病視網膜病變。

【請求項122】如請求項 119 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係濕性黃斑部病變。

【請求項123】如請求項 119 所述之方法，其中，該 RBP4 相關病症係乾性黃斑部病變。

【請求項124】如請求項 119 所述之方法，其中，該 RBP4-相關病症係選自由葡萄糖和脂質恆定性疾患及心血管疾病所組成的群組的代謝失調。

【請求項125】如請求項 124 所述之方法，其中，該代謝失調係與第二型糖尿病相關之胰島素抗性。

【請求項126】如請求項 116 至 125 中任一項所述之方法，其中，該個體為人類。

【請求項127】如請求項 116 至 126 中任一項所述之方法，其中，向該個體投藥該 dsRNA 劑導致該個體中 RBP4 及/或 TTR 蛋白聚積減少。

【請求項128】如請求項 116 至 127 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係以約 0.01 至 50mg/kg 的劑量投藥於該個體。

【請求項129】如請求項 116 至 128 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係經皮下投藥於該個體。

【請求項130】如請求項 116 至 129 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係經玻璃體內投藥於該個體。

【請求項131】如請求項 116 至 130 中任一項所述之方法，該方法更包括測定來自該個體的樣本中的 RBP4 及/或 TTR 的量級。

【請求項132】如請求項 131 所述之方法，其中，該個體樣本中的 RBP4 及/或運甲狀腺素蛋白(TTR)量級為血液、血清或眼或肝組織樣本中的 RBP4 及/或 TTR 蛋白量級。

【請求項133】如請求項 116 至 132 中任一項所述之方法，更包括向該個體投藥額外的治療劑以治療 RBP4-相關病症。

【請求項134】如請求項 133 所述之方法，其中，該額外的治療劑係選自由抑制運甲狀腺素蛋白 (TTR)表現及/或活性的劑、合成的類視色素 非瑞替尼、抗 VEGF 治療劑、皮質類固醇激素、胰島素、昇糖素類胜肽 1 促效劑、硫醯脲、司格列替尼、雙胍、噻唑烷二酮、 α-葡萄糖苷酶抑制劑、SGLT2 抑制劑、 DPP-4 抑制劑、 HMG-CoA 還原酶抑制劑及前述任何組合所組成的群組。

【請求項135】一種套組，包含如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 97 至 103 中任一項所述之醫藥組成物。

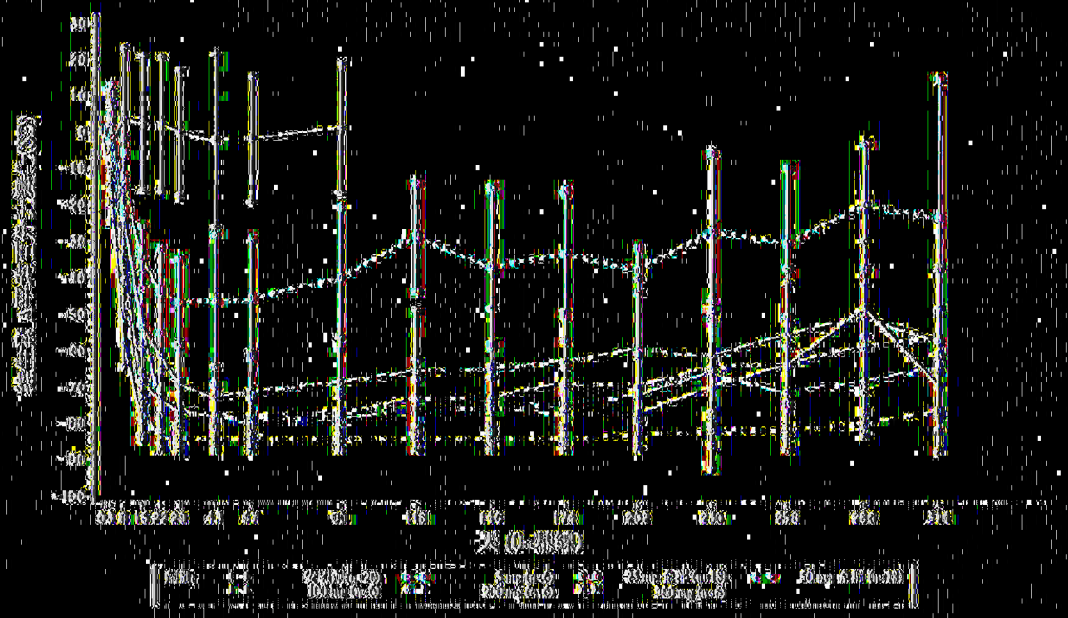
【請求項136】一種小瓶，其包含如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 97 至 103 中任一項所述之醫藥組成物。

【請求項137】一種注射器，其包含如請求項 57 至 95 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 97 至 103 中任一項所述之醫藥組成物。

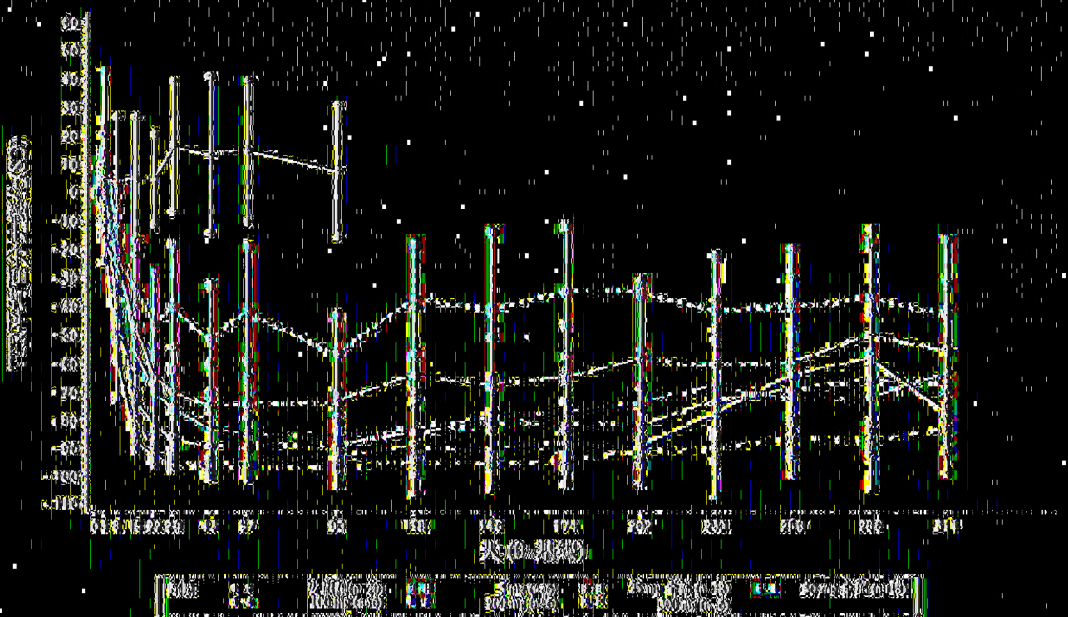
202313069

【図面】

【図1】



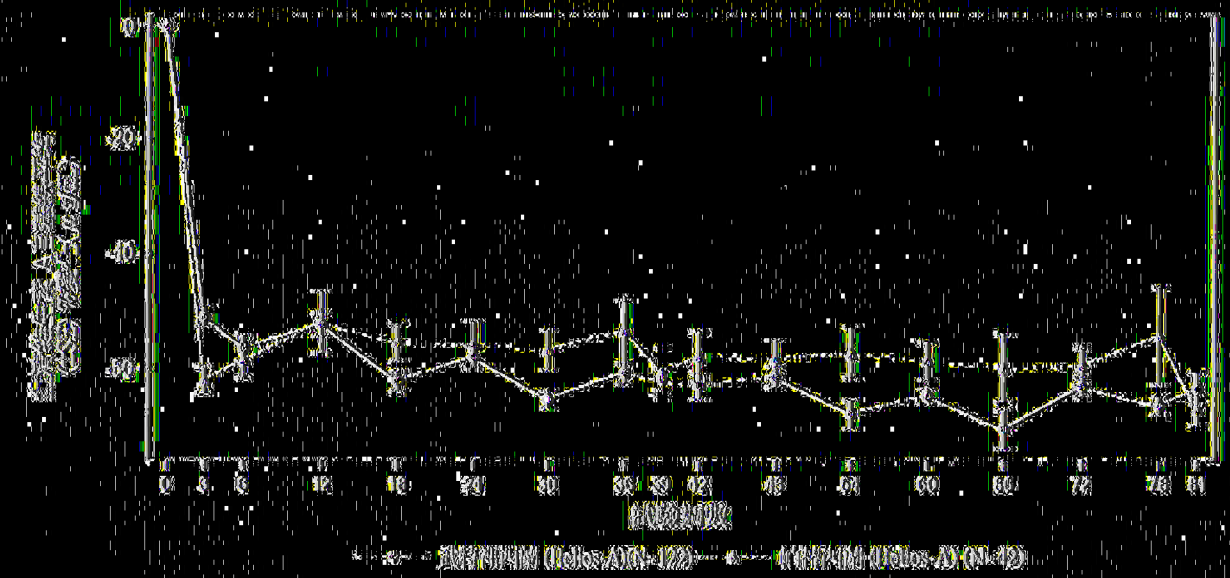
【図2】

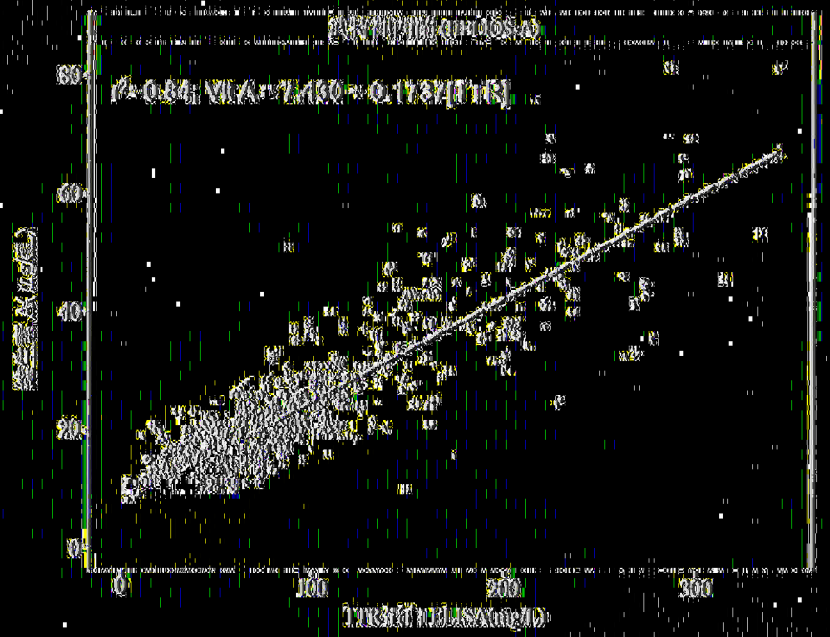


【図3】

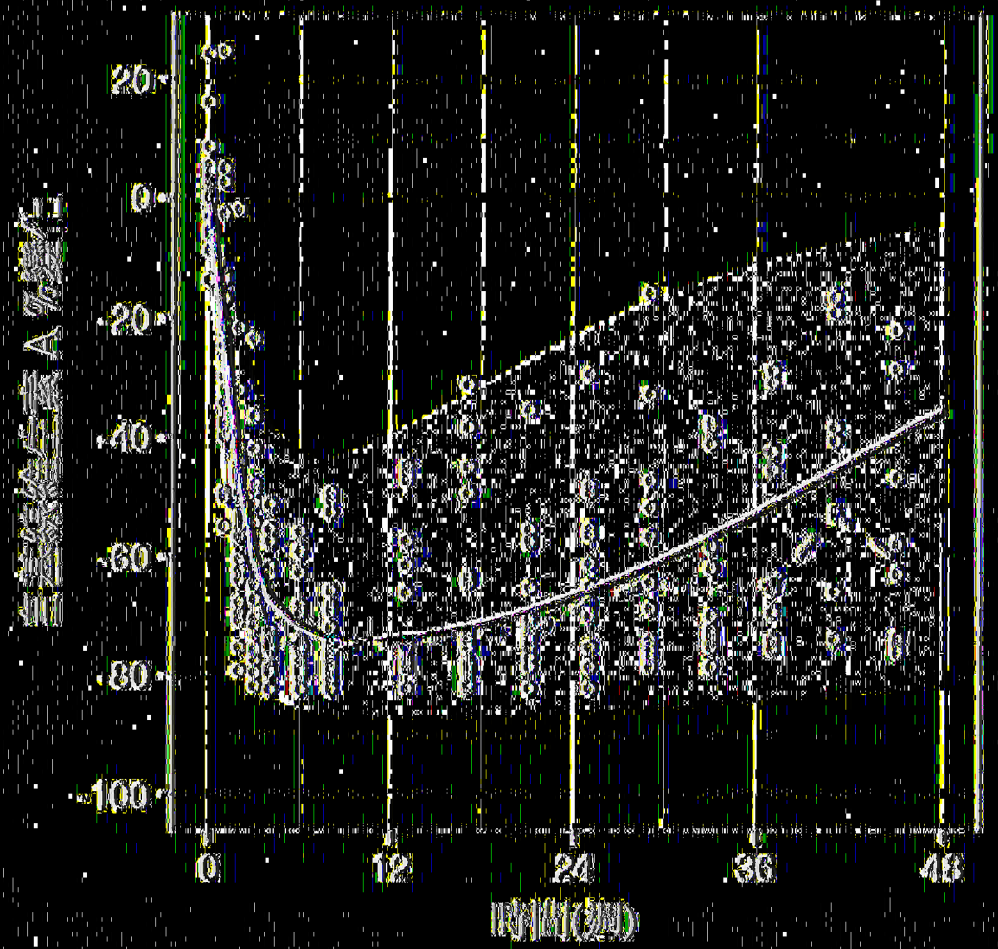
202313069

於18(1)其所示系統則四，隨著時間的推移，
經過整個系統的平均百分比變化：

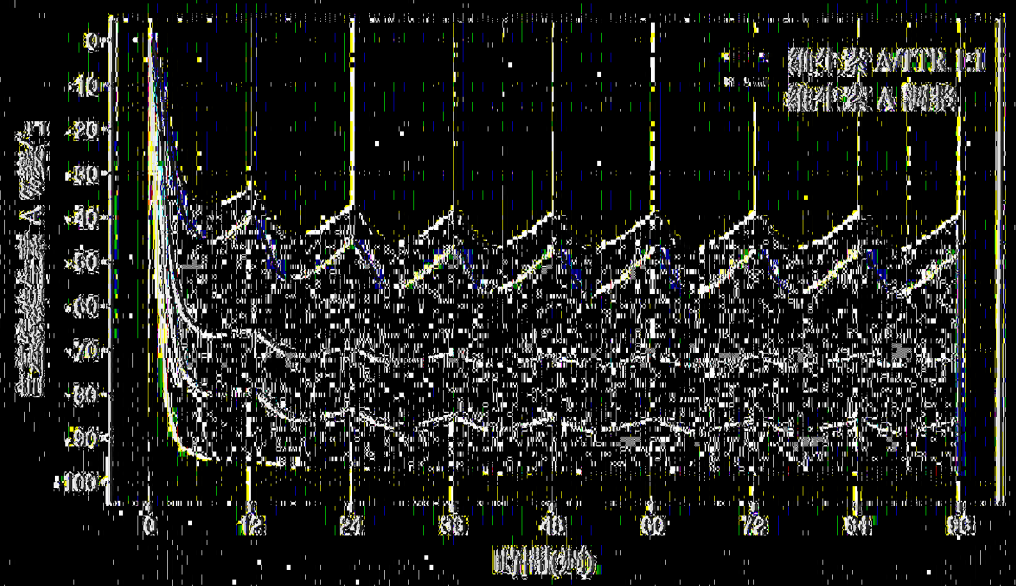




(2)

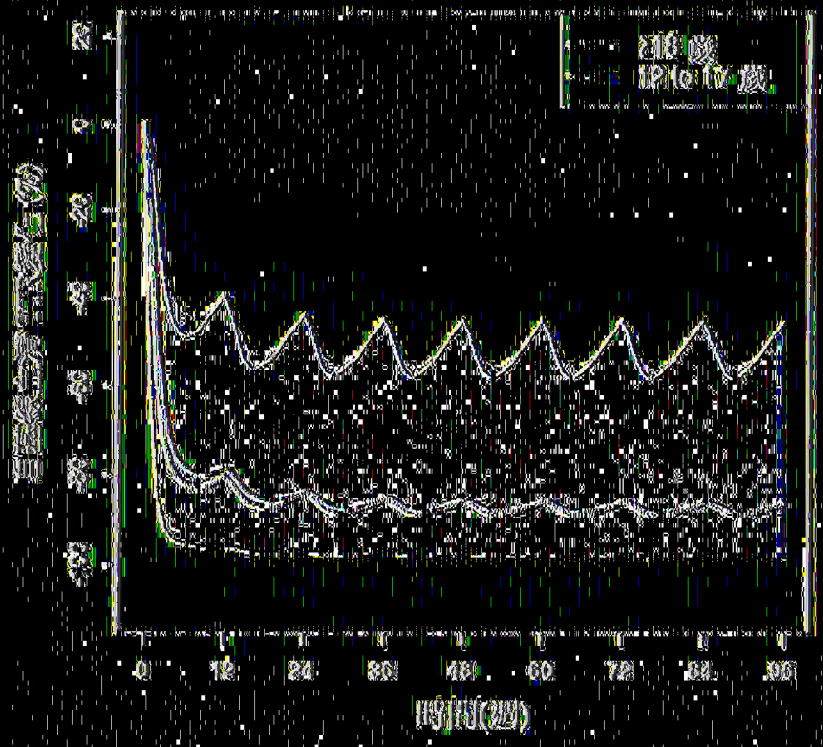


[図3]



【表4】

202313069



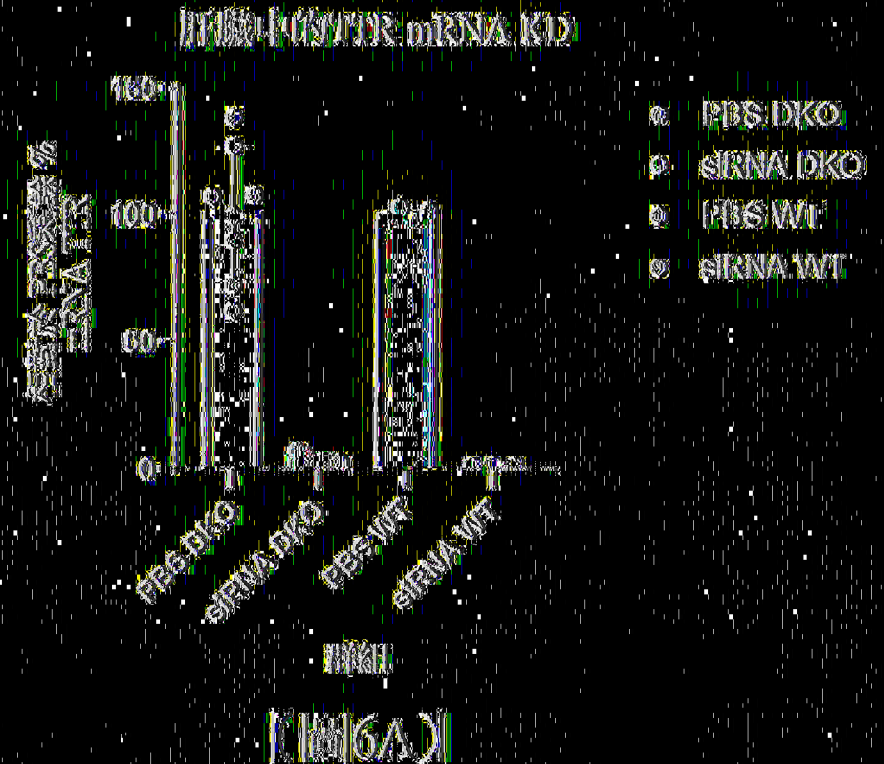
組4患 A（TTR）模擬(0.1期(各)

年齢区別	平均年齢30	最小値36
12歳以上	88.2%	85.3%
≥ 18歳	86.8%	85.1%

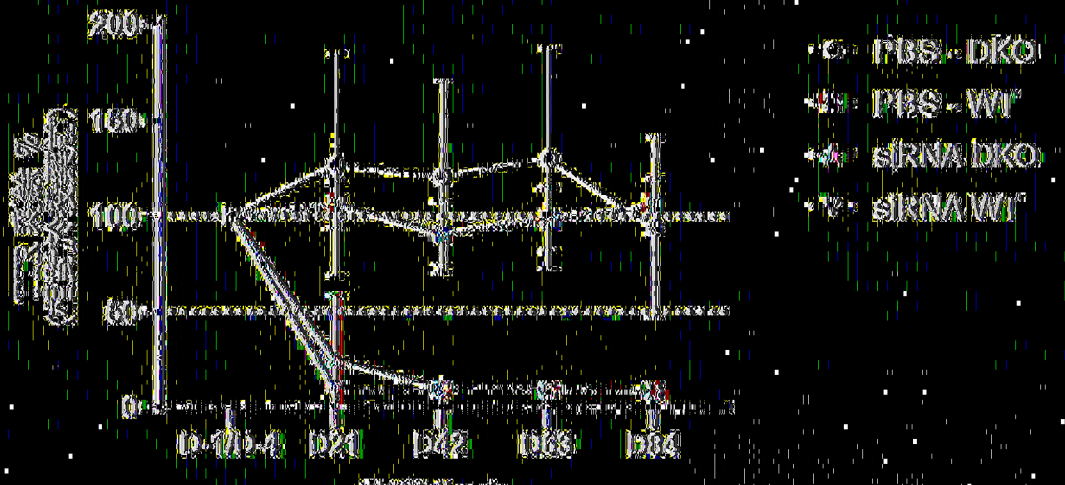
之間時組合患模擬(間隔後的期間)

年齢区別	平均年齢30	最小値36
12歳以上	73.2%	71.0%
≥ 18歳	72.3%	70.6%

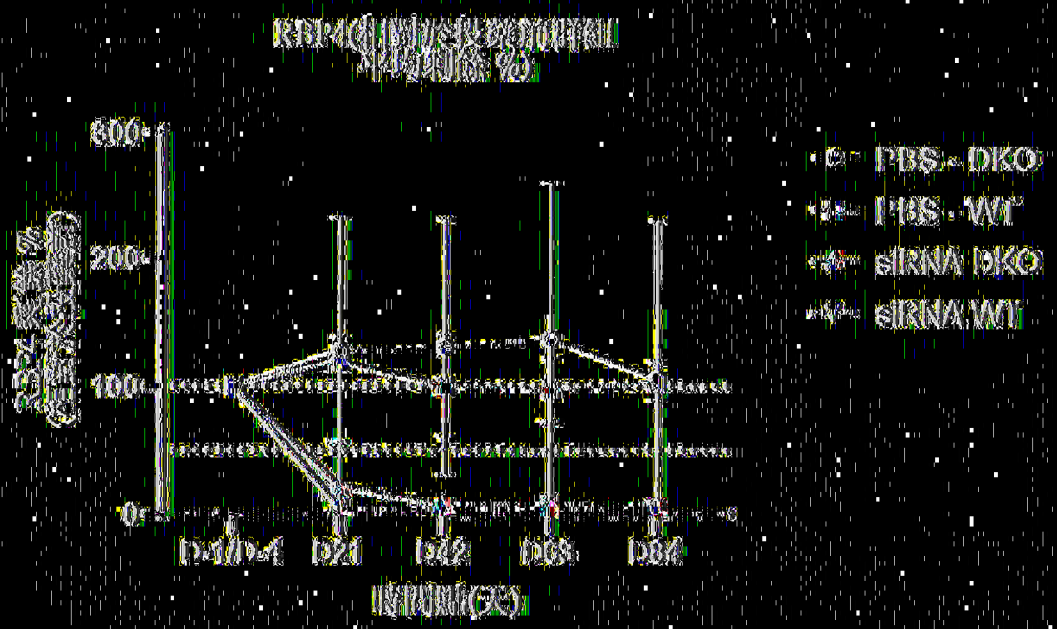
【圖5】


160
100
60
0
PBS-DKO
siRNA-DKO
PBS-WT
siRNA-WT

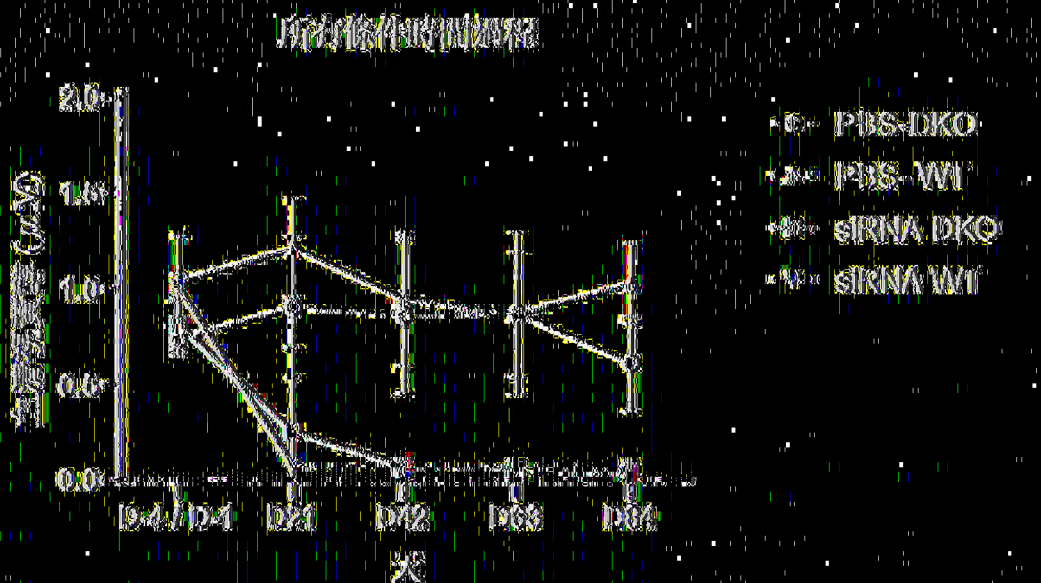
[図6A]


200
160
100
60
0
PBS - DKO
PBS - WT
siRNA-DKO
siRNA-WT

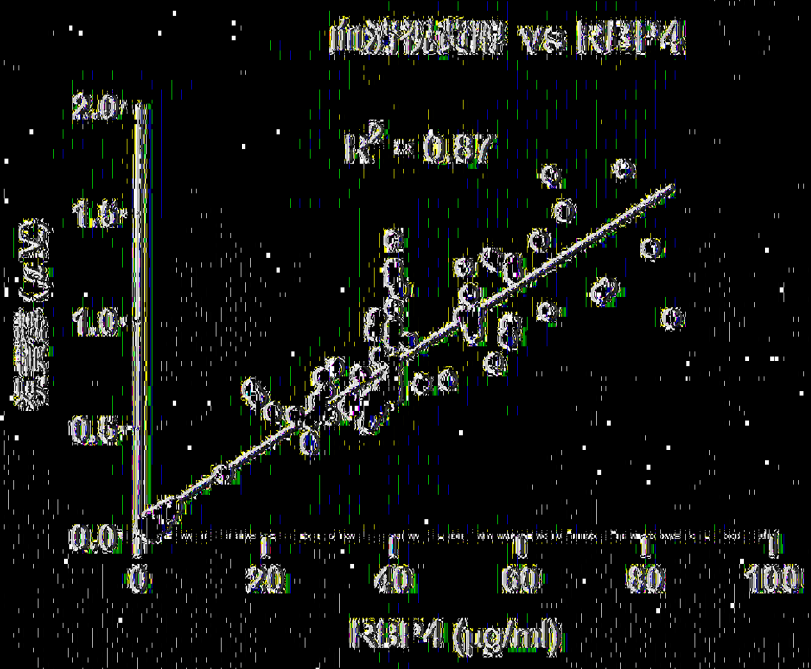
[図6B]


600
200
100
0
PBS-DKO
PBS-WT
siRNA DKO
siRNA WT

[図7A]


2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
PBS-DKO
PBS-WT
siRNA DKO
siRNA WT

[図7B]



[Fig. 8]

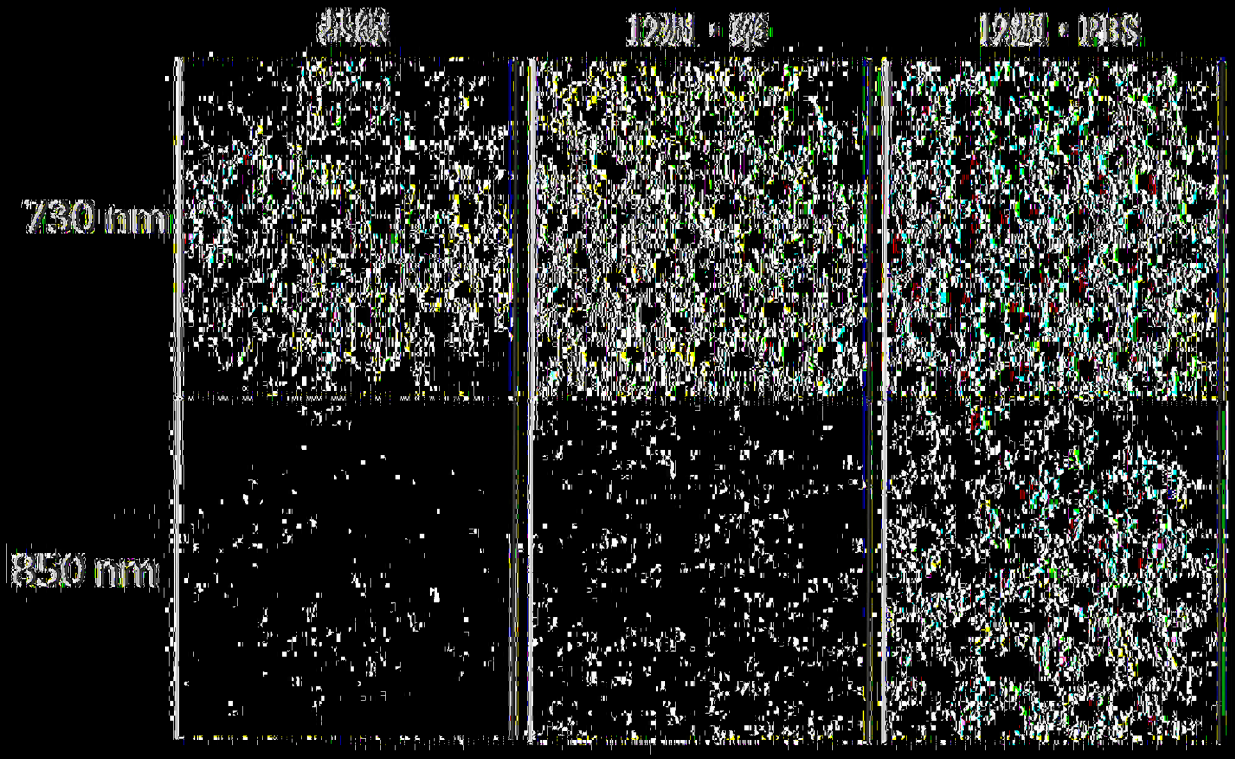

对照组
12周，野生
12周，PBS
730 nm
850 nm

图9A

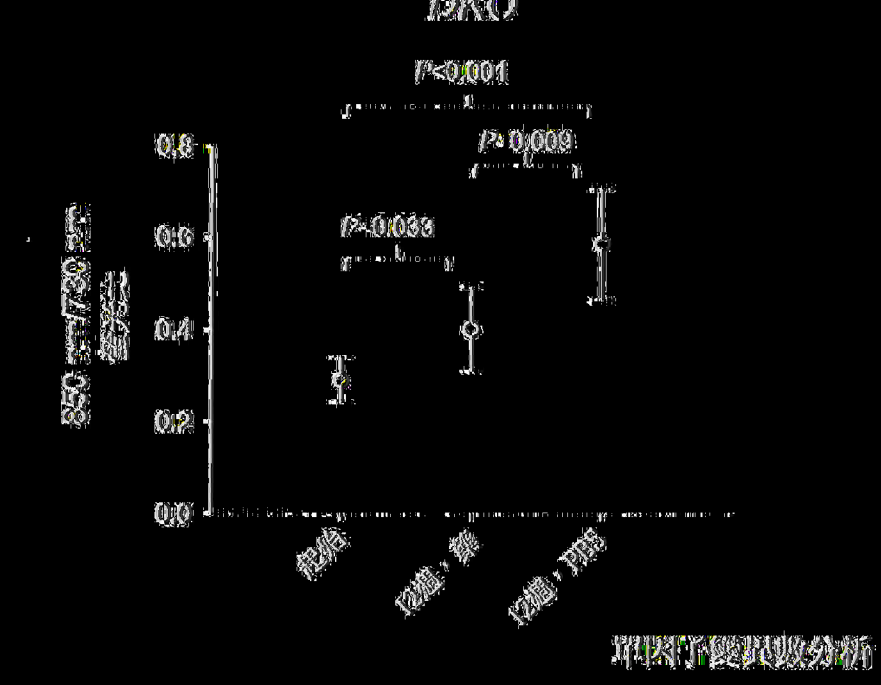
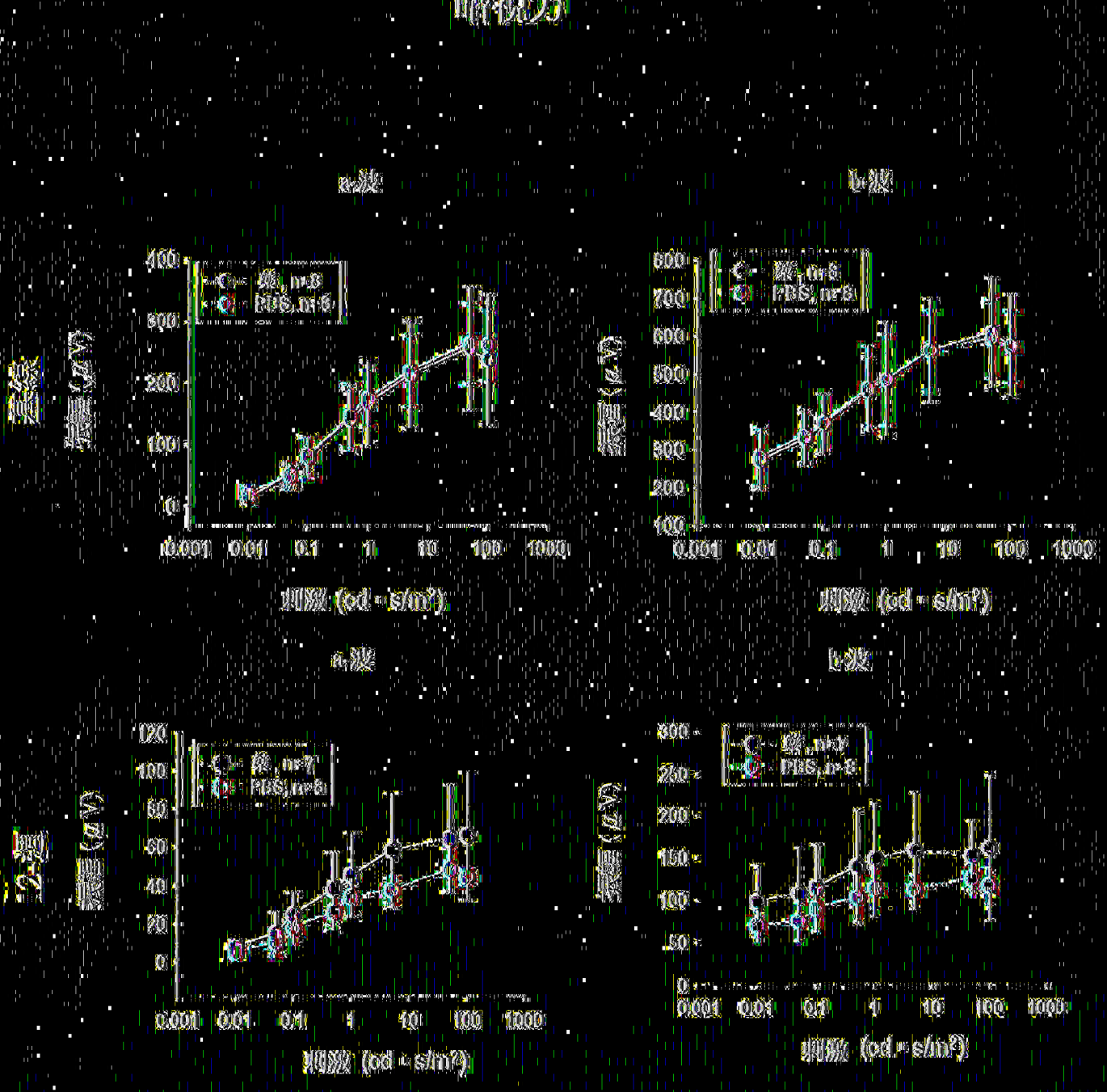

P<0.001
P=0.009
P=0.033
0.8
0.6
0.4
0.2
0.0
对照组
对照组，野生
对照组，PBS
单因素方差分析

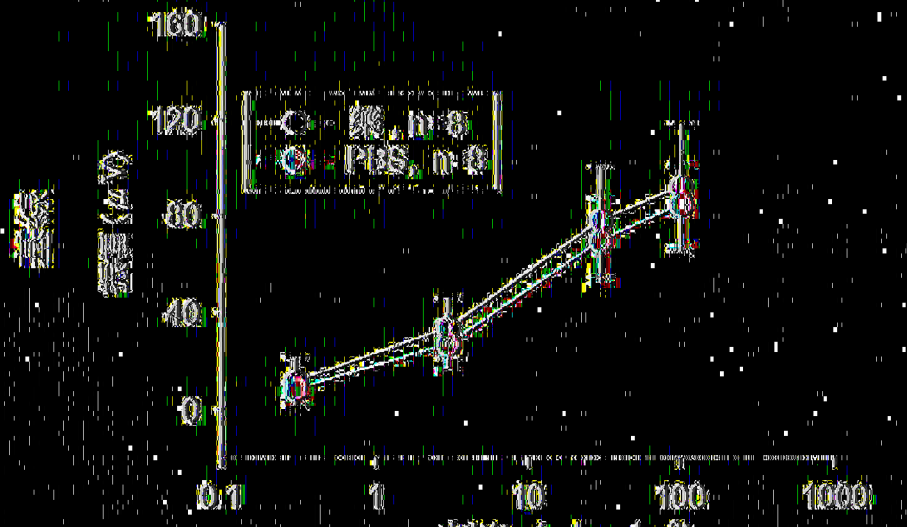
图9B

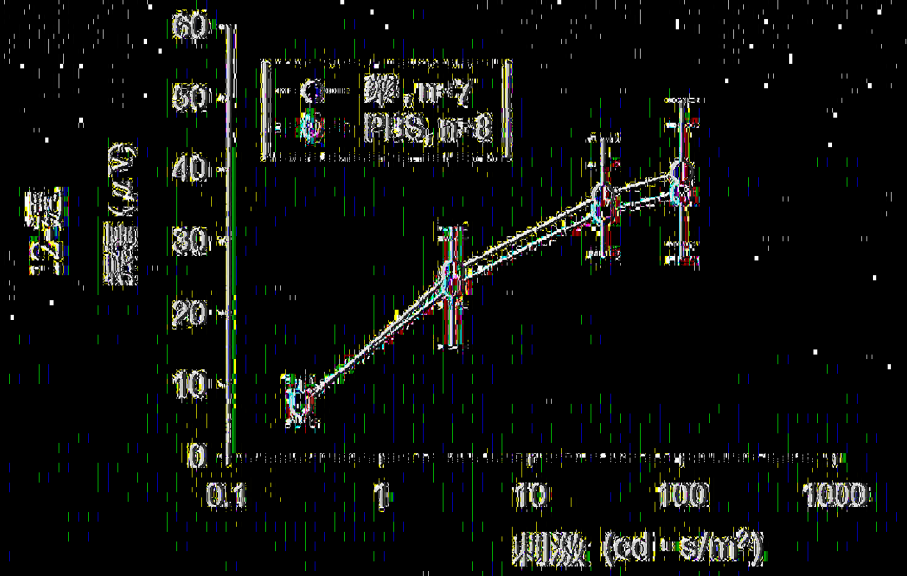

a.组
b.组
c.组
d.组
PBS, n=8
PBS, n=6
PBS, n=7
PBS, n=5
0.001
0.01
0.1
1
10
100
1000
(od · s/m²)

[ ]10)

95%.

光视力-b波


160
120
80
40
0
0.1
1
10
100
1000
(cd·s/m²)
(μV)
(n=8)
PBS, n=8


60
50
40
30
20
10
0
0.1
1
10
100
1000
(cd·s/m²)
(μV)
(n=7)
PBS, n=8

[图11 L)]