(19)国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 117120612 A
(43)申请公布日 2023.11.24

(21)申请号 202280027703.6
(22)申请日 2022.04.11
(30)优先权数据
21196784.9 2021.09.15 EP
63/173,775 2021.04.12 US
63/182,277 2021.04.30 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2023.10.10
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2022/059663 2022.04.11
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2022/218941 EN 2022.10.20
(71)申请人 勃林格殷格翰国际有限公司
地址 德国殷格翰
(72)发明人 B·D·布朗 H·T·杜德克 U·萨克塞纳 J·帕卡 M·艾布拉姆斯 M·L·科瑟
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
专利代理师 封新琴
(51)Int.Cl.
*C12N 15/113*(2006.01)

权利要求书16页 说明书178页
序列表（电子公布） 附图21页

(54)发明名称

用于抑制己酮糖激酶(KHK)的组合物及方法

(57)摘要

本发明提供抑制KHK表达的寡核苷酸。本发明还提供包括该寡核苷酸的组合物及其用途,特定地,涉及治疗与KHK表达相关的疾病、病症及/或病状的用途。

CN 117120612 A

1.一种用于降低己酮糖激酶(KHK)表达的双链RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐,该寡核苷酸包含反义链及有义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4至387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域的长度为至少15个连续核苷酸,

其中优选地,该有义链包含SEQ ID NO:4至387中的任一者中所阐述的序列,及/或

该反义链包含SEQ ID NO:388至771中的任一者中所阐述的序列。

2.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐,其中该双链RNAi寡核苷酸包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与SEQ ID NO:4至387的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至少15个与SEQ ID NO:388至771的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,

其中优选地,该有义链长度为18至36个核苷酸及/或该反义链长度为15至30个核苷酸。

3.一种用于降低或抑制己酮糖激酶(KHK)表达的双链RNAi(dsRNAi)寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(i)长度为19至30个核苷酸的反义链,其中该反义链包含与含有KHK mRNA目标序列互补的区域的核苷酸序列,其中该互补区域选自SEQ ID NO:948至953;及

(ii)长度为19至50个核苷酸的有义链,其包含与该反义链互补的区域,

其中该反义链及该有义链为单独链,其形成在该反义链的3'末端具有1至4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区域。

4.如权利要求1或3中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链所包含的该互补区域长度为至少19个连续核苷酸,优选19个核苷酸。

5.如权利要求1至4中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该双螺旋区域长度为至少20个核苷酸,优选20个核苷酸。

6.如权利要求1至5中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链在其3'端包含茎-环,该茎-环阐述为:S1-L-S2,

其中S1与S2互补,且

其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,

优选地,该茎-环包含序列5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3'(SEQ ID NO:871)。

7.如权利要求1至6中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该寡核苷酸的至少一个核苷酸与一或多个靶向配体结合,

其中优选地,各靶向配体包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分,

其中更优选地,该一或多个靶向配体与根据权利要求6所述的环的一或多个核苷酸结合。

8.如权利要求1至7中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该突出端长度为2个核苷酸,

优选选自AA、GG、AG及GA,

更优选地,该突出端为GG。

9.如权利要求1至8中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该寡核苷酸的所有核苷酸均经修饰,

优选地,该有义链的10至15%、10%、11%、12%、13%、14%或15%的核苷酸包含2'-氟修饰,及/或

该反义链的约25至35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2'-氟修饰。

10.如权利要求1至9中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该寡核苷酸包含至少一个硫代磷酸酯键联,

优选地在位置1与2之间、在位置2与3之间及在位置3与4之间,

其中位置自5'至3'编号为1至4。

11.如权利要求1至10中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该反义链的5'-末端核苷酸的糖的4'-碳包含磷酸酯类似物,

优选为包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基的4'-磷酸酯类似物。

12.如权利要求1至11中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该反义链长度为22个核苷酸,及/或

其中该有义链长度为36个核苷酸。

13.如权利要求1至12中任一项的RNAi寡核苷酸,

其中该有义链及该反义链包含以下中所阐述的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:887及913,或

(b)分别为SEQ ID NO:891及917,或

(c)分别为SEQ ID NO:892及918,或

(d)分别为SEQ ID NO:894及920,或

(e)分别为SEQ ID NO:897及923,或

(f)分别为SEQ ID NO:909及936。

14.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物(例如KHK mRNA)互补的区域,其中

(a)该有义链包含5'-mG-S-mA-mA-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fC-fA-mG-mA-mU-mC-mC-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:775)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fG-mG-fA-mU-mC-fU-mG-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mU-mU-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:820)的序列及所有修饰;或

(b)该有义链包含5'-mC-S-mA-mG-mA-mU-mG-mU-fG-fU-fC-fU-mG-mC-mU-mA-mC-mA-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:779)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fU-fG-mU-fA-mG-mC-fA-mG-mA-mC-fA-mC-mA-mU-mC-mU-mG-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:824)的序列及所有修饰;或

(c)该有义链包含5'-mG-S-mA-mC-mU-mU-mU-mG-fA-fG-fA-fA-mG-mG-mU-mU-mG-mA-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:780)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fU-fC-mA-fA-mC-mC-fU-mU-mC-mU-fC-mA-mA-mA-mG-mU-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:825)的序列及所有修饰;或

(d)该有义链包含5'-mU-S-mU-mU-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fG-fU-mU-mG-mA-mU-mC-mU-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:782)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fA-fG-mA-fU-mC-mA-fA-mC-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mA-mA-mA-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:827)的序列及所有修饰;或

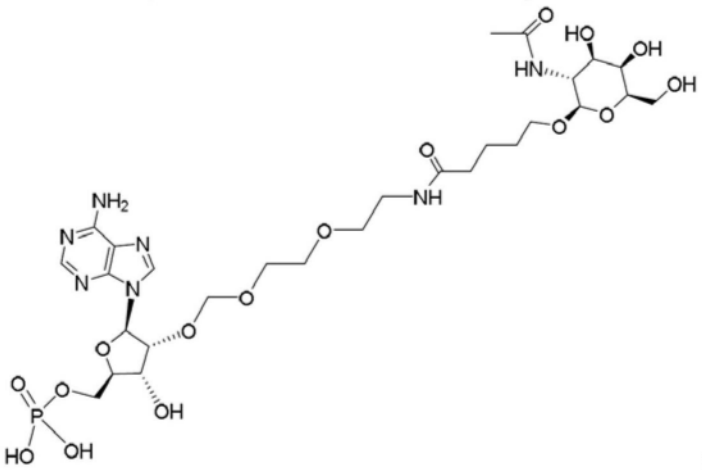
(e)该有义链包含5'-mU-S-mG-mU-mU-mU-mG-mU-fC-fA-fG-fC-mA-mA-mA-mG-mA-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:785)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fU-mC-fU-mU-mU-fG-mC-mU-mG-fA-mC-mA-mA-mA-mC-mA-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:830)的序列及所有修饰;或

(f)该有义链包含5'-mG-S-mC-mA-mG-mG-mA-mA-fG-fC-fA-fC-mU-mG-mA-mG-mA-mU-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:804)的序列及所有修饰,及

该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fA-fU-mC-fU-mC-mA-fG-mU-mG-mC-fU-mU-mC-mC-mU-mG-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:849)的序列及所有修饰;

其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=

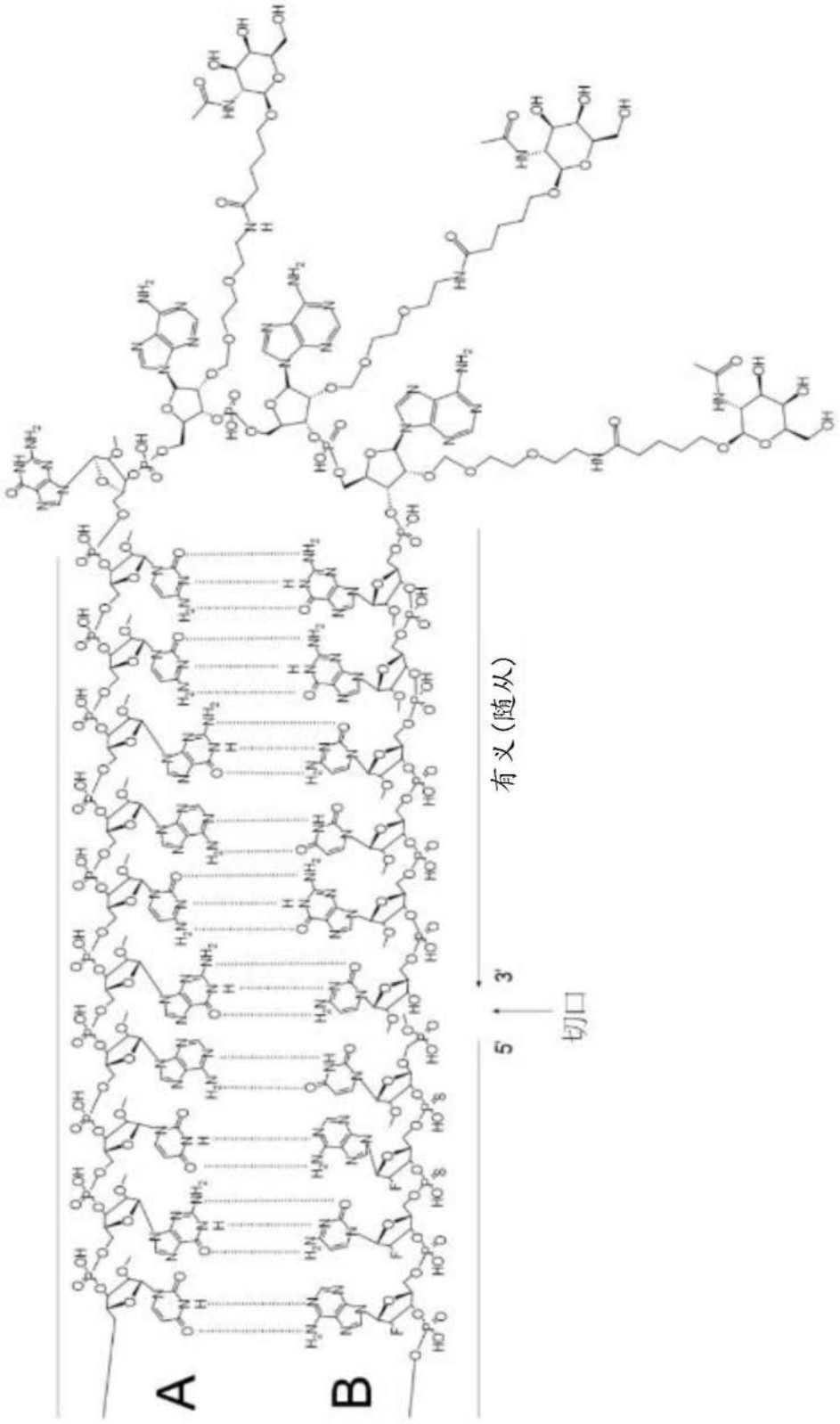


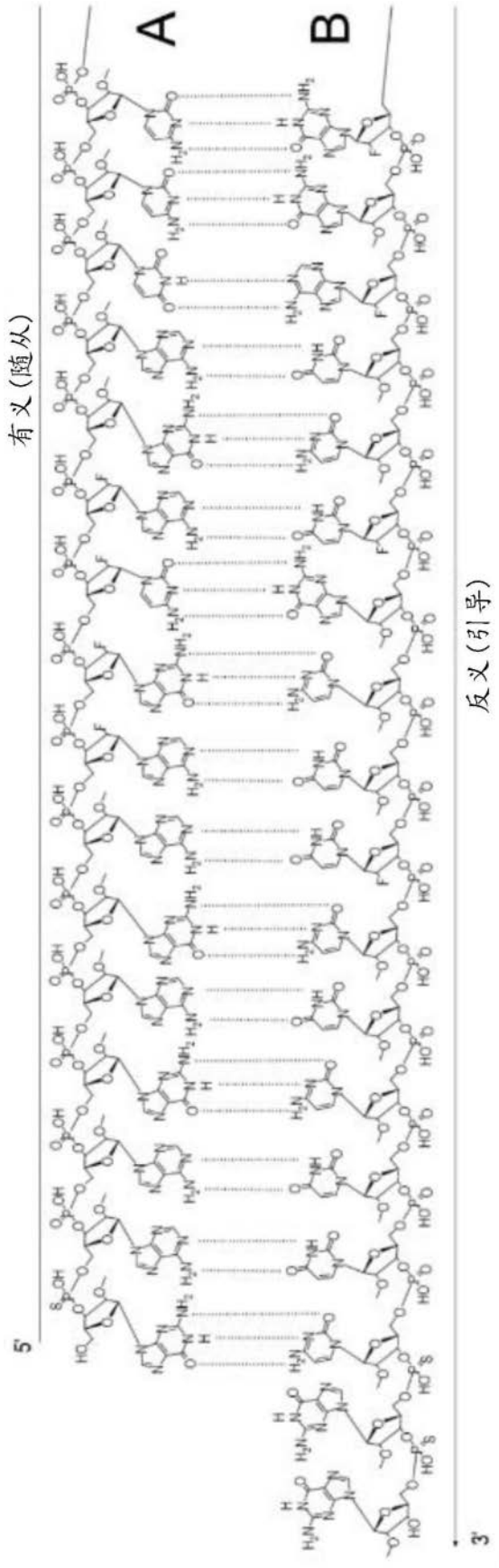
;

或其药学上可接受的盐。

15.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含

(a)包含SEQ ID NO:775的有义链及包含SEQ ID NO:820的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

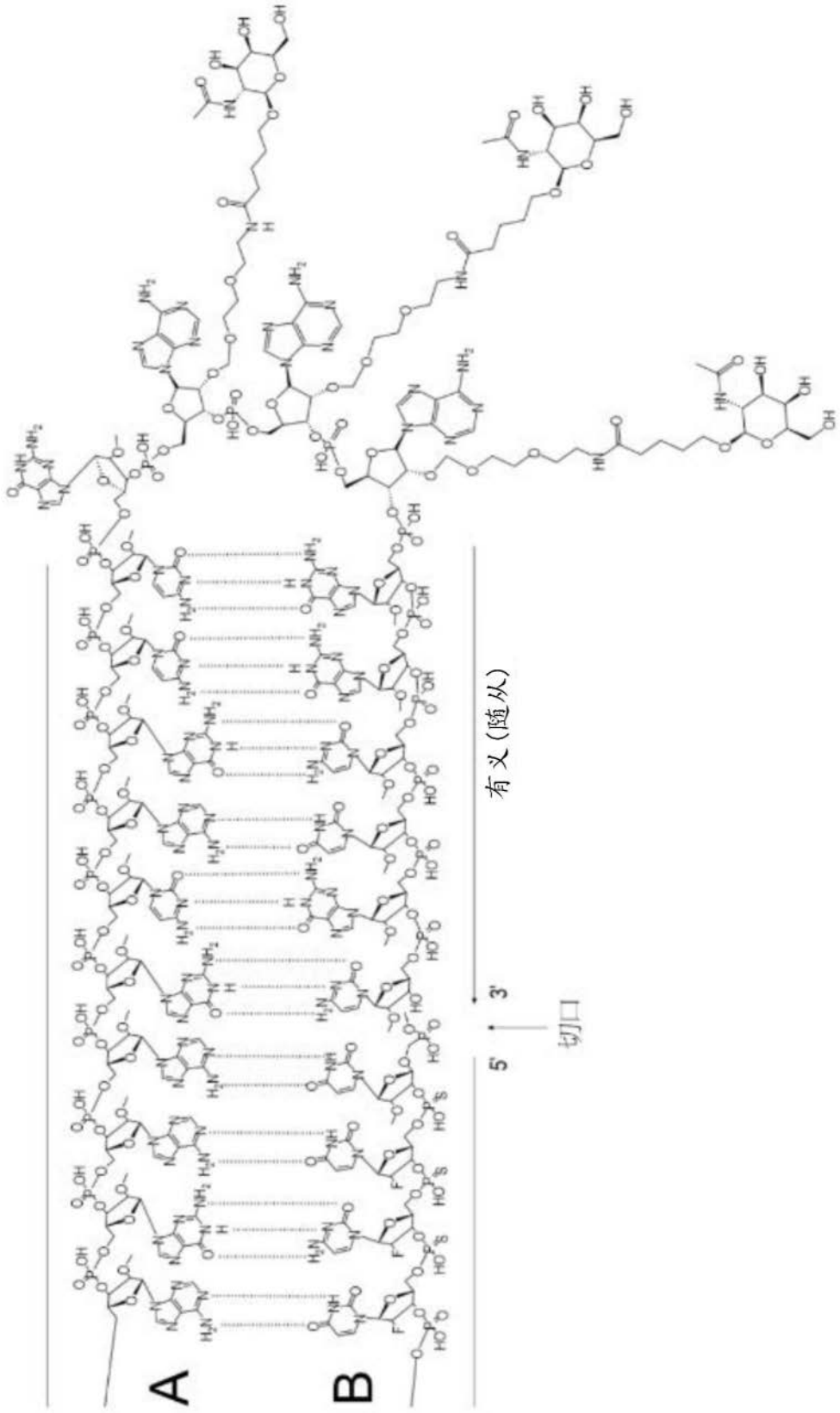

A
B
有义(随从)
5'
3'
切口

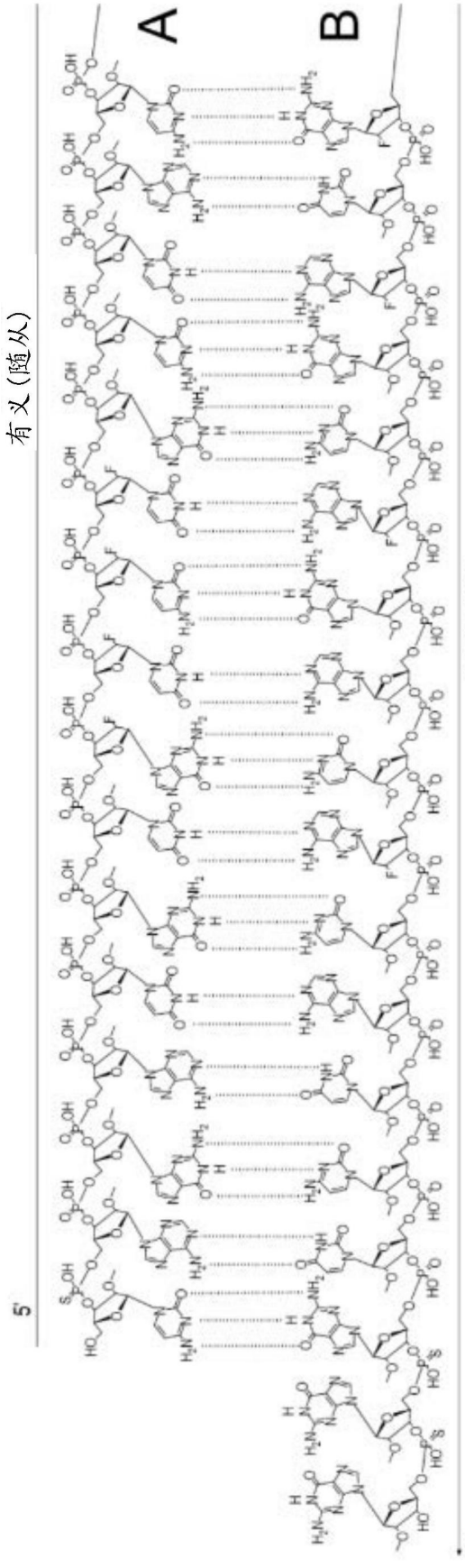



或

;

(b)包含SEQ ID NO:779的有义链及包含SEQ ID NO:824的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

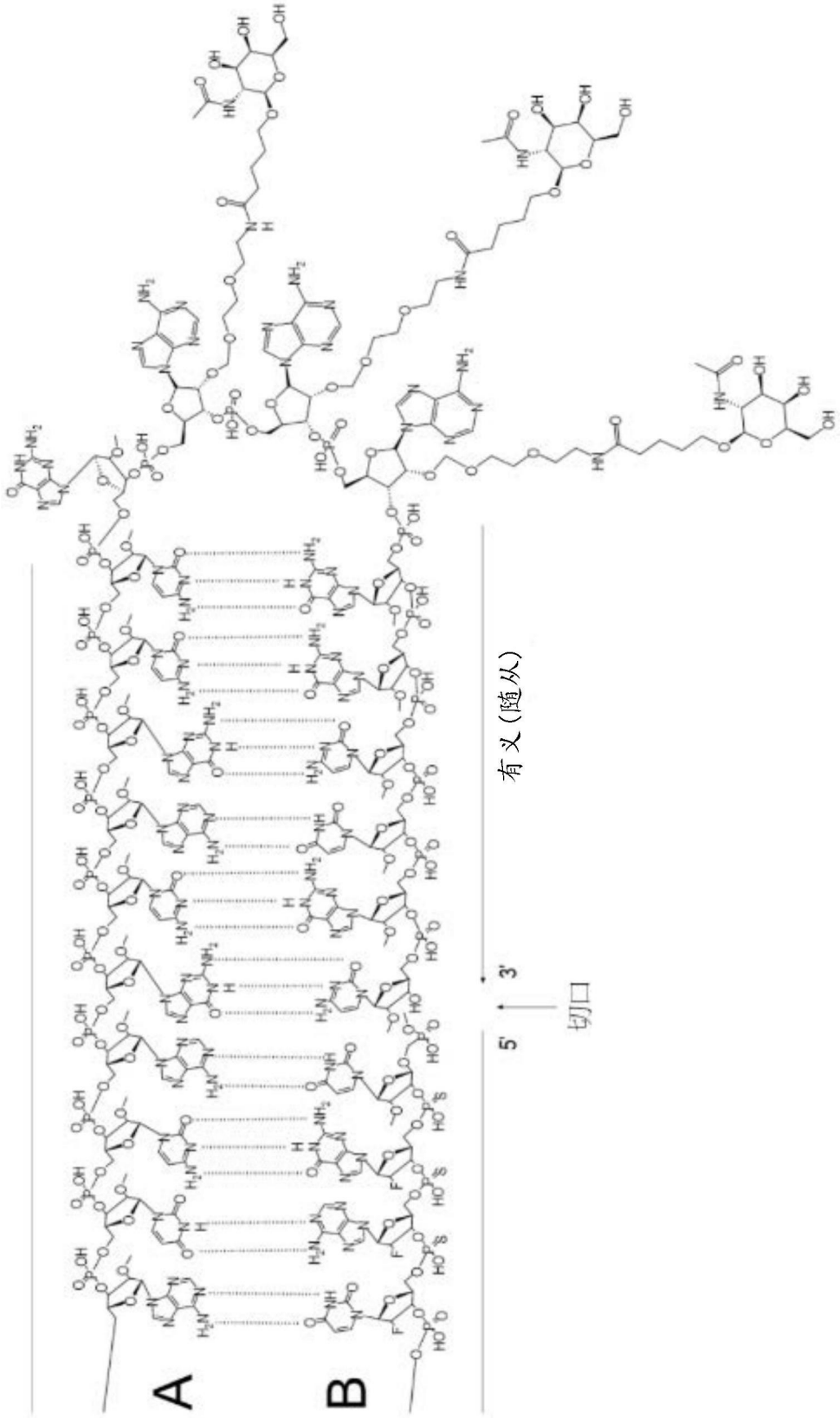

A
B
5'
3'
有义(随从)
切口

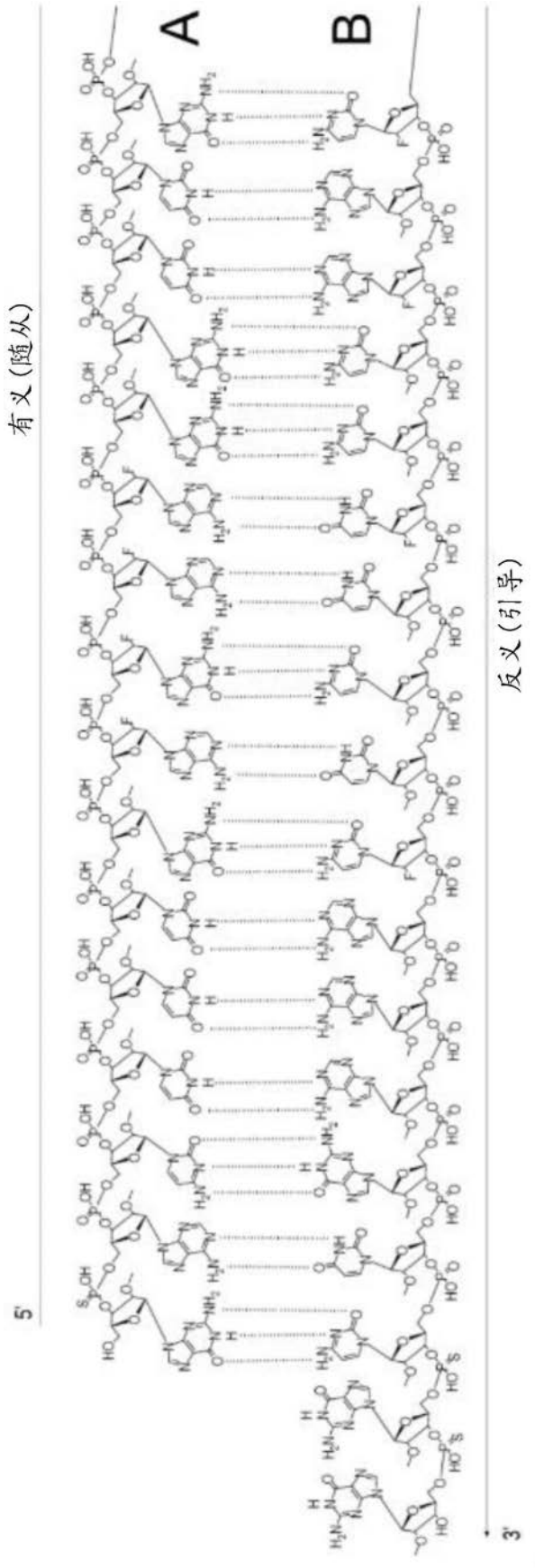



或

;

(c)包含SEQ ID NO:780的有义链及包含SEQ ID NO:825的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

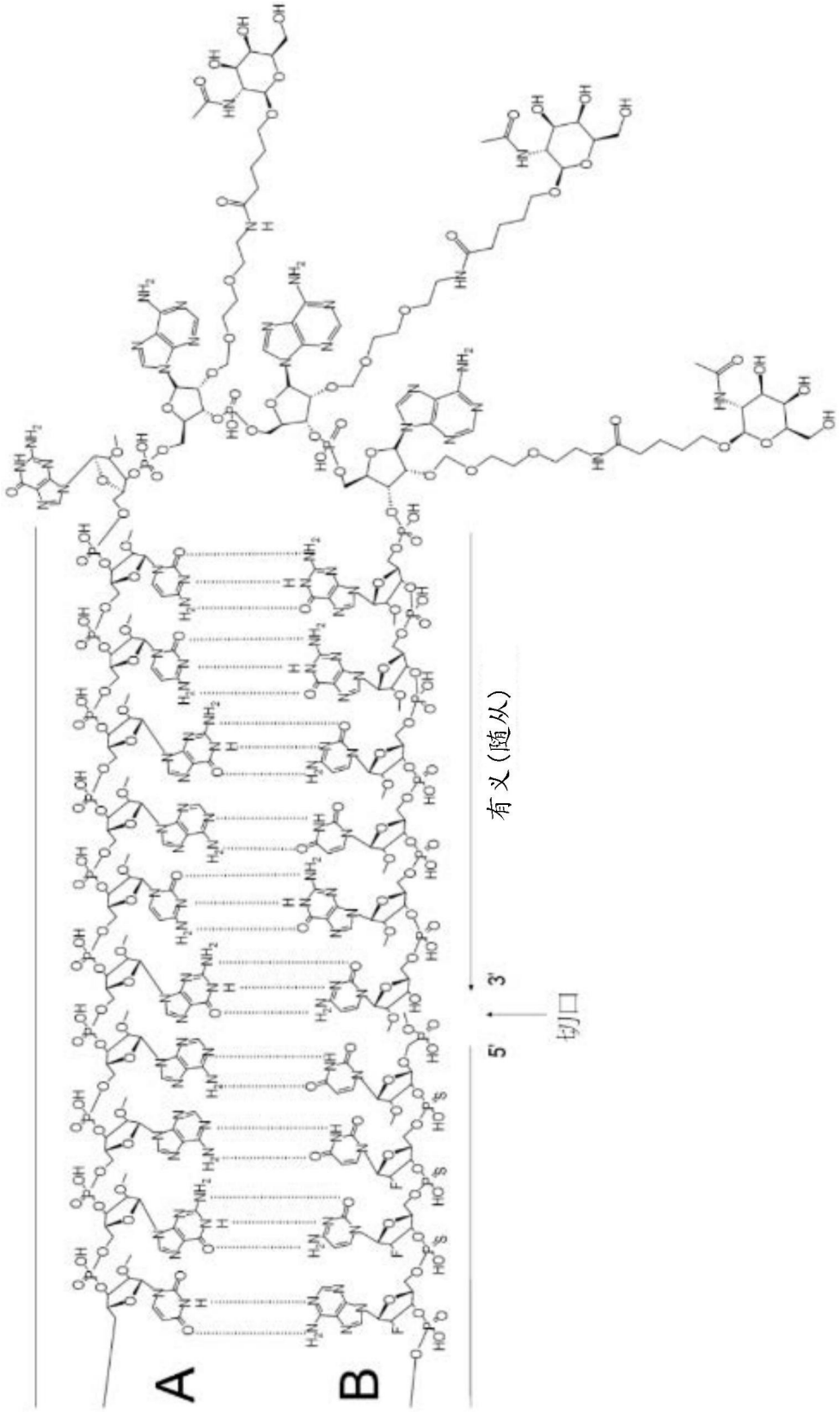

A
B
有义(随从)
5'
3'
切口

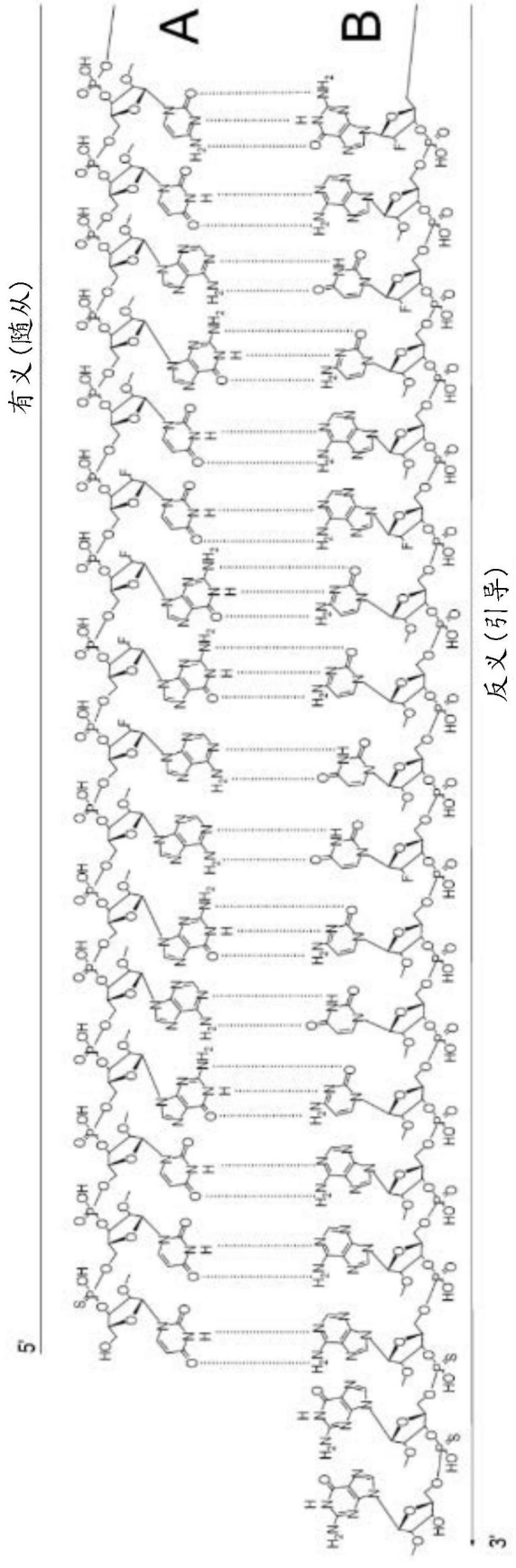



或

;

(d)包含SEQ ID NO:782的有义链及包含SEQ ID NO:827的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

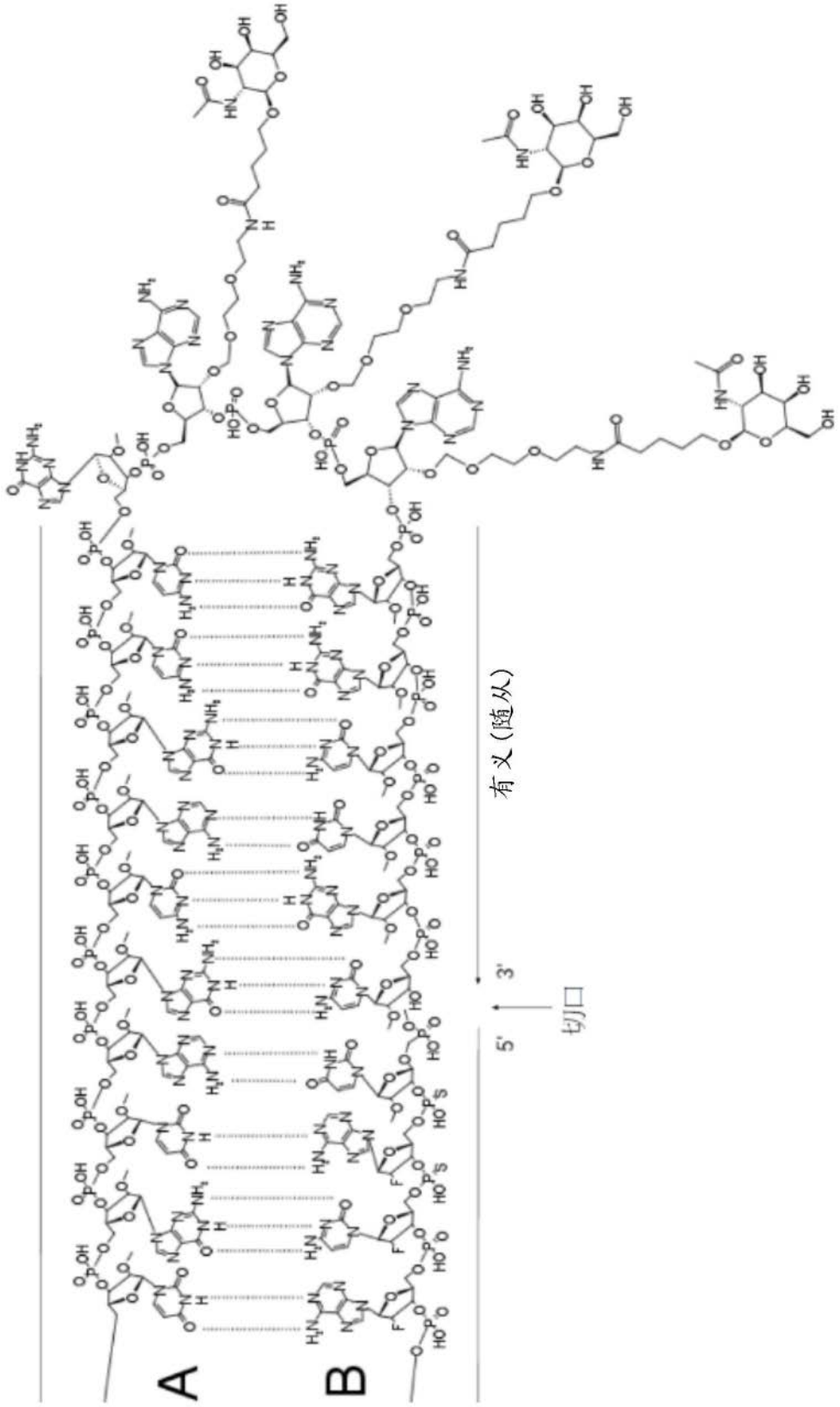

有义(随从)
3'
5'
切口
A
B

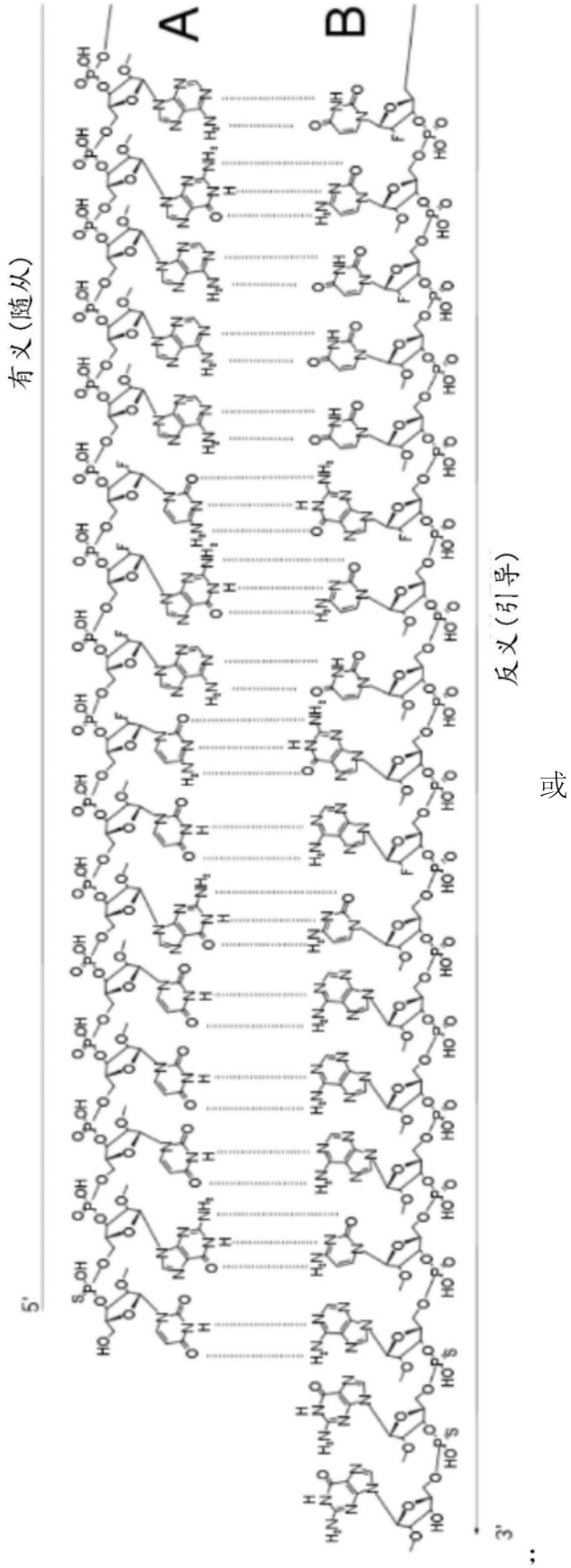



或

;

(e)包含SEQ ID NO:785的有义链及包含SEQ ID NO:830的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

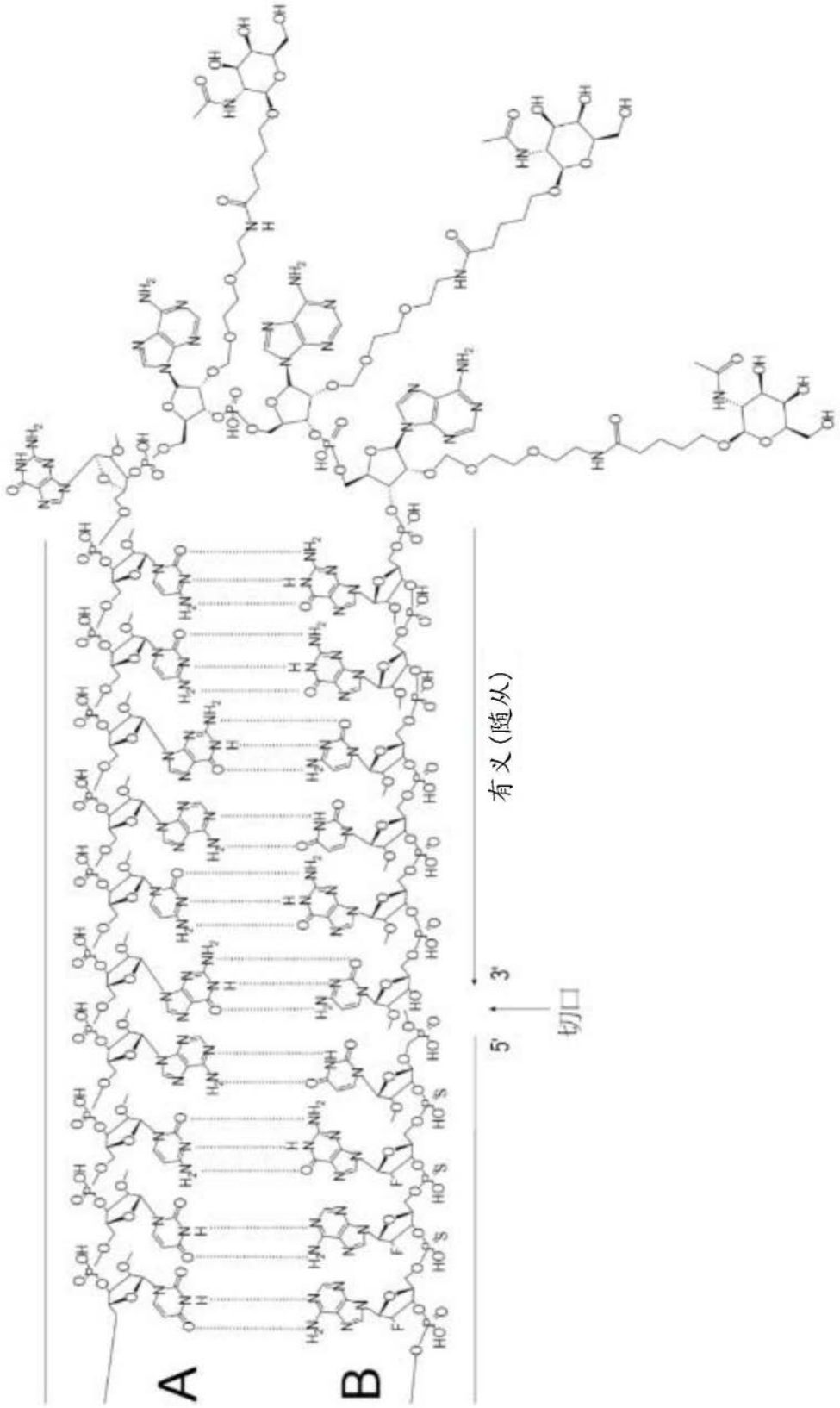

A
B
有义(随从)
3'
5'
切口

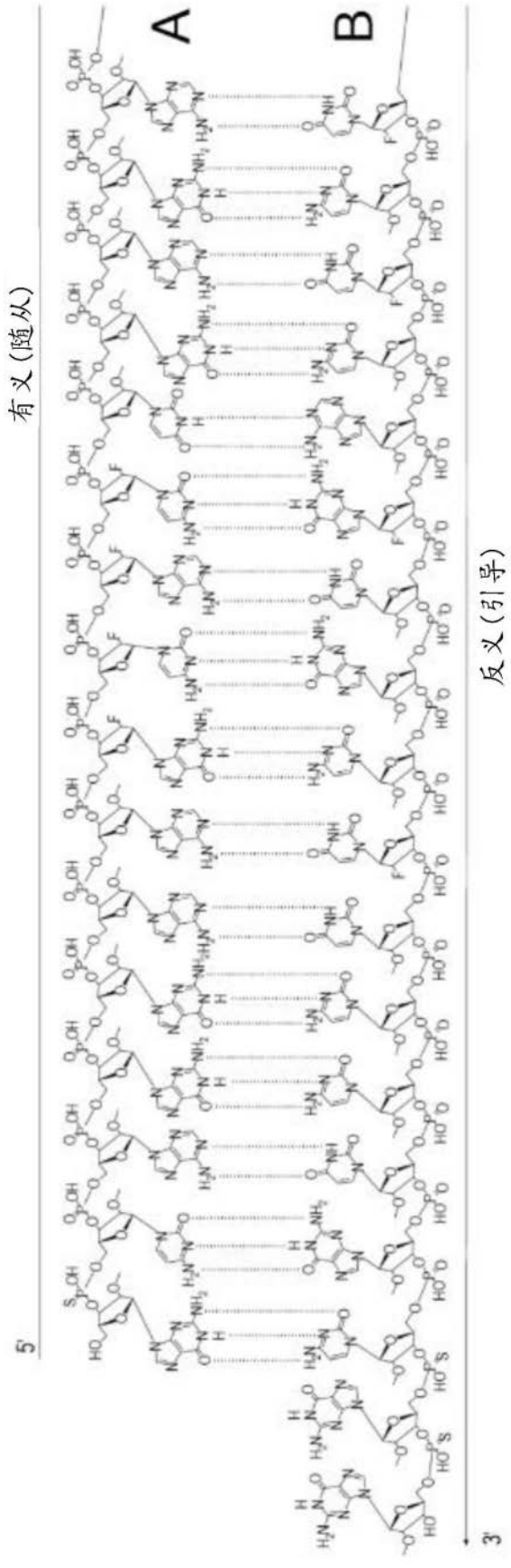



或

;

(f)包含SEQ ID NO:804的有义链及包含SEQ ID NO:849的反义链,该反义链包含与KHK RNA转录物例如KHK mRNA互补的区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
3'
5'
切口




;

或其药学上可接受的盐。

16.一种药物组合物,其包含如权利要求1至15中任一项的dsRNAi寡核苷酸或其药学上

可接受的盐及至少一种药学上可接受的载剂、递送剂或赋形剂。

17.如权利要求1至15中任一项的RNAi寡核苷酸或如权利要求16的药物组合物,其用作药物。

18.如权利要求1至15中任一项的RNAi寡核苷酸或如权利要求16的药物组合物,其供在治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状中使用,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

19.如权利要求1至15中任一项的RNAi寡核苷酸或如权利要求16的药物组合物,如权利要求18的供使用,其中该RNAi寡核苷酸或药物组合物与第二组合物或治疗剂组合施用。

20.一种用于降低细胞、细胞群或受试者中的KHK表达的方法,该方法包含以下步骤:

i.使该细胞或该细胞群与如权利要求1至16中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或如权利要求17的药物组合物接触;或

ii.向所述受试者施用如权利要求1至16中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或如权利要求17的药物组合物。

# 用于抑制己酮糖激酶(KHK)的组合物及方法

发明背景

[0001] 己酮糖激酶(KHK)为果糖代谢中重要的酶。KHK催化D-果糖转化为1-磷酸果糖。在果糖消耗量增加的情况下,1-磷酸果糖的主要部分有助于脂肪酸及甘油三酯的合成。在肝脏中,对此过程的不受控制的调节会导致诸如非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)的疾病。类似地,果糖代谢在肝脏中将果糖转化为葡萄糖。葡萄糖含量增加会导致葡萄糖不耐(即前驱糖尿病、2型糖尿病及空腹葡萄糖受损)。过量葡萄糖会转化为脂肪酸及甘油三酯,且增加罹患心血管疾病(例如高血压)的风险。减少肝脏中KHK的含量可能会降低这些疾病的发展或减弱其症状。需要靶向KHK基因来预防此类疾病的策略。靶向KHK基因的RNAi剂已公开于例如WO 2015/123264及WO 2020/060986中。

## 发明内容

[0002] 本发明部分基于寡核苷酸(例如,RNAi寡核苷酸)降低肝脏中KHK表达的发现。具体而言,鉴别出KHK mRNA内的目标序列,产生与这些目标序列结合且抑制KHK mRNA表达的寡核苷酸。如本文所证明,寡核苷酸抑制肝脏中的鼠类KHK表达,及/或猴及人类KHK表达。不受理论束缚,本文所述的寡核苷酸可用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状(例如,非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肝炎(NASH))。在一些实施方案中,本文所述的寡核苷酸可用于治疗与KHK基因突变相关的病症、疾病或病状。

[0003] 因此,在一些方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含反义链及有义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域的长度为至少15个连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。在一些方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含反义链及有义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为至少15个连续核苷酸,且其中KHK表达降低了至少50%。

[0004] 在前述或相关方面的任一者中,该有义链包含SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列。

[0005] 在前述或相关方面中的任一者中,该反义链包含SEQ ID NO:388-771中的任一者中所阐述的序列。

[0006] 在其他方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,其中该双链RNAi剂包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至少15个与SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。在其他方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,其中该双链RNAi剂包含形成双链区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至

少15个与SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,且其中KHK表达降低了至少50%,或其药学上可接受的盐。

[0007] 在前述或相关方面中的任一者中,有义链的长度为15至50个核苷酸。在一些方面中,有义链的长度为18至36个核苷酸。在其他方面中,有义链的长度为15至30个核苷酸。在一些方面中,反义链的长度为15至30个核苷酸。在一些方面中,反义链的长度为22个核苷酸。

[0008] 在前述或相关方面中的任一者中,反义链及有义链形成长度为至少19个核苷酸的双螺旋区。在前述或相关方面中的任一者中,反义链及有义链形成长度为至少20个核苷酸的双螺旋区。在前述或相关方面中的任一者中,反义链及有义链形成长度为20个核苷酸的双螺旋区。在一些方面中,反义链的长度为22个核苷酸且反义链及有义链形成长度为至少19个核苷酸的双螺旋区。在一些方面中,反义链长度为22个核苷酸且反义链及有义链形成长度为至少20个核苷酸的双螺旋区。在一些方面中,反义链长度为22个核苷酸且反义链及有义链形成长度为20个核苷酸的双螺旋区。

[0009] 在前述或相关方面中的任一者中,反义链包含长度为至少19个连续核苷酸、任选地长度为至少20个核苷酸的互补区域。

[0010] 在前述或相关方面中的任一者中,有义链在其3'端包含阐述为以下的茎-环:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环。

[0011] 在一些方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为15至50个核苷酸的有义链及反义链,其中该有义链及该反义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域的长度为至少15个连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0012] 在其他方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为15至50个核苷酸的有义链及长度为15至30个核苷酸的反义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为至少15个连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0013] 在其他方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为15至50个核苷酸的有义链及反义链,其中该有义链及该反义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0014] 在其他方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为18至36个核苷酸的有义链及反义链,其中该有义链及该反义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0015] 在其他方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为18至36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0016] 在一些方面中,本发明提供一种降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为18至36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该有义链及该反义链形成双螺旋区,其中该有义链的3'端包含阐述为S1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0017] 在其他方面中,本发明提供一种降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该有义链及该反义链形成双螺旋区,其中该有义链的3'端包含阐述为S1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0018] 在其他方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该有义链及该反义链形成长度为至少19个核苷酸,任选地长度为20个核苷酸的双螺旋区,其中该有义链的3'端包含阐述为S1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸,或其药学上可接受的盐。

[0019] 在一些方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中该反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中该互补区域选自SEQ ID NO:948-953;及

(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含该反义链的互补区域,

其中该反义链及该有义链为形成在反义链的3'末端具有1至4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。在一些方面中,RNAi寡核苷酸在3'末端包含茎-环,其中茎环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环。

[0020] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种包含阐述为S1-L-S2的茎环的RNAi寡核苷酸,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环。在一些方面中,L为三环或四环。在前述或相关方面中的任一者中,L为四环。在一些方面中,四环包含序列5'-GAAA-3'。在前述或相关方面中的任一者中,S1及S2的长度为1-10个核苷酸且具有相同长度。在一些方面中,S1及S2长度为1个核苷酸、2个核苷酸、3个核苷酸、4个核苷酸、5个核苷酸、6个核苷酸、7个核苷酸、8个核苷酸、9个核苷酸或10个核苷酸。在一些方面中,S1及S2的长度为6个核苷酸。在前述或相关方面中的任一者中,茎-环包含序列5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3'(SEQ ID NO:871)。

[0021] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其包含带切口的四环结构。在一些方面中,RNAi寡核苷酸在该有义链的3'末端与该反义链的5'末端之间包含切口。在一些方面中,反义链及有义链不共价连接。

[0022] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供RNAi寡核苷酸,其中反义链包含长

度为一或多个核苷酸的3’突出端。在一些方面中,3’突出端包含嘌呤核苷酸。在一些方面中,3’突出端的长度为2个核苷酸。在一些方面中,3’突出端选自AA、GG、AG及GA。在一些方面中,3’突出端为GG或AA。在一些方面中,3’突出端为GG。

[0023] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其包含至少一个经修饰的核苷酸。在一些方面中,经修饰的核苷酸包含2’-修饰。在一些方面中,2’-修饰为选自以下的修饰:2’-氨基乙基、2’-氟、2’-O-甲基、2’-O-甲氧基乙基及2’-脱氧-2’-氟-β-d-阿拉伯糖核酸。在一些方面中,2’-修饰为2’-氟。在一些方面中,2’-修饰为2’-O-甲基。在一些方面中,2’-修饰为2’-氟及2’-O-甲基。

[0024] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其包含至少一个经修饰的核苷酸,其中有义链的约10-15%、10%、11%、12%、13%、14%或15%的核苷酸包含2’-氟修饰。在一些方面中,反义链的约25-35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2’-氟修饰。在一些方面中,寡核苷酸的约25-35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2’-氟修饰。在一些方面中,该有义链包含自5’至3’位置为1-36的36个核苷酸,其中位置8-11包含2’-氟修饰。在一些方面中,反义链包含自5’至3’位置为1-22的22个核苷酸,其中位置2、3、4、5、7、10及14包含2’-氟修饰。在一些方面中,有义链及/或反义链的其余核苷酸包含2’-O-甲基修饰。

[0025] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中所有核苷酸经修饰。在一些方面中,有义链的位置8、9、10及11(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,有义链的位置3、8、9、10、12、13及17(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,反义链的位置2、3、4、5、7、10及14(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,反义链的位置2至5、7、8、10、14、16及19(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,有义链的位置8、9、10及11(自5’至3’)及反义链的位置2、3、4、5、7、10及14(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,有义链的位置3、8、9、10、12、13及17(自5’至3’)及反义链的位置2-5、7、8、10、14、16及19(自5’至3’)经修饰。在一些方面中,修饰为2’-氟修饰。

[0026] 在前述或相关方面中的任一者中,寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸间键联。在一些方面中,至少一个经修饰的核苷酸间键联为硫代磷酸酯键联。在一些方面中,该反义链包含(i)位置1与2之间及位置2与3之间;或(ii)位置1与2之间、位置2与3之间及位置3与4之间的硫代磷酸酯键联,其中位置自5’至3’编号为1-4。在一些方面中,该反义链的长度为22个核苷酸,且包含位置20与21之间及位置21与22之间的硫代磷酸酯键联,其中位置自5’至3’编号为1-22。

[0027] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该反义链的5’-核苷酸的糖的4’-碳包含磷酸酯类似物。在一些方面中,该磷酸酯类似物是氧基甲基膦酸酯、乙烯基膦酸酯或丙二酰基膦酸酯,任选地其中该磷酸酯类似物包含5’-甲氧基膦酸酯-4’-氧基的4’-磷酸酯类似物。

[0028] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种包含反义链的RNAi寡核苷酸,该反义链在5’末端包含磷酸化核苷酸,其中该磷酸化核苷酸选自尿苷及腺苷。在一些方面中,磷酸化核苷酸为尿苷。

[0029] 在前述或相关方面中的任一者中,寡核苷酸体内降低或抑制KHK表达。在前述或相

关方面中的任一者中,寡核苷酸为Dicer底物。在一些方面中,寡核苷酸为Dicer底物,其在内源性Dicer加工时产生能够降低哺乳动物细胞中KHK表达的长度为19-23个核苷酸的双链核酸。

[0030] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸的至少一个核苷酸与一或多个靶向配体结合。在一些方面中,各靶向配体包含碳水化合物、氨基糖、胆固醇、多肽或脂质。在一些方面中,茎环包含一或多种与茎环的一或多个核苷酸结合的靶向配体。在一些方面中,一或多个靶向配体结合至环的一或多个核苷酸。在一些方面中,该环包含自5'至3'编号为1-4的4个核苷酸,其中在位置2、3及4处的核苷酸各自包含一或多个靶向配体,其中所述靶向配体相同或不同。

[0031] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中各靶向配体包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分。在一些方面中,GalNAc部分为单价GalNAc部分、二价GalNAc部分、三价GalNAc部分或四价GalNAc部分。在一些方面中,茎-环的L的至多4个核苷酸各自与单价GalNAc部分结合。

[0032] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其包含含有互补区域的反义链,其中该互补区域与KHK mRNA目标序列在该反义链的核苷酸位置2-8处完全互补,其中核苷酸位置自5'至3'编号。在一些方面中,该互补区域与KHK mRNA目标序列在该反义链的核苷酸位置2-11处完全互补,其中核苷酸位置自5'至3'编号。

[0033] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链包含SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸序列。

[0034] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中反义链包含SEQ ID NO:879-884及912-938中的任一者的核苷酸序列。

[0035] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中反义链包含选自SEQ ID NO:913、917、918、920、923及936的核苷酸序列。在一些方面中,有义链包含选自SEQ ID NO:942-947的核苷酸序列。在一些方面中,有义链包含选自SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909的核苷酸序列。

[0036] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;
(b)分别为SEQ ID NO:887及913;
(c)分别为SEQ ID NO:910及937;
(d)分别为SEQ ID NO:888及914;
(e)分别为SEQ ID NO:889及915;
(f)分别为SEQ ID NO:890及916;
(g)分别为SEQ ID NO:891及917;
(h)分别为SEQ ID NO:877及884;
(i)分别为SEQ ID NO:878及930;
(j)分别为SEQ ID NO:876及883;
(k)分别为SEQ ID NO:875及882;
(l)分别为SEQ ID NO:892及918;

(m)分别为SEQ ID NO:893及919;
(n)分别为SEQ ID NO:894及920;
(o)分别为SEQ ID NO:904及931;
(p)分别为SEQ ID NO:895及921;
(q)分别为SEQ ID NO:905及932;
(r)分别为SEQ ID NO:896及922;
(s)分别为SEQ ID NO:911及938;
(t)分别为SEQ ID NO:906及933;
(u)分别为SEQ ID NO:897及923;
(v)分别为SEQ ID NO:907及934;
(w)分别为SEQ ID NO:908及935;
(x)分别为SEQ ID NO:903及929;
(y)分别为SEQ ID NO:901及927;
(z)分别为SEQ ID NO:874及881;
(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;
(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;
(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;
(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;
(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;
(gg)分别为SEQ ID NO:900及926;及
(hh)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0037] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:887及913;
(b)分别为SEQ ID NO:891及917;
(c)分别为SEQ ID NO:892及918;
(d)分别为SEQ ID NO:894及920;
(e)分别为SEQ ID NO:897及923;及
(f)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0038] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:909及936中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:894及920中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:897及923中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:892及918中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:891及917中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:887及913中所阐述的核苷酸序列。

[0039] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中如本文中

所描述的寡核苷酸实现KHK mRNA的至少50％基因敲低。在一些方面中,本文所述的寡核苷酸在体外实现KHK mRNA的至少50％基因敲低。在一些方面中,本文所述的寡核苷酸在体内实现KHK mRNA的至少50％基因敲低。在一些方面中,本文所述的寡核苷酸在体外及体内实现KHK mRNA的至少50％基因敲低。在一些方面中,实现KHK mRNA的至少50％基因敲低的本文所述的寡核苷酸包含有义链及反义链,其中该有义链及该反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;

(b)分别为SEQ ID NO:887及913;

(c)分别为SEQ ID NO:910及937;

(d)分别为SEQ ID NO:890及916;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;

(f)分别为SEQ ID NO:892及918;

(g)分别为SEQ ID NO:893及919;

(h)分别为SEQ ID NO:894及920;

(i)分别为SEQ ID NO:911及938;

(j)分别为SEQ ID NO:899及925;

(k)分别为SEQ ID NO:900及926;

(l)分别为SEQ ID NO:909及936;及

(m)分别为SEQ ID NO:897及923。

[0040] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链经修饰,其中该反义链及该有义链包含一或多个经2'-氟及2'-O-甲基修饰的核苷酸及至少一个硫代磷酸酯键联,其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含磷酸酯类似物。

[0041] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含SEQ ID NO:774-804中的任一者的核苷酸序列。

[0042] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含SEQ ID NO:819-849中的任一者的核苷酸序列。

[0043] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:774及819;

(b)分别为SEQ ID NO:775及820;

(c)分别为SEQ ID NO:776及821;

(d)分别为SEQ ID NO:777及822;

(e)分别为SEQ ID NO:778及823;

(f)分别为SEQ ID NO:779及824;

(g)分别为SEQ ID NO:780及825;

(h)分别为SEQ ID NO:781及826;

(i)分别为SEQ ID NO:782及827;

(j)分别为SEQ ID NO:783及828;

(k)分别为SEQ ID NO:784及829;

(l)分别为SEQ ID NO:785及830;

(m)分别为SEQ ID NO:786及831;

(n)分别为SEQ ID NO:787及832;

(o)分别为SEQ ID NO:788及833;

(p)分别为SEQ ID NO:789及834;

(q)分别为SEQ ID NO:790及835;

(r)分别为SEQ ID NO:791及836;

(s)分别为SEQ ID NO:792及837;

(t)分别为SEQ ID NO:793及838;

(u)分别为SEQ ID NO:794及839;

(v)分别为SEQ ID NO:795及840;

(w)分别为SEQ ID NO:796及841;

(x)分别为SEQ ID NO:797及842;

(y)分别为SEQ ID NO:798及843;

(z)分别为SEQ ID NO:799及844;

(aa)分别为SEQ ID NO:800及845;

(bb)分别为SEQ ID NO:801及846;

(cc)分别为SEQ ID NO:802及847;

(dd)分别为SEQ ID NO:803及848;及

(ee)分别为SEQ ID NO:804及849。

[0044] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:775及820;

(b)分别为SEQ ID NO:779及824;

(c)分别为SEQ ID NO:780及825;

(d)分别为SEQ ID NO:782及827;

(e)分别为SEQ ID NO:785及830;及

(f)分别为SEQ ID NO:804及849。

[0045] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:804及849中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:782及827中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:775及820中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:779及824中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:780及825中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:785及830中所阐述的核苷酸序列。

[0046] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链

包含SEQ ID NO:805-818中的任一者的核苷酸序列。

[0047] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中反义链包含SEQ ID NO:850-863中的任一者的核苷酸序列。

[0048] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:805及850;

(b)分别为SEQ ID NO:806及851;

(c)分别为SEQ ID NO:807及852;

(d)分别为SEQ ID NO:808及853;

(e)分别为SEQ ID NO:809及854;

(f)分别为SEQ ID NO:810及855;

(g)分别为SEQ ID NO:811及856;

(h)分别为SEQ ID NO:812及857;

(i)分别为SEQ ID NO:813及858;

(j)分别为SEQ ID NO:814及859;

(k)分别为SEQ ID NO:815及860;

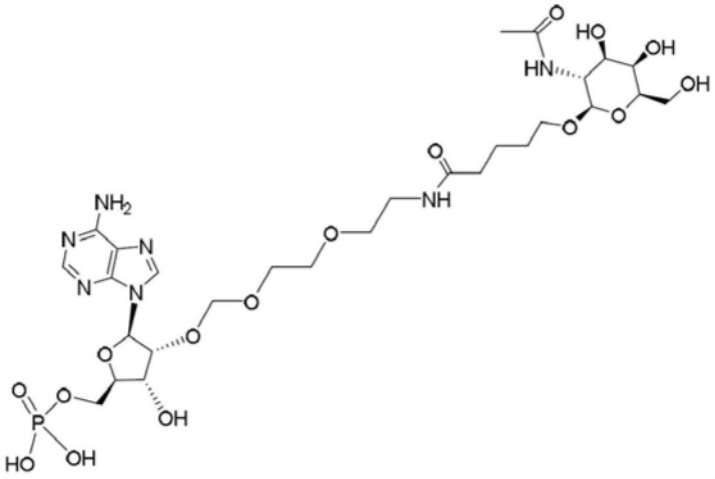
(l)分别为SEQ ID NO:816及861;

(m)分别为SEQ ID NO:817及862;及

(n)分别为SEQ ID NO:818及863。

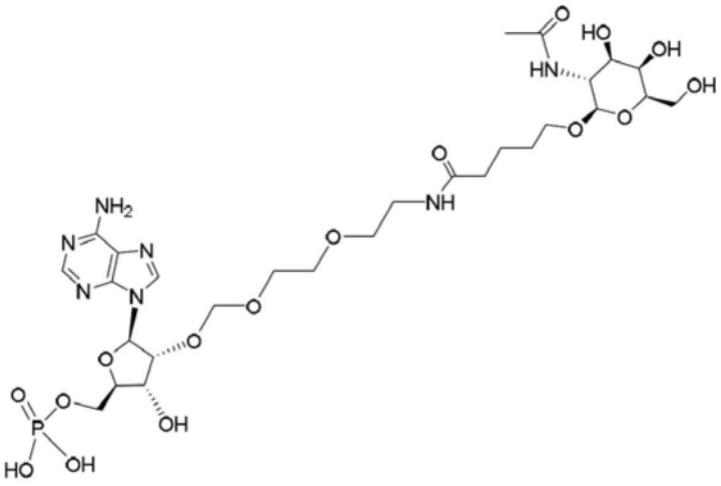
[0049] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:805及850中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:809及854中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:810及855中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:812及857中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:815及860中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:818及863中所阐述的核苷酸序列。

[0050] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mG-S-mA-mA-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fC-fA-mG-mA-mU-mC-mC-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:775)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fG-mG-fA-mU-mC-fU-mG-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mU-mU-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:820)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=

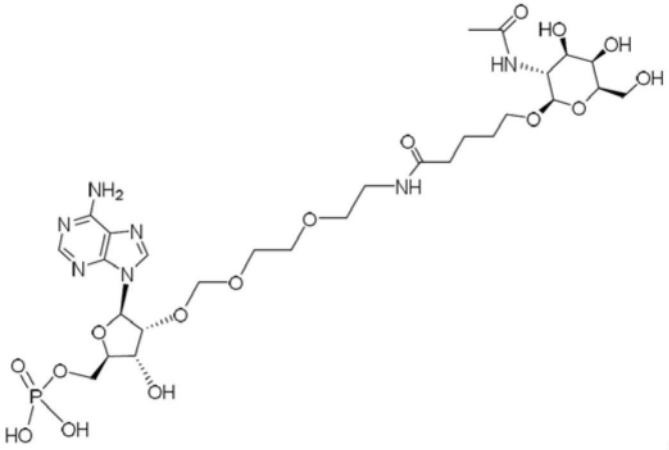


或其药学上可接受的盐。

[0051] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mC-S-mA-mG-mA-mU-mG-mU-fG-fU-fC-fU-mG-mC-mU-mA-mC-mA-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:779)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fU-fG-mU-fA-mG-mC-fA-mG-mA-mC-fA-mC-mA-mU-mC-mU-mG-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:824)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中

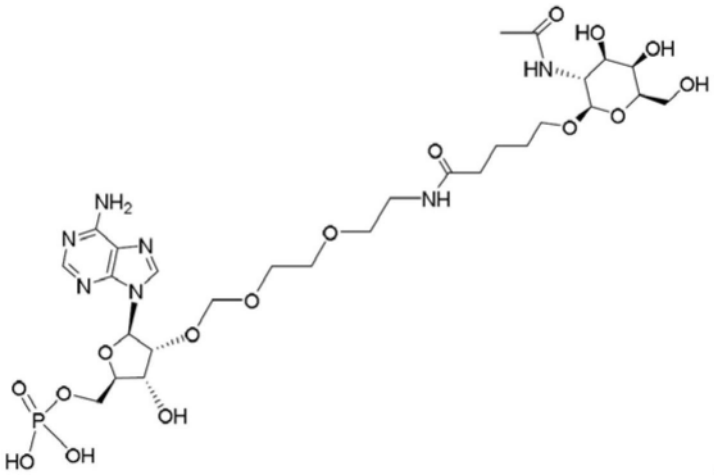
ademA-GalNAc=  或其药学上可接受的盐。

[0052] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mG-S-mA-mC-mU-mU-mU-mG-fA-fG-fA-fA-mG-mG-mU-mU-mG-mA-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:780)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fU-fC-mA-fA-mC-mC-fU-mU-mC-mU-fC-mA-mA-mA-mG-mU-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:825)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



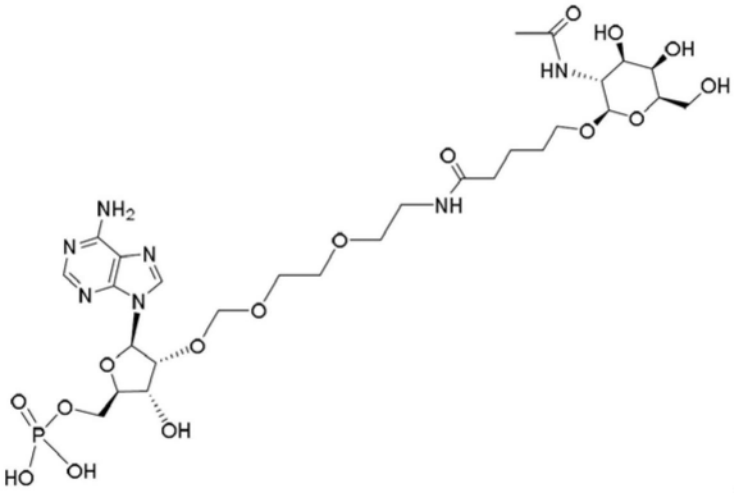
或其药学上可接受的盐。

[0053] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mU-S-mG-mU-mU-mU-mG-mU-fC-fA-fG-fC-mA-mA-mA-mG-mA-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:785)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fU-mC-fU-mU-mU-fG-mC-mU-mG-fA-mC-mA-mA-mA-mC-mA-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:830)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



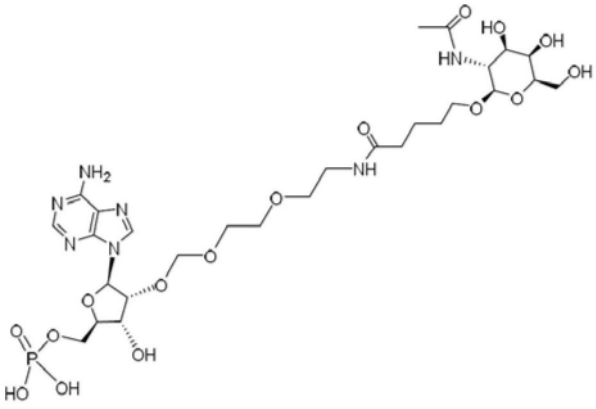
或其药学上可接受的盐。

[0054] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mG-S-mC-mA-mG-mG-mA-mA-fG-fC-fA-fC-mU-mG-mA-mG-mA-mU-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:804)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fA-fU-mC-fU-mC-mA-fG-mU-mG-mC-fU-mU-mC-mC-mU-mG-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:849)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



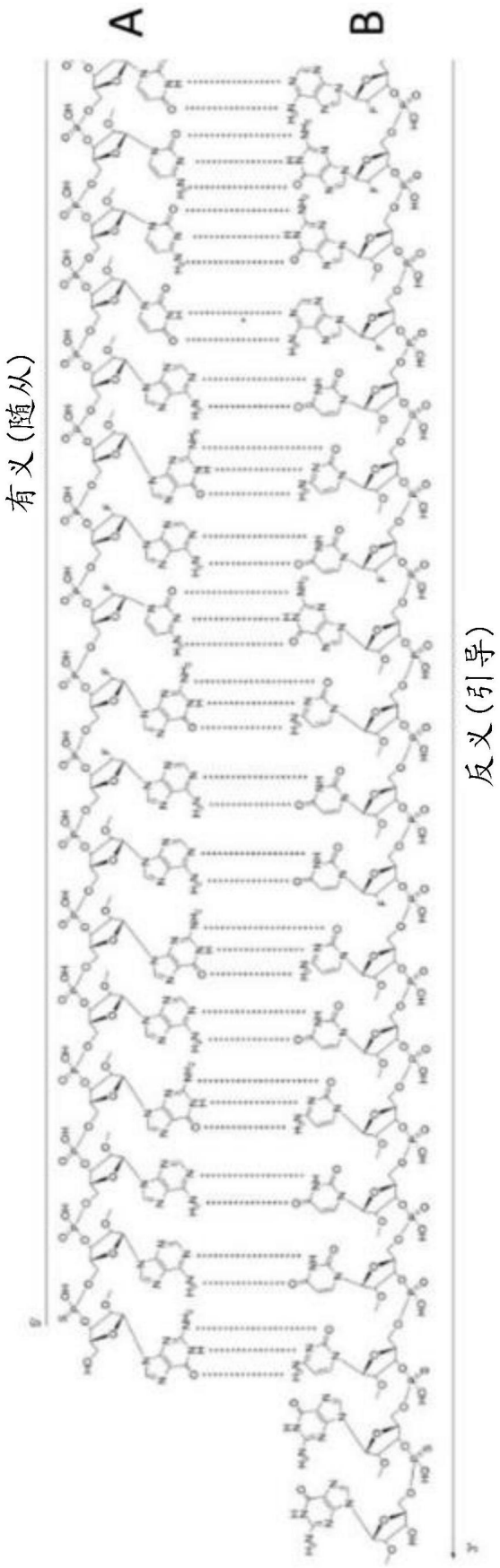
或其药学上可接受的盐。

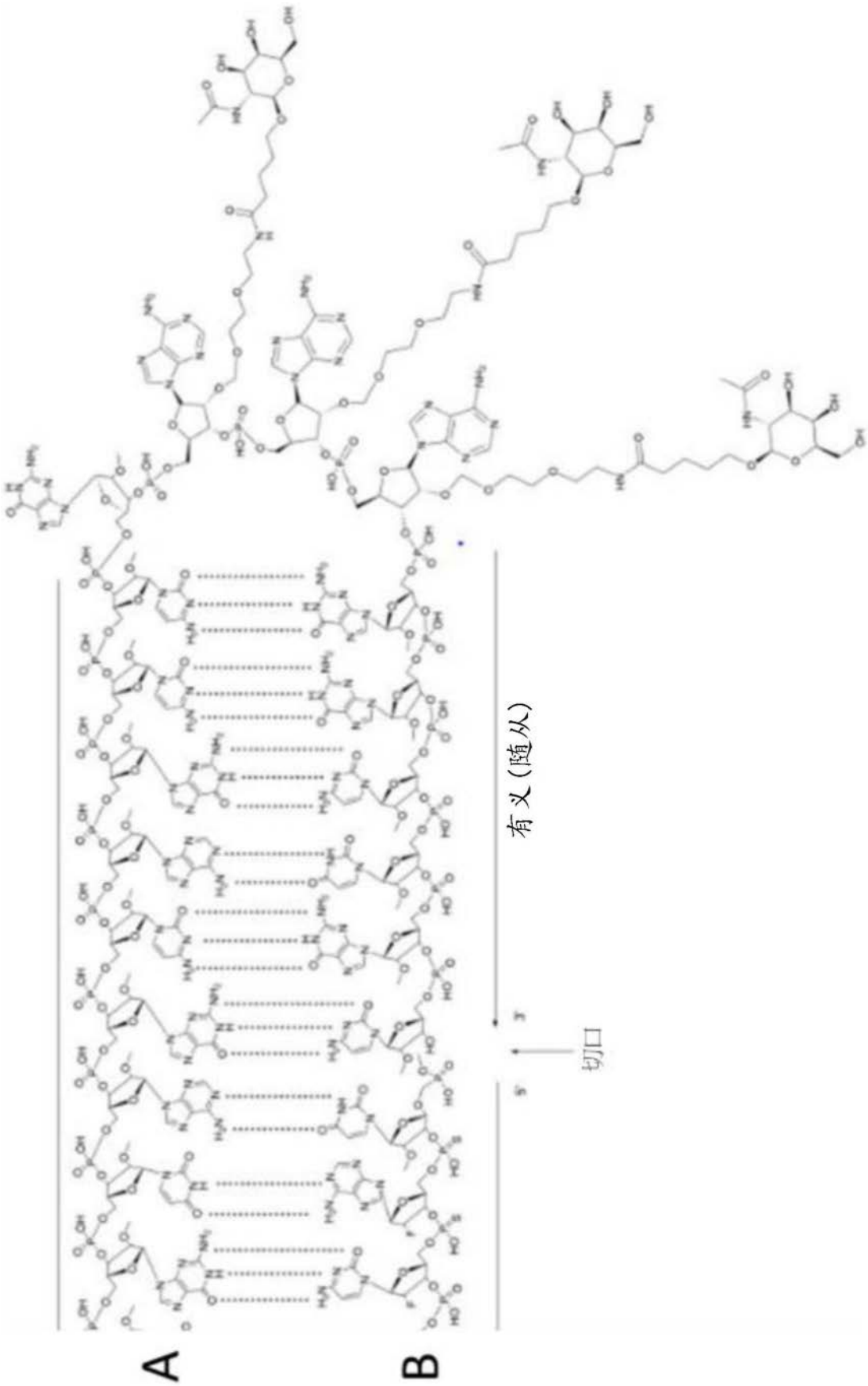
[0055] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mU-S-mU-mU-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fG-fU-mU-mG-mA-mU-mC-mU-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:782)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fA-fG-mA-fU-mC-mA-fA-mC-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mA-mA-mA-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:827)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;"-"=磷酸二酯键联,"-S-"=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



或其药学上可接受的盐。

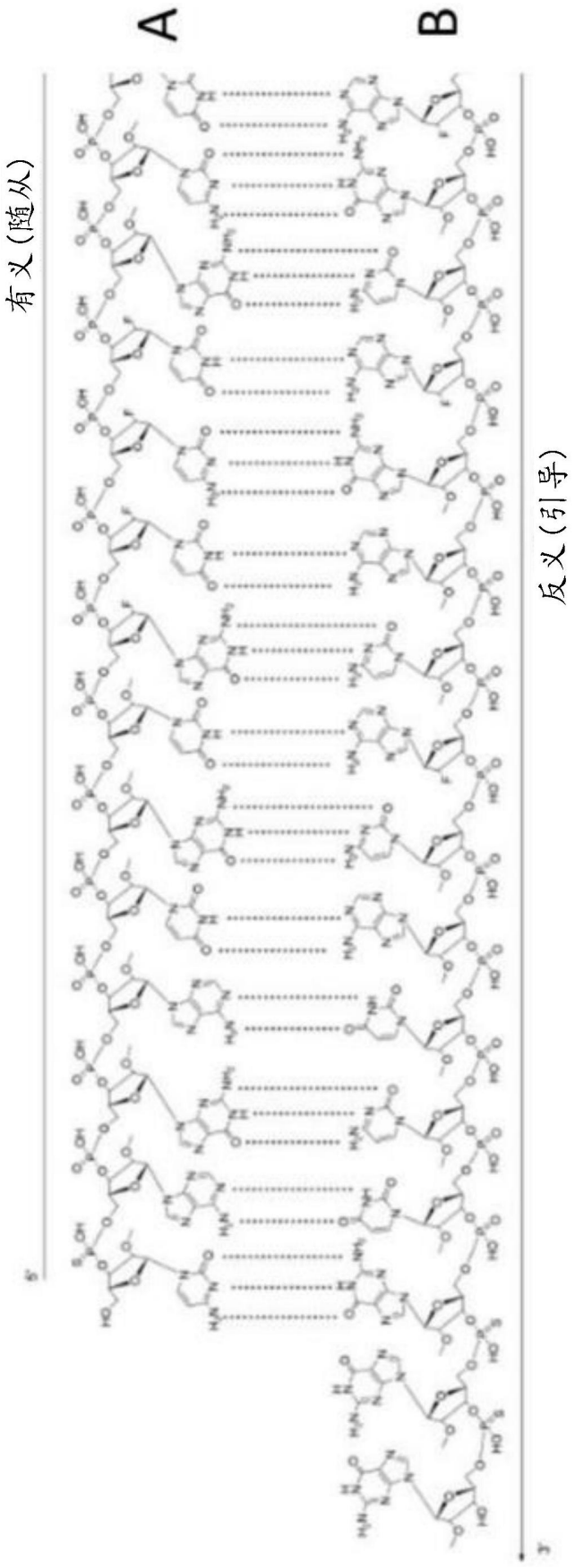
[0056] 在又其他方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:775的有义链及含有SEQ ID NO:820的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

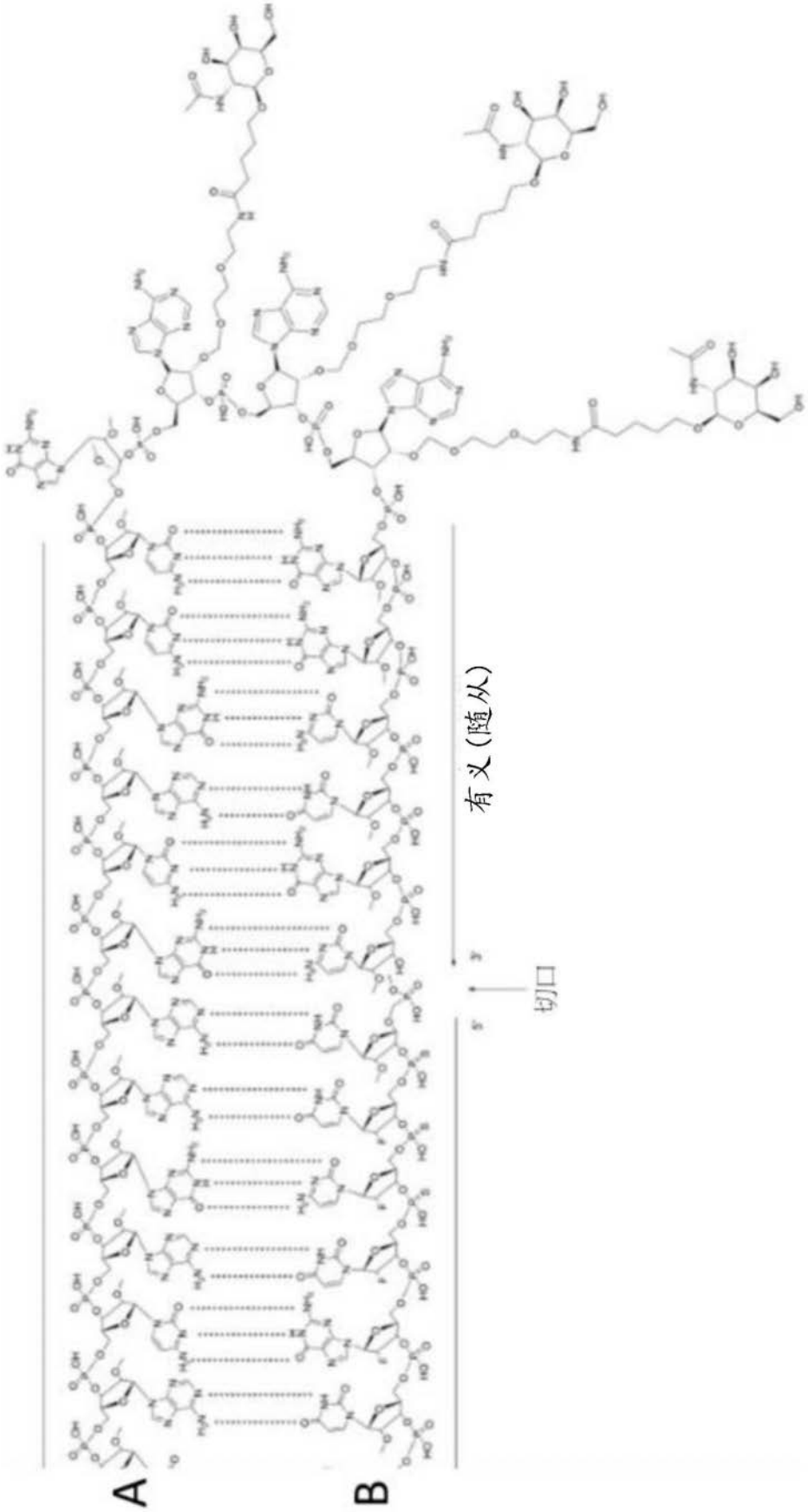

A
B
有义(随从)
反义(引导)




[0057] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:779的有义链及含有SEQ ID NO:824的反义链,该反义链

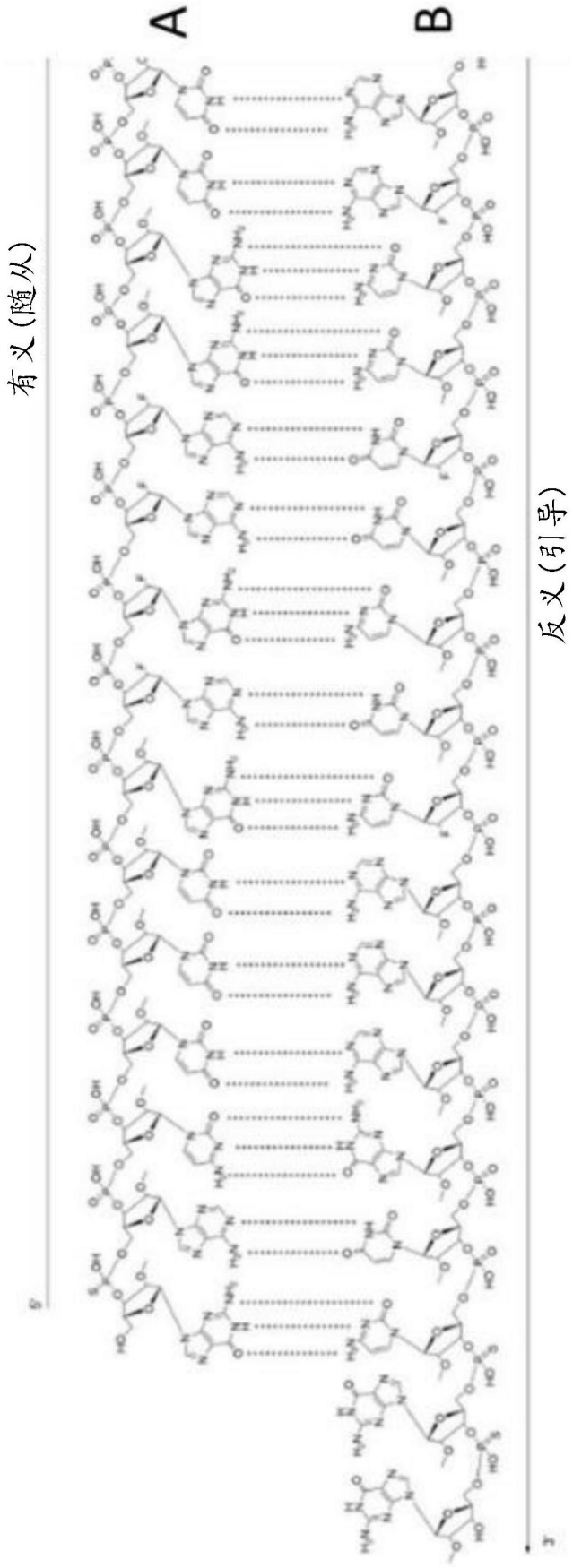
包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

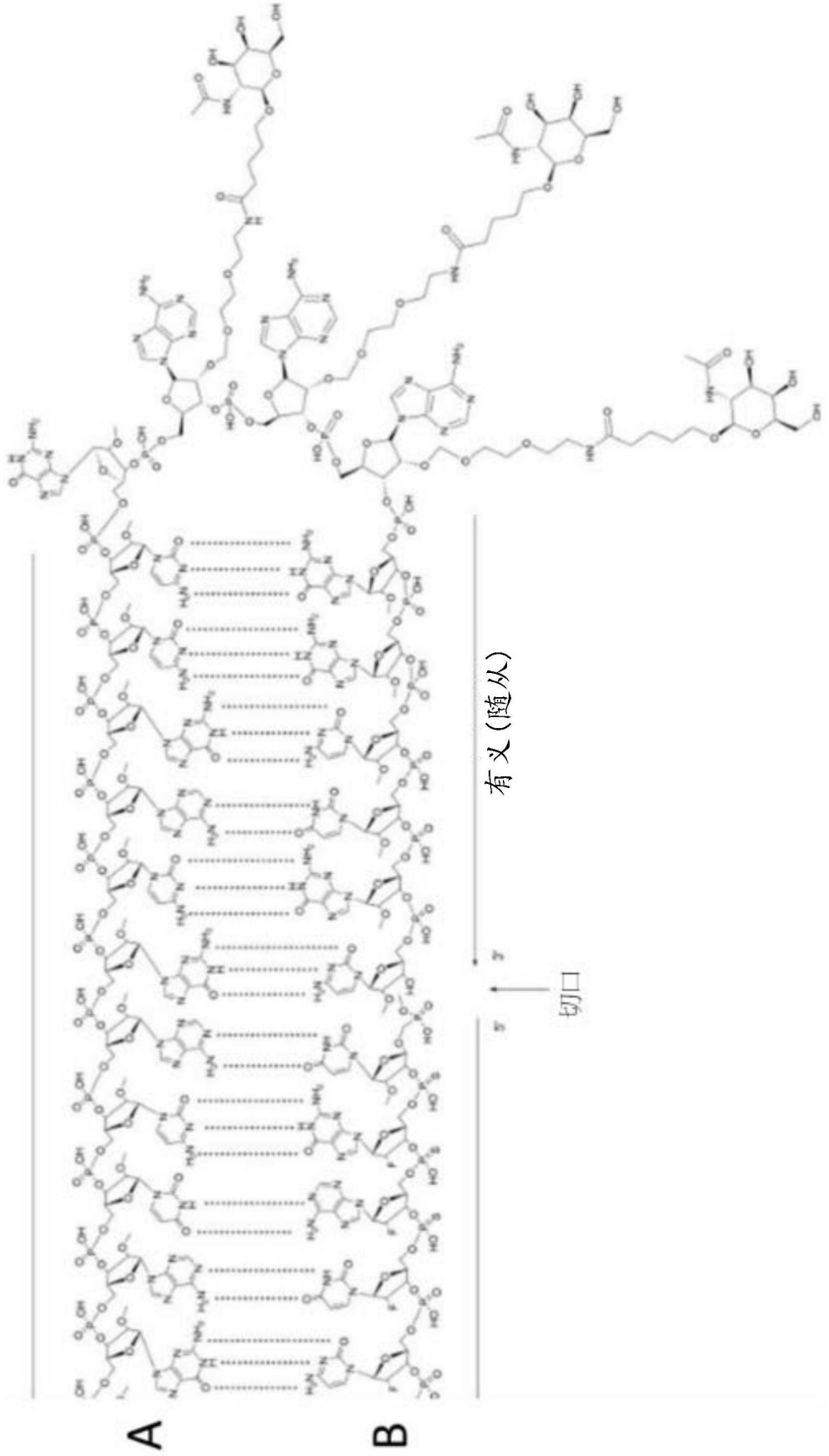





[0058] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:780的有义链及含有SEQ ID NO:825的反义链,该反义链

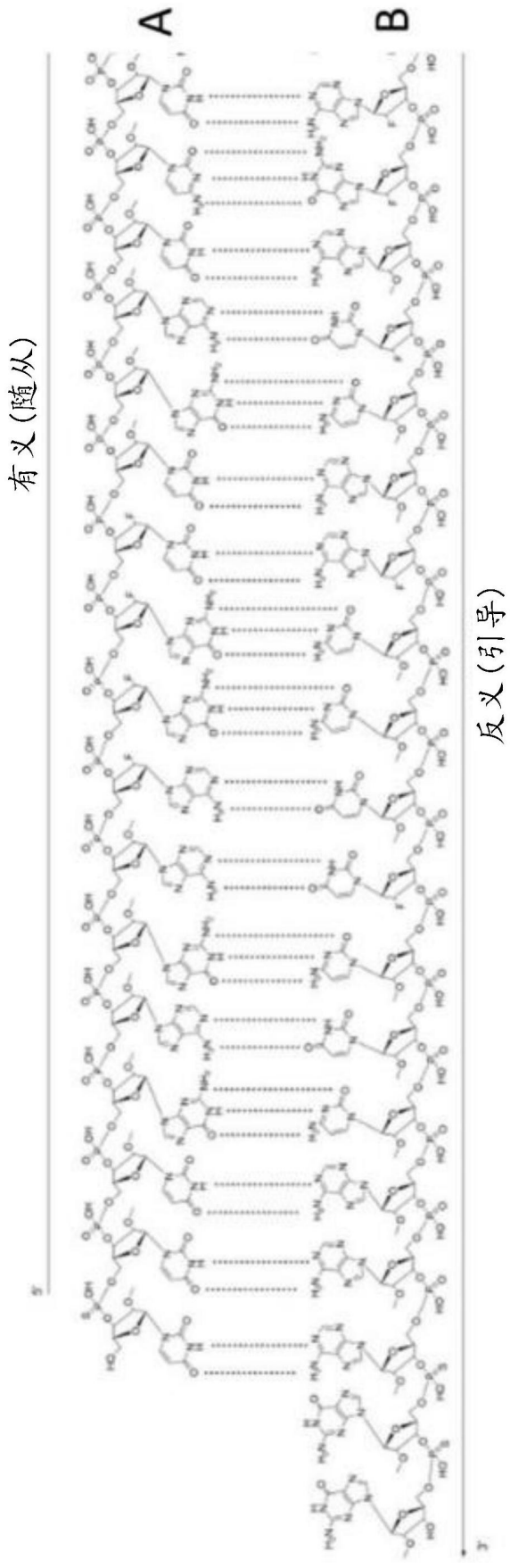
包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

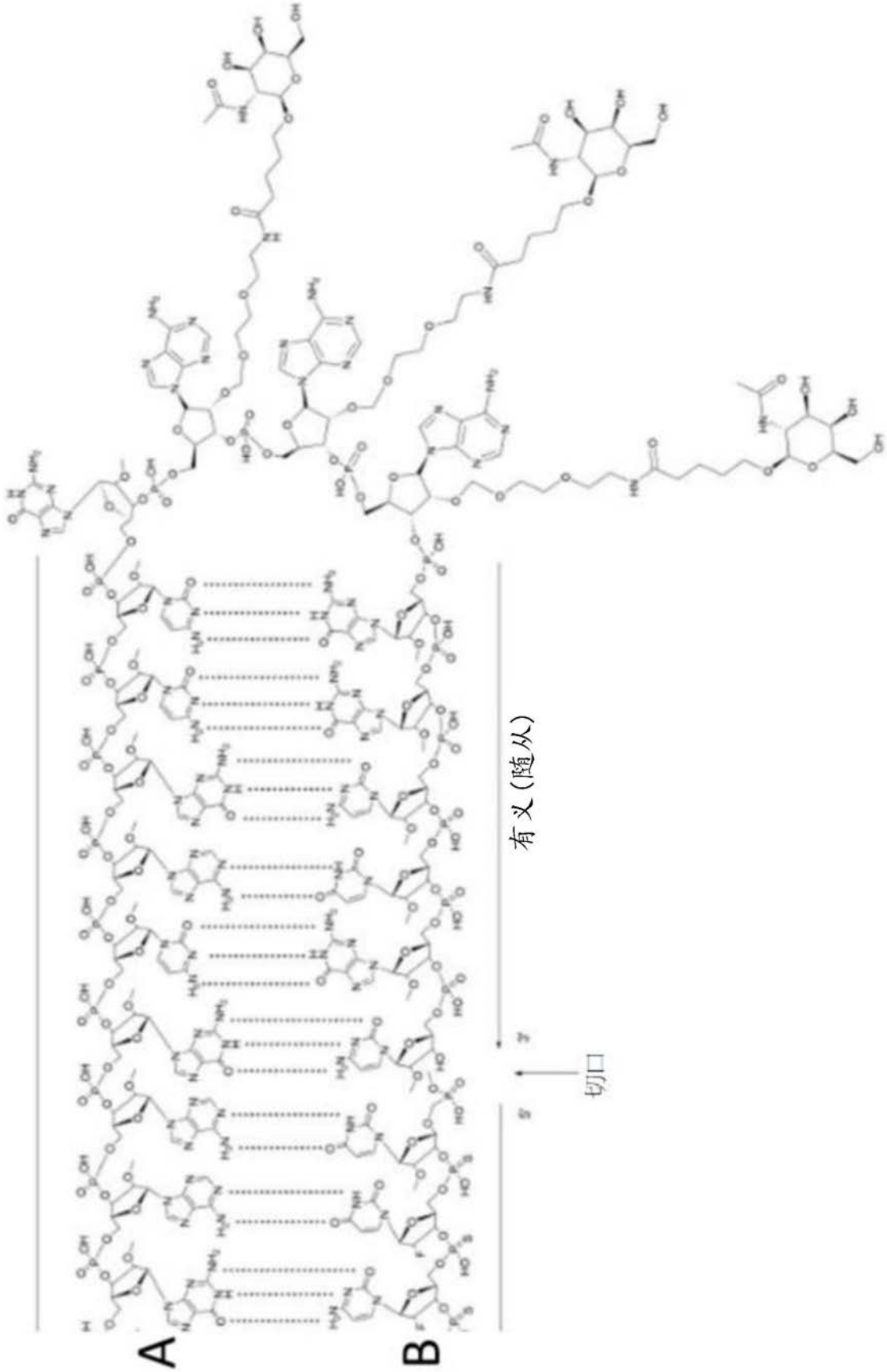





[0059] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:782的有义链及含有SEQ ID NO:827的反义链,该反义链

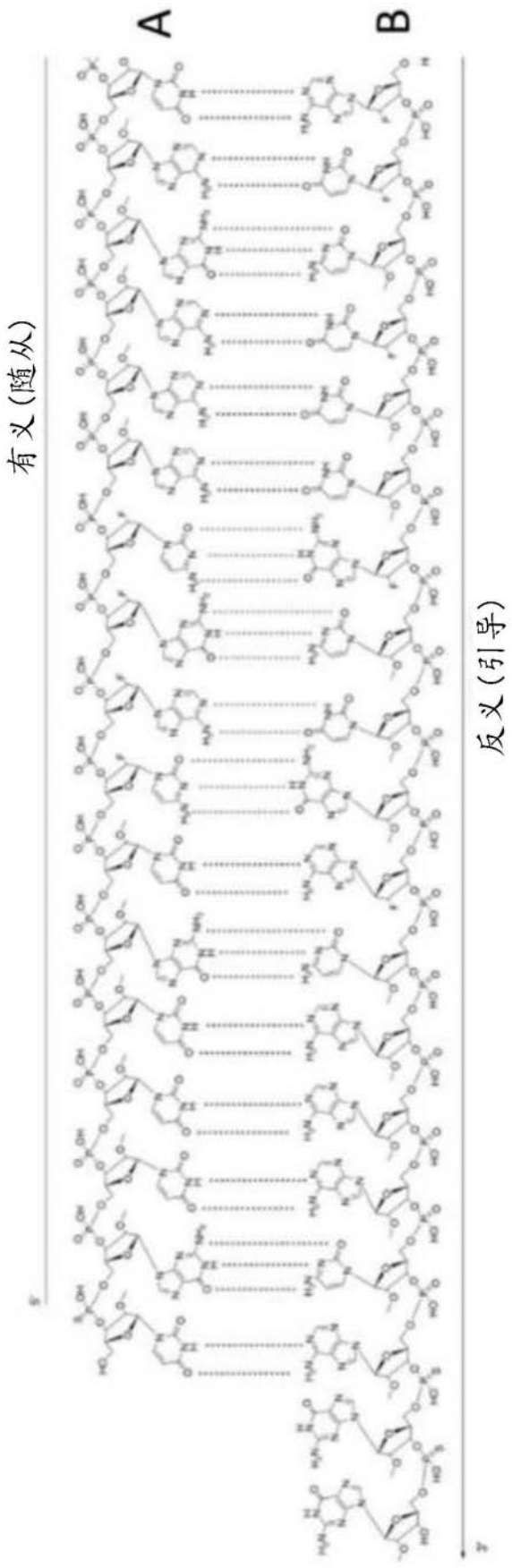
包含KHK RNA转录物(如KHK mRNA)的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

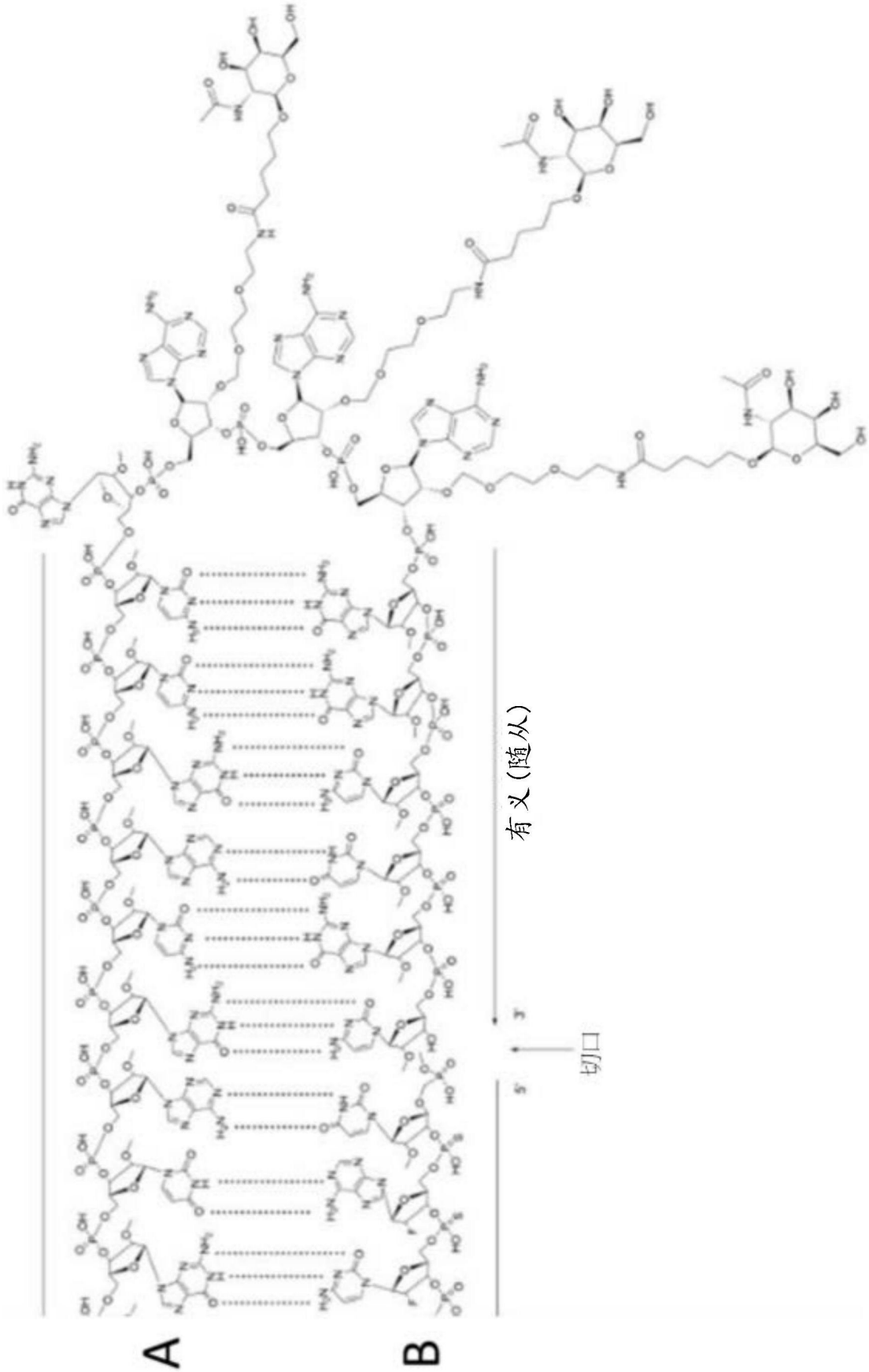





[0060] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:785的有义链及含有SEQ ID NO:830的反义链,该反义链

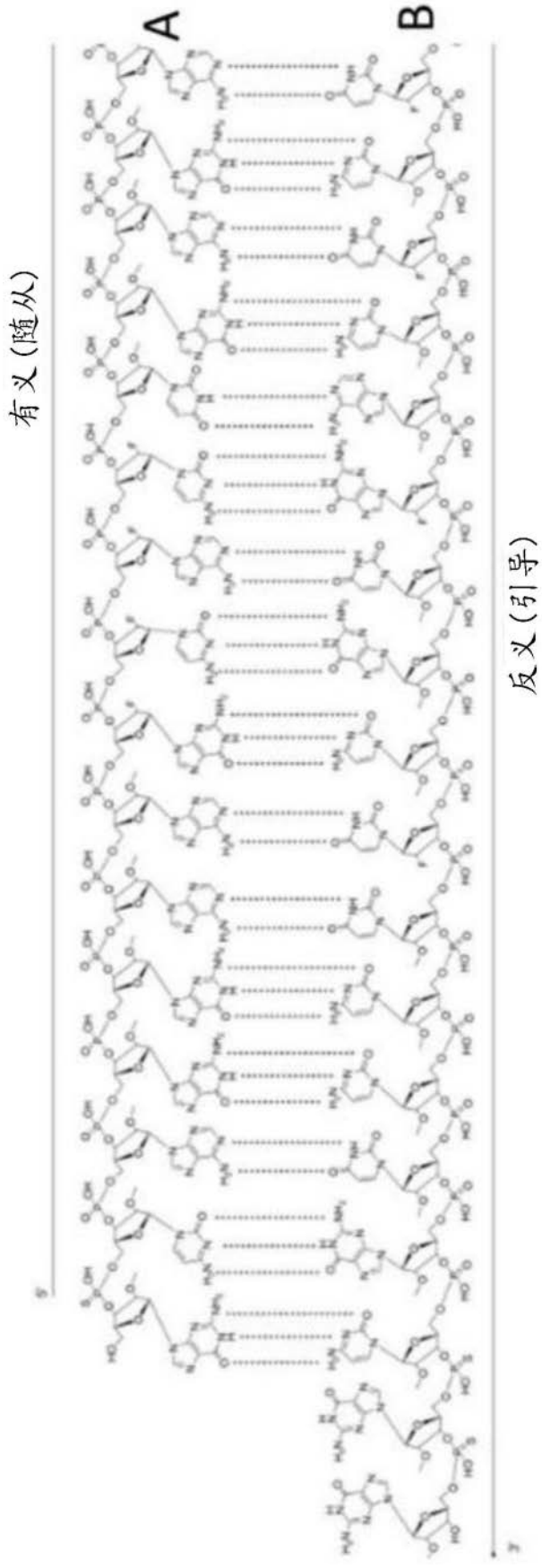
包含KHK RNA转录物(如KHK mRNA)的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

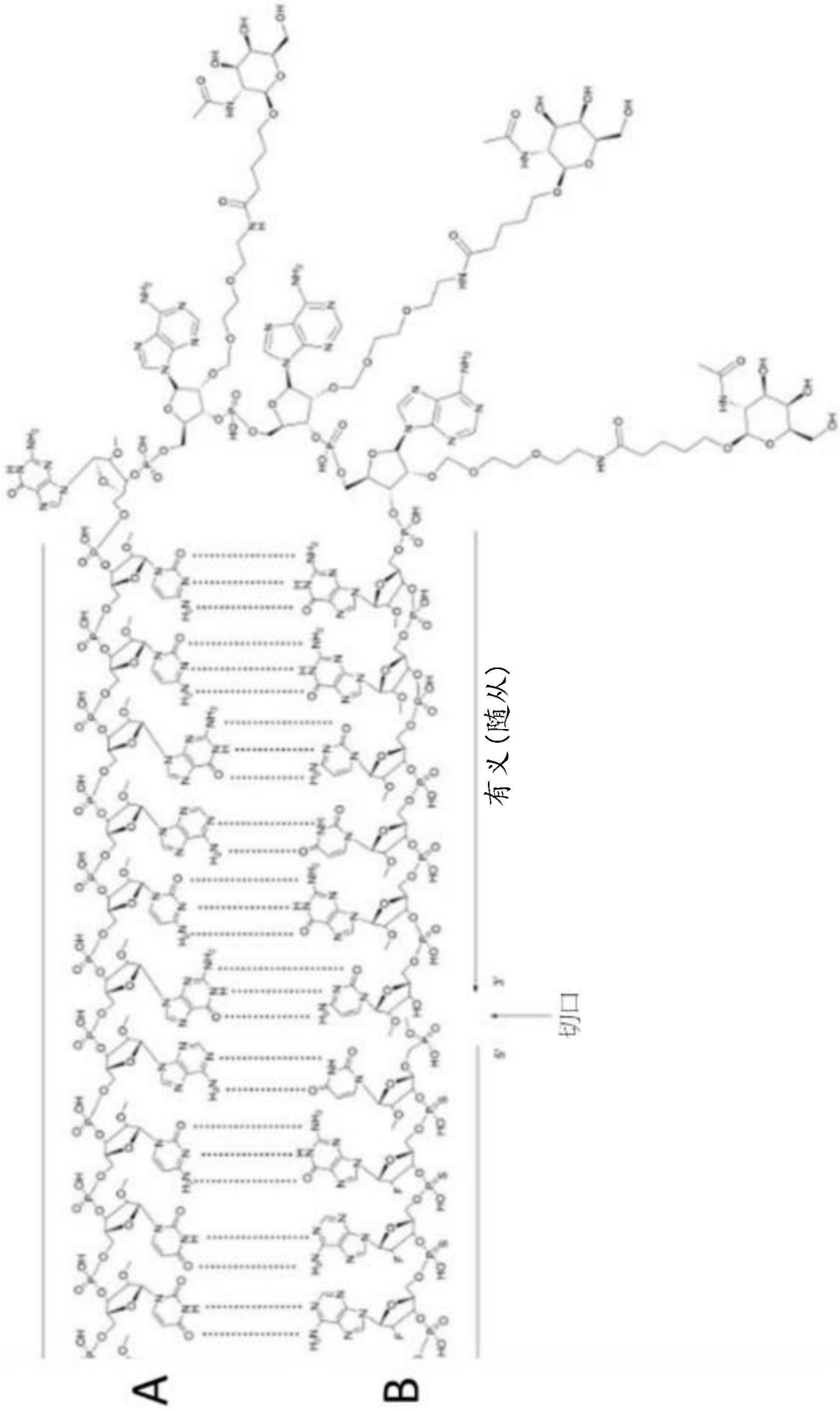





[0061] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:804的有义链及含有SEQ ID NO:849的反义链,该反义链

包含KHK RNA转录物(如KHK mRNA)的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:






[0062] 在一些方面中,本发明提供一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的本文所述的任何RNAi寡核苷酸

或药物组合物,由此治疗该受试者。

[0063] 在一些方面中,本发明提供一种本文所述的寡核苷酸中的任一者的药学上可接受的盐。在一些方面中,本发明提供一种药物组合物,其包含本文所述的任何RNAi寡核苷酸及药学上可接受的载剂、盐、递送剂或赋形剂。在一些方面中,本发明提供一种药物组合物,其包含本文所述的任何RNAi寡核苷酸及药学上可接受的稀释剂、溶剂、载剂、盐及/或佐剂。同样,本文中的寡核苷酸可以其游离酸形式提供。

[0064] 在一些方面中,本发明提供一种用于调节表达KHK的目标细胞的KHK表达的方法,该方法包含向该目标细胞施用有效量的本文所述的RNAi寡核苷酸或药物组合物。

[0065] 在一些方面中,本发明提供一种向受试者递送寡核苷酸的方法,该方法包含施用本文所述的药物组合物。

[0066] 在一些方面中,本发明提供一种用于降低细胞、细胞群或受试者中的KHK表达的方法,该方法包含以下步骤:

i.使该细胞或细胞群与本文所述的任何RNAi寡核苷酸或药物组合物接触;或

ii.向受试者施用本文所述的任何RNAi寡核苷酸或药物组合物。

[0067] 在前述或相关方面中的任一者中,降低KHK表达的方法包含降低KHK mRNA的量或水平、KHK蛋白质的量或水平或两者。

[0068] 在前述或相关方面中的任一者中,该受试者患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状。在一些方面中,该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0069] 在前述或相关方面中的任一者中,RNAi寡核苷酸或药物组合物与第二组合物或治疗剂组合施用。

[0070] 在一些方面中,本发明提供一种治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;

(b)分别为SEQ ID NO:887及913;

(c)分别为SEQ ID NO:910及937;

(d)分别为SEQ ID NO:888及914;

(e)分别为SEQ ID NO:889及915;

(f)分别为SEQ ID NO:890及916;

(g)分别为SEQ ID NO:891及917;

(h)分别为SEQ ID NO:877及884;

(i)分别为SEQ ID NO:878及930;

(j)分别为SEQ ID NO:876及883;

(k)分别为SEQ ID NO:875及882;

(l)分别为SEQ ID NO:892及918;

(m)分别为SEQ ID NO:893及919;

(n)分别为SEQ ID NO:894及920;

(o)分别为SEQ ID NO:904及931;

(p)分别为SEQ ID NO:895及921;

(q)分别为SEQ ID NO:905及932;

(r)分别为SEQ ID NO:896及922;

(s)分别为SEQ ID NO:911及938;

(t)分别为SEQ ID NO:906及933;

(u)分别为SEQ ID NO:897及923;

(v)分别为SEQ ID NO:907及934;

(w)分别为SEQ ID NO:908及935;

(x)分别为SEQ ID NO:903及929;

(y)分别为SEQ ID NO:901及927;

(z)分别为SEQ ID NO:874及881;

(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;

(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;

(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;

(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;

(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;

(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及

(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0071] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:887及913;

(b)分别为SEQ ID NO:891及917;

(c)分别为SEQ ID NO:892及918;

(d)分别为SEQ ID NO:894及920;

(e)分别为SEQ ID NO:897及923;及

(f)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0072] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:887及913中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:891及917中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:892及918中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:894及920中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:897及923中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:909及936中所阐述的核苷酸序列。

[0073] 在一些方面中,本发明提供一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及该反义链选自由以下组成的组:

(a)分别为SEQ ID NO:774及819;
(b)分别为SEQ ID NO:775及820;
(c)分别为SEQ ID NO:776及821;
(d)分别为SEQ ID NO:777及822;
(e)分别为SEQ ID NO:778及823;
(f)分别为SEQ ID NO:779及824;
(g)分别为SEQ ID NO:780及825;
(h)分别为SEQ ID NO:781及826;
(i)分别为SEQ ID NO:782及827;
(j)分别为SEQ ID NO:783及828;
(k)分别为SEQ ID NO:784及829;
(l)分别为SEQ ID NO:785及830;
(m)分别为SEQ ID NO:786及831;
(n)分别为SEQ ID NO:787及832;
(o)分别为SEQ ID NO:788及833;
(p)分别为SEQ ID NO:789及834;
(q)分别为SEQ ID NO:790及835;
(r)分别为SEQ ID NO:791及836;
(s)分别为SEQ ID NO:792及837;
(t)分别为SEQ ID NO:793及838;
(u)分别为SEQ ID NO:794及839;
(v)分别为SEQ ID NO:795及840;
(w)分别为SEQ ID NO:796及841;
(x)分别为SEQ ID NO:797及842;
(y)分别为SEQ ID NO:798及843;
(z)分别为SEQ ID NO:799及844;
(aa)分别为SEQ ID NO:800及845;
(bb)分别为SEQ ID NO:801及846;
(cc)分别为SEQ ID NO:802及847;
(dd)分别为SEQ ID NO:803及848;及
(ee)分别为SEQ ID NO:804及849。

[0074] 在前述或相关方面中的任一者中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:775及820;
(b)分别为SEQ ID NO:779及824;
(c)分别为SEQ ID NO:780及825;
(d)分别为SEQ ID NO:782及827;
(e)分别为SEQ ID NO:785及830;及
(f)分别为SEQ ID NO:804及849。

[0075] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:775及820中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:779及824中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:780及825中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:782及827中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:785及830中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:804及849中所阐述的核苷酸序列。

[0076] 在一些方面中,本发明提供一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及该反义链选自由以下组成的组:

(a)分别为SEQ ID NO:805及850;

(b)分别为SEQ ID NO:806及851;

(c)分别为SEQ ID NO:807及852;

(d)分别为SEQ ID NO:808及853;

(e)分别为SEQ ID NO:809及854;

(f)分别为SEQ ID NO:810及855;

(g)分别为SEQ ID NO:811及856;

(h)分别为SEQ ID NO:812及857;

(i)分别为SEQ ID NO:813及858;

(j)分别为SEQ ID NO:814及859;

(k)分别为SEQ ID NO:815及860;

(l)分别为SEQ ID NO:816及861;

(m)分别为SEQ ID NO:817及862;及

(n)分别为SEQ ID NO:818及863。

[0077] 在一些方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:805及850中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:809及854中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:810及855中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:812及857中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:815及860中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,本发明提供一种RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:818及863中所阐述的核苷酸序列。

[0078] 在前述或相关方面中的任一者中,与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0079] 在前述或相关方面中的任一者中,本文所述的RNAi寡核苷酸以0.01mg/kg-5mg/kg的浓度施用。

[0080] 在一些方面中,本发明提供本文所述的任何RNAi寡核苷酸或药物组合物用于制造药物的用途,所述药物用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0081] 在一些方面中,本发明提供本文所述的任何RNAi寡核苷酸或药物组合物,其用于或可适用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0082] 在一些方面中,本发明提供一种套组,其包含本文所述的任何RNAi寡核苷酸、任选的药学上可接受的载剂及包含用于向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用的说明书的包装插页。

[0083] 在一些方面中,该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0084] 在一些方面中,本发明提供一种用于降低KHK表达的寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为15-50个核苷酸的核苷酸序列,其中该核苷酸序列包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。在一些方面中,寡核苷酸为单链的。在一些方面中,寡核苷酸为反义寡核苷酸。在一些方面中,核苷酸序列的长度为15-30个核苷酸。在一些方面中,核苷酸序列的长度为20-25个核苷酸。在一些方面中,核苷酸序列的长度为22个核苷酸。在一些方面中,互补区域的长度为19个连续核苷酸。在一些方面中,互补区域的长度为20个连续核苷酸。在一些方面中,核苷酸序列包含至少一个修饰。在一些方面中,核苷酸序列包含选自由SEQ ID NO:879-885及912-938组成的组的核苷酸序列。在一些方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:920中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:923中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:918中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:917中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:913中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:936中所阐述的核苷酸序列。在一些方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:894中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:897中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:892中所阐述的核苷酸序列。在其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:891中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:887中所阐述的核苷酸序列。在又其他方面中,核苷酸序列包含SEQ ID NO:909中所阐述的核苷酸序列。

[0085] 在一些方面中,本发明提供一种细胞,其包含本文所述的寡核苷酸。

[0086] 在一些方面中,本发明提供一种药物组合物,其包含本文中所公开的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,及至少一种药学上可接受的载剂、递送剂或赋形剂。

[0087] 在一些方面中,本发明提供一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的本文所述的寡核苷酸或药物组合物。

[0088] 在一些方面中,本发明提供一种向受试者递送寡核苷酸的方法,该方法包含向该受试者施用本文所述的药物组合物。

[0089] 在一些方面中,本发明提供一种用于降低细胞、细胞群或受试者中的KHK表达的方

法,该方法包含以下步骤:

i.使该细胞或细胞群与本文所述的寡核苷酸或药物组合物接触;或

ii.向该受试者施用本文所述的寡核苷酸或药物组合物。在一些方面中,降低KHK表达包含降低KHK mRNA的量或水平、KHK蛋白质的量或水平或两者。

[0090] 在前述或相关方面中的任一者中,该受试者患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状。在一些方面中,该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0091] 在前述或相关方面中的任一者中,寡核苷酸或药物组合物与第二组合物或治疗剂组合施用。

[0092] 在一些方面中,本发明提供本文所述的寡核苷酸或药物组合物用于制备药物的用途,所述药物用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性非酒精性脂肝炎(NASH)。在一些方面中,本发明提供本文所述的寡核苷酸或药物组合物,其用于或可适用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0093] 在一些方面中,本发明提供一种套组,其包含本文所述的寡核苷酸、任选的药学上可接受的载剂及包含用于向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用的说明书的包装插页。

[0094] 在前述或相关方面中的任一者中,与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

[0095] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链核糖核酸(dsRNA)剂,其中该dsRNA剂包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,且该反义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸。

[0096] 在一些方面中,本发明提供一种用于抑制KHK表达的双链核糖核酸(dsRNA)剂,其中该dsRNA剂包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:872-878及886-911的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,且该反义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:879-885及912-938的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸。

附图简述

[0097] 图1提供了描绘在用靶向KHK基因的不同区域的1nM DsiRNA处理24小时后Hep3B细胞(表达内源性人类KHK)中剩余mRNA百分比(%)的图。设计且筛选384种DsiRNA。使用了三个识别KHK-A同种型(KHK-F763,NM_000221.2)、KHK-C(KHK-825,NM_006488.3)及KHK-A11(两种同种型)(KHK-F495,KHK-F1026,NM_006488.3)的引物对。使用HPRT及SFRS9管家基因在样品之间标准化表达。

[0098] 图2A及图2B提供了应用于KHK mRNA靶向序列以生成GalNAc-KHK构建体的低-2'-氟修饰模式(分别为低-2'-氟(3PS)及低-2'-氟(2PS))的示意图。有义链包括36-核苷酸链的核苷酸26-31的四环结构。反义链互补且包括2-核苷酸突出端。

[0099] 图3提供了描绘用人类/非人类灵长类动物(NHP)-保守的GalNAc-KHK构建体治疗的KHK-A及KHK-C HDI(流体动力学注射)小鼠中剩余KHK mRNA的百分比(%)的图。皮下给予

2mg/kg在PBS中调配的GalNAc-KHK构建体后3天,经由HDI将编码KHK-A及KHK-C的质粒注射至小鼠中,且在1天后测量相对于用PBS治疗的小鼠的肝脏样品中KHK mRNA的百分比(%)。使用识别KHK-A11(正三角形)、KHK-C(倒三角形)及KHK-A(六边形)的引物自肝脏测量mRNA。符号"Hs,1mm Mf"代表人类特异性序列,其为不同于猴子序列的一个碱基错配。

[0100] 图4A提供了应用于KHK靶向序列以产生GalNAc-KHK构建体的中-2'-氟修饰模式的示意图。有义链包括36-核苷酸链的核苷酸26-31的四环结构。反义链互补且包括2-核苷酸突出端。

[0101] 图4B至图4C提供描绘用具有中-2'-氟修饰模式的GalNAc-KHK构建体治疗小鼠后剩余的KHK mRNA百分比(%)的图。皮下给予2mg/kg在PBS中调配的GalNAc-KHK构建体后3天,经由HDI将编码KHK-C的质粒注射至小鼠中,且在1天后测量相对于用PBS治疗的小鼠的肝脏样品中KHK mRNA的百分比(%)。使用识别KHK-A与KHK-C两种同种型(即KHK-A11)的引物(图4B)及仅识别KHK-C同种型的引物(图4C)测量mRNA。多种GalNAc-KHK构建体以2mg/kg组合在"混合"组中,总共10mg/kg治疗(KHK-0861、-0865、-0882、-0883、-0885)作为阳性基因敲低对照。符号"Hs,1mm Mf"及其类似者代表人类特异性序列,其为不同于猴子序列的一个碱基错配。

[0102] 图4D提供描绘用具有中-2'-氟修饰模式的GalNAc-KHK构建体治疗小鼠后剩余的KHK mRNA百分比(%)的图。皮下给予2mg/kg在PBS中调配的GalNAc-KHK构建体后3天,经由HDI将编码KHK-C的质粒注射至小鼠中,且在1天后测量相对于用PBS治疗的小鼠的肝脏样品中KHK mRNA的百分比(%)。使用仅识别小鼠KHK的引物(MmKHK-ALL-5-6,正向:GCTCTTCCAGTTGTTTAGCTATGGT(SEQ ID NO:939),反向:CAGGTGCTTGGCCACATCTT(SEQ ID NO:940),探针:AGGTGGTGTTTGTCAGC(SEQ ID NO:941))测量mRNA。将剩余mRNA相对于PBS对照标准化。将多种GalNAc-KHK构建体组合在"混合"组中作为阳性基因敲低对照。

[0103] 图4E提供了描绘在用具有不同修饰模式(低-2'F(图2A及图2B)及Med-2'F(图4A))的GalNAc-KHK构建体治疗后剩余的KHK mRNA百分比(%)差异的图。将剩余mRNA相对于PBS对照标准化。将多种GalNAc-KHK构建体组合在"混合"组中作为阳性基因敲低对照。

[0104] 图5提供了描绘在用GalNAc-KHK构建体治疗小鼠后剩余的KHK mRNA百分比(%)差异的图。皮下给予2mg/kg在PBS中调配的GalNAc-KHK构建体后3天,经由HDI将编码KHK-C的质粒(NM_006488)(pCMV6-KHK-C,目录号:RC223488,OriGene)注射至小鼠中,且在1天后测量相对于用PBS治疗的小鼠的肝脏样品中剩余的KHK mRNA的百分比(%)。结果包括自KHK-A11(正三角形)及KHK-C(倒三角形)的引物测量的mRNA。灰色箭头展示30mg/kg KHK-885的治疗具有超过98%的基因敲低。

[0105] 图6A至图6B提供描绘用不同GalNAc-KHK构建体治疗KHK-C质粒HDI小鼠(如图5所述)后剩余的KHK mRNA百分比(%)的图。使用识别KHK-A与KHK-C两种同种型的引物(KHK-A11;图6A)及仅识别KHK-C同种型的引物(图6B)测量mRNA。

[0106] 图6C提供描绘用不同GalNAc-KHK构建体治疗KHK-C质粒HDI小鼠(如图5所述)后在肝脏中剩余的KHK mRNA百分比(%)的图。使用仅鉴别小鼠KHK的引物测量mRNA。

[0107] 图7A至图7C提供描绘单次剂量的指定GalNAc构建体第28天(图7A)、第56天(图7B)及第84天(图7C)后在非人灵长类动物(NHP)的肝脏活检中剩余的KHK mRNA百分比(%)的图。在研究第0天,用6mg/kg GalNAc-KHK皮下注射NHP。所示百分比为与PBS对照相比KHK-

mRNA的平均降低。

[0108] 图7D提供了一个折线图,其展现在单次剂量GalNAc-KHK构建体之后在不同时间点取自NHP(如图7A至图7C中处理)的肝脏活检中KHK mRNA的变化。

[0109] 图8A至图8C提供描绘治疗后第28天(图8A)、第56天(图8B)及第84天(图8C)在非人灵长类动物(NHP)的肝脏活检中剩余的KHK蛋白质百分比(%)的图。NHP如图7A至图7C中治疗。所示百分比为与PBS对照相比KHK-蛋白质的平均降低。

[0110] 图8D提供了一个折线图,其展现在单次剂量GalNAc-KHK构建体之后在不同时间点取自NHP(如图7A至图7C中治疗)的肝脏活检中KHK蛋白质的变化。

[0111] 图9A至图9C提供了相关图,展现来自用单次剂量GalNAc-KHK构建体治疗的NHP的肝脏活检中剩余的KHK mRNA表达与剩余的KHK蛋白质表达之间的关系。在给药后第28天(图9A)、第56天(图9B)及第84天(图9C)比较所有构建体之间的相关性。单个点代表单个活检。

【发明详述】

[0112] 根据一些方面,本发明提供在肝脏中降低KHK表达的寡核苷酸。在一些实施方案中,本文提供的寡核苷酸可用于治疗肝脏中与KHK表达相关的疾病。在一些方面,本发明提供通过在细胞(例如肝脏细胞)中降低KHK基因表达治疗与KHK表达相关的疾病的方法。

KHK表达的寡核苷酸抑制剂

己酮糖激酶(KHK)目标序列

[0113] 在一些实施方案中,本发明提供一种寡核苷酸,其靶向包含己酮糖激酶(KHK)mRNA的目标序列。在一些实施方案中,寡核苷酸或其部分、片段或链(例如dsRNAi的反义链或引导链)结合或退火至包含KHK mRNA的目标序列,由此抑制KHK表达。在一些实施方案中,寡核苷酸靶向包含KHK-A同种型mRNA的目标序列。在一些实施方案中,寡核苷酸靶向包含KHK-C同种型mRNA的目标序列。在一些实施方案中,出于体内抑制KHK表达的目的,寡核苷酸靶向KHK目标序列。在一些实施方案中,靶向KHK目标序列的寡核苷酸对KHK表达的抑制量或程度与寡核苷酸的效能相关。在一些实施方案中,靶向KHK目标序列的寡核苷酸对KHK表达的抑制量或程度,与用寡核苷酸治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者或患者中的治疗效益的量或程度相关。

[0114] 经由检查编码KHK的mRNA,包括多种不同物种(例如人类、食蟹猕猴、小鼠及大鼠;参见例如实施例2)的mRNA的核苷酸序列,且由于体外及体内测试(参见例如实施例2至6),已发现KHK mRNA的某些核苷酸序列比其他核苷酸序列更适合基于寡核苷酸的抑制且因此可用作本文中寡核苷酸的目标序列。在一些实施方案中,本文所述的寡核苷酸(例如dsRNAi)的有义链包含KHK目标序列。在一些实施方案中,本文所述的dsRNAi的有义链的一部分或区域包含KHK目标序列。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:39中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:39中所阐述的序列的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:102中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:102中所阐述的序列的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:104中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:104中所阐述的序列

的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:107中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:107中所阐述的序列的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:191中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:191中所阐述的序列的核苷酸1-19或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:269中所阐述的序列或由其组成。在一些实施方案中,KHK目标序列包含SEQ ID NO:269中所阐述的序列的核苷酸1-19或由其组成。

KHK靶向序列

[0115] 在一些实施方案中,出于靶向细胞中的mRNA且抑制其表达的目的,本文中的寡核苷酸具有KHK mRNA的互补区域(例如在KHK mRNA的目标序列内)。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含具有互补区域的KHK靶向序列(例如dsRNA的反义链或引导链),该互补区域通过互补(沃森-克里克(Watson-Crick))碱基配对结合或退火至KHK目标序列。靶向序列或互补区域一般具有适合的长度及碱基含量以实现寡核苷酸(或其链)结合或退火至KHK mRNA以用于抑制其表达的目的。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为至少约12、至少约13、至少约14、至少约15、至少约16、至少约17、至少约18、至少约19、至少约20、至少约21、至少约22、至少约23、至少约24、至少约25、至少约26、至少约27、至少约28、至少约29或至少约30个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为约12至约30(例如12至30、12至22、15至25、17至21、18至27、19至27或15至30)个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为约12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为18个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为21个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为23个核苷酸。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域的长度为24个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为18个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为21个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为23个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列互补的目标序列或互补区域,且靶向序列或互补区域的长度为24个核苷酸。

[0116] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含与KHK目标序列完全互补的靶向序列或互补区域(例如双链寡核苷酸的反义链或引导链)。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域与KHK目标序列部分互补。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域与KHK目标序列具

有至多3个核苷酸错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与KHK序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与KHK序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与KHK序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:39中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:39中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:102中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:102中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:104中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:104中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:107中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:107中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:191中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:191中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:269中所阐述的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:269中所阐述的序列的核苷酸1-19完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:39中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:39中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:102中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:102中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:104中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:104中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:107中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:107中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:191中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:191中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:269中所阐述的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:269中所阐述的序列的核苷酸1-19部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878

及886-911中的任一者的序列部分互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的序列完全互补的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的序列部分互补的靶向序列或互补区域。

[0117] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含与包含KHK mRNA的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列长度为约12至约30个核苷酸(例如长度为12至30、12至28、12至26、12至24、12至20、12至18、12至16、14至22、16至20、18至20或18至19个核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与包含KHK mRNA的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列长度为10、11、12、13、14、15、16、17、18、19或20个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与包含KHK mRNA的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与包含KHK mRNA的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,任选地其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,任选地其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,任选地其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该核苷酸的连续序列的长度为20个核苷酸。

[0118] 在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的靶向序列或互补区域,其与如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的靶向序列或互补区域,其与如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-19的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的互补区域,其与如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度的一部分。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的互补区域,其与如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-19的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度的一部分。在一些实施方案中,本文中的寡核苷

酸包含互补区域(例如在dsRNA的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-19的连续核苷酸区段互补。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含互补区域(例如在dsRNAi的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-20的连续核苷酸区段互补。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的靶向序列或互补区域,其与如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的互补区域,其与如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度的一部分。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含互补区域(例如在dsRNAi的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-19的连续核苷酸区段互补。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含互补区域(例如在dsRNAi的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-20的连续核苷酸区段互补。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的靶向序列或互补区域,其与如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且横跨反义链的整个长度。在一些实施方案中,提供一种寡核苷酸的互补区域,其与如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中所阐述的序列的连续核苷酸互补且跨越反义链的整个长度的一部分。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含互补区域(例如在dsRNAi的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-19的连续核苷酸区段互补。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含互补区域(例如在dsRNAi的反义链上),其至少部分(例如完全)与跨越如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中所阐述的序列的核苷酸1-20的连续核苷酸区段互补。

[0119] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含与对应KHK目标序列具有一或多个碱基对(bp)错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,靶向序列或互补区域与对应KHK目标序列可具有至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5个等错配,其条件为保持靶向序列或互补区域在适当杂交条件下结合或退火至KHK mRNA的能力及/或寡核苷酸抑制KHK表达的能力。替代地,靶向序列或互补区域与对应KHK目标序列可具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配,其条件为保持靶向序列或互补区域在适当杂交条件下结合或退火至KHK mRNA的能力及/或寡核苷酸抑制KHK表达的能力。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有1个错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有2个错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有3个错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有4个错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有5个错配的靶向序列或互补区域。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有超过一个错配(例如2、3、4、5或更多个错配)的靶向序列或互补区域,其中至少2个(例如全部)错配连续定位(例如,2、3、4、5或更多个错配成一列),或其中错配在整个靶向序列或互补区域中穿插。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与对应目标序列具有超过一个错配(例如2、3、4、5或更多个错配)的靶向序列或互补区域,其中至少2个(例如全部)错配连续定位(例如2、3、4、5或更多个错配成一列),或其中至少一或多个非错配的

碱基对位于错配之间,或其组合。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5个等错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中靶向序列或互补区域可相对于KHK目标序列具有至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5个等错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5个等错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有至多约1、至多约2、至多约3、至多约4、至多约5个等错配。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中该靶向序列或互补区域可相对于对应KHK目标序列具有不超过1、不超过2、不超过3、不超过4或不超过5个错配。

寡核苷酸的类型

[0120] 多种寡核苷酸类型及/或结构可用于在本文中的方法中靶向KHK,包括(但不限于)RNAi寡核苷酸、反义寡核苷酸、miRNA等。考虑本文或别处所描述的任一寡核苷酸类型用作本文中出于抑制KHK表达的目的而并入KHK靶向序列的框架。

[0121] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸通过与Dicer参与的上游或下游的RNA干扰(RNAi)途径接合来抑制KHK表达。例如,已研发出各链大小为约19-25个核苷酸、具有至少一个1至5个核苷酸的3'突出端的RNAi寡核苷酸(参见例如例如美国专利号8,372,968)。亦已研发出由Dicer处理以产生活性RNAi产物的较长寡核苷酸(参见例如美国专利号8,883,996)。其他工作制备出延长的dsRNA,其中至少一个链的至少一端延长超出双螺旋靶向区,包括其中一个链包括热力学稳定性四环结构的结构(参见例如美国专利号8,513,207及8,927,705;以及国际专利申请公开号WO 2010/033225)。此类结构可包括单链(ss)延伸部分(在分子的一或两侧上)以及双链(ds)延伸部分。

[0122] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸与Dicer参与((例如Dicer裂解)的下游的RNAi途径接合。在一些实施方案中,本文所描述的寡核苷酸为Dicer底物。在一些实施方案中,在内源性Dicer处理后,制备能够降低KHK表达的长度为19-23个核苷酸的双链核酸。在一些实施方案中,寡核苷酸在有义链的3'端具有突出端(例如长度为1、2或3个核苷酸)。在

一些实施方案中,寡核苷酸在反义链的3'端具有突出端((例如长度为1、2或3个核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸((例如siRNA)包含与目标RNA反义的21-核苷酸引导链及互补随从链,其中两链退火以形成19-bp双螺旋及在任一个或两个3'端的2个核苷酸的突出端。较长寡核苷酸设计也可用,包括具有23个核苷酸的引导链及21个核苷酸的随从链的寡核苷酸,其中在分子右侧(随从链的3'端/引导链的5'端)存在平末端,且在分子左侧(随从链的5'端/引导链的3'端)存在两个核苷酸的3'-引导链突出端。在此类分子中,存在21bp双螺旋区。参见例如美国专利号9,012,138;9,012,621及9,193,753。

[0123] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含有义链及反义链,其长度均在约17至36(例如17至36、20至25或21-23)个核苷酸范围内。在一些实施方案中,本文中所描述的寡核苷酸包含长度为19-30个核苷酸的反义链及长度为19-50个核苷酸的有义链,其中该反义链及该有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含有义链及反义链,其长度均在约19-22个核苷酸范围内。在一些实施方案中,有义链及反义链具有相同长度。在一些实施方案中,寡核苷酸包含有义链及反义链,以使得在有义链或反义链二者中的一者或有义链及反义链两者上存在3'-突出端。在一些实施方案中,对于具有长度均在约21-23个核苷酸范围内的有义链及反义链的寡核苷酸而言,有义链、反义链或有义链及反义链两者上的3'突出端的长度为1或2个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸具有22个核苷酸的引导链及20个核苷酸的随从链,其中在分子右侧(随从链的3'端/引导链的5'端)存在平末端,且在分子左侧(随从链的5'端/引导链的3'端)存在两个核苷酸的3'-引导链突出端。在此类分子中,存在20bp双螺旋区。

[0124] 与本文中的组合物及方法一起使用的其他寡核苷酸设计包括:16-聚体siRNA(参见例如NUCLEIC ACIDS IN CHEMISTRY AND BIOLOGY.Blackburn(编),Royal Society of Chemistry,2006)、shRNA(例如具有19bp或更短茎;参见例如Moore等人(2010)METHODS MOL.BIOL.629:139-156)、平端siRNA(例如长度为19bp;参见例如Kraynack&Baker(2006)RNA 12:163-176)、不对称siRNA(aiRNA;参见例如Sun等人(2008)NAT.BIOTECHNOL.26:1379-1382)、不对称短双螺旋siRNA(参见例如Chang等人(2009)MOL.THER.17:725-32)、交叉(fork)siRNA(参见例如Hohjoh(2004)FEBS LETT.557:193-198)、ss siRNA(Elsner(2012)NAT.BIOTECHNOL.30:1063)、哑铃状环状siRNA(参见例如Abe等人(2007)J.AM.CHEM.SOC.129:15108-09)及小的内部多节段干扰RNA(siRNA;参见例如Bramsen等人(2007)NUCLEIC ACIDS RES.35:5886-97)。在一些实施方案中可用于降低或抑制KHK表达的寡核苷酸结构的其他非限制性实例为微小RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)及短siRNA(参见例如Hamilton等人(2002)EMBO J.21:4671-79;还参见美国专利申请公开号2009/0099115)。

[0125] 又在一些实施方案中,本文中的用于降低或抑制KHK表达的寡核苷酸为单链(ss)的。此类结构可包括但不限于单链RNAi分子。最近的工作已表明ss RNAi分子的活性(参见例如Matsui等人(2016)MOL.THER.24:946-955)。然而,在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸为反义寡核苷酸(ASO)。反义寡核苷酸为具有如下核碱基序列的单链寡核苷酸:当以5'至3'方向书写时包含特定核酸的靶向片段的反向补体,且经适当修饰((例如作为间隔子(gapmer))以诱导细胞中核糖核酸酶H(RNaseH)介导的其目标RNA裂解或(例如作为混合子

(mixmer)),以便抑制细胞中目标mRNA的翻译。供本文中使用的ASO可以本领域中已知的任何适合方式进行修饰,包括例如如美国专利号9,567,587中所示(包括例如长度、核碱基(嘧啶、嘌呤)的糖部分及核碱基的杂环部分的改变)。此外,数十年来,ASO一直用于降低特异性目标基因的表达(参见例如Bennett等人(2017)ANNU.REV.PHARMACOL.57:81-105)。

[0126] 在一些实施方案中,反义寡核苷酸与KHK mRNA共享互补区域。在一些实施方案中,反义寡核苷酸靶向SEQ ID NO:1。在一些实施方案中,反义寡核苷酸靶向SEQ ID NO:2。在一些实施方案中,反义寡核苷酸靶向SEQ ID NO:3。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为15-50个核苷酸。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为15-25个核苷酸。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,反义寡核苷酸与SEQ ID NO:4-387中的任一者互补。在一些实施方案中,反义寡核苷酸与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19互补。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为至少15个连续核苷酸。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为至少19个连续核苷酸。在一些实施方案中,反义寡核苷酸的长度为至少20个连续核苷酸。在一些实施方案中,反链寡核苷酸与目标序列相差1、2或3个核苷酸。

双链寡核苷酸

[0127] 在一些方面中,本发明提供用于靶向KHK mRNA及抑制KHK表达(例如经由RNAi途径)的双链(ds)RNAi寡核苷酸,所述双链RNAi寡核苷酸包含有义链(在本文中也称为随从链)及反义链(在本文中也称为引导链)。在一些实施方案中,有义链及反义链为单独链且不共价连接。在一些实施方案中,反义链及有义链共价连接。在一些实施方案中,有义链及反义链形成双螺旋区,其中有义链及反义链或其部分以互补方式彼此结合(例如通过沃森-克里克(Watson-Crick)碱基配对)。

[0128] 在一些实施方案中,有义链具有第一区(R1)及第二区(R2),其中R2包含第一子区(S1)、四环(L)或三环(triL)及第二子区(S2),其中L或triL位于S1与S2之间,且其中S1及S2形成第二双螺旋(D2)。D2可具有多种长度。在一些实施方案中,D2的长度为约1-6bp。在一些实施方案中,D2的长度为2-6、3-6、4-6、5-6、1-5、2-5、3-5或4-5bp。在一些实施方案中,D2的长度为1、2、3、4、5或6bp。在一些实施方案中,D2长度为6bp。

[0129] 在一些实施方案中,有义链的R1与反义链形成第一双螺旋(D1)。在一些实施方案中,D1的长度为至少约15(例如至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20或至少21)个核苷酸。在一些实施方案中,D1的长度在约12至30个核苷酸(例如长度为12至30、12至27、15至22、18至22、18至25、18至27、18至30或21至30个核苷酸)范围内。在一些实施方案中,D1的长度为至少12个核苷酸(例如长度为至少12、至少15、至少20、至少25或至少30个核苷酸)。在一些实施方案中,D1的长度为12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些实施方案中,D1的长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,包含有义链及反义链的D1不横跨有义链及/或反义链的整个长度。在一些实施方案中,包含有义链及反义链的D1横跨有义链或反义链或两者的整个长度。在某些实施方案中,包含有义链及反义链的D1横跨有义链与反义链两者的整个长度。

[0130] 在一些实施方案中,本文提供的dsRNAi包含具有SEQ ID NO:4-387中的任一者的序列的有义链;及包含选自SEQ ID NO:388-771的互补序列的反义链,如表2所排列的。

[0131] 在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,其包含选自以下的核

苷酸序列：

(a)分别为SEQ ID NO:886及912；

(b)分别为SEQ ID NO:887及913；

(c)分别为SEQ ID NO:910及937；

(d)分别为SEQ ID NO:888及914；

(e)分别为SEQ ID NO:889及915；

(f)分别为SEQ ID NO:890及916；

(g)分别为SEQ ID NO:891及917；

(h)分别为SEQ ID NO:877及884；

(i)分别为SEQ ID NO:878及930；

(j)分别为SEQ ID NO:876及883；

(k)分别为SEQ ID NO:875及882；

(l)分别为SEQ ID NO:892及918；

(m)分别为SEQ ID NO:893及919；

(n)分别为SEQ ID NO:894及920；

(o)分别为SEQ ID NO:904及931；

(p)分别为SEQ ID NO:895及921；

(q)分别为SEQ ID NO:905及932；

(r)分别为SEQ ID NO:896及922；

(s)分别为SEQ ID NO:911及938；

(t)分别为SEQ ID NO:906及933；

(u)分别为SEQ ID NO:897及923；

(v)分别为SEQ ID NO:907及934；

(w)分别为SEQ ID NO:908及935；

(x)分别为SEQ ID NO:903及929；

(y)分别为SEQ ID NO:901及927；

(z)分别为SEQ ID NO:874及881；

(aa)分别为SEQ ID NO:902及928；

(bb)分别为SEQ ID NO:873及880；

(cc)分别为SEQ ID NO:872及879；

(dd)分别为SEQ ID NO:898及924；

(ee)分别为SEQ ID NO:899及925；

(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及

(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0132] 在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,其包含选自以下的核苷酸序列：

(a)分别为SEQ ID NO:887及913；

(b)分别为SEQ ID NO:891及917；

(c)分别为SEQ ID NO:892及918；

(d)分别为SEQ ID NO:894及920;

(e)分别为SEQ ID NO:897及923;及

(f)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0133] 在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:887的序列,且反义链包含SEQ ID NO:913的序列。在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:891的序列,且反义链包含SEQ ID NO:917的序列。在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:892的序列,且反义链包含SEQ ID NO:918的序列。在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:894的序列,且反义链包含SEQ ID NO:920的序列。在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:897的序列,且反义链包含SEQ ID NO:923的序列。在一些实施方案中,有义链包含SEQ ID NO:909的序列,且反义链包含SEQ ID NO:936的序列。

[0134] 应了解,在一些实施方案中,序列表中呈现的序列可在描述寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或其他核酸的结构时提及。在此类实施方案中,当与指定序列相比时,实际的寡核苷酸或其他核酸可以具有一或多种替代核苷酸(例如,DNA核苷酸的RNA对应物或RNA核苷酸的DNA对应物)及/或一或多种经修饰的核苷酸及/或一或多种经修饰的核苷酸间键联及/或一或多种其他修饰,而保留与指定序列基本上相同或类似的互补特性。

[0135] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含25个核苷酸的有义链及27个核苷酸的反义链,当受到Dicer酶作用时,产生并入成熟RISC中的反义链。在一些实施方案中,dsRNAi的有义链长于27个核苷酸(例如28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50个核苷酸)。在一些实施方案中,dsRNAi的有义链长于25个核苷酸(例如26、27、28、29或30个核苷酸)。在一些实施方案中,dsRNAi的有义链包含选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列,其中核苷酸序列长于27个核苷酸(例如28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50个核苷酸)。在一些实施方案中,dsRNAi的有义链包含选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列,其中核苷酸序列长于25个核苷酸(例如26、27、28、29或30个核苷酸)。

[0136] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸具有一个5'端,其与另一5'端相比在热力学上不太稳定。在一些实施方案中,提供一种不对称寡核苷酸,其在有义链的3'端包括平末端及在反义链的3'端包括3'-突出端。在一些实施方案中,反义链上的3'-突出端的长度为约1-8个核苷酸(例如长度为1、2、3、4、5、6、7或8个核苷酸)。通常,dsRNAi寡核苷酸在反义(引导)链的3'端上具有双核苷酸突出端。然而,其他突出端是可能的。在一些实施方案中,突出端为3'-突出端,其长度介于1至6个核苷酸之间,任选地1至5、1至4、1至3、1至2、2至6、2至5、2至4、2至3、3至6、3至5、3至4、4至6、4至5、5至6个核苷酸,或1、2、3、4、5或6个核苷酸。在一些实施方案中,突出端为5'-突出端,其长度介于1至6个核苷酸之间,任选地1至5、1至4、1至3、1至2、2至6、2至5、2至4、2至3、3至6、3至5、3至4、4至6、4至5、5至6个核苷酸,或1、2、3、4、5或6个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,及长度介于1至6个核苷酸之间的5'-突出端。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列的有义链,其中该寡核苷酸包含长度介于1至6个核苷酸之间的5'-突出端。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列的反义链,其中该寡核苷酸包含长度介于1至6个核苷酸之间的5'-突出端。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:4-387的

核苷酸序列的有义链及含有选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列的反义链,其中寡核苷酸包含长度介于1至6个核苷酸之间的5'-突出端。

[0137] 在一些实施方案中,反义链的3'端上的两个末端核苷酸经修饰。在一些实施方案中,反义链的3'端上的两个末端核苷酸与目标mRNA(例如KHK mRNA)互补。在一些实施方案中,反义链的3'端上的两个末端核苷酸不与目标mRNA互补。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸不成对。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸包含不成对的GG。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸不与目标mRNA互补。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的每一3'端上的两个末端核苷酸为GG。通常,本文中的双链寡核苷酸的每一3'端上的两个末端GG核苷酸中的一者或两者不与目标mRNA互补。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中本文中的dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸包含不成对GG。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,其中本文中的dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸包含不成对GG。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列的反义链,其中dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸包含不成对的GG。在一些实施方案中,寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列的有义链及含有选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列的反义链,其中dsRNAi寡核苷酸的反义链的3'端上的两个末端核苷酸包含不成对的GG。

[0138] 在一些实施方案中,有义链与反义链之间存在一或多个(例如1、2、3、4或5个)错配。若有义链与反义链之间存在超过一个错配,则其可连续地定位(例如,2个、3个或更多个成一列)或穿插于整个互补区域中。在一些实施方案中,有义链的3'端含有一或多个错配。在一些实施方案中,将两个错配并入有义链的3'端。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸的有义链的3'端的区段的碱基错配或不稳定提高或增加dsRNAi寡核苷酸的效能。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中在有义链与反义链之间存在一或多个(例如1、2、3、4或5个)错配。

反义链

[0139] 在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的反义链称为"引导链"。例如,与RNA诱导型静默复合体(RISC)接合且与阿尔古蛋白质(Argonaute protein)诸如Ago2结合,或与一或多种类似因子接合或结合,且导引目标基因静默的反义链,作为反义链,称为引导链。在一些实施方案中,与引导链互补的有义链可称为"随从链"。

[0140] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含长度为至多约50个核苷酸(例如,长度为至多50、至多40、至多35、至多30、至多27、至多25、至多21、至多19、至多17或至多

12个核苷酸)的反义链。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为至少约12个核苷酸(例如长度为至少12、至少15、至少19、至少21、至少22、至少25、至少27、至少30、至少35或至少38个核苷酸)的反义链。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度在约12至约40(例如12至40、12至36、12至32、12至28、15至40、15至36、15至32、15至28、17至22、17至25、19至27、19至30、20至40、22至40、25至40或32至40)个核苷酸范围内的反义链。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为15至30个核苷酸的反义链。在一些实施方案中,本文所公开的dsRNAi寡核苷酸中的任一者的反义链的长度为12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39或40个核苷酸。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为22个核苷酸的反义链。

[0141] 在一些实施方案中,本文中所公开的用于靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含SEQ ID NO:388-771中的任一者中所阐述的序列或由该序列组成。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含如SEQ ID NO:388-771中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。在一些实施方案中,本文中所公开的用于靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含SEQ ID NO:879-885及912-938中的任一者中所阐述的序列或由该序列组成。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含如SEQ ID NO:879-885及912-938中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。在一些实施方案中,本文中所公开的用于靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含SEQ ID NO:913、917、918、920、923及936中的任一者中所阐述的序列或由该序列组成。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,该反义链包含如SEQ ID NO:913、917、918、920、923及936中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少12个、至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。

[0142] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:948-953的核苷酸序列的反义链。

有义链

[0143] 在一些实施方案中,本文中所公开的用于靶向KHK mRNA且抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸包含如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的有义链序列。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸具有有义链,其包含如SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。在一些实施方案中,本文所公开的用于靶向KHK mRNA且抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸包含如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的有义链序列。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸具有有义链,其包含如SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。在一些实施方案中,本文所公开的用于靶向KHK mRNA且抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸包含如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中

所阐述的有义链序列。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸具有有义链,其包含如SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者中所阐述的序列的至少约12个(例如至少13个、至少14个、至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个、至少21个、至少22个或至少23个)连续核苷酸。

[0144] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含长度为至多约50个核苷酸(例如,长度为至多50、至多40、至多36、至多30、至多27、至多25、至多21、至多19、至多17或至多12个核苷酸)的有义链(或随从链)。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸可具有长度为至少约12个核苷酸(例如长度为至少12、至少15、至少19、至少21、至少25、至少27、至少30、至少36或至少38个核苷酸)的有义链。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链的长度可在约12至约50(例如,12至50、12至40、12至36、12至32、12至28、15至40、15至36、15至32、15至28、17至21、17至25、19至27、19至30、20至40、22至40、25至40或32至40)个核苷酸范围内。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为15至50个核苷酸的有义链。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为18至36个核苷酸的有义链。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链长度可为12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49或50个核苷酸。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含长度为36个核苷酸的有义链。

[0145] 在一些实施方案中,有义链在其3'端包含茎-环结构。在一些实施方案中,茎-环通过链内碱基配对形成。在一些实施方案中,有义链在其5'端包含茎-环结构。在一些实施方案中,茎为长度为2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个核苷酸的双螺旋。在一些实施方案中,茎-环提供针对降解(例如酶促降解)的dsRNAi寡核苷酸保护,有助于或改良对于目标细胞、组织或器官(例如肝脏)的靶向及/或递送,或两者。例如,在一些实施方案中,茎-环提供包含一或多个修饰的核苷酸,该一或多个修饰有助于、改良或增加对目标mRNA(例如KHK mRNA)的靶向、对目标基因表达(例如KHK表达)的抑制及/或至目标细胞、组织或器官(例如肝脏)的递送或其组合。在一些实施方案中,茎-环本身或茎-环的修饰实质上不影响dsRNAi寡核苷酸的固有基因表达抑制活性,但有助于、改良或增加稳定性(例如,提供针对降解的保护)及/或将寡核苷酸递送至目标细胞、组织或器官(例如,肝脏)。在某些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸包含有义链,其包含(例如在其3'端)阐述为:L1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为至多约10个核苷酸(例如长度为3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸)的单链环。在一些实施方案中,环(L)的长度为3个核苷酸。在一些实施方案中,环(L)的长度为4个核苷酸。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,且寡核苷酸包含有义链,该有义链包含茎-环(例如在其3'端),该茎-环阐述为:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为至多约10个核苷酸(例如长度为3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸)的单链环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的连续序列互补的靶向序列或互补区域,且寡核苷酸包含有义链,该有义链包含茎-环(例如在其3'端),该茎-环阐述为:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为至多约10个核苷酸(例如长度为3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸)的单链环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,且寡核苷酸包含有义链,该有义链包含茎-环(例如在其3'端),该茎-环阐述

为:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为至多约10个核苷酸(例如长度为3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸)的单链环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,且寡核苷酸包含有义链,该有义链包含茎-环(例如在其3'端),该茎-环阐述为:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为至多约10个核苷酸(例如长度为3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸)的单链环。

[0146] 在一些实施方案中,具有如上文所描述的结构S1-L-S2的茎-环的环(L)为三环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域及三环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的连续序列互补的靶向序列或互补区域及三环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,及三环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,及三环。在一些实施方案中,三环包含核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸、经修饰的核苷酸、递送配体及其组合。

[0147] 在一些实施方案中,具有如上所述的结构S1-L-S2的茎-环的环(L)为四环(例如在带切口的四环结构内),包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域及四环。在一些实施方案中,具有如上所述的结构S1-L-S2的茎-环的环(L)为四环(例如在带切口的四环结构内),包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的连续序列互补的靶向序列或互补区域及四环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,及四环。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909中的任一者的核苷酸的连续序列互补的靶向序列或互补区域,及四环。在一些实施方案中,四环包含核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸、经修饰的核苷酸、递送配体及其组合。

[0148] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含含有选自SEQ ID NO:942-947的核苷酸序列的有义链。

双螺旋长度

[0149] 在一些实施方案中,有义链与反义链之间形成的双螺旋长度为至少12(例如至少15个、至少16个、至少17个、至少18个、至少19个、至少20个或至少21个)个核苷酸。在一些实施方案中,有义链与反义链之间形成的双螺旋长度在12-30个核苷酸范围内(例如长度为12至30、12至27、12至22、15至25、18至30、18至22、18至25、18至27、18至30、19至30或21至30个核苷酸)。在一些实施方案中,有义链与反义链之间形成的双螺旋长度为12、13、14、15、16、17、18、19、29、21、22、23、24、25、26、27、28、29或30个核苷酸。在一些实施方案中,有义链与反义链之间形成的双螺旋不横跨有义链及/或反义链的整个长度。在一些实施方案中,有义链与反义链之间的双螺旋横跨有义链或反义链的整个长度。在一些实施方案中,有义链与反义链之间的双螺旋横跨有义链与反义链的整个长度。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中,有义链与反义链之间形成的双螺旋长度在12-30个核苷酸范围内(例如长度为12至30、12至27、12至22、15至25、18至30、18至22、18至25、18至27、18至30、19至30或21至30个核苷酸)。

寡核苷酸端

[0150] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,使得在有义链或反义链二者中的一者或有义链及反义链两者上存在3'-突出端。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,该有义链及该反义链为形成在反义链的3'末端具有突出端的不对称双螺旋区的单独链。在一些实施方案中,本文所提供的dsRNAi寡核苷酸具有一个5'端,与另一5'端相比其在热力学上不太稳定。在一些实施方案中,提供一种不对称dsRNAi寡核苷酸,其包括在有义链的3'端的平末端及在反义链的3'端的突出端。在一些实施方案中,反义链上的3'突出端的长度为1-8个核苷酸(例如长度为1、2、3、4、5、6、7或8个核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中反义链包含长度为1-8个核苷酸的3'突出端(例如长度为1、2、3、4、5、6、7或8个核苷酸)。

[0151] 通常,RNAi的寡核苷酸在反义(引导)链的3'端上具有两(2)个核苷酸突出端。然而,其他突出端是可能的。在一些实施方案中,突出端为包含长度为1至6个核苷酸、任选地1至5个、1至4个、1至3个、1至2个、2至6个、2至5个、2至4个、2至3个、3至6个、3至5个、3至4个、4至6个、4至5个、5至6个核苷酸或1、2、3、4、5或6个核苷酸的3'突出端。在一些实施方案中,突出端为包含长度为1至6个核苷酸、任选地1至5个、1至4个、1至3个、1至2个、2至6个、2至5个、2至4个、2至3个、3至6个、3至5个、3至4个、4至6个、4至5个、5至6个核苷酸或1、2、3、4、5或6个核苷酸的5'突出端。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该反义链包含长度为1-6个核苷酸的5'突出端。

[0152] 在一些实施方案中,有义及/或反义链的3'端或5'端的一或多个(例如2、3、4个)末端核苷酸经修饰。例如,在一些实施方案中,反义链的3'端的一或两个末端核苷酸经修饰。在一些实施方案中,反义链的3'端的最后一个核苷酸经修饰,例如包含2'修饰,例如2'-O-甲氧基乙基。在一些实施方案中,反义链的3'端的最后一个或两个末端核苷酸与目标互补。在一些实施方案中,反义链的3'端的最后一个或两个核苷酸不与目标互补。

[0153] 在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸在有义链的3'端包含茎环结构且在反义链的3'端包含两个末端突出端核苷酸。在一些实施方案中,本文中的dsRNAi寡核苷酸包含带切口的四环结构,其中有义链的3'端包含茎-四环结构且在反义链的3'端包含两个末端突出端核苷酸。在一些实施方案中,两个末端突出端核苷酸为GG。通常,反义链的两个末端GG核苷酸中的一或两者不与目标互补。

[0154] 在一些实施方案中,有义链或反义链的5'端及/或3'端具有反向的帽核苷酸。

[0155] 在一些实施方案中,在有义及/或反义链的3'端或5'端的末端核苷酸之间提供一或多个(例如2、3、4、5、6个)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸间键联提供于有义及/或反义链的3'端或5'端的突出端核苷酸之间。

寡核苷酸修饰

[0156] 在一些实施方案中,本文所描述的dsRNAi寡核苷酸包含修饰。寡核苷酸(例如RNAi寡核苷酸)可以各种方式经修饰,以改善或控制特异性、稳定性、递送、生物利用度、对核酸酶降解的抗性、免疫原性、碱基配对特性、RNA分布及细胞吸收及关于治疗或研究用途的其他特征。

[0157] 在一些实施方案中,修饰为经修饰的糖。在一些实施方案中,修饰为5'-末端磷酸酯基。在一些实施方案中,修饰为经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,修饰为经修饰的碱基。在一些实施方案中,本文所描述的寡核苷酸可包含本文所描述的修饰中的任一者或其任何组合。例如,在一些实施方案中,本文所描述的寡核苷酸包含至少一个经修饰的糖、5'-末端磷酸酯基、至少一个经修饰的核苷酸间键联及至少一个经修饰的碱基。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中寡核苷酸包含至少一个经修饰的糖、5'-末端磷酸酯基、至少一个经修饰的核苷酸间键联及至少一个经修饰的碱基。

[0158] 寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)上的修饰数目及这些核苷酸修饰的位置可能影响寡核苷酸的特性。例如,寡核苷酸可通过在脂质纳米颗粒(LNP)或类似载剂中使他们结合或包含他们而进行体内递送。然而,当寡核苷酸未受LNP或类似载剂保护时,至少一些核苷酸经修饰可能是有利的。因此,在一些实施方案中,寡核苷酸的所有或实质上所有核苷酸经修饰。在一些实施方案中,超过一半核苷酸经修饰。在一些实施方案中,小于一半核苷酸经

修饰。在一些实施方案中,构成寡核苷酸的所有核苷酸的糖部分在2'位置经修饰。修饰可为可逆的或不可逆的。在一些实施方案中,如本文中所公开的寡核苷酸具有足以产生所需特征(例如,防止酶降解、体内施用之后靶向所需细胞的能力,及/或热力学稳定性)的一定数量及类型的经修饰的核苷酸。

糖修饰

[0159] 在一些实施方案中,本文所描述的dsRNAi寡核苷酸包含经修饰的糖。在一些实施方案中,经修饰的糖(本文也称为糖类似物)包括经修饰的脱氧核糖或核糖部分,其中例如其中一或多个修饰出现在糖的2'、3'、4'及/或5'碳位置。在一些实施方案中,经修饰的糖也可包括非天然替代碳结构,诸如存在于锁核酸("LNA";参见例如Koshkin等人(1998)TETRAHEDON 54:3607-30)、非锁核酸("UNA";参见例如Snead等人(2013)MOL.THER-NUCL.ACIDS2:e103)及桥联核酸(「BNA」;参见例如Imanishi&Obika(2002)CHEM COMMUN.(CAMB)21:1653-59)中的这些碳结构。

[0160] 在一些实施方案中,糖中的核苷酸修饰包含2'-修饰。在一些实施方案中,2'-修饰可为2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氟(2'-F)、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[[2-(甲胺基)-2-侧氧基乙基](2'-O-NMA)或2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。在一些实施方案中,修饰为2'-F、2'-OMe或2'-MOE。在一些实施方案中,糖中的修饰包含糖环的修饰,其可包含糖环的一或多个碳的修饰。例如,核苷酸的糖的修饰可包含糖的2'-氧键联至糖的1'-碳或4'-碳或2'-氧经由乙撑基或亚甲基桥连基团键联至1'-碳或4'-碳。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸具有缺乏2'-碳至3'-碳键的非环糖。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸例如在糖的4'位置中具有硫醇基。

[0161] 在一些实施方案中,本文中描述的dsRNAi寡核苷酸包含至少约1个经修饰的核苷酸(例如,至少1个、至少5个、至少10个、至少15个、至少20个、至少25个、至少30个、至少35个、至少40个、至少45个、至少50个、至少55个、至少60个或更多个)。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的有义链包含至少约1个经修饰的核苷酸(例如至少1、至少5、至少10、至少15、至少20、至少25、至少30、至少35或更多个)。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的反义链包含至少约1个经修饰的核苷酸(例如,至少1个、至少5个、至少10个、至少15个、至少20个或更多个)。

[0162] 在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的有义链的所有核苷酸经修饰。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的反义链的所有核苷酸经修饰。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的所有核苷酸(即,有义链及反义链两者)经修饰。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸包含2'-修饰(例如,2'-F或2'-OMe、2'-MOE及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸)。

[0163] 在一些实施方案中,本发明提供具有不同修饰模式的dsRNAi寡核苷酸。示例性修饰模式阐述于美国临时申请号62/909,278及WO 2021/067744中,两者均以引用的方式并入本文中。在一些实施方案中,经修饰的dsRNAi寡核苷酸包含具有如实例及序列表中所阐述的修饰模式的有义链序列及具有如实例及序列表中所阐述的修饰模式的反义链。

[0164] 在一些实施方案中,本文所公开的dsRNAi寡核苷酸包含具有经2'-F修饰的核苷酸的反义链。在一些实施方案中,本文所公开的dsRNAi寡核苷酸包含含有经2'-F及2'-OMe修饰的核苷酸的反义链。在一些实施方案中,本文所公开的dsRNAi寡核苷酸包含具有经2'-F

修饰的核苷酸的有义链。在一些实施方案中,本文所公开的dsRNAi寡核苷酸包含含有经2'-F及2'-OMe修饰的核苷酸的有义链。

[0165] 在一些实施方案中,本文所描述的dsRNAi寡核苷酸包含有义链,其中该有义链的约10-15%、10%、11%、12%、13%、14%或15%的核苷酸包含2'-氟修饰。在一些实施方案中,有义链的约11%的核苷酸包含2-氟修饰。在一些实施方案中,本文所描述的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,其中该反义链的约25-35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2'-氟修饰。在一些实施方案中,反义链的约32%的核苷酸包含2'-氟修饰。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸的约15-25%、15%、16%、17%、18%、19%、20%、21%、22%、23%、24%或25%的其核苷酸包含2'-氟修饰。在一些实施方案中,dsRNAi寡核苷酸中约19%的核苷酸包含2'-氟修饰。

[0166] 在一些实施方案中,有义链的位置8、9、10或11中的一或多者经2'-F基团修饰。在一些实施方案中,有义链的位置3、8、9、10、12、13及17中的一或多者经2'-F基团修饰。在一些实施方案中,反义链的位置2、3、4、5、7、10及14中的一或多者经2'-F基团修饰。在一些实施方案中,反义链的位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19中的一或多者经2'-F基团修饰。在一些实施方案中,有义链中的位置1-7及12-20处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,有义链中的位置1-7、12-27及31-36处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,有义链中的位置1-2、4-7、11、14-16及18-20处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,有义链中的位置1-2、4-7、11、14-16、18-27及31-36处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,有义链中的位置1、6、8-9、11-13及15-22处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,反义链中的位置6、9、11-13、15、17、18及20-22处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。在一些实施方案中,反义链中的位置1、6、9、11-13、15、17、18及20-22处的每一核苷酸处的糖部分经2'-OMe修饰。

[0167] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;
(b)分别为SEQ ID NO:894及920;
(c)分别为SEQ ID NO:897及923;
(d)分别为SEQ ID NO:892及918;
(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及
(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该有义链的位置8、9、10或11中的一或多者经2'-F基团修饰。

[0168] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;
(b)分别为SEQ ID NO:894及920;
(c)分别为SEQ ID NO:897及923;
(d)分别为SEQ ID NO:892及918;
(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该有义链的位置3、8、9、10、12、13及17中的一或多者经2'-F基团修饰。

[0169] 在一些实施方案中,反义链具有3个在糖部分的2'-位置经2'-F修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的位置2、5及14处的糖部分及任选地位置1、3、7及10处的至多3个核苷酸经2'-F修饰。在其他实施方案中,反义链的位置2、5及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在其他实施方案中,反义链的位置1、2、5及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在另其他实施方案中,反义链的位置1、2、3、5、7及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在又另一实施方案中,反义链的位置1、2、3、5、10及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在另一实施方案中,反义链的位置2、3、5、7、10及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。

[0170] 在一些实施方案中,反义链具有3个在糖部分的2'-位置经2'-F修饰的核苷酸。在一些实施方案中,反义链的位置2、5及14处的糖部分及任选地位置3、4、7及10处的至多3个核苷酸经2'-F修饰。在其他实施方案中,反义链的位置2、5及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在其他实施方案中,反义链的位置2、4、5及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在另其他实施方案中,反义链的位置2、3、4、5、7及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在又另一实施方案中,反义链的位置2、3、4、5、10及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在另一实施方案中,反义链的位置2、3、4、5、7、10及14处的位置中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。在一些实施方案中,位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19中的每一者处的糖部分经2'-F修饰。

[0171] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中反义链的一或多个位置2、3、4、5、7、10及14处的糖部分经2'-F修饰。

[0172] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中反义链的一或多个位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19处的糖部分经2'-F修饰。

[0173] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2、5及14处的糖部分经

2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、2、5及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中所提供的寡核苷酸包含位置1、2、3、5、7及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、2、3、5、10及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。

[0174] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2、5及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2、4、5及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中所提供的寡核苷酸包含位置2、3、4、5、7及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置2、3、4、5、10及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中所提供的寡核苷酸包含位置2、3、4、5、7、10及14处的糖部分经2'-F修饰的反义链。在一些实施方案中,本文中所提供的寡核苷酸包含位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19处的糖部分经2'-F修饰的反义链。

[0175] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该有义链的位置8、9、10或11中的一或多者及该反义链的位置2、3、4、5、7、10及14中的一或多者经2'-F修饰。

[0176] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该有义链的位置3、8、9、10、12、13及17中的一或多者及该反义链的位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19中的一或多者经2'-F修饰。

[0177] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、5及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0178] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置1、2、5及14处的核苷

酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0179] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、4、5及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0180] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置1、2、3、5、7及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0181] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、3、4、5、7及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0182] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置1、2、3、5、10及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0183] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、3、4、5、10及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0184] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、3、5、7、10及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0185] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、3、4、5、7、10及14处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0186] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含反义链位置2、3、4、5、7、8、10、14、16及19处的核苷酸中的每一者的糖部分经2'-F修饰及反义链的剩余核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0187] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21或位置22处的糖部分经2'-F修饰的反义链。

[0188] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21或位置22处的糖部分经2'-OMe修饰的反义链。

[0189] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21或位置22处的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的反义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0190] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置8-11处的糖部分经2'-F修饰的有义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置3、8、9、10、12、13及17处的糖部分经2'-F修饰的有义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1-7及12-17或12-20处的糖部分经2'OMe修饰的有义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含有义链的位置1-7及12-17或12-20处的核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的有义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1-2、4-7、11、14-16及18-20处的糖部分经2'OMe修饰的有义链。在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含有义链的位置1-2、4-7、11、14-16及18-20处的核苷酸中的每一者的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的有义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

[0191] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21、位置22、位置23、位置24、位置25、位置26、位置27、位置28、位置29、位置30、位置31、位置32、位置33、位置34、位置35或位置36处的糖部分经2'-F修饰的有义链。

[0192] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21、位置22、位置23、位置24、位置25、位置26、位置27、位

置28、位置29、位置30、位置31、位置32、位置33、位置34、位置35或位置36处的糖部分经2'-OMe修饰的有义链。

[0193] 在一些实施方案中,本文中提供的寡核苷酸包含位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11、位置12、位置13、位置14、位置15、位置16、位置17、位置18、位置19、位置20、位置21、位置22、位置23、位置24、位置25、位置26、位置27、位置28、位置29、位置30、位置31、位置32、位置33、位置34、位置35或位置36处的糖部分经选自由以下组成的组的修饰修饰的有义链:2'-O-炔丙基、2'-O-丙胺基、2'-氨基、2'-乙基、2'-氨基乙基(EA)、2'-O-甲基(2'-OMe)、2'-O-甲氧基乙基(2'-MOE)、2'-O-[2-(甲基氨基)-2-氧代乙基](2'-O-NMA)及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸(2'-FANA)。

5'-末端磷酸酯

[0194] 在一些实施方案中,本文所述的寡核苷酸包含5'末端磷酸酯。在一些实施方案中,RNAi寡核苷酸的5'-末端磷酸酯基增强与Ago2的相互作用。然而,包含5'-磷酸酯基的寡核苷酸可容易经由磷酸酶或其他酶发生降解,此可限制其体内生物利用度。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸(例如双链寡核苷酸)包括对此类降解具有抗性的5'磷酸酯的类似物。在一些实施方案中,磷酸酯类似物为氧基甲基膦酸酯、乙烯基膦酸酯或丙二酰基膦酸酯,或其组合。在某些实施方案中,寡核苷酸链的5'端连接至模拟天然5'-磷酸酯基的静电及空间特性的化学部分("磷酸酯模拟物")。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

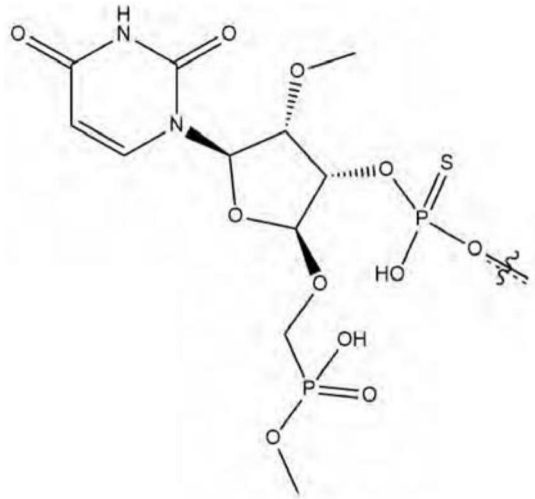
(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该寡核苷酸包含5'-末端磷酸酯。

[0195] 在一些实施方案中,寡核苷酸在糖的4'碳位置具有磷酸酯类似物(称为"4'-磷酸酯类似物")。参见例如国际专利申请公开号WO 2018/045317。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸在5'-末端核苷酸处包含4'-磷酸酯类似物。在一些实施方案中,磷酸酯类似物为氧基甲基膦酸酯,其中氧基甲基的氧原子结合至糖部分(例如,在其4'碳处)或其类似物。在其他实施方案中,4'-磷酸酯类似物为硫基甲基膦酸酯或氨基甲基膦酸酯,其中硫基甲基的硫原子或氨基甲基的氮原子结合至糖部分或其类似物的4'-碳。在某些实施方案中,4'-磷酸酯类似物为氧基甲基膦酸酯。在一些实施方案中,氧基甲基膦酸酯由式-O-$CH_2$-PO(OH)$_2$、-O-$CH_2$-PO(OR)$_2$或-O-$CH_2$-POOH(R)表示,其中R独立地选自H、$CH_3$、烷基、$CH_2CH_2CN$、$CH_2OCOC(CH_3)_3$、$CH_2OCH_2CH_2Si(CH_3)_3$或保护基。在某些实施方案中,烷基为$CH_2CH_3$。更通常地,R独立地选自H、$CH_3$或$CH_2CH_3$。在一些实施方案中,R为$CH_3$。在一些实施方案中,4'-磷酸酯类似物为5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基。

[0196] 在一些实施方案中,本文提供的dsRNAi寡核苷酸包含在5'-末端核苷酸处包含4'-磷酸酯类似物的反义链,其中5'-末端核苷酸包含以下结构:



[0197] 5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基-2'-O-甲基尿苷硫代磷酸酯[Me膦酸酯-4O-mUs]

经修饰的核苷酸间键联

[0198] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)包含经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,磷酸酯修饰或取代产生包含至少约1(例如至少1、至少2、至少3或至少5)个经修饰的核苷酸间键联的寡核苷酸。在一些实施方案中,本文中公开的寡核苷酸中的任一者包含约1至约10个(例如,1至10个、2至8个、4至6个、3至10个、5至10个、1至5个、1至3个或1至2个)经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,本文中公开的寡核苷酸中的任一者包含1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个经修饰的核苷酸间键联。

[0199] 经修饰的核苷酸间键联可为二硫代磷酸酯键联、硫代磷酸酯键联、磷酸三酯键联、硫代烷基膦酸酯键联、硫代烷基膦酸三酯键联、亚磷酰胺键联、膦酸酯键联或硼烷磷酸酯键联。在一些实施方案中,如本文所公开的任一寡核苷酸中的至少一个经修饰的核苷酸间键联为硫代磷酸酯键联。

[0200] 在一些实施方案中,本文中描述的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)在有义链的位置1及2、反义链的位置1及2、反义链的位置2及3、反义链的位置3及4、反义链的位置20及21及反义链的位置21及22中的一或多者之间具有硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,本文中描述的寡核苷酸在有义链的位置1及2、反义链的位置1及2、反义链的位置2及3、反义链的位置20及21及反义链的位置21及22中的每一者之间具有硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中寡核苷酸包含经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该寡核苷酸在有义链的位置1及2、反义链的位置1及2、反义链的位置2及3、反义链的位置3及4、反义链的位置20及21及反义链的位置21及22中的一或多者之间包含硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该寡核苷酸在有义链的位置1及2、反义链的位置1及2、反义链的位置2及3、反义链的位置20及21及反义链的位置21及22中的每一者之间具有硫代磷酸酯键联。

碱基修饰

在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)具有一或多个经修饰的核碱基。在一些实施方案中,经修饰的核碱基(在本文中也称为碱基类似物)在核苷酸糖部分的1'位置键联。在某些实施方案中,经修饰的核碱基为含氮碱基。在某些实施方案中,经修饰的核碱基不含氮原子。参见例如美国专利申请公开号2008/0274462。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸包含通用碱基。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸不含核碱基(无碱基)。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中寡核苷酸包含一或多个经修饰的核碱基。

[0201] 在一些实施方案中,通用碱基为位于经修饰核苷酸中的核苷酸糖部分的1'位置或在存在于双螺旋中时可与一个以上类型的碱基相反的定位而实质上不更改双螺旋的结构的核苷酸糖部分取代中的等效位置的杂环部分。在一些实施方案中,相较于与目标核酸完全互补的参考单链核酸(例如,寡核苷酸),含有通用碱基的单链核酸与目标核酸形成双螺旋,该双螺旋具有低于与互补核酸形成的双螺旋更低的$T_m$。在一些实施方案中,当相较于其中通用碱基已经一碱基置换以产生单一错配的参考单链核酸时,含有通用碱基的单链核酸与目标核酸形成双螺旋,该双螺旋具有高于与包含错配碱基的核酸形成的双螺旋的$T_m$。

[0202] 通用结合核苷酸的非限制性实例包括(但不限于)肌苷、1-β-呋喃核糖基-5-硝基

吲哚及/或1-β-D-呋喃核糖基-3-硝基吡咯(参见美国专利申请公开号2007/0254362;Van Aerschot等人(1995)NUCLEIC ACIDS RES.23:4363-4370;Loakes等人(1995)NUCLEIC ACIDS RES.23:2361-66;及Loakes&Brown(1994)NUCLEIC ACIDS RES.22:4039-43)。

靶向配体

[0203] 在一些实施方案中,需要使本发明的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)靶向一或多个细胞或一或多个器官。此策略可有助于避免其他器官中的不良影响或可避免寡核苷酸过度损失至将不受益于寡核苷酸的细胞、组织或器官。因此,在一些实施方案中,本文所公开的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)经修饰以有助于靶向及/或递送至特定组织、细胞或器官(例如促进将寡核苷酸递送至肝脏)。在一些实施方案中,寡核苷酸包含与一或多个靶向配体结合的至少一个核苷酸(例如1、2、3、4、5、6或更多个核苷酸)。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中寡核苷酸包含与至少一个核苷酸结合的靶向配体。

[0204] 在一些实施方案中,靶向配体包含碳水化合物、氨基糖、胆固醇、肽、多肽、蛋白质或蛋白质的一部分(例如抗体或抗体片段)或脂质。在一些实施方案中,靶向配体为适配体。例如,靶向配体可为用于靶向肿瘤脉管或神经胶瘤细胞的RGD肽、用以靶向肿瘤脉管或造口的CREKA肽、运铁蛋白(transferring)、乳铁蛋白、或靶向CNS脉管上所表达的运铁蛋白受体的适配体、或靶向神经胶瘤细胞上的EGFR的抗EGFR抗体。在某些实施方案中,靶向配体为一或多个GalNAc部分。

[0205] 在一些实施方案中,寡核苷酸的1个或更多个(例如,1、2、3、4、5或6个)核苷酸各自结合于单独的靶向配体。在一些实施方案中,寡核苷酸的2至4个核苷酸各自结合于单独的靶向配体。在一些实施方案中,靶向配体结合于有义链或反义链的任一端的2至4个核苷酸(例如,靶向配体结合于有义链或反义链的5'或3'端上的2至4个核苷酸突出端或延伸部分)以使得靶向配体类似于牙刷的刷毛且寡核苷酸类似于牙刷。例如,寡核苷酸可包含有义链的5'或3'端的茎-环,且茎环的1、2、3或4个核苷酸可单独地与靶向配体结合。在一些实施方案中,由本发明提供的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)在有义链的3'端包含茎-环,其中茎-环的环包含三环或四环,且其中分别构成三环或四环的3或4个核苷酸单独地与靶向配体结合。

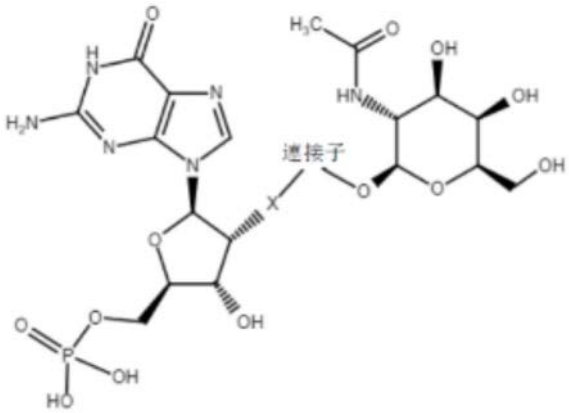
[0206] GalNAc为ASGPR的高亲和力配体,其主要在肝细胞窦状表面上表达且在结合、内化及后续清除含有末端半乳糖或GalNAc残基的循环糖蛋白(去唾液酸糖蛋白)方面具有主要作用。GalNAc部分与本发明的寡核苷酸的结合(间接或直接)可用于使这些寡核苷酸靶向细胞上所表达的ASGPR。在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸与至少一或多个GalNAc部分结合,其中GalNAc部分使寡核苷酸靶向人类肝脏细胞(例如人类肝细胞)上所表达的ASGPR。在一些实施方案中,GalNAc部分使寡核苷酸靶向肝脏。

[0207] 在一些实施方案中,本发明的寡核苷酸直接地或间接地结合于单价GalNAc。在一些实施方案中,寡核苷酸直接地或间接地结合于一个以上单价GalNAc(即,结合于2、3或4个单价GalNAc部分,且通常结合于3或4个单价GalNAc部分)。在一些实施方案中,寡核苷酸与一或多个二价GalNAc、三价GalNAc或四价GalNAc部分结合。

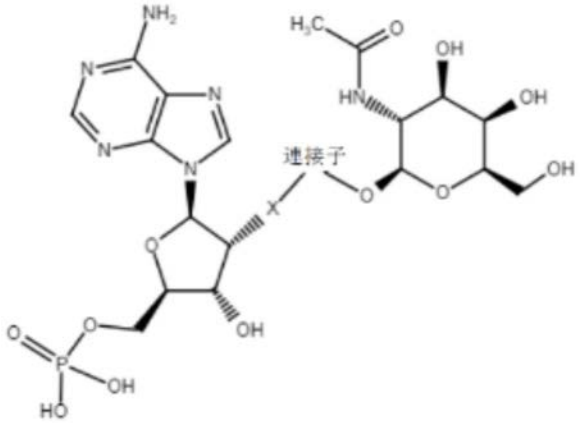
[0208] 在一些实施方案中,寡核苷酸的1个或更多个(例如,1、2、3、4、5或6个)核苷酸各自结合于GalNAc部分。在一些实施方案中,四环的2至4个核苷酸各自结合于独立GalNAc。在一些实施方案中,三环的1至3个核苷酸各自结合于独立GalNAc。在一些实施方案中,靶向配体结合于有义链或反义链的任一端的2至4个核苷酸(例如,配体结合于有义链或反义链的5'或3'端上的2至4个核苷酸突出端或延伸部分)以使得GalNAc部分类似于牙刷的刷毛且寡核苷酸类似于牙刷。在一些实施方案中,GalNAc部分结合于有义链的核苷酸。例如,三个(3)或四个(4)GalNAc部分可与有义链的四环中的核苷酸结合,其中每个GalNAc部分与一个(1)核苷酸结合。

[0209] 在一些实施方案中,四环为腺嘌呤及鸟嘌呤核苷酸的任何组合。

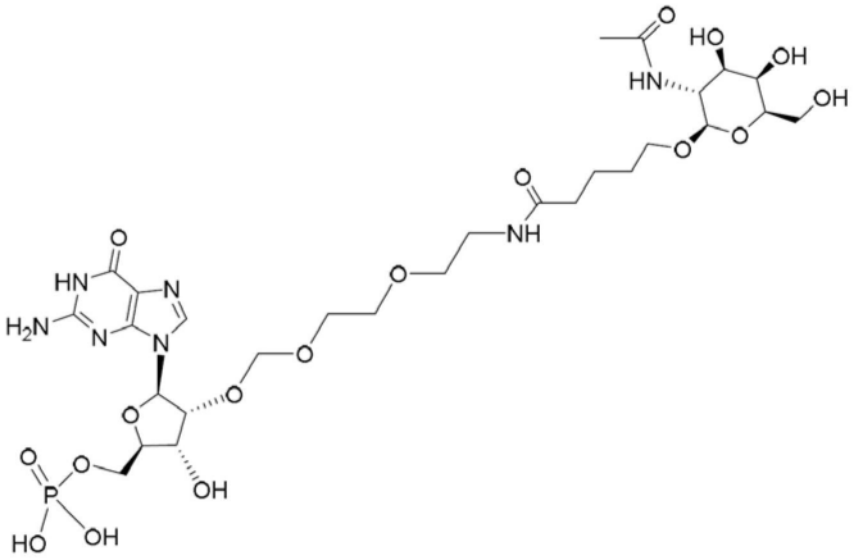
[0210] 在一些实施方案中,四环(L)具有经由本文所描述的任何接头与四环的任何一或多个鸟嘌呤核苷酸连接的单价GalNAc部分,如下文所描绘(X=杂原子):



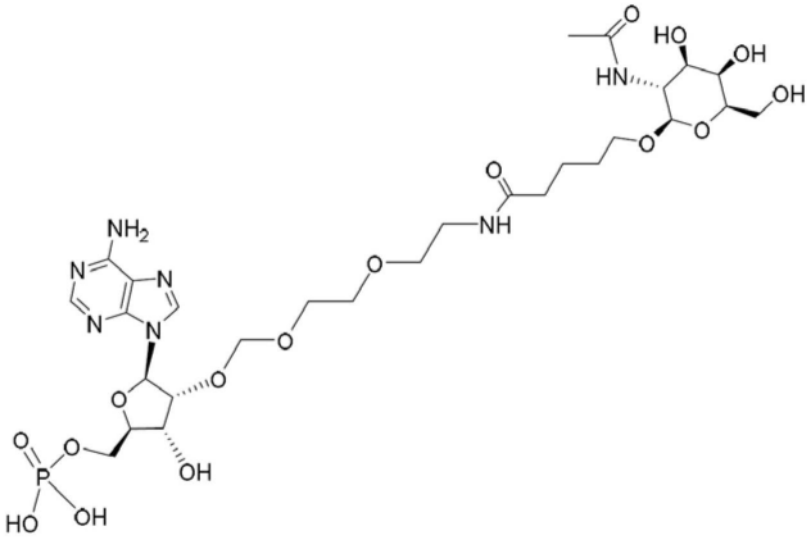

[0211] 在一些实施方案中,四环(L)具有经由本文所描述的任何接头与四环的任何一或多个腺嘌呤核苷酸连接的单价GalNAc,如下文所描绘(X=杂原子):



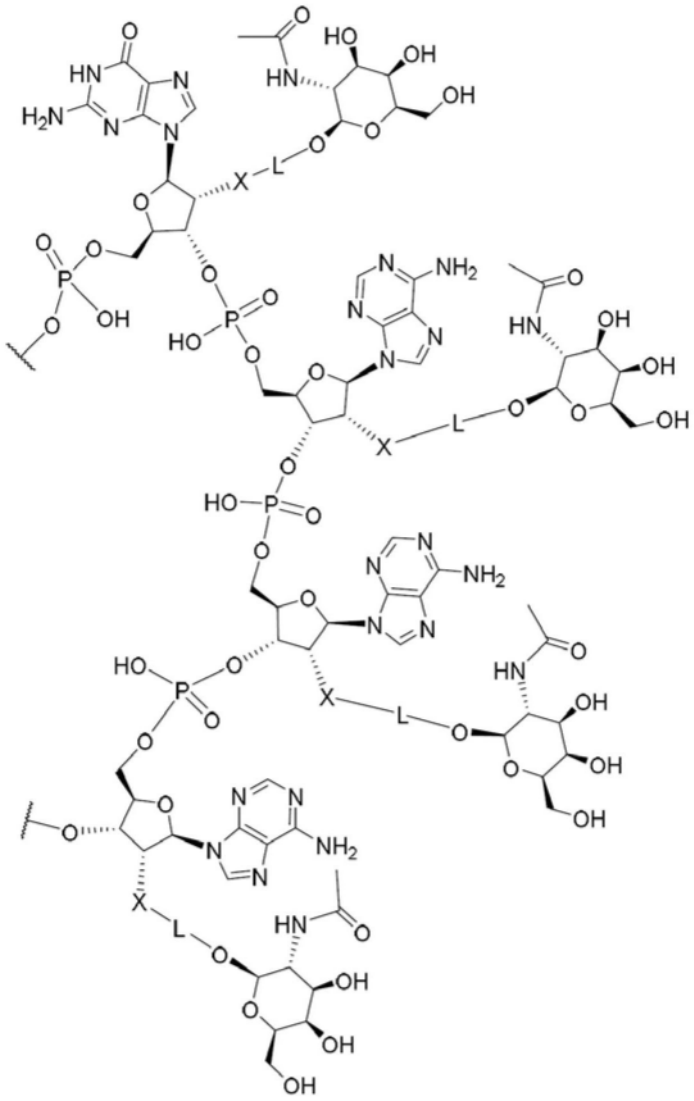

[0212] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含连接至鸟嘌呤核苷酸的单价GalNAc,称为[ademG-GalNAc]或2'-氨基二乙氧基甲醇-鸟嘌呤-GalNAc,如下文所描绘:



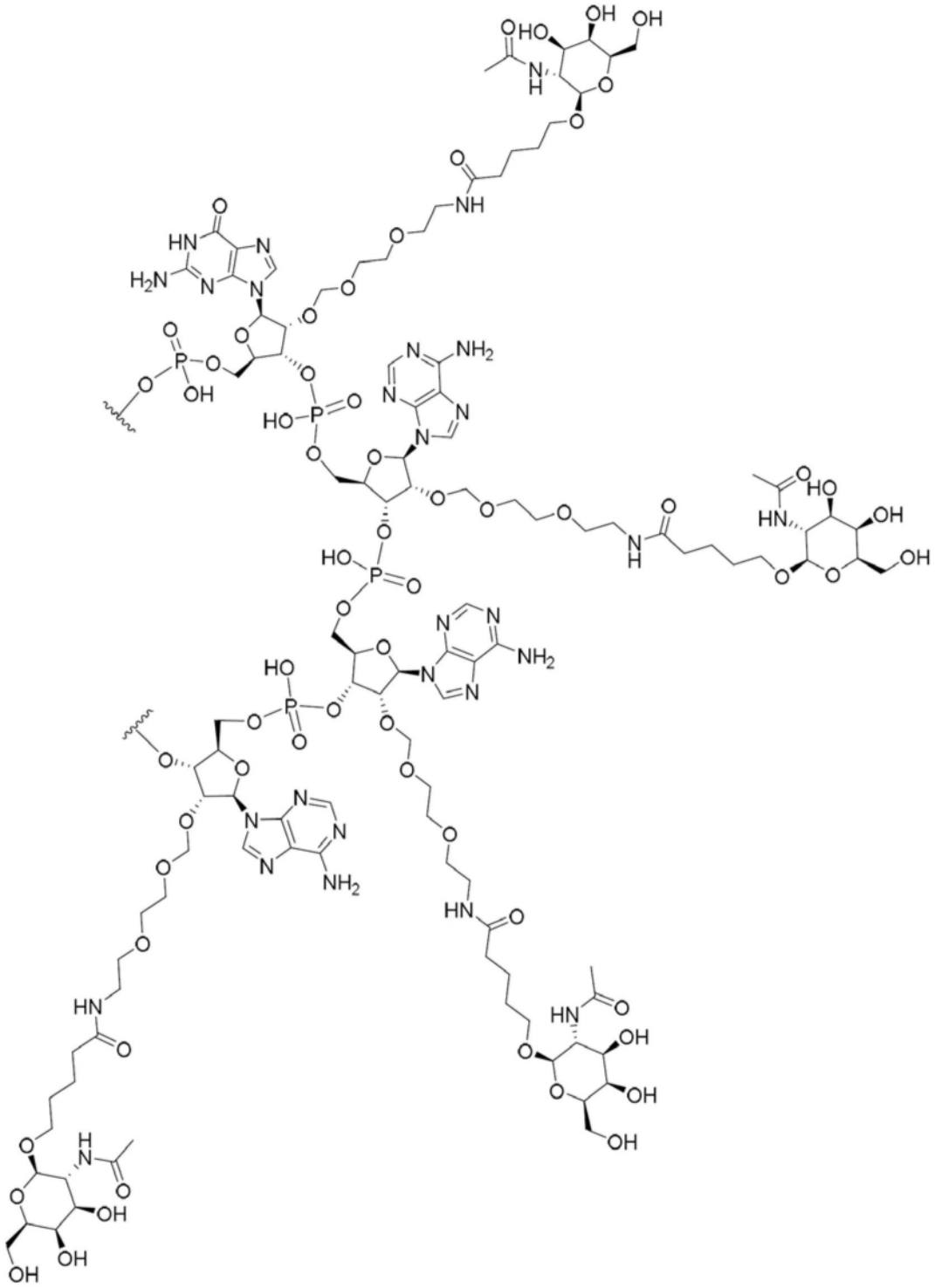
[0213] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含与腺嘌呤核苷酸连接的单价GalNAc,称为[ademA-GalNAc]或2'-氨基二乙氧基甲醇-腺嘌呤-GalNAc,如下文所描绘:



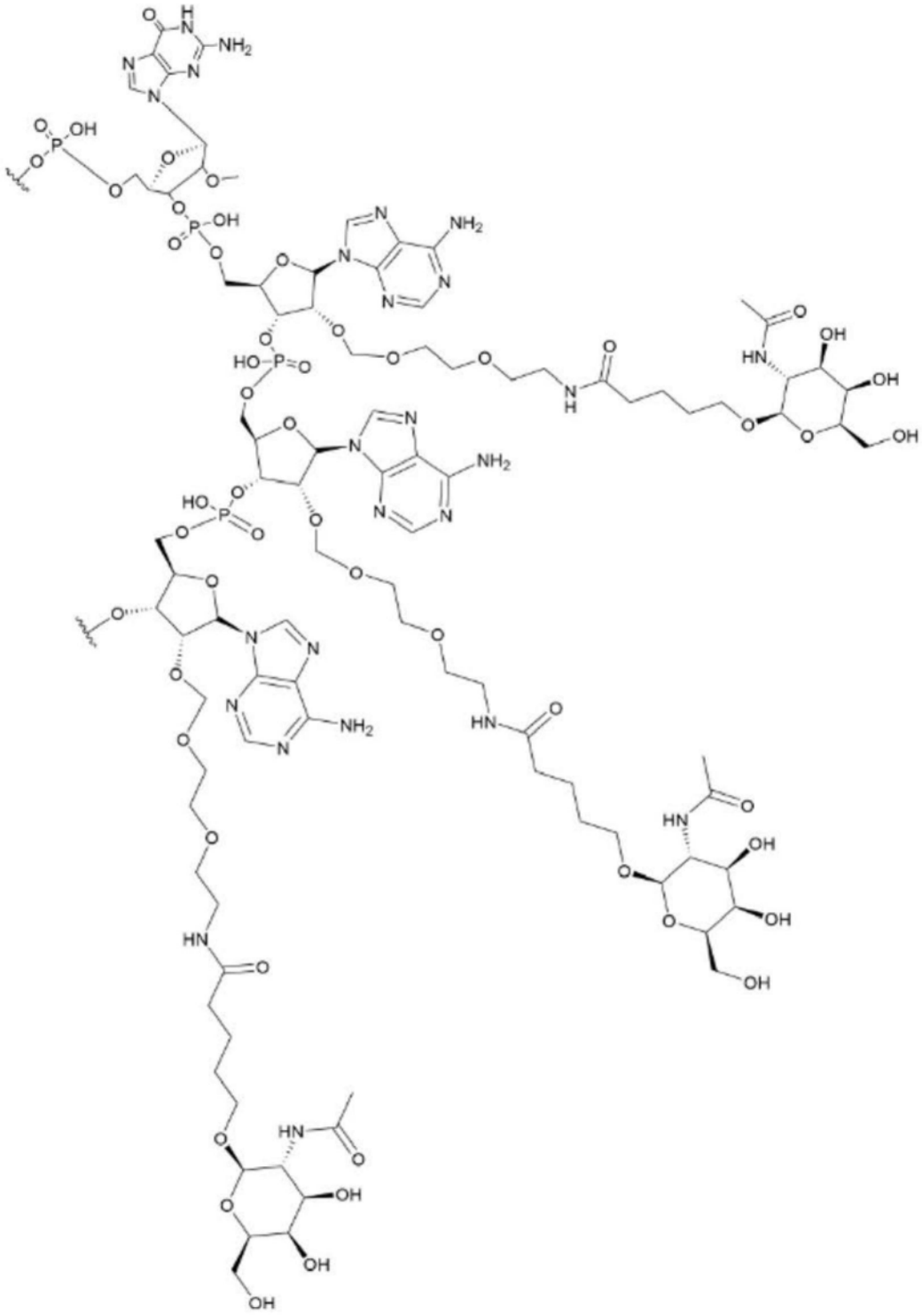
[0214] 此类结合的实例在下文针对自5'至3'包含核苷酸序列GAAA的环所显示(L=接头,X=杂原子)。此类环可存在于例如本文提供的有义链的位置27-30处,如图2及图4A中所示。在化学式中, 用于描述与寡核苷酸链的连接点。



[0215] 适当的方法或化学法(例如,点击化学法)可用于将靶向配体连接至核苷酸。在一些实施方案中,使用点击接头将靶向配体结合于核苷酸。在一些实施方案中,基于缩醛的接头用于将靶向配体结合于任一本文中描述的寡核苷酸中的核苷酸。例如,基于缩醛的接头公开于国际专利申请公开号WO 2016/100401中。在一些实施方案中,接头为不稳定的接头。然而,在其他实施方案中,接头为稳定的。下文展示针对自5'至3'包含核苷酸GAAA的环的实例,其中使用缩醛接头将GalNAc部分连接至环的核苷酸。此类环可存在于例如有义链的位置27-30处,如图2及图4A中所示。在化学式中, 为与寡核苷酸链的连接点。



或



[0216] 如所提及,各种适当方法或化学合成技术(例如点击化学法)可用于将靶向配体键联至核苷酸。在一些实施方案中,使用点击接头将靶向配体结合于核苷酸。在一些实施方案中,基于缩醛的接头用于将靶向配体结合于任一本文中描述的寡核苷酸中的核苷酸。例如,基于缩醛的接头公开于国际专利申请公开号WO 2016/100401中。在一些实施方案中,接头为不稳定的接头。然而,在其他实施方案中,接头为稳定的接头。

[0217] 在一些实施方案中,在靶向配体(例如GalNAc部分)与dsRNAi之间提供双螺旋延伸部分(例如长度为至多3、4、5或6bp)。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡

核苷酸)不具有与其结合的GalNAc。

[0218] 在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中寡核苷酸包含至少一个与核苷酸结合的GalNAc部分。

示例性靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸

[0219] 在一些实施方案中,本发明提供靶向KHK mRNA且降低KHK表达的dsRNAi寡核苷酸(在本文中称为靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸),其中寡核苷酸包含形成双螺旋区的有义链及反义链,且其中反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸。在一些实施方案中,本发明提供靶向KHK mRNA且降低KHK表达的dsRNAi寡核苷酸(在本文中称为靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸),其中寡核苷酸包含形成双螺旋区的有义链及反义链,且其中反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的KHK mRNA目标序列的互补区域,且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸。在一些实施方案中,互补区域的长度为15-20个核苷酸。在一些实施方案中,互补区域长度为15个核苷酸、16个核苷酸、17个核苷酸、18个核苷酸、19个核苷酸或20个核苷酸。在一些实施方案中,互补区域的长度为至少19个连续核苷酸。在一些实施方案中,互补区域的长度为至少20个核苷酸。在一些实施方案中,互补区域的长度为19个核苷酸。在一些实施方案中,互补区域的长度为20个核苷酸。

[0220] 在一些实施方案中,有义链的长度为15至50个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为18至36个核苷酸。在一些实施方案中,有义链包含选自SEQ ID NO:909、894、897、892、891及887的核苷酸序列,且长度为15至50个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为36个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为15至30个核苷酸。在一些实施方案中,反义链包含选自SEQ ID NO:936、920、923、917、918及913的核苷酸序列,且长度为15至50个核苷酸。在一些实施方案中,反义链的长度为22个核苷酸。在一些实施方案中,有义链的长度为36个核苷酸且反义链的长度为22个核苷酸且有义链及反义链形成长度为至少19个核苷酸的双螺旋区。在一些实施方案中,双螺旋区的长度为20个核苷酸。

[0221] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含如S1-L-S2所阐述的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环。在一些实施方案中,S1及S2的长度为1-10个核苷酸且长度相同。在一些实施方案中,S1及S2长度为1个核苷酸、2个核苷酸、3个核苷酸、4个核苷酸、5个核苷酸、6个核苷酸、7个核苷酸、8个核苷酸、9个核苷酸或10个核苷酸。在一些实施方案中,S1及S2的长度为6个核苷酸。在一些实施方案中,环的长度为3个核苷酸。在一些实施方案中,环的长度为4个核苷酸。在一些实施方案中,环的长度为5个核苷酸。在一些实施方案中,L为三环或四环环。在一些实施方案中,L为三环。在一些实施方案中,L为四环。在一些实施方案中,四环包含序

列5'-GAAA-3'。在一些实施方案中,茎环包含序列5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3'(SEQ ID NO:871)。在一些实施方案中,构成L的至多4个核苷酸各自与靶向配体结合。在一些实施方案中,构成L的1个核苷酸、2个核苷酸、3个核苷酸或4个核苷酸各自与靶向配体结合。在一些实施方案中,构成L的3个核苷酸各自与靶向配体结合。在一些实施方案中,L为包含序列5'-GAAA-3'的四环,其中构成四环的每个腺苷(A)核苷与包含单价N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分的靶向配体结合。

[0222] 在一些实施方案中,反义链包含长度为一或多个核苷酸的3'突出端。在一些实施方案中,3'突出端的长度为两(2)个核苷酸。在一些实施方案中,3'突出端的序列为5'-GG-3'。

[0223] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含长度为36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该有义链及该反义链形成长度为至少19个核苷酸,任选地长度为20个核苷酸的双螺旋区,其中该有义链的3'端包含阐述为S1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含长度为36个核苷酸的有义链及长度为22个核苷酸的反义链,其中该有义链及该反义链形成长度为至少19个核苷酸,任选地长度为20个核苷酸的双螺旋区,其中该有义链的3'端包含阐述为S1-L-S2的茎-环,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的KHK mRNA目标序列的互补区域,且其中该互补区域的长度为19个连续核苷酸,任选地长度为20个核苷酸。

[0224] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸包含具有2'修饰的五(5)碳糖(例如核糖)。在一些实施方案中,2'-修饰为选自以下的修饰:2'-氨基乙基、2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸。在一些实施方案中,2'-修饰为2'-氟或2'-O-甲基。在一些实施方案中,包含靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸的所有核苷酸经修饰。在一些实施方案中,包含靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸的所有核苷酸经选自2'-氟及2'-O-甲基的2'-修饰进行修饰。在一些实施方案中,包含靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸的所有核苷酸经2'-氟与2'-O-甲基的组合修饰。在一些实施方案中,寡核苷酸的有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:909及936;

(b)分别为SEQ ID NO:894及920;

(c)分别为SEQ ID NO:897及923;

(d)分别为SEQ ID NO:892及918;

(e)分别为SEQ ID NO:891及917;及

(f)分别为SEQ ID NO:887及913;

其中该寡核苷酸经2'-氟与2'-O-甲基的组合修饰。

[0225] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,该至少一个经修饰的核苷酸间键联为硫代磷酸酯键联。

[0226] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含反义链,其中该反义链的5'-末端核苷酸的糖的4'-碳包含磷酸酯类似物。在一些实施方案中,磷酸酯类似物为氧基甲基膦酸酯、乙烯基膦酸酯或丙二酰基膦酸酯。在一些实施方案中,磷酸酯类似物为包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基的4'-磷酸酯类似物。

[0227] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,其中构成有义链及反义链的所有核苷酸经修饰,其中反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域,且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含有义链及反义链,其中构成有义链及反义链的所有核苷酸经修饰,其中反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的核苷酸1-19的KHK mRNA目标序列的互补区域,且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸。在一些实施方案中,反义链的5'-末端核苷酸包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基-2'-O-甲基尿苷[Me膦酸酯-4O-mU],如本文所描述。在一些实施方案中,反义链的5'-末端核苷酸包含硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链及有义链包含一或多个经2'-氟(2'-F)及2'-O-甲基(2'-OMe)修饰的核苷酸及至少一个硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含四个(4)硫代磷酸酯键联,且有义链包含一个(1)硫代磷酸酯键联。在一些实施方案中,反义链包含五个(5)硫代磷酸酯键联,且有义链包含一个(1)硫代磷酸酯键联。

[0228] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:

有义链,其在位置8-11处包含2'-F修饰的核苷酸,在位置1-7、12-27及31-36处包含2'-OMe修饰的核苷酸,在位置28、29及30处包含GalNAc结合的核苷酸,及在位置1与2之间包含硫代磷酸酯键联;

反义链,其在位置2、3、4、5、7、10及14处包含2'-F修饰的核苷酸,在位置1、6、8、9、11-13及15-22处包含2'-OMe,在位置1与2、位置2与3、位置3与4、位置20与21及位置21与22之间包含硫代磷酸酯键联,及在位置1处包含含有4'-磷酸酯类似物的5'-末端核苷酸,任选地其中5'-末端核苷酸包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基-2'-O-甲基尿苷[Me膦酸酯-4O-mU];其中反义链的位置1-20与有义链的位置1-20形成双螺旋区,其中有义链的位置21-36形成茎-环,其中位置27-30形成茎-环的环,任选地其中位置27-30包含四环,其中反义链的位置21及22包含突出端,且其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;
(b)分别为SEQ ID NO:887及913;
(c)分别为SEQ ID NO:910及937;
(d)分别为SEQ ID NO:888及914;
(e)分别为SEQ ID NO:889及915;
(f)分别为SEQ ID NO:890及916;
(g)分别为SEQ ID NO:891及917;
(h)分别为SEQ ID NO:877及884;
(i)分别为SEQ ID NO:878及930;
(j)分别为SEQ ID NO:876及883;
(k)分别为SEQ ID NO:875及882;

(l)分别为SEQ ID NO:892及918;

(m)分别为SEQ ID NO:893及919;

(n)分别为SEQ ID NO:894及920;

(o)分别为SEQ ID NO:904及931;

(p)分别为SEQ ID NO:895及921;

(q)分别为SEQ ID NO:905及932;

(r)分别为SEQ ID NO:896及922;

(s)分别为SEQ ID NO:911及938;

(t)分别为SEQ ID NO:906及933;

(u)分别为SEQ ID NO:897及923;

(v)分别为SEQ ID NO:907及934;

(w)分别为SEQ ID NO:908及935;

(x)分别为SEQ ID NO:903及929;

(y)分别为SEQ ID NO:901及927;

(z)分别为SEQ ID NO:874及881;

(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;

(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;

(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;

(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;

(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;

(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及

(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:

有义链,其在位置8-11处包含2'-F修饰的核苷酸,在位置1-7、12-27及31-36处包含2'-OMe修饰的核苷酸,在位置28、29及30处包含GalNAc结合的核苷酸,及在位置1与2之间包含硫代磷酸酯键联;

反义链,其在位置2、3、4、5、7、10及14处包含2'-F修饰的核苷酸,在位置1、6、8、9、11-13及15-22处包含2'-OMe,在位置1与2、位置2与3、位置20与21及位置21与22之间包含硫代磷酸酯键联,及在位置1处包含含有4'-磷酸酯类似物的5'-末端核苷酸,任选地其中5'-末端核苷酸包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基-2'-O-甲基尿苷[Me膦酸酯-4O-mU];其中反义链的位置1-20与有义链的位置1-20形成双螺旋区,其中有义链的位置21-36形成茎-环,其中位置27-30形成茎-环的环,任选地其中位置27-30包含四环,其中反义链的位置21及22包含突出端,且其中有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;

(b)分别为SEQ ID NO:887及913;

(c)分别为SEQ ID NO:910及937;

(d)分别为SEQ ID NO:888及914;

(e)分别为SEQ ID NO:889及915;

(f)分别为SEQ ID NO:890及916;

(g)分别为SEQ ID NO:891及917;
(h)分别为SEQ ID NO:877及884;
(i)分别为SEQ ID NO:878及930;
(j)分别为SEQ ID NO:876及883;
(k)分别为SEQ ID NO:875及882;
(l)分别为SEQ ID NO:892及918;
(m)分别为SEQ ID NO:893及919;
(n)分别为SEQ ID NO:894及920;
(o)分别为SEQ ID NO:904及931;
(p)分别为SEQ ID NO:895及921;
(q)分别为SEQ ID NO:905及932;
(r)分别为SEQ ID NO:896及922;
(s)分别为SEQ ID NO:911及938;
(t)分别为SEQ ID NO:906及933;
(u)分别为SEQ ID NO:897及923;
(v)分别为SEQ ID NO:907及934;
(w)分别为SEQ ID NO:908及935;
(x)分别为SEQ ID NO:903及929;
(y)分别为SEQ ID NO:901及927;
(z)分别为SEQ ID NO:874及881;
(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;
(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;
(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;
(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;
(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;
(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及
(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

[0229] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:887中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:913中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:891中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:917中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:892中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:918中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:894中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:920中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:897中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:923中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶

向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:909中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:936中所阐述的核苷酸序列的反义链。

[0230] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:948中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0231] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:949中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0232] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:950中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0233] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:951中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0234] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:952中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0235] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含:(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:953中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0236] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:948中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0237] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度

为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:949中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0238] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:950中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0239] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:951中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0240] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:952中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0241] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:953中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及3'末端的茎-环,其中该茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3-5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0242] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:948中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:942中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0243] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:949中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:943中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0244] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:950中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:944中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0245] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:951中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:945中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0246] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:952中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:946中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0247] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:953中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:947中,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0248] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:948中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:942中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0249] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:949中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:943中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0250] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:950中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:944中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核

苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0251] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:951中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:945中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0252] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:952中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:946中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0253] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中互补区域阐述于SEQ ID NO:953中;及(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含反义链的互补区域及在3'末端的茎-环,其中反义链的互补区域阐述于SEQ ID NO:947中,其中茎-环阐述为S1-L-S2,其中S1与S2互补且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环,其中反义链及有义链为形成在反义链的3'末端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

[0254] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含以下的修饰模式:

有义链:5'-mX-S-mX-mX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX-3'。

与以下杂交:

反义链:5'-[Me膦酸酯-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-fX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-S-mX-S-mX-3';

其中mX=2'-O-甲基修饰的核苷酸,fX=2'-氟修饰的核苷酸,-S-=硫代磷酸酯键联,-=磷酸二酯键联,[Me膦酸酯-4O-mX]=5'-甲氧基膦酸酯-4-氧基修饰的核苷酸,及ademA-GalNAc=与腺嘌呤核苷酸连接的GalNAc。

[0255] 在一些实施方案中,用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含以下的修饰模式:

有义链:5'-mX-S-mX-fX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-mX-fX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX-3'。

与以下杂交：

反义链:5'-[Me膦酸酯-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-fX-fX-mX-fX-fX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-S-mX-S-mX-3';

其中mX＝2'-O-甲基修饰的核苷酸,fX＝2'-氟修饰的核苷酸,-S-＝硫代磷酸酯键联,-＝磷酸二酯键联,[Me膦酸酯-4O-mX]＝5'-甲氧基膦酸酯-4-氧基修饰的核苷酸,及ademA-GalNAc＝与腺嘌呤核苷酸连接的GalNAc。

[0256] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含选自SEQ ID NO:774-804的有义链及选自SEQ ID NO:819-849的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:775中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:820中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:779中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:824中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:780中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:825中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:782中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:827中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:785中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:830中所阐述的核苷酸序列的反义链。在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有如SEQ ID NO:804中所阐述的核苷酸序列的有义链及含有如SEQ ID NO:849中所阐述的核苷酸序列的反义链。

[0257] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列：

(a)分别为SEQ ID NO:774及819；

(b)分别为SEQ ID NO:775及820；

(c)分别为SEQ ID NO:776及821；

(d)分别为SEQ ID NO:777及822；

(e)分别为SEQ ID NO:778及823；

(f)分别为SEQ ID NO:779及824；

(g)分别为SEQ ID NO:780及825；

(h)分别为SEQ ID NO:781及826；

(i)分别为SEQ ID NO:782及827；

(j)分别为SEQ ID NO:783及828；

(k)分别为SEQ ID NO:784及829；

(l)分别为SEQ ID NO:785及830；

(m)分别为SEQ ID NO:786及831；

(n)分别为SEQ ID NO:787及832；

(o)分别为SEQ ID NO:788及833；

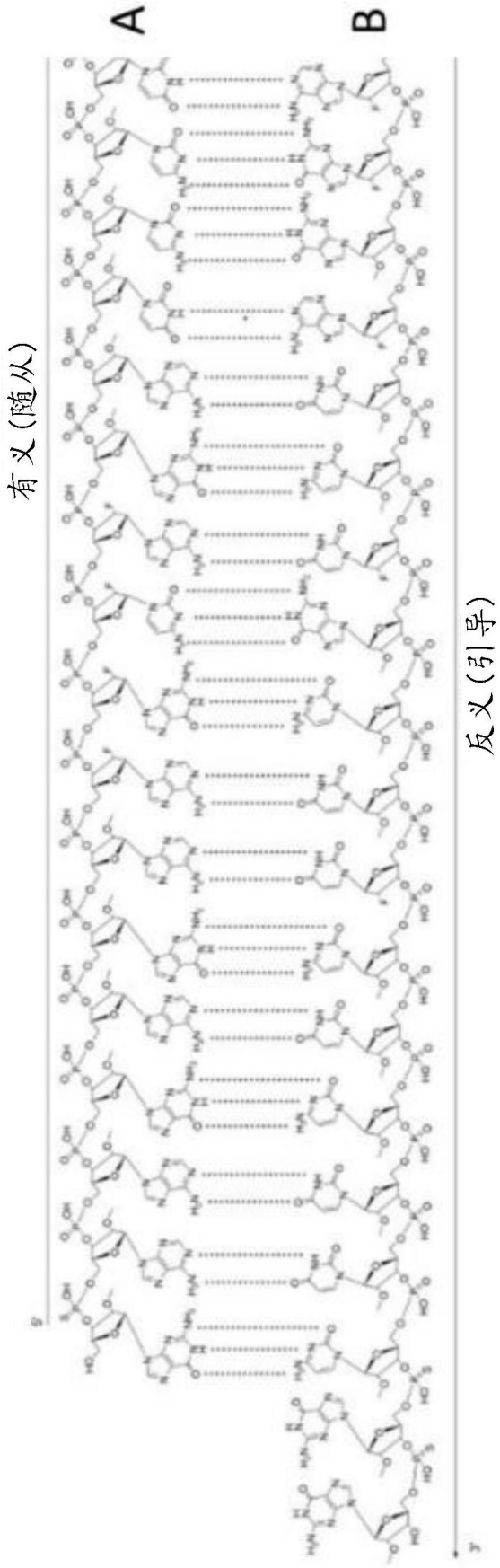
(p)分别为SEQ ID NO:789及834;
(q)分别为SEQ ID NO:790及835;
(r)分别为SEQ ID NO:791及836;
(s)分别为SEQ ID NO:792及837;
(t)分别为SEQ ID NO:793及838;
(u)分别为SEQ ID NO:794及839;
(v)分别为SEQ ID NO:795及840;
(w)分别为SEQ ID NO:796及841;
(x)分别为SEQ ID NO:797及842;
(y)分别为SEQ ID NO:798及843;
(z)分别为SEQ ID NO:799及844;
(aa)分别为SEQ ID NO:800及845;
(bb)分别为SEQ ID NO:801及846;
(cc)分别为SEQ ID NO:802及847;
(dd)分别为SEQ ID NO:803及848;及
(ee)分别为SEQ ID NO:804及849。

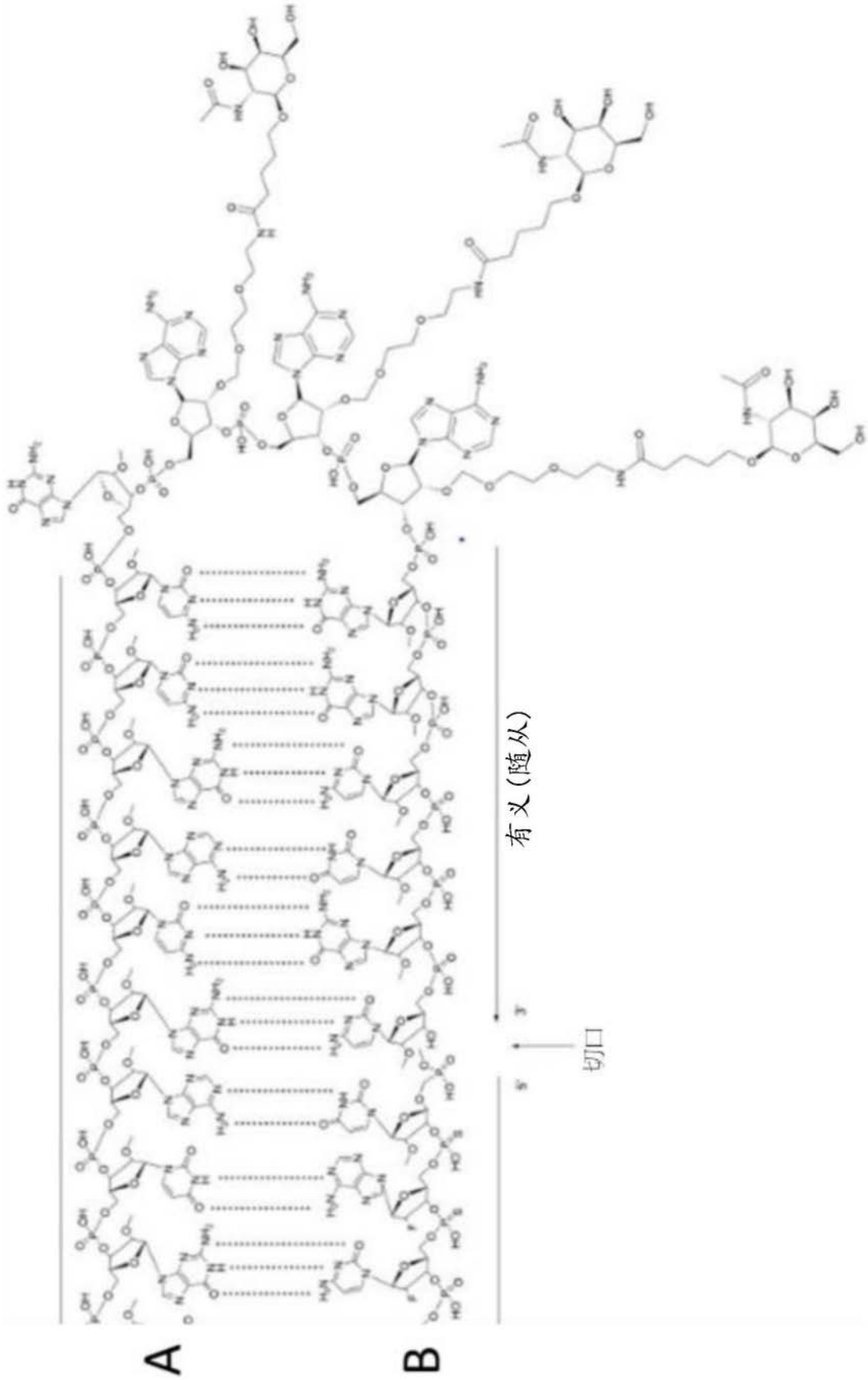
[0258] 在一些实施方案中,本发明所提供的用于降低KHK表达的靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含选自SEQ ID NO:805-818的有义链及选自SEQ ID NO:850-863的反义链。

[0259] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸有义链及反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

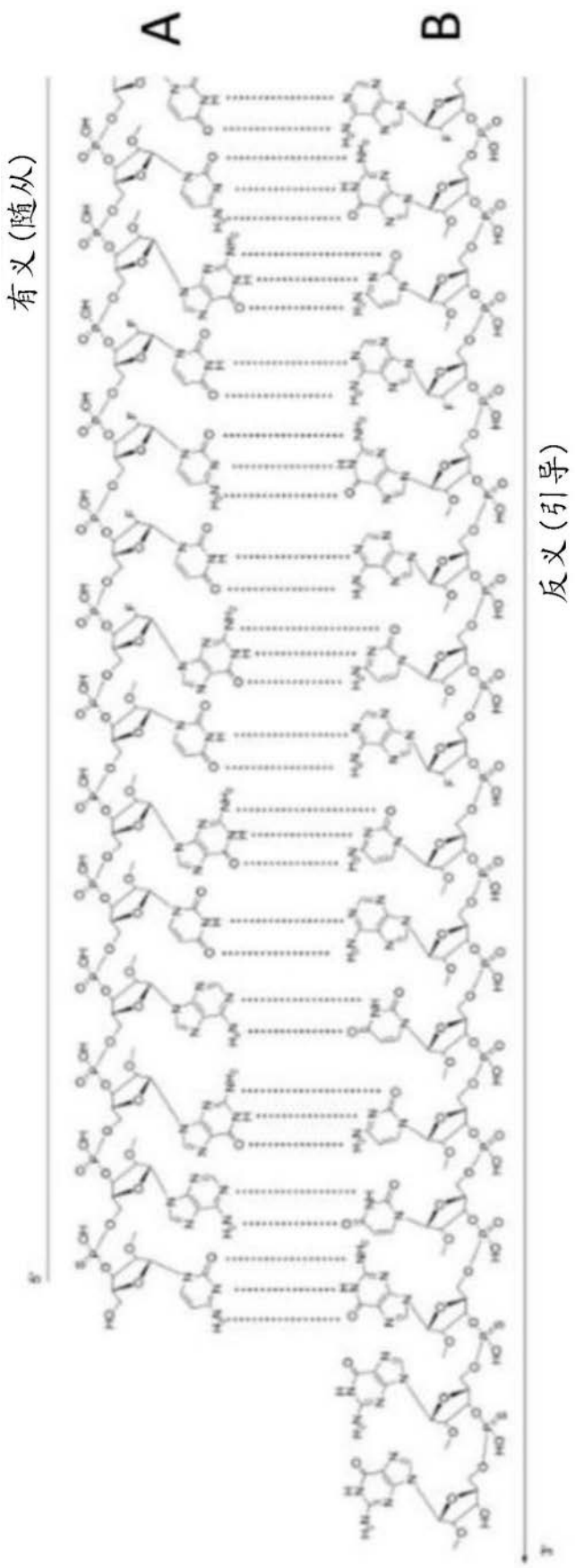
(a)分别为SEQ ID NO:805及850;
(b)分别为SEQ ID NO:806及851;
(c)分别为SEQ ID NO:807及852;
(d)分别为SEQ ID NO:808及853;
(e)分别为SEQ ID NO:809及854;
(f)分别为SEQ ID NO:810及855;
(g)分别为SEQ ID NO:811及856;
(h)分别为SEQ ID NO:812及857;
(i)分别为SEQ ID NO:813及858;
(j)分别为SEQ ID NO:814及859;
(k)分别为SEQ ID NO:815及860;
(l)分别为SEQ ID NO:816及861;
(m)分别为SEQ ID NO:817及862;及
(n)分别为SEQ ID NO:818及863。

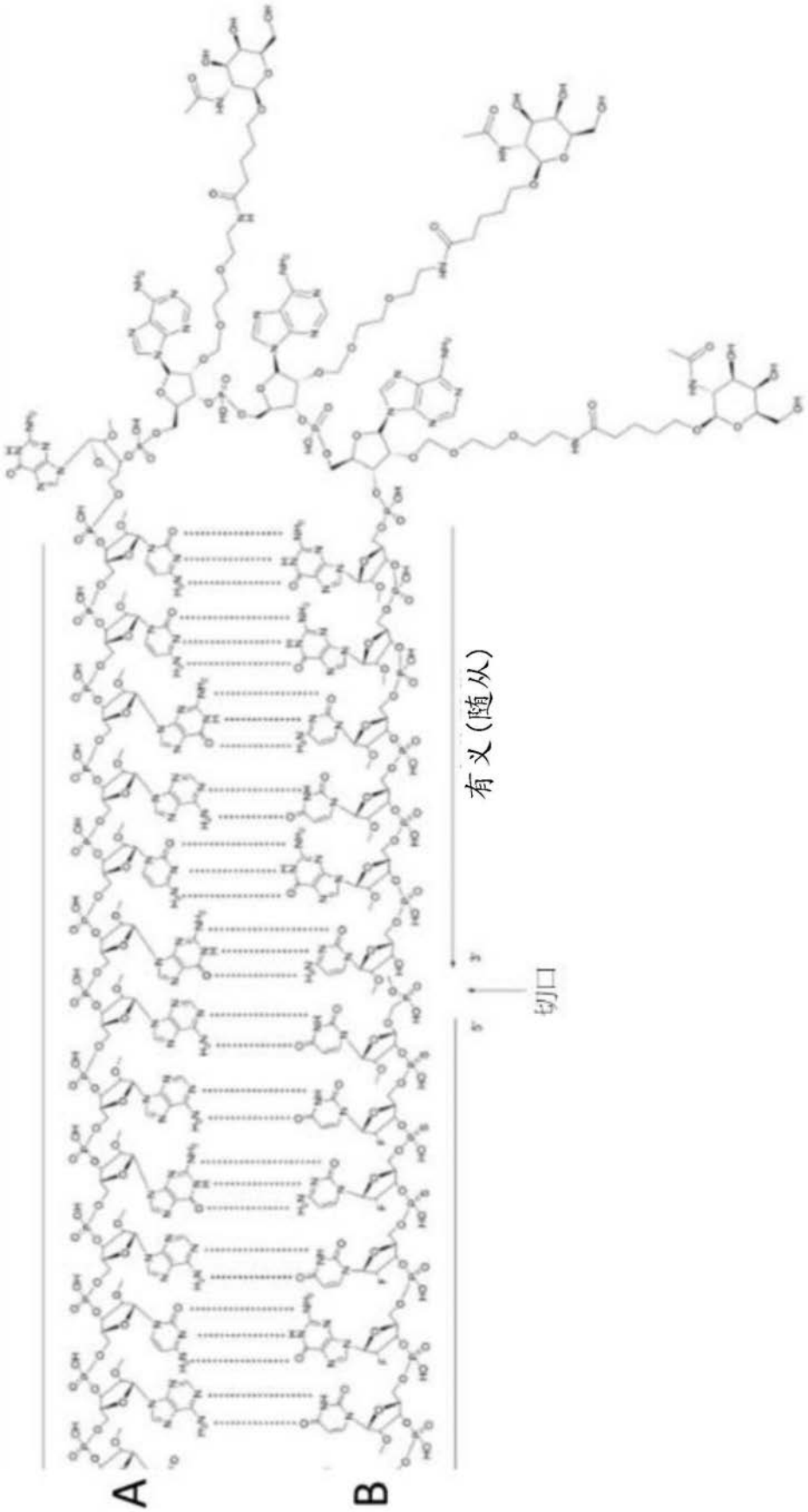
[0260] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:775的有义链及含有SEQ ID NO:820的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)

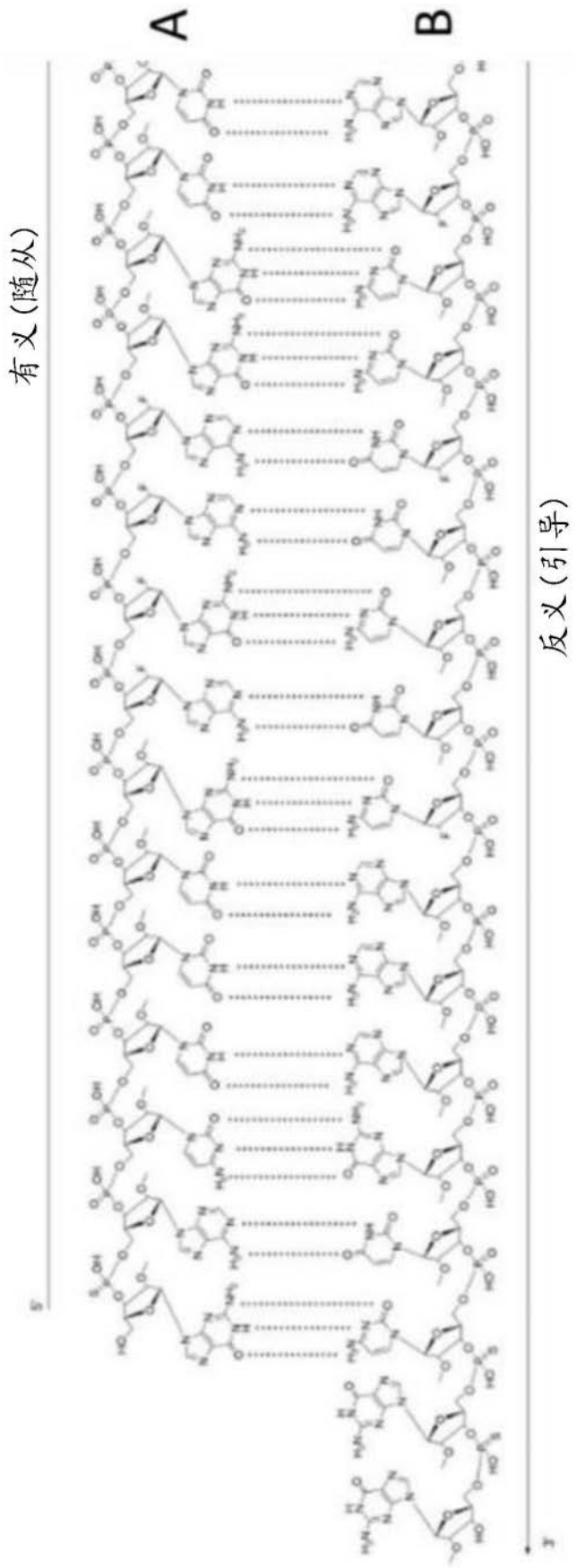


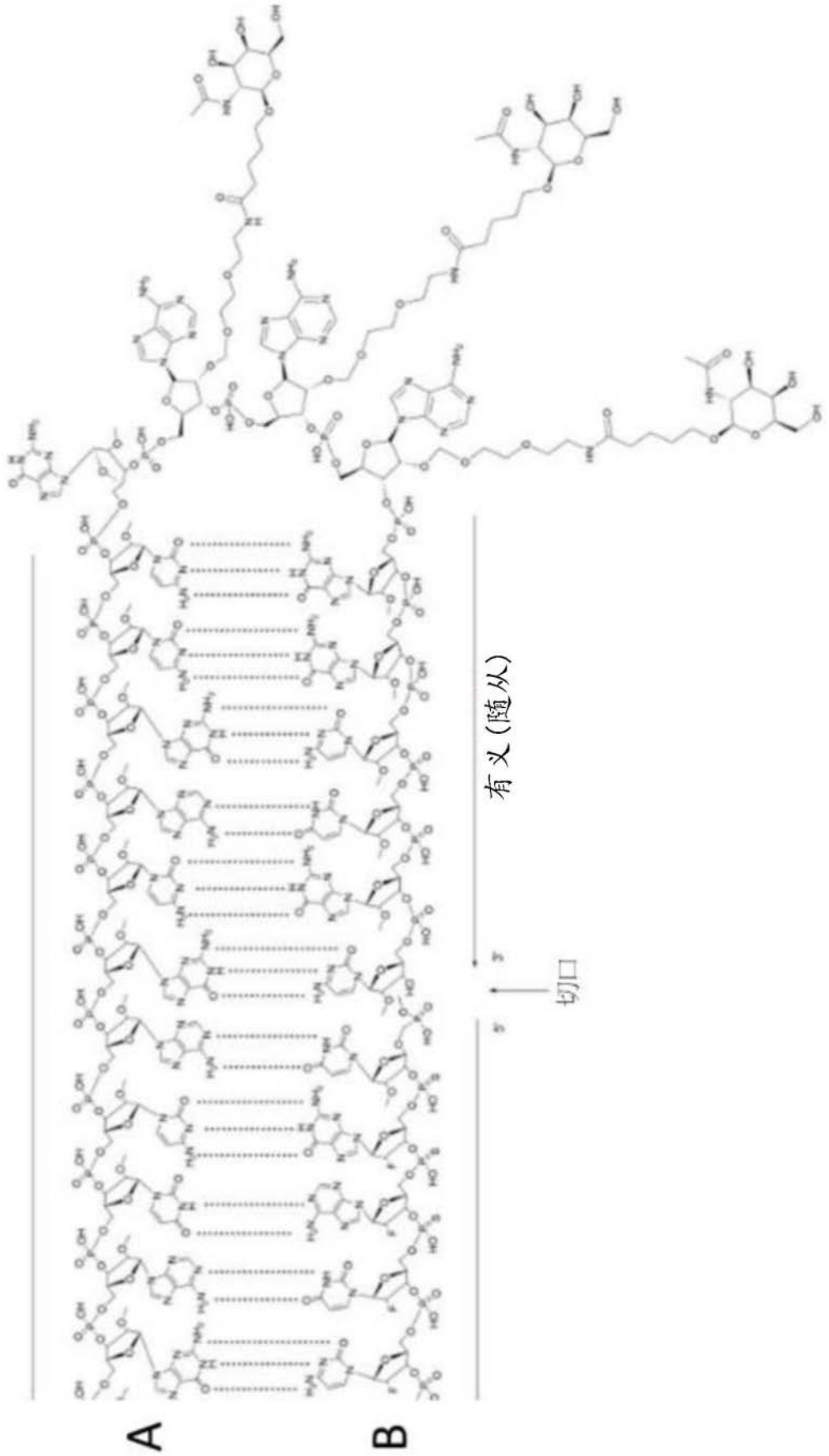

[0261] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:779的有义链及含有SEQ ID NO:824的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)

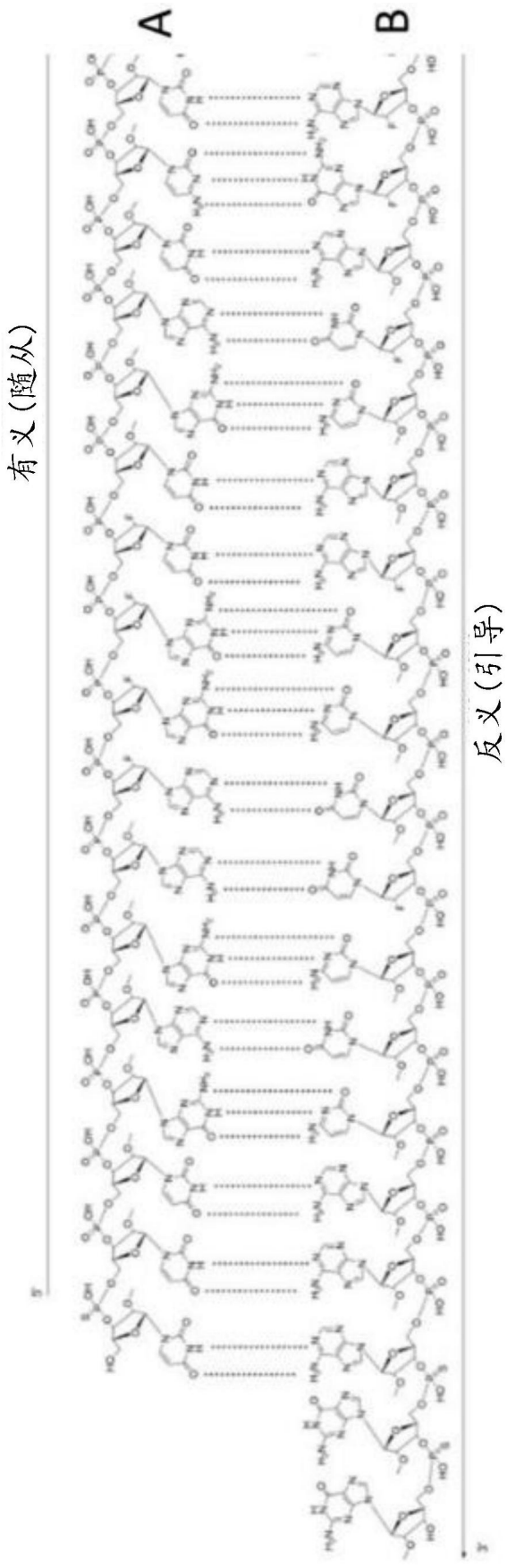


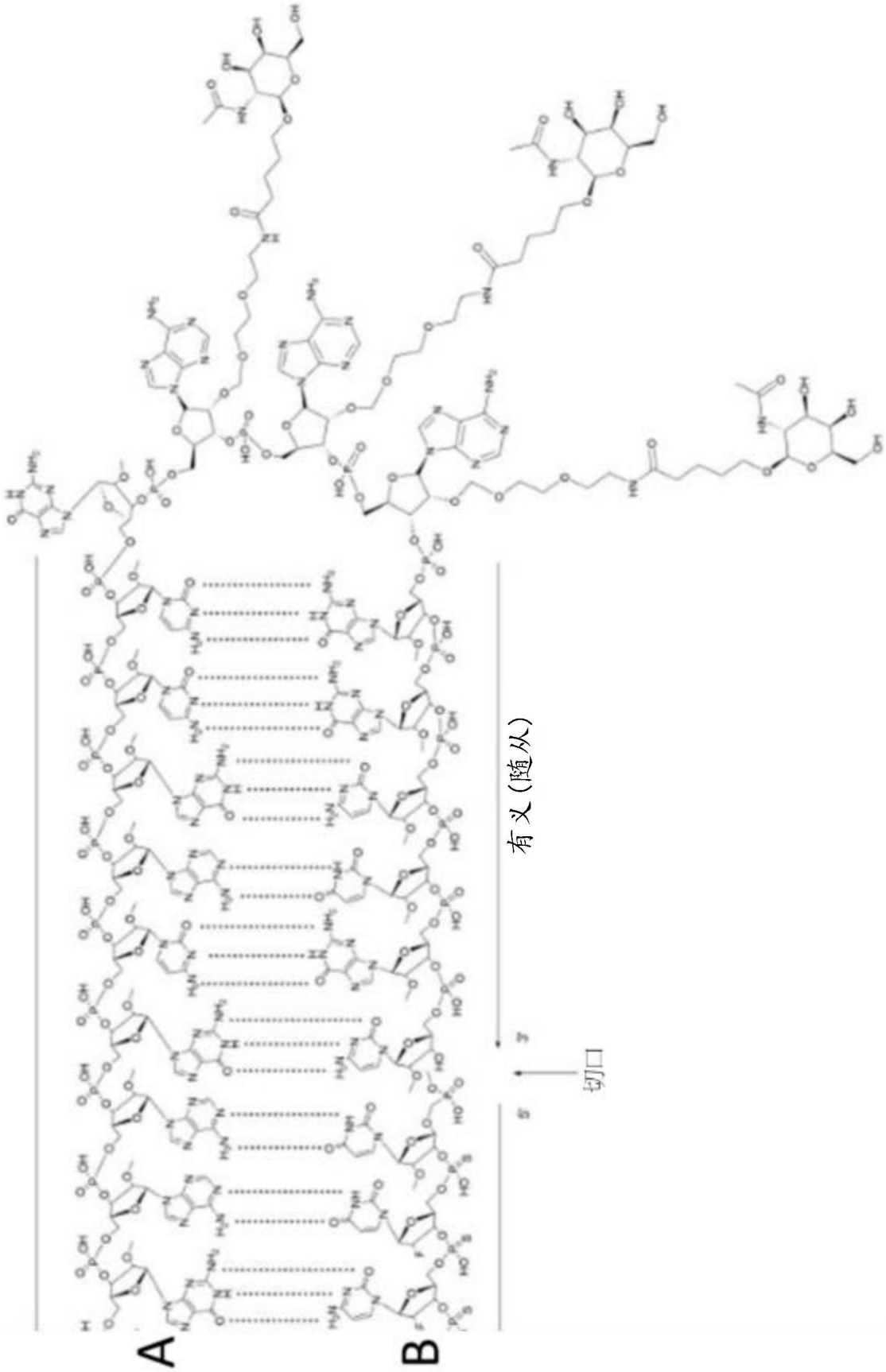

[0262] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:780的有义链及含有SEQ ID NO:825的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)

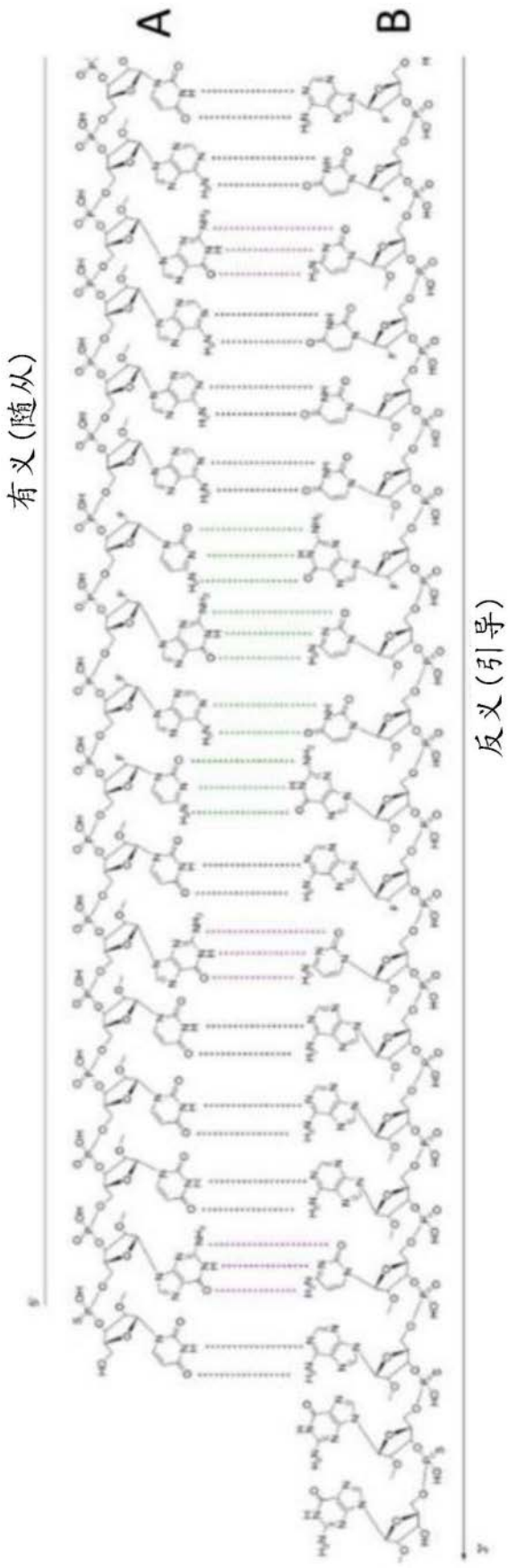


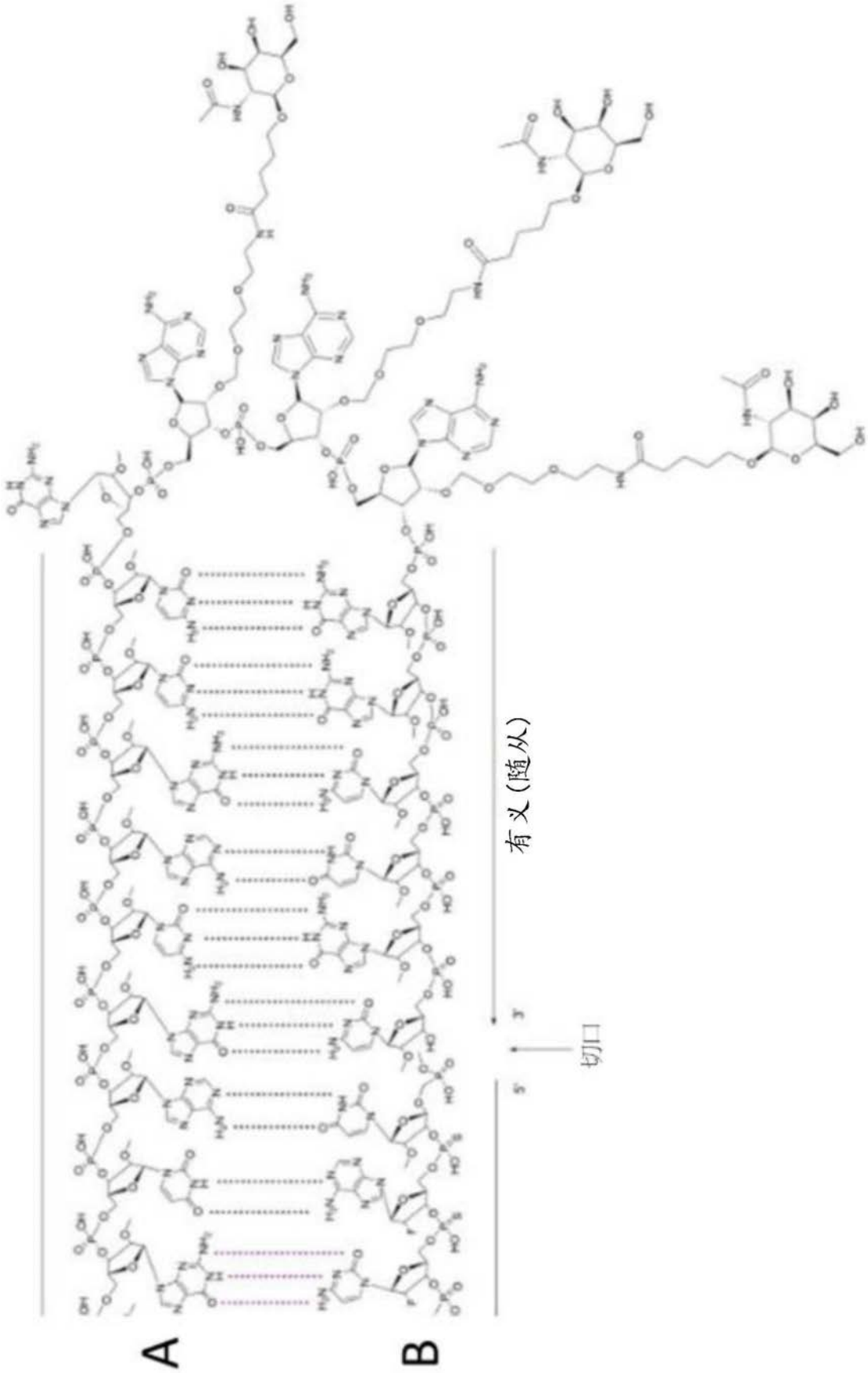

[0263] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:782的有义链及含有SEQ ID NO:827的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)

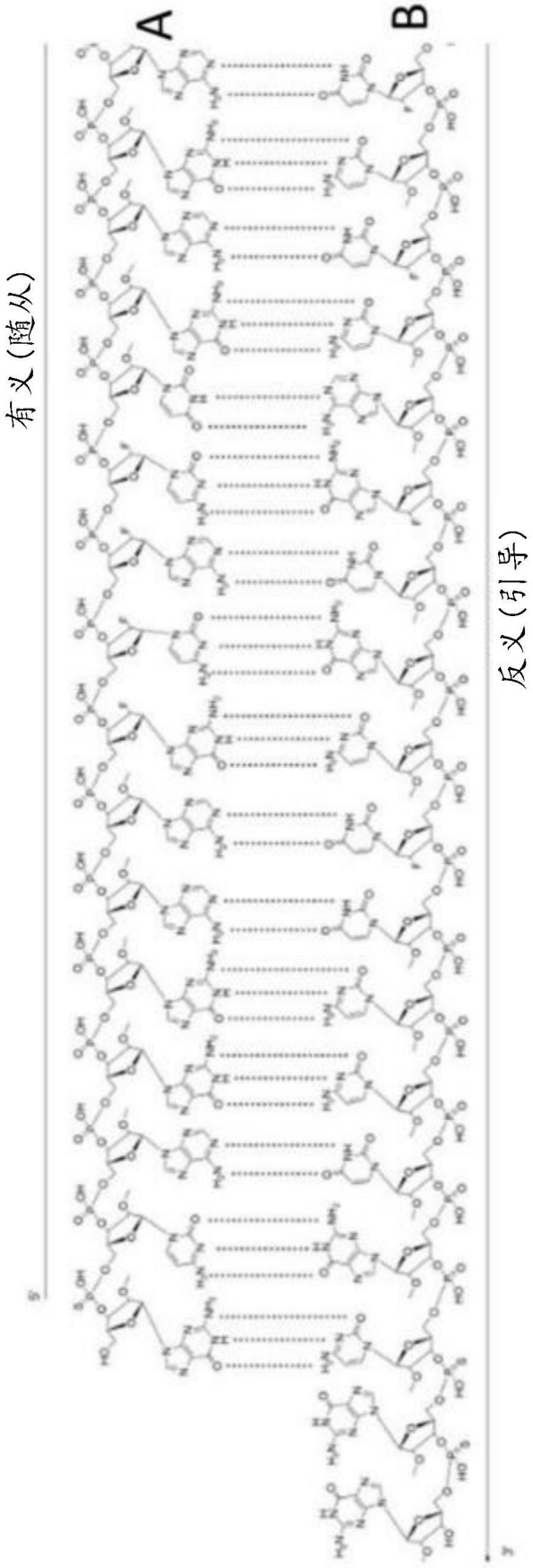


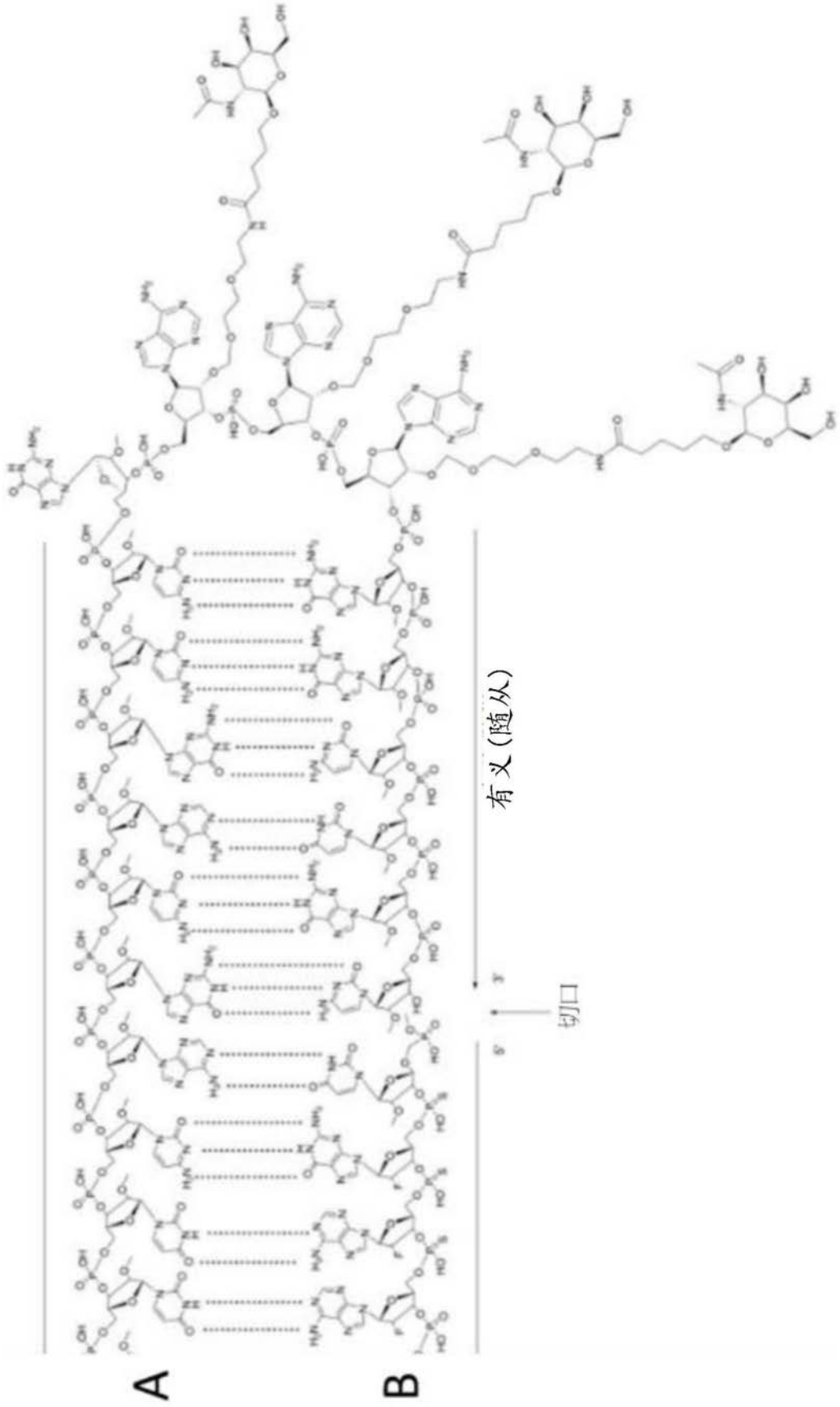

[0264] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:785的有义链及含有SEQ ID NO:830的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)




[0265] 在一些实施方案中,靶向KHK的dsRNAi寡核苷酸包含含有SEQ ID NO:804的有义链及含有SEQ ID NO:849的反义链,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:


A
B
有义(随从)
反义(引导)




配制剂

[0266] 已研发出促进寡核苷酸使用的各种配制剂。例如,可使用配制剂将寡核苷酸(例如

dsRNAi寡核苷酸)递送至受试者或细胞环境,该配制剂使降解最小化,促进递送及/或吸收,或为配制剂中的寡核苷酸提供另一有益特性。在一些实施方案中,本文提供组合物,其包含降低KHK表达的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)。此类组合物可经适当调配,以使得当向受试者施用时,无论施用目标细胞的直接环境中或全身性施用,足够部分的寡核苷酸进入细胞以降低KHK表达。合适的寡核苷酸配制剂的任何变体可用于递送如本文所公开的用于降低KHK的寡核苷酸。在一些实施方案中,将寡核苷酸调配于诸如磷酸盐缓冲盐水溶液的缓冲溶液、脂质体、微胞结构及衣壳中。本文所描述的任一寡核苷酸可不仅以核酸形式,且液以药学上可接受的盐形式提供。

[0267] 寡核苷酸与阳离子型脂质的配制剂可用于促进将寡核苷酸转染至细胞中。例如,可使用阳离子型脂质(诸如脂质体)、阳离子甘油衍生物及多阳离子分子(例如聚赖氨酸)。合适的脂质包括Oligofectamine、Lipofectamine(Life Technologies)、NC388(Ribozyme Pharmaceuticals,Inc.,Boulder,Colo.)或FuGene6(Roche),以上所有都可根据制造商的说明书使用。

[0268] 因此,在一些实施方案中,配制剂包含脂质纳米颗粒。在一些实施方案中,赋形剂包含脂质体、脂质、脂质复合物、微球体、微粒、纳米球或纳米颗粒,或可另外调配以供施用至有需要的受试者的细胞、组织、器官或身体(参见例如Remington:THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY,第22版,Pharmaceutical Press,2013)。

[0269] 在一些实施方案中,本文中的配制剂包含赋形剂。在一些实施方案中,赋形剂赋予组合物改善的稳定性、改善的吸收、改善的溶解性及/或活性成分的治疗性增强。在一些实施方案中,赋形剂为缓冲剂(例如,柠檬酸钠、磷酸钠、Tris碱或氢氧化钠)或媒介物(例如,缓冲溶液、石蜡油、二甲亚砜或矿物油)。在一些实施方案中,寡核苷酸经冻干以供延长其储存期限且随后在使用前制成溶液(例如,施用至受试者)。因此,包含本文中描述的寡核苷酸中的任一者的组合物中的赋形剂可为冻干保护剂(例如,甘露糖醇、乳糖、聚乙二醇或聚乙烯吡咯啶酮),或崩塌温度调节剂(例如,聚葡萄糖、Ficoll™或明胶)。

[0270] 在一些实施方案中,药物组合物经配制可与其预期施用途径兼容。施用途径的实例包括非经肠(例如静脉内、肌内、腹膜内、皮内、皮下)、口腔(例如吸入)、经皮(例如表面)、经黏膜及经直肠施用。

[0271] 适合于可注射使用的药物组合物包括无菌水溶液(当水溶性时)或分散液及用于临时制备无菌可注射溶液或分散液的无菌粉末。对于静脉内施用,适合的载剂包括生理盐水、抑菌水、Cremophor EL™(BASF,Parsippany,N.J.)或磷酸盐缓冲盐水(PBS)。载剂可为含有例如水、乙醇、多元醇(例如甘油、丙二醇及液体聚乙二醇及其类似物)及其适合混合物的溶剂或分散介质。在许多情况下,组合物中将优选包括等渗剂,例如糖、多元醇(诸如甘露糖醇、山梨醇)、氯化钠。可通过将寡核苷酸以所需量与上文所列举的一种成分或成分组合并入于所选溶剂中,(视需要)随后过滤灭菌来制备无菌可注射溶液。

[0272] 在一些实施方案中,组合物可含有至少约0.1%治疗剂(例如用于降低KHK表达的dsRNAi寡核苷酸)或更高,但活性成分的百分比可在总组合物的重量或体积的约1%至约80%或更高之间。制备此类药物配制剂的本领域技术人员应考虑因素诸如溶解度、生物利用度、生物半衰期、施用途径、产物存放期以及其他药理学考虑因素,且因此,各种剂量及治疗方案可为可取的。

使用方法

降低KHK表达

[0273] 在一些实施方案中,本发明提供用于使有效量的本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)接触细胞或细胞群或递送至细胞或细胞群中以降低KHK表达的方法。在一些实施方案中,通过测量细胞中KHK mRNA、KHK蛋白或KHK活性的量或水平的降低来测定KHK表达的降低。所述方法包括本文所描述及本领域技术人员已知的方法。

[0274] 本文提供的方法适用于任何适当细胞类型。在一些实施方案中,细胞为表达KHK mRNA(例如肝细胞)的任何细胞。在一些实施方案中,细胞为获自受试者的原代细胞。在一些实施方案中,原代细胞已进行有限数目的传代,使得细胞实质上维持其天然表型特性。在一些实施方案中,向其递送寡核苷酸的细胞是离体或体外的(即,可递送至培养物中的细胞或递送至细胞驻存的生物体)。

[0275] 在一些实施方案中,可使用本领域中已知的核酸递送方法将本文中公开的寡核苷酸递送至细胞或细胞群,包括但不限于,注射含有寡核苷酸的溶液、通过寡核苷酸覆盖的颗粒进行轰击、将细胞或细胞群暴露于含有寡核苷酸的溶液,或在寡核苷酸的存在下进行细胞膜的电穿孔。可使用本领域中已知的其他用于将寡核苷酸递送至细胞的方法,诸如脂质介导的载剂运输、化学介导的运输及阳离子型脂质体转染(诸如磷酸钙)等等。

[0276] 在一些实施方案中,KHK表达的降低是通过评估与KHK表达相关的细胞或细胞群的一或多个分子、特性或特征的分析或技术,或通过评估直接指示细胞或细胞群中KHK表达的分子(例如KHK mRNA或KHK蛋白质)的分析或技术来测定。在一些实施方案中,本文提供的寡核苷酸降低KHK表达的程度是通过将与寡核苷酸接触的细胞或细胞群中的KHK表达与合适的对照(例如,不与该寡核苷酸接触或与对照寡核苷酸接触的合适的细胞或细胞群)进行比较来评估。在一些实施方案中,预先确定对照细胞或细胞群中的KHK表达的对照量或水平,使得对照量或水平不必在进行分析或技术的每一情况下测量。预先确定的含量或值可呈多种形式。在一些实施方案中,预先测定的含量或值可为单一截止值,诸如中位数或平均值。

[0277] 在一些实施方案中,将本文所描述的寡核苷酸(例如,dsRNAi寡核苷酸)接触或递送至细胞或细胞群导致未接触寡核苷酸或接触对照寡核苷酸的细胞或细胞群中的KHK表达降低。在一些实施方案中,相对于KHK表达的对照量或水平,KHK表达的降低为约1%或更低、约5%或更低、约10%或更低、约15%或更低、约20%或更低、约25%或更低、约30%或更低、约35%或更低、约40%或更低、约45%或更低、约50%或更低、约55%或更低、约60%或更低、约70%或更低、约80%或更低或约90%或更低。在一些实施方案中,KHK表达的对照量或水平为未与本文中的寡核苷酸接触的细胞或细胞群中的KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平。在一些实施方案中,根据本文中的方法将寡核苷酸递送至细胞或细胞群的效果是在任何有限时段或时间量(例如数分钟、数小时、数天、数周、数月)之后评定的。例如,在一些实施方案中,在使寡核苷酸与细胞或细胞群接触或将其递送至细胞或细胞群至少约4小时、约8小时、约12小时、约18小时、约24小时;或至少约1天、约2天、约3天、约4天、约5天、约6天、约7天、约8天、约9天、约10天、约11天、约12天、约13天、约14天、约21天、约28天、约35天、约42天、约49天、约56天、约63天、约70天、约77天或约84天或更久后,测定细胞或细胞群中的KHK表达。在一些实施方案中,在将寡核苷酸接触或递送至细胞或细胞群之后至少约1个月、约2个月、约3个月、约4个月、约5个月或约6个月或更久测定细胞或细胞群中的KHK表达。

[0278] 在一些实施方案中,寡核苷酸以转基因形式递送,该转基因经工程化以在细胞中表达寡核苷酸或包含寡核苷酸的链(例如,其有义链及反义链)。在一些实施方案中,使用经工程化以表达本文公开的任何寡核苷酸的转基因来递送寡核苷酸。转基因可使用病毒载体(例如腺病毒、反转录病毒、痘苗病毒、痘病毒、腺相关病毒或单纯疱疹病毒)或非病毒载体(例如质粒或合成mRNA)递送。在一些实施方案中,转基因可直接注射至受试者。

治疗方法

[0279] 本发明提供寡核苷酸,其适用作药物,尤其供在治疗与KHK表达相关的疾病、病症及病状的方法中使用。本发明还提供寡核苷酸,其用于或可适用于治疗将受益于降低KHK表达的受试者(例如患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的人类)。在一些方面中,本发明提供寡核苷酸,其用于或经调适用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者。本发明还提供寡核苷酸,其用于或可调适用于制造供治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状用的药剂或药物组合物。在一些实施方案中,供使用或可调适供使用的寡核苷酸靶向KHK mRNA且降低KHK表达(例如经由RNAi途径)。在一些实施方案中,供使用或可调适供使用的寡核苷酸靶向KHK mRNA且降低KHK mRNA、KHK蛋白质及/或KHK活性的量或水平。

[0280] 另外,在本文中的方法的一些实施方案中,选择患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状或倾向于此的受试者用本文中的寡核苷酸(例如双链寡核苷酸)进行治疗。在一些实施方案中,该方法包括选择具有与KHK表达相关的疾病、病症或病况或倾向于此的标记物(例如生物标记物)的个体,该标记物诸如但不限于KHK mRNA、KHK蛋白质或其组合。同样且如下详述,由本发明提供的方法的一些实施方案包括诸如以下的步骤:测量或获得KHK表达的标记物(例如KHK)的基线值,及随后将此类所得值与一或多个其他基线值或在向受试者施用寡核苷酸后得到的值进行比较,以评定治疗效用。

[0281] 本发明还提供用本文提供的寡核苷酸来治疗患有KHK表达相关的疾病、病症或病状,疑似患有该疾病、病症或病状或处于发展该疾病、病症或病状风险下的受试者的方法。在一些方面中,本发明提供使用本文中的寡核苷酸来治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状或缓解其发作或进展的方法。在其他方面中,本发明提供使用本文提供的寡核苷酸在患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者中实现一或多种治疗益处的方法。在本文中的方法的一些实施方案中,通过施用治疗有效量的本文提供的寡核苷酸中的任一者或多者来治疗受试者。在一些实施方案中,治疗包含降低KHK表达。在一些实施方案中,治疗性治疗受试者。在一些实施方案中,预防性治疗受试者。

[0282] 在本文方法的一些实施例中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的一或多种寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含一或多种寡核苷酸的药物组合物,使得受试者中的KHK表达降低,由此治疗该受试者。在一些实施方案中,降低受试者中的KHK mRNA的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的KHK蛋白质的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的KHK活性的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中甘油三酯(TG)(例如一或多种TG或总TG)的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的血浆葡萄糖的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的血压(例如,收缩压、舒张压或两者)的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的腹部脂肪的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中胆固醇(例如总胆固醇、LDL胆固醇及/或HDL胆固醇)的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者中的肝脂肪变性的量或水平。在一些实施方案中,降低受试者

中的肝纤维化的量或水平。在一些实施方案中,受试者中总胆固醇与HDL胆固醇的比率改变。在一些实施方案中,受试者中以下的任何组合降低或改变:KHK表达、KHK mRNA的量或水平、KHK蛋白质的量或水平、KHK活性的量或水平、血糖的量或水平、腹部脂肪的量或水平、血压的量或水平、TG的量或水平、胆固醇的量或水平及/或总胆固醇与HDL胆固醇的比率、肝脂肪变性的量或程度及肝纤维化的量或水平。

[0283] 在本文方法的一些实施方案中,向患有与KHK相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含寡核苷酸的药物组合物,使得相比于施用一或多种寡核苷酸或药物组合物之前的KHK表达,KHK表达在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受一或多种寡核苷酸或药物组合物或接受一或多种对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的KHK表达时,KHK表达在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。

[0284] 在本文中的方法的一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的一或多种寡核苷酸或包含一或多种寡核苷酸的药物组合物,使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的KHK mRNA的量或水平时,KHK mRNA的量或水平在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受一或多种寡核苷酸或药物组合物或接受一或多种对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的KHK mRNA的量或水平时,KHK mRNA的量或水平在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。

[0285] 在本文中的方法的一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用一或多种本文中的寡核苷酸或包含一或多种寡核苷酸的药物组合物,使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的KHK蛋白的量或水平时,KHK蛋白的量或水平在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受一或多种寡核苷酸或药物组合物或接受一或多种对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的KHK蛋白质的量或水平时,KHK蛋白质的量或水平在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。

[0286] 在本文中的方法的一些实施方案中,向患有与KHK相关的疾病、病症或病状的受试者施用一或多种本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含一或多种寡核苷酸的药物组合物,以使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的KHK活性的量或水平时,KHK活动/表达的量或水平在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受寡核苷酸或药物组合物或接受对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的KHK活性的量或水平时,KHK活性

的量或水平在受试者中降低至少约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或高于99％。

[0287] 在本文中的方法的一些实施方案中，向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的寡核苷酸或包含寡核苷酸的药物组合物，使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的TG的量或水平时，TG(例如一或多种TG或总TG)的量或水平在受试者中降低至少约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或高于99％。在一些实施方案中，当相较于未接受寡核苷酸或药物组合物或接受对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如，参考或对照受试者)中的TG的量或水平时，TG的量或水平在受试者中降低至少约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或高于99％。

[0288] 一般而言，人类患者的正常或所期望的TG范围为＜150mg/dL血液，其中＜100视为理想的。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有≥150mg/dL的TG的量或水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有150至199mg/dL范围内的TG的量或水平，其视为边界高TG水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有200至499mg/dL范围内的TG的量或水平，其被视为高TG水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有在500mg/dL或更高(即，≥500mg/dL)范围内的TG的量或水平，其视为极高TG水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有≥150mg/dL、≥200mg/dL或≥500mg/dL的TG的量或水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有200至499mg/dL或500mg/dL或更高的TG的量或水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有≥200mg/dL的TG的量或水平。在本文中的方法的一些实施方案中，向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含寡核苷酸的药物组合物，使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的胆固醇的量或水平时，胆固醇(例如总胆固醇、LDL胆固醇及/或HDL胆固醇)的量或水平在受试者中降低至少约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或高于99％。在一些实施方案中，当相较于未接受寡核苷酸或药物组合物或接受对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如，参考或对照受试者)中的胆固醇的量或水平时，胆固醇的量或水平在受试者中降低至少约30％、约35％、约40％、约45％、约50％、约55％、约60％、约65％、约70％、约75％、约80％、约85％、约90％、约95％、约99％或高于99％。

[0289] 一般而言，成人患者的正常或所期望的胆固醇范围(总胆固醇)为<200mg/dL血液。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有≥200mg/dL的胆固醇的量或水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有200至239mg/dL范围内的胆固醇的量或水平，其视为边界高胆固醇水平。在一些实施方案中，鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有240mg/dL及更高(即，≥240mg/dL)范围内的胆固醇的量或水平，此视为高胆固醇水平。在一些实施方案中，选自治疗或经治疗的患者鉴别或确定具有200至239mg/dL或240mg/dL或更高的胆固醇的量或水平。在一些实施方案中，经选择用于治疗或经治疗的患者鉴别或确定具有≥200mg/dL或≥240mg/dL或更高的胆固醇

的量或水平。

[0290] 在本文中的方法的一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病况的受试者施用本文中的寡核苷酸或包含寡核苷酸的药物组合物,使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物前的肝纤维化的量或程度时,肝纤维化的量或程度在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受寡核苷酸或药物组合物或接受对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的肝纤维化的量或程度时,肝纤维化的量或程度在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。

[0291] 在本文中的方法的一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的寡核苷酸或包含寡核苷酸的药物组合物,使得当相较于在施用寡核苷酸或药物组合物之前的肝脂肪变性的量或程度时,肝脂肪变性的量或程度在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。在一些实施方案中,当相较于未接受寡核苷酸或药物组合物或接受对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者(例如,参考或对照受试者)中的肝脂肪变性的量或程度时,肝脂肪变性的量或程度在受试者中降低至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或高于99%。

[0292] 本领域中已知用于测定受试者中或来自受试者的样品中KHK表达,KHK mRNA、KHK蛋白质、KHK活性、TG、血浆葡萄糖的量或水平,或胆固醇量或活性的适合方法。此外,本文所阐述的实施例说明用于测定KHK表达的方法。

[0293] 在一些实施方案中,KHK表达,KHK mRNA、KHK蛋白、KHK活性、TG、血浆葡萄糖或胆固醇的量或水平在细胞(例如肝细胞)、细胞群或群组(例如胞器)、器官(例如肝脏)、血液或其一部分(例如血浆)、组织(例如肝脏组织)、样品(例如肝脏活检样品)或获自或分离自受试者的任何其他适当生物材料中是降低的。在一些实施方案中,KHK表达,KHK mRNA、KHK蛋白、KHK活性、TG、血浆葡萄糖或胆固醇或其任何组合的量或水平在一个以上类型的细胞(例如,肝细胞及一或多个其他类型的细胞)、一个以上细胞群组、一个以上器官(例如,肝脏及一或多个其他器官)、一个以上部分的血液(例如血浆及一或多个其他血液成分)、一个以上类型的组织(例如肝脏组织及一或多个其他类型的组织),或超过一个类型的样品(例如肝脏活检样品及一或多个其他类型的活检样品)中是降低的。

[0294] 一般而言,人类患者的正常或所期望的血糖含量<140mg/dL。进食之后两小时介于140与199mg/dL之间的血糖含量指示前驱糖尿病,且>200mg/dL指示糖尿病。在一些实施方案中,鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有介于约140mg/dL与约199mg/dL之间的血糖含量,此视为前驱糖尿病。在一些实施方案中,鉴别或确定经选择用于治疗或经治疗的患者具有≥200mg/dL的血糖含量,此视为糖尿病。在本文中方法的一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含该寡核苷酸的药物组合物,使得血糖的量或水平降低至正常或前驱糖尿病范围。

[0295] 与KHK表达相关的疾病、病症或病状的实例包括但不限于葡萄糖不耐、前驱糖尿

病、1型糖尿病、2型糖尿病、代谢性肝病、非酒精性脂肪肝病(NAFLD)、非酒精性脂肝炎(NASH)、药物诱导的肝病、酒精诱导的肝病、传染剂诱导的肝病、炎症性肝病、免疫系统功能障碍介导的肝病、血脂异常、心血管疾病、再狭窄、综合征X、代谢综合征、糖尿病、肥胖、高血压、慢性胆管病(诸如原发性硬化性胆管炎(PSC)、原发性胆源性胆管炎(PBC))、胆道闭锁、进行性家族性3型肝内胆汁淤积(PFIC3)、炎症性肠病、克罗恩氏病(Crohn's disease)、溃疡性结肠炎、肝癌、肝细胞癌、胃肠癌、胃癌、结肠直肠癌、代谢性疾病诱导的肝纤维化或硬化、NAFLD诱导的纤维化或硬化、NASH诱导的纤维化或硬化、酒精诱导的肝纤维化或硬化、药物诱导的肝纤维化或硬化、放射或化疗诱导的纤维化或硬化、胆道纤维化、肝纤维化或由任何慢性胆汁淤积性疾病引起的硬化、任何病因的肠道纤维化、克罗恩氏病诱导的纤维化、溃疡性结肠炎诱导的纤维化、肠道(例如小肠)纤维化、结肠纤维化、胃纤维化、尿酸升高疾病(例如高尿酸血症、痛风)、嗜糖、嗜酒、醛醇缩酶B缺乏、遗传性果糖不耐受、慢性肾病、糖尿病性肾病变、肾脏纤维化、肝功能衰竭、肝功能丧失、凝血病、脂肝炎、血糖控制障碍以及其他与KHK相关的代谢相关病症及疾病。本文中特定感兴趣的为代谢综合征、高甘油三酯血症、NAFLD、NASH、肥胖或其组合。

[0296] 由于其高特异性,本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)特异性地靶向细胞及组织或器官(例如肝脏)的目标基因的mRNA。在预防疾病中,目标基因可为引发或维持疾病所需的基因或已鉴别为与感染疾病的高风险相关的基因。在治疗疾病中,可使寡核苷酸与呈现或负责介导疾病的细胞、组织或器官(例如肝脏)接触。例如,可使与与KHK表达相关的病症或病状相关的野生型(即天然)或突变基因的全部或一部分实质上一致的寡核苷酸与所关注细胞或组织类型(诸如肝细胞或其他肝脏细胞)接触或引入该细胞或组织类型中。

[0297] 在一些实施方案中,目标基因可为来自任何哺乳动物的目标基因,诸如人类目标。任何基因可根据本文所描述的方法沉默。

[0298] 本文所描述的方法通常涉及向受试者施用有效量的本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸),即产生所期望的治疗结果的量。治疗可接受量可为治疗性治疗疾病或病症的量。任一受试者的合适剂量将视某些因素而定,包括受试者的身材、体表面积、年龄、待施用的特定组合物、组合物中的活性成分、施用的时间及途径、一般健康及待同时施用的其他药物。

[0299] 在一些实施方案中,受试者经肠地(例如,经口、利用胃饲管、利用十二指肠饲管、经由胃造口术或经直肠地)、非经肠地(例如,皮下注射、静脉内注射或输注、动脉内注射或输注、骨内输注、肌肉内注射、大脑内注射、脑室内注射、鞘内)、经表面(例如,上表皮、吸入、经由滴眼剂或经由黏膜),或通过直接注射至目标器官(例如,受试者的肝脏)施用本文中的组合物中的任一者。通常,本文中的寡核苷酸系经静脉内或皮下施用。

[0300] 作为非限制性实例组,本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)将通常每季度(每三个月一次)、每两月(每两个月一次)、每月或每周施用。例如,寡核苷酸可每周施用或间隔两周或三周施用。或者,寡核苷酸可每天施用。在一些实施方案中,向受试者施用一或多次起始剂量的寡核苷酸,随后施用一或多次维持剂量的寡核苷酸。

[0301] 在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸单独或组合施用。在一些实施方案中,同时、依序(按任何次序)或间歇地组合施用本文中的寡核苷酸。例如,同时共施用两种寡核苷酸。或者,可施用一种寡核苷酸且随后在任何时间量(例如,一小时、一天、一周或一个月)之

后施用第二寡核苷酸。

[0302] 在一些实施方案中,待治疗的受试者为人类或非人类灵长类动物或其他哺乳动物受试者。其他示例性受试者包括家养动物,诸如狗及猫;家畜,诸如马、牛、猪、绵羊、山羊及鸡;及诸如小鼠、大鼠、豚鼠及仓鼠的动物。

[0303] 在一些实施方案中,向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用单次剂量的一或多种本文中的寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含所述寡核苷酸的药物组合物,使得受试者中KHK mRNA及/或KHK蛋白质,优选KHK蛋白质的量或水平降低。KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平的该降低可通过与未接受寡核苷酸或药物组合物或接受一或多种对照寡核苷酸或药物组合物或治疗的受试者(例如参考或对照受试者)中KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平进行比较来测定,或优选通过与施用所述寡核苷酸或药物组合物之前的KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平进行比较来测定。可测定来自受试者的肝脏活检样品的KHK mRNA及/或KHK蛋白质的该量或水平。该单次剂量可皮下施用。所述一或多种寡核苷酸的该剂量可低于10mg/kg受试者的体重,例如6mg/kg或更低,尤其0.01mg/kg至5mg/kg。可在单次剂量施用寡核苷酸之后超过10天检测到KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平的该降低,例如其在施用之后第28、56及/或84天可保持可检测到。KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平的该降低可为例如至少约30%、约35%、约40%、约45%、约50%、约55%、约60%、约65%、约70%、约75%、约80%、约85%、约90%、约95%、约99%或大于99%。在一优选实施方案中,在皮下施用本文中的一或多种寡核苷酸(例如dsRNAi寡核苷酸)或包含所述一种或多种寡核苷酸的药物组合物之后,在第28天,任选地在第56天及/或第84天,KHK mRNA及/或KHK蛋白质的量或水平的降低保持可检测。

套组

[0304] 在一些实施方案中,本发明提供包含本文中的寡核苷酸及使用说明书的套组。在一些实施方案中,套组包含本文中的寡核苷酸,及含有套组及/或其任何组分的使用说明书的包装插页。在一些实施方案中,套组在合适的容器中包含本文中的寡核苷酸、一或多种对照及各种缓冲剂、试剂、酶及本领域中熟知的其他标准成分。在一些实施方案中,容器包含至少一个小瓶、孔、试管、烧瓶、瓶、注射器或置放寡核苷酸的其他容器构件,且在一些情况下,适当地等分。在提供额外组分的一些实施方案中,套组含有置放此组分的额外容器。套组还可包括用于含有将寡核苷酸及任何其他试剂严密封闭以供商业销售的构件。此类容器可包括注射模制或吹塑模制塑料容器,其中保留所需小瓶。容器及/或套组可包括具有使用说明及/或警告的标签。

[0305] 在一些实施方案中,套组包含本文中的寡核苷酸及药学上可接受的载剂,或包含寡核苷酸的药物组合物,及用于治疗有需要受试者中与KHK表达相关的疾病、病症或病状或延迟其进展的说明书。

定义

[0306] 如本文所用,术语“反义寡核苷酸”涵盖基于核酸的分子,其具有与目标mRNA的全部或一部分互补的序列,特别是种子序列,由此能够与mRNA形成双螺旋。因此,如本文所用,术语“反义寡核苷酸”可被称为“基于互补核酸的抑制剂”。

[0307] 如本文所使用,“大致”或“约”当应用于所感兴趣的一或多个值时是指类似于所述参考值的值。在某些实施方案中,“约”是指在所述参考值的任一方向上(大于或小于)处于

25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更低的值的范围,除非另外陈述或以其他方式自上下文显而易见(其中该数字将超出可能值的100%除外)。

[0308] 如本文所用,“施用”及其类似者是指以药理学上有用的方式向受试者提供物质(例如寡核苷酸)(例如以治疗个体的病状)。

[0309] 如本文所用,“缓解”及其类似者是指降低或有效地停止。作为非限制性实例,本文中的治疗中的一或多者可减弱受试者的血脂异常/高甘油三酯血症/高脂质血症、NAFLD、NASH或葡萄糖不耐或有效地停止其发作或进展。此缓解可举例说明,例如血脂异常/高甘油三酯血症/高脂质血症、NAFLD、NASH或葡萄糖不耐、在血脂异常/高甘油三酯血症/高脂质血症、NAFLD、NASH或葡萄糖不耐受的一或多个方面(例如,症状、组织特征及细胞、发炎或免疫活性等)的减少,在受试者中没有可检测的血脂异常/高甘油三酯血症/高脂质血症、NAFLD、NASH或葡萄糖不耐的一或多个方面的进展(恶化),或在受试者中没有可检测到的血脂异常/高甘油三酯血症/高脂质血症、NAFLD、NASH或葡萄糖不耐的方面,该等方面否则可能会预期到。

[0310] 如本文所用,“互补”是指两个核苷酸(例如两个相对核酸上或单一核酸链的相对区域上)之间、允许两个核苷酸彼此形成碱基对的结构关系。例如,与相对核酸的嘧啶核苷酸互补的一个核酸的嘌呤核苷酸可通过彼此形成氢键而碱基配对在一起。在一些实施方案中,互补核苷酸可以沃森-克里克方式或以允许形成稳定双螺旋的任何其他方式碱基配对。在一些实施方案中,两个核酸可具有彼此互补以形成互补区域的多核苷酸区,如本文所描述。

[0311] 如本文所用,“脱氧核糖核苷酸”是指当相较于核糖核苷酸时,其戊糖的2’位置的羟基经氢替代的核苷酸。经修饰的脱氧核糖核苷酸为除在2’位置外具有一或多个修饰或原子取代(包括糖、磷酸酯基或碱基中的修饰或取代,或糖、磷酸酯基或碱基的修饰或取代)的脱氧核糖核苷酸。

[0312] 如本文所用,“双链寡核苷酸”或“ds寡核苷酸”是指实质上呈双螺旋形式的寡核苷酸。在一些实施方案中,双链寡核苷酸的双螺旋区的互补碱基配对形成于具有共价分离的核酸链的核苷酸的反平行序列之间。在一些实施方案中,双链寡核苷酸的一或多个双螺旋区的互补碱基配对形成于具有共价键联的核酸链的核苷酸的反平行序列之间。在一些实施方案中,双链寡核苷酸的双螺旋区的互补碱基配对由经折叠(例如,经由发夹结构)以提供碱基配对在一起的核苷酸的互补反平行序列的单核酸链形成。在一些实施方案中,双链寡核苷酸包含两个彼此充分双螺旋的共价分离的核酸链。然而,在一些实施方案中,双链寡核苷酸包含部分地双螺旋(例如在一或两端具有突出端)的两个共价分离的核酸链。在一些实施方案中,双链寡核苷酸包含部分互补的反平行核苷酸序列,且因此可具有一或多个错配,所述错配可包括内部错配或末端错配。

[0313] 如本文所用,关于核酸(例如寡核苷酸)的“双螺旋”是指经由两个反平行核苷酸序列的互补碱基配对形成的结构。

[0314] 如本文所用,“赋形剂”是指可包括于药物组合物中例如以提供或促成所需稠度或稳定效果的非治疗剂。

[0315] 如本文所用,词组“葡萄糖不耐受”是指产生高于正常含量的血糖的代谢状况。葡

萄糖不耐受可以包括1型、1.5型及2型糖尿病。

[0316] 如本文所用,“肝细胞(hepatocyte/hepatocytes)”是指肝脏的实质组织的细胞。这些细胞占肝脏质量的约70％至85％且制造血清白蛋白、FBN及凝血酶原组凝血因子(除了因子3及4以外)。肝细胞谱系细胞的标记物包括但不限于甲状腺素运载蛋白(Ttr)、谷氨酰胺合成酶(Glul)、肝细胞核因子1a(Hnf1a)及肝细胞核因子4a(Hnf4a)。成熟肝细胞的标记物可包括但不限于细胞色素P450(Cyp3a11)、延胡索酰乙酰乙酸酯羟化酶(fumarylacetoacetate hydrolase;Fah)、葡萄糖6-磷酸酯(G6p)、白蛋白(Alb)及OC2-2F8。参见例如Huch等人(2013)Nature 494:247-50。

[0317] 如本文所用,“肝毒性剂”是指自身为肝毒性或可经处理以形成肝毒性代谢物的化合物、病毒或其他物质。肝毒性剂可包括但不限于四氯化碳($CCl_4$)、乙酰胺苯酚(扑热息痛(paracetamol))、氯乙烯、砷、氯仿、非类固醇抗炎药(诸如阿司匹林(aspirin)及苯基丁氮酮)。

[0318] 如本文所用,术语“己酮糖激酶”或“KHK”是指催化果糖磷酸化的酶,特别是肝果糖激酶。KHK基因编码两种蛋白质同种型(KHK-A及KHK-C)。两种产物通过替代性剪接自相同初级转录物产生。除非另外说明,否则术语“KHK”意指两种同种型。“KHK”还可指编码蛋白质的基因。

[0319] 如本文所用,“不稳定接头”是指可裂解(例如通过酸性pH)的接头。“极其稳定的接头”是指不可裂解的接头。

[0320] 如本文所用,“肝炎(liver inflammation/hepatitis)”是指其中肝脏变得肿胀、功能异常及/或疼痛的物理病状,尤其是由于损伤或感染,如可由暴露于肝毒性剂引起。症状可包括黄疸(皮肤或眼睛变黄)、疲乏、无力、恶心、呕吐、食欲不振及体重减轻。若保持未治疗,则肝炎可能发展成纤维化、肝硬化、肝功能衰竭或肝癌。

[0321] 如本文所用,“肝纤维化”是指细胞外基质蛋白在肝脏中过度积累,所述细胞外基质蛋白可包括由验证及肝细胞死亡引起的胶原蛋白(I、III及IV)、FBN、粗纤维调节素(undulin)、弹性蛋白、层黏连蛋白、玻尿酸及蛋白聚糖。若保持未治疗,则肝纤维化可能发展成肝硬化、肝功能衰竭或肝癌。

[0322] 如本文所用,“环”是指侧接两个彼此充分互补的反平行核酸区的核酸(例如寡核苷酸)的不配对区,使得在适当的杂交条件(例如在磷酸盐缓冲液中、在细胞中)下,侧接不配对区的两个反平行区杂交以形成双螺旋(称为“茎(stem)”)。

[0323] 如本文所用,“代谢综合征”或“代谢肝病”是指以一系列相关医学病状及相关病变为特征的病症,包括但不限于以下医学病状:腹部肥胖、血压升高、空腹血浆葡萄糖升高、高血清甘油三酯、肝纤维化及低水平的高密度脂蛋白(HDL)。如本文所使用,术语代谢综合征或代谢肝病可涵盖一系列广泛的与代谢综合征及代谢肝病相关的直接及间接表现、疾病及病变,具有整个文本中所用的病状的扩展清单。

[0324] 如本文所用,“经修饰的核苷酸间键联”是指当相较于包含磷酸二酯键的参考核苷酸间键联时,具有一或多个化学修饰的核苷酸间键联。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸为非天然存在的键联。通常,经修饰的核苷酸间键联赋予核酸一或多种所需特性,在该核酸中存在经修饰的核苷酸间键联。例如,经修饰的核苷酸间键联可改善热稳定性、对降解的抗性、核酸酶抗性、溶解性、生物利用度、生物活性、降低的免疫原性等。

[0325] 如本文中所使用,“经修饰的核苷酸”是指与对应参考核苷酸相比具有一或多个化学修饰的核苷酸,该对应参考核苷酸选自:腺嘌呤核糖核苷酸、鸟嘌呤核糖核苷酸、胞嘧啶核糖核苷酸、尿嘧啶核糖核苷酸、腺嘌呤脱氧核糖核苷酸、鸟嘌呤脱氧核糖核苷酸、胞嘧啶脱氧核糖核苷酸及胸腺脱氧核糖核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸为非天然存在的核苷酸。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸在其糖、核碱基及/或磷酸酯基中具有一或多个化学修饰。在一些实施方案中,经修饰的核苷酸具有一或多个与对应参考核苷酸结合的化学部分。通常,经修饰的核苷酸赋予核酸一或多种所需特性,在该核酸中存在经修饰的核苷酸。例如,经修饰的核苷酸可改善热稳定性、对降解的抗性、核酸酶抗性、溶解性、生物利用度、生物活性、降低的免疫原性等。

[0326] 如本文中所使用,“带切口的四环结构”是指RNAi寡核苷酸的结构,其特征为独立有义(随从)及反义(引导)链,其中该有义链具有与该反义链互补的区域,且其中链中的至少一者(一般为有义链)具有经装配以使形成在至少一条链内的相邻茎区稳定的四环。

[0327] 如本文所用,“寡核苷酸”是指短核酸(例如长度小于约100个核苷酸)。寡核苷酸可为单链(ss)或ds。寡核苷酸可具有或可不具有双螺旋区。作为非限制性实例的组,寡核苷酸可为但不限于小干扰RNA(siRNA)、微小RNA(miRNA)、短发夹RNA(shRNA)、dicer底物干扰RNA(DsiRNA)、反义寡核苷酸、短siRNA或ss siRNA。在一些实施方案中,双链(dsRNA)为RNAi寡核苷酸。

[0328] 如本文所用,“突出端”(或“突出端序列”)是指由一个链或区域延伸超出互补链的末端(该一个链或区域与该互补链形成双螺旋)产生的末端非碱基配对的核苷酸。在一些实施方案中,突出端包含自dsRNAi的5’末端或3’末端的双螺旋区延伸的一或多个不配对的核苷酸。在某些实施方案中,突出端为dsRNAi的反义链或有义链上的3’或5’突出端。

[0329] 如本文所用,“磷酸酯类似物”是指模拟磷酸酯基的静电及/或空间特性的化学部分。在一些实施方案中,磷酸酯类似物位于寡核苷酸的5’末端核苷酸,而非5’-磷酸酯,后者通常易受酶移除影响。在一些实施方案中,5’磷酸酯类似物含有磷酸酶抗性键联。磷酸酯类似物的实例包括但不限于5’-膦酸酯,诸如5’-亚甲基膦酸酯(5’-MP)及5’-(E)-乙烯基膦酸酯(5’-VP)。在一些实施方案中,寡核苷酸在5’末端核苷酸处的糖的4’-碳位置具有磷酸酯类似物(称为“4’-磷酸酯类似物”)。4’-磷酸酯类似物的实例为氧基甲基膦酸酯,其中氧基甲基的氧原子结合至糖部分(例如,在其4’碳处)或其类似物。参见例如美国专利公开号2019-0177729。已针对寡核苷酸的5’端开发出其他修饰(参见例如国际专利申请号WO 2011/133871;美国专利号8,927,513;及Prakash等人(2015)NUCLEIC ACIDS RES.43:2993-3011)。

[0330] 如本文所用,“降低”基因(例如KHK)的“表达”是指当相较于适当参考(例如参考细胞、细胞群、样品或受试者)时,细胞、细胞群、样品或受试者中的RNA转录物(例如KHK mRNA)或由该基因编码的蛋白质的量或水平降低,及/或该基因的活性的量或水平降低。例如,当与未经dsRNAi处理的细胞相比时,细胞与本文中的寡核苷酸(例如包含具有与包含KHK mRNA的核苷酸序列互补的核苷酸序列的反义链的寡核苷酸)接触的行为可引起KHK mRNA、蛋白质及/或活性的量或水平降低(例如通过RNAi路径经由KHK mRNA的降解)。类似地且如本文所用,“降低表达”是指引起基因(例如KHK)表达降低的表现。

[0331] 如本文所用,“降低KHK表达”是指当相比于适当参考(例如参考细胞、细胞群、样品

或个体)时,细胞、细胞群、样品或个体中KHK mRNA、KHK蛋白质及/或KHK活性的量或水平减少。

[0332] 如本文所用,“互补区域”是指与反平行核苷酸序列充分互补以允许在适当杂交条件(例如在磷酸盐缓冲液中、在细胞中等)下两个核苷酸序列之间杂交的核酸(例如dsRNA)的核苷酸序列。在一些实施方案中,本文中的寡核苷酸包含具有mRNA目标序列的互补区域的靶向序列。在一些实施方案中,互补区域为完全互补的。在一些实施方案中,互补区域为部分互补(例如至多3个核苷酸错配)。

[0333] 如本文所用,“核糖核苷酸”是指具有一核糖作为其戊糖的核苷酸,该戊糖在其2’位置含有羟基。经修饰的核糖核苷酸为除在2’位置外具有一或多个修饰或原子取代的核糖核苷酸,包括核糖、磷酸酯基或碱基中的修饰或取代,或核糖、磷酸酯基或碱基的修饰或取代。

[0334] 如本文所用,“RNAi寡核苷酸”是指以下二者中的一者:(a)具有有义链(随从)及反义链(引导)的双链寡核苷酸,其中反义链或反义链的一部分被阿尔古(Argonaute)2(Ago2)核酸内切酶用于裂解目标mRNA(例如KHK mRNA);或(b)具有单一反义链的单链寡核苷酸,其中该反义链(或该反义链的一部分)被Ago2核酸内切酶用于裂解目标mRNA(例如KHK mRNA)。

[0335] 如本文所用,“链”是指经由核苷酸间键联(例如磷酸二酯键联或硫代磷酸酯键联)键联在一起的单一连续核苷酸序列。在一些实施方案中,链具有两个自由端(例如5’端及3’端)。

[0336] 如本文所用,“受试者”意指任何哺乳动物,包括小鼠、兔及人类。在一个实施方案中,受试者为人类或NHP。此外,“个体”或“患者”可与“受试者”互换地使用。

[0337] 如本文中所使用,术语“合成性”是指一种核酸或另一分子,该核酸或另一分子为人工合成(例如,使用机器(例如,固态核酸合成器))的或另外并非衍生自通常产生该分子的天然来源(例如,细胞或生物体)。

[0338] 如本文所用,“靶向配体”是指选择性地与所感兴趣的组织或细胞的同源分子(例如受体)结合且出于将另一物质靶向所感兴趣的组织或细胞的目的,可与另一物质结合的分子(例如碳水化合物、氨基糖、胆固醇、多肽或脂质)。例如,在一些实施方案中,出于将寡核苷酸靶向所感兴趣的特定组织或细胞的目的,靶向配体可与寡核苷酸结合。在一些实施方案中,靶向配体选择性地与细胞表面受体结合。因此,在一些实施方案中,在结合于寡核苷酸时,靶向配体有助于经由选择性结合至在细胞表面上表达的受体及包含寡核苷酸、靶向配体及受体的复合物的细胞核内体内化而将寡核苷酸递送至特定细胞中。在一些实施方案中,靶向配体经由接头结合于寡核苷酸,该接头在细胞内化之后或期间裂解使得寡核苷酸从细胞中的靶向配体释放。

[0339] 如本文所用,“四环”是指增加通过杂交核苷酸的侧接序列形成的相邻双螺旋的稳定性的环。稳定性的增加可检测为相邻茎双螺旋的解链温度($T_m$)的增加,其高于自一组由随机选择的核苷酸序列组成的类似长度的环平均预期的相邻茎双螺旋的$T_m$。例如,四环可在10mM $Na_2HPO_4$中赋予包含长度为至少2个碱基对(bp)的双螺旋的发夹至少约50℃、至少约55℃、至少约56℃、至少约58℃、至少约60℃、至少约65℃或至少约75℃的$T_m$。在一些实施方案中,四环可在10mM $Na_2HPO_4$中赋予包含长度为至少2个碱基对(bp)的双螺旋的发夹至少约50℃、至少约55℃、至少约56℃、至少约58℃、至少约60℃、至少约65℃或至少约75℃的Tm。

在一些实施方案中,四环可通过堆积相互作用使相邻茎双螺旋中的bp稳定。另外,四环中的核苷酸当中的相互作用包括但不限于非沃森-克里克碱基配对、堆积相互作用、氢键结及接触相互作用(Cheong等人(1990)NATURE 346:680-82;Heus&Pardi(1991)SCIENCE 253:191-94)。在一些实施方案中,四环包含3至6个核苷酸或由其组成且通常为4至5个核苷酸。在某些实施方案中,四环包含以下或由以下组成:3、4、5或6个核苷酸,所述核苷酸可经修饰或可未经修饰(例如其可与靶向部分结合或可不与靶向部分结合)。在一个实施方案中,四环由4个核苷酸组成。四环中可使用任何核苷酸,且可使用此类核苷酸的标准IUPAC-IUB符号,如Cornish-Bowden(1985)Nucleic Acids Res.13:3021-3030中所描述。例如,字母"N"可用于意指可能处于此位置的任何碱基,字母"R"可用于展示可能处于此位置的A(腺嘌呤)或G(鸟嘌呤),且"B"可用于展示可能处于彼位置的C(胞嘧啶)、G(鸟嘌呤)或T(胸腺嘧啶)。四环的实例包括四环的UNCG家族(例如UUCG)、四环的GNRA家族(例如GAAA)及CUUG四环(Woese等人(1990)PROC.NATL.ACAD.SCI.USA 87:8467-8471;Antao等人(1991)NUCLEIC ACIDS RES.19:5901-5905)。DNA四环的实例包括四环的d(GNNA)家族(例如d(GTTA)、四环的d(GNRA))家族、四环的d(GNAB)家族、四环的d(CNNG)家族及四环的d(TNCG)家族(例如d(TTCG))。参见例如Nakano等人(2002)$B_{IOCHEM}$.41:14281-92;Okabe等人(2000)$N_{IPPON}$ $K_{AGAKKAI}$ $K_{OEN}$ $Y_{OKOSHU}$ 78:731。在一些实施方案中,四环包含在带切口的四环结构内。

[0340] 如本文所用,"治疗"是指出于改善受试者的关于现有病状(例如疾病、病症)的健康及/或幸福的目的或为了预防或降低出现病状的可能性,例如通过向个体施用治疗剂(例如本文中的寡核苷酸)向有需要的受试者提供照护的行为。在一些实施方案中,治疗涉及降低受试者经历的病状(例如,疾病、病症)的至少一种病征、症状或促成因素的频率或严重度。

## 实施例

[0341] 虽然本发明已参考以下实施例中所阐述的具体实施例加以描述,但本领域技术人员应理解,在不脱离本发明的真实精神及范围的情况下,可进行各种改变且可替代等效物。此外,以下实施例借助于说明提供,且并不旨在以任何方式限制本发明的范围。此外,可进行修改以使情况、材料、物质组成、方法、方法步骤或步骤适合本发明的目标、精神及范围。所有此类修改意指在本发明的范围内。使用在本领域中熟知的标准技术或在下文中特定描述的技术。

已描述靶向KHK的RNAi剂且体外检测(例如WO 2015123264及WO 2020060986)。以下研究描述基于体外及体内筛选(包括非人类灵长类动物中的研究)鉴别适用于降低或抑制KHK表达的新颖dsRNAi剂。新颖dsRNAi剂包含36聚体有义链及22聚体反义链,其中茎环具有与有义链3'端的GalNAc部分结合的带切口的四环,用于降低KHK mRNA。茎环内切口的存在提供了预切割的反义链,以形成Dicer酶的预处理结合底物,从而使Dicer能够有效地结合双链分子且将其传递给Ago2。四环提供热力学稳定组件,以防止环打开及暴露反义链的5'-端及有义链的3'-端,由此提供增加的核酸酶抗性。因此,本发明dsRNAi剂尤其适用于体外及体内抑制KHK表达,如以下实施例中所述。

与先前技术中描述的dsRNAi剂相比,本文所呈现的dsRNAi剂尤其可以展示出改善的体外及/或体内KHK表达的降低或抑制,如对KHK mRNA及/或KHK蛋白质水平所测定的。此

类改善可与抑制作用的大小及/或持续时间相关。因此,例如,对于根据本发明的dsRNAi剂的医学用途,较低剂量及/或较低剂量频率可为可适用的。另外,本文所呈现的dsRNAi剂可受益于有利的安全及耐受性特征,如高特异性、低脱靶效应或降低的免疫原性。

实施例1:双链RNAi寡核苷酸的制备

寡核苷酸合成及纯化

[0342] 使用本文所描述的方法化学合成前述实施例中描述的双链RNAi(dsRNAi)寡核苷酸。一般而言,除了使用已知亚磷酰胺合成(参见例如Hughes and Ellington(2017)COLD SPRING HARB PERSPECT BIOL.9(1):a023812;Beaucage S.L.,Caruthers M.H.,Studies on Nucleotide Chemistry V:Deoxynucleoside Phosphoramidites-A New Class of Key Intermediates for Deoxypolynucleotide Synthesis,TETRAHEDRON LETT.1981;22:1859-62.doi:10.1016/S0040-4039(01)90461-7),dsRNAi寡核苷酸也使用如关于19-23聚体siRNA所描述的固相寡核苷酸合成方法来合成(参见例如Scaringe等人(1990)NUCLEIC ACIDS RES.18:5433-5441及Usman等人(1987)J.AM.CHEM.SOC.109:7845-7845;还参见美国专利号5,804,683;5,831,071;5,998,203;6,008,400;6,111,086;6,117,657;6,353,098;6,362,323;6,437,117及6,469,158)。将具有19聚体核心序列的dsRNAi寡核苷酸格式化为具有25聚体有义链及27聚体反义链的构建体,以允许通过RNAi机制进行处理。19聚体核心序列与KHK mRNA中的一区域互补。

[0343] 根据标准方法(Integrated DNA Technologies;Coralville,IA)合成个别RNA链且进行HPLC纯化。例如,使用固相亚磷酰胺化学方法合成RNA寡核苷酸,使用标准技术(Damha及Olgivie(1993)Methods Mol.Biol.20:81-114;Wincott等人(1995)Nucleic Acids Res.23:2677-84)在NAP-5管柱(Amersham Pharmacia Biotech;Piscataway,NJ)上进行脱除保护基及去盐。在Amersham Source 15Q管柱(1.0cm×25cm;Amersham Pharmacia Biotech)上使用离子交换高效液相层析(IE-HPLC),使用15min步长-线性梯度,来纯化寡聚物。梯度在90:10缓冲液A:B至52:48缓冲液A:B之间变化,其中缓冲液A为100mM Tris pH 8.5,且缓冲液B为100mM Tris pH 8.5,1M NaCl。在260nm下监测样品,且收集对应于全长寡核苷酸种类的峰,将其合并,在NAP-5管柱上去盐,且冻干。

[0344] 通过在Beckman PACE 5000(Beckman Coulter,Inc.;Fullerton,CA)上的毛细电泳法(CE)测定各寡聚物的纯度。CE毛细管具有100μm内径且含有ssDNA 100R Gel(Beckman-Coulter)。通常,将约0.6nmole寡核苷酸注射至毛细管中,在444V/cm的电场中运行,且通过在260nm下的UV吸光度来检测。变性Tris-硼酸-7M-尿素电泳缓冲液购自Beckman-Coulter。获得如通过CE评定至少90%纯度的寡核糖核苷酸,用于下文描述的实验。根据制造商的建议方案,通过在Voyager DE™Biospectometry工作站(Applied Biosystems;Foster City,CA)上的基质辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF)质谱,证实化合物属性。获得所有寡聚物的相对分子质量,通常在预期分子量的0.2%内。

制备双螺旋

[0345] 将单链RNA寡聚物再悬浮(例如以100μM浓度)在由100mM乙酸钾、30mM HEPES pH 7.5组成的双螺旋缓冲液中。将互补的有义链及反义链以相同摩尔量混合以得到例如50μM双螺旋的最终溶液。将样品在RNA缓冲液(IDT)中加热至100℃持续5',且使其在使用之前冷却至室温。将dsRNAi寡核苷酸储存在-20℃下。将单链RNA寡聚物在-80℃下冻干储存或储存

于无核酸酶水中。

实施例2:产生靶向KHK的双链(DS)RNAi寡核苷酸

鉴别KHK mRNA目标序列

[0346] 己酮糖激酶(KHK)为参与果糖代谢的酶。KHK具有两种同种型,不同之处在于一个替代外显子,具有不同底物及作用机制。同种型KHK-A由外显子3A编码,而KHK-C同种型由外显子3C编码。为了产生KHK-A及KHK-C表达的RNAi寡核苷酸抑制剂,基于计算机的算法用于以计算方式鉴别适合于分析RNAi途径对KHK表达的抑制的KHK mRNA目标序列。该算法提供RNAi寡核苷酸引导(反义)链序列,其各自具有人类KHK mRNA(例如SEQ ID NO:1;表1)的合适的KHK目标序列互补的区域。通过算法鉴别出的引导链序列中的一些也与猴及/或小鼠KHK mRNA(分别为SEQ ID NO:2及3;表1)的相应KHK目标序列互补。预测包含具有核苷酸序列相似性的同源KHK mRNA目标序列的互补区域的KHK RNAi寡核苷酸具有靶向同源KHK mRNA的能力。

表1:人类、猴及小鼠KHK mRNA的序列

| 物种 | 参考序列号 | SEQ ID NO |
|---|---|---|
| 人类(Hs) | NM_006488.3 | 1 |
| 食蟹猕猴(Mf) | XM_005576322.2 | 2 |
| 小鼠(Mm) | NM_008439.4 | 3 |

[0347] 如实施例1中所描述,产生RNAi寡核苷酸(格式化为DsiRNA寡核苷酸)以用于体外评估。产生具有相同修饰模式的各DsiRNA,且各自具有独特引导链,该引导链具有通过算法鉴别出的KHK目标序列互补的区域(表2)。有义及反义DsiRNA的修饰包括以下(X-任何核苷酸;m-2'-O-甲基修饰的核苷酸;r-核糖基修饰的核苷酸):

有义链:

rXmXrXmXrXrXrXrXrXrXrXrXrXmXrXmXrXrXrXrXrXrXrXXX

反义链:

mXmXmXmXrXrXrXrXrXrXmXrXmXrXrXrXrXrXrXrXrXrXmXrXmXmXmX

体外基于细胞的测定

[0348] 使用体外基于细胞的测定来测量表2中的经修饰的DsiRNA中的每一者降低KHK mRNA的能力。简言之,表达内源性人类KHK基因的人类肝癌(Hep3B)细胞在多孔细胞培养板的独立孔中以1nM用表2中列出的DsiRNA(有义链SEQ ID NO:4-387)中的每一者转染。细胞在用经修饰的DsiRNA转染之后保持24小时,且随后使用基于TAQMAN®的qPCR分析测定来自经转染细胞的剩余KHK mRNA的量。如使用与6-羧基-荧光素(FAM)结合的PCR探针所测定的,使用两种qPCR分析,3'分析(正向-1026;TGGAGGTGGAGAAGCCA,反向-1157;

GACCATACAAGCCCCTCAAG,探针-1080;

TGGTGTTTGTCAGCAAAGATGTGGC)及5'分析(正向-496;

AGGAAGCTCTGGGAGTA,反向-596;CCTCCTTAGGGTACTTGTC,探针-518;ATGGAAGAGAAGCAGATCCTGTGCG)测定KHK mRNA水平。分析每个引物对(KHK-C同种型的KHK-825,NM_006488.3)及KHK-All(两种同种型)(KHK-All的KHK-F495,KHK-F1026(两种同种型))的剩余RNA%,如表2及图1中所示。当相较于模拟转染的细胞时,导致在DsiRNA转染细胞中剩余小于或等于10%KHK mRNA的DsiRNA视为DsiRNA“击中(hit)”。评估表2中列出的

DsiRNA抑制KHK表达的能力的基于Hep3B细胞的分析鉴别出几种候选DsiRNA。

[0349] 综合而言,这些结果显示,设计成靶向人类KHK mRNA的DsiRNA抑制细胞中的KHK表达,如通过DsiRNA转染细胞中的KHK mRNA的量相对于对照细胞降低来测定的。这些结果表明,包含DsiRNA的核苷酸序列适用于产生用于抑制KHK表达的RNAi寡核苷酸。此外,这些结果表明,多个KHK mRNA目标序列适合于RNAi介导的抑制KHK表达。

表2.HepB3细胞中KHK mRNA的分析

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 4 | 388 | KHK-115-154 | 28.3 | 2.4 | 33.1 | 2.7 | 30.22 | 6.148 | 30.5 |
| 5 | 389 | KHK-116-155 | 27.8 | 5.9 | 33.3 | 6.5 | 25.691 | 8.728 | 28.9 |
| 6 | 390 | KHK-117-156 | 26.7 | 9.9 | 47.5 | 14.6 | 32.656 | 13.903 | 35.6 |
| 7 | 391 | KHK-118-157 | 43.7 | 6.3 | 63.9 | 6.4 | 47.299 | 13.144 | 51.6 |
| 8 | 392 | KHK-119-158 | 34.6 | 8.6 | 57.5 | 14.7 | 22.791 | 11.895 | 38.3 |
| 9 | 393 | KHK-120-159 | 31.4 | 3.8 | 49.7 | 3.5 | 40.388 | 5.289 | 40.5 |
| 10 | 394 | KHK-121-160 | 35.8 | 4.4 | 53.2 | 5.7 | 43.359 | 8.043 | 44.1 |
| 11 | 395 | KHK-122-161 | 41.8 | 3.7 | 67.6 | 6.5 | 39.75 | 5.587 | 49.7 |
| 12 | 396 | KHK-123-162 | 49.5 | 3.7 | 66.7 | 4.6 | 41.386 | 7.102 | 52.5 |
| 13 | 397 | KHK-124-163 | 30.9 | 2.5 | 49.6 | 4.4 | 40.966 | 7.589 | 40.5 |
| 14 | 398 | KHK-125-164 | 39.5 | 3.7 | 52.5 | 5.1 | 43.748 | 9.465 | 45.3 |
| 15 | 399 | KHK-126-165 | 37.1 | 2.8 | 57.9 | 5.2 | 53.25 | 7.484 | 49.4 |
| 16 | 400 | KHK-127-166 | 38.6 | 3.1 | 63.0 | 4.3 | 45.393 | 5.073 | 49.0 |
| 17 | 401 | KHK-128-167 | 31.1 | 2.6 | 44.6 | 3.3 | 47.943 | 5.962 | 41.2 |
| 18 | 402 | KHK-179 | 28.9 | 23.1 | 81.2 | 21.2 | 62.845 | 5.928 | 57.6 |
| 19 | 403 | KHK-181-220 | 43.4 | 5.3 | 57.6 | 5.6 | 56.679 | 10.519 | 52.5 |
| 20 | 404 | KHK-182-221 | 33.8 | 1.8 | 40.4 | 3.4 | 50.153 | 10.698 | 41.5 |
| 21 | 405 | KHK-183-222 | 48.9 | 3.5 | 57.7 | 5.4 | 58.074 | 7.904 | 54.9 |
| 22 | 406 | KHK-184-223 | 37.0 | 2.6 | 38.5 | 3.0 | 49.417 | 4.396 | 41.6 |
| 23 | 407 | KHK-185-224 | 34.3 | 4.0 | 44.8 | 4.3 | 53.186 | 7.765 | 44.1 |
| 24 | 408 | KHK-186-225 | 36.1 | 4.9 | 42.4 | 5.0 | 51.087 | 6.631 | 43.2 |
| 25 | 409 | KHK-187-226 | 48.5 | 3.9 | 48.2 | 4.5 | 81.75 | 6.116 | 59.5 |
| 26 | 410 | KHK-188-227 | 50.9 | 2.8 | 50.5 | 5.6 | 75.858 | 6.936 | 59.1 |
| 27 | 411 | KHK-431-470 | 38.7 | 2.5 | 42.1 | 3.8 | 52.142 | 5.549 | 44.3 |
| 28 | 412 | KHK-432-471 | 74.1 | 38.8 | 65.5 | 11.0 | 50.476 | 11.385 | 63.3 |
| 29 | 413 | KHK-433-472 | 53.1 | 8.6 | 72.4 | 9.0 | 47.428 | 12.036 | 57.7 |
| 30 | 414 | KHK-507-545-376-218 | 23.8 | 3.1 | 31.1 | 2.5 | 84.241 | 10.972 | 46.4 |
| 31 | 415 | KHK-508-546-377-219 | 15.7 | 1.8 | 43.7 | 2.6 | 52.076 | 6.767 | 37.2 |
| 32 | 416 | KHK-509-547-378-220 | 10.9 | 2.4 | 24.5 | 4.2 | 25.526 | 5.12 | 20.3 |
| 33 | 417 | KHK-510-548-379-221 | 9.1 | 3.2 | 15.0 | 5.0 | 15.853 | 4.385 | 13.3 |
| 34 | 418 | KHK-511-549-380-222 | 10.4 | 3.0 | 23.8 | 3.5 | 17.016 | 6.998 | 17.1 |
| 35 | 419 | KHK-512-550-381-223 | 6.5 | 2.2 | 28.8 | 8.3 | 33.059 | 5.266 | 22.8 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 36 | 420 | KHK-513-551-382-224 | 25.4 | 8.6 | 25.2 | 3.2 | 22.514 | 5.225 | 24.4 |
| 37 | 421 | KHK-514-552-383-225 | 16.4 | 4.8 | 33.5 | 11.4 | 45.353 | 14.944 | 31.7 |
| 38 | 422 | KHK-515-553-384-226 | 66.1 | 4.5 | 47.0 | 3.6 | 150.28 | 13.471 | 87.8 |
| 39 | 423 | KHK-516-554-385-227 | 10.6 | 2.6 | 19.4 | 5.6 | 27.145 | 7.112 | 19.0 |
| 40 | 424 | KHK-517-555-386-228 | 12.0 | 3.4 | 24.7 | 6.3 | 24.382 | 9.127 | 20.4 |
| 41 | 425 | KHK-518-556-387-229 | 15.9 | 5.6 | 23.1 | 6.5 | 16.128 | 6.295 | 18.4 |
| 42 | 426 | KHK-520-558-389-231 | 8.9 | 1.9 | 15.6 | 3.4 | 20.589 | 4.844 | 15.0 |
| 43 | 427 | KHK-521-559-390-232 | 5.0 | 2.9 | 23.6 | 6.4 | 23.218 | 8.661 | 17.3 |
| 44 | 428 | KHK-522-560-391-233 | 9.7 | 1.7 | 12.3 | 2.7 | 12.226 | 3.342 | 11.4 |
| 45 | 429 | KHK-541-579 | 17.8 | 1.5 | 26.0 | 2.6 | 27.272 | 5.808 | 23.7 |
| 46 | 430 | KHK-544-582 | 22.9 | 2.7 | 18.4 | 1.9 | 59.795 | 8.985 | 33.7 |
| 47 | 431 | KHK-546-584 | 30.6 | 5.8 | 42.2 | 7.1 | 35.433 | 9.834 | 36.1 |
| 48 | 432 | KHK-547-585 | 12.2 | 1.9 | 17.8 | 2.6 | 20.431 | 7.549 | 16.8 |
| 49 | 433 | KHK-548-586 | 11.8 | 2.3 | 25.1 | 7.8 | 7.622 | 2.199 | 14.8 |
| 50 | 434 | KHK-549-587 | 12.2 | 2.0 | 15.0 | 3.6 | 14.783 | 3.155 | 14.0 |
| 51 | 435 | KHK-550-588 | 15.9 | 6.2 | 23.7 | 8.1 | 18.365 | 7.143 | 19.3 |
| 52 | 436 | KHK-551-589 | 24.7 | 4.2 | 34.8 | 6.1 | 14.11 | 5.994 | 24.5 |
| 53 | 437 | KHK-552-590 | 24.6 | 4.3 | 30.5 | 5.3 | 22.483 | 8.443 | 25.9 |
| 54 | 438 | KHK-553-591 | 16.1 | 1.6 | 27.3 | 4.3 | 21.753 | 4.168 | 21.7 |
| 55 | 439 | KHK-554-592 | 18.9 | 6.7 | 26.3 | 9.0 | 20.976 | 8.622 | 22.1 |
| 56 | 440 | KHK-555-593 | 22.2 | 7.1 | 27.2 | 10.4 | 24.612 | 15.246 | 24.7 |
| 57 | 441 | KHK-556-594 | 25.9 | 7.5 | 32.3 | 9.9 | 24.205 | 11.232 | 27.5 |
| 58 | 442 | KHK-557-595 | 15.1 | 1.9 | 18.9 | 2.2 | 29.27 | 5.8 | 21.1 |
| 59 | 443 | KHK-558-596 | 25.6 | 8.0 | 24.2 | 11.2 | 29.227 | 13.255 | 26.4 |
| 60 | 444 | KHK-559-597 | 21.3 | 1.9 | 29.7 | 1.8 | 23.268 | 4.973 | 24.8 |
| 61 | 445 | KHK-560-598 | 58.6 | 2.8 | 77.3 | 4.2 | 61.287 | 4.768 | 65.7 |
| 62 | 446 | KHK-561-599 | 14.7 | 2.2 | 28.9 | 3.3 | 23.131 | 4.888 | 22.3 |
| 63 | 447 | KHK-562-600 | 15.1 | 5.1 | 21.2 | 6.5 | 22.347 | 6.503 | 19.6 |
| 64 | 448 | KHK-563-601 | 34.7 | 1.7 | 47.5 | 2.5 | 63.417 | 8.195 | 48.5 |
| 65 | 449 | KHK-564-602 | 19.2 | 1.8 | 30.1 | 2.4 | 44.737 | 9.177 | 31.3 |
| 66 | 450 | KHK-565-603 | 55.7 | 3.1 | 73.0 | 5.6 | 106.349 | 11.887 | 78.3 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 67 | 451 | KHK-566-604 | 19.7 | 1.0 | 30.1 | 2.8 | 31.606 | 2.125 | 27.1 |
| 68 | 452 | KHK-567-605 | 9.9 | 0.5 | 15.4 | 1.3 | 14.15 | 2.218 | 13.2 |
| 69 | 453 | KHK-568-606 | 15.6 | 1.0 | 19.6 | 1.1 | 21.246 | 2.662 | 18.8 |
| 70 | 454 | KHK-569-607 | 45.3 | 5.4 | 53.3 | 5.9 | 42.462 | 12.958 | 47.0 |
| 71 | 455 | KHK-570-608 | 14.6 | 1.4 | 21.6 | 2.3 | 24.089 | 3.615 | 20.1 |
| 72 | 456 | KHK-571-609 | 15.4 | 1.8 | 17.4 | 1.9 | 28.812 | 4.966 | 20.6 |
| 73 | 457 | KHK-572-610 | 27.2 | 1.2 | 33.3 | 2.2 | 38.47 | 4.931 | 33.0 |
| 74 | 458 | KHK-573-611 | 20.6 | 1.7 | 23.1 | 2.1 | 50.396 | 5.757 | 31.4 |
| 75 | 459 | KHK-574-612 | 19.8 | 1.6 | 27.3 | 2.2 | 29.683 | 5.49 | 25.6 |
| 76 | 460 | KHK-575-613 | 31.1 | 1.9 | 31.2 | 2.4 | 37.359 | 5.282 | 33.2 |
| 77 | 461 | KHK-576-614 | 30.0 | 4.0 | 32.2 | 1.9 | 19.014 | 3.763 | 27.1 |
| 78 | 462 | KHK-577-615 | 20.8 | 1.9 | 31.6 | 2.8 | 22.807 | 5.999 | 25.1 |
| 79 | 463 | KHK-638-676 | 25.1 | 2.0 | 27.0 | 2.0 | 38.226 | 3.255 | 30.1 |
| 80 | 464 | KHK-641-679 | 29.0 | 1.7 | 33.5 | 2.0 | 30.662 | 5.567 | 31.0 |
| 81 | 465 | KHK-642-680 | 22.6 | 2.6 | 31.3 | 2.7 | 12.983 | 3.632 | 22.3 |
| 82 | 466 | KHK-643-681 | 39.1 | 2.1 | 41.5 | 2.4 | 38.644 | 6.762 | 39.7 |
| 83 | 467 | KHK-644-682 | 25.3 | 3.2 | 34.7 | 7.5 | 11.343 | 4.407 | 23.8 |
| 84 | 468 | KHK-645-683 | 15.9 | 5.0 | 21.0 | 3.1 | 21.433 | 1.586 | 19.5 |
| 85 | 469 | KHK-646-684 | 22.8 | 1.8 | 30.8 | 2.2 | 13.876 | 3.967 | 22.5 |
| 86 | 470 | KHK-647-685 | 38.8 | 1.5 | 41.9 | 2.4 | 32.316 | 6.062 | 37.7 |
| 87 | 471 | KHK-650-688 | 40.6 | 2.1 | 42.3 | 3.2 | 41.675 | 12.029 | 41.5 |
| 88 | 472 | KHK-676-714 | 56.0 | 2.4 | 52.8 | 2.8 | 71.792 | 10.911 | 60.2 |
| 89 | 473 | KHK-713-722 | 71.9 | 3.5 | 78.9 | 3.4 | 49.345 | 10.259 | 66.7 |
| 90 | 474 | KHK-826-835 | 87.0 | 6.4 | 101.5 | 5.1 | 76.866 | 14.977 | 88.5 |
| 91 | 475 | KHK-827-836 | 62.3 | 2.7 | 98.9 | 8.8 | 29.087 | 3.652 | 63.4 |
| 92 | 476 | KHK-829-838 | 100.3 | 4.5 | 86.8 | 5.3 | 17.67 | 3.397 | 68.3 |
| 93 | 477 | KHK-830-839 | 67.4 | 3.2 | 81.8 | 3.6 | 17.686 | 2.276 | 55.6 |
| 94 | 478 | KHK-831-840 | 61.7 | 3.4 | 69.8 | 5.2 | 13.313 | 3.649 | 48.3 |
| 95 | 479 | KHK-832-841 | 82.3 | 4.4 | 80.0 | 4.4 | 34.692 | 4.011 | 65.7 |
| 96 | 480 | KHK-857-895 | 73.2 | 10.7 | 53.0 | 13.9 | 88.908 | 21.326 | 71.7 |
| 97 | 481 | KHK-858-896 | 25.9 | 1.6 | 23.5 | 2.4 | 34.15 | 5.07 | 27.8 |
| 98 | 482 | KHK-859-897 | 42.4 | 2.4 | 51.3 | 4.2 | 47.048 | 2.926 | 46.9 |
| 99 | 483 | KHK-860-898-729-571 | 9.9 | 1.8 | 19.1 | 2.7 | 13.298 | 2.656 | 14.1 |
| 100 | 484 | KHK-861-899-730-572 | 5.0 | 0.6 | 3.3 | 0.4 | 2.869 | 0.815 | 3.7 |
| 101 | 485 | KHK-862-900 | 10.8 | 1.5 | 12.2 | 0.9 | 12.047 | 3.121 | 11.7 |
| 102 | 486 | KHK-865 | 6.3 | 0.7 | 7.6 | 0.5 | 5.2 | 0.828 | 6.4 |
| 103 | 487 | KHK-880 | 11.8 | 0.8 | 11.5 | 1.6 | 15.705 | 2.293 | 13.0 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 104 | 488 | KHK-882-920 | 6.5 | 0.8 | 6.5 | 0.9 | 4.934 | 1.748 | 6.0 |
| 105 | 489 | KHK-883-921 | 6.0 | 1.0 | 5.3 | 1.1 | 5.884 | 1.209 | 5.7 |
| 106 | 490 | KHK-884-922 | 11.6 | 1.4 | 13.2 | 1.4 | 8.24 | 2.55 | 11.0 |
| 107 | 491 | KHK-885-923 | 7.9 | 0.7 | 9.9 | 1.0 | 7.119 | 2.941 | 8.3 |
| 108 | 492 | KHK-886-924 | 10.7 | 7.4 | 10.9 | 7.0 | 4.814 | 1.257 | 8.8 |
| 109 | 493 | KHK-887-925 | 14.2 | 0.7 | 16.2 | 1.1 | 22.141 | 2.292 | 17.5 |
| 110 | 494 | KHK-888-926 | 13.3 | 1.1 | 17.9 | 1.4 | 17.895 | 1.465 | 16.4 |
| 111 | 495 | KHK-889-927 | 11.5 | 0.8 | 12.3 | 0.8 | 13.253 | 2.142 | 12.3 |
| 112 | 496 | KHK-890-928 | 8.5 | 0.7 | 7.1 | 0.9 | 9.332 | 1.26 | 8.3 |
| 113 | 497 | KHK-891-929 | 9.0 | 1.6 | 8.1 | 1.3 | 10.279 | 2.136 | 9.1 |
| 114 | 498 | KHK-892-930 | 6.0 | 1.0 | 9.4 | 1.2 | 7.1 | 2.124 | 7.5 |
| 115 | 499 | KHK-893-931 | 11.1 | 1.0 | 12.6 | 1.2 | 8.773 | 1.823 | 10.8 |
| 116 | 500 | KHK-894-932 | 16.1 | 2.3 | 19.0 | 1.7 | 8.757 | 1.518 | 14.6 |
| 117 | 501 | KHK-895-933 | 9.2 | 0.5 | 7.4 | 0.4 | 14.47 | 1.915 | 10.3 |
| 118 | 502 | KHK-896-934 | 10.4 | 1.1 | 10.5 | 1.5 | 19.901 | 4.905 | 13.6 |
| 119 | 503 | KHK-897-935 | 13.1 | 0.8 | 14.2 | 0.9 | 24.106 | 2.363 | 17.1 |
| 120 | 504 | KHK-898-936 | 28.7 | 1.4 | 32.0 | 2.9 | 25.261 | 2.143 | 28.7 |
| 121 | 505 | KHK-899-937 | 10.3 | 0.8 | 10.6 | 1.1 | 13.265 | 2.804 | 11.4 |
| 122 | 506 | KHK-900-938 | 9.2 | 0.9 | 10.4 | 0.8 | 8.036 | 1.468 | 9.2 |
| 123 | 507 | KHK-901-939 | 10.7 | 2.1 | 15.3 | 3.3 | 9.39 | 2.386 | 11.8 |
| 124 | 508 | KHK-902-940 | 17.6 | 1.2 | 17.4 | 2.2 | 13.271 | 2.387 | 16.1 |
| 125 | 509 | KHK-903-941 | 11.5 | 0.8 | 15.2 | 1.2 | 6.246 | 1.494 | 11.0 |
| 126 | 510 | KHK-904-942 | 16.1 | 3.0 | 20.6 | 2.5 | 12.783 | 3.392 | 16.5 |
| 127 | 511 | KHK-905-943 | 10.7 | 1.7 | 20.3 | 0.9 | 12.273 | 1.446 | 14.4 |
| 128 | 512 | KHK-906-944 | 13.2 | 2.9 | 24.9 | 2.4 | 6.582 | 2.052 | 14.9 |
| 129 | 513 | KHK-907-945 | 18.6 | 11.2 | 54.3 | 31.6 | 14.417 | 4.546 | 29.1 |
| 130 | 514 | KHK-908-946-777-619 | 26.7 | 14.6 | 46.4 | 21.7 | 125.267 | 92.567 | 66.1 |
| 131 | 515 | KHK-909-947-778-620 | 7.0 | 2.5 | 12.9 | 4.2 | 10.062 | 3.153 | 10.0 |
| 132 | 516 | KHK-910-948-779-621 | 19.9 | 3.0 | 19.2 | 2.6 | 19.331 | 4.315 | 19.5 |
| 133 | 517 | KHK-911-949-780-622 | 14.0 | 1.3 | 12.6 | 1.0 | 13.083 | 3.238 | 13.2 |
| 134 | 518 | KHK-912-950-781-623 | 20.4 | 1.1 | 18.3 | 1.3 | 21.258 | 3.237 | 20.0 |
| 135 | 519 | KHK-913-951-782-624 | 23.3 | 0.9 | 23.6 | 1.2 | 28.036 | 3.803 | 25.0 |
| 136 | 520 | KHK-914-952-783-625 | 70.2 | 6.9 | 69.6 | 6.1 | 65.824 | 7.388 | 68.5 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 137 | 521 | KHK-939-977 | 26.7 | 4.5 | 28.7 | 3.9 | 22.079 | 3.952 | 25.8 |
| 138 | 522 | KHK-940-978 | 14.8 | 2.5 | 18.1 | 3.2 | 11.124 | 3.4 | 14.7 |
| 139 | 523 | KHK-941-979 | 31.0 | 2.1 | 35.9 | 2.4 | 26.216 | 2.217 | 31.1 |
| 140 | 524 | KHK-942-980 | 106.5 | 6.3 | 93.3 | 6.2 | 55.665 | 9.171 | 85.2 |
| 141 | 525 | KHK-943-981 | 15.6 | 1.6 | 14.3 | 1.3 | 14.943 | 2.853 | 14.9 |
| 142 | 526 | KHK-944-982 | 68.2 | 2.2 | 64.0 | 3.2 | 71.816 | 5.94 | 68.0 |
| 143 | 527 | KHK-945-983 | 44.6 | 1.4 | 42.6 | 2.1 | 60.527 | 7.442 | 49.2 |
| 144 | 528 | KHK-946-984 | 42.2 | 2.1 | 43.0 | 2.0 | 44.669 | 6.993 | 43.3 |
| 145 | 529 | KHK-947-985 | 21.0 | 1.1 | 22.3 | 1.9 | 18.992 | 1.862 | 20.8 |
| 146 | 530 | KHK-948-986-817 | 12.7 | 1.7 | 13.3 | 2.9 | 11.454 | 2.967 | 12.5 |
| 147 | 531 | KHK-949-987-818 | 9.1 | 0.5 | 9.8 | 0.8 | 16.011 | 13.037 | 11.7 |
| 148 | 532 | KHK-950-988-819 | 9.6 | 1.2 | 8.5 | 0.8 | 12.475 | 3.586 | 10.2 |
| 149 | 533 | KHK-951-989-820 | 23.5 | 2.2 | 25.3 | 1.9 | 23.247 | 6.755 | 24.0 |
| 150 | 534 | KHK-952-990-821 | 14.5 | 0.8 | 18.3 | 1.6 | 15.126 | 4.553 | 16.0 |
| 151 | 535 | KHK-953-991-822 | 23.0 | 1.5 | 25.9 | 2.2 | 25.674 | 5.773 | 24.9 |
| 152 | 536 | KHK-954-992-823 | 14.1 | 1.5 | 16.9 | 2.7 | 17.22 | 2.41 | 16.1 |
| 153 | 537 | KHK-955-993-824 | 13.0 | 2.4 | 14.4 | 2.5 | 10.614 | 3.054 | 12.7 |
| 154 | 538 | KHK-956-994 | 11.8 | 2.7 | 11.9 | 3.0 | 17.221 | 5.593 | 13.6 |
| 155 | 539 | KHK-957-995 | 6.1 | 2.1 | 10.2 | 1.7 | 14.207 | 1.553 | 10.2 |
| 156 | 540 | KHK-958-996 | 17.4 | 3.2 | 17.9 | 1.0 | 26.913 | 3.733 | 20.7 |
| 157 | 541 | KHK-978-1016 | 43.0 | 3.9 | 50.1 | 4.1 | 41.716 | 3.912 | 45.0 |
| 158 | 542 | KHK-982-1020 | 51.8 | 2.6 | 69.1 | 5.3 | 67.745 | 3.674 | 62.9 |
| 159 | 543 | KHK-983-1021 | 57.0 | 6.9 | 60.3 | 7.5 | 60.141 | 8.62 | 59.2 |
| 160 | 544 | KHK-984-1022 | 15.4 | 2.1 | 16.8 | 2.1 | 17.339 | 3.931 | 16.5 |
| 161 | 545 | KHK-985-1023 | 17.4 | 2.3 | 22.7 | 7.7 | 16.976 | 8.222 | 19.0 |
| 162 | 546 | KHK-991-1029 | 21.4 | 2.9 | 22.7 | 3.9 | 27.54 | 9.397 | 23.9 |
| 163 | 547 | KHK-992-1030 | 11.2 | 1.3 | 11.7 | 1.4 | 18.836 | 2.724 | 13.9 |
| 164 | 548 | KHK-993-1031 | 32.3 | 5.5 | 26.5 | 4.5 | 19.635 | 5.352 | 26.1 |
| 165 | 549 | KHK-999-1037 | 20.8 | 1.8 | 24.4 | 1.8 | 26.652 | 2.248 | 24.0 |
| 166 | 550 | KHK-1000-1038 | 15.3 | 0.8 | 20.9 | 2.4 | 15.57 | 2.369 | 17.3 |
| 167 | 551 | KHK-1019-1057 | 29.8 | 4.4 | 29.5 | 4.4 | 36.461 | 4.748 | 31.9 |
| 168 | 552 | KHK-1054-1092 | 17.3 | 2.7 | 14.9 | 1.9 | 19.554 | 3.963 | 17.2 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 169 | 553 | KHK-1055-1093 | 21.0 | 1.7 | 22.2 | 2.4 | 20.314 | 4.35 | 21.2 |
| 170 | 554 | KHK-1057-1095 | 8.8 | 1.5 | 8.0 | 1.4 | 12.267 | 1.962 | 9.7 |
| 171 | 555 | KHK-1058-1096 | 51.6 | 3.0 | 52.5 | 4.1 | 54.022 | 5.889 | 52.7 |
| 172 | 556 | KHK-1059-1097 | 22.0 | 2.3 | 13.9 | 1.9 | 23.814 | 3.884 | 19.9 |
| 173 | 557 | KHK-1060-1098 | 14.7 | 0.7 | 10.4 | 0.8 | 26.531 | 6.527 | 17.2 |
| 174 | 558 | KHK-1061-1099 | 28.3 | 1.7 | 22.1 | 1.5 | 40.784 | 3.797 | 30.4 |
| 175 | 559 | KHK-1062-1100 | 11.6 | 0.7 | 12.0 | 1.1 | 20.499 | 2.193 | 14.7 |
| 176 | 560 | KHK-1063-1101 | 12.6 | 0.8 | 9.8 | 1.2 | 15.613 | 1.439 | 12.7 |
| 177 | 561 | KHK-1064-1102 | 12.7 | 2.2 | 9.7 | 2.5 | 18.761 | 3.098 | 13.7 |
| 178 | 562 | KHK-1065-1103 | 15.2 | 2.3 | 13.0 | 2.0 | 29.056 | 2.117 | 19.1 |
| 179 | 563 | KHK-1066-1104 | 14.0 | 1.4 | 13.8 | 2.9 | 16.23 | 2.914 | 14.7 |
| 180 | 564 | KHK-1067-1105 | 13.7 | 1.2 | 10.0 | 1.2 | 8.155 | 3.486 | 10.6 |
| 181 | 565 | KHK-1068-1106 | 14.0 | 0.8 | 11.4 | 1.1 | 28.373 | 4.283 | 17.9 |
| 182 | 566 | KHK-1069-1107 | 11.8 | 0.6 | 9.8 | 0.7 | 17.654 | 3.053 | 13.1 |
| 183 | 567 | KHK-1070-1108 | 20.2 | 2.0 | 14.4 | 2.7 | 30.393 | 6.07 | 21.7 |
| 184 | 568 | KHK-1071-1109 | 30.0 | 3.2 | 22.0 | 1.5 | 39.098 | 8.12 | 30.4 |
| 185 | 569 | KHK-1072-1110 | 14.5 | 0.7 | 12.9 | 0.8 | 41.196 | 15.367 | 22.8 |
| 186 | 570 | KHK-1073-1111 | 17.7 | 1.3 | 14.6 | 1.7 | 23.629 | 3.262 | 18.6 |
| 187 | 571 | KHK-1074-1112-943-785 | 25.1 | 2.1 | 23.0 | 2.4 | 34.784 | 6.555 | 27.6 |
| 188 | 572 | KHK-1075-1113-944-786 | 12.4 | 2.5 | 8.4 | 1.9 | 9.594 | 2.863 | 10.1 |
| 189 | 573 | KHK-1076-1114-945-787 | 9.8 | 1.0 | 7.5 | 1.0 | 11.44 | 3.242 | 9.6 |
| 190 | 574 | KHK-1077-1115-946-788 | 13.8 | 1.6 | 11.9 | 1.4 | 19.983 | 4.226 | 15.2 |
| 191 | 575 | KHK-1078-1116-947-789 | 12.2 | 1.4 | 10.2 | 1.5 | 19.236 | 3.613 | 13.9 |
| 192 | 576 | KHK-1079-1117-948-790 | 23.0 | 1.6 | 20.2 | 1.4 | 36.758 | 3.387 | 26.6 |
| 193 | 577 | KHK-1080-1118-949-791 | 12.4 | 0.7 | 10.3 | 0.9 | 23.489 | 2.532 | 15.4 |
| 194 | 578 | KHK-1081-1119-950-792 | 19.0 | 2.8 | 15.4 | 1.4 | 35.094 | 5.069 | 23.2 |
| 195 | 579 | KHK-1082-1120-951-793 | 51.6 | 12.7 | 36.2 | 7.1 | 79.445 | 13.29 | 55.8 |
| 196 | 580 | KHK-1083-1121-952-794 | 12.4 | 0.9 | 7.6 | 1.6 | 29.815 | 4.341 | 16.6 |
| 197 | 581 | KHK-1084-1122-953-795 | 17.8 | 1.5 | 15.4 | 1.3 | 34.538 | 5.134 | 22.6 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 198 | 582 | KHK-1085-1123-954-796 | 20.4 | 2.5 | 19.1 | 2.4 | 28.082 | 3.898 | 22.5 |
| 199 | 583 | KHK-1086-1124-955-797 | 9.8 | 1.4 | 9.1 | 1.9 | 22.862 | 5.973 | 13.9 |
| 200 | 584 | KHK-1087-1125-956-798 | 25.1 | 2.4 | 26.2 | 5.9 | 60.678 | 13 | 37.3 |
| 201 | 585 | KHK-1090-1128 | 15.7 | 2.5 | 14.2 | 4.3 | 47.765 | 6.748 | 25.9 |
| 202 | 586 | KHK-1091-1129 | 17.1 | 1.5 | 16.0 | 1.2 | 47.935 | 10.554 | 27.0 |
| 203 | 587 | KHK-1092-1130 | 59.1 | 13.1 | 81.9 | 15.1 | 116.084 | 17.529 | 85.7 |
| 204 | 588 | KHK-1093-1131 | 68.9 | 6.5 | 72.1 | 6.2 | 135.298 | 14.786 | 92.1 |
| 205 | 589 | KHK-1095-1133 | 39.3 | 2.2 | 34.2 | 2.9 | 49.369 | 9.398 | 41.0 |
| 206 | 590 | KHK-1096-1134 | 54.0 | 3.8 | 58.2 | 5.6 | 107.545 | 13.331 | 73.2 |
| 207 | 591 | KHK-1097-1135 | 26.5 | 3.4 | 22.1 | 3.0 | 39.738 | 6.746 | 29.5 |
| 208 | 592 | KHK-1099-1137 | 19.4 | 2.2 | 21.9 | 2.9 | 37.312 | 8.866 | 26.2 |
| 209 | 593 | KHK-1100-1138 | 31.5 | 3.9 | 31.8 | 4.6 | 86.882 | 29.059 | 50.1 |
| 210 | 594 | KHK-1101-1139 | 60.8 | 5.1 | 65.8 | 3.9 | 89.898 | 14.227 | 72.2 |
| 211 | 595 | KHK-1102-1140 | 29.8 | 1.9 | 25.1 | 2.9 | 49.962 | 4.639 | 34.9 |
| 212 | 596 | KHK-1103-1141 | 9.9 | 1.3 | 5.7 | 0.9 | 14.357 | 4.377 | 10.0 |
| 213 | 597 | KHK-1104-1142 | 7.9 | 0.5 | 5.3 | 0.7 | 14.498 | 2.508 | 9.2 |
| 214 | 598 | KHK-1106-1144 | 12.0 | 2.1 | 6.8 | 2.4 | 17.615 | 5.575 | 12.1 |
| 215 | 599 | KHK-1107-1145 | 7.6 | 1.5 | 3.5 | 1.2 | 12.097 | 3.884 | 7.7 |
| 216 | 600 | KHK-1135-1173 | 9.8 | 2.7 | 6.3 | 2.1 | 20.368 | 5.935 | 12.2 |
| 217 | 601 | KHK-1136-1174 | 55.0 | 8.2 | 57.6 | 8.7 | 51.67 | 14.619 | 54.8 |
| 218 | 602 | KHK-1137-1175 | 6.9 | 1.5 | 5.5 | 0.9 | 14.082 | 4.459 | 8.8 |
| 219 | 603 | KHK-1138-1176 | 3.4 | 1.2 | 2.7 | 1.0 | 20.618 | 4.034 | 8.9 |
| 220 | 604 | KHK-1139-1177 | 14.2 | 4.2 | 10.3 | 2.6 | 45.243 | 8.325 | 23.2 |
| 221 | 605 | KHK-1140-1178 | 22.3 | 7.0 | 14.9 | 4.7 | 58.511 | 10.307 | 31.9 |
| 222 | 606 | KHK-1141-1179 | 16.8 | 4.6 | 18.2 | 4.1 | 34.609 | 7.425 | 23.2 |
| 223 | 607 | KHK-1142-1180 | 10.0 | 4.1 | 8.0 | 2.3 | 33.362 | 7.336 | 17.1 |
| 224 | 608 | KHK-1143-1181 | 13.7 | 2.2 | 12.5 | 4.2 | 28.204 | 4.236 | 18.1 |
| 225 | 609 | KHK-1144-1182 | 11.7 | 2.1 | 14.6 | 4.6 | 49.769 | 18.354 | 25.3 |
| 226 | 610 | KHK-1145-1183 | 19.0 | 6.3 | 22.7 | 6.7 | 51.464 | 20.568 | 31.1 |
| 227 | 611 | KHK-1146-1184 | 16.8 | 4.7 | 14.7 | 5.5 | 71.937 | 37.067 | 34.5 |
| 228 | 612 | KHK-1147-1185 | 9.0 | 1.6 | 9.1 | 1.1 | 11.22 | 4.674 | 9.7 |
| 229 | 613 | KHK-1148-1186 | 8.8 | 1.7 | 6.0 | 1.8 | 18.481 | 8.166 | 11.1 |
| 230 | 614 | KHK-1149-1187 | 20.1 | 3.1 | 18.3 | 2.8 | 36.481 | 11.397 | 24.9 |
| 231 | 615 | KHK-1153-1191 | 24.4 | 3.7 | 20.5 | 3.0 | 29.434 | 6.394 | 24.8 |
| 232 | 616 | KHK-1154-1192 | 11.9 | 2.5 | 8.9 | 2.2 | 22.093 | 6.996 | 14.3 |
| 233 | 617 | KHK-1157-1195 | 14.5 | 2.2 | 11.9 | 2.2 | 26.024 | 4.864 | 17.5 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 234 | 618 | KHK-1158-1196 | 9.3 | 1.4 | 5.0 | 1.5 | 8.547 | 5.09 | 7.6 |
| 235 | 619 | KHK-1159-1197 | 7.3 | 1.3 | 11.6 | 1.3 | 18.971 | 4.052 | 12.6 |
| 236 | 620 | KHK-1161-1199 | 9.9 | 1.0 | 4.8 | 0.7 | 16.083 | 3.57 | 10.3 |
| 237 | 621 | KHK-1163-1201 | 13.7 | 1.3 | 11.9 | 1.4 | 28.564 | 6.393 | 18.0 |
| 238 | 622 | KHK-1164-1202 | 14.6 | 2.9 | 10.0 | 2.5 | 17.654 | 4.993 | 14.1 |
| 239 | 623 | KHK-1232-1270 | 12.0 | 2.4 | 13.2 | 2.6 | 29.824 | 4.644 | 18.4 |
| 240 | 624 | KHK-1278-1316-1147-989 | 14.0 | 2.6 | 8.5 | 3.2 | 16.096 | 5.812 | 12.9 |
| 241 | 625 | KHK-1279-1317-1148-990 | 9.4 | 2.2 | 8.2 | 2.0 | 23.969 | 10.352 | 13.9 |
| 242 | 626 | KHK-1280-1318-1149-991 | 4.5 | 1.4 | 5.3 | 1.2 | 11.007 | 1.786 | 6.9 |
| 243 | 627 | KHK-1281-1319-1150-992 | 4.0 | 1.3 | 7.4 | 2.3 | 30.368 | 6.698 | 13.9 |
| 244 | 628 | KHK-1282-1320-1151-993 | 10.0 | 1.5 | 9.4 | 2.9 | 10.4 | 2.173 | 10.0 |
| 245 | 629 | KHK-1283-1321 | 23.7 | 3.6 | 25.9 | 5.1 | 20.361 | 6.111 | 23.3 |
| 246 | 630 | KHK-1284-1322 | 17.5 | 1.2 | 15.1 | 1.9 | 23.591 | 3.59 | 18.8 |
| 247 | 631 | KHK-1285-1323 | 15.8 | 1.4 | 19.5 | 1.2 | 13.69 | 2.902 | 16.3 |
| 248 | 632 | KHK-1286-1324 | 17.7 | 2.8 | 18.7 | 2.8 | 18.507 | 3.994 | 18.3 |
| 249 | 633 | KHK-1287-1325 | 9.2 | 3.3 | 7.7 | 3.0 | 10.381 | 3.571 | 9.1 |
| 250 | 634 | KHK-1288-1326 | 8.4 | 2.9 | 3.8 | 1.7 | 11.461 | 3.398 | 7.9 |
| 251 | 635 | KHK-1289-1327 | 8.4 | 2.9 | 6.4 | 4.6 | 11.992 | 3.025 | 8.9 |
| 252 | 636 | KHK-1290-1328 | 8.7 | 1.5 | 6.7 | 1.2 | 8.926 | 3.258 | 8.1 |
| 253 | 637 | KHK-1291-1329 | 6.9 | 0.7 | 3.8 | 1.0 | 7.55 | 2.469 | 6.1 |
| 254 | 638 | KHK-1292-1330 | 17.7 | 1.1 | 12.8 | 1.2 | 30.785 | 7.501 | 20.5 |
| 255 | 639 | KHK-1293-1331 | 11.6 | 1.3 | 9.7 | 1.6 | 15.795 | 2.45 | 12.4 |
| 256 | 640 | KHK-1294-1332 | 25.7 | 1.4 | 34.2 | 2.2 | 33.058 | 7.279 | 31.0 |
| 257 | 641 | KHK-1295-1333 | 13.1 | 1.5 | 12.2 | 2.1 | 15.793 | 3.001 | 13.7 |
| 258 | 642 | KHK-1297-1335 | 21.1 | 1.3 | 21.8 | 1.5 | 24.699 | 4.755 | 22.5 |
| 259 | 643 | KHK-1323-1361 | 49.4 | 8.1 | 57.3 | 8.3 | 44.887 | 11.548 | 50.5 |
| 260 | 644 | KHK-1325-1363 | 38.7 | 2.6 | 32.1 | 3.3 | 28.739 | 4.127 | 33.2 |
| 261 | 645 | KHK-1326-1364 | 10.7 | 0.8 | 8.2 | 0.9 | 20.863 | 2.809 | 13.3 |
| 262 | 646 | KHK-1327-1365 | 54.1 | 2.2 | 52.2 | 3.4 | 94.086 | 19.883 | 66.8 |
| 263 | 647 | KHK-1328-1366 | 40.5 | 1.7 | 45.3 | 3.8 | 44.867 | 7.194 | 43.5 |
| 264 | 648 | KHK-1329-1367 | 17.2 | 1.4 | 14.4 | 1.0 | 32.257 | 2.561 | 21.3 |
| 265 | 649 | KHK-1330-1368 | 15.6 | 1.2 | 18.9 | 1.9 | 19.171 | 3.863 | 17.9 |
| 266 | 650 | KHK-1331-1369 | 15.4 | 1.6 | 12.9 | 2.0 | 42.066 | 5.461 | 23.4 |
| 267 | 651 | KHK-1332-1370 | 12.0 | 0.8 | 8.5 | 0.9 | 10.488 | 3.467 | 10.3 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 268 | 652 | KHK-1333-1371 | 7.2 | 0.9 | 3.7 | 0.9 | 8.179 | 2.058 | 6.3 |
| 269 | 653 | KHK-1334-1372 | 8.7 | 1.5 | 6.5 | 1.0 | 7.49 | 0.985 | 7.6 |
| 270 | 654 | KHK-1335-1373 | 9.7 | 0.6 | 5.2 | 1.1 | 9.403 | 1.153 | 8.1 |
| 271 | 655 | KHK-1336-1374 | 10.0 | 1.8 | 5.2 | 1.4 | 14.512 | 2.647 | 9.9 |
| 272 | 656 | KHK-1385-1423 | 47.5 | 3.5 | 49.0 | 4.8 | 44.122 | 7.678 | 46.9 |
| 273 | 657 | KHK-1387-1425 | 14.4 | 2.1 | 15.9 | 3.0 | 22.666 | 4.122 | 17.7 |
| 274 | 658 | KHK-1388-1426 | 27.0 | 2.9 | 28.2 | 3.3 | 34.575 | 4.985 | 29.9 |
| 275 | 659 | KHK-1389-1427 | 25.1 | 3.0 | 29.5 | 2.8 | 18.759 | 3.577 | 24.5 |
| 276 | 660 | KHK-1538-1588 | 81.1 | 15.3 | 73.7 | 17.3 | 71.289 | 16.403 | 75.3 |
| 277 | 661 | KHK-1540-1590 | 46.8 | 4.2 | 35.5 | 4.6 | 23.533 | 8.593 | 35.3 |
| 278 | 662 | KHK-1542-1592 | 80.6 | 4.7 | 89.1 | 3.3 | 85.445 | 7.942 | 85.0 |
| 279 | 663 | KHK-1665-1708 | 84.8 | 4.3 | 86.6 | 8.9 | 116.186 | 21.343 | 95.8 |
| 280 | 664 | KHK-1666-1709 | 97.0 | 2.5 | 99.6 | 3.9 | 115.899 | 10.593 | 104.2 |
| 281 | 665 | KHK-1667-1710 | 99.5 | 4.4 | 109.4 | 5.7 | 123.463 | 8.991 | 110.8 |
| 282 | 666 | KHK-1707-1750 | 91.1 | 3.5 | 107.3 | 6.3 | 123.75 | 26.01 | 107.4 |
| 283 | 667 | KHK-1708-1751 | 72.5 | 5.7 | 85.8 | 8.2 | 76.118 | 10.985 | 78.1 |
| 284 | 668 | KHK-1709-1752 | 136.2 | 5.8 | 114.5 | 5.9 | 75.202 | 14.025 | 108.7 |
| 285 | 669 | KHK-1869-1918 | 118.1 | 21.1 | 111.2 | 20.6 | 97.088 | 18.195 | 108.8 |
| 286 | 670 | KHK-1870-1919 | 90.2 | 8.7 | 83.2 | 11.2 | 87.62 | 22.519 | 87.0 |
| 287 | 671 | KHK-1871-1920 | 81.7 | 4.6 | 80.6 | 4.6 | 119.805 | 13.019 | 94.1 |
| 288 | 672 | KHK-1872-1921 | 94.5 | 4.4 | 87.4 | 5.7 | 74.492 | 13.782 | 85.4 |
| 289 | 673 | KHK-1873-1922 | 93.2 | 5.4 | 90.9 | 4.6 | 88.62 | 13.98 | 90.9 |
| 290 | 674 | KHK-1874-1923 | 93.2 | 6.3 | 90.7 | 4.9 | 74.793 | 8.913 | 86.2 |
| 291 | 675 | KHK-1875-1924 | 86.5 | 8.5 | 76.3 | 8.2 | 45.965 | 7.621 | 69.6 |
| 292 | 676 | KHK-1876-1925 | 73.7 | 9.7 | 61.1 | 8.7 | 34.813 | 6.807 | 56.6 |
| 293 | 677 | KHK-1877-1926 | 72.7 | 3.9 | 51.0 | 5.3 | 45.122 | 9.468 | 56.3 |
| 294 | 678 | KHK-1878-1927 | 75.8 | 4.8 | 79.7 | 8.0 | 54.716 | 8.031 | 70.1 |
| 295 | 679 | KHK-1879-1928 | 90.6 | 8.4 | 77.0 | 9.0 | 86.62 | 13.219 | 84.7 |
| 296 | 680 | KHK-1880-1929 | 100.4 | 8.5 | 84.5 | 9.8 | 85.501 | 13.022 | 90.1 |
| 297 | 681 | KHK-1900-1949 | 104.9 | 12.1 | 96.5 | 15.3 | 70.712 | 8.039 | 90.7 |
| 298 | 682 | KHK-1905-1954 | 71.4 | 17.0 | 71.0 | 22.1 | 35.273 | 14.001 | 59.2 |
| 299 | 683 | KHK-1971-2025 | 77.5 | 25.4 | 128.3 | 28.3 | 34.399 | 9.559 | 80.1 |
| 300 | 684 | KHK-1974-2028 | 74.2 | 6.0 | 64.4 | 7.7 | 50.763 | 6.122 | 63.1 |
| 301 | 685 | KHK-1975-2029 | 80.8 | 7.8 | 80.5 | 7.1 | 55.779 | 10.606 | 72.3 |
| 302 | 686 | KHK-1976-2030 | 69.2 | 6.8 | 73.5 | 8.5 | 53.873 | 16.663 | 65.5 |
| 303 | 687 | KHK-1978-2032 | 73.7 | 10.3 | 73.6 | 10.0 | 57.334 | 7.876 | 68.2 |
| 304 | 688 | KHK-1979-2033 | 81.2 | 9.5 | 95.1 | 13.6 | 43.016 | 8.767 | 73.1 |
| 305 | 689 | KHK-2032-2086 | 94.2 | 6.3 | 124.6 | 9.4 | 99.842 | 10.374 | 106.2 |
| 306 | 690 | KHK-2035-2089 | 66.5 | 6.2 | 72.2 | 14.5 | 47.134 | 6.316 | 61.9 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 307 | 691 | KHK-2036-2090 | 82.4 | 9.1 | 110.4 | 15.5 | 56.532 | 12.458 | 83.1 |
| 308 | 692 | KHK-2037-2091 | 88.9 | 8.1 | 72.5 | 7.9 | 48.451 | 10.859 | 70.0 |
| 309 | 693 | KHK-2038-2092 | 74.2 | 3.6 | 58.7 | 4.7 | 44.437 | 4.32 | 59.1 |
| 310 | 694 | KHK-2039-2093 | 75.1 | 5.3 | 76.3 | 8.1 | 51.597 | 6.117 | 67.7 |
| 311 | 695 | KHK-2040-2094 | 75.9 | 8.5 | 70.0 | 11.2 | 57.499 | 6.477 | 67.8 |
| 312 | 696 | KHK-2041-2095 | 80.5 | 4.1 | 78.1 | 3.5 | 78.593 | 10.192 | 79.1 |
| 313 | 697 | KHK-2042-2096 | 79.1 | 5.2 | 84.7 | 4.0 | 88.699 | 8.352 | 84.2 |
| 314 | 698 | KHK-2043-2097 | 72.0 | 3.8 | 70.0 | 2.7 | 83.791 | 8.891 | 75.3 |
| 315 | 699 | KHK-2044-2098 | 37.6 | 12.9 | 32.3 | 13.4 | 30.83 | 15.258 | 33.6 |
| 316 | 700 | KHK-2045-2099 | 101.3 | 8.7 | 87.4 | 11.3 | 54.839 | 12.261 | 81.2 |
| 317 | 701 | KHK-2067-2121 | 88.2 | 5.1 | 78.4 | 2.6 | 75.916 | 8.438 | 80.8 |
| 318 | 702 | KHK-2069-2123 | 83.1 | 3.7 | 84.9 | 5.2 | 63.679 | 10.343 | 77.2 |
| 319 | 703 | KHK-2091-2145 | 83.8 | 5.4 | 87.1 | 8.9 | 53.463 | 10.34 | 74.8 |
| 320 | 704 | KHK-2092-2146 | 85.4 | 6.2 | 89.7 | 7.8 | 68.656 | 5.01 | 81.3 |
| 321 | 705 | KHK-2093-2147 | 102.7 | 21.4 | 65.4 | 19.9 | 71.693 | 14.857 | 79.9 |
| 322 | 706 | KHK-2094-2148 | 88.8 | 6.4 | 94.1 | 6.7 | 53.85 | 10.392 | 78.9 |
| 323 | 707 | KHK-2095-2149 | 76.2 | 21.4 | 97.2 | 25.9 | 47.372 | 14.735 | 73.6 |
| 324 | 708 | KHK-2096-2150 | 87.9 | 16.4 | 78.6 | 13.2 | 49.454 | 14.398 | 72.0 |
| 325 | 709 | KHK-2105 | 92.1 | 7.7 | 90.8 | 11.5 | 97.683 | 10.156 | 93.5 |
| 326 | 710 | KHK-2148-2197 | 86.5 | 5.8 | 79.3 | 16.0 | 76.198 | 8.142 | 80.7 |
| 327 | 711 | KHK-2149-2198 | 71.3 | 3.7 | 73.8 | 4.2 | 55.558 | 6.731 | 66.9 |
| 328 | 712 | KHK-2150-2199 | 92.1 | 7.1 | 97.5 | 4.9 | 75.703 | 6.126 | 88.4 |
| 329 | 713 | KHK-2151-2200 | 96.2 | 3.7 | 108.0 | 10.3 | 91.908 | 5.852 | 98.7 |
| 330 | 714 | KHK-2152-2201 | 78.7 | 6.5 | 74.7 | 9.6 | 42.766 | 6.332 | 65.4 |
| 331 | 715 | KHK-2153-2202 | 95.2 | 14.8 | 73.9 | 13.1 | 47.169 | 10.902 | 72.1 |
| 332 | 716 | KHK-2154-2203 | 114.1 | 11.9 | 92.3 | 7.2 | 61.728 | 10.943 | 89.4 |
| 333 | 717 | KHK-2155-2204 | 92.1 | 8.4 | 83.1 | 3.8 | 119.537 | 11.18 | 98.2 |
| 334 | 718 | KHK-2156-2205 | 104.7 | 5.4 | 91.6 | 4.7 | 148.445 | 15.208 | 114.9 |
| 335 | 719 | KHK-2157-2206 | 94.2 | 8.4 | 92.0 | 10.4 | 68.735 | 7.132 | 85.0 |
| 336 | 720 | KHK-2159-2208 | 85.4 | 4.5 | 78.4 | 6.2 | 62.397 | 10.642 | 75.4 |
| 337 | 721 | KHK-2160-2209 | 72.7 | 1.9 | 81.8 | 5.3 | 56.483 | 11.255 | 70.3 |
| 338 | 722 | KHK-2161-2210 | 93.7 | 14.6 | 74.3 | 10.9 | 18.252 | 5.102 | 62.1 |
| 339 | 723 | KHK-2162-2211 | 106.7 | 11.3 | 127.3 | 17.9 | 53.455 | 15.254 | 95.8 |
| 340 | 724 | KHK-2163-2212 | 79.5 | 8.2 | 91.6 | 6.4 | 49.199 | 6.236 | 73.5 |
| 341 | 725 | KHK-2164-2213 | 101.1 | 13.4 | 115.2 | 20.4 | 84.893 | 29.662 | 100.4 |
| 342 | 726 | KHK-2165-2214 | 97.0 | 10.8 | 102.1 | 9.9 | 76.079 | 10.525 | 91.7 |
| 343 | 727 | KHK-2166-2215 | 91.6 | 20.4 | 89.3 | 22.7 | 55.353 | 11.894 | 78.8 |
| 344 | 728 | KHK-2170-2219 | 75.9 | 4.5 | 89.7 | 4.6 | 68.461 | 8.991 | 78.0 |
| 345 | 729 | KHK-2196-2245 | 60.3 | 2.9 | 65.1 | 4.4 | 43.35 | 5.951 | 56.3 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 346 | 730 | KHK-2197-2246 | 85.4 | 8.4 | 98.9 | 9.4 | 65.81 | 6.865 | 83.4 |
| 347 | 731 | KHK-2198-2247 | 89.4 | 15.0 | 108.1 | 10.3 | 44.371 | 7.323 | 80.6 |
| 348 | 732 | KHK-2199-2248 | 97.2 | 14.8 | 91.3 | 16.1 | 49.493 | 8.874 | 79.3 |
| 349 | 733 | KHK-2200-2249 | 104.7 | 10.7 | 111.8 | 13.5 | 47.327 | 5.488 | 87.9 |
| 350 | 734 | KHK-2201-2250 | 100.3 | 11.7 | 102.7 | 13.8 | 52.984 | 11.652 | 85.3 |
| 351 | 735 | KHK-2205 | 96.9 | 17.0 | 88.0 | 10.9 | 55.021 | 8.208 | 80.0 |
| 352 | 736 | KHK-2238 | 89.1 | 8.0 | 99.6 | 8.2 | 113.917 | 11.636 | 100.9 |
| 353 | 737 | KHK-2260-2309 | 111.5 | 13.2 | 110.2 | 11.9 | 95.452 | 20.407 | 105.7 |
| 354 | 738 | KHK-2261-2310 | 103.6 | 9.1 | 106.9 | 12.4 | 97.581 | 15.894 | 102.7 |
| 355 | 739 | KHK-2262-2311 | 141.3 | 14.6 | 132.9 | 11.8 | 112.052 | 19.366 | 128.7 |
| 356 | 740 | KHK-2263-2312 | 104.0 | 10.5 | 80.5 | 11.4 | 59.852 | 7.342 | 81.4 |
| 357 | 741 | KHK-2264-2313 | 100.7 | 17.1 | 88.6 | 15.5 | 53.023 | 12.056 | 80.8 |
| 358 | 742 | KHK-2265-2314 | 103.2 | 11.2 | 103.8 | 11.9 | 60.929 | 8.309 | 89.3 |
| 359 | 743 | KHK-2266-2315 | 119.8 | 8.9 | 110.3 | 8.5 | 66.846 | 9.19 | 99.0 |
| 360 | 744 | KHK-2299 | 77.7 | 3.2 | 72.0 | 5.9 | 69.804 | 11.442 | 73.2 |
| 361 | 745 | KHK-2317-2366 | 81.2 | 3.0 | 84.4 | 7.7 | 66.04 | 7.299 | 77.2 |
| 362 | 746 | KHK-2318-2367 | 86.6 | 3.7 | 97.0 | 5.2 | 66.519 | 4.573 | 83.4 |
| 363 | 747 | KHK-2319-2368 | 127.5 | 12.5 | 102.9 | 8.9 | 82.338 | 11.524 | 104.2 |
| 364 | 748 | KHK-2320-2369 | 98.9 | 11.1 | 94.2 | 15.6 | 59.154 | 17.115 | 84.1 |
| 365 | 749 | KHK-2321-2370 | 127.6 | 13.8 | 127.6 | 16.5 | 81.979 | 19.313 | 112.4 |
| 366 | 750 | KHK-2322-2371 | 83.3 | 9.1 | 68.5 | 8.6 | 78.252 | 14.344 | 76.7 |
| 367 | 751 | KHK-2323-2372 | 83.2 | 7.3 | 79.8 | 7.7 | 57.202 | 9.062 | 73.4 |
| 368 | 752 | KHK-2324-2373 | 95.0 | 3.0 | 101.4 | 5.2 | 118.194 | 16.285 | 104.9 |
| 369 | 753 | KHK-2325-2374 | 123.0 | 15.6 | 153.7 | 23.1 | 188.498 | 24.768 | 155.1 |
| 370 | 754 | KHK-2326-2375 | 94.5 | 12.0 | 101.2 | 8.2 | 110.056 | 29.627 | 101.9 |
| 371 | 755 | KHK-2332 | 96.2 | 11.9 | 122.2 | 10.2 | 120.096 | 15.829 | 112.8 |
| 372 | 756 | KHK-2333 | 97.9 | 12.7 | 73.0 | 9.9 | 50.041 | 16.617 | 73.7 |
| 373 | 757 | KHK-2335 | 104.4 | 9.0 | 81.2 | 7.5 | 33.77 | 6.814 | 73.1 |
| 374 | 758 | KHK-2340 | 64.4 | 14.3 | 45.7 | 12.3 | 34.661 | 10.468 | 48.2 |
| 375 | 759 | KHK-2341 | 61.9 | 10.6 | 53.7 | 6.9 | 43.579 | 8.14 | 53.1 |
| 376 | 760 | KHK-2346 | 104.5 | 9.2 | 92.5 | 12.6 | 104.386 | 32.315 | 100.4 |
| 377 | 761 | KHK-2352 | 78.5 | 6.7 | 83.6 | 8.0 | 97.544 | 18.168 | 86.6 |
| 378 | 762 | KHK-2358 | 78.8 | 7.0 | 75.7 | 9.9 | 64.974 | 13.327 | 73.1 |
| 379 | 763 | KHK-2359 | 89.5 | 9.0 | 91.8 | 8.2 | 71.314 | 7.358 | 84.2 |
| 380 | 764 | KHK-2360 | 132.4 | 26.2 | 82.8 | 8.7 | 159.973 | 15.729 | 125.0 |
| 381 | 765 | KHK-2361 | 110.4 | 8.5 | 87.7 | 7.8 | 87.634 | 7.799 | 95.3 |
| 382 | 766 | KHK-2362 | 92.5 | 12.8 | 72.7 | 7.2 | 84.427 | 12.833 | 83.2 |
| 383 | 767 | KHK-2363 | 100.4 | 9.2 | 76.1 | 14.4 | 52.066 | 18.068 | 76.2 |
| 384 | 768 | KHK-2364 | 116.4 | 9.8 | 88.5 | 8.3 | 120.931 | 26.855 | 108.6 |

| | | | KHK-F495 | | KHK-F1026 | | KHK-825 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SEQ ID NO (有义链) | SEQ ID NO (反义链) | DsiRNA名称 | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 剩余% | SEM | 所有分析的平均值% |
| 385 | 769 | KHK-2365 | 100.5 | 5.7 | 92.9 | 5.2 | 132.668 | 7.14 | 108.7 |
| 386 | 770 | KHK-2366 | 129.3 | 7.2 | 113.5 | 5.7 | 135.163 | 16.2 | 126.0 |
| 387 | 771 | KHK-2367 | 123.3 | 9.0 | 105.9 | 9.2 | 136.356 | 9.025 | 121.9 |

实施例3:两种KHK同种型的体内RNAi寡核苷酸抑制

[0350] 实施例2中的体外筛选分析证实KHK DsiRNA减弱KHK的两种同种型(KHK-All)基因表达的能力。为了确认RNAi寡核苷酸敲弱KHK-A与KHK-C同种型两者基因表达的能力,使用并列(side-by-side)HDI小鼠模型。首先,使用包含实施例2中鉴别出的384个DsiRNA的子集且识别人类/NHP-保守的KHK的核苷酸序列来产生相应包含带切口的四环GalNAc结合结构的双链RNAi寡核苷酸(在本文中称为"GalNAc结合的KHK寡核苷酸"或"GalNAc-KHK构建体"),其具有36聚体随从链及22聚体引导链(表3)。具体而言,为了产生22-聚体引导链,将实施例2中使用的19-聚体核心反义链序列(例如,SEQ ID NO:948-953)修饰为在5'端具有磷酸化尿嘧啶及在3'端具有两个鸟嘌呤。为了产生36-聚体随从链,将对应于反义链中磷酸化尿嘧啶的腺嘌呤及16-聚体茎环(SEQ ID NO:871)添加至用于实施例2中的19-聚体核心有义链序列的3'端(例如,SEQ ID NO:942-947)。此外,包含GalNAc结合的KHK寡核苷酸的随从链及引导链的核苷酸序列具有不同的经修饰的核苷酸及硫代磷酸酯键联模式(例如,参见图2A、图2B及表3的一般结构示意图及化学修饰的关键词;本文分别称为低-2'-氟(3PS)及低-2'-氟(2PS),一起作为GalNAc结合的KHK寡核苷酸的低-2'-氟模式)。构成四环的三种腺苷核苷酸各自与GalNAc部分(CAS编号:14131-60-3)结合。修饰模式在下文以两个可互换的修饰关键词表示。

GalNAc-KHK构建体的低-2'-氟(3PS)修饰模式(5'反义3PS)

有义链:5'-mX-S-mX-mX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-3'。

与以下杂交:

反义链:5'-[Me膦酸酯-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-fX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-S-mX-S-mX-3'

(修饰关键词:表3)。

或,表示为:

有义链:

[mXs][mX][mX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX]

与以下杂交:

反义链:[Me膦酸酯-4O-mXs][fXs][fXs][fX][fX][mX][fX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mXs][mXs][mX]

(修饰关键词:表3)。

GalNAc-KHK构建体的低-2'氟(2PS)修饰模式(5'反义2PS)

有义链:5'-mX-S-mX-mX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX-3'。

与以下杂交:

反义链:5'-[Me膦酸酯-4O-mX]-S-fX-S-fX-fX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-S-mX-S-mX-3'

(修饰关键词:表3)。

或,表示为:

有义链:

[mXs][mX][mX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX]

与以下杂交:

反义链:[Me膦酸酯-4O-mXs][fXs][fX][fX][fX][mX][fX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mXs][mXs][mX]

表3.修饰关键词

| 符号 | 修饰/键联 |
|---|---|
| **关键词1** | |
| mX | 2'-*O*-甲基修饰的核苷酸 |
| fX | 2'-氟修饰的核苷酸 |
| -*S*- | 硫代磷酸酯键联 |
| - | 磷酸二酯键联 |
| [ Me膦酸酯-4O-mX] | 5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基修饰的核苷酸 |
| ademA-GalNAc | 与腺嘌呤核苷酸连接的GalNAc |

| **关键词2** | |
|---|---|
| [mXs] | 具有与邻近核苷酸的硫代磷酸酯键联的2'-O-甲基修饰的核苷酸 |
| [fXs] | 具有与邻近核苷酸的硫代磷酸酯键联的2'-氟修饰的核苷酸 |
| [mX] | 具有与相邻核苷酸的磷酸二酯键联的2'-O-甲基修饰的核苷酸 |
| [fX] | 具有与相邻核苷酸的磷酸二酯键联的2'-氟修饰的核苷酸 |

[0351] 随后使用GalNAc-KHK构建体来评估小鼠中的抑制功效。具体而言,对6-8周龄雌性CD-1小鼠(n=5)皮下施用以2mg/kg的剂量配制在PBS中的指示的GalNAc结合的KHK寡核苷酸(表4)。对照组小鼠(n=5)仅施用PBS。三天后(72小时),在普遍存在的巨细胞病毒(CMV)启动子序列的控制下使用编码全人类KHK基因(NM_006488.3)(25μg)的DNA质粒(pCMV6-KHK-C,目录号:RC223488,OriGene)或编码全人类KHK-A基因(NM_000221)的质粒(pCMV6-KHK-A,目录号;RC202424,OriGene)对小鼠进行流体动力学注射(HDI)。在引入DNA质粒一天之后,自HDI小鼠收集肝脏样品。使用DNA质粒上包括的NeoR基因,针对转染效率将所述值标准化。

[0352] 自小鼠肝脏分离的总RNA用于通过qRT-PCR评定相对KHK mRNA表达。使用来自Life Technologies的TaqMan RT-qPCR探针进行评估[3'分析(正向-1026;TGGAGGTGGAGAAGCCA

(SEQ ID NO:865)、反向-1157;GACCATACAAGCCCCTCAAG(SEQ ID NO:866)、谈探针-1080;TGGTGTTTGTCAGCAAAGATGTGGC(SEQ ID NO:867))及5'分析(正向-496;AGGAAGCTCTGGGAGTA(SEQ ID NO:868),反向-596;CCTCCTTAGGGTACTTGTC(SEQ ID NO:869),探针-518;ATGGAAGAGAAGCAGATCCTGTGCG(SEQ ID NO:870))]。使用DNA质粒上包括的NeoR基因,针对转染效率将所述值标准化。如上文所描述产生HDI小鼠,但使用人类KHK-A质粒或人类KHK-C质粒。用表4中的GalNAc-KHK构建体(使用低-2'-氟修饰模式)以5只一组对小鼠进行治疗。收集肝脏且使用识别KHK-A11、KHK-C或KHK-A的引物对来测量mRNA。结果证实经设计以靶向所有KHK转录物的GalNAc-KHK构建体在人类KHK-A与KHK-C HDI小鼠模型中展现成功的基因敲弱(图3)。

表4.在KHK-C及KHK-A HDI小鼠模型中评估的GalNAc-KHK构建体

| 名称 | 有义链<br>未经修饰 SEQ ID NO | 反义链<br>未经修饰SEQ ID NO | 有义链<br>经修饰SEQ ID NO | 反义链<br>经修饰SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|
| KHK-516 | 39 | 423 | 775 | 820 |
| KHK-865 | 102 | 486 | 779 | 824 |
| KHK-882 | 104 | 488 | 780 | 825 |
| KHK-885 | 107 | 491 | 782 | 827 |
| KHK-1078 | 191 | 575 | 785 | 830 |
| KHK-1334 | 269 | 653 | 804 | 849 |

实施例4:靶向KHK的RNAi寡核苷酸的修饰模式的变化维持mRNA抑制功效

[0353] 为了评定修饰模式是否会影响GalNAc-KHK构建体的靶向效率及稳定性,在HDI小鼠中分析了两种独特的模式。具体而言,使用的修饰模式为实施例3中描述的低-2'-氟模式(参见图2A及图2B)及中-2'-氟模式(参见图4A)。

GalNAc-KHK构建体的中-2'-氟修饰模式

有义链:5'-mX-S-mX-fX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-mX-fX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX-3'。

与以下杂交:

反义链:5'-[Me膦酸酯-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-fX-fX-mX-fX-fX-mX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-S-mX-S-mX-3'

(修饰关键词:表3)。

或,表示为:

有义链:[mXs][mX][fX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][mX][fX][fX][mX]
[mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX]

与以下杂交:

反义链:[Me膦酸酯-4O-mXs][fXs][fXs][fX][fX][mX][fX][fX][mX][fX]
[mX][mX][mX][fX][mX][fX][mX][mX][fX][mXs][mXs][mX](修饰关键词:表3)。

[0354] HDI小鼠如实施例3中所述产生。用低-2'-氟或中-2'-氟修饰的KHK构建体治疗小鼠(表5)。治疗后72小时,用[pcDNA3.1-KHK-C,编码全人类KHK基因(NM_006488)]对小鼠进

行流体动力学注射。如实施例3中所描述收集及处理肝脏。将一组GalNAc-KHK构建体(KHK-0861、-0865、-0882、-0883、-0885)混合在一起且用作抑制的阳性对照。两种修饰模式均导致小鼠中KHK mRNA的抑制(图4B至图4E)。这些结果表明两种修饰模式都敲弱目标mRNA的基因表达。

表5:用于修饰模式分析的GalNAc-KHK构建体

| 名称 | 修饰模式 | 有义链未经修饰SEQ ID NO | 反义链未经修饰SEQ ID NO | 有义链经修饰SEQ ID NO | 反义链经修饰SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|
| KHK-861 | 低-2'F | 100 | 484 | 778 | 823 |
| KHK-861 | 中-2'F | 100 | 484 | 808 | 853 |
| KHK-865 | 低-2'F | 102 | 486 | 779 | 824 |
| KHK-865 | 中-2'F | 102 | 486 | 809 | 854 |
| KHK-882 | 低-2'F | 104 | 488 | 780 | 820 |
| KHK-882 | 中-2'F | 104 | 488 | 810 | 855 |
| KHK-883 | 低-2'F | 105 | 489 | 781 | 826 |
| KHK-883 | 中-2'F | 105 | 489 | 811 | 856 |
| KHK-885 | 低-2'F | 107 | 491 | 782 | 827 |
| KHK-885 | 中-2'F | 107 | 491 | 812 | 857 |
| KHK-1288 | 低-2'F | 250 | 634 | 787 | 832 |
| KHK-1288 | 中-2'F | 250 | 634 | 816 | 861 |
| KHK-1290 | 低-2'F | 252 | 636 | 788 | 833 |
| KHK-1290 | 中-2'F | 252 | 636 | 817 | 862 |
| KHK-1334 | 低-2'F | 269 | 653 | 804 | 849 |
| KHK-1334 | 中-2'F | 269 | 653 | 818 | 863 |
| KHK-516 | 中-2'F | 39 | 423 | 805 | 850 |
| KHK-804 | 中-2'F | N/A | N/A | 806 | 851 |
| KHK-829 | 中-2'F | 92 | 476 | 807 | 852 |
| KHK-1076 | 中-2'F | 189 | 573 | 814 | 859 |
| KHK-1078 | 中-2'F | 191 | 575 | 815 | 860 |

实施例5:体内KHK表达的RNAi寡核苷酸抑制

小鼠HDI KHK基因敲弱筛选研究

[0355] 如实施例3中所述在HDI小鼠中评估表6中所列的GalNAc结合的KHK寡核苷酸。GalNAc-KHK构建体治疗有效地降低KHK-All mRNA(图5)。当使用对KHK-C同种型具有特异性的引物时,GalNAc-KHK构建体在降低mRNA方面仍然有效(图5)。

表6.HDI模型中分析的GalNAc-KHK构建体

| 名称 | 有义链经修饰SEQ ID NO | 反义链经修饰SEQ ID NO |
|---|---|---|
| KHK-885 | 782 | 827 |
| KHK-869 | 795 | 840 |
| KHK-873 | 796 | 841 |
| KHK-879 | 797 | 842 |
| KHK-881 | 798 | 843 |
| KHK-896 | 799 | 844 |
| KHK-1064 | 800 | 845 |
| KHK-1075 | 784 | 829 |
| KHK-1077 | 801 | 846 |
| KHK-1080 | 802 | 847 |
| KHK-1106 | 803 | 848 |
| KHK-1147 | 794 | 839 |
| KHK-1148 | 789 | 834 |
| KHK-1152 | 790 | 835 |
| KHK-1154 | 791 | 836 |
| KHK-1155 | 792 | 837 |
| KHK-1277 | 793 | 838 |

[0356] 使用相同方法分析额外构建体(表7)且发现对于KHK-A1l及KHK-C的有效的基因敲弱(图6A及图6B)。类似地,内源性小鼠KHK通过与小鼠KHK mRNA对齐的GalNAc-KHK构建体降低(图6C)。总体而言,两项HDI研究都鉴别出有效体内降低KHK mRNA的GalNAc-KHK构建体。

表7.HDI模型中分析的GalNAc-KHK构建体

| 名称 | 有义链经修饰SEQ ID NO | 反义链经修饰SEQ ID NO |
|---|---|---|
| KHK-1054 | 783 | 828 |
| KHK-510 | 774 | 819 |
| KHK-516 | 775 | 820 |
| KHK-829 | 776 | 821 |
| KHK-860 | 777 | 822 |
| KHK-861 | 778 | 823 |
| KHK-865 | 779 | 824 |
| KHK-882 | 780 | 825 |
| KHK-883 | 781 | 826 |
| KHK-885 | 782 | 827 |
| KHK-1075 | 784 | 829 |
| KHK-1078 | 785 | 830 |
| KHK-1281 | 786 | 831 |
| KHK-1288 | 787 | 832 |
| KHK-1290 | 788 | 833 |
| KHK-1334 | 804 | 849 |

实施例6:非人类灵长类动物中的KHK表达的RNAi寡核苷酸抑制及研究

单次剂量非人类灵长类动物(NHP)研究

[0357] 在非人类灵长类动物中分析在HDI小鼠研究中鉴别出的有效GalNAc-KHK构建体的靶向效率。具体而言,在非天然食蟹(cynomolgus)猴(食蟹猴(Macaca fascicularis))中评估表8中所列出的GalNAc结合的KHK寡核苷酸。在此研究中,将猴分组,以使得其平均体重(约5.4kg)在对照组与实验组之间为类似的。每一群组含有至少两个雌性及至少两个雄性受试者。在研究第0天以6mg/kg的剂量皮下施用GalNAc结合的KHK寡核苷酸。在给药前一周(第-7天)、给药日(第0天)及给药后第28、56及84天收集血液样品。在研究第-7、28、56及84天,收集超声引导的核心针肝脏活检。在各时间点,使来源于肝脏活检样品的总RNA进行qRT-PCR分析,以测量相对于用类似体积的PBS治疗的那些,寡核苷酸治疗的猴中的KHK mRNA。为了使数据标准化,测量是相对于两个参考基因PPIB及18S rRNA的几何平均值进行的。以下购自Life Technologies,Inc的TaqMan qPCR探针用于评估基因表达:正向-TGCCTTCATGGGCTCAATG(SEQ ID NO:772);反向-TCGGCCACCAGGAAGTCA(SEQ ID NO:773);Fam探针-CCTGGCCATGTTG(SEQ ID NO:864))。如图7A(第28天)所示,用表8中所列的GalNAc结合的KHK寡核苷酸治疗NHP抑制了肝脏中的KHK表达,如通过寡核苷酸治疗的NHP肝脏样品中的KHK mRNA相对于用PBS治疗的NHP的降低量所确定的。经治疗的NHP的肝脏样品中KHK mRNA的平均降低百分比显示在每一治疗组的数据点集上方。还测量了第56天及第84天(图7B及图7C),且每个时间点的平均值图展示于图7D中。对于评估的所有时间点,几乎所有测试的GalNAc结合的KHK寡核苷酸均显著抑制KHK mRNA表达。在相同样品中,使用兔抗己酮糖激酶(Abcam,AB197593)及Sally Sue的抗兔检测模块(Protein Simple,目录号DM-001)检测KHK蛋白质水平。如图8A至图8C所示,在第28天的时间点,GalNAc-KHK构建体抑制KHK蛋白质表达,如相对于黏着斑蛋白(vinculin)对照进行标准化且截至第86天缓慢增加。这些结果表明用GalNAc结合的KHK寡核苷酸治疗NHP降低肝脏中KHK mRNA的量,同时降低肝脏中KHK蛋白质的量。然而,此相关性在初始剂量后随时间降低(图9A至图9C)。

[0358] 总之,这些结果表明,设计成用于靶向人类总KHK mRNA的GalNAc结合的KHK寡核苷酸体内抑制总KHK表达(如通过KHK mRNA及蛋白质的量的降低来确定)。

表8.用于NHP研究的单次剂量GalNAc-KHK构建体

| 名称 | 有义链SEQ ID NO | 反义链SEQ ID NO |
|---|---|---|
| KHK-516 | 775 | 820 |
| KHK-865 | 779 | 824 |
| KHK-882 | 780 | 825 |
| KHK-885 | 782 | 827 |
| KHK-1078 | 785 | 830 |
| KHK-1334 | 804 | 849 |

序列表

| 名称 | 描述物种(Hs-Ms- | 链 | 序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|

| | Rn(大鼠)) | | | |
|---|---|---|---|---|
| 人类(Hs) KHK核苷酸序列 NM_006488.3 | 人类(Hs) | N/A | AGGCAGGGCTGCAGATGCGAGGCCCAGCTG<br>TACCTCGCGTGTCCCGGGTCGGGAGTCGGA<br>GACGCAGGTGCAGGAGAGTGCGGGGCAAGT<br>AGCGCATTTTCTCTTTGCATTCTCGAGATCG<br>CTTAGCCGCGCTTTAAAAAGGTTTGCATCAG<br>CTGTGAGTCCATCTGACAAGCGAGGAAACT<br>AAGGCTGAGAAGTGGGAGGCGTTGCCATCT<br>GCAGGCCCAGGCAACCTGCTACGGGAAGAC<br>CGGGGACCAAGACCTCTGGGTTGGCTTTCCT<br>AGACCCGCTCGGGTCTTCGGGTGTCGCGAG<br>GAAGGGCCCTGCTCCTTTCGTTCCCTGCACC<br>CCTGGCCGCTGCAGGTGGCTCCCTGGAGGA<br>GGAGCTCCCACGCGGAGGAGGAGCCAGGGC<br>AGCTGGGAGCGGGGACACCATCCTCCTGGA<br>TAAGAGGCAGAGGCCGGGAGGAACCCCGTC<br>AGCCGGGCGGGCAGGAAGCTCTGGGAGTAG<br>CCTCATGGAAGAGAAGCAGATCCTGTGCGT<br>GGGGCTAGTGGTGCTGGACGTCATCAGCCT<br>GGTGGACAAGTACCCTAAGGAGGACTCGGA<br>GATAAGGTGTTTGTCCCAGAGATGGCAGCG<br>CGGAGGCAACGCGTCCAACTCCTGCACCGT<br>TCTCTCCCTGCTCGGAGCCCCCTGTGCCTTC<br>ATGGGCTCAATGGCTCCTGGCCATGTTGCTG<br>ACTTCCTGGTGGCCGACTTCAGGCGGCGGG<br>GCGTGGACGTGTCTCAGGTGGCCTGGCAGA<br>GCAAGGGGGACACCCCCAGCTCCTGCTGCA<br>TCATCAACAACTCCAATGGCAACCGTACCA<br>TTGTGCTCCATGACACGAGCCTGCCAGATGT<br>GTCTGCTACAGACTTTGAGAAGGTTGATCTG<br>ACCCAGTTCAAGTGGATCCACATTGAGGGC<br>CGGAACGCATCGGAGCAGGTGAAGATGCTG<br>CAGCGGATAGACGCACACAACACCAGGCAG<br>CCTCCAGAGCAGAAGATCCGGGTGTCCGTG<br>GAGGTGGAGAAGCCACGAGAGGAGCTCTTC<br>CAGCTGTTTGGCTACGGAGACGTGGTGTTTG<br>TCAGCAAAGATGTGGCCAAGCACTTGGGGT<br>TCCAGTCAGCAGAGGAAGCCTTGAGGGGCT<br>TGTATGGTCGTGTGAGGAAAGGGGCTGTGC<br>TTGTCTGTGCCTGGGCTGAGGAGGGCGCCG<br>ACGCCCTGGGCCCTGATGGCAAATTGCTCC<br>ACTCGGATGCTTTCCCGCCACCCCGCGTGGT<br>GGATACACTGGGAGCTGGAGACACCTTCAA<br>TGCCTCCGTCATCTTCAGCCTCTCCCAGGGG<br>AGGAGCGTGCAGGAAGCACTGAGATTCGGG<br>TGCCAGGTGGCCGGCAAGAAGTGTGGCCTG<br>CAGGGCTTTGATGGCATCGTGTGAGAGCAG<br>GTGCCGGCTCCTCACACACCATGGAGACTA<br>CCATTGCGGCTGCATCGCCTTCTCCCCTCCA<br>TCCAGCCTGGCGTCCAGGTTGCCCTGTTCAG<br>GGGACAGATGCAAGCTGTGGGGAGGACTCT<br>GCCTGTGTCCTGTGTTCCCCACAGGGAGAG<br>GCTCTGGGGGGGATGGCTGGGGGATGCAGAG<br>CCTCAGAGCAAATAAATCTTCCTCAGAGCC<br>AGCTTCTCCTCTCAATGTCTGAACTGCTCTG<br>GCTGGGCATTCCTGAGGCTCTGACTCTTCGA<br>TCCTCCCTCTTTGTGTCCATTCCCCAAATTA<br>ACCTCTCCGCCCAGGCCCAGAGGAGGGGCT<br>GCCTGGGCTAGAGCAGCGAGAAGTGCCCTG | 1 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | GGCTTGCCACCAGCTCTGCCCTGGCTGGGG<br>AGGACACTCGGTGCCCCACACCCAGTGAAC<br>CTGCCAAAGAAACCGTGAGAGCTCTTCGGG<br>GCCCTGCGTTGTGCAGACTCTATTCCCACAG<br>CTCAGAAGCTGGGAGTCCACACCGCTGAGC<br>TGAACTGACAGGCCAGTGGGGGGCAGGGGT<br>GCGCCTCCTCTGCCCTGCCCACCAGCCTGTG<br>ATTTGATGGGGTCTTCATTGTCCAGAAATAC<br>CTCCTCCCGCTGACTGCCCCAGAGCCTGAA<br>AGTCTCACCCTTGGAGCCCACCTTGGAATTA<br>AGGGCGTGCCTCAGCCACAAATGTGACCCA<br>GGATACAGAGTGTTGCTGTCCTCAGGGAGG<br>TCCGATCTGGAACACATATTGGAATTGGGG<br>CCAACTCCAATATAGGGTGGGTAAGGCCTT<br>ATAATGTAAAGAGCATATAATGTAAAGGGC<br>TTTAGAGTGAGACAGACCTGGATTAAAATC<br>TGCCATTTAATTAGCTGCATATCACCTTAGG<br>GTACAGCACTTAACGCAATCTGCCTCAATTT<br>CTTCATCTGTCAAATGGAACCAATTCTGCTT<br>GGCTACAGAATTATTGTGAGGATAAAATCA<br>TATATAAAATGCCCAGCATGATGCCTGATGT<br>GTA | |
| 食蟹猴(Mf)<br>KHK核苷酸序列<br>XM_005576322.2 | 食蟹猴(Mf) | N/A | GGGGCCGGGCAGCCGCGACCACGGTCTTCA<br>GGCAGGGCTGCAGATGCAGGCCCAGCTCTA<br>CCTCGCGGGTCCAGGGTCGGGAGTCCGAGA<br>CGCAGGTGCAGCAGAGGGCGGGGCACGTAG<br>CGCATTTCCAGCGCATTTTCTCTTTGCATTCT<br>CGAGATCGCTTAGCCGCGCTTTAGAAGGGT<br>TTGCATCAGCTCCGAGTCCATCTGACAAGCG<br>AGGAAACTGAGGCTGAGAAGTGGGAGGCGT<br>TGCCATCTGCAGGCCCAGGCAACCTGCTAC<br>GGGAAGACCGGGGGCCAAGACCTCCGGGTT<br>GGCTTTCCCAGGCCAGCTTGGGTCTTCGGGT<br>GTCGGGAGCAAAGGCCCAGCTCCTTTCGTTT<br>CCTGCACCCCTCGCCGCTGCAGGTGGCTCCC<br>CGGAGGAGGAGCTCCCACGCGGAGGAGGA<br>GCCAGGGCAGCTGGGAGCGAGGACACCATC<br>CTCCTGGATAACAGGCAGAGGCCGGGAGGA<br>ACCCGTCAGTCGGGCGGGCAGGAAGCTCTG<br>GGATCAGCCTCATGGAAGAGAAGCAGATCC<br>TGTGCGTGGGGCTAGTGGTGCTGGACGTCA<br>TCAGCCTGGTGGACAAGTACCCTAAGGAGG<br>ACTCAGAGATAAGGTGCTTGTCCCAGAGAT<br>GGCAACGCGGAGGCAACGCGTCCAACTCCT<br>GCACCGTTCTCTCCCTGCTCGGAGCCCCCTG<br>TGCCTTCATGGGCTCAATGGCCCCTGGCCAT<br>GTTGCTGACTTCCTGGTGGCCGACTTCAGGC<br>GGCGGGGTGTGGACGTGTCTCAGGTGGCCT<br>GGCAGAGCAAGGGGGACACCCCCAGCTCCT<br>GCTGCATCATCAACAACTCCAATGGCAACC<br>GTACCATTGTGCTCCATGACACGAGCCTGCC<br>AGATGTGTCTGCTACGGACTTTGAGAAGGTT<br>GATCTGACCCAGTTCAAGTGGATCCACATTG<br>AGGGCCGGAATGCATCGGAGCAGGTGAAGA<br>TGCTGCAGCGGATAGACGCGCACAACACCA<br>GGCAGCCTCCAGAGCAGAAGATCCGGGTGT<br>CCGTGGAGGTGGAGAAGCCACAAGAGGAG<br>CTCTTTCAGCTGTTTGGCTACGGAGACGTGG<br>TGTTTGTCAGCAAAGATGTGGCCAAGCACTT | 2 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | GGGGTTCCAGTCAGCAGGGGAAGCCCTGAG<br>GGGCTTGTATGGTCGTGTGAGGAAAGGGGC<br>TGTGCTTGTCTGTGCCTGGGCTGAGGAGGGC<br>GCCGACGCCCTGGGCCCTGATGGCAAACTG<br>ATCCACTCGGATGCTTTCCCGCCACCCCGCG<br>TGGTGGATACCCTGGGGGCTGGAGACACCT<br>TCAATGCCTCCGTCATCTTCAGCCTCTCCCA<br>GGGGAGGAGCGTGCAGGAAGCACTGAGATT<br>CGGATGCCAGGTGGCCGGCAAGAAGTGTGG<br>CCAGCAGGGCTTTGATGGCATCGTGTCAGA<br>GCCGGTGCGGTAGGAGGTGCCGGCTCCCCG<br>CACACTATGGAGGCTGACATTGCGGCTGCA<br>TCGCCTTCTCCCCTCCATCCAGCCTGGCATC<br>CAGGTTGCCCTGCTCAGGGGACAGATGCAG<br>GCTGTGGGGAGGACTCCGCCTGTGTCCTGTG<br>TTCCCCACACGTCTCTCCCTGCAGAGCCTCA<br>GAGCGAATAAATCTTCCTCGGAGCCAGCTT<br>CCCCTGGCAGCTTCTGTCCTCGATGTCTGAA<br>CTGCTCTGGCTGGGCATTCCTGAGGCTCTGA<br>CTCTCCAGTCCTCCCTCCTCGTGTGCATTCC<br>CCAAATTAACCTCTCCACCCAGGCCCAGAG<br>GAGGGGCTGCCTGGGCTATAGCAGCAAGAA<br>GTGCCCCAGGCTTGCCGCCAGCTCTGCCCTG<br>GCTGGGGAGGACACTCAGTGCCCCATACCC<br>AGCGAACCTGCCAAAGAACCAGAAGCCATG<br>AGAGCTCTTTGGGGCCCTGCGTTGTGCAGAC<br>TCTATTCCCATAGCTCAGAAGCTGGGAGTCC<br>ACACGGCTGAGCCAAACTGACAGGCCAGTG<br>GGGGGCGAGGGGGTGGGGCGCCTCCTCTGC<br>CCTGCCCACCAGCCTGTGATTTGGTGGCGTC<br>TTTGTTGTCCAAAAATATCTCCTCCCGCTGA<br>CTGCCCCAGAGCCTGAAAGTCTCACCCGTG<br>GAGCCCACCTTGGAATTAAGGGGATGCCTC<br>AGCCACAAATGTGACCCAAGATAGAGTGTT<br>GTCCTCAGGGAGGTCGGATCTGGAACACAT<br>ATTGGAATTGGGGCCAACTCCAATATAGAG<br>TGGATAAGGCCTTATAATGTAAAGAGCACA<br>TAAGGTAAAGGGCTTTAGAGTCAGACAGAC<br>CTAGATTCAAATCTGCCATTTAATTAGCTGC<br>ATGTCACCTGAGGGTACAGCGCTTAACACA<br>ATCCGCCTCAATTTCTTCATCTGTCAAATGG<br>AGCCAATTCTGCCTGGCTACAGAATTATTGC<br>GAGGATAAAATCATGTA | |
| 小鼠(Mm) KHK 核苷酸序列 NM_008439.4 | 小鼠(Mm) | N/A | GAGGGAGAGAACGCTTGCTTCTGTGCTCCG<br>CCTGCGAAGGCGAAGTTTCTGTTGCCAGACT<br>GTGCTAGTCCGGGTGGTCCAGGGTCTGCAG<br>CAGGCGCAGAGGGATCGGAAAGGCGATGC<br>ATTACTAGTGCGCTTTCGCTTTGACAGCTGA<br>GGCGGAAAAGTGAGAGGGCCTGCCATTGGC<br>CGGGCTAGGTAACCCACCCTTGCAAAGCAG<br>AAAGCTCCCTGCGGGAGGAGTTCTGCACGC<br>AGAGGAGGAGCCAAGGTAGCCAGTGAGAA<br>GTTGGGACACGGTCCTCCAGTAGATAAGAG<br>GCAGAGCCCAGCAGGAACCCCCTCTGCTTG<br>CGGGTAGGAAGCTTGGGGAGCAGCCTCATG<br>GAAGAGAAGCAGATCCTGTGCGTGGGGCTG<br>GTGGTGCTGGACATCATCAATGTGGTGGAC<br>AAATACCCAGAGGAAGACACGGATCGCAGG<br>TGCCTGTCCCAGAGATGGCAGCGTGGAGGC | 3 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | AACGCATCCAACTCCTGCACTGTCCTTTCCT<br>TGCTTGGAGCCCGCTGTGCCTTCATGGGCTC<br>TTTGGCCCCTGGCCACGTTGCCGACTTCCTG<br>GTGGCTGACTTCAGGCAGAGGGGCGTGGAT<br>GTGTCTCAAGTGACTTGGCAGAGCCAGGGA<br>GATACCCCTTGCTCTTGCTGCATCGTCAACA<br>ACTCCAATGGCTCCCGTACCATTATACTCTA<br>CGACACGAACCTGCCAGATGTGTCTGCTAA<br>GGACTTTGAGAAGGTCGATCTGACCCGGTT<br>CAAGTGGATCCACATTGAGGGCCGGAATGC<br>ATCGGAACAGGTGAAGATGCTGCAGCGGAT<br>AGAGGAGCACAATGCCAAGCAGCCTCTGCC<br>ACAGAAGGTCCGGGTGTCGGTGGAGATAGA<br>GAAGCCCCGTGAGGAGCTCTTCCAGTTGTTT<br>AGCTATGGTGAGGTGGTGTTTGTCAGCAAA<br>GATGTGGCCAAGCACCTGGGGTTCCAGTCA<br>GCAGTGGAGGCCCTGAGGGGCTTGTACAGT<br>CGAGTGAAGAAAGGGGCTACGCTTGTCTGT<br>GCCTGGGCTGAGGAGGGTGCCGATGCCCTG<br>GGCCCCGATGGTCAGCTGCTCCACTCAGAT<br>GCCTTCCCACCGCCCCGAGTAGTAGACACT<br>CTTGGGGCTGGAGACACCTTCAATGCCTCTG<br>TCATCTTCAGCCTCTCGAAGGGAAACAGCA<br>TGCAAGAGGCCCTGAGATTCGGGTGCCAGG<br>TGGCTGGCAAGAAGTGTGGCTTGCAGGGGT<br>TTGATGGCATTGTGTGAGAGGCAAGCGGCA<br>CCAGCTCGATACCTCAGAGGCTGGCACCAT<br>GCCTGCCACTGCCTTCTCTACTTCCTCCAGC<br>TTAGCATCCAGCTGCCATTCCCCGGCAGGTG<br>TGGGATGTGGGACAGCCTCTGTCTGTGTCTG<br>CGTCTCTGTATACCTATCTCCTCTCTGCAGA<br>TACCTGGAGCAAATAAATCTTCCCCTGAGCC<br>AGC | |
| KHK-115-154 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCGCAUUUUCUCUUUGCAUUCUCG | 4 |
| KHK-116-155 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCGCAUUUUCUCUUUGCAUUCUCGA | 5 |
| KHK-117-156 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGCAUUUUCUCUUUGCAUUCUCGAG | 6 |
| KHK-118-157 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAUUUUCUCUUUGCAUUCUCGAGA | 7 |
| KHK-119-158 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUUUUCUCUUUGCAUUCUCGAGAT | 8 |
| KHK-120-159 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUUUUCUCUUUGCAUUCUCGAGATC | 9 |
| KHK-121-160 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUUCUCUUUGCAUUCUCGAGAUCG | 10 |
| KHK-122-161 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUCUCUUUGCAUUCUCGAGAUCGC | 11 |
| KHK-123-162 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUCUCUUUGCAUUCUCGAGAUCGCT | 12 |
| KHK-124-163 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUCUUUGCAUUCUCGAGAUCGCTT | 13 |
| KHK-125-164 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUCUUUGCAUUCUCGAGAUCGCUTA | 14 |
| KHK-126-165 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUUUGCAUUCUCGAGAUCGCUUAG | 15 |
| KHK-127-166 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUUUGCAUUCUCGAGAUCGCUUAGC | 16 |
| KHK-128-167 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUGCAUUCUCGAGAUCGCUUAGCC | 17 |
| KHK-179 | Hs独特 | 25聚体有义链 | GUGAGUCCAUCUGACAAGCGAGGAA | 18 |
| KHK-181-220 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGUCCAUCUGACAAGCGAGGAAAC | 19 |
| KHK-182-221 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGUCCAUCUGACAAGCGAGGAAACT | 20 |
| KHK-183-222 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUCCAUCUGACAAGCGAGGAAACTA | 21 |
| KHK-184-223 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCCAUCUGACAAGCGAGGAAACUAA | 22 |
| KHK-185-224 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAUCUGACAAGCGAGGAAACUAAG | 23 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-186-225 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUCUGACAAGCGAGGAAACUAAGG | 24 |
| KHK-187-226 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCUGACAAGCGAGGAAACUAAGGC | 25 |
| KHK-188-227 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUGACAAGCGAGGAAACUAAGGCT | 26 |
| KHK-431-470 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGACACCAUCCUCCUGGAUAAGAGG | 27 |
| KHK-432-471 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACACCAUCCUCCUGGAUAAGAGGC | 28 |
| KHK-433-472 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACACCAUCCUCCUGGAUAAGAGGCA | 29 |
| KHK-507-545-376-218 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AGCCUCAUGGAAGAGAAGCAGAUCC | 30 |
| KHK-508-546-377-219 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GCCUCAUGGAAGAGAAGCAGAUCCT | 31 |
| KHK-509-547-378-220 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CCUCAUGGAAGAGAAGCAGAUCCTG | 32 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CUCAUGGAAGAGAAGCAGAUCCUGT | 33 |
| KHK-511-549-380-222 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UCAUGGAAGAGAAGCAGAUCCUGTG | 34 |
| KHK-512-550-381-223 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CAUGGAAGAGAAGCAGAUCCUGUGC | 35 |
| KHK-513-551-382-224 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AUGGAAGAGAAGCAGAUCCUGUGCG | 36 |
| KHK-514-552-383-225 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UGGAAGAGAAGCAGAUCCUGUGCGT | 37 |
| KHK-515-553-384-226 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GGAAGAGAAGCAGAUCCUGUGCGTG | 38 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GAAGAGAAGCAGAUCCUGUGCGUGG | 39 |
| KHK-517-555-386-228 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AAGAGAAGCAGAUCCUGUGCGUGGG | 40 |
| KHK-518-556-387-229 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AGAGAAGCAGAUCCUGUGCGUGGGG | 41 |
| KHK-520-558-389-231 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AGAAGCAGAUCCUGUGCGUGGGGCT | 42 |
| KHK-521-559-390-232 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GAAGCAGAUCCUGUGCGUGGGGCTA | 43 |
| KHK-522-560-391-233 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AAGCAGAUCCUGUGCGUGGGGCUAG | 44 |
| KHK-541-579 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCUAGUGGUGCUGGACGUCAUCAG | 45 |
| KHK-544-582 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UAGUGGUGCUGGACGUCAUCAGCCT | 46 |
| KHK-546-584 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGGUGCUGGACGUCAUCAGCCUGG | 47 |
| KHK-547-585 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGUGCUGGACGUCAUCAGCCUGGT | 48 |
| KHK-548-586 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGUGCUGGACGUCAUCAGCCUGGTG | 49 |
| KHK-549-587 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGCUGGACGUCAUCAGCCUGGUGG | 50 |
| KHK-550-588 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCUGGACGUCAUCAGCCUGGUGGA | 51 |
| KHK-551-589 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCUGGACGUCAUCAGCCUGGUGGAC | 52 |
| KHK-552-590 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGGACGUCAUCAGCCUGGUGGACA | 53 |
| KHK-553-591 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGACGUCAUCAGCCUGGUGGACAA | 54 |
| KHK-554-592 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGACGUCAUCAGCCUGGUGGACAAG | 55 |
| KHK-555-593 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACGUCAUCAGCCUGGUGGACAAGT | 56 |
| KHK-556-594 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACGUCAUCAGCCUGGUGGACAAGTA | 57 |
| KHK-557-595 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGUCAUCAGCCUGGUGGACAAGUAC | 58 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-558-596 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUCAUCAGCCUGGUGGACAAGUACC | 59 |
| KHK-559-597 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCAUCAGCCUGGUGGACAAGUACCC | 60 |
| KHK-560-598 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUCAGCCUGGUGGACAAGUACCCT | 61 |
| KHK-561-599 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCAGCCUGGUGGACAAGUACCCTA | 62 |
| KHK-562-600 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCAGCCUGGUGGACAAGUACCCUAA | 63 |
| KHK-563-601 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAGCCUGGUGGACAAGUACCCUAAG | 64 |
| KHK-564-602 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCCUGGUGGACAAGUACCCUAAGG | 65 |
| KHK-565-603 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUGGUGGACAAGUACCCUAAGGA | 66 |
| KHK-566-604 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUGGUGGACAAGUACCCUAAGGAG | 67 |
| KHK-567-605 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGGUGGACAAGUACCCUAAGGAGG | 68 |
| KHK-568-606 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGUGGACAAGUACCCUAAGGAGGA | 69 |
| KHK-569-607 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGUGGACAAGUACCCUAAGGAGGAC | 70 |
| KHK-570-608 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGGACAAGUACCCUAAGGAGGACT | 71 |
| KHK-571-609 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGACAAGUACCCUAAGGAGGACTC | 72 |
| KHK-572-610 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGACAAGUACCCUAAGGAGGACUCG | 73 |
| KHK-573-611 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACAAGUACCCUAAGGAGGACUCGG | 74 |
| KHK-574-612 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACAAGUACCCUAAGGAGGACUCGGA | 75 |
| KHK-575-613 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAAGUACCCUAAGGAGGACUCGGAG | 76 |
| KHK-576-614 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAGUACCCUAAGGAGGACUCGGAGA | 77 |
| KHK-577-615 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGUACCCUAAGGAGGACUCGGAGAT | 78 |
| KHK-638-676 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGCGUCCAACUCCUGCACCGUUCTC | 79 |
| KHK-641-679 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUCCAACUCCUGCACCGUUCUCUCC | 80 |
| KHK-642-680 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCCAACUCCUGCACCGUUCUCUCCC | 81 |
| KHK-643-681 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAACUCCUGCACCGUUCUCUCCCT | 82 |
| KHK-644-682 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAACUCCUGCACCGUUCUCUCCCTG | 83 |
| KHK-645-683 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AACUCCUGCACCGUUCUCUCCCUGC | 84 |
| KHK-646-684 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACUCCUGCACCGUUCUCUCCCUGCT | 85 |
| KHK-647-685 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUCCUGCACCGUUCUCUCCCUGCTC | 86 |
| KHK-650-688 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCACCGUUCUCUCCCUGCUCGGA | 87 |
| KHK-676-714 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCCCUGUGCCUUCAUGGGCUCAAT | 88 |
| KHK-713-722 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGUUGCUGACUUCCUGGUGGCCGAC | 89 |
| KHK-826-835 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUGGCAACCGUACCAUUGUGCUCCA | 90 |
| KHK-827-836 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGCAACCGUACCAUUGUGCUCCAT | 91 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAACCGUACCAUUGUGCUCCAUGA | 92 |
| KHK-830-839 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAACCGUACCAUUGUGCUCCAUGAC | 93 |
| KHK-831-840 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AACCGUACCAUUGUGCUCCAUGACA | 94 |
| KHK-832-841 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACCGUACCAUUGUGCUCCAUGACAC | 95 |
| KHK-857-895 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCCUGCCAGAUGUGUCUGCUACA | 96 |
| KHK-858-896 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCCUGCCAGAUGUGUCUGCUACAG | 97 |
| KHK-859-897 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUGCCAGAUGUGUCUGCUACAGA | 98 |
| KHK-860-898-729-571 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CCUGCCAGAUGUGUCUGCUACAGAC | 99 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CUGCCAGAUGUGUCUGCUACAGACT | 100 |
| KHK-862-900 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCCAGAUGUGUCUGCUACAGACTT | 101 |
| KHK-865 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CAGAUGUGUCUGCUACAGACUUUGA | 102 |
| KHK-880 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CAGACUUUGAGAAGGUUGAUCUGAC | 103 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACUUUGAGAAGGUUGAUCUGACCC | 104 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACUUUGAGAAGGUUGAUCUGACCCA | 105 |
| KHK-884-922 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUUUGAGAAGGUUGAUCUGACCCAG | 106 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUGAGAAGGUUGAUCUGACCCAGT | 107 |
| KHK-886-924 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGAGAAGGUUGAUCUGACCCAGTT | 108 |
| KHK-887-925 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGAGAAGGUUGAUCUGACCCAGUTC | 109 |
| KHK-888-926 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGAAGGUUGAUCUGACCCAGUUCA | 110 |
| KHK-889-927 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGAAGGUUGAUCUGACCCAGUUCAA | 111 |
| KHK-890-928 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAAGGUUGAUCUGACCCAGUUCAAG | 112 |
| KHK-891-929 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAGGUUGAUCUGACCCAGUUCAAGT | 113 |
| KHK-892-930 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGUUGAUCUGACCCAGUUCAAGTG | 114 |
| KHK-893-931 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGUUGAUCUGACCCAGUUCAAGUGG | 115 |
| KHK-894-932 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUUGAUCUGACCCAGUUCAAGUGGA | 116 |
| KHK-895-933 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGAUCUGACCCAGUUCAAGUGGAT | 117 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGAUCUGACCCAGUUCAAGUGGATC | 118 |
| KHK-897-935 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAUCUGACCCAGUUCAAGUGGAUCC | 119 |
| KHK-898-936 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCUGACCCAGUUCAAGUGGAUCCA | 120 |
| KHK-899-937 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUGACCCAGUUCAAGUGGAUCCAC | 121 |
| KHK-900-938 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGACCCAGUUCAAGUGGAUCCACA | 122 |
| KHK-901-939 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGACCCAGUUCAAGUGGAUCCACAT | 123 |
| KHK-902-940 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACCCAGUUCAAGUGGAUCCACATT | 124 |
| KHK-903-941 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACCCAGUUCAAGUGGAUCCACAUTG | 125 |
| KHK-904-942 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCAGUUCAAGUGGAUCCACAUUGA | 126 |
| KHK-905-943 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAGUUCAAGUGGAUCCACAUUGAG | 127 |
| KHK-906-944 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAGUUCAAGUGGAUCCACAUUGAGG | 128 |
| KHK-907-945 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGUUCAAGUGGAUCCACAUUGAGGG | 129 |
| KHK-908-946-777-619 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUUCAAGUGGAUCCACAUUGAGGGC | 130 |
| KHK-909-947-778-620 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UUCAAGUGGAUCCACAUUGAGGGCC | 131 |
| KHK-910-948-779-621 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UCAAGUGGAUCCACAUUGAGGGCCG | 132 |
| KHK-911-949-780-622 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CAAGUGGAUCCACAUUGAGGGCCGG | 133 |
| KHK-912-950-781-623 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AAGUGGAUCCACAUUGAGGGCCGGA | 134 |
| KHK-913-951-782-624 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AGUGGAUCCACAUUGAGGGCCGGAA | 135 |
| KHK-914-952-783-625 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUGGAUCCACAUUGAGGGCCGGAAC | 136 |
| KHK-939-977 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAUCGGAGCAGGUGAAGAUGCUGC | 137 |
| KHK-940-978 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUCGGAGCAGGUGAAGAUGCUGCA | 138 |
| KHK-941-979 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCGGAGCAGGUGAAGAUGCUGCAG | 139 |
| KHK-942-980 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCGGAGCAGGUGAAGAUGCUGCAGC | 140 |
| KHK-943-981 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGGAGCAGGUGAAGAUGCUGCAGCG | 141 |
| KHK-944-982 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAGCAGGUGAAGAUGCUGCAGCGG | 142 |
| KHK-945-983 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCAGGUGAAGAUGCUGCAGCGGA | 143 |
| KHK-946-984 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCAGGUGAAGAUGCUGCAGCGGAT | 144 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-947-985 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAGGUGAAGAUGCUGCAGCGGATA | 145 |
| KHK-948-986-817 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | CAGGUGAAGAUGCUGCAGCGGAUAG | 146 |
| KHK-949-987-818 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | AGGUGAAGAUGCUGCAGCGGAUAGA | 147 |
| KHK-950-988-819 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | GGUGAAGAUGCUGCAGCGGAUAGAC | 148 |
| KHK-951-989-820 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | GUGAAGAUGCUGCAGCGGAUAGACG | 149 |
| KHK-952-990-821 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | UGAAGAUGCUGCAGCGGAUAGACGC | 150 |
| KHK-953-991-822 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | GAAGAUGCUGCAGCGGAUAGACGCA | 151 |
| KHK-954-992-823 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | AAGAUGCUGCAGCGGAUAGACGCAC | 152 |
| KHK-955-993-824 | Hs-Mf-Mm共有 | 25聚体有义链 | AGAUGCUGCAGCGGAUAGACGCACA | 153 |
| KHK-956-994 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAUGCUGCAGCGGAUAGACGCACAC | 154 |
| KHK-957-995 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUGCUGCAGCGGAUAGACGCACACA | 155 |
| KHK-958-996 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCUGCAGCGGAUAGACGCACACAA | 156 |
| KHK-978-1016 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CACAACACCAGGCAGCCUCCAGAGC | 157 |
| KHK-982-1020 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACACCAGGCAGCCUCCAGAGCAGAA | 158 |
| KHK-983-1021 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CACCAGGCAGCCUCCAGAGCAGAAG | 159 |
| KHK-984-1022 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACCAGGCAGCCUCCAGAGCAGAAGA | 160 |
| KHK-985-1023 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAGGCAGCCUCCAGAGCAGAAGAT | 161 |
| KHK-991-1029 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCCUCCAGAGCAGAAGAUCCGGGT | 162 |
| KHK-992-1030 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUCCAGAGCAGAAGAUCCGGGTG | 163 |
| KHK-993-1031 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUCCAGAGCAGAAGAUCCGGGUGT | 164 |
| KHK-999-1037 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCAGAAGAUCCGGGUGUCCGUGG | 165 |
| KHK-1000-1038 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCAGAAGAUCCGGGUGUCCGUGGA | 166 |
| KHK-1019-1057 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGUGGAGGUGGAGAAGCCACGAGAG | 167 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCUGUUUGGCUACGGAGACGUGGT | 168 |
| KHK-1055-1093 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCUGUUUGGCUACGGAGACGUGGTG | 169 |
| KHK-1057-1095 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGUUUGGCUACGGAGACGUGGUGTT | 170 |
| KHK-1058-1096 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUUUGGCUACGGAGACGUGGUGUTT | 171 |
| KHK-1059-1097 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUGGCUACGGAGACGUGGUGUUTG | 172 |
| KHK-1060-1098 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGGCUACGGAGACGUGGUGUUUGT | 173 |
| KHK-1061-1099 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGCUACGGAGACGUGGUGUUUGTC | 174 |
| KHK-1062-1100 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCUACGGAGACGUGGUGUUUGUCA | 175 |
| KHK-1063-1101 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCUACGGAGACGUGGUGUUUGUCAG | 176 |
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUACGGAGACGUGGUGUUUGUCAGC | 177 |
| KHK-1065-1103 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UACGGAGACGUGGUGUUUGUCAGCA | 178 |
| KHK-1066-1104 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACGGAGACGUGGUGUUUGUCAGCAA | 179 |
| KHK-1067-1105 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGGAGACGUGGUGUUUGUCAGCAAA | 180 |
| KHK-1068-1106 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAGACGUGGUGUUUGUCAGCAAAG | 181 |
| KHK-1069-1107 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGACGUGGUGUUUGUCAGCAAAGA | 182 |
| KHK-1070-1108 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGACGUGGUGUUUGUCAGCAAAGAT | 183 |
| KHK-1071-1109 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACGUGGUGUUUGUCAGCAAAGATG | 184 |
| KHK-1072-1110 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACGUGGUGUUUGUCAGCAAAGAUGT | 185 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1073-1111 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGUGGUGUUUGUCAGCAAAGAUGTG | 186 |
| KHK-1074-1112-943-785 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUGGUGUUUGUCAGCAAAGAUGUGG | 187 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UGGUGUUUGUCAGCAAAGAUGUGGC | 188 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GGUGUUUGUCAGCAAAGAUGUGGCC | 189 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUGUUUGUCAGCAAAGAUGUGGCCA | 190 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UGUUUGUCAGCAAAGAUGUGGCCAA | 191 |
| KHK-1079-1117-948-790 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUUUGUCAGCAAAGAUGUGGCCAAG | 192 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UUUGUCAGCAAAGAUGUGGCCAAGC | 193 |
| KHK-1081-1119-950-792 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UUGUCAGCAAAGAUGUGGCCAAGCA | 194 |
| KHK-1082-1120-951-793 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UGUCAGCAAAGAUGUGGCCAAGCAC | 195 |
| KHK-1083-1121-952-794 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GUCAGCAAAGAUGUGGCCAAGCACT | 196 |
| KHK-1084-1122-953-795 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UCAGCAAAGAUGUGGCCAAGCACTT | 197 |
| KHK-1085-1123-954-796 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CAGCAAAGAUGUGGCCAAGCACUTG | 198 |
| KHK-1086-1124-955-797 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | AGCAAAGAUGUGGCCAAGCACUUGG | 199 |
| KHK-1087-1125-956-798 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GCAAAGAUGUGGCCAAGCACUUGGG | 200 |
| KHK-1090-1128 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAGAUGUGGCCAAGCACUUGGGGTT | 201 |
| KHK-1091-1129 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGAUGUGGCCAAGCACUUGGGGUTC | 202 |
| KHK-1092-1130 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAUGUGGCCAAGCACUUGGGGUUCC | 203 |
| KHK-1093-1131 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUGUGGCCAAGCACUUGGGGUUCCA | 204 |
| KHK-1095-1133 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGGCCAAGCACUUGGGGUUCCAGT | 205 |
| KHK-1096-1134 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGCCAAGCACUUGGGGUUCCAGTC | 206 |
| KHK-1097-1135 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCCAAGCACUUGGGGUUCCAGUCA | 207 |
| KHK-1099-1137 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAAGCACUUGGGGUUCCAGUCAGC | 208 |
| KHK-1100-1138 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAAGCACUUGGGGUUCCAGUCAGCA | 209 |
| KHK-1101-1139 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAGCACUUGGGGUUCCAGUCAGCAG | 210 |
| KHK-1102-1140 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCACUUGGGGUUCCAGUCAGCAGA | 211 |
| KHK-1103-1141 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCACUUGGGGUUCCAGUCAGCAGAG | 212 |
| KHK-1104-1142 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CACUUGGGGUUCCAGUCAGCAGAGG | 213 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUUGGGGUUCCAGUCAGCAGAGGAA | 214 |
| KHK-1107-1145 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGGGGUUCCAGUCAGCAGAGGAAG | 215 |
| KHK-1135-1173 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGAGGGGCUUGUAUGGUCGUGUGAG | 216 |
| KHK-1136-1174 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGGGGCUUGUAUGGUCGUGUGAGG | 217 |
| KHK-1137-1175 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGGGCUUGUAUGGUCGUGUGAGGA | 218 |
| KHK-1138-1176 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGGCUUGUAUGGUCGUGUGAGGAA | 219 |
| KHK-1139-1177 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGCUUGUAUGGUCGUGUGAGGAAA | 220 |
| KHK-1140-1178 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCUUGUAUGGUCGUGUGAGGAAAG | 221 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1141-1179 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCUUGUAUGGUCGUGUGAGGAAAGG | 222 |
| KHK-1142-1180 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUUGUAUGGUCGUGUGAGGAAAGGG | 223 |
| KHK-1143-1181 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGUAUGGUCGUGUGAGGAAAGGGG | 224 |
| KHK-1144-1182 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGUAUGGUCGUGUGAGGAAAGGGGC | 225 |
| KHK-1145-1183 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUAUGGUCGUGUGAGGAAAGGGGCT | 226 |
| KHK-1146-1184 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UAUGGUCGUGUGAGGAAAGGGGCTG | 227 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUGGUCGUGUGAGGAAAGGGGCUGT | 228 |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGUCGUGUGAGGAAAGGGGCUGTG | 229 |
| KHK-1149-1187 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGUCGUGUGAGGAAAGGGGCUGUGC | 230 |
| KHK-1153-1191 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGUGAGGAAAGGGGCUGUGCUUGT | 231 |
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGUGAGGAAAGGGGCUGUGCUUGTC | 232 |
| KHK-1157-1195 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGGAAAGGGGCUGUGCUUGUCUGT | 233 |
| KHK-1158-1196 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGAAAGGGGCUGUGCUUGUCUGTG | 234 |
| KHK-1159-1197 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAAAGGGGCUGUGCUUGUCUGUGC | 235 |
| KHK-1161-1199 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAAGGGGCUGUGCUUGUCUGUGCCT | 236 |
| KHK-1163-1201 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGGGCUGUGCUUGUCUGUGCCUGG | 237 |
| KHK-1164-1202 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGGCUGUGCUUGUCUGUGCCUGGG | 238 |
| KHK-1232-1270 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCACUCGGAUGCUUUCCCGCCACCC | 239 |
| KHK-1278-1316-1147-989 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GCUGGAGACACCUUCAAUGCCUCCG | 240 |
| KHK-1279-1317-1148-990 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | CUGGAGACACCUUCAAUGCCUCCGT | 241 |
| KHK-1280-1318-1149-991 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | UGGAGACACCUUCAAUGCCUCCGTC | 242 |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GGAGACACCUUCAAUGCCUCCGUCA | 243 |
| KHK-1282-1320-1151-993 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 25聚体有义链 | GAGACACCUUCAAUGCCUCCGUCAT | 244 |
| KHK-1283-1321 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGACACCUUCAAUGCCUCCGUCATC | 245 |
| KHK-1284-1322 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACACCUUCAAUGCCUCCGUCAUCT | 246 |
| KHK-1285-1323 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACACCUUCAAUGCCUCCGUCAUCTT | 247 |
| KHK-1286-1324 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CACCUUCAAUGCCUCCGUCAUCUTC | 248 |
| KHK-1287-1325 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACCUUCAAUGCCUCCGUCAUCUUCA | 249 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUUCAAUGCCUCCGUCAUCUUCAG | 250 |
| KHK-1289-1327 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUUCAAUGCCUCCGUCAUCUUCAGC | 251 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUCAAUGCCUCCGUCAUCUUCAGCC | 252 |
| KHK-1291-1329 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCAAUGCCUCCGUCAUCUUCAGCCT | 253 |
| KHK-1292-1330 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAAUGCCUCCGUCAUCUUCAGCCTC | 254 |
| KHK-1293-1331 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAUGCCUCCGUCAUCUUCAGCCUCT | 255 |
| KHK-1294-1332 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUGCCUCCGUCAUCUUCAGCCUCTC | 256 |
| KHK-1295-1333 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCCUCCGUCAUCUUCAGCCUCUCC | 257 |
| KHK-1297-1335 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUCCGUCAUCUUCAGCCUCUCCCA | 258 |
| KHK-1323-1361 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGAGGAGCGUGCAGGAAGCACUGA | 259 |
| KHK-1325-1363 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGGAGCGUGCAGGAAGCACUGAGA | 260 |
| KHK-1326-1364 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGAGCGUGCAGGAAGCACUGAGAT | 261 |
| KHK-1327-1365 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAGCGUGCAGGAAGCACUGAGATT | 262 |
| KHK-1328-1366 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCGUGCAGGAAGCACUGAGAUTC | 263 |
| KHK-1329-1367 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCGUGCAGGAAGCACUGAGAUUCG | 264 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1330-1368 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCGUGCAGGAAGCACUGAGAUUCGG | 265 |
| KHK-1331-1369 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGUGCAGGAAGCACUGAGAUUCGGG | 266 |
| KHK-1332-1370 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGCAGGAAGCACUGAGAUUCGGGT | 267 |
| KHK-1333-1371 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCAGGAAGCACUGAGAUUCGGGTG | 268 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAGGAAGCACUGAGAUUCGGGUGC | 269 |
| KHK-1335-1373 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAGGAAGCACUGAGAUUCGGGUGCC | 270 |
| KHK-1336-1374 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGAAGCACUGAGAUUCGGGUGCCA | 271 |
| KHK-1385-1423 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCAGGGCUUUGAUGGCAUCGUGUGA | 272 |
| KHK-1387-1425 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGGCUUUGAUGGCAUCGUGUGAGA | 273 |
| KHK-1388-1426 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGCUUUGAUGGCAUCGUGUGAGAG | 274 |
| KHK-1389-1427 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCUUUGAUGGCAUCGUGUGAGAGC | 275 |
| KHK-1538-1588 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUGUGUCCUGUGUUCCCCACAGG | 276 |
| KHK-1540-1590 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGUGUCCUGUGUUCCCCACAGGGA | 277 |
| KHK-1542-1592 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUGUCCUGUGUUCCCCACAGGGAGA | 278 |
| KHK-1665-1708 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUUCCUGAGGCUCUGACUCUUCGA | 279 |
| KHK-1666-1709 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUUCCUGAGGCUCUGACUCUUCGAT | 280 |
| KHK-1667-1710 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUCCUGAGGCUCUGACUCUUCGATC | 281 |
| KHK-1707-1750 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUUCCCCAAAUUAACCUCUCCGCC | 282 |
| KHK-1708-1751 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUUCCCCAAAUUAACCUCUCCGCCC | 283 |
| KHK-1709-1752 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUCCCCAAAUUAACCUCUCCGCCCA | 284 |
| KHK-1869-1918 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGGCCCUGCGUUGUGCAGACUCUAT | 285 |
| KHK-1870-1919 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCCCUGCGUUGUGCAGACUCUATT | 286 |
| KHK-1871-1920 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCCUGCGUUGUGCAGACUCUAUTC | 287 |
| KHK-1872-1921 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCUGCGUUGUGCAGACUCUAUUCC | 288 |
| KHK-1873-1922 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUGCGUUGUGCAGACUCUAUUCCC | 289 |
| KHK-1874-1923 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCGUUGUGCAGACUCUAUUCCCA | 290 |
| KHK-1875-1924 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCGUUGUGCAGACUCUAUUCCCAC | 291 |
| KHK-1876-1925 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCGUUGUGCAGACUCUAUUCCCACA | 292 |
| KHK-1877-1926 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CGUUGUGCAGACUCUAUUCCCACAG | 293 |
| KHK-1878-1927 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GUUGUGCAGACUCUAUUCCCACAGC | 294 |
| KHK-1879-1928 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGUGCAGACUCUAUUCCCACAGCT | 295 |
| KHK-1880-1929 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGUGCAGACUCUAUUCCCACAGCTC | 296 |
| KHK-1900-1949 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGCUCAGAAGCUGGGAGUCCACACC | 297 |
| KHK-1905-1954 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGAAGCUGGGAGUCCACACCGCUGA | 298 |
| KHK-1971-2025 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCCCUGCCCACCAGCCUGUGATT | 299 |
| KHK-1974-2028 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCUGCCCACCAGCCUGUGAUUUGA | 300 |
| KHK-1975-2029 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUGCCCACCAGCCUGUGAUUUGAT | 301 |
| KHK-1976-2030 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCCCACCAGCCUGUGAUUUGATG | 302 |
| KHK-1978-2032 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCCACCAGCCUGUGAUUUGAUGGG | 303 |
| KHK-1979-2033 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCACCAGCCUGUGAUUUGAUGGGG | 304 |
| KHK-2032-2086 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCUGACUGCCCCAGAGCCUGAAAGT | 305 |
| KHK-2035-2089 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GACUGCCCCAGAGCCUGAAAGUCTC | 306 |
| KHK-2036-2090 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACUGCCCCAGAGCCUGAAAGUCUCA | 307 |
| KHK-2037-2091 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCCCCAGAGCCUGAAAGUCUCAC | 308 |
| KHK-2038-2092 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCCCCAGAGCCUGAAAGUCUCACC | 309 |
| KHK-2039-2093 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCCCAGAGCCUGAAAGUCUCACCC | 310 |
| KHK-2040-2094 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCCAGAGCCUGAAAGUCUCACCCT | 311 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-2041-2095 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCCAGAGCCUGAAAGUCUCACCCTT | 312 |
| KHK-2042-2096 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCAGAGCCUGAAAGUCUCACCCUTG | 313 |
| KHK-2043-2097 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAGAGCCUGAAAGUCUCACCCUUGG | 314 |
| KHK-2044-2098 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGAGCCUGAAAGUCUCACCCUUGGA | 315 |
| KHK-2045-2099 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCCUGAAAGUCUCACCCUUGGAG | 316 |
| KHK-2067-2121 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAGCCCACCUUGGAAUUAAGGGCGT | 317 |
| KHK-2069-2123 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCCACCUUGGAAUUAAGGGCGUGC | 318 |
| KHK-2091-2145 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCCUCAGCCACAAAUGUGACCCAG | 319 |
| KHK-2092-2146 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUCAGCCACAAAUGUGACCCAGG | 320 |
| KHK-2093-2147 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUCAGCCACAAAUGUGACCCAGGA | 321 |
| KHK-2094-2148 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUCAGCCACAAAUGUGACCCAGGAT | 322 |
| KHK-2095-2149 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCAGCCACAAAUGUGACCCAGGATA | 323 |
| KHK-2096-2150 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAGCCACAAAUGUGACCCAGGAUAC | 324 |
| KHK-2105 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AUGUGACCCAGGAUACAGAGUGUTG | 325 |
| KHK-2148-2197 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAUCUGGAACACAUAUUGGAAUUGG | 326 |
| KHK-2149-2198 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCUGGAACACAUAUUGGAAUUGGG | 327 |
| KHK-2150-2199 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUGGAACACAUAUUGGAAUUGGGG | 328 |
| KHK-2151-2200 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGGAACACAUAUUGGAAUUGGGGC | 329 |
| KHK-2152-2201 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGAACACAUAUUGGAAUUGGGGCC | 330 |
| KHK-2153-2202 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAACACAUAUUGGAAUUGGGGCCA | 331 |
| KHK-2154-2203 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAACACAUAUUGGAAUUGGGGCCAA | 332 |
| KHK-2155-2204 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AACACAUAUUGGAAUUGGGGCCAAC | 333 |
| KHK-2156-2205 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | ACACAUAUUGGAAUUGGGGCCAACT | 334 |
| KHK-2157-2206 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CACAUAUUGGAAUUGGGGCCAACTC | 335 |
| KHK-2159-2208 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAUAUUGGAAUUGGGGCCAACUCCA | 336 |
| KHK-2160-2209 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUAUUGGAAUUGGGGCCAACUCCAA | 337 |
| KHK-2161-2210 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UAUUGGAAUUGGGGCCAACUCCAAT | 338 |
| KHK-2162-2211 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUUGGAAUUGGGGCCAACUCCAATA | 339 |
| KHK-2163-2212 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUGGAAUUGGGGCCAACUCCAAUAT | 340 |
| KHK-2164-2213 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGAAUUGGGGCCAACUCCAAUATA | 341 |
| KHK-2165-2214 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGAAUUGGGGCCAACUCCAAUAUAG | 342 |
| KHK-2166-2215 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GAAUUGGGGCCAACUCCAAUAUAGG | 343 |
| KHK-2170-2219 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGGGGCCAACUCCAAUAUAGGGUGG | 344 |
| KHK-2196-2245 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UAAGGCCUUAUAAUGUAAAGAGCAT | 345 |
| KHK-2197-2246 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAGGCCUUAUAAUGUAAAGAGCATA | 346 |
| KHK-2198-2247 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AGGCCUUAUAAUGUAAAGAGCAUAT | 347 |
| KHK-2199-2248 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GGCCUUAUAAUGUAAAGAGCAUATA | 348 |
| KHK-2200-2249 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUUAUAAUGUAAAGAGCAUAUAA | 349 |
| KHK-2201-2250 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUUAUAAUGUAAAGAGCAUAUAAT | 350 |
| KHK-2205 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AUAAUGUAAAGAGCAUAUAAUGUAA | 351 |
| KHK-2238 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AGAGUGAGACAGACCUGGAUUAAAA | 352 |
| KHK-2260-2309 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAAUCUGCCAUUUAAUUAGCUGCAT | 353 |
| KHK-2261-2310 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAUCUGCCAUUUAAUUAGCUGCATA | 354 |
| KHK-2262-2311 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUCUGCCAUUUAAUUAGCUGCAUAT | 355 |
| KHK-2263-2312 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUGCCAUUUAAUUAGCUGCAUATC | 356 |
| KHK-2264-2313 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUGCCAUUUAAUUAGCUGCAUAUCA | 357 |
| KHK-2265-2314 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UGCCAUUUAAUUAGCUGCAUAUCAC | 358 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-2266-2315 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCAUUUAAUUAGCUGCAUAUCACC | 359 |
| KHK-2299 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CAGCACUUAACGCAAUCUGCCUCAA | 360 |
| KHK-2317-2366 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | GCCUCAAUUUCUUCAUCUGUCAAAT | 361 |
| KHK-2318-2367 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CCUCAAUUUCUUCAUCUGUCAAATG | 362 |
| KHK-2319-2368 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CUCAAUUUCUUCAUCUGUCAAAUGG | 363 |
| KHK-2320-2369 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCAAUUUCUUCAUCUGUCAAAUGGA | 364 |
| KHK-2321-2370 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | CAAUUUCUUCAUCUGUCAAAUGGAA | 365 |
| KHK-2322-2371 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AAUUUCUUCAUCUGUCAAAUGGAAC | 366 |
| KHK-2323-2372 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | AUUUCUUCAUCUGUCAAAUGGAACC | 367 |
| KHK-2324-2373 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUUCUUCAUCUGUCAAAUGGAACCA | 368 |
| KHK-2325-2374 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UUCUUCAUCUGUCAAAUGGAACCAA | 369 |
| KHK-2326-2375 | Hs-Mf共有 | 25聚体有义链 | UCUUCAUCUGUCAAAUGGAACCAAT | 370 |
| KHK-2332 | Hs独特 | 25聚体有义链 | UCUGUCAAAUGGAACCAAUUCUGCT | 371 |
| KHK-2333 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CUGUCAAAUGGAACCAAUUCUGCTT | 372 |
| KHK-2335 | Hs独特 | 25聚体有义链 | GUCAAAUGGAACCAAUUCUGCUUGG | 373 |
| KHK-2340 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AUGGAACCAAUUCUGCUUGGCUACA | 374 |
| KHK-2341 | Hs独特 | 25聚体有义链 | UGGAACCAAUUCUGCUUGGCUACAG | 375 |
| KHK-2346 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CCAAUUCUGCUUGGCUACAGAAUTA | 376 |
| KHK-2352 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CUGCUUGGCUACAGAAUUAUUGUGA | 377 |
| KHK-2358 | Hs独特 | 25聚体有义链 | GGCUACAGAAUUAUUGUGAGGAUAA | 378 |
| KHK-2359 | Hs独特 | 25聚体有义链 | GCUACAGAAUUAUUGUGAGGAUAAA | 379 |
| KHK-2360 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CUACAGAAUUAUUGUGAGGAUAAAA | 380 |
| KHK-2361 | Hs独特 | 25聚体有义链 | UACAGAAUUAUUGUGAGGAUAAAAT | 381 |
| KHK-2362 | Hs独特 | 25聚体有义链 | ACAGAAUUAUUGUGAGGAUAAAATC | 382 |
| KHK-2363 | Hs独特 | 25聚体有义链 | CAGAAUUAUUGUGAGGAUAAAAUCA | 383 |
| KHK-2364 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AGAAUUAUUGUGAGGAUAAAAUCAT | 384 |
| KHK-2365 | Hs独特 | 25聚体有义链 | GAAUUAUUGUGAGGAUAAAAUCATA | 385 |
| KHK-2366 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AAUUAUUGUGAGGAUAAAAUCAUAT | 386 |
| KHK-2367 | Hs独特 | 25聚体有义链 | AUUAUUGUGAGGAUAAAAUCAUATA | 387 |
| KHK-115-154 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGCGCUAC | 388 |
| KHK-116-155 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGCGCUA | 389 |
| KHK-117-156 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGCGCU | 390 |
| KHK-118-157 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGCGC | 391 |
| KHK-119-158 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGCG | 392 |
| KHK-120-159 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUGC | 393 |
| KHK-121-160 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAUG | 394 |
| KHK-122-161 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAAU | 395 |
| KHK-123-162 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAAA | 396 |
| KHK-124-163 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAAA | 397 |
| KHK-125-164 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAAGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGAA | 398 |
| KHK-126-165 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUAAGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAGA | 399 |
| KHK-127-166 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUAAGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGAG | 400 |
| KHK-128-167 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGCUAAGCGAUCUCGAGAAUGCAAAGA | 401 |
| KHK-179 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUCCUCGCUUGUCAGAUGGACUCACAG | 402 |
| KHK-181-220 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGACUCAC | 403 |
| KHK-182-221 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGACUCA | 404 |
| KHK-183-222 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGACUC | 405 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-184-223 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGACU | 406 |
| KHK-185-224 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGAC | 407 |
| KHK-186-225 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUUAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGGA | 408 |
| KHK-187-226 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCCUUAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUGG | 409 |
| KHK-188-227 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGCCUUAGUUUCCUCGCUUGUCAGAUG | 410 |
| KHK-431-470 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUCUUAUCCAGGAGGAUGGUGUCCCC | 411 |
| KHK-432-471 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCCUCUUAUCCAGGAGGAUGGUGUCCC | 412 |
| KHK-433-472 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGCCUCUUAUCCAGGAGGAUGGUGUCC | 413 |
| KHK-507-545-376-218 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAGGCUAC | 414 |
| KHK-508-546-377-219 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAGGCUA | 415 |
| KHK-509-547-378-220 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAGGCU | 416 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | ACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAGGC | 417 |
| KHK-511-549-380-222 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAGG | 418 |
| KHK-512-550-381-223 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GCACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGAG | 419 |
| KHK-513-551-382-224 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CGCACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUGA | 420 |
| KHK-514-552-383-225 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | ACGCACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAUG | 421 |
| KHK-515-553-384-226 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CACGCACAGGAUCUGCUUCUCUUCCAU | 422 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCACGCACAGGAUCUGCUUCUCUUCCA | 423 |
| KHK-517-555-386-228 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCCACGCACAGGAUCUGCUUCUCUUCC | 424 |
| KHK-518-556-387-229 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCCCACGCACAGGAUCUGCUUCUCUUC | 425 |
| KHK-520-558-389-231 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AGCCCCACGCACAGGAUCUGCUUCUCU | 426 |
| KHK-521-559-390-232 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UAGCCCCACGCACAGGAUCUGCUUCUC | 427 |
| KHK-522-560-391-233 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CUAGCCCCACGCACAGGAUCUGCUUCU | 428 |
| KHK-541-579 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGAUGACGUCCAGCACCACUAGCCCC | 429 |
| KHK-544-582 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGCUGAUGACGUCCAGCACCACUAGC | 430 |
| KHK-546-584 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCAGGCUGAUGACGUCCAGCACCACUA | 431 |
| KHK-547-585 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACCAGGCUGAUGACGUCCAGCACCACU | 432 |
| KHK-548-586 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACCAGGCUGAUGACGUCCAGCACCAC | 433 |
| KHK-549-587 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCACCAGGCUGAUGACGUCCAGCACCA | 434 |
| KHK-550-588 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCACCAGGCUGAUGACGUCCAGCACC | 435 |
| KHK-551-589 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUCCACCAGGCUGAUGACGUCCAGCAC | 436 |
| KHK-552-590 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUCCACCAGGCUGAUGACGUCCAGCA | 437 |
| KHK-553-591 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGUCCACCAGGCUGAUGACGUCCAGC | 438 |
| KHK-554-592 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUGUCCACCAGGCUGAUGACGUCCAG | 439 |
| KHK-555-593 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACUUGUCCACCAGGCUGAUGACGUCCA | 440 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-556-594 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UACUUGUCCACCAGGCUGAUGACGUCC | 441 |
| KHK-557-595 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUACUUGUCCACCAGGCUGAUGACGUC | 442 |
| KHK-558-596 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGUACUUGUCCACCAGGCUGAUGACGU | 443 |
| KHK-559-597 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGUACUUGUCCACCAGGCUGAUGACG | 444 |
| KHK-560-598 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGGUACUUGUCCACCAGGCUGAUGAC | 445 |
| KHK-561-599 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAGGGUACUUGUCCACCAGGCUGAUGA | 446 |
| KHK-562-600 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUAGGGUACUUGUCCACCAGGCUGAUG | 447 |
| KHK-563-601 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUAGGGUACUUGUCCACCAGGCUGAU | 448 |
| KHK-564-602 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUUAGGGUACUUGUCCACCAGGCUGA | 449 |
| KHK-565-603 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCUUAGGGUACUUGUCCACCAGGCUG | 450 |
| KHK-566-604 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCCUUAGGGUACUUGUCCACCAGGCU | 451 |
| KHK-567-605 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUCCUUAGGGUACUUGUCCACCAGGC | 452 |
| KHK-568-606 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCUCCUUAGGGUACUUGUCCACCAGG | 453 |
| KHK-569-607 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUCCUCCUUAGGGUACUUGUCCACCAG | 454 |
| KHK-570-608 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGUCCUCCUUAGGGUACUUGUCCACCA | 455 |
| KHK-571-609 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGUCCUCCUUAGGGUACUUGUCCACC | 456 |
| KHK-572-610 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CGAGUCCUCCUUAGGGUACUUGUCCAC | 457 |
| KHK-573-611 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCGAGUCCUCCUUAGGGUACUUGUCCA | 458 |
| KHK-574-612 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCGAGUCCUCCUUAGGGUACUUGUCC | 459 |
| KHK-575-613 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCCGAGUCCUCCUUAGGGUACUUGUC | 460 |
| KHK-576-614 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUCCGAGUCCUCCUUAGGGUACUUGU | 461 |
| KHK-577-615 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCUCCGAGUCCUCCUUAGGGUACUUG | 462 |
| KHK-638-676 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGAACGGUGCAGGAGUUGGACGCGUU | 463 |
| KHK-641-679 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGAGAGAACGGUGCAGGAGUUGGACGC | 464 |
| KHK-642-680 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGAGAGAACGGUGCAGGAGUUGGACG | 465 |
| KHK-643-681 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGGAGAGAACGGUGCAGGAGUUGGAC | 466 |
| KHK-644-682 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAGGGAGAGAACGGUGCAGGAGUUGGA | 467 |
| KHK-645-683 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCAGGGAGAGAACGGUGCAGGAGUUGG | 468 |
| KHK-646-684 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGCAGGGAGAGAACGGUGCAGGAGUUG | 469 |
| KHK-647-685 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGCAGGGAGAGAACGGUGCAGGAGUU | 470 |
| KHK-650-688 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCGAGCAGGGAGAGAACGGUGCAGGA | 471 |
| KHK-676-714 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUUGAGCCCAUGAAGGCACAGGGGGCU | 472 |
| KHK-713-722 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUCGGCCACCAGGAAGUCAGCAACAUG | 473 |
| KHK-826-835 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGAGCACAAUGGUACGGUUGCCAUUG | 474 |
| KHK-827-836 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUGGAGCACAAUGGUACGGUUGCCAUU | 475 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCAUGGAGCACAAUGGUACGGUUGCCA | 476 |
| KHK-830-839 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUCAUGGAGCACAAUGGUACGGUUGCC | 477 |
| KHK-831-840 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUCAUGGAGCACAAUGGUACGGUUGC | 478 |
| KHK-832-841 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGUCAUGGAGCACAAUGGUACGGUUG | 479 |
| KHK-857-895 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUAGCAGACACAUCUGGCAGGCUCGU | 480 |
| KHK-858-896 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGUAGCAGACACAUCUGGCAGGCUCG | 481 |
| KHK-859-897 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUGUAGCAGACACAUCUGGCAGGCUC | 482 |
| KHK-860-898-729-571 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GUCUGUAGCAGACACAUCUGGCAGGCU | 483 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AGUCUGUAGCAGACACAUCUGGCAGGC | 484 |
| KHK-862-900 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAGUCUGUAGCAGACACAUCUGGCAGG | 485 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-865 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UCAAAGUCUGUAGCAGACACAUCUGGC | 486 |
| KHK-880 | Hs独特 | 27聚体反义链 | GUCAGAUCAACCUUCUCAAAGUCUGUA | 487 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGUCAGAUCAACCUUCUCAAAGUCUG | 488 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGGUCAGAUCAACCUUCUCAAAGUCU | 489 |
| KHK-884-922 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGGGUCAGAUCAACCUUCUCAAAGUC | 490 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACUGGGUCAGAUCAACCUUCUCAAAGU | 491 |
| KHK-886-924 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AACUGGGUCAGAUCAACCUUCUCAAAG | 492 |
| KHK-887-925 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAACUGGGUCAGAUCAACCUUCUCAAA | 493 |
| KHK-888-926 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGAACUGGGUCAGAUCAACCUUCUCAA | 494 |
| KHK-889-927 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGAACUGGGUCAGAUCAACCUUCUCA | 495 |
| KHK-890-928 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUGAACUGGGUCAGAUCAACCUUCUC | 496 |
| KHK-891-929 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACUUGAACUGGGUCAGAUCAACCUUCU | 497 |
| KHK-892-930 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACUUGAACUGGGUCAGAUCAACCUUC | 498 |
| KHK-893-931 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCACUUGAACUGGGUCAGAUCAACCUU | 499 |
| KHK-894-932 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCACUUGAACUGGGUCAGAUCAACCU | 500 |
| KHK-895-933 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCCACUUGAACUGGGUCAGAUCAACC | 501 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAUCCACUUGAACUGGGUCAGAUCAAC | 502 |
| KHK-897-935 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGAUCCACUUGAACUGGGUCAGAUCAA | 503 |
| KHK-898-936 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGAUCCACUUGAACUGGGUCAGAUCA | 504 |
| KHK-899-937 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGGAUCCACUUGAACUGGGUCAGAUC | 505 |
| KHK-900-938 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUGGAUCCACUUGAACUGGGUCAGAU | 506 |
| KHK-901-939 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUGUGGAUCCACUUGAACUGGGUCAGA | 507 |
| KHK-902-940 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAUGUGGAUCCACUUGAACUGGGUCAG | 508 |
| KHK-903-941 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAAUGUGGAUCCACUUGAACUGGGUCA | 509 |
| KHK-904-942 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCAAUGUGGAUCCACUUGAACUGGGUC | 510 |
| KHK-905-943 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCAAUGUGGAUCCACUUGAACUGGGU | 511 |
| KHK-906-944 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUCAAUGUGGAUCCACUUGAACUGGG | 512 |
| KHK-907-945 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCUCAAUGUGGAUCCACUUGAACUGG | 513 |
| KHK-908-946-777-619 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GCCCUCAAUGUGGAUCCACUUGAACUG | 514 |
| KHK-909-947-778-620 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GGCCCUCAAUGUGGAUCCACUUGAACU | 515 |
| KHK-910-948-779-621 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CGGCCCUCAAUGUGGAUCCACUUGAAC | 516 |
| KHK-911-949-780-622 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCGGCCCUCAAUGUGGAUCCACUUGAA | 517 |
| KHK-912-950-781-623 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UCCGGCCCUCAAUGUGGAUCCACUUGA | 518 |
| KHK-913-951-782-624 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UUCCGGCCCUCAAUGUGGAUCCACUUG | 519 |
| KHK-914-952-783-625 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GUUCCGGCCCUCAAUGUGGAUCCACUU | 520 |
| KHK-939-977 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCAGCAUCUUCACCUGCUCCGAUGCGU | 521 |
| KHK-940-978 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGCAGCAUCUUCACCUGCUCCGAUGCG | 522 |
| KHK-941-979 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGCAGCAUCUUCACCUGCUCCGAUGC | 523 |
| KHK-942-980 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUGCAGCAUCUUCACCUGCUCCGAUG | 524 |
| KHK-943-981 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CGCUGCAGCAUCUUCACCUGCUCCGAU | 525 |
| KHK-944-982 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCGCUGCAGCAUCUUCACCUGCUCCGA | 526 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-945-983 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCGCUGCAGCAUCUUCACCUGCUCCG | 527 |
| KHK-946-984 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCCGCUGCAGCAUCUUCACCUGCUCC | 528 |
| KHK-947-985 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUCCGCUGCAGCAUCUUCACCUGCUC | 529 |
| KHK-948-986-817 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | CUAUCCGCUGCAGCAUCUUCACCUGCU | 530 |
| KHK-949-987-818 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | UCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCACCUGC | 531 |
| KHK-950-988-819 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | GUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCACCUG | 532 |
| KHK-951-989-820 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | CGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCACCU | 533 |
| KHK-952-990-821 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | GCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCACC | 534 |
| KHK-953-991-822 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | UGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCAC | 535 |
| KHK-954-992-823 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | GUGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUCA | 536 |
| KHK-955-993-824 | Hs-Mf-Mm共有 | 27聚体反义链 | UGUGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUUC | 537 |
| KHK-956-994 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGUGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCUU | 538 |
| KHK-957-995 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUGUGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUCU | 539 |
| KHK-958-996 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGUGUGCGUCUAUCCGCUGCAGCAUC | 540 |
| KHK-978-1016 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUCUGGAGGCUGCCUGGUGUUGUGUG | 541 |
| KHK-982-1020 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUCUGCUCUGGAGGCUGCCUGGUGUUG | 542 |
| KHK-983-1021 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUCUGCUCUGGAGGCUGCCUGGUGUU | 543 |
| KHK-984-1022 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUUCUGCUCUGGAGGCUGCCUGGUGU | 544 |
| KHK-985-1023 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCUUCUGCUCUGGAGGCUGCCUGGUG | 545 |
| KHK-991-1029 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACCCGGAUCUUCUGCUCUGGAGGCUGC | 546 |
| KHK-992-1030 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACCCGGAUCUUCUGCUCUGGAGGCUG | 547 |
| KHK-993-1031 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACACCCGGAUCUUCUGCUCUGGAGGCU | 548 |
| KHK-999-1037 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCACGGACACCCGGAUCUUCUGCUCUG | 549 |
| KHK-1000-1038 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCACGGACACCCGGAUCUUCUGCUCU | 550 |
| KHK-1019-1057 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCUCGUGGCUUCUCCACCUCCACGGA | 551 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACCACGUCUCCGUAGCCAAACAGCUGG | 552 |
| KHK-1055-1093 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACCACGUCUCCGUAGCCAAACAGCUG | 553 |
| KHK-1057-1095 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AACACCACGUCUCCGUAGCCAAACAGC | 554 |
| KHK-1058-1096 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAACACCACGUCUCCGUAGCCAAACAG | 555 |
| KHK-1059-1097 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAAACACCACGUCUCCGUAGCCAAACA | 556 |
| KHK-1060-1098 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACAAACACCACGUCUCCGUAGCCAAAC | 557 |
| KHK-1061-1099 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GACAAACACCACGUCUCCGUAGCCAAA | 558 |
| KHK-1062-1100 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGACAAACACCACGUCUCCGUAGCCAA | 559 |
| KHK-1063-1101 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGACAAACACCACGUCUCCGUAGCCA | 560 |
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUGACAAACACCACGUCUCCGUAGCC | 561 |
| KHK-1065-1103 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGCUGACAAACACCACGUCUCCGUAGC | 562 |
| KHK-1066-1104 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGCUGACAAACACCACGUCUCCGUAG | 563 |
| KHK-1067-1105 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUUGCUGACAAACACCACGUCUCCGUA | 564 |
| KHK-1068-1106 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUUGCUGACAAACACCACGUCUCCGU | 565 |
| KHK-1069-1107 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUUUGCUGACAAACACCACGUCUCCG | 566 |
| KHK-1070-1108 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCUUUGCUGACAAACACCACGUCUCC | 567 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1071-1109 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAUCUUUGCUGACAAACACCACGUCUC | 568 |
| KHK-1072-1110 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACAUCUUUGCUGACAAACACCACGUCU | 569 |
| KHK-1073-1111 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACAUCUUUGCUGACAAACACCACGUC | 570 |
| KHK-1074-1112-943-785 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCACAUCUUUGCUGACAAACACCACGU | 571 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GCCACAUCUUUGCUGACAAACACCACG | 572 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GGCCACAUCUUUGCUGACAAACACCAC | 573 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UGGCCACAUCUUUGCUGACAAACACCA | 574 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UUGGCCACAUCUUUGCUGACAAACACC | 575 |
| KHK-1079-1117-948-790 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CUUGGCCACAUCUUUGCUGACAAACAC | 576 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GCUUGGCCACAUCUUUGCUGACAAACA | 577 |
| KHK-1081-1119-950-792 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UGCUUGGCCACAUCUUUGCUGACAAAC | 578 |
| KHK-1082-1120-951-793 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GUGCUUGGCCACAUCUUUGCUGACAAA | 579 |
| KHK-1083-1121-952-794 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AGUGCUUGGCCACAUCUUUGCUGACAA | 580 |
| KHK-1084-1122-953-795 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AAGUGCUUGGCCACAUCUUUGCUGACA | 581 |
| KHK-1085-1123-954-796 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CAAGUGCUUGGCCACAUCUUUGCUGAC | 582 |
| KHK-1086-1124-955-797 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCAAGUGCUUGGCCACAUCUUUGCUGA | 583 |
| KHK-1087-1125-956-798 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CCCAAGUGCUUGGCCACAUCUUUGCUG | 584 |
| KHK-1090-1128 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AACCCCAAGUGCUUGGCCACAUCUUUG | 585 |
| KHK-1091-1129 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAACCCCAAGUGCUUGGCCACAUCUUU | 586 |
| KHK-1092-1130 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGAACCCCAAGUGCUUGGCCACAUCUU | 587 |
| KHK-1093-1131 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGAACCCCAAGUGCUUGGCCACAUCU | 588 |
| KHK-1095-1133 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACUGGAACCCCAAGUGCUUGGCCACAU | 589 |
| KHK-1096-1134 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GACUGGAACCCCAAGUGCUUGGCCACA | 590 |
| KHK-1097-1135 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGACUGGAACCCCAAGUGCUUGGCCAC | 591 |
| KHK-1099-1137 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUGACUGGAACCCCAAGUGCUUGGCC | 592 |
| KHK-1100-1138 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGCUGACUGGAACCCCAAGUGCUUGGC | 593 |
| KHK-1101-1139 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGCUGACUGGAACCCCAAGUGCUUGG | 594 |
| KHK-1102-1140 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUGCUGACUGGAACCCCAAGUGCUUG | 595 |
| KHK-1103-1141 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCUGCUGACUGGAACCCCAAGUGCUU | 596 |
| KHK-1104-1142 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUCUGCUGACUGGAACCCCAAGUGCU | 597 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUCCUCUGCUGACUGGAACCCCAAGUG | 598 |
| KHK-1107-1145 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUCCUCUGCUGACUGGAACCCCAAGU | 599 |
| KHK-1135-1173 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCACACGACCAUACAAGCCCCUCAAG | 600 |
| KHK-1136-1174 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUCACACGACCAUACAAGCCCCUCAA | 601 |
| KHK-1137-1175 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCUCACACGACCAUACAAGCCCCUCA | 602 |
| KHK-1138-1176 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUCCUCACACGACCAUACAAGCCCCUC | 603 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1139-1177 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUUCCUCACACGACCAUACAAGCCCCU | 604 |
| KHK-1140-1178 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUUUCCUCACACGACCAUACAAGCCCC | 605 |
| KHK-1141-1179 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUUUCCUCACACGACCAUACAAGCCC | 606 |
| KHK-1142-1180 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCUUUCCUCACACGACCAUACAAGCC | 607 |
| KHK-1143-1181 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCCUUUCCUCACACGACCAUACAAGC | 608 |
| KHK-1144-1182 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCCCCUUUCCUCACACGACCAUACAAG | 609 |
| KHK-1145-1183 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGCCCCUUUCCUCACACGACCAUACAA | 610 |
| KHK-1146-1184 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAGCCCCUUUCCUCACACGACCAUACA | 611 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACAGCCCCUUUCCUCACACGACCAUAC | 612 |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACAGCCCCUUUCCUCACACGACCAUA | 613 |
| KHK-1149-1187 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCACAGCCCCUUUCCUCACACGACCAU | 614 |
| KHK-1153-1191 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACAAGCACAGCCCCUUUCCUCACACGA | 615 |
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GACAAGCACAGCCCCUUUCCUCACACG | 616 |
| KHK-1157-1195 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACAGACAAGCACAGCCCCUUUCCUCAC | 617 |
| KHK-1158-1196 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACAGACAAGCACAGCCCCUUUCCUCA | 618 |
| KHK-1159-1197 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCACAGACAAGCACAGCCCCUUUCCUC | 619 |
| KHK-1161-1199 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGCACAGACAAGCACAGCCCCUUUCC | 620 |
| KHK-1163-1201 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCAGGCACAGACAAGCACAGCCCCUUU | 621 |
| KHK-1164-1202 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCAGGCACAGACAAGCACAGCCCCUU | 622 |
| KHK-1232-1270 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGUGGCGGGAAAGCAUCCGAGUGGAG | 623 |
| KHK-1278-1316-1147-989 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | CGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCCAGCUC | 624 |
| KHK-1279-1317-1148-990 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | ACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCCAGCU | 625 |
| KHK-1280-1318-1149-991 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | GACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCCAGC | 626 |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | UGACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCCAG | 627 |
| KHK-1282-1320-1151-993 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 27聚体反义链 | AUGACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCCA | 628 |
| KHK-1283-1321 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAUGACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUCC | 629 |
| KHK-1284-1322 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGAUGACGGAGGCAUUGAAGGUGUCUC | 630 |
| KHK-1285-1323 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAGAUGACGGAGGCAUUGAAGGUGUCU | 631 |
| KHK-1286-1324 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAAGAUGACGGAGGCAUUGAAGGUGUC | 632 |
| KHK-1287-1325 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGAAGAUGACGGAGGCAUUGAAGGUGU | 633 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGAAGAUGACGGAGGCAUUGAAGGUG | 634 |
| KHK-1289-1327 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUGAAGAUGACGGAGGCAUUGAAGGU | 635 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGCUGAAGAUGACGGAGGCAUUGAAGG | 636 |
| KHK-1291-1329 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGCUGAAGAUGACGGAGGCAUUGAAG | 637 |
| KHK-1292-1330 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGGCUGAAGAUGACGGAGGCAUUGAA | 638 |
| KHK-1293-1331 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGAGGCUGAAGAUGACGGAGGCAUUGA | 639 |
| KHK-1294-1332 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGAGGCUGAAGAUGACGGAGGCAUUG | 640 |
| KHK-1295-1333 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGAGAGGCUGAAGAUGACGGAGGCAUU | 641 |
| KHK-1297-1335 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGGAGAGGCUGAAGAUGACGGAGGCA | 642 |
| KHK-1323-1361 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCAGUGCUUCCUGCACGCUCCUCCCCU | 643 |
| KHK-1325-1363 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUCAGUGCUUCCUGCACGCUCCUCCC | 644 |
| KHK-1326-1364 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCUCAGUGCUUCCUGCACGCUCCUCC | 645 |
| KHK-1327-1365 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAUCUCAGUGCUUCCUGCACGCUCCUC | 646 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1328-1366 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAAUCUCAGUGCUUCCUGCACGCUCCU | 647 |
| KHK-1329-1367 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CGAAUCUCAGUGCUUCCUGCACGCUCC | 648 |
| KHK-1330-1368 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCACGCUC | 649 |
| KHK-1331-1369 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCACGCU | 650 |
| KHK-1332-1370 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCACGC | 651 |
| KHK-1333-1371 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CACCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCACG | 652 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCACCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCAC | 653 |
| KHK-1335-1373 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGCACCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGCA | 654 |
| KHK-1336-1374 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGCACCCGAAUCUCAGUGCUUCCUGC | 655 |
| KHK-1385-1423 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCACACGAUGCCAUCAAAGCCCUGCAG | 656 |
| KHK-1387-1425 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUCACACGAUGCCAUCAAAGCCCUGC | 657 |
| KHK-1388-1426 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCUCACACGAUGCCAUCAAAGCCCUG | 658 |
| KHK-1389-1427 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUCUCACACGAUGCCAUCAAAGCCCU | 659 |
| KHK-1538-1588 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUGUGGGGAACACAGGACACAGGCAG | 660 |
| KHK-1540-1590 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCCUGUGGGGAACACAGGACACAGGC | 661 |
| KHK-1542-1592 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCUCCCUGUGGGGAACACAGGACACAG | 662 |
| KHK-1665-1708 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCGAAGAGUCAGAGCCUCAGGAAUGCC | 663 |
| KHK-1666-1709 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCGAAGAGUCAGAGCCUCAGGAAUGC | 664 |
| KHK-1667-1710 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAUCGAAGAGUCAGAGCCUCAGGAAUG | 665 |
| KHK-1707-1750 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGCGGAGAGGUUAAUUUGGGGAAUGGA | 666 |
| KHK-1708-1751 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGCGGAGAGGUUAAUUUGGGGAAUGG | 667 |
| KHK-1709-1752 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGGCGGAGAGGUUAAUUUGGGGAAUG | 668 |
| KHK-1869-1918 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUAGAGUCUGCACAACGCAGGGCCCCG | 669 |
| KHK-1870-1919 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAUAGAGUCUGCACAACGCAGGGCCCC | 670 |
| KHK-1871-1920 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAAUAGAGUCUGCACAACGCAGGGCCC | 671 |
| KHK-1872-1921 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGAAUAGAGUCUGCACAACGCAGGGCC | 672 |
| KHK-1873-1922 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGAAUAGAGUCUGCACAACGCAGGGC | 673 |
| KHK-1874-1923 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGGAAUAGAGUCUGCACAACGCAGGG | 674 |
| KHK-1875-1924 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGGGAAUAGAGUCUGCACAACGCAGG | 675 |
| KHK-1876-1925 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGUGGGAAUAGAGUCUGCACAACGCAG | 676 |
| KHK-1877-1926 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGUGGGAAUAGAGUCUGCACAACGCA | 677 |
| KHK-1878-1927 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCUGUGGGAAUAGAGUCUGCACAACGC | 678 |
| KHK-1879-1928 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGCUGUGGGAAUAGAGUCUGCACAACG | 679 |
| KHK-1880-1929 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGCUGUGGGAAUAGAGUCUGCACAAC | 680 |
| KHK-1900-1949 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGUGUGGACUCCCAGCUUCUGAGCUGU | 681 |
| KHK-1905-1954 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCAGCGGUGUGGACUCCCAGCUUCUGA | 682 |
| KHK-1971-2025 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAUCACAGGCUGGUGGGCAGGGCAGAG | 683 |
| KHK-1974-2028 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCAAAUCACAGGCUGGUGGGCAGGGCA | 684 |
| KHK-1975-2029 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCAAAUCACAGGCUGGUGGGCAGGGC | 685 |
| KHK-1976-2030 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAUCAAAUCACAGGCUGGUGGGCAGGG | 686 |
| KHK-1978-2032 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCAUCAAAUCACAGGCUGGUGGGCAG | 687 |
| KHK-1979-2033 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCCAUCAAAUCACAGGCUGGUGGGCA | 688 |
| KHK-2032-2086 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACUUUCAGGCUCUGGGGCAGUCAGCGG | 689 |
| KHK-2035-2089 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGACUUUCAGGCUCUGGGGCAGUCAG | 690 |
| KHK-2036-2090 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGAGACUUUCAGGCUCUGGGGCAGUCA | 691 |
| KHK-2037-2091 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGAGACUUUCAGGCUCUGGGGCAGUC | 692 |
| KHK-2038-2092 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGUGAGACUUUCAGGCUCUGGGGCAGU | 693 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-2039-2093 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGGUGAGACUUUCAGGCUCUGGGGCAG | 694 |
| KHK-2040-2094 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGGGUGAGACUUUCAGGCUCUGGGGCA | 695 |
| KHK-2041-2095 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AAGGGUGAGACUUUCAGGCUCUGGGGC | 696 |
| KHK-2042-2096 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAAGGGUGAGACUUUCAGGCUCUGGGG | 697 |
| KHK-2043-2097 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCAAGGGUGAGACUUUCAGGCUCUGGG | 698 |
| KHK-2044-2098 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCAAGGGUGAGACUUUCAGGCUCUGG | 699 |
| KHK-2045-2099 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUCCAAGGGUGAGACUUUCAGGCUCUG | 700 |
| KHK-2067-2121 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | ACGCCCUUAAUUCCAAGGUGGGCUCCA | 701 |
| KHK-2069-2123 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCACGCCCUUAAUUCCAAGGUGGGCUC | 702 |
| KHK-2091-2145 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUGGGUCACAUUUGUGGCUGAGGCACG | 703 |
| KHK-2092-2146 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUGGGUCACAUUUGUGGCUGAGGCAC | 704 |
| KHK-2093-2147 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCUGGGUCACAUUUGUGGCUGAGGCA | 705 |
| KHK-2094-2148 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUCCUGGGUCACAUUUGUGGCUGAGGC | 706 |
| KHK-2095-2149 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUCCUGGGUCACAUUUGUGGCUGAGG | 707 |
| KHK-2096-2150 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUAUCCUGGGUCACAUUUGUGGCUGAG | 708 |
| KHK-2105 | Hs独特 | 27聚体反义链 | CAACACUCUGUAUCCUGGGUCACAUUU | 709 |
| KHK-2148-2197 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAGAUCGG | 710 |
| KHK-2149-2198 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAGAUCG | 711 |
| KHK-2150-2199 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAGAUC | 712 |
| KHK-2151-2200 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAGAU | 713 |
| KHK-2152-2201 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAGA | 714 |
| KHK-2153-2202 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCAG | 715 |
| KHK-2154-2203 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCCA | 716 |
| KHK-2155-2204 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUUGGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUCC | 717 |
| KHK-2156-2205 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AGUUGGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUUC | 718 |
| KHK-2157-2206 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAGUUGGCCCCAAUUCCAAUAUGUGUU | 719 |
| KHK-2159-2208 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAUAUGUG | 720 |
| KHK-2160-2209 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAUAUGU | 721 |
| KHK-2161-2210 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAUAUG | 722 |
| KHK-2162-2211 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAUAU | 723 |
| KHK-2163-2212 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUAUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAUA | 724 |
| KHK-2164-2213 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUAUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAAU | 725 |
| KHK-2165-2214 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CUAUAUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCAA | 726 |
| KHK-2166-2215 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCUAUAUUGGAGUUGGCCCCAAUUCCA | 727 |
| KHK-2170-2219 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCACCCUAUAUUGGAGUUGGCCCCAAU | 728 |
| KHK-2196-2245 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUGCUCUUUACAUUAUAAGGCCUUACC | 729 |
| KHK-2197-2246 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUGCUCUUUACAUUAUAAGGCCUUAC | 730 |
| KHK-2198-2247 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUAUGCUCUUUACAUUAUAAGGCCUUA | 731 |
| KHK-2199-2248 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUAUGCUCUUUACAUUAUAAGGCCUU | 732 |
| KHK-2200-2249 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUAUAUGCUCUUUACAUUAUAAGGCCU | 733 |
| KHK-2201-2250 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUUAUAUGCUCUUUACAUUAUAAGGCC | 734 |
| KHK-2205 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUACAUUAUAUGCUCUUUACAUUAUAA | 735 |
| KHK-2238 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUUUAAUCCAGGUCUGUCUCACUCUAA | 736 |
| KHK-2260-2309 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGAUUUUA | 737 |
| KHK-2261-2310 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGAUUUU | 738 |
| KHK-2262-2311 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGAUUU | 739 |
| KHK-2263-2312 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GAUAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGAUU | 740 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-2264-2313 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGAUAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGAU | 741 |
| KHK-2265-2314 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUGAUAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAGA | 742 |
| KHK-2266-2315 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGUGAUAUGCAGCUAAUUAAAUGGCAG | 743 |
| KHK-2299 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUGAGGCAGAUUGCGUUAAGUGCUGUA | 744 |
| KHK-2317-2366 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUUUGACAGAUGAAGAAAUUGAGGCAG | 745 |
| KHK-2318-2367 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CAUUUGACAGAUGAAGAAAUUGAGGCA | 746 |
| KHK-2319-2368 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | CCAUUUGACAGAUGAAGAAAUUGAGGC | 747 |
| KHK-2320-2369 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UCCAUUUGACAGAUGAAGAAAUUGAGG | 748 |
| KHK-2321-2370 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUCCAUUUGACAGAUGAAGAAAUUGAG | 749 |
| KHK-2322-2371 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GUUCCAUUUGACAGAUGAAGAAAUUGA | 750 |
| KHK-2323-2372 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | GGUUCCAUUUGACAGAUGAAGAAAUUG | 751 |
| KHK-2324-2373 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UGGUUCCAUUUGACAGAUGAAGAAAUU | 752 |
| KHK-2325-2374 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | UUGGUUCCAUUUGACAGAUGAAGAAAU | 753 |
| KHK-2326-2375 | Hs-Mf共有 | 27聚体反义链 | AUUGGUUCCAUUUGACAGAUGAAGAAA | 754 |
| KHK-2332 | Hs独特 | 27聚体反义链 | AGCAGAAUUGGUUCCAUUUGACAGAUG | 755 |
| KHK-2333 | Hs独特 | 27聚体反义链 | AAGCAGAAUUGGUUCCAUUUGACAGAU | 756 |
| KHK-2335 | Hs独特 | 27聚体反义链 | CCAAGCAGAAUUGGUUCCAUUUGACAG | 757 |
| KHK-2340 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UGUAGCCAAGCAGAAUUGGUUCCAUUU | 758 |
| KHK-2341 | Hs独特 | 27聚体反义链 | CUGUAGCCAAGCAGAAUUGGUUCCAUU | 759 |
| KHK-2346 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UAAUUCUGUAGCCAAGCAGAAUUGGUU | 760 |
| KHK-2352 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UCACAAUAAUUCUGUAGCCAAGCAGAA | 761 |
| KHK-2358 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUAUCCUCACAAUAAUUCUGUAGCCAA | 762 |
| KHK-2359 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUUAUCCUCACAAUAAUUCUGUAGCCA | 763 |
| KHK-2360 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UUUUAUCCUCACAAUAAUUCUGUAGCC | 764 |
| KHK-2361 | Hs独特 | 27聚体反义链 | AUUUUAUCCUCACAAUAAUUCUGUAGC | 765 |
| KHK-2362 | Hs独特 | 27聚体反义链 | GAUUUUAUCCUCACAAUAAUUCUGUAG | 766 |
| KHK-2363 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UGAUUUUAUCCUCACAAUAAUUCUGUA | 767 |
| KHK-2364 | Hs独特 | 27聚体反义链 | AUGAUUUUAUCCUCACAAUAAUUCUGU | 768 |
| KHK-2365 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UAUGAUUUUAUCCUCACAAUAAUUCUG | 769 |
| KHK-2366 | Hs独特 | 27聚体反义链 | AUAUGAUUUUAUCCUCACAAUAAUUCU | 770 |
| KHK-2367 | Hs独特 | 27聚体反义链 | UAUAUGAUUUUAUCCUCACAAUAAUUC | 771 |
| 正向引物 | NHP KHK | N/A | TGCCTTCATGGGCTCAATG | 772 |
| 反向引物 | NHP KHK | N/A | TCGGCCACCAGGAAGTCA | 773 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mU][mC][mA][mU][mG][mG][fA][fA][fG][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 774 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mA][mA][mG][mA][mG][mA][fA][fG][fC][fA][mG][mA][mU][mC][mC][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 775 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mC][mA][mA][mC][mC][mG][fU][fA][fC][fC][mA][mU][mU][mG][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 776 |
| KHK-860-898- | Hs-Mf-Mm- | 低-2'-氟模式 | [mCs][mC][mU][mG][mC][mC][mA][fG][fA][fU][ | 777 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 729-571 | Rn共有 | 修饰的有义链 | fG][mU][mG][mU][mC][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mU][mG][mC][mC][mA][mG][fA][fU][fG][fU][mG][mU][mC][mU][mG][mC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 778 |
| KHK-865 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mA][mG][mA][mU][mG][mU][fG][fU][fC][fU][mG][mC][mU][mA][mC][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 779 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mA][mC][mU][mU][mU][mG][fA][fG][fA][fA][mG][mG][mU][mU][mG][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 780 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mC][mU][mU][mU][mG][mA][fG][fA][fA][fG][mG][mU][mU][mG][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 781 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mU][mU][mG][mA][mG][mA][fA][fG][fG][fU][mU][mG][mA][mU][mC][mU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 782 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mG][fC][mU][mG][mU][mU][fU][fG][fG][mC][fU][fA][mC][mG][mG][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 783 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mG][mU][mG][mU][mU][fU][fG][fU][fC][mA][mG][mC][mA][mA][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 784 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mU][mU][mU][mG][mU][fC][fA][fG][fC][mA][mA][mA][mG][mA][mU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 785 |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mG][mA][mG][mA][mC][mA][fC][fC][fU][fU][mC][mA][mA][mU][mG][mC][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 786 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mC][mU][mU][mC][mA][mA][fU][fG][fC][fC][mU][mC][mC][mG][mU][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 787 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mU][mC][mA][mA][mU][mG][fC][fC][fU][fC][mC][mG][mU][mC][mA][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA- | 788 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mG][mU][mC][mG][mU][fG][fU][fG][fA][mG][mG][mA][mA][mA][mG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 789 |
| KHK-1152-1190 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mG][mU][mG][mU][mG][mA][fG][fG][fA][fA][mA][mG][mG][mG][mG][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 790 |
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mU][mG][mA][mG][mG][fA][fA][fA][fG][mG][mG][mG][mC][mU][mG][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 791 |
| KHK-1155-1193 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mU][mG][mA][mG][mG][mA][fA][fA][fG][fG][mG][mG][mC][mU][mG][mU][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 792 |
| KHK-1277 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mG][mC][mU][mG][mG][mA][fG][fA][fC][fA][mC][mC][mU][mU][mC][mA][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 793 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mU][mG][mG][mU][mC][mG][fU][fG][fU][fG][mA][mG][mG][mA][mA][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 794 |
| KHK-869-934 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mU][mG][mU][mC][mU][fG][fC][fU][fA][mC][mA][mG][mA][mC][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 795 |
| KHK-873 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mC][mU][mG][mC][mU][mA][fC][fA][fG][fA][mC][mU][mU][mU][mG][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 796 |
| KHK-879 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mC][mA][mG][mA][mC][mU][fU][fU][fG][fA][mG][mA][mA][mG][mG][mU][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 797 |
| KHK-881 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mG][mA][mC][mU][mU][mU][fG][fA][fG][fA][mA][mG][mG][mU][mU][mG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 798 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][mA][mU][mC][mU][mG][fA][fC][fC][fC][mA][mG][mU][mU][mC][mA][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 799 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mU][mA][mC][mG][mG][mA][fG][fA][fC][fG][mU][mG][mG][mU][mG][mU][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 800 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mU][mG][mU][mU][mU][mG][fU][fC][fA][fG][mC][mA][mA][mA][mG][mA][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 801 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mU][mU][mG][mU][mC][mA][fG][fC][fA][fA][mA][mG][mA][mU][mG][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 802 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mU][mU][mG][mG][mG][mG][fU][fU][fC][fC][mA][mG][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 803 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mC][mA][mG][mG][mA][mA][fG][fC][fA][fC][mU][mG][mA][mG][mA][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 804 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mA][fA][mG][mA][mG][mA][fA][fG][fC][mA][fG][fA][mU][mC][mC][fU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 805 |
| KHK-804 | Hs独特 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][fC][mU][mG][mC][mA][fU][fC][fA][mU][fC][fA][mA][mC][mA][fA][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 806 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mC][fA][mA][mC][mC][mG][fU][fA][fC][mC][fA][fU][mU][mG][mU][fG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 807 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mU][fG][mC][mC][mA][mG][fA][fU][fG][mU][fG][fU][mC][mU][mG][fC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 808 |
| KHK-865 | Hs独特 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mA][fG][mA][mU][mG][mU][fG][fU][fC][mU][fG][fC][mU][mA][mC][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 809 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mA][fC][mU][mU][mU][mG][fA][fG][fA][mA][fG][fG][mU][mU][mG][fA][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 810 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mC][fU][mU][mU][mG][mA][fG][fA][fA][mG][fG][fU][mU][mG][mA][fU][mC][mU][mA][m | 811 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | G][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mU][fU][mG][mA][mG][mA][fA][fG][fG][mU][fU][fG][mA][mU][mC][fU][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 812 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mAs][mG][fC][mU][mG][mU][mU][fU][fG][fG][mC][fU][fA][mC][mG][mG][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 813 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mG][fU][mG][mU][mU][mU][fG][fU][fC][mA][fG][fC][mA][mA][mA][fG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 814 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mG][fU][mU][mU][mG][mU][fC][fA][fG][mC][fA][fA][mA][mG][mA][fU][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 815 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mCs][mC][fU][mU][mC][mA][mA][fU][fG][fC][mC][fU][fC][mC][mG][mU][fC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 816 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mUs][mU][fC][mA][mA][mU][mG][fC][fC][fU][mC][fC][fG][mU][mC][mA][fU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 817 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的有义链 | [mGs][mC][fA][mG][mG][mA][mA][fG][fC][fA][mC][fU][fG][mA][mG][mA][fU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC] | 818 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fU][fG][mC][fU][mU][mC][fU][mC][mU][mU][fC][mC][mA][mU][mG][mA][mGs][mGs][mG] | 819 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fC][fA][fG][mG][fA][mU][mC][fU][mG][mC][mU][fU][mC][mU][mC][mU][mU][mCs][mGs][mG] | 820 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fG][fC][fA][mC][fA][mA][mU][fG][mG][mU][mA][fC][mG][mG][mU][mU][mG][mCs][mGs][mG] | 821 |
| KHK-860-898-729-571 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mG][fA][mC][mA][fC][mA][mU][mC][fU][mG][mG][mC][mA][mG][mGs][mGs][mG] | 822 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fAs][fG][fC][mA][fG][mA][mC][fA][mC][mA][mU][fC][mU][mG][mG][mC][mA][mGs][ | 823 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | mGs][mG] | |
| KHK-865 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fU][fG][mU][fA][mG][mC][fA][mG][mA][mC][fA][mC][mA][mU][mC][mU][mGs][mGs][mG] | 824 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fGs][fAs][fU][fC][mA][fA][mC][mC][fU][mU][mC][mU][fC][mA][mA][mA][mG][mU][mCs][mGs][mG] | 825 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mC][fA][mA][mC][fC][mU][mU][mC][fU][mC][mA][mA][mA][mG][mUs][mGs][mG] | 826 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fG][mA][fU][mC][mA][fA][mC][mC][mU][fU][mC][mU][mC][mA][mA][mAs][mGs][mG] | 827 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][mCs][mU][fC][mC][fG][fU][mA][fG][mC][fC][mA][fA][mA][fC][mA][mG][fC][mUs][mGs][mG] | 828 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fU][fU][mU][fG][mC][mU][fG][mA][mC][mA][fA][mA][mC][mA][mC][mC][mAs][mGs][mG] | 829 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fC][fA][fU][mC][fU][mU][mU][fG][mC][mU][mG][fA][mC][mA][mA][mA][mC][mAs][mGs][mG] | 830 |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fG][fC][mA][fU][mU][mG][fA][mA][mG][mG][fU][mG][mU][mC][mU][mC][mCs][mGs][mG] | 831 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fA][mC][fG][mG][mA][fG][mG][mC][mA][fU][mU][mG][mA][mA][mG][mGs][mGs][mG] | 832 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mG][fA][mC][mG][fG][mA][mG][mG][fC][mA][mU][mU][mG][mA][mAs][mGs][mG] | 833 |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fCs][fC][fU][mU][fU][mC][mC][fU][mC][mA][mC][fA][mC][mG][mA][mC][mC][mAs][mGs][mG] | 834 |
| KHK-1152-1190 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fC][mC][fC][mC][mU][fU][mU][mC][mC][fU][mC][mA][mC][mA][mC][mGs][mGs][mG] | 835 |
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fAs][fC][fA][mG][fC][mC][mC][fC][mU][mU][mU][fC][mC][mU][mC][mA][mC][mAs][mGs][mG] | 836 |
| KHK-1155-1193 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fGs][fCs][fA][fC][mA][fG][mC][mC][fC][m | 837 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | | C][mU][mU][fU][mC][mC][mU][mC][mA][mCs][mGs][mG] | |
| KHK-1277 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fUs][fU][fG][mA][fA][mG][mG][fU][mG][mU][mC][fU][mC][mC][mA][mG][mC][mUs][mGs][mG] | 838 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fCs][fU][fU][mU][fC][mC][mU][fC][mA][mC][mA][fC][mG][mA][mC][mC][mA][mUs][mGs][mG] | 839 |
| KHK-869-934 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fAs][fA][fG][mU][fC][mU][mG][fU][mA][mG][mC][fA][mG][mA][mC][mA][mC][mAs][mGs][mG] | 840 |
| KHK-873 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fU][fC][mA][fA][mA][mG][fU][mC][mU][mG][fU][mA][mG][mC][mA][mG][mAs][mGs][mG] | 841 |
| KHK-879 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fAs][fA][fC][mC][fU][mU][mC][fU][mC][mA][mA][fA][mG][mU][mC][mU][mG][mUs][mGs][mG] | 842 |
| KHK-881 | Hs独特 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fUs][fC][fA][mA][fC][mC][mU][fU][mC][mU][mC][fA][mA][mA][mG][mU][mC][mUs][mGs][mG] | 843 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fUs][fU][fG][mA][fA][mC][mU][fG][mG][mG][mU][fC][mA][mG][mA][mU][mC][mAs][mGs][mG] | 844 |
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fAs][fA][fC][mA][fC][mC][mA][fC][mG][mU][mC][fU][mC][mC][mG][mU][mA][mGs][mGs][mG] | 845 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fAs][fU][fC][mU][fU][mU][mG][fC][mU][mG][mA][fC][mA][mA][mA][mC][mA][mCs][mGs][mG] | 846 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fCs][fCs][fA][fC][mA][fU][mC][mU][fU][mU][mG][mC][fU][mG][mA][mC][mA][mA][mAs][mGs][mG] | 847 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fGs][fC][fU][mG][fA][mC][mU][fG][mG][mA][mA][fC][mC][mC][mC][mA][mA][mGs][mGs][mG] | 848 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 低-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fGs][fAs][fA][fU][mC][fU][mC][mA][fG][mU][mG][mC][fU][mU][mC][mC][mU][mG][mCs][mGs][mG] | 849 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fCs][fA][fG][mG][fA][fU][mC][fU][mG][mC][mU][fU][mC][fU][mC][mU][fU][mCs][mGs][mG] | 850 |
| KHK-804 | Hs独特 | 中-2'-氟模式 | [Me磷酸酯-4O- | 851 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| | | 修饰的反义链 | mUs][fAs][fGs][fU][fU][mG][fU][fU][mG][fA][mU][mG][mA][fU][mG][fC][mA][mG][fC][mAs][mGs][mG] | |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mC][fA][fA][mU][fG][mG][mU][mA][fC][mG][fG][mU][mU][fG][mCs][mGs][mG] | 852 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fAs][fG][fC][mA][fG][fA][mC][fA][mC][mA][mU][fC][mU][fG][mG][mC][fA][mGs][mGs][mG] | 853 |
| KHK-865 | Hs独特 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fU][fG][mU][fA][fG][mC][fA][mG][mA][mC][fA][mC][fA][mU][mC][fU][mGs][mGs][mG] | 854 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fGs][fAs][fU][fC][mA][fA][fC][mC][fU][mU][mC][mU][fC][mA][fA][mA][mG][fU][mCs][mGs][mG] | 855 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mC][fA][fA][mC][fC][mU][mU][mC][fU][mC][fA][mA][mA][fG][mUs][mGs][mG] | 856 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][fCs][fA][fG][mA][fU][fC][mA][fA][mC][mC][mU][fU][mC][fU][mC][mA][fA][mAs][mGs][mG] | 857 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fUs][mCs][mU][fC][mC][fG][fU][mA][fG][mC][fC][mA][fA][mA][fC][mA][mG][fC][mUs][mGs][mG] | 858 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fUs][fC][fU][mU][fU][fG][mC][fU][mG][mA][mC][fA][mA][fA][mC][mA][fC][mCs][mGs][mG] | 859 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fCs][fA][fU][mC][fU][fU][mU][fG][mC][mU][mG][fA][mC][fA][mA][mA][fC][mAs][mGs][mG] | 860 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fA][mC][fG][fG][mA][fG][mG][mC][mA][fU][mU][fG][mA][mA][fG][mGs][mGs][mG] | 861 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fU][mG][fA][fC][mG][fG][mA][mG][mG][fC][mA][fU][mU][mG][fA][mAs][mGs][mG] | 862 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 中-2'-氟模式修饰的反义链 | [Me磷酸酯-4O-mUs][fGs][fAs][fA][fU][mC][fU][fC][mA][fG][mU][mG][mC][fU][mU][fC][mC][mU][fG][mCs][mGs][mG] | 863 |
| Fam探针 | NHP KHK引物的Fam探针 | N/A | CCCTGGCCATGTTG | 864 |
| 正向-1026引物 | 小鼠KHK | N/A | TGGAGGTGGAGAAGCCA | 865 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 反向-1157引物 | 小鼠KHK | N/A | GACCATACAAGCCCCTCAAG | 866 |
| 探针-1080 | 小鼠KHK引物的探针 | N/A | TGGTGTTTGTCAGCAAAGATGTGGC | 867 |
| 正向-496引物 | 5'分析 | N/A | AGGAAGCTCTGGGAGTA | 868 |
| 反向-596引物 | 5'分析 | N/A | CCTCCTTAGGGTACTTGTC | 869 |
| 探针-518 | 5'分析探针 | N/A | ATGGAAGAGAAGCAGATCCTGTGCG | 870 |
| 茎环 | 未经修饰的茎环序列 | N/A | GCAGCCGAAAGGCUGC | 871 |
| KHK-1277 | Hs独特 | 36聚体有义链 | AGCUGGAGACACCUUCAAUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 872 |
| KHK-1155-1193 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | GUGAGGAAAGGGGCUGUGCAGCAGCCGAAAGGCUGC | 873 |
| KHK-1152-1190 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | CGUGUGAGGAAAGGGGCUGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 874 |
| KHK-881 | Hs独特 | 36聚体有义链 | AGACUUUGAGAAGGUUGAUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 875 |
| KHK-879 | Hs独特 | 36聚体有义链 | ACAGACUUUGAGAAGGUUGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 876 |
| KHK-869 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UGUGUCUGCUACAGACUUUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 877 |
| KHK-873 | Hs独特 | 36聚体有义链 | UCUGCUACAGACUUUGAGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 878 |
| KHK-1277 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UAUUGAAGGUGUCUCCAGCUGG | 879 |
| KHK-1155-1193 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UGCACAGCCCCUUUCCUCACGG | 880 |
| KHK-1152-1190 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UCAGCCCCUUUCCUCACACGGG | 881 |
| KHK-881 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UAUCAACCUUCUCAAAGUCUGG | 882 |
| KHK-879 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UCAACCUUCUCAAAGUCUGUGG | 883 |
| KHK-869 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAAAGUCUGUAGCAGACACAGG | 884 |
| KHK-873 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UUCUCAAAGUCUGUAGCAGAGG | 885 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | CUCAUGGAAGAGAAGCAGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 886 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | GAAGAGAAGCAGAUCCUGUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 887 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | GCAACCGUACCAUUGUGCUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 888 |
| KHK-860-898-729-571 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | CCUGCCAGAUGUGUCUGCUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 889 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | CUGCCAGAUGUGUCUGCUAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 890 |
| KHK-865 | Hs独特 | 36聚体有义链 | CAGAUGUGUCUGCUACAGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 891 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | GACUUUGAGAAGGUUGAUCAGCAGCCGAAAGGCUGC | 892 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | ACUUUGAGAAGGUUGAUCUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 893 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UUUGAGAAGGUUGAUCUGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 894 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | AGCUGUUUGGCUACGGAGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 895 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | UGGUGUUUGUCAGCAAAGAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 896 |
| KHK-1078-1116- | Hs-Mf-Mm- | 36聚体有义链 | UGUUUGUCAGCAAAGAUGUAGCAGCCGAA | 897 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| 947-789 | Rn共有 | | AGGCUGC | |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | GGAGACACCUUCAAUGCCUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 898 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | CCUUCAAUGCCUCCGUCAUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 899 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UUCAAUGCCUCCGUCAUCUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 900 |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UGGUCGUGUGAGGAAAGGGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 901 |
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UGUGAGGAAAGGGGCUGUGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 902 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | AUGGUCGUGUGAGGAAAGGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 903 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | UGAUCUGACCCAGUUCAAGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 904 |
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | CUACGGAGACGUGGUGUUUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 905 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | GUGUUUGUCAGCAAAGAUGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 906 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | UUUGUCAGCAAAGAUGUGGAGCAGCCGAAAGGCUGC | 907 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | CUUGGGGUUCCAGUCAGCAAGCAGCCGAAAGGCUGC | 908 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 36聚体有义链 | GCAGGAAGCACUGAGAUUCAGCAGCCGAAAGGCUGC | 909 |
| KHK-804 | Hs独特 | 36聚体有义链 | UGCUGCAUCAUCAACAACUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 910 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 36聚体有义链 | GGUGUUUGUCAGCAAAGAUAGCAGCCGAAAGGCUGC | 911 |
| KHK-510-548-379-221 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UUCUGCUUCUCUUCCAUGAGGG | 912 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UACAGGAUCUGCUUCUCUUCGG | 913 |
| KHK-829-838 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAGCACAAUGGUACGGUUGCGG | 914 |
| KHK-860-898-729-571 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UAGCAGACACAUCUGGCAGGGG | 915 |
| KHK-861-899-730-572 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UUAGCAGACACAUCUGGCAGGG | 916 |
| KHK-865 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UUCUGUAGCAGACACAUCUGGG | 917 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UGAUCAACCUUCUCAAAGUCGG | 918 |
| KHK-883-921 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAGAUCAACCUUCUCAAAGUGG | 919 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UUCAGAUCAACCUUCUCAAAGG | 920 |
| KHK-1054-1092 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UUCUCCGUAGCCAAACAGCUGG | 921 |
| KHK-1075-1113-944-786 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UUCUUUGCUGACAAACACCAGG | 922 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UACAUCUUUGCUGACAAACAGG | 923 |
| KHK-1281-1319-1150-992 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UAGGCAUUGAAGGUGUCUCCGG | 924 |
| KHK-1288-1326 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAUGACGGAGGCAUUGAAGGGG | 925 |
| KHK-1290-1328 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAGAUGACGGAGGCAUUGAAGG | 926 |
| KHK-1148-1186 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UCCCUUUCCUCACACGACCAGG | 927 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK-1154-1192 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UCACAGCCCCUUUCCUCACAGG | 928 |
| KHK-1147-1185 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UCCUUUCCUCACACGACCAUGG | 929 |
| KHK-873 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UUCUCAAAGUCUGUAGCAGAGG | 930 |
| KHK-896-934 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UCUUGAACUGGGUCAGAUCAGG | 931 |
| KHK-1064-1102 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UAAACACCACGUCUCCGUAGGG | 932 |
| KHK-1077-1115-946-788 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UCAUCUUUGCUGACAAACACGG | 933 |
| KHK-1080-1118-949-791 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UCCACAUCUUUGCUGACAAAGG | 934 |
| KHK-1106-1144 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UUGCUGACUGGAACCCCAAGGG | 935 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 22聚体反义链 | UGAAUCUCAGUGCUUCCUGCGG | 936 |
| KHK-804 | Hs独特 | 22聚体反义链 | UAGUUGUUGAUGAUGCAGCAGG | 937 |
| KHK-1076-1114-945-787 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 22聚体反义链 | UAUCUUUGCUGACAAACACCGG | 938 |
| MmKHK-ALL-5-6 | 正向 | N/A | GCTCTTCCAGTTGTTTAGCTATGGT | 939 |
| MmKHK-ALL-5-6 | 反向 | N/A | CAGGTGCTTGGCCACATCTT | 940 |
| MmKHK-ALL-5-6 | 探针 | N/A | AGGTGGTGTTTGTCAGC | 941 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 19聚体有义链 | GAAGAGAAGCAGAUCCUGU | 942 |
| KHK-865 | Hs独特 | 19聚体有义链 | CAGAUGUGUCUGCUACAGA | 943 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 19聚体有义链 | GACUUUGAGAAGGUUGAUC | 944 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 19聚体有义链 | UUUGAGAAGGUUGAUCUGA | 945 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 19聚体有义链 | UGUUUGUCAGCAAAGAUGU | 946 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 19聚体有义链 | GCAGGAAGCACUGAGAUUC | 947 |
| KHK-516-554-385-227 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 19聚体反义链 | ACAGGAUCUGCUUCUCUUC | 948 |
| KHK-865 | Hs独特 | 19聚体反义链 | UCUGUAGCAGACACAUCUG | 949 |
| KHK-882-920 | Hs-Mf共有 | 19聚体反义链 | GAUCAACCUUCUCAAAGUC | 950 |
| KHK-885-923 | Hs-Mf共有 | 19聚体反义链 | UCAGAUCAACCUUCUCAAA | 951 |
| KHK-1078-1116-947-789 | Hs-Mf-Mm-Rn共有 | 19聚体反义链 | ACAUCUUUGCUGACAAACA | 952 |
| KHK-1334-1372 | Hs-Mf共有 | 19聚体反义链 | GAAUCUCAGUGCUUCCUGC | 953 |

参考以下条项描述本发明的特定方面及实施方案：

1.一种用于降低己酮糖激酶(KHK)表达的双链RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含反义链及有义链,其中该反义链及该有义链形成双螺旋区,其中该反义链包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列互补的区域且其中该互补区域长度为至少15个连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

2.如条项1的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含SEQ ID NO:4-387中的任一者中所阐述的序列。

3.如条项1或2的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含SEQ ID NO:388-771中的任一者中所阐述的序列。

4.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,其中该双链RNAi寡核苷酸包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至少15个与SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列中的任一者相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

5.如条项1至4中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链的长度为15至50个核苷酸。

6.如条项1至4中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链的长度为18至36个核苷酸。

7.如条项1至4中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链的长度为15至30个核苷酸。

8.如条项1至7中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链的长度为15至30个核苷酸。

9.如条项1至8中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链及该有义链形成长度为至少19个核苷酸,任选地长度为至少20个核苷酸的双螺旋区。

10.如条项1至3及5至9中任一项的RNAi寡核苷酸,其中互补区域的长度为至少19个连续核苷酸,任选地长度为至少20个核苷酸。

11.一种用于降低KHK表达的双链RNAi寡核苷酸,该寡核苷酸包含:

(i)长度为19-30个核苷酸的反义链,其中该反义链包含含有KHK mRNA目标序列的互补区域的核苷酸序列,其中该互补区域选自SEQ ID NO:948-953,及

(ii)长度为19-50个核苷酸的有义链,其包含该反义链的互补区域,其中该反义链及该有义链为形成在该反义链的3'端具有1-4个核苷酸的突出端的不对称双螺旋区的单独链。

12.如条项1至11中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链在其3'端包含茎-环,该茎-环阐述为:S1-L-S2,其中S1与S2互补,且其中L在S1与S2之间形成长度为3至5个核苷酸的环。

13.如条项12的RNAi寡核苷酸,其中L为三环或四环。

14.如条项13的RNAi寡核苷酸,其中L为四环。

15.如条项14的RNAi寡核苷酸,其中该四环包含序列5'-GAAA-3'。

16.如条项12至15中任一项的RNAi寡核苷酸,其中S1及S2的长度为1-10个核苷酸且具有相同长度。

17.如条项16的RNAi寡核苷酸,其中S1及S2长度为1个核苷酸、2个核苷酸、3个核苷酸、4个核苷酸、5个核苷酸、6个核苷酸、7个核苷酸、8个核苷酸、9个核苷酸或10个核苷酸。

18.如条项17的RNAi寡核苷酸,其中S1及S2的长度为6个核苷酸。

19.如条项12至18中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该茎-环包含序列5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3'(SEQ ID NO:871)。

20.如条项1至19中任一项的RNAi寡核苷酸,其包含带切口的四环结构。

21.如条项1至19中任一项的RNAi寡核苷酸,其在该有义链的3'端与该反义链的5'端之间包含切口。

22.如条项1至21中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链及该有义链不为共价连接的。

23.如条项1至10及12至22中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链在3'末端包含长度为一或多个核苷酸的突出端。

24.如条项11至23中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该突出端包含嘌呤核苷酸。

25.如条项11至24中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该突出端的长度为2个核苷酸。

26.如条项25的RNAi寡核苷酸,其中该3'突出端选自AA、GG、AG及GA。

27.如条项26的RNAi寡核苷酸,其中该突出端为GG或AA。

28.如条项26的RNAi寡核苷酸,其中该突出端为GG。

29.如前述条项中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸。

30.如条项29的RNAi寡核苷酸,其中该经修饰的核苷酸包含2'-修饰。

31.如条项30的RNAi寡核苷酸,其中该2'-修饰为选自以下的修饰:2'-氨基乙基、2'-氟、2'-O-甲基、2'-O-甲氧基乙基及2'-脱氧-2'-氟-β-d-阿拉伯糖核酸。

32.如条项29至31中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链的约10-15%、10%、11%、12%、13%、14%或15%的核苷酸包含2'-氟修饰。

33.如条项29至32中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链的约25-35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2'-氟修饰。

34.如条项29至33中任一项的RNAi寡核苷酸,其中寡核苷酸的约25-35%、25%、26%、27%、28%、29%、30%、31%、32%、33%、34%或35%的核苷酸包含2'-氟修饰。

35.如条项29至34中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸的所有核苷酸经修饰。

36.如条项29至34中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含自5'至3'编号的位置1-36的36个核苷酸,其中该有义链的位置8、9、10及11经修饰。

37.如条项29至34中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含自5'至3'编号的位置1-36的36个核苷酸,其中该有义链的位置3、8、9、10、12、13及17经修饰。

38.如条项29至34中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含自5'至3'编号的位置1-22的22个核苷酸,其中该反义链的位置2、3、4、5、7、10及14经修饰。

39.如条项29至34中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含自5'至3'编号的位置1-22的22个核苷酸,其中反义链的位置2-5、7、8、10、14、16及19经修饰。

40.如条项36至39中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该修饰为2'-氟。

41.如条项32至34及36至40中任一项的RNAi寡核苷酸,其中其余核苷酸包含2'-O-甲基修饰。

42.如前述条项中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸包含至少一个经修饰的核苷酸间键联。

43.如条项42的RNAi寡核苷酸,其中该至少一个经修饰的核苷酸间键联为硫代磷酸酯键联。

44.如条项43的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含(i)位置1与2之间及位置2与3之间;或(ii)位置1与2之间、位置2与3之间及位置3与4之间的硫代磷酸酯键联,其中位置自5'至3'编号为1-4。

45.如条项43或44的RNAi寡核苷酸,其中该反义链的长度为22个核苷酸,且其中该反义链在位置20与21之间及在位置21与22之间包含硫代磷酸酯键联,其中位置自5'至3'编号为1-22。

46.如条项1至45中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链在5'末端包含磷酸化核

苷酸,其中该磷酸化核苷酸选自尿苷及腺苷。

47.如条项46的RNAi寡核苷酸,其中该磷酸化核苷酸为尿苷。

48.如前述条项中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链的5'-末端核苷酸的糖的4'-碳包含磷酸酯类似物。

49.如条项48的RNAi寡核苷酸,其中该磷酸酯类似物是氧基甲基膦酸酯、乙烯基膦酸酯或丙二酰基膦酸酯,任选地其中该磷酸酯类似物是包含5'-甲氧基膦酸酯-4'-氧基的4'-磷酸酯类似物。

50.如前述条项中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸的至少一个核苷酸与一或多个靶向配体结合。

51.如条项50的RNAi寡核苷酸,其中各靶向配体包含碳水化合物、氨基糖、胆固醇、多肽或脂质。

52.如条项11至51中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该茎环包含与该茎环的一或多个核苷酸结合的一或多个靶向配体。

53.如条项52的RNAi寡核苷酸,其中该一或多个靶向配体与该环的一或多个核苷酸结合。

54.如条项53的RNAi寡核苷酸,其中该环包含自5'至3'编号为1-4的4个核苷酸,其中在位置2、3及4处的核苷酸各自包含一或多个靶向配体,其中该等靶向配体相同或不同。

55.如条项50至54中任一项的RNAi寡核苷酸,其中各靶向配体包含N-乙酰半乳糖胺(GalNAc)部分。

56.如条项55的RNAi寡核苷酸,其中GalNAc部分为单价GalNAc部分、二价GalNAc部分、三价GalNAc部分或四价GalNAc部分。

57.如条项11至56中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该茎-环的L的至多4个核苷酸各自与单价GalNAc部分结合。

58.如条项1至57中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链所包含的互补区域与在该反义链的核苷酸位置2-8处的KHK mRNA目标序列完全互补,其中核苷酸位置是自5'至3'编号的。

59.如条项1至57中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链所包含的互补区域与在该反义链的核苷酸位置2-11处的KHK mRNA目标序列完全互补,其中核苷酸位置是自5'至3'编号的。

60.如条项1至59中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含SEQ ID NO:872-878及886-911中的任一者的核苷酸序列。

61.如条项1至60中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含SEQ ID NO:879-884及912-938中的任一者的核苷酸序列。

62.如条项1至61中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;

(b)分别为SEQ ID NO:887及913;

(c)分别为SEQ ID NO:910及937;

(d)分别为SEQ ID NO:888及914;

(e)分别为SEQ ID NO:889及915;
(f)分别为SEQ ID NO:890及916;
(g)分别为SEQ ID NO:891及917;
(h)分别为SEQ ID NO:877及884;
(i)分别为SEQ ID NO:878及930;
(j)分别为SEQ ID NO:876及883;
(k)分别为SEQ ID NO:875及882;
(l)分别为SEQ ID NO:892及918;
(m)分别为SEQ ID NO:893及919;
(n)分别为SEQ ID NO:894及920;
(o)分别为SEQ ID NO:904及931;
(p)分别为SEQ ID NO:895及921;
(q)分别为SEQ ID NO:905及932;
(r)分别为SEQ ID NO:896及922;
(s)分别为SEQ ID NO:911及938;
(t)分别为SEQ ID NO:906及933;
(u)分别为SEQ ID NO:897及923;
(v)分别为SEQ ID NO:907及934;
(w)分别为SEQ ID NO:908及935;
(x)分别为SEQ ID NO:903及929;
(y)分别为SEQ ID NO:901及927;
(z)分别为SEQ ID NO:874及881;
(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;
(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;
(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;
(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;
(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;
(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及
(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

63.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:909及936中所阐述的核苷酸序列。

64.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:894及920中所阐述的核苷酸序列。

65.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:897及923中所阐述的核苷酸序列。

66.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:892及918中所阐述的核苷酸序列。

67.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:891及917中所阐述的核苷酸序列。

68.如条项1至62中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:887及913中所阐述的核苷酸序列。

69.如条项1至59中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链的长度为22个核苷酸。

70.如条项69的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含选自SEQ ID NO:913、917、918、920、923及936的核苷酸序列。

71.如条项1至59及69至70中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含选自SEQ ID NO:942-947的核苷酸序列。

72.如条项1至59及69至71中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链的长度为36个核苷酸。

73.如条项72的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含选自SEQ ID NO:887、891、892、894、897及909的核苷酸序列。

74.如条项60至73中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链经修饰,其中该反义链及该有义链包含一或多个经2'-氟及2'-O-甲基修饰的核苷酸及至少一个硫代磷酸酯键联,其中该反义链的5'-核苷酸的糖的4'-碳包含磷酸酯类似物。

75.如条项1至59中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含SEQ ID NO:774-804中的任一者的核苷酸序列。

76.如条项1至59及75中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含SEQ ID NO:819-849中的任一者的核苷酸序列。

77.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:774及819;

(b)分别为SEQ ID NO:775及820;

(c)分别为SEQ ID NO:776及821;

(d)分别为SEQ ID NO:777及822;

(e)分别为SEQ ID NO:778及823;

(f)分别为SEQ ID NO:779及824;

(g)分别为SEQ ID NO:780及825;

(h)分别为SEQ ID NO:781及826;

(i)分别为SEQ ID NO:782及827;

(j)分别为SEQ ID NO:783及828;

(k)分别为SEQ ID NO:784及829;

(l)分别为SEQ ID NO:785及830;

(m)分别为SEQ ID NO:786及831;

(n)分别为SEQ ID NO:787及832;

(o)分别为SEQ ID NO:788及833;

(p)分别为SEQ ID NO:789及834;

(q)分别为SEQ ID NO:790及835;

(r)分别为SEQ ID NO:791及836;

(s)分别为SEQ ID NO:792及837;

(t)分别为SEQ ID NO:793及838;

(u)分别为SEQ ID NO:794及839;

(v)分别为SEQ ID NO:795及840;

(w)分别为SEQ ID NO:796及841;

(x)分别为SEQ ID NO:797及842;

(y)分别为SEQ ID NO:798及843;

(z)分别为SEQ ID NO:799及844;

(aa)分别为SEQ ID NO:800及845;

(bb)分别为SEQ ID NO:801及846;

(cc)分别为SEQ ID NO:802及847;

(dd)分别为SEQ ID NO:803及848;及

(ee)分别为SEQ ID NO:804及849。

78.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:804及849中所阐述的核苷酸序列。

79.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:782及827中所阐述的核苷酸序列。

80.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:775及820中所阐述的核苷酸序列。

81.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:779及824中所阐述的核苷酸序列。

82.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:780及825中所阐述的核苷酸序列。

83.如条项1至59及75至76中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:785及830中所阐述的核苷酸序列。

84.如条项1至59中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链包含SEQ ID NO:805-818中的任一者的核苷酸序列。

85.如条项1至59及84中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该反义链包含SEQ ID NO:850-863中的任一者的核苷酸序列。

86.如条项1至59及84至85中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:805及850;

(b)分别为SEQ ID NO:806及851;

(c)分别为SEQ ID NO:807及852;

(d)分别为SEQ ID NO:808及853;

(e)分别为SEQ ID NO:809及854;

(f)分别为SEQ ID NO:810及855;

(g)分别为SEQ ID NO:811及856;

(h)分别为SEQ ID NO:812及857;

(i)分别为SEQ ID NO:813及858;

(j)分别为SEQ ID NO:814及859;

(k)分别为SEQ ID NO:815及860;

(l)分别为SEQ ID NO:816及861;

(m)分别为SEQ ID NO:817及862及;

(n)分别为SEQ ID NO:818及863。

87.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:805及850中所阐述的核苷酸序列。

88.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:809及854中所阐述的核苷酸序列。

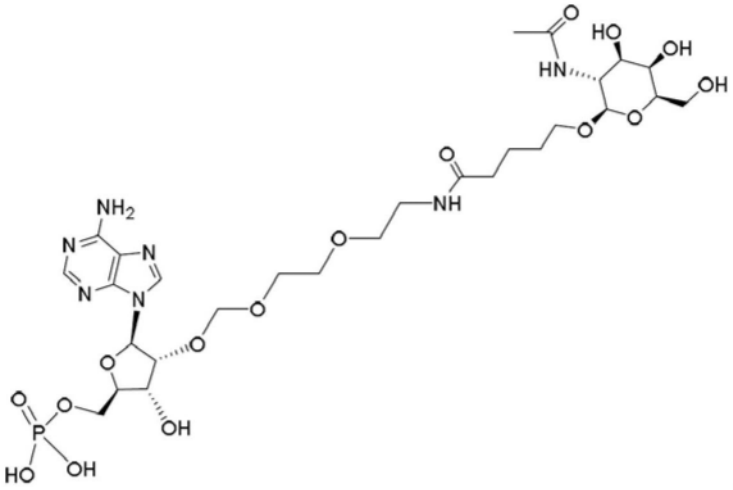
89.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:810及855中所阐述的核苷酸序列。

90.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:812及857中所阐述的核苷酸序列。

91.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:815及860中所阐述的核苷酸序列。

92.如条项1至59及84至86中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:818及863中所阐述的核苷酸序列。

93.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mG-S-mC-mA-mG-mG-mA-mA-fG-fC-fA-fC-mU-mG-mA-mG-mA-mU-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3'(SEQ ID NO:804)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fA-fU-mC-fU-mC-mA-fG-mU-mG-mC-fU-mU-mC-mC-mU-mG-mC-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:849)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=

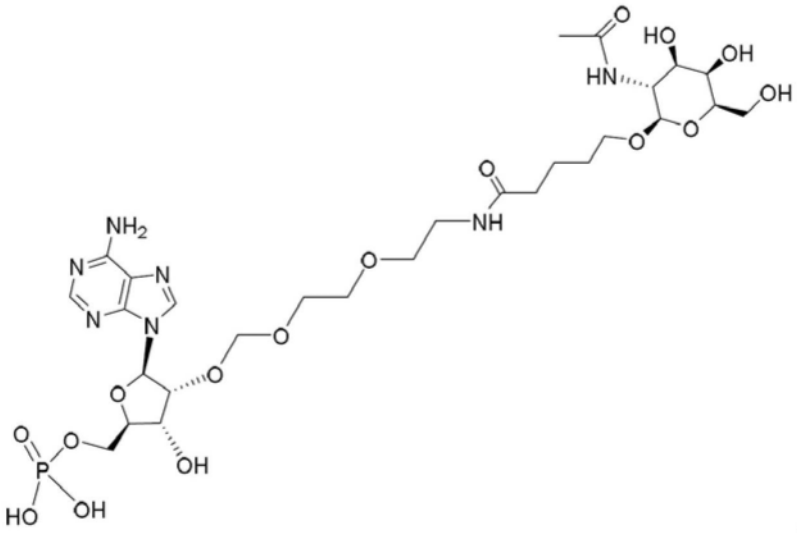


或其药学上可接受的盐。

,

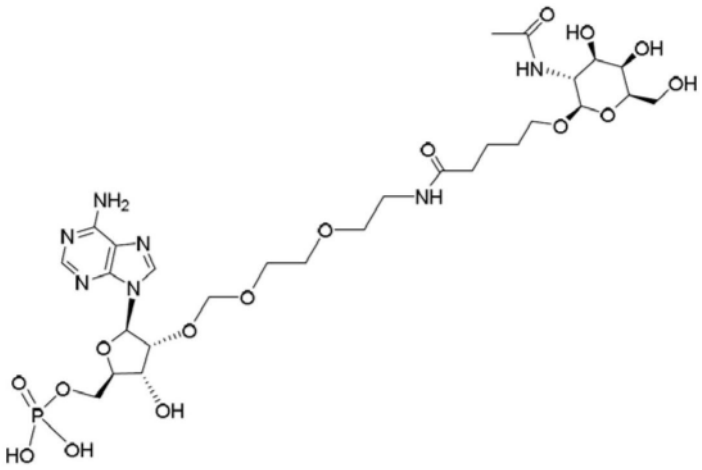
94.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5'-mU-S-mU-mU-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fG-fU-mU-mG-mA-mU-mC-mU-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-

mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3’(SEQ ID NO:782)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5’[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fA-fG-mA-fU-mC-mA-fA-mC-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mA-mA-mA-S-mG-S-mG-3’(SEQ ID NO:827)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2’-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2’F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



或其药学上可接受的盐。

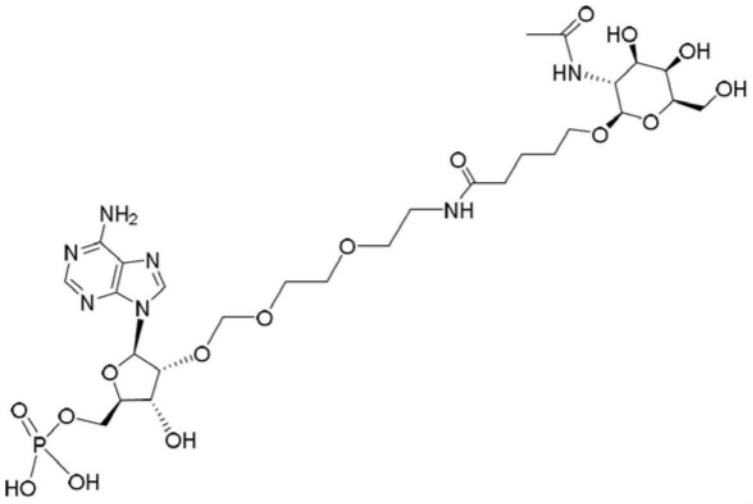
95.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5’-mG-S-mA-mA-mG-mA-mG-mA-fA-fG-fC-fA-mG-mA-mU-mC-mC-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3’(SEQ ID NO:775)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5’-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fG-mG-fA-mU-mC-fU-mG-mC-mU-fU-mC-mU-mC-mU-mU-mC-S-mG-S-mG-3’(SEQ ID NO:820)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2’-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2’F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



或其药学上可接受的盐。

96.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5’-mC-S-mA-mG-mA-mU-mG-mU-fG-fU-fC-fU-mG-mC-mU-mA-mC-mA-mG-mA-mA-mG-mC-mA-mG-

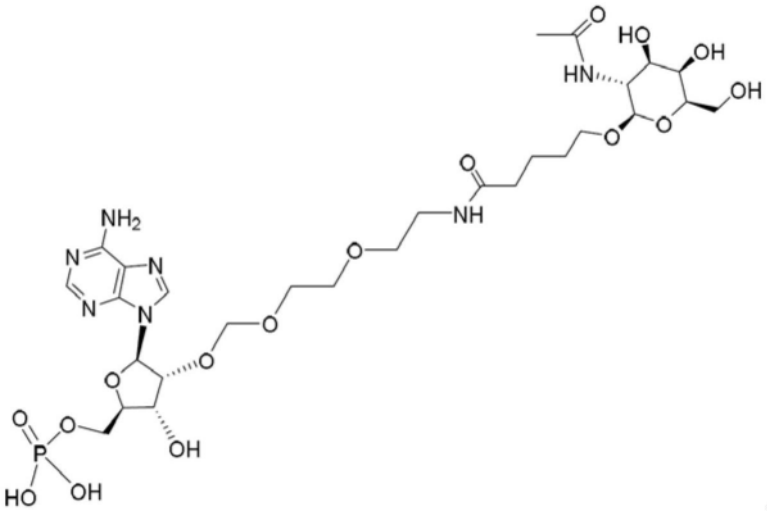
mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3’(SEQ ID NO:779)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5’-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fU-S-fC-S-fU-fG-mU-fA-mG-mC-fA-mG-mA-mC-fA-mC-mA-mU-mC-mU-mG-S-mG-S-mG-3’(SEQ ID NO:824)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2’-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2’F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



或其药学上可接受的盐。

,

97.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5’-mG-S-mA-mC-mU-mU-mU-mG-fA-fG-fA-fA-mG-mG-mU-mU-mG-mA-mU-mC-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3’(SEQ ID NO:780)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5’-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fG-S-fA-S-fU-fC-mA-fA-mC-mC-fU-mU-mC-mU-fC-mA-mA-mA-mG-mU-mC-S-mG-S-mG-3’(SEQ ID NO:825)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2’-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2’F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=

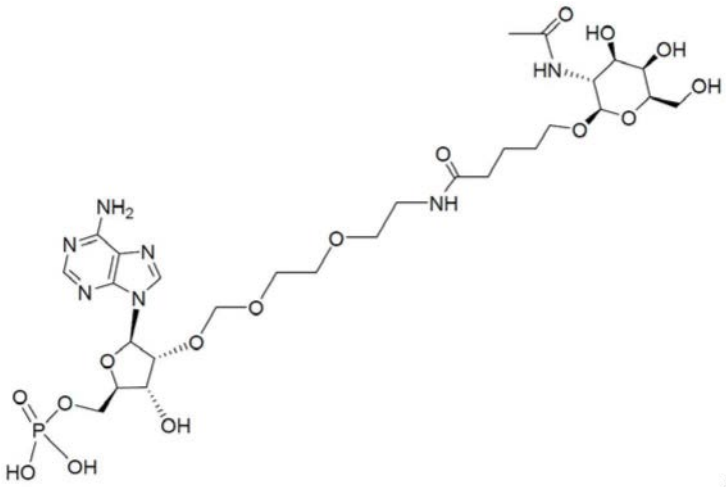


或其药学上可接受的盐。

,

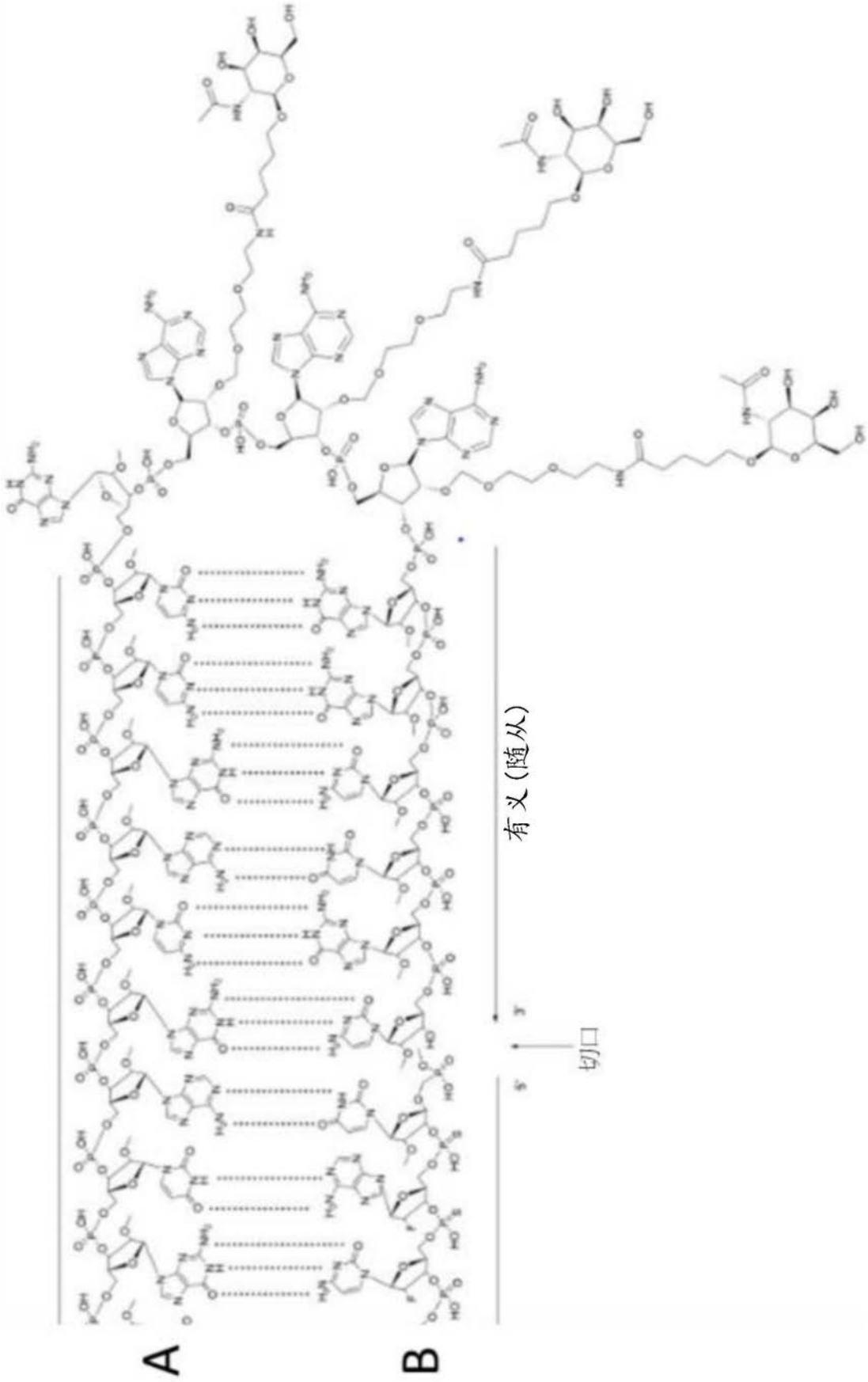
98.一种用于抑制KHK表达的双链RNAi寡核苷酸(dsRNAi),其中该dsRNAi包含有义链及反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该有义链包含5’-mU-S-mG-mU-mU-mU-mG-mU-fC-fA-fG-fC-mA-mA-mA-mG-mA-mU-mG-mU-mA-mG-mC-mA-mG-mC-mC-mG-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-[ademA-GalNAc]-mG-mG-mC-mU-mG-mC-3’

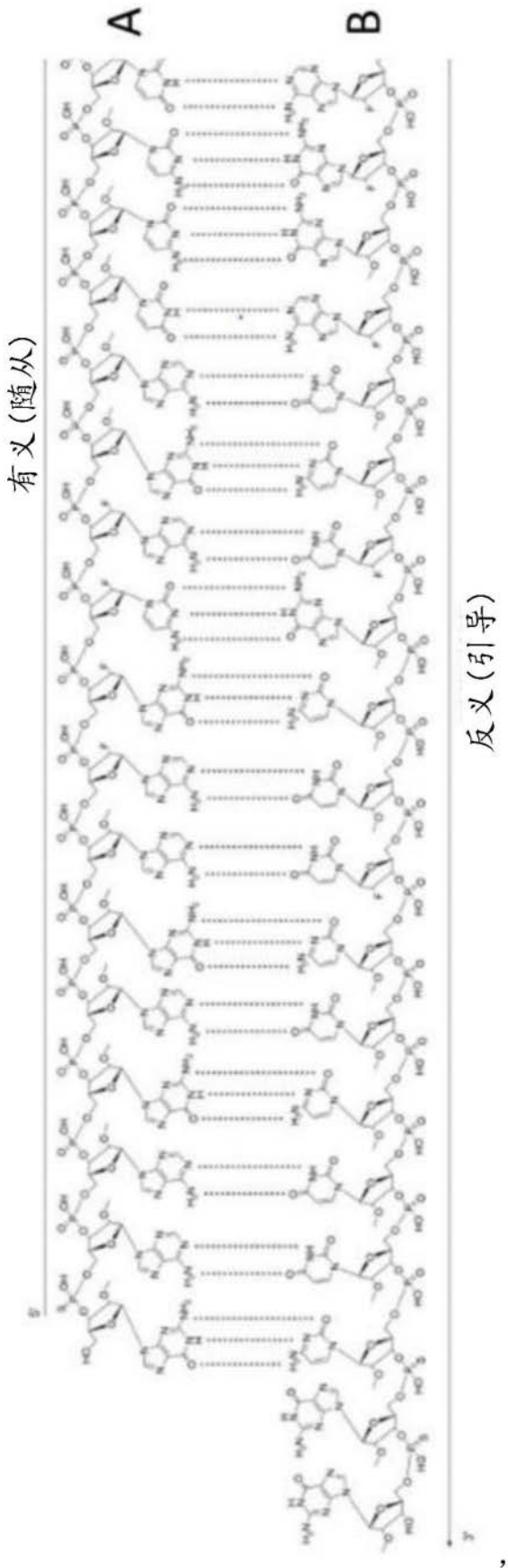
(SEQ ID NO:785)的序列及其所有修饰,且其中该反义链包含5'-[Me膦酸酯-4O-mU]-S-fA-S-fC-fA-fU-mC-fU-mU-mU-fG-mC-mU-mG-fA-mC-mA-mA-mA-mC-mA-S-mG-S-mG-3'(SEQ ID NO:830)的序列及其所有修饰,其中mC、mA、mG、mU=2'-OMe核糖核苷;fA、fC、fG、fU=2'F核糖核苷;「-」=磷酸二酯键联,「-S-」=硫代磷酸酯键联,且其中ademA-GalNAc=



或其药学上可接受的盐。

99.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:775的有义链及含有SEQ ID NO:820的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:

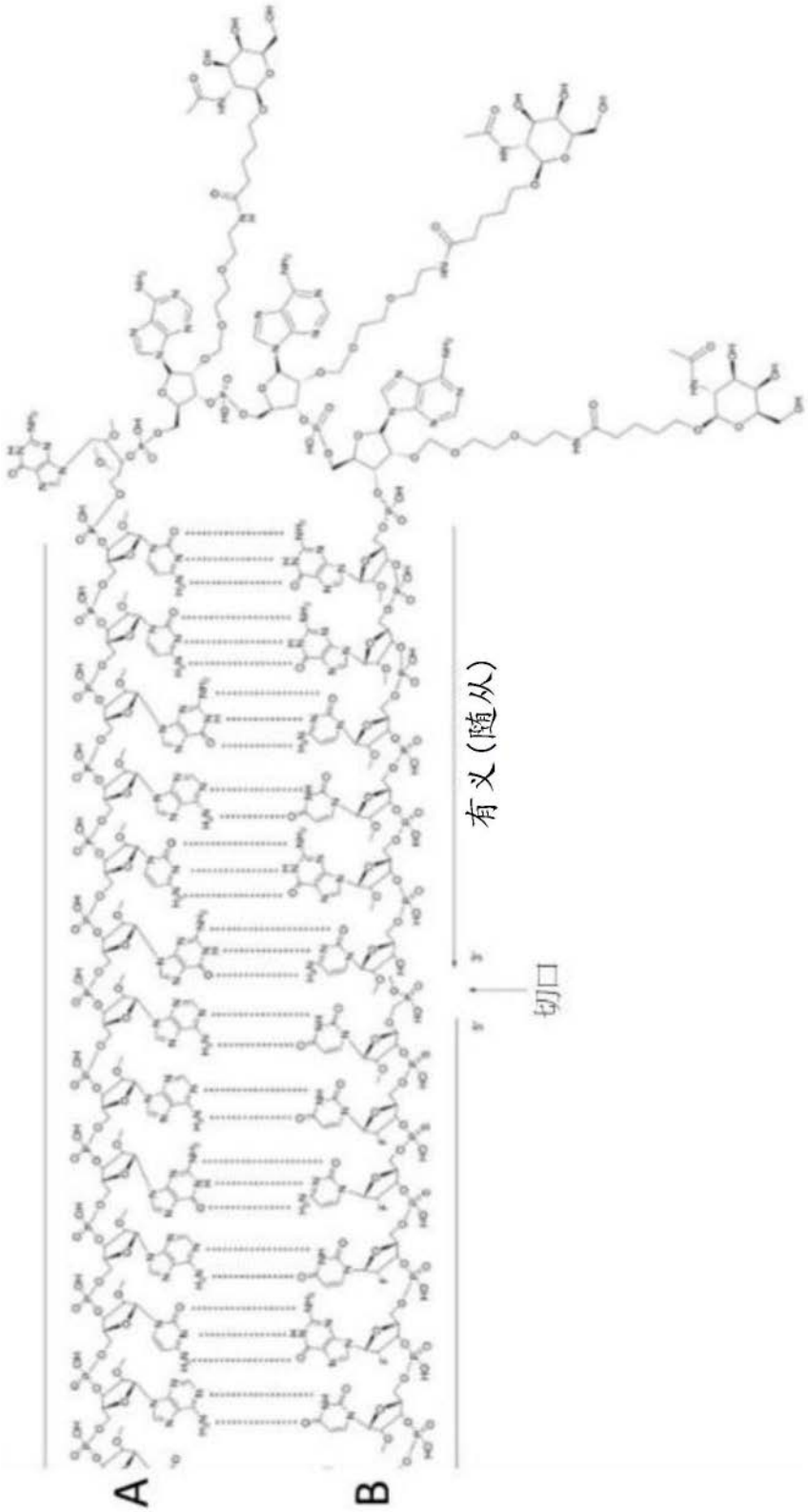

A
B
有义(随从)
切口
3'
5'

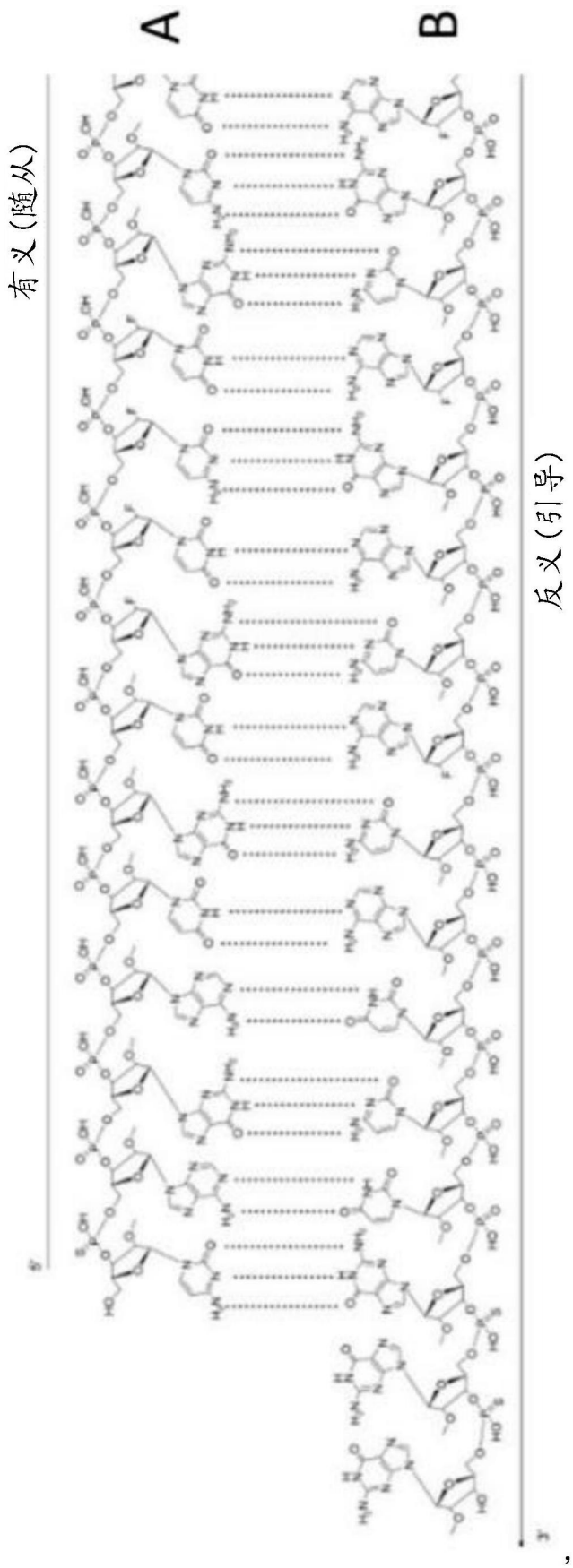



或其药学上可接受的盐。

100.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:779的有义链及含有SEQ ID NO:824的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK

mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:



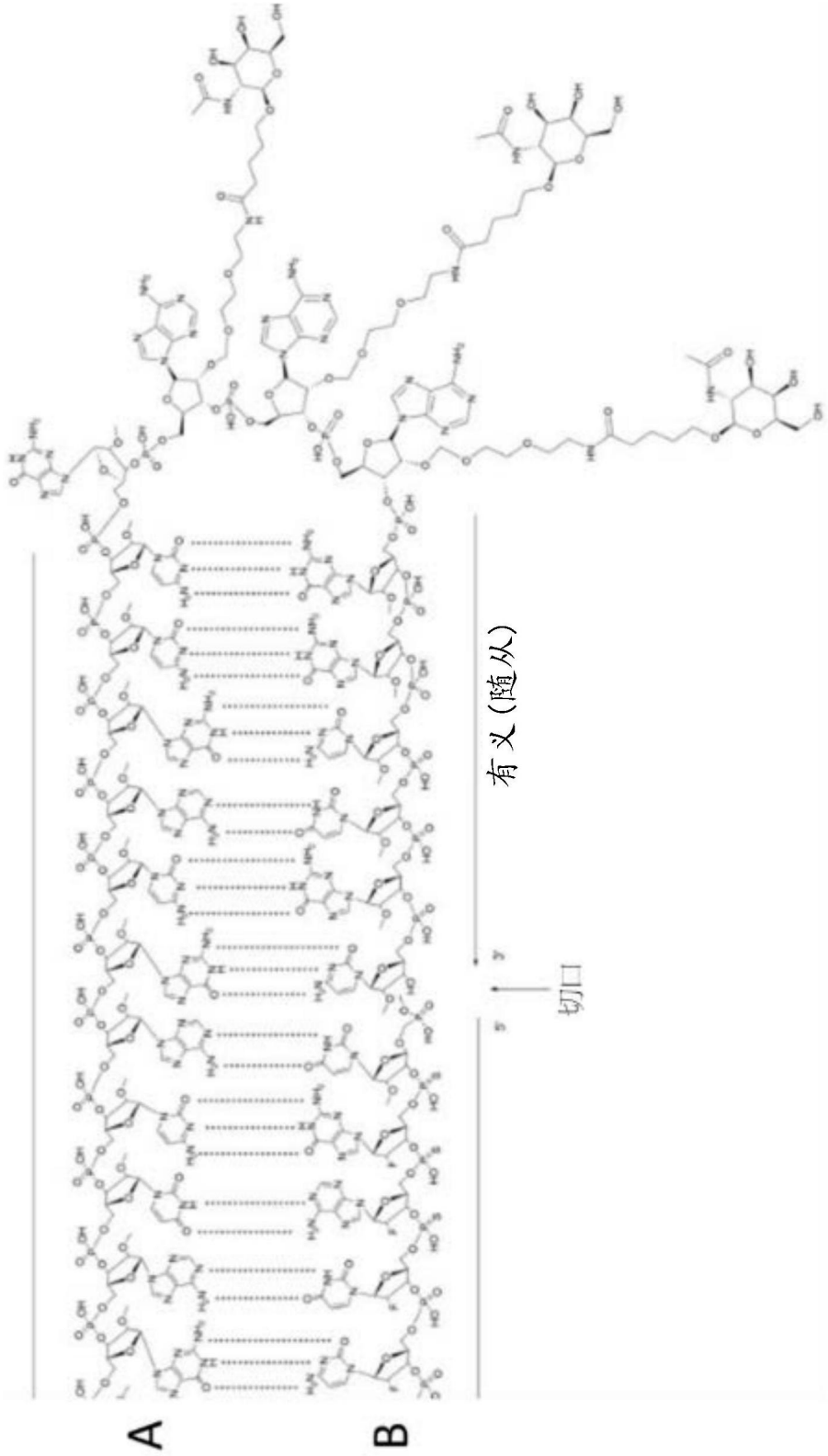


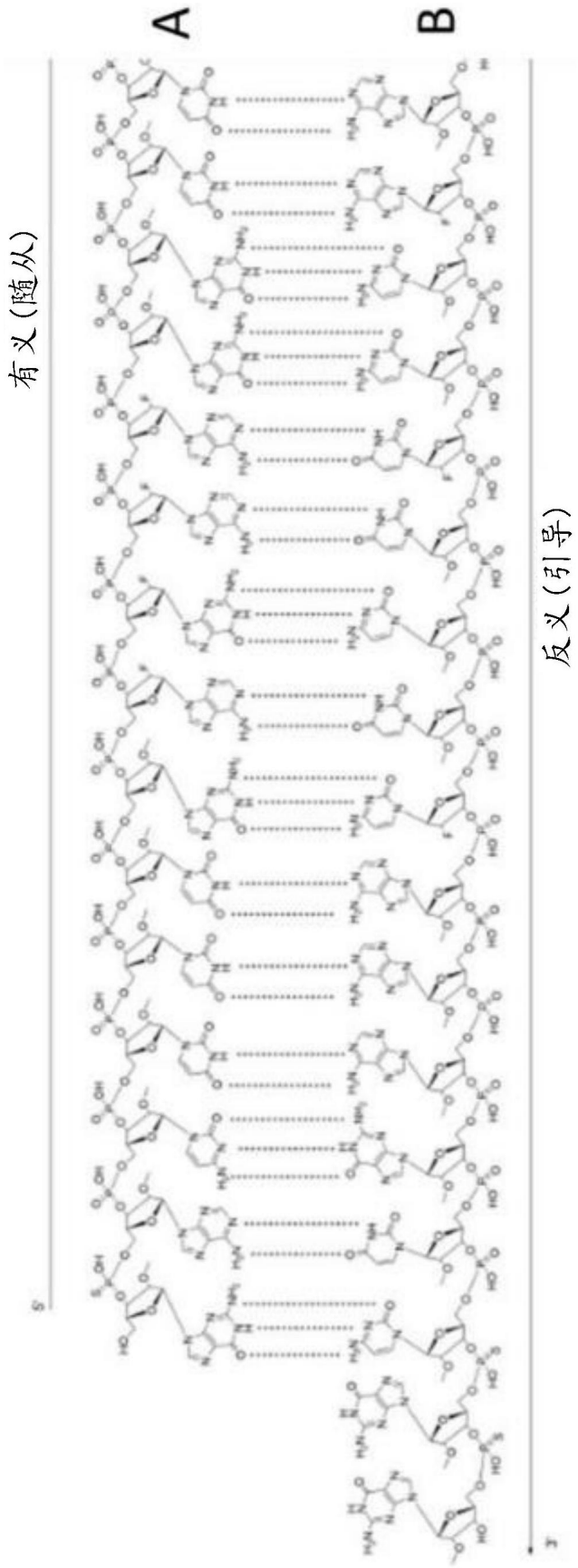

其药学上可接受的盐。

，

101.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:780的有义链及含有SEQ ID NO:825的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK

mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:



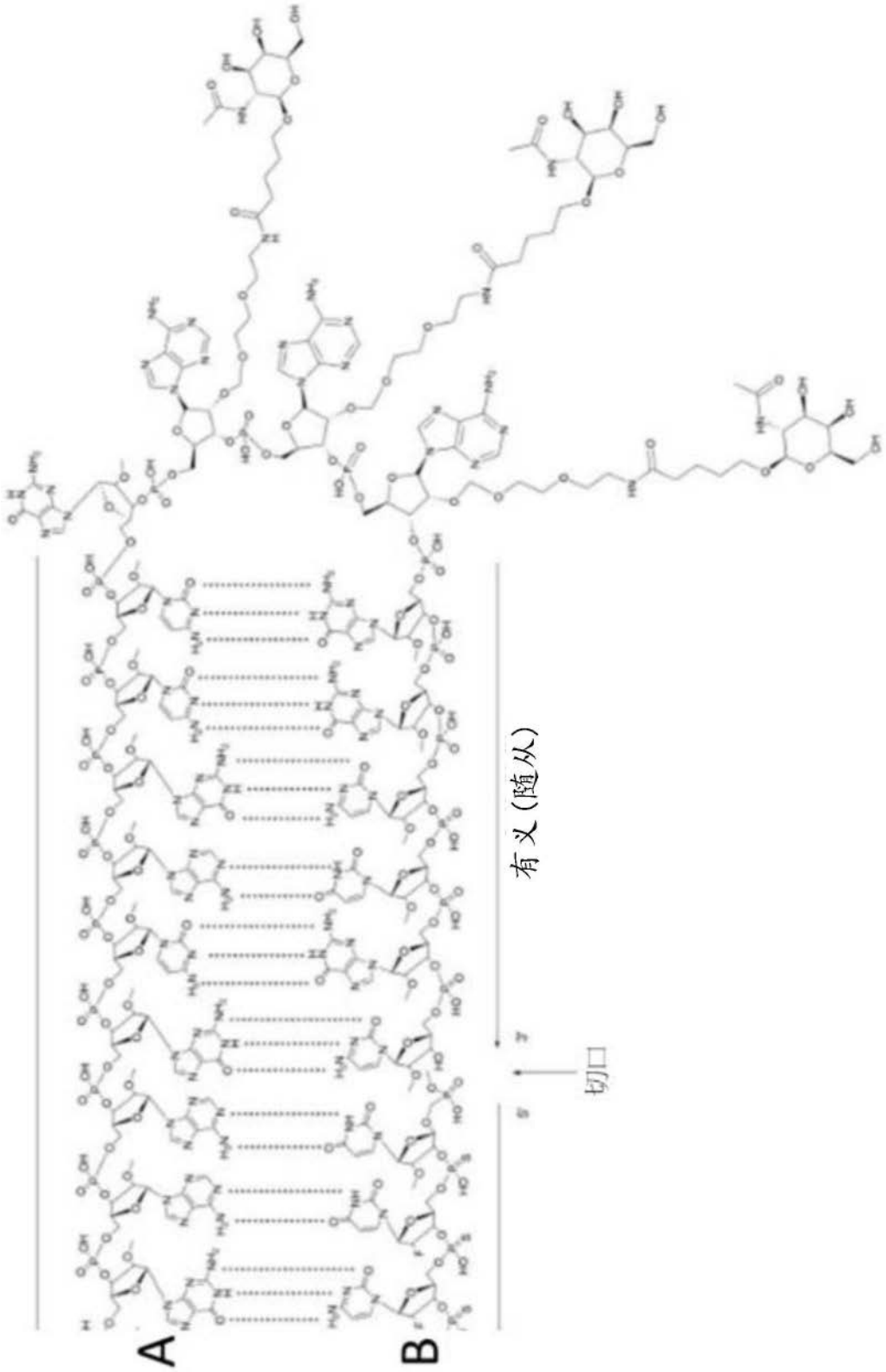


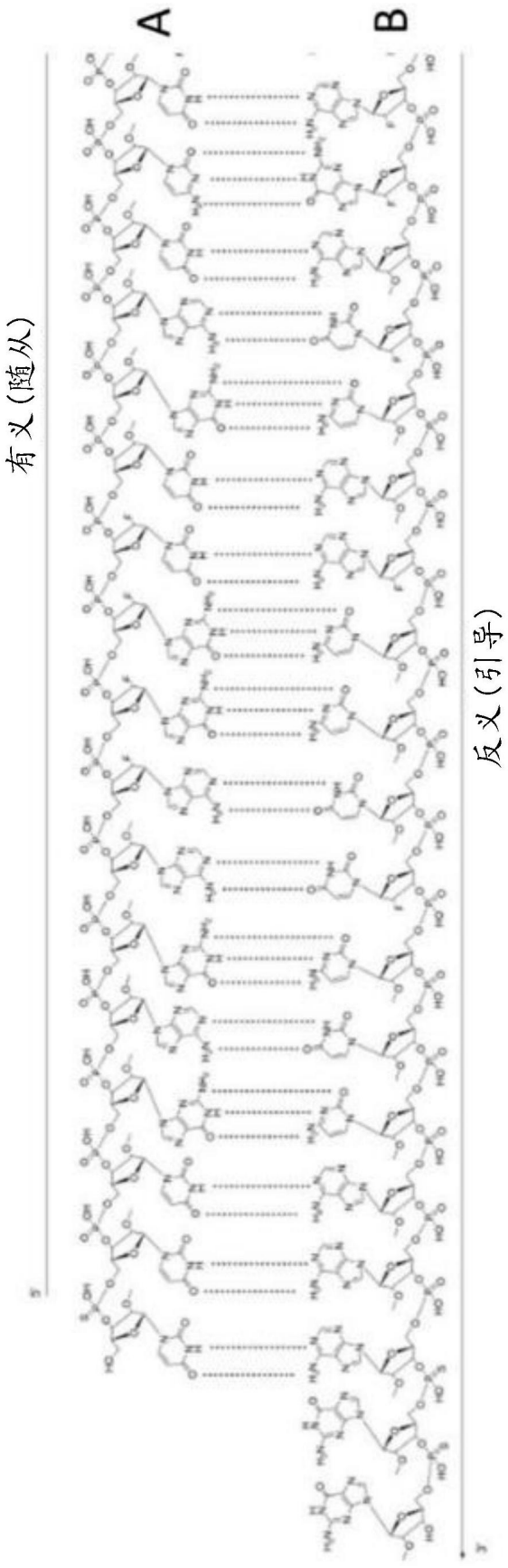

或其药学上可接受的盐。

，

102.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:782的有义链及含有SEQ ID NO:827的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK

mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:



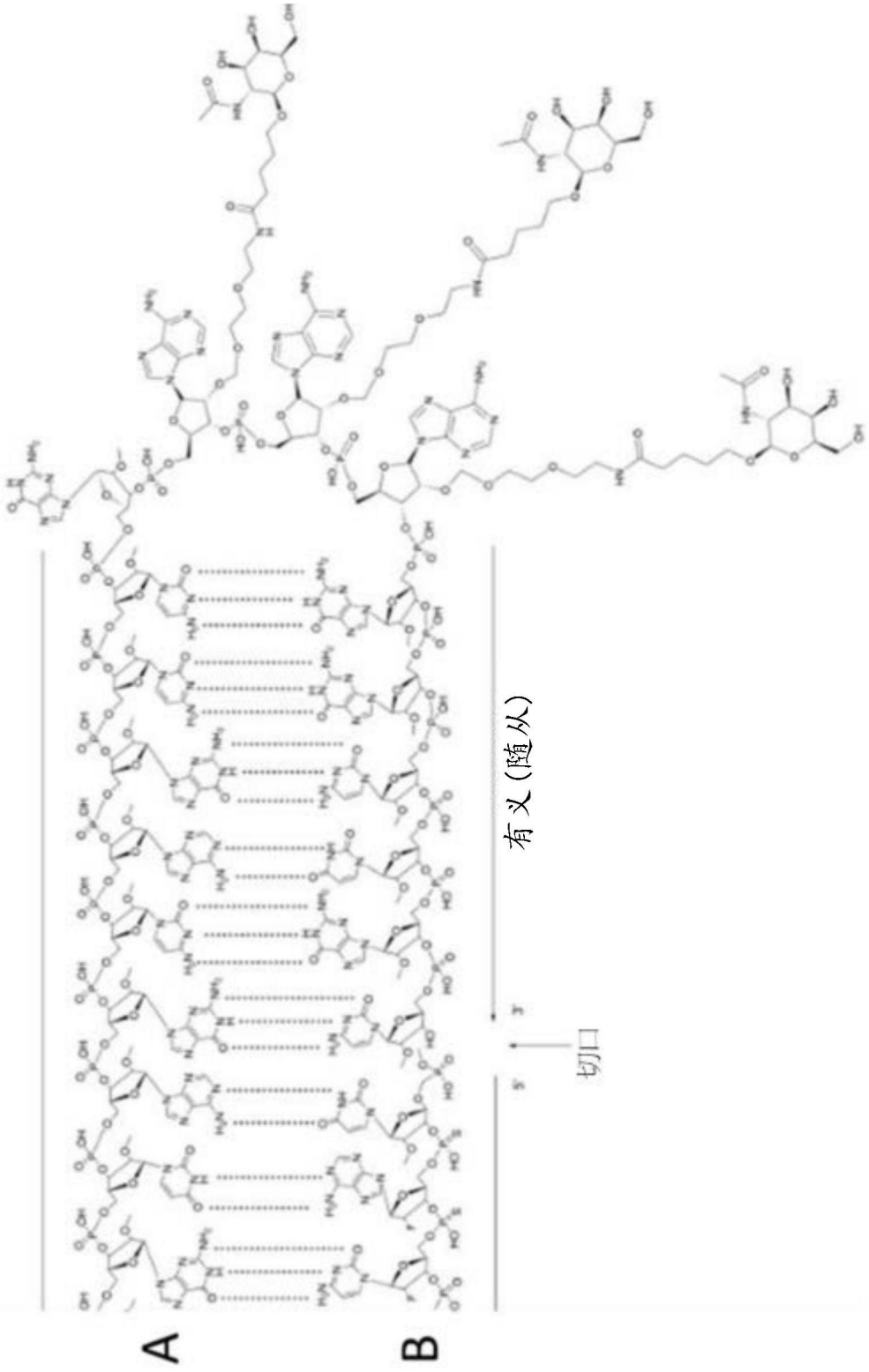


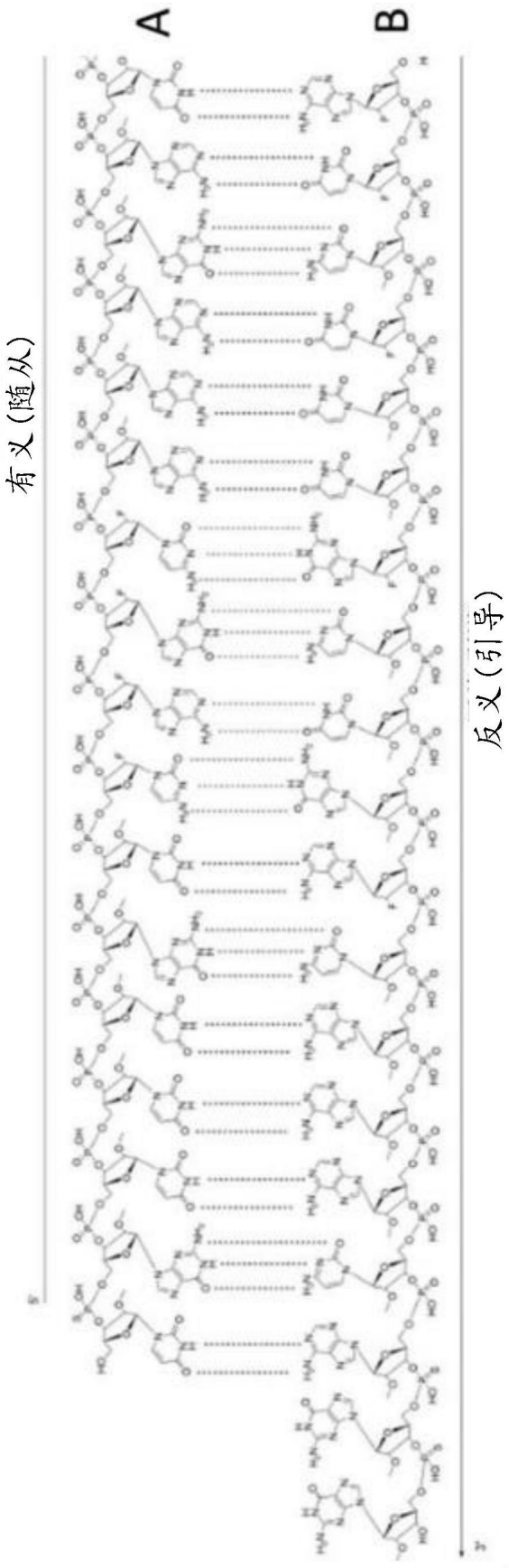

或其药学上可接受的盐。

，

103.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:785的有义链及含有SEQ ID NO:830的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK

mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:



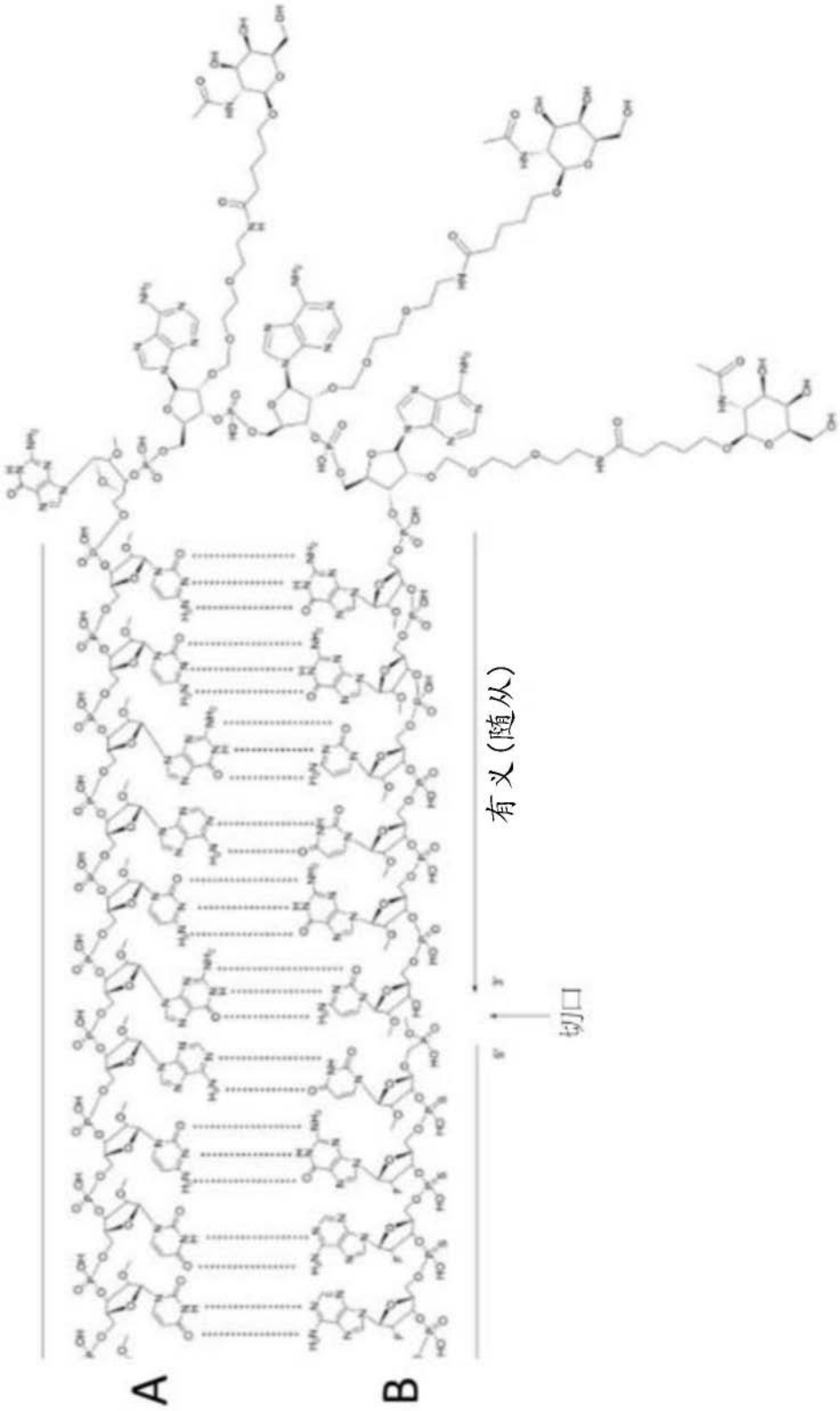


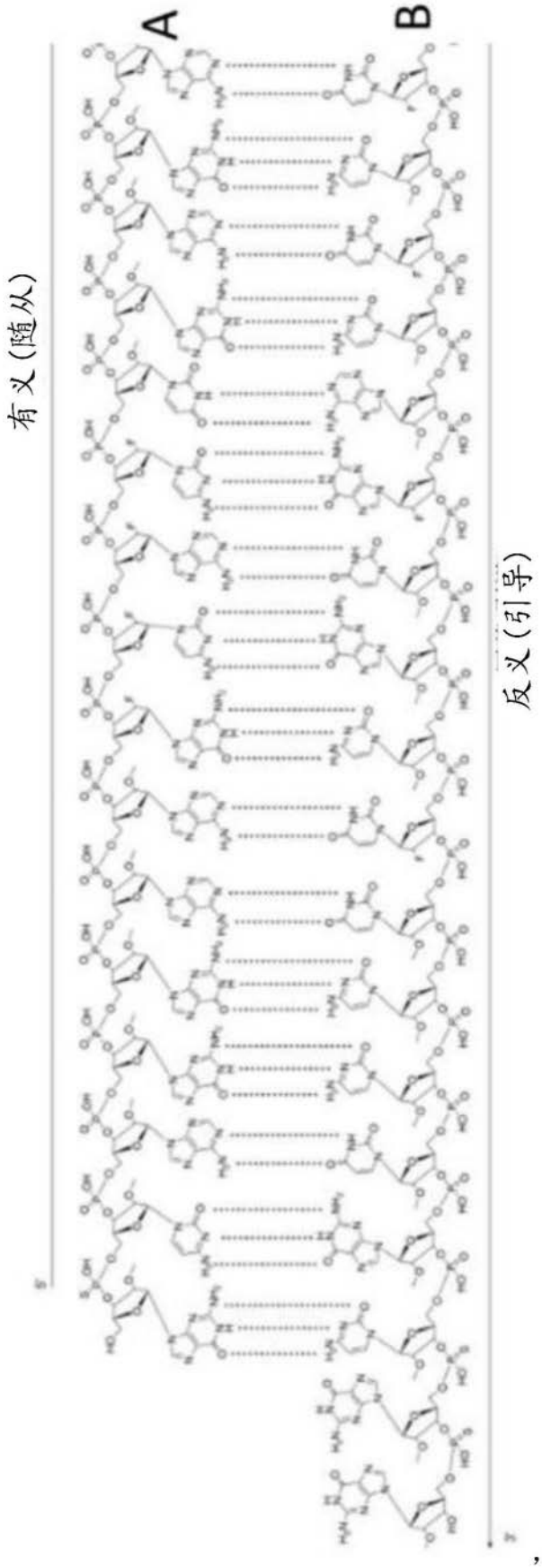

或其药学上可接受的盐。

，

104.一种用于抑制KHK表达的dsRNAi寡核苷酸,其中该dsRNAi包含含有SEQ ID NO:804的有义链及含有SEQ ID NO:849的反义链,该反义链包含KHK RNA转录物,例如KHK

mRNA的互补区域,其中该dsRNAi呈具有以下结构的结合物形式:






或其药学上可接受的盐。

105.如条项1至104中任一项的RNAi寡核苷酸,其中KHK的表达在体内降低或抑制。

106.如条项1至105中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸为Dicer底物。

107.如条项1至105中任一项的RNAi寡核苷酸,其中该寡核苷酸为Dicer底物,其在内源性Dicer加工时产生能够降低哺乳动物细胞中KHK表达的长度为19-23个核苷酸的双链核酸。

108.一种细胞,其含有如前述条项中任一项的RNAi寡核苷酸。

109.一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或其药物组合物,由此治疗该受试者。

110.一种药物组合物,其包含如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐及至少一种药学上可接受的载剂、递送剂或赋形剂。

111.一种将寡核苷酸递送至受试者的方法,该方法包含向该受试者施用如条项110的药物组合物。

112.一种用于调节,例如抑制或降低表达KHK的目标细胞中KHK表达的体外或体内方法,该方法包括向该目标细胞施用有效量的如条项110的药物组合物。

113.一种用于降低细胞、细胞群或受试者中的KHK表达的方法,该方法包括以下步骤:

i.使该细胞或该细胞群与如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或如条项110的药物组合物接触;或

ii.向该受试者施用如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或如条项110的药物组合物。

114.如条项113的方法,其中降低KHK表达包含降低KHK mRNA的量或水平、KHK蛋白质的量或水平或两者。

115.如条项111及113至114中任一项的方法,其中该受试者患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状。

116.如条项115的方法,其中该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

117.如条项109及111至116中任一项的方法,其中该RNAi寡核苷酸或药物组合物与第二组合物或治疗剂组合施用。

118.一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及该反义链包含选自由以下组成的组的核苷酸序列:

(a)分别为SEQ ID NO:886及912;

(b)分别为SEQ ID NO:887及913;

(c)分别为SEQ ID NO:910及937;

(d)分别为SEQ ID NO:888及914;

(e)分别为SEQ ID NO:889及915;

(f)分别为SEQ ID NO:890及916;

(g)分别为SEQ ID NO:891及917;

(h)分别为SEQ ID NO:877及884;

(i)分别为SEQ ID NO:878及930;

(j)分别为SEQ ID NO:876及883;

(k)分别为SEQ ID NO:875及882;

(l)分别为SEQ ID NO:892及918;

(m)分别为SEQ ID NO:893及919;

(n)分别为SEQ ID NO:894及920;

(o)分别为SEQ ID NO:904及931;

(p)分别为SEQ ID NO:895及921;

(q)分别为SEQ ID NO:905及932;

(r)分别为SEQ ID NO:896及922;

(s)分别为SEQ ID NO:911及938;

(t)分别为SEQ ID NO:906及933;

(u)分别为SEQ ID NO:897及923;

(v)分别为SEQ ID NO:907及934;

(w)分别为SEQ ID NO:908及935;

(x)分别为SEQ ID NO:903及929;

(y)分别为SEQ ID NO:901及927;

(z)分别为SEQ ID NO:874及881;

(aa)分别为SEQ ID NO:902及928;

(bb)分别为SEQ ID NO:873及880;

(cc)分别为SEQ ID NO:872及879;

(dd)分别为SEQ ID NO:898及924;(ee)分别为SEQ ID NO:899及925;

(ff)分别为SEQ ID NO:900及926;及

(gg)分别为SEQ ID NO:909及936。

119.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:909及936中所阐述的核苷酸序列。

120.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:894及920中所阐述的核苷酸序列。

121.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:897及923中所阐述的核苷酸序列。

122.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:892及918中所阐述的核苷酸序列。

123.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:891及917中所阐述的核苷酸序列。

124.如条项118的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:887及913中所阐述的核苷酸序列。

125.一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及该反义链选自由以下组成的组:

(a)分别为SEQ ID NO:774及819;

(b)分别为SEQ ID NO:775及820;
(c)分别为SEQ ID NO:776及821;
(d)分别为SEQ ID NO:777及822;
(e)分别为SEQ ID NO:778及823;
(f)分别为SEQ ID NO:779及824;
(g)分别为SEQ ID NO:780及825;
(h)分别为SEQ ID NO:781及826;
(i)分别为SEQ ID NO:782及827;
(j)分别为SEQ ID NO:783及828;
(k)分别为SEQ ID NO:784及829;
(l)分别为SEQ ID NO:785及830;
(m)分别为SEQ ID NO:786及831;
(n)分别为SEQ ID NO:787及832;
(o)分别为SEQ ID NO:788及833;
(p)分别为SEQ ID NO:789及834;
(q)分别为SEQ ID NO:790及835;
(r)分别为SEQ ID NO:791及836;
(s)分别为SEQ ID NO:792及837;
(t)分别为SEQ ID NO:793及838;
(u)分别为SEQ ID NO:794及839;
(v)分别为SEQ ID NO:795及840;
(w)分别为SEQ ID NO:796及841;
(x)分别为SEQ ID NO:797及842;
(y)分别为SEQ ID NO:798及843;
(z)分别为SEQ ID NO:799及844;
(aa)分别为SEQ ID NO:800及845;
(bb)分别为SEQ ID NO:801及846;
(cc)分别为SEQ ID NO:802及847;
(dd)分别为SEQ ID NO:803及848;及
(ee)分别为SEQ ID NO:804及849。

126.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:804及849中所阐述的核苷酸序列。

127.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:782及827中所阐述的核苷酸序列。

128.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:775及820中所阐述的核苷酸序列。

129.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:779及824中所阐述的核苷酸序列。

130.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:780及825

中所阐述的核苷酸序列。

131.如条项125的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:785及830中所阐述的核苷酸序列。

132.一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包括向该受试者施用治疗有效量的包含有义链及反义链的RNAi寡核苷酸,或其药学上可接受的盐,其中该有义链及该反义链选自由以下组成的组:

(a)分别为SEQ ID NO:805及850;

(b)分别为SEQ ID NO:806及851;

(c)分别为SEQ ID NO:807及852;

(d)分别为SEQ ID NO:808及853;

(e)分别为SEQ ID NO:809及854;

(f)分别为SEQ ID NO:810及855;

(g)分别为SEQ ID NO:811及856;

(h)分别为SEQ ID NO:812及857;

(i)分别为SEQ ID NO:813及858;

(j)分别为SEQ ID NO:814及859;

(k)分别为SEQ ID NO:815及860;

(l)分别为SEQ ID NO:816及861;

(m)分别为SEQ ID NO:817及862及;

(n)分别为SEQ ID NO:818及863。

133.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:805及850中所阐述的核苷酸序列。

134.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:809及854中所阐述的核苷酸序列。

135.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:810及855中所阐述的核苷酸序列。

136.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:812及857中所阐述的核苷酸序列。

137.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:815及860中所阐述的核苷酸序列。

138.如条项132的方法,其中该有义链及该反义链分别包含SEQ ID NO:818及863中所阐述的核苷酸序列。

139.如条项118至138中任一项的方法,其中该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

140.如条项109、111及113至132中任一项的方法,其中该dsRNAi以0.01mg/kg-5mg/kg该受试者体重的浓度施用。

141.如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或如条项110的药物组合物在制备用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)的药物中的用途。

142.如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸或如条项110的药物组合物,其供在或可调适供在治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)中使用。

143.一种套组,其包含如条项1至107中任一项的RNAi寡核苷酸、任选的药学上可接受的载剂及包含用于向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用的说明书的包装插页。

144.如条项141的用途,如条项142的供使用或可调适供使用的RNAi寡核苷酸或药物组合物,或如条项143的套组,其中与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肝炎(NASH)。

145.一种用于降低KHK表达的寡核苷酸,该寡核苷酸包含长度为15至50个核苷酸的核苷酸序列,其中该核苷酸序列包含与SEQ ID NO:4-387中的任一者的KHK mRNA目标序列的互补区域,且其中该互补区域为至少15个连续核苷酸。

146.如条项145的寡核苷酸,其中该寡核苷酸为单链的。

147.如条项145或146的寡核苷酸,其中该寡核苷酸为反义寡核苷酸。

148.如条项145至147中任一项的寡核苷酸,其中核苷酸序列的长度为15-30个核苷酸。

149.如条项145至148中任一项的寡核苷酸,其中核苷酸序列的长度为20-25个核苷酸。

150.如条项145至149中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列的长度为22个核苷酸。

151.如条项145至150中任一项的寡核苷酸,其中该互补区域长度为19个连续核苷酸。

152.如条项145至150中任一项的寡核苷酸,其中该互补区域长度为20个连续核苷酸。

153.如条项145至152中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含至少一个修饰。

154.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含选自由SEQ ID NO:879-884及912-938组成的组的核苷酸序列。

155.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:909中所阐述的核苷酸序列。

156.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:894中所阐述的核苷酸序列。

157.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:897中所阐述的核苷酸序列。

158.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:892中所阐述的核苷酸序列。

159.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:891中所阐述的核苷酸序列。

160.如条项145至153中任一项的寡核苷酸,其中该核苷酸序列包含SEQ ID NO:

887中所阐述的核苷酸序列。

161.一种细胞,其包含如条项145至160中任一项的寡核苷酸。

162.一种药物组合物,其包含如条项145至160中任一项的寡核苷酸或其药学上可接受的盐,及至少一种药学上可接受的载剂、递送剂或赋形剂。

163.一种用于治疗患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者的方法,该方法包含向该受试者施用治疗有效量的如条项145至160中任一项的寡核苷酸或如条项162的药物组合物。

164.一种将寡核苷酸递送至受试者的方法,该方法包括向该受试者施用如条项162的药物组合物。

165.一种用于降低细胞、细胞群或受试者中的KHK表达的方法,该方法包括以下步骤:

i.使该细胞或该细胞群与如条项145至160中任一项的寡核苷酸或如条项162的药物组合物接触;或

ii.向该受试者施用如条项145至160中任一项的寡核苷酸或如条项162的药物组合物。

166.如条项165的方法,其中降低KHK表达包含降低KHK mRNA的量或水平、KHK蛋白质的量或水平或两者。

167.如条项164至166中任一项的方法,其中该受试者患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状。

168.如条项167的方法,其中该与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪炎(NASH)。

169.如条项163至168中任一项的方法,其中该寡核苷酸或药物组合物与第二组合物或治疗剂组合施用。

170.如条项145至160中任一项的寡核苷酸或如条项161的药物组合物在制备用于治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪炎(NASH)的药物中的用途。

171.如条项145至160中任一项的寡核苷酸或如条项161的药物组合物,其供在或可调适供在治疗与KHK表达相关的疾病、病症或病状,任选地用于治疗非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪炎(NASH)中使用。

172.一种套组,其包含如条项145至160中任一项的寡核苷酸、任选的药学上可接受的载剂及包含用于向患有与KHK表达相关的疾病、病症或病状的受试者施用的说明书的包装插页。

173.如条项170的用途,如条项171的供使用或可调适供使用的RNAi寡核苷酸或药物组合物,或如条项172的套组,其中与KHK表达相关的疾病、病症或病状为非酒精性脂肪肝病(NAFLD)及非酒精性脂肪炎(NASH)。

174.一种用于抑制KHK表达的双链核糖核酸(dsRNA)剂,其中该dsRNA剂包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:4-387的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:388-771的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

175.一种用于抑制KHK表达的双链核糖核酸(dsRNA)剂,其中该dsRNA剂包含形成双螺旋区的有义链及反义链,其中该有义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:872-878及886-911的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸且该反义链包含至少15个与选自SEQ ID NO:879-884及912-938的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的连续核苷酸,或其药学上可接受的盐。

176.一种药物组合物,其包含如条项174或175的dsRNA剂及药学上可接受的稀释剂、溶剂、载剂、盐及/或佐剂。

177.一种用于抑制或降低表达KHK的目标细胞中KHK表达的体外或体内方法,该方法包括向该目标细胞施用有效量的如条项176的药物组合物。

178.一种用于治疗或预防与KHK表达相关的疾病的方法,其包括向罹患或易患该疾病的受试者施用治疗或预防有效量的如条项176的药物组合物。

179.如条项109及113至140中任一项的方法,其中施用单剂量的如条项1至107中任一项的一或多种RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐,或如条项110、162或176中任一项的药物组合物使得与施用该一或多种RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或该药物组合物之前的KHK表达相比及/或当与未接受该一或多种RNAi寡核苷酸或其药学上可接受的盐或药物组合物或接受一或多种对照寡核苷酸、药物组合物或治疗的受试者中的KHK表达相比时,受试者中KHK mRNA及/或KHK蛋白的量或水平降低,且其中该降低在单剂量施用后的第28日、第56日及/或第84日仍然可检测到。

180.如第179项的方法,其中KHK mRNA及/或KHK蛋白的量或水平降低至少约30%、至少约50%或至少约70%。

181.如条项179至180中任一项的方法,其中该剂量是皮下施用的。

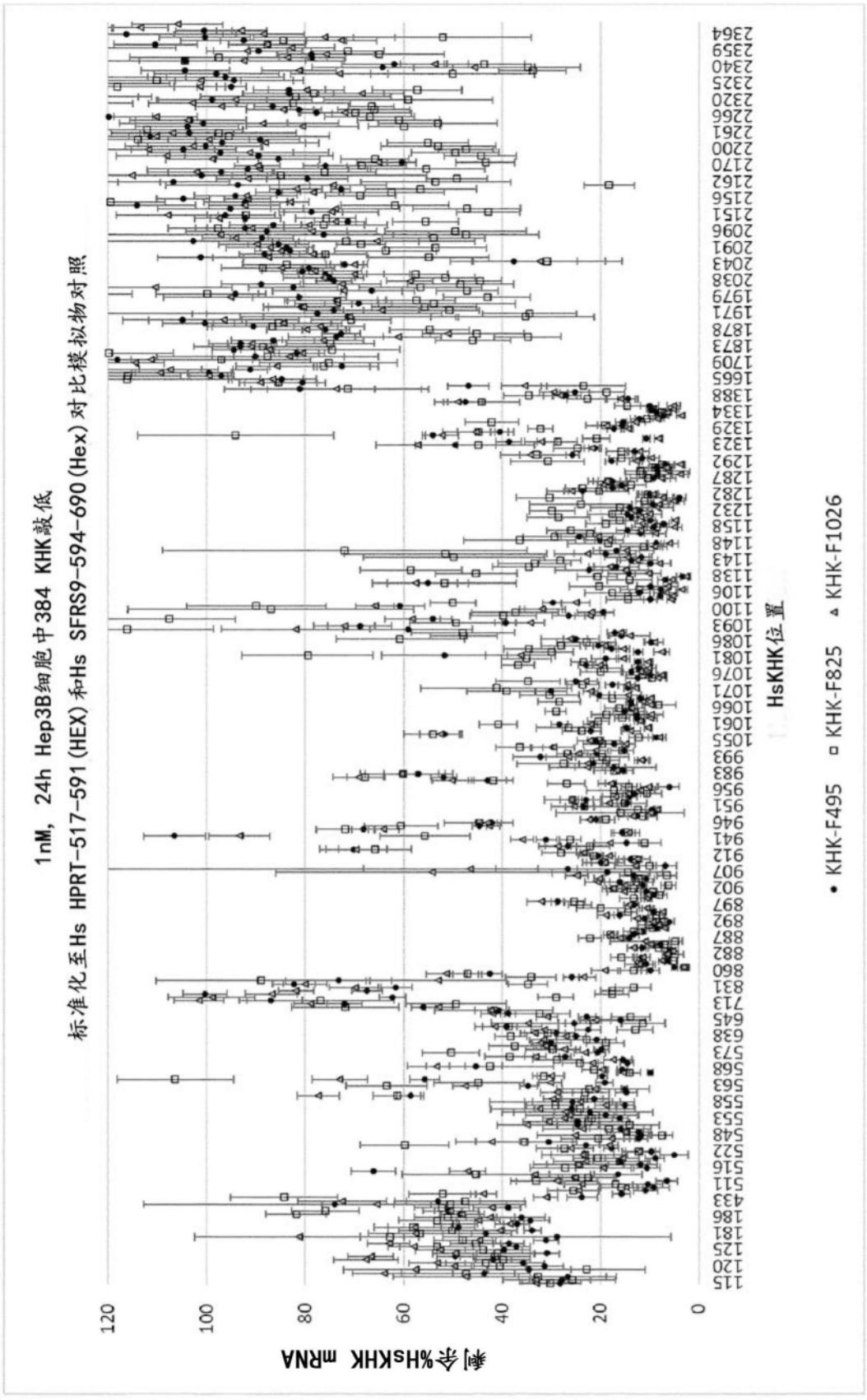

1nM, 24h Hep3B细胞中384 KHK敲低
标准化至Hs HPRT-517-591 (HEX) 和Hs SFRS9-594-690 (Hex) 对比模拟物对照
剩余%HsKHK mRNA
HsKHK位置
• KHK-F495 □ KHK-F825 ▲ KHK-F1026

图1

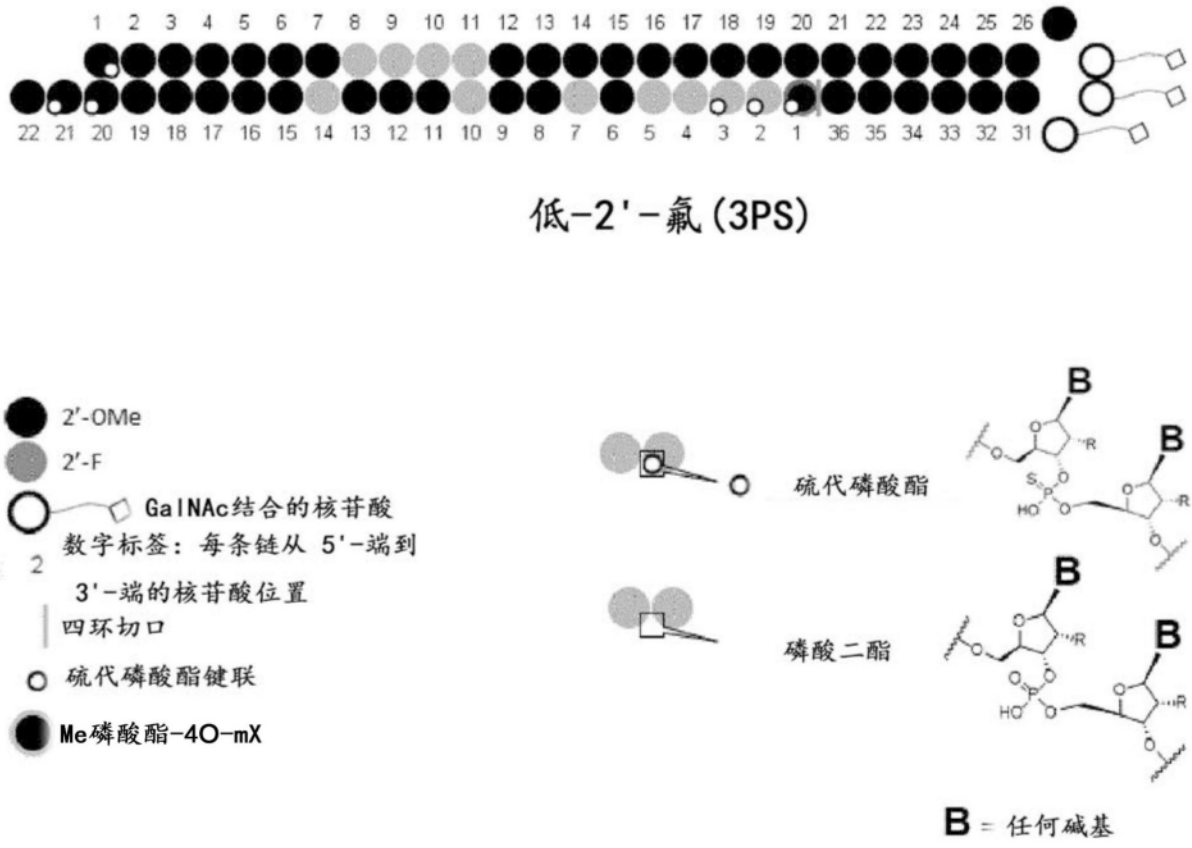

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 36 35 34 33 32 31
低-2'-氟(3PS)
2'-OMe
2'-F
GalNAc结合的核苷酸
数字标签：每条链从 5'-端到
1 2
3'-端的核苷酸位置
四环切口
硫代磷酸酯键联
Me磷酸酯-4O-mX
硫代磷酸酯
磷酸二酯
B
B
B
B
B = 任何碱基

图2A

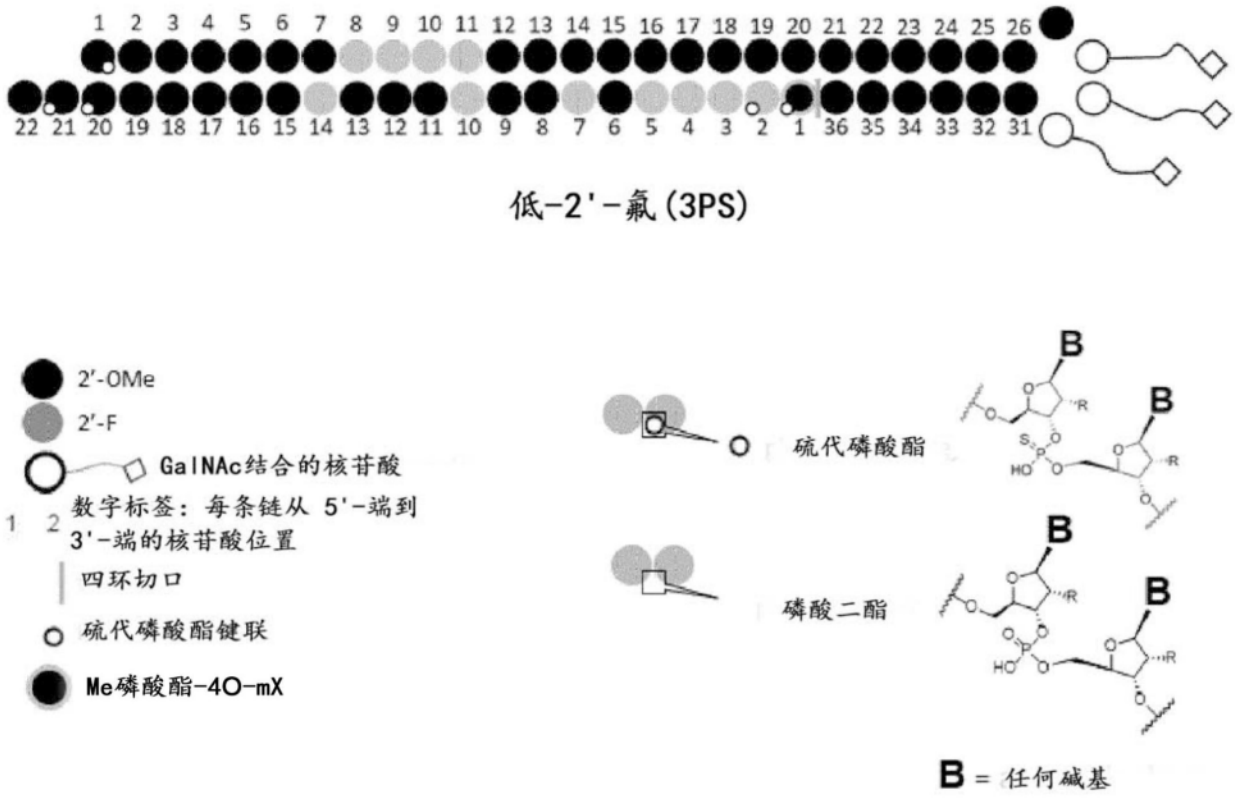

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 36 35 34 33 32 31
低-2'-氟(3PS)
2'-OMe
2'-F
GalNAc结合的核苷酸
1 2 数字标签：每条链从 5'-端到3'-端的核苷酸位置
四环切口
硫代磷酸酯键联
Me磷酸酯-4O-mX
硫代磷酸酯
磷酸二酯
B
R
S
P
O
HO
B = 任何碱基

图2B

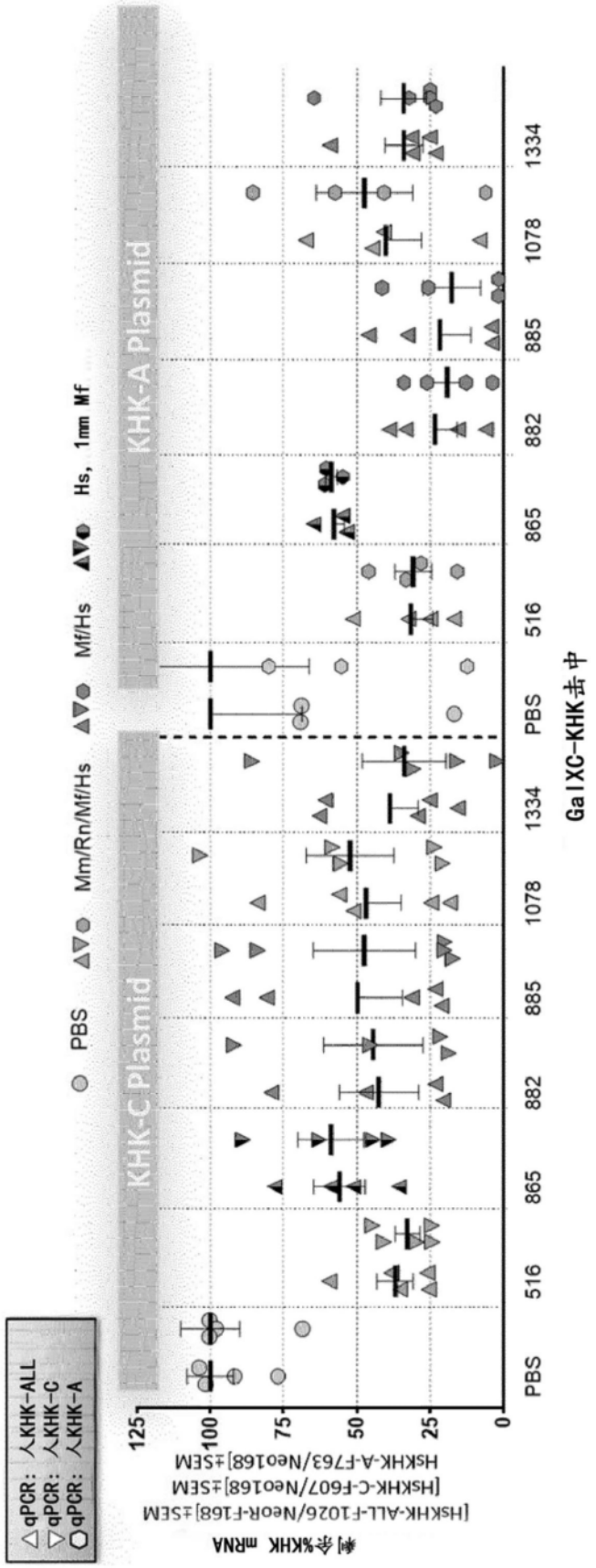

△qPCR：人KHK-ALL
▽qPCR：人KHK-C
○qPCR：人KHK-A
PBS
Mm/Rn/Mf/Hs
Mf/Hs
Hs，1mm Mf
KHK-C Plasmid
KHK-A Plasmid
PBS
516
865
882
885
1078
1334
PBS
516
865
882
885
1078
1334
Gal XC-KHK击中
125
100
75
50
25
0
剩余%KHK mRNA
[hSKHK-ALL-F1026/NeoR-F168]±SEM
[hSKHK-C-F607/Neo168]±SEM
hSKHK-A-F763/Neo168]±SEM

图3

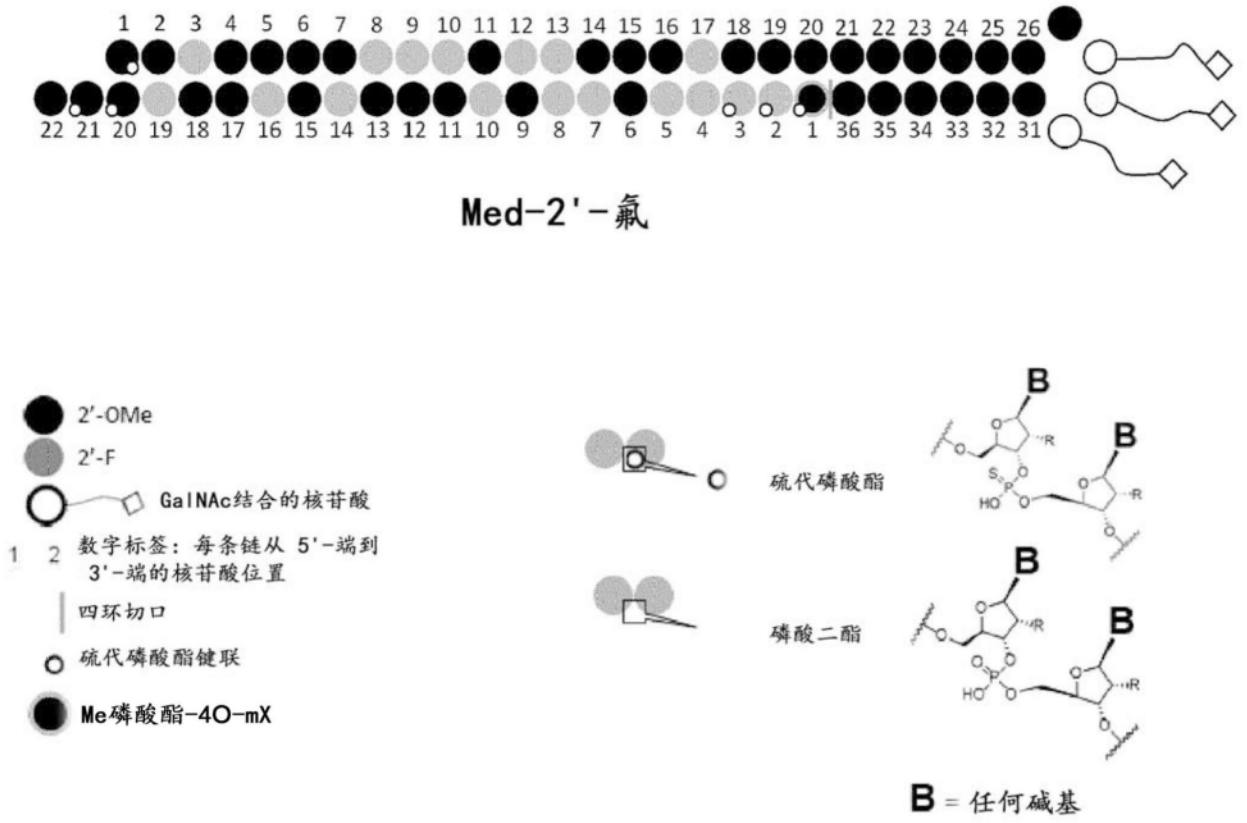

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5 4 3 2 1 36 35 34 33 32 31
Med-2'-氟
2'-OMe
2'-F
GalNAc结合的核苷酸
1 2 数字标签：每条链从 5'-端到 3'-端的核苷酸位置
四环切口
硫代磷酸酯键联
Me磷酸酯-4O-mX
硫代磷酸酯
磷酸二酯
B
B
B
B
B = 任何碱基

图4A

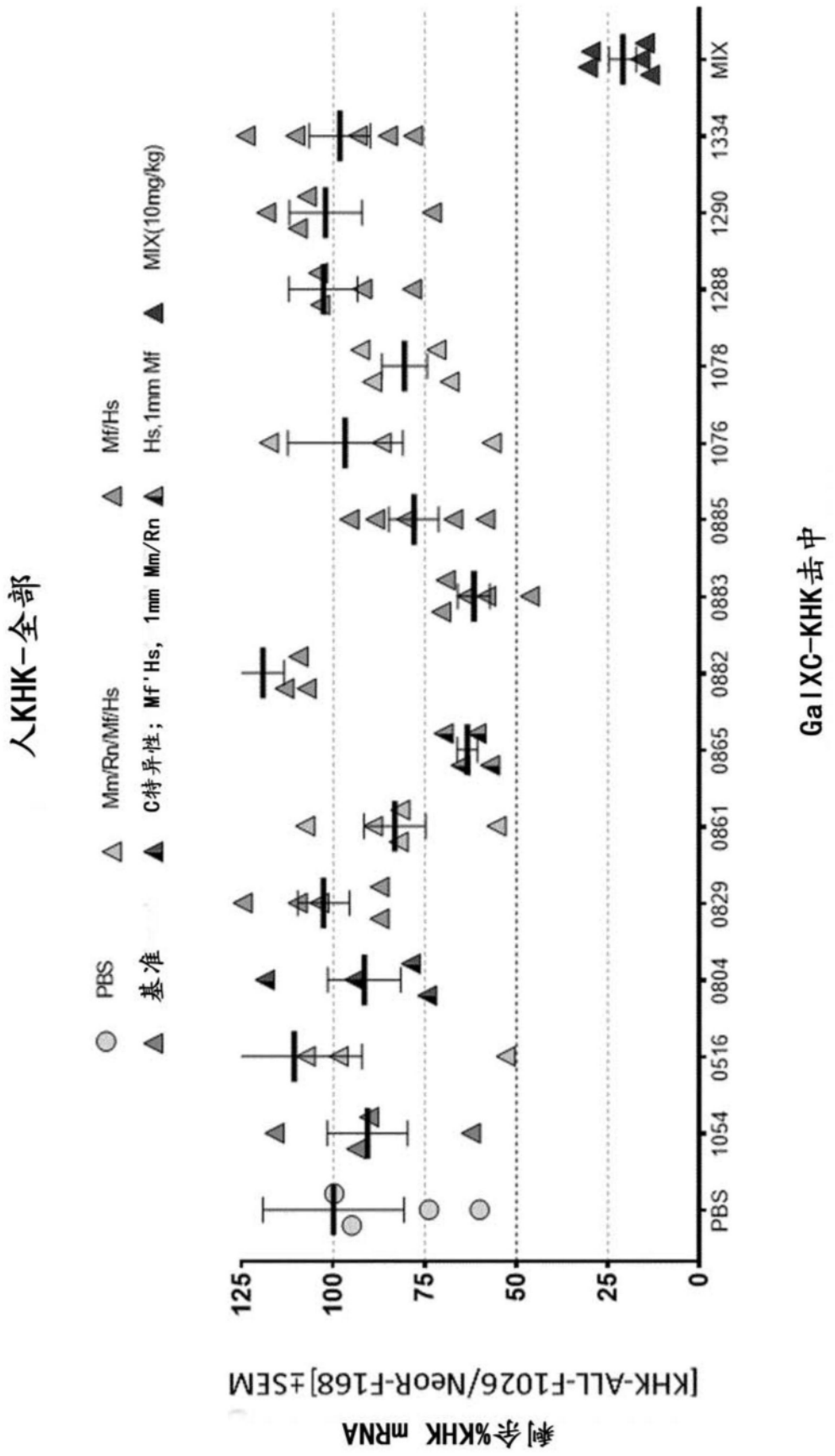

人KHK-全部
PBS
基准
Mm/Rn/Mf/Hs
C特异性；Mf'Hs，1mm Mm/Rn
Mf/Hs
Hs,1mm Mf
MIX(10mg/kg)
剩余%KHK mRNA
[KHK-ALL-F1026/NeoR-F168]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0516
0804
0829
0861
0865
0882
0883
0885
1076
1078
1288
1290
1334
MIX
GalXC-KHK去中

图4B

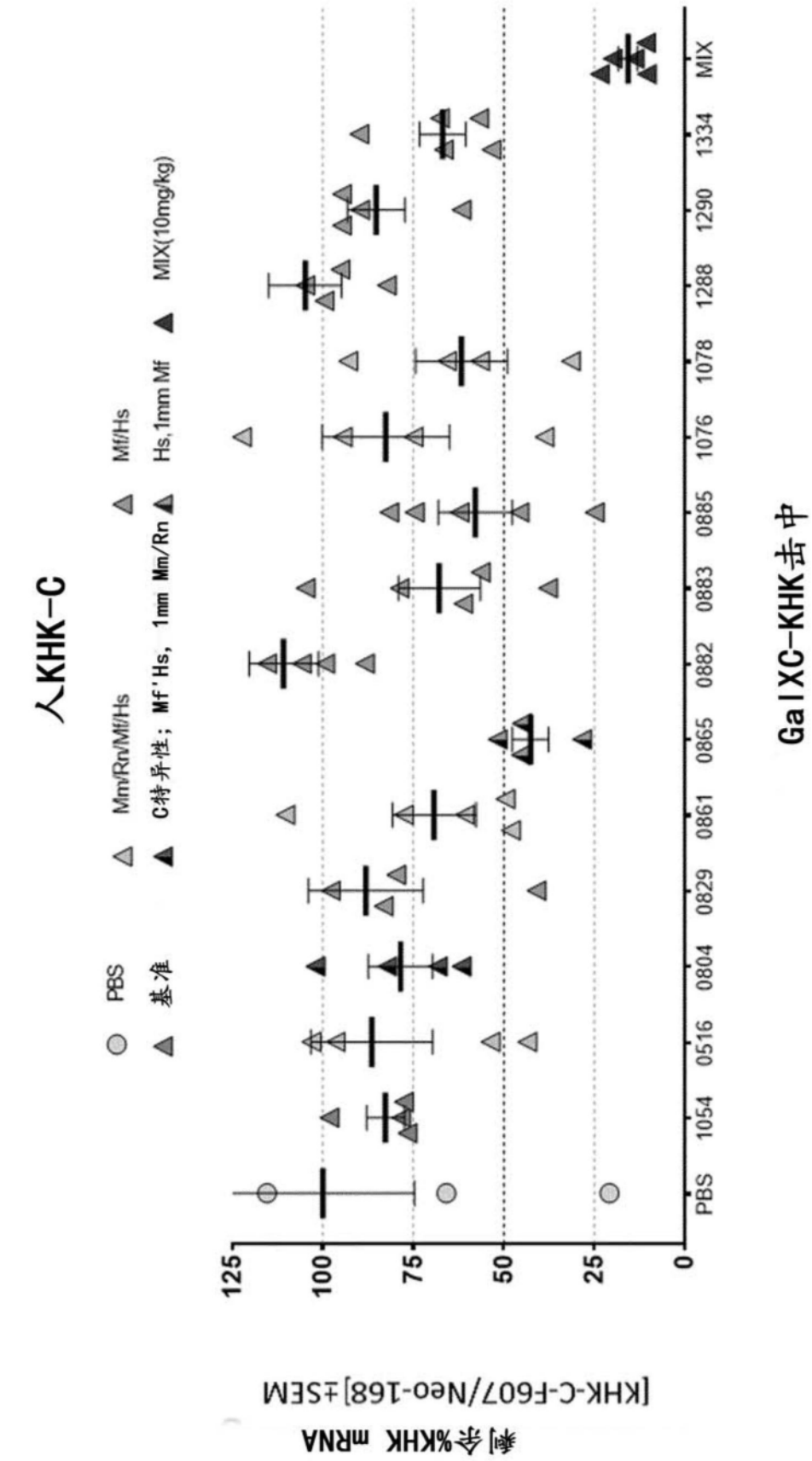

人KHK-C
PBS
Mm/Rn/Mf/Hs
Mf/Hs
基准
C特异性；Mf'Hs，1mm Mm/Rn
Hs,1mm Mf
MIX(10mg/kg)
剩余%KHK mRNA
[KHK-C-F607/Neo-168]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0516
0804
0829
0861
0865
0882
0883
0885
1076
1078
1288
1290
1334
MIX
Ga I XC-KHK击中

图4C

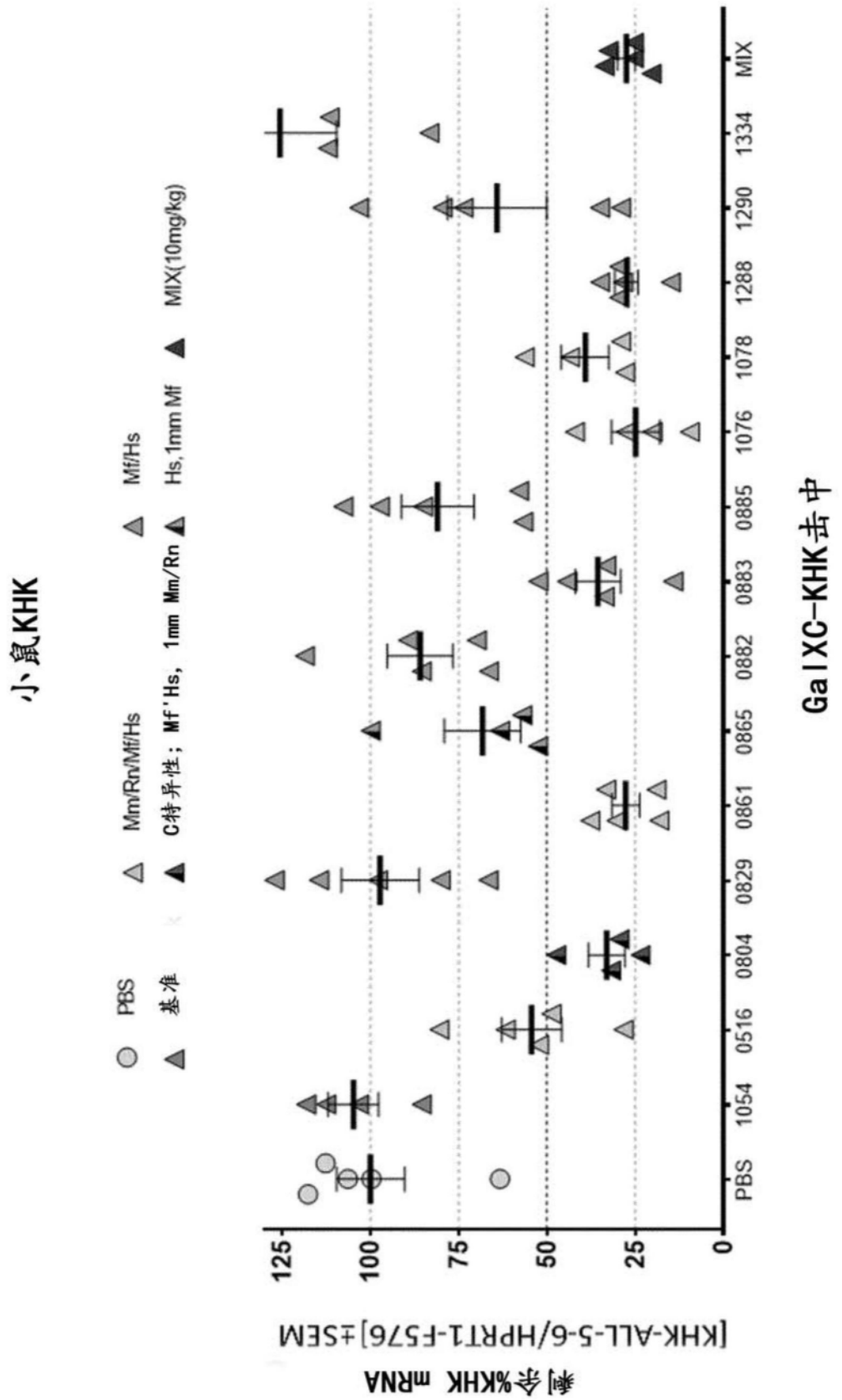

小鼠KHK
PBS
基准
Mm/Rn/Mf/Hs
C特异性；Mf'Hs，1mm Mm/Rn
Mf/Hs
Hs,1mm Mf
MIX(10mg/kg)
剩余%KHK mRNA
[KHK-ALL-5-6/HPRT1-F576]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0516
0804
0829
0861
0865
0882
0883
0885
1076
1078
1288
1290
1334
MIX
Gal XC-KHK去中

图4D

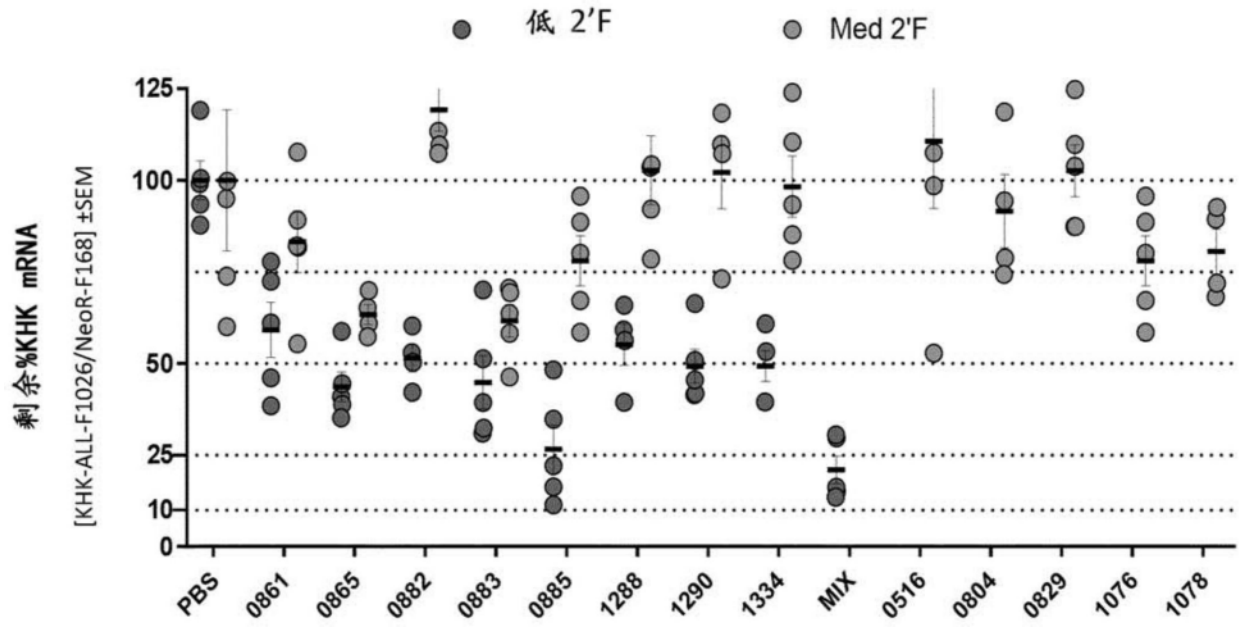

低 2'F
Med 2'F
剩余%KHK mRNA
[KHK-ALL-F1026/NeoR-F168] ±SEM
125
100
50
25
10
0
PBS
0861
0865
0882
0883
0885
1288
1290
1334
MIX
0516
0804
0829
1076
1078

图4E

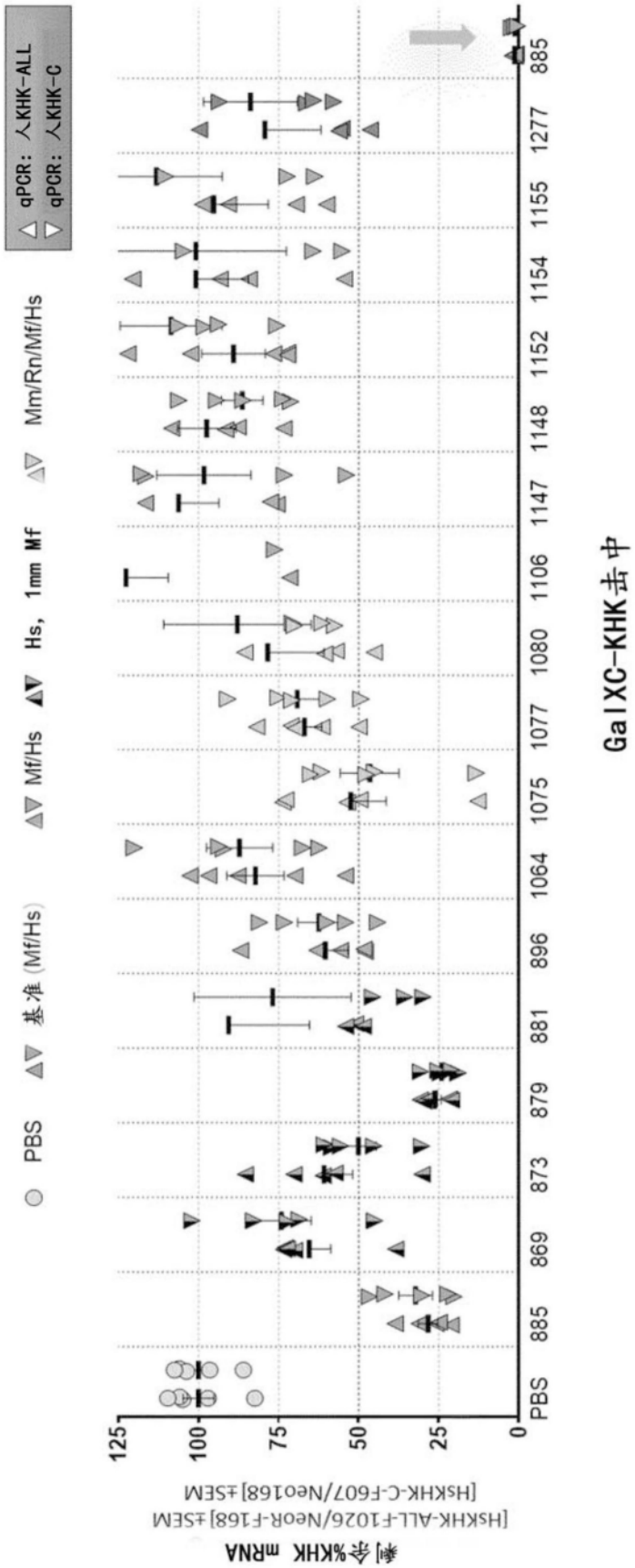

qPCR：人KHK-ALL
qPCR：人KHK-C
PBS
基准(Mf/Hs)
Mf/Hs
Hs，1mm Mf
Mm/Rn/Mf/Hs
剩余%KHK mRNA
[hsKHK-ALL-F1026/NeoR-F168]±SEM
[hsKHK-C-F607/Neo168]±SEM
GalXC-KHK去甲
125
100
75
50
25
0
PBS
885
869
873
879
881
896
1064
1075
1077
1080
1106
1147
1148
1152
1154
1155
1277
885

图5

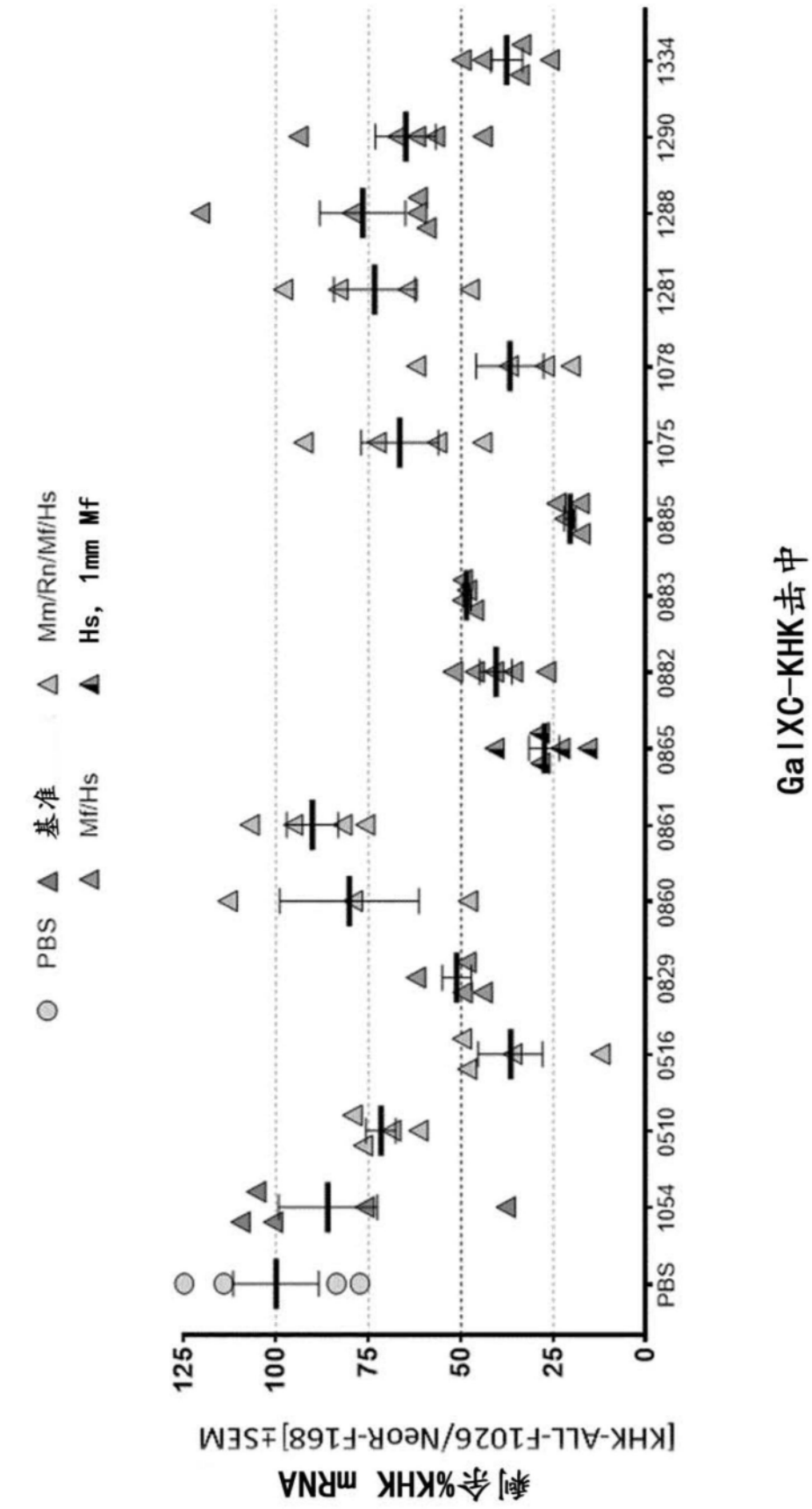

PBS
基准
Mf/Hs
Mm/Rn/Mf/Hs
Hs，1mm Mf
剩余%KHK mRNA
[KHK-ALL-F1026/NeoR-F168]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0510
0516
0829
0860
0861
0865
0882
0883
0885
1075
1078
1281
1288
1290
1334
Gal XC-KHK击中

图6A

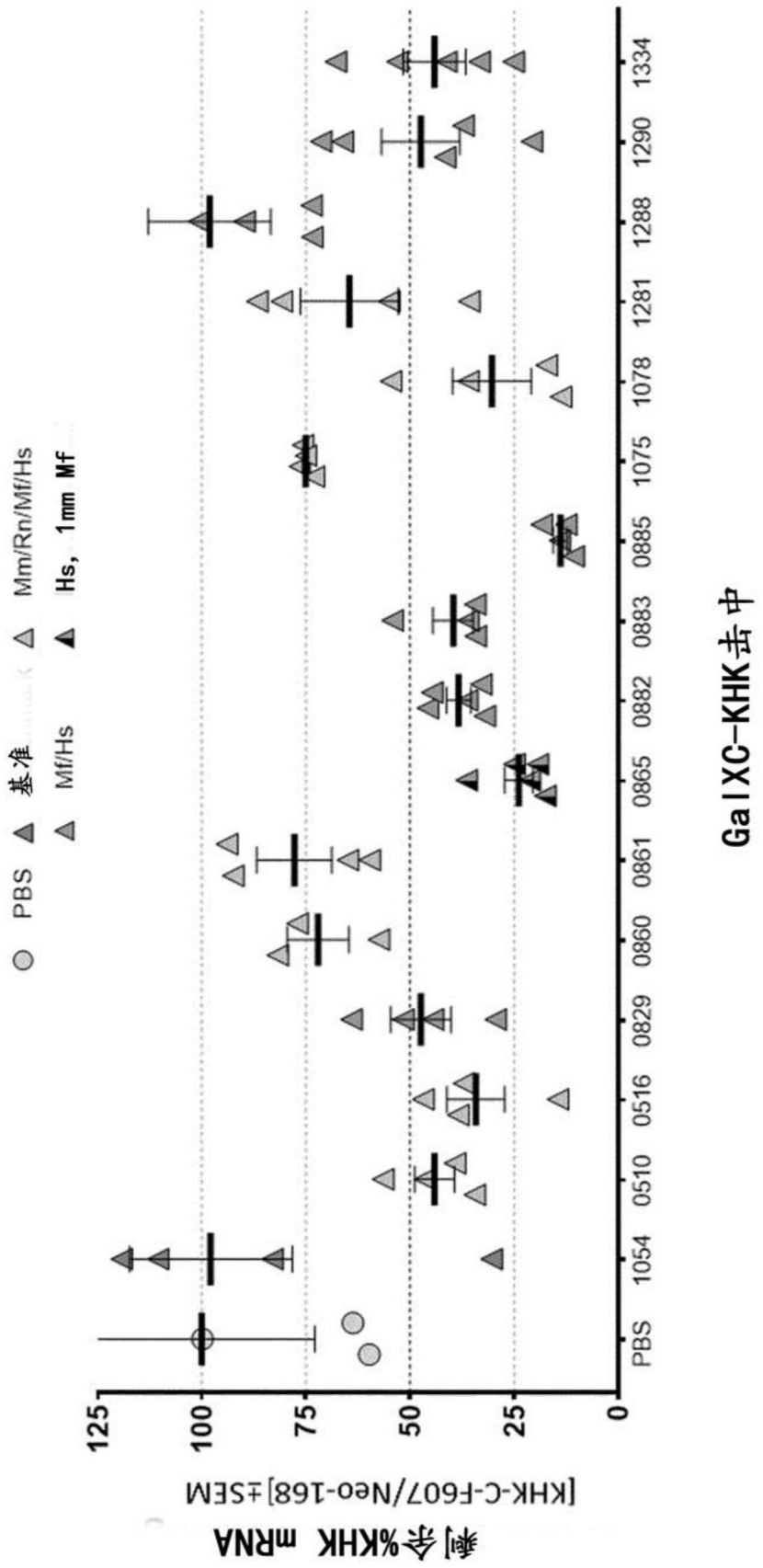

剩余%KHK mRNA
[KHK-C-F607/Neo-168]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0510
0516
0829
0860
0861
0865
0882
0883
0885
1075
1078
1281
1288
1290
1334
Gal XC-KHK去中
PBS
基准
Mf/Hs
Mm/Rn/Mf/Hs
Hs, 1mm Mf

图6B

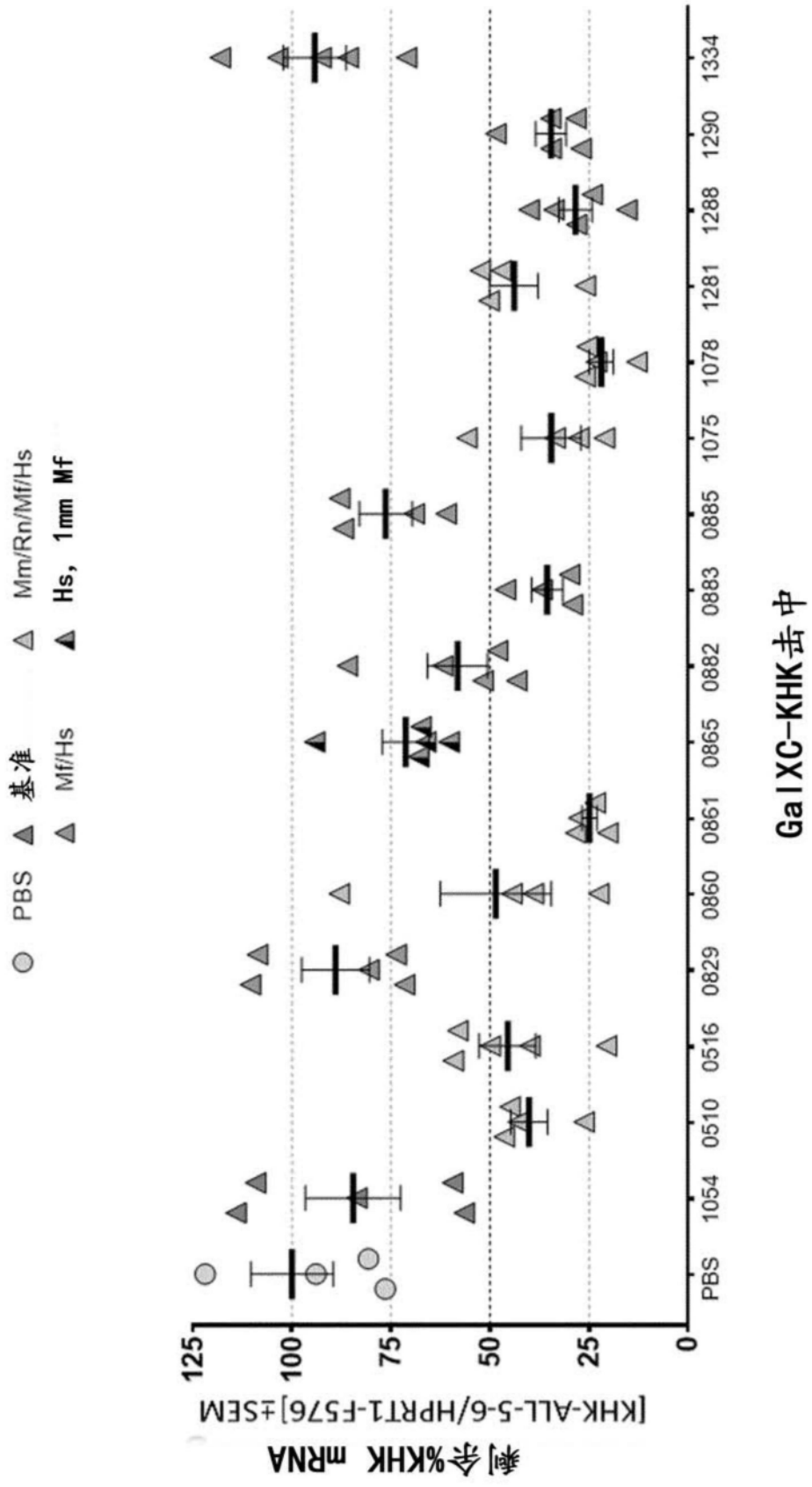

PBS
基准
Mf/Hs
Mm/Rn/Mf/Hs
Hs，1mm Mf
剩余%KHK mRNA
[KHK-ALL-5-6/HPRT1-F576]±SEM
125
100
75
50
25
0
PBS
1054
0510
0516
0829
0860
0861
0865
0882
0883
0885
1075
1078
1281
1288
1290
1334
Ga | XC-KHK击中

图6C

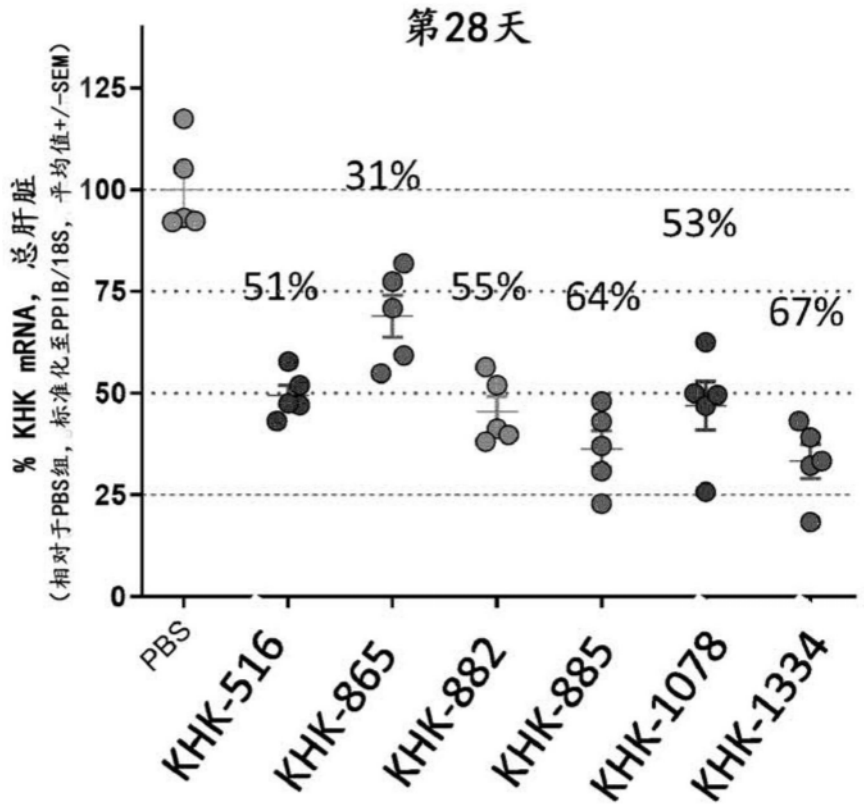

第28天
% KHK mRNA，总肝脏
（相对于PBS组，标准化至PPIB/18S，平均值+/-SEM）
125
100
75
50
25
0
31%
51%
55%
64%
53%
67%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图7A

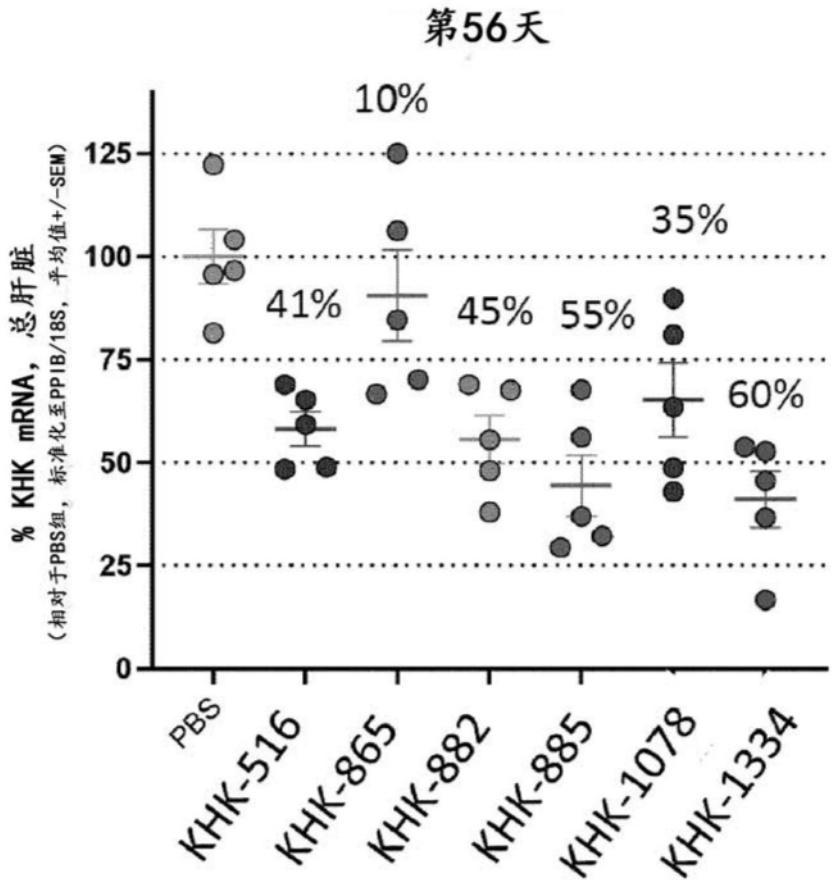

第56天
% KHK mRNA，总肝脏
（相对于PBS组，标准化至PPIB/18S，平均值+/-SEM）
125
100
75
50
25
0
10%
41%
45%
55%
35%
60%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图7B

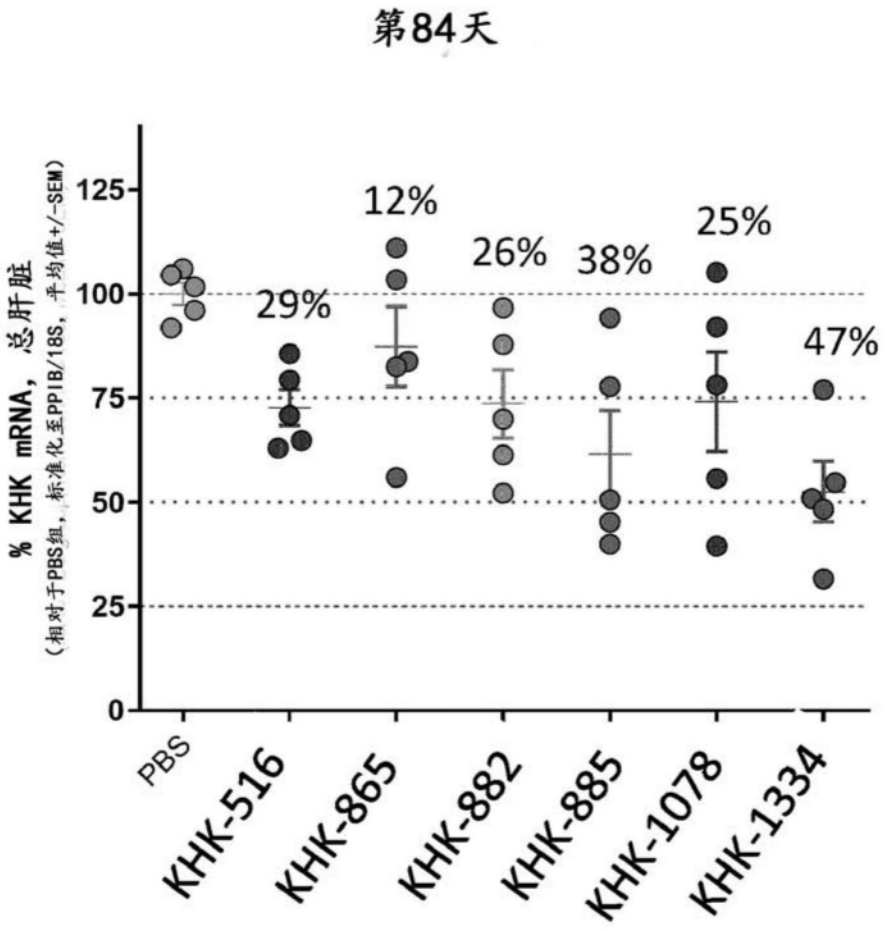

第84天
% KHK mRNA，总肝脏
（相对于PBS组，标准化至PPIB/18S，平均值+/-SEM）
125
100
75
50
25
0
29%
12%
26%
38%
25%
47%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图7C

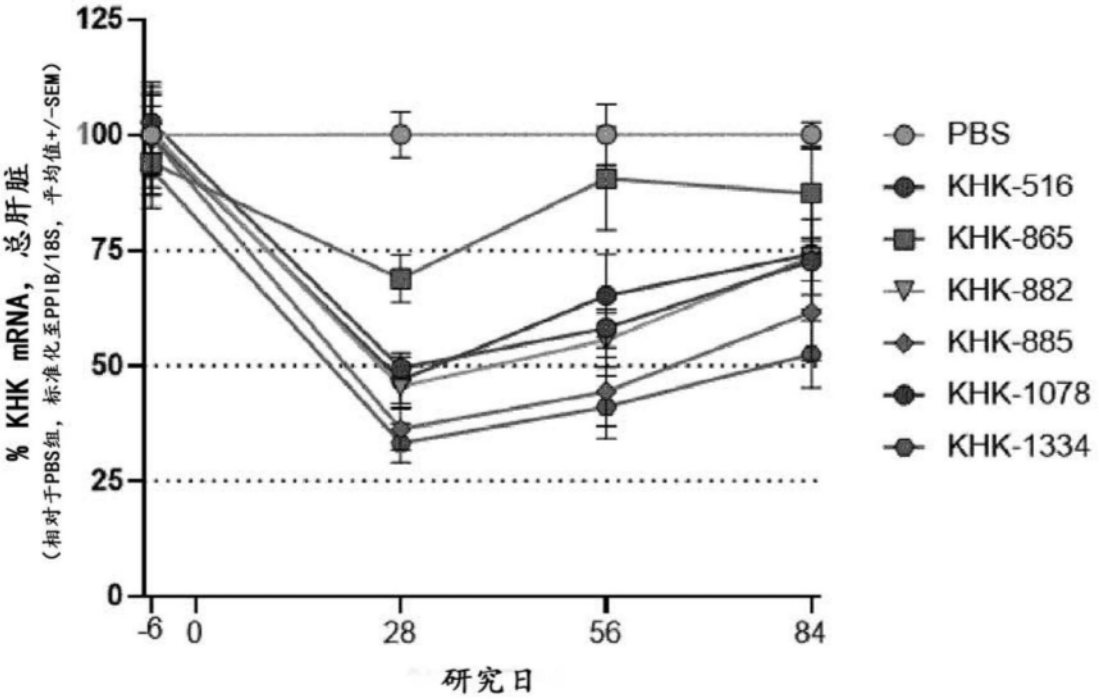

% KHK mRNA，总肝脏
（相对于PBS组，标准化至PPIB/18S，平均值+/-SEM）
125
100
75
50
25
0
-6
0
28
56
84
研究日
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图7D

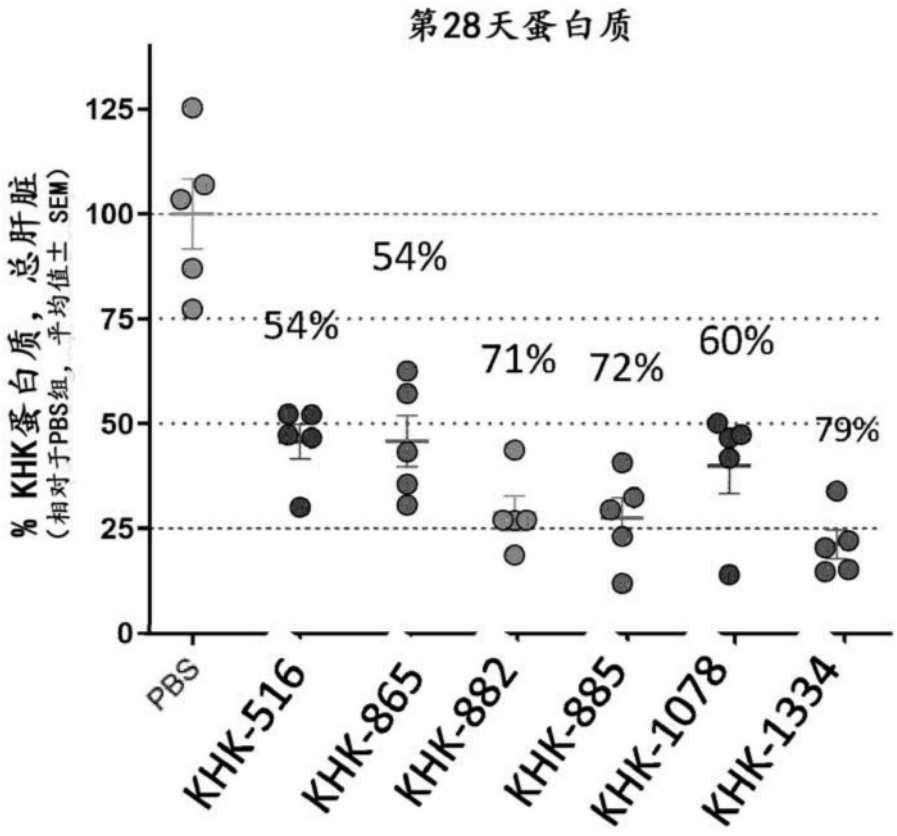

第28天蛋白质
% KHK蛋白质，总肝脏
（相对于PBS组，平均值± SEM）
125
100
75
50
25
0
54%
54%
71%
72%
60%
79%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图8A

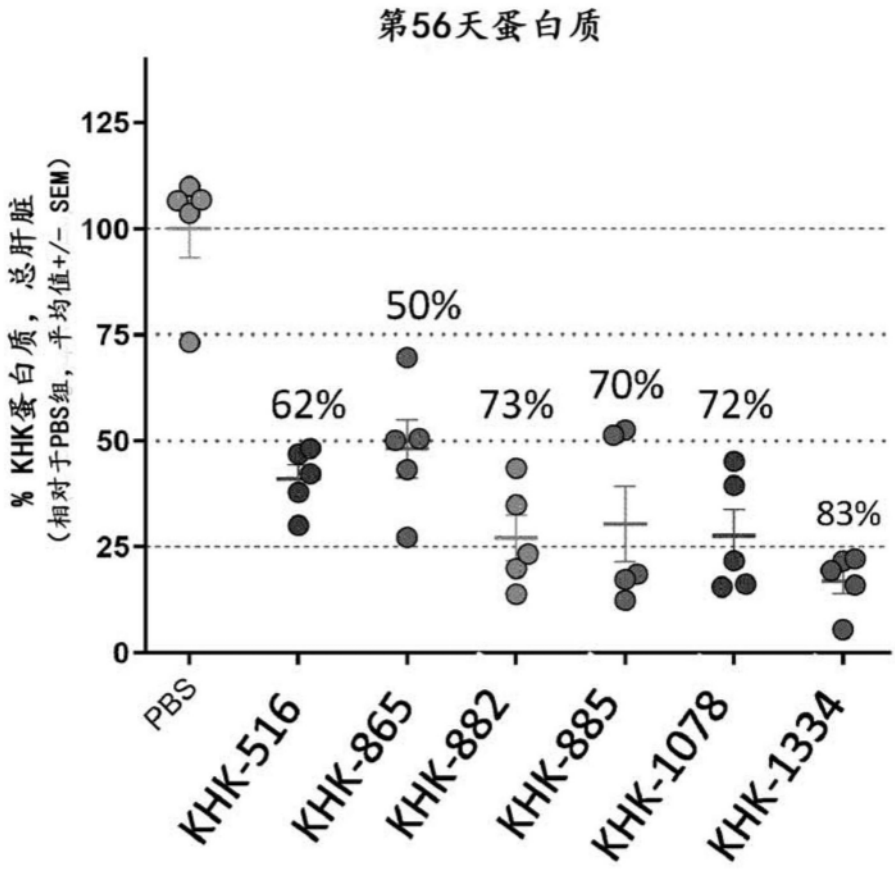

第56天蛋白质
% KHK蛋白质，总肝脏
（相对于PBS组，平均值+/- SEM）
125
100
75
50
25
0
62%
50%
73%
70%
72%
83%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图8B

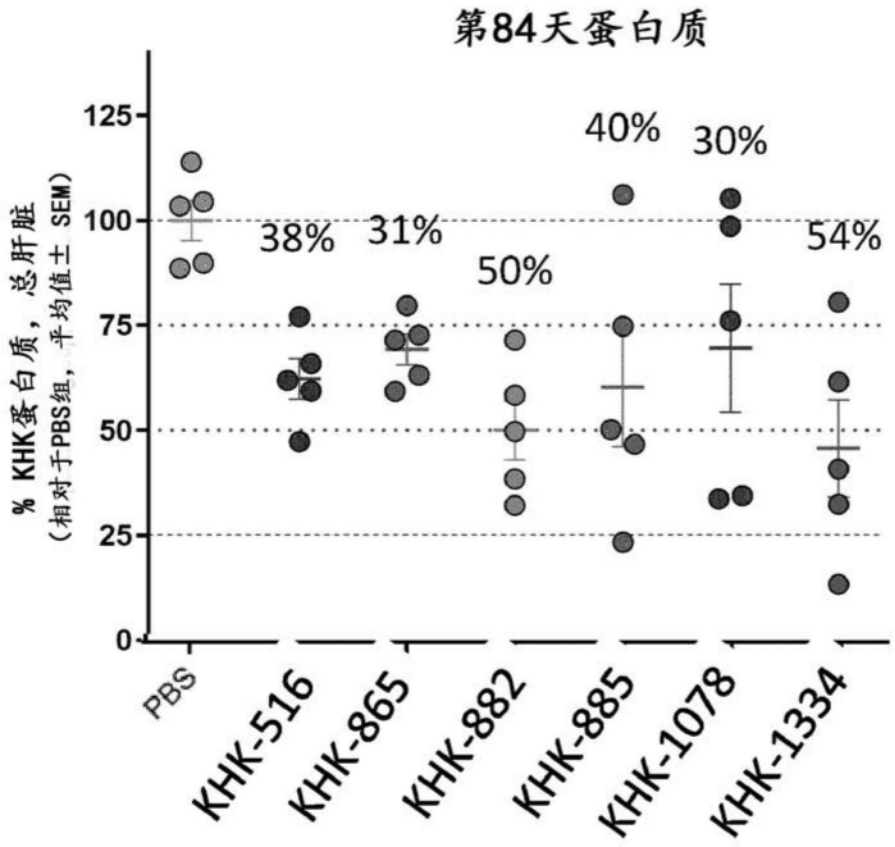

第84天蛋白质
% KHK蛋白质，总肝脏
（相对于PBS组，平均值± SEM）
125
100
75
50
25
0
38%
31%
50%
40%
30%
54%
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图8C

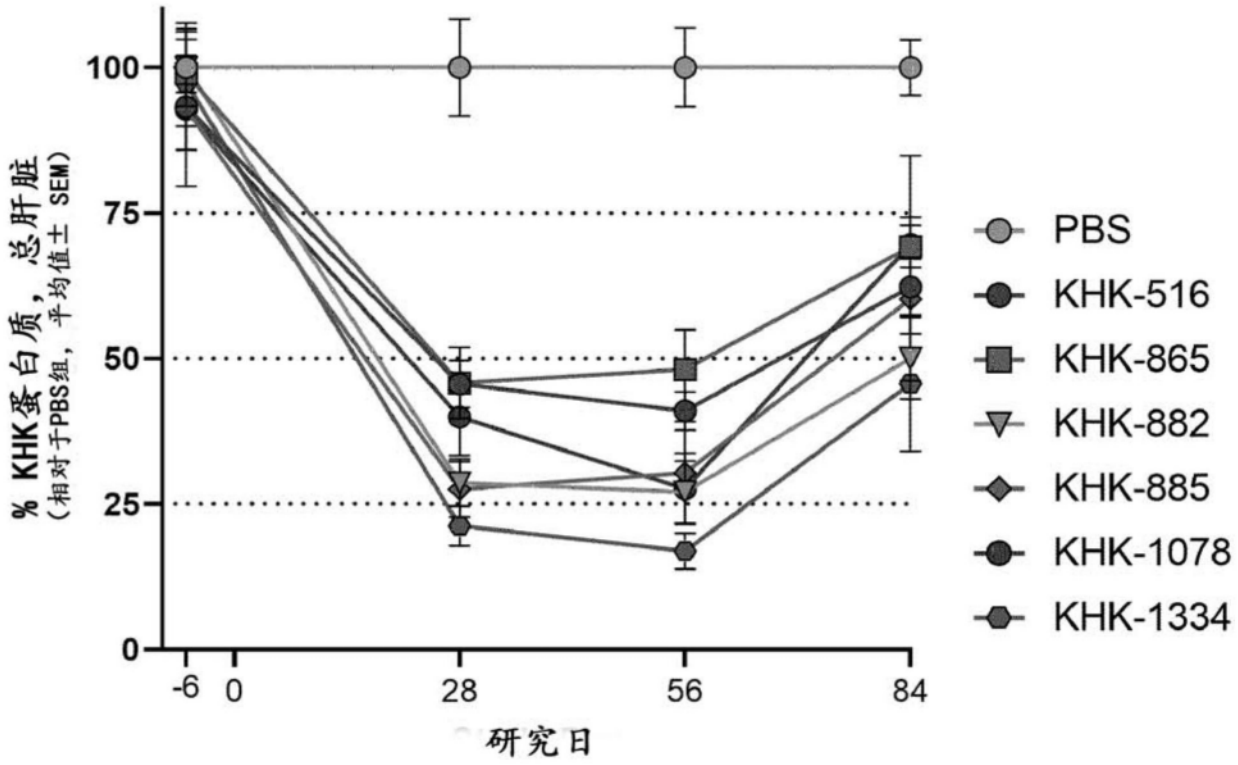

% KHK蛋白质，总肝脏
（相对于PBS组，平均值± SEM）
100
75
50
25
0
-6
0
28
56
84
研究日
PBS
KHK-516
KHK-865
KHK-882
KHK-885
KHK-1078
KHK-1334

图8D

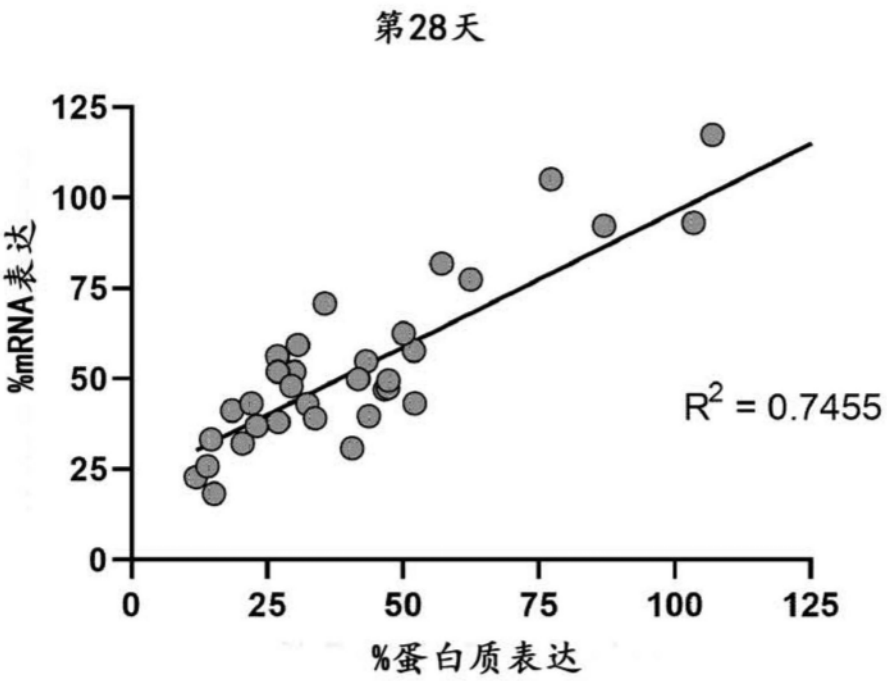

第28天
%mRNA表达
125
100
75
50
25
0
0
25
50
75
100
125
%蛋白质表达
R2 = 0.7455

图9A

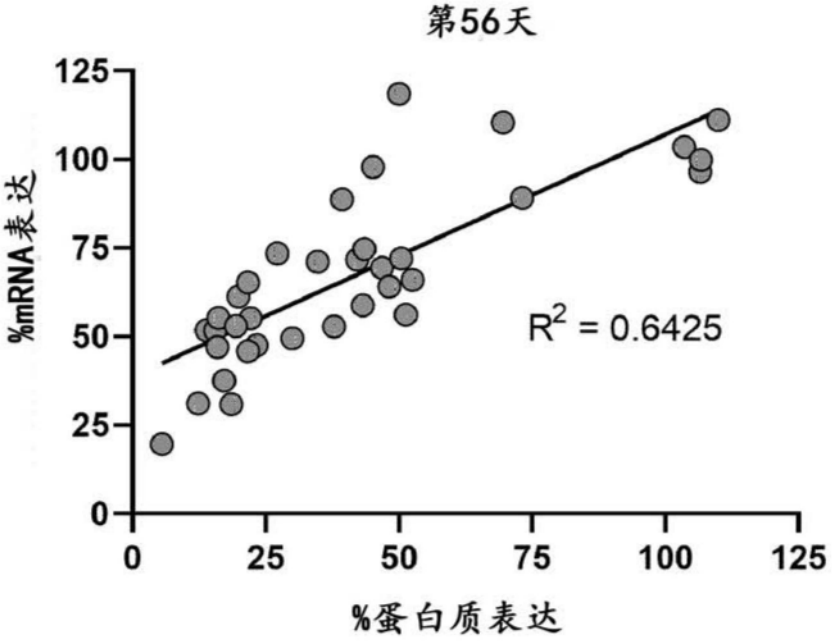

第56天
%mRNA表达
%蛋白质表达
$R^2$ = 0.6425
0
25
50
75
100
125

图9B

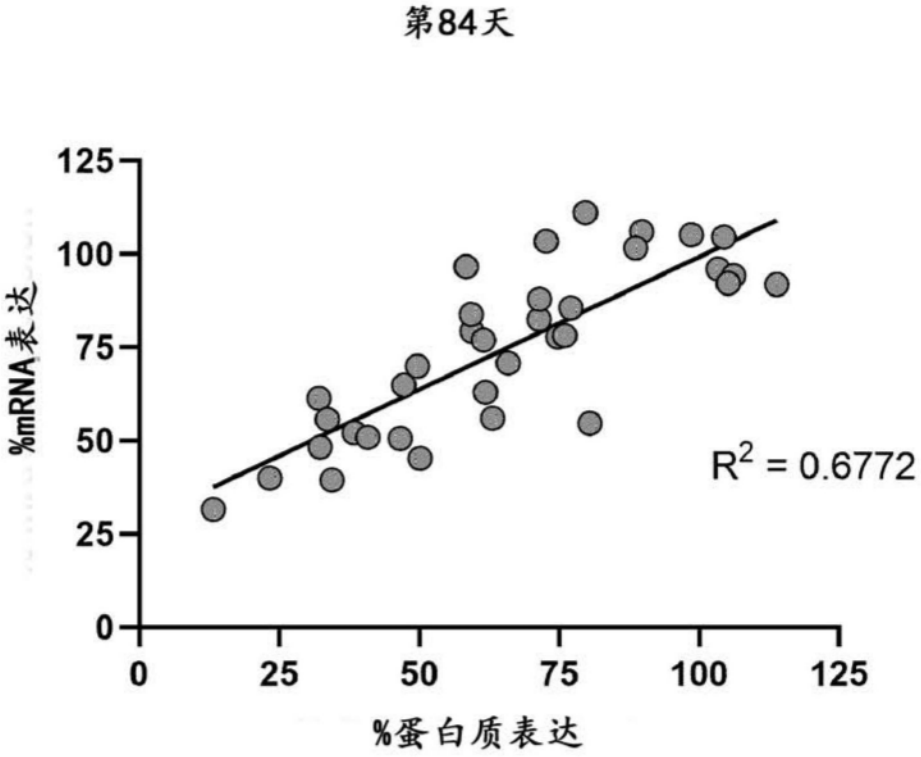

第84天
%mRNA表达
%蛋白质表达
$R^2$ = 0.6772
0
25
50
75
100
125

图9C