



(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2013-0051954
 (43) 공개일자 2013년05월21일

(51) 국제특허분류(Int. Cl.)
A61K 48/00 (2006.01) *C12N 15/113* (2010.01)
A61P 9/12 (2006.01) *A61P 3/04* (2006.01)
 (21) 출원번호 10-2012-7030568
 (22) 출원일자(국제) 2011년04월20일
 심사청구일자 없음
 (85) 번역문제출일자 2012년11월22일
 (86) 국제출원번호 PCT/EP2011/056299
 (87) 국제공개번호 WO 2011/131707
 국제공개일자 2011년10월27일
 (30) 우선권주장
 61/327,379 2010년04월23일 미국(US)
 61/333,398 2010년05월11일 미국(US)

(71) 출원인
노파르티스 아게
 스위스 체하-4056 바젤 리히트스트라쎄 35
 (72) 발명자
디 포거를레스, 안토닌
 미국 02142 메사추사츠주 캠브리지 써드 스트리트
 300 알닐람 파마슈티칼즈 인크.
디너, 존, 엘.
 미국 02139 메사추세츠주 캠브리지 테크놀로지 스
 퀘어 100 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼
 리서치 인크.
 (뒷면에 계속)
 (74) 대리인
위혜숙, 양영준

전체 청구항 수 : 총 20 항

(54) 발명의 명칭 **베타-ENaC-관련 질환을 치료하기 위한 유기 조성물**

(57) 요약

본 개시내용은 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 치료 유효량을 사용하여 베타-ENaC-관련 질환, 예컨대 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압을 치료하는 방법에 유용한 RNAi 작용제에 관한 것이다.

(72) 발명자

히크만, 엠마

영국 알에이치12 5에이비 쥐비- 호삼 웨스트 서섹스
스 웹블허스트 로드 호삼 리서치 센터 노바티스 파
마슈티칼즈 유케이 리미티드

힌클, 그레고리

미국 02142 메사추사츠주 캠브리지 씨드 스트리트
300 알닐람 파마슈티칼즈 인크.

밀스테인, 스투아트

미국 02142 메사추사츠주 캠브리지 씨드 스트리트
300 알닐람 파마슈티칼즈 인크.

폴리치노, 앤-마리

미국 02139 메사추세츠주 캠브리지 메사추세츠 애
비뉴 250 노바티스 인스티튜츠 포 바이오메디칼 리
서치 인크.

스프라그, 앤드류

미국 02142 메사추사츠주 캠브리지 씨드 스트리트
300 알닐람 파마슈티칼즈 인크.

특허청구의 범위

청구항 1

센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.

청구항 2

제1항에 있어서, 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 추가로 포함하는 조성물.

청구항 3

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 하나 이상의 변형된 백본 및/또는 하나 이상의 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.

청구항 4

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 락틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에델린, 에피프리델라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 풀룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로텍스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합체, 인테그린-표적화 분자, 다가양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린으로부터 선택된 하나 이상의 작용제에 라이게이션되어 있는 것인 조성물.

청구항 5

표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 제1 및 제2 가닥과 각각 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제1 가닥 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.

청구항 6

제1항에 있어서, 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.

청구항 7

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 포스포로티오에이트 및/또는 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.

청구항 8

제1항에 있어서, RNAi 작용제가 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 락틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에델린, 에피프리델라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 풀룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로텍스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합체, 인테그린-표적화 분자, 다가양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린으로부터 선택된 하나 이상의 작용제에 라이게이션되어 있는 것인 조성물.

청구항 9

센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC-관련 질환을 치료하는 방법.

청구항 10

제9항에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압인 방법.

청구항 11

제9항에 있어서, 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압에 대한 추가의 치료를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 12

제11항에 있어서, 베타-ENaC에 대한 추가의 RNAi 작용제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.

청구항 13

센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 억제하는 방법.

청구항 14

제13항에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압인 방법.

청구항 15

센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 RNAi 제제에서 사용하기 위한 의약.

청구항 16

제약상 유효한 제제 중의 임의의 상기 조성물.

청구항 17

제1항에 있어서, 치료 유효량의 제1항에 따른 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 베타-ENaC-관련 질환을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 조성물.

청구항 18

베타-ENaC-관련 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 제1항에 따른 조성물의 용도.

청구항 19

제1항에 있어서, 모든 피리미딘이 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드인 조성물.

청구항 20

제5항에 있어서, 모든 피리미딘이 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드인 조성물.

명세서

기술분야

[0001] 본원은 35 U.S.C. § 119(a)-(d) 하에 2010년 4월 23일에 출원된 미국 가출원 61/327,379 및 2010년 5월 11일에 출원된 미국 가출원 61/333,398을 우선권 주장하며, 이들 가출원의 내용은 그 전문이 본원에 참조로 포함된다.

배경 기술

- [0002] 환경과 신체 사이의 점막 표면은 다수의 보호 메카니즘을 갖는다. 방어의 한 형태는 표면을 액체로 세정하는 것이다. 액체의 양은 상피 액체 분비 (이는 종종 물 및 양이온 반대-이온과 커플링된 음이온 분비를 반영함)와 액체 흡수 (이는 종종 물 및 반대 음이온과 커플링된 Na^+ 흡수를 반영함) 사이의 균형을 반영한다. 점막 표면의 다수의 질환은 분비 (너무 적음)와 흡수 (너무 많음) 사이의 불균형으로 인한 너무 적은 액체에 의해 유발된다. 액체 층의 균형을 맞추기 위한 한 방법은 Na^+ 채널-매개 액체 흡수를 감소시키는 것이다.
- [0003] 무전압-게이팅, 아밀로리드-민감성 나트륨 채널은 다수의 기관에서 상피를 통과하는 유체 및 전해질 수송을 제어한다. 다수의 치밀한 상피의 정단 막은, 주로 이노 차단제 아밀로리드에 대한 그의 높은 친화도를 특징으로 하는 나트륨 채널을 함유한다. 이들 채널은 신체의 염 및 수분 항상성의 유지에 필수적인 활성 나트륨 재흡수의 제1 단계를 매개한다. 척추동물에서, 상기 채널은 신장, 결장, 폐 및 한선에서의 나트륨의 재흡수를 제어하고; 이들은 또한 맛 감각에 있어 역할을 한다.
- [0004] Na^+ 및 액체 흡수의 속도-제한 단계는 상피 나트륨 (Na^+) 채널 (ENaC)에 의해 매개된다. 이들 나트륨 채널은 3개의 서브유닛: 알파-ENaC, 베타-ENaC 및 감마-ENaC로 이루어진 이종체성 복합체이다.
- [0005] 베타-ENaC (SCNN1B로도 또한 공지됨)는 상기 나트륨 채널의 베타 서브유닛을 코딩하고, 상기 유전자에서의 돌연변이 및/또는 그의 변경된 발현은 남성 심유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압을 비롯한 여러 질환과 연관되어 왔다 (및/또는 질환의 치료와 연관되어 왔다).
- [0006] 베타-ENaC-관련 질환에 관련된 치료에 대한 필요가 존재한다.

발명의 내용

- [0007] 본 개시내용은 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제를 포함하며, 이는 베타-ENaC-관련 질환, 예컨대 남성 심유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압의 치료에 유용하다. 본 개시내용은 또한, 적어도 부분적으로 알파-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학적 상태를 갖는 인간 대상체에게 치료 유효량의 RNAi 작용제 베타-ENaC를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 포함한다.
- [0008] 본 개시내용은 대상체, 예를 들어 포유동물, 예컨대 인간에서 베타-ENaC 수준을 감소시키기에 유용한 특이적 RNAi 작용제 및 방법을 제공한다. 본 개시내용은 구체적으로 베타-ENaC의 적어도 15개 이상의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 이중-가닥 RNAi 작용제를 제공한다. 특히, 본 개시내용은 예를 들어 표 1에 제공된 RNAi 작용제의 서열과 0, 1, 2 또는 3개가 상이한 15개 이상의 인접 뉴클레오티드의 서열을 포함하는 작용제를 제공한다. 상기 RNAi 작용제는 특히 한 실시양태에서, 가닥당 30개 미만의 뉴클레오티드, 예를 들어 예컨대 18-23개의 뉴클레오티드 및/또는 19-21개의 뉴클레오티드, 및/또는 예컨대, 예를 들어 표 1에 제공된 것들을 포함할 수 있다.
- [0009] 이중-가닥 RNAi 작용제는 한쪽 또는 양쪽 3' 및/또는 5' 말단으로부터 1, 2, 3 또는 4개의 뉴클레오티드 (즉, 1-4개의 nt)의 평활 말단 또는 오버행을 가질 수 있다. 이중-가닥 RNAi 작용제는 또한 임의로 1개 또는 2개의 3' 캡 및/또는 1개 이상의 변형된 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 본원에 제공된 바와 같은 서열의 변형된 변이체는, 그 외에는 동일하지만 자연 발생 뉴클레오티드의 상응하는 변형된 뉴클레오티드로의 치환을 함유하는 것들을 포함한다.
- [0010] 추가로, RNAi 작용제는 단지 자연 발생 리보뉴클레오티드 서브유닛만을 함유할 수 있거나, 또는 1개 이상의 대체 뉴클레오티드 서브유닛 (이것이 리보뉴클레오티드 서브유닛 또는 데옥시리보뉴클레오티드 서브유닛을 포함하는지의 여부에 관계없이)의 당, 포스페이트 또는 염기에 하나 이상의 변형을 함유할 수 있다. 한 실시양태에서, 개시된 RNAi 작용제의 변형된 변이체는, 동일하지만 1개 이상의 뉴클레오티드 서브유닛의 1개 이상의 당, 포스페이트 또는 염기에 하나 이상의 변형을 갖는 서열을 갖는 RNAi 작용제를 포함한다. 한 실시양태에서, 변형은 효능, 안정성을 향상시키고/거나, RNAi 작용제의 면역원성을 감소시킨다. 본 개시내용의 한 측면은 1개 이상의 비-천연 핵염기를 포함하는 이중-가닥 올리고뉴클레오티드에 관한 것이다. 특정 실시양태에서, 비-천연 핵염기는 디플루오로톨릴, 니트로인돌릴, 니트로피롤릴 또는 니트로이미다졸릴이다. 특정한 실시양태에서, 비-천연 핵염기는 디플루오로톨릴이다. 특정 실시양태에서, 두 올리고뉴클레오티드 가닥 중 단지 하나만

이 비-천연 핵염기를 함유한다. 특정 실시양태에서, 두 올리고뉴클레오타이드 가닥 모두는 비-천연 핵염기를 함유한다.

[0011] RNAi 작용제(들)는 임의로 하나 이상의 특징, 예컨대 예를 들어 작용제의 안정성, 분포 및/또는 세포 섭취를 향상시키도록 선택된 리간드, 예를 들어 콜레스테롤 또는 그의 유도체에 부착될 수 있다. RNAi 작용제(들)는 단리될 수 있거나, 또는 본원에 기재된 방법에 사용된 제약 조성물의 일부일 수 있다. 특히, 제약 조성물은 폐 또는 비도로의 전달을 위해 제제화될 수 있거나, 또는 비경구 투여를 위해 제제화될 수 있다. 제약 조성물은 임의로 2종 이상의 RNAi 작용제 (각각의 것은 베타-ENaC mRNA의 동일한 또는 상이한 절편에 지정됨)를 포함할 수 있다. 임의로, 제약 조성물은 임의의 베타-ENaC-관련 질환에 대한 임의의 공지된 치료를 포함할 수 있거나, 또는 그와 함께 사용될 수 있다.

[0012] 본 개시내용은, 특히 ENaC의 과다-발현 또는 과다-활성을 특징으로 하는 질환의 경우에, 세포에서 베타-ENaC mRNA의 수준을 감소시키기 위한 방법을 추가로 제공한다. 본 개시내용은 또한, 적어도 부분적으로 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학적 상태를 갖는 인간 대상체에게 치료 유효량의 RNAi 작용제 베타-ENaC를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 포함한다. 이러한 방법은 하기 추가로 기재된 바와 같이, 대상체에게 본 개시내용의 RNAi 작용제 중 하나를 투여하는 단계를 포함한다. 본 발명의 방법은 세포에서 표적 RNA를 선택적으로 분해하기 위해 RNA 간섭에 관련된 세포 메카니즘을 이용하며, 세포를 본 개시내용의 RNAi 작용제 중 하나와 접촉시키는 단계로 구성된다. 이러한 방법은 세포 상에서 직접적으로 수행할 수 있거나, 또는 대상체에게 본 개시내용의 RNAi 작용제/제약 조성물 중 하나를 투여함으로써 포유동물 대상체 상에서 수행할 수 있다. 세포에서의 표적 베타-ENaC RNA의 감소는 코딩된 베타-ENaC 단백질의 생산량에서의 감소를 일으킨다. 유기체에서, 이는 상피 전위차의 감소, 균형이 맞는 유체 흡수, 및 점액섬모 청소율의 증가를 일으킬 수 있다.

[0013] 본 개시내용의 방법 및 조성물, 예를 들어 상기 방법 및 베타-ENaC RNAi 작용제 조성물은 본원에 기재된 임의의 투여량 및/또는 제제로, 뿐만 아니라 본원에 기재된 임의의 투여 경로로 이용될 수 있다.

[0014] 본 개시내용의 하나 이상의 실시양태의 상세한 설명은 첨부 도면 및 하기 설명에 기재되어 있다. 본 개시내용의 다른 특징, 목적 및 이점은 이러한 설명, 도면으로부터, 및 특허청구범위로부터 명백할 것이다.

도면의 간단한 설명

[0015] 도 1a - 1b는 생체내에서 베타-ENaC 활성을 녹-다운시키는 RNAi 작용제 AD20807, AD20826, AD20832, AS20834, AD20848 및 AD20861의 능력을 도시한다.

도 2a - 2c는 인간 기관지 상피 세포에서 ENaC 채널의 기능적 활성에 대한 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20832의 시험관내 효과를 도시한다.

발명을 실시하기 위한 구체적인 내용

[0016] 본 개시내용은 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제를 포함하며, 이는 베타-ENaC-관련 질환 (예를 들어, 베타-ENaC에서의 돌연변이 및/또는 그의 변경된 발현, 수준 및/또는 활성과 연관된 질환, 및/또는 베타-ENaC의 발현, 수준 및/또는 활성을 조절함으로써 치료가능한 질환), 예컨대 남성 심유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압의 치료에 유용하다. 본 개시내용은 또한 적어도 부분적으로 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학적 상태를 갖는 인간 대상체에게 치료 유효량의 RNAi 작용제 베타-ENaC를 투여하는 단계를 포함하는, 상기 대상체를 치료하는 방법을 제공한다.

[0017] **본 개시내용의 다양한 실시양태는 하기를 포함한다:**

[0018] **본원에 기재된 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제.**

[0019] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 예를 들어 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제 (또는 베타-ENaC에 특이적인 중복 RNAi 작용제의 임의의 세트)의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원에 제공된 임의의 서열로부터의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오타이드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 임의의 RNAi 작용제의 제1 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오타이드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오타이드를 포함하는 제1 가닥 및 본원에 제공된 임의의 RNAi 작용제의 제2 가

닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.

[0020] 특정한 듀플렉스는 하기를 포함한다 (여기서, 각각의 듀플렉스는 서열 번호의 세트를 포함하며, 여기서 제1 서열 번호는 제1 가닥 (예를 들어, 센스 가닥)에 상응하고, 제2 서열 번호는 제2 가닥 (예를 들어, 안티센스 가닥)에 상응함): AD-20805 (서열 111 및 112); AD-20806 (서열 113 및 114); AD-20807 (서열 115 및 116); AD-20808 (서열 117 및 118); AD-20809 (서열 119 및 120); AD-20810 (서열 121 및 122); AD-20811 (서열 123 및 124); AD-20812 (서열 125 및 126); AD-20813 (서열 127 및 128); AD-20814 (서열 129 및 130); AD-20815 (서열 131 및 132); AD-20816 (서열 133 및 134); AD-20817 (서열 135 및 136); AD-20818 (서열 137 및 138); AD-20819 (서열 139 및 140); AD-20820 (서열 141 및 142); AD-20821 (서열 143 및 144); AD-20822 (서열 145 및 146); AD-20823 (서열 147 및 148); AD-20824 (서열 149 및 150); AD-20825 (서열 151 및 152); AD-20826 (서열 153 및 154); AD-20827 (서열 155 및 156); AD-20828 (서열 157 및 158); AD-20829 (서열 159 및 160); AD-20830 (서열 161 및 162); AD-20831 (서열 163 및 164); AD-20832 (서열 165 및 166); AD-20833 (서열 167 및 168); AD-20834 (서열 169 및 170); AD-20835 (서열 171 및 172); AD-20836 (서열 173 및 174); AD-20837 (서열 175 및 176); AD-20838 (서열 177 및 178); AD-20839 (서열 179 및 180); AD-20840 (서열 181 및 182); AD-20841 (서열 183 및 184); AD-20842 (서열 185 및 186); AD-20843 (서열 187 및 188); AD-20844 (서열 189 및 190); AD-20845 (서열 191 및 192); AD-20846 (서열 193 및 194); AD-20847 (서열 195 및 196); AD-20848 (서열 197 및 198); AD-20849 (서열 199 및 200); AD-20850 (서열 201 및 202); AD-20851 (서열 203 및 204); AD-20852 (서열 205 및 206); AD-20861 (서열 207 및 208); AD-20862 (서열 209 및 210); AD-20863 (서열 211 및 212); AD-20864 (서열 213 및 214); AD-20865 (서열 215 및 216); AD-20866 (서열 217 및 218); 및 AD-20867 (서열 219 및 220), 및 이들의 변형된 변이체.

[0021] 한 실시양태는 하기로 이루어진 군으로부터 선택되는 특정한 듀플렉스의 변형된 변이체를 제공한다 (여기서, 각각의 듀플렉스는 서열 번호의 세트를 포함하며, 여기서 제1 서열 번호는 제1 가닥 (예를 들어, 센스 가닥)에 상응하고, 제2 서열 번호는 제2 가닥 (예를 들어, 안티센스 가닥)에 상응함): AD-20805 (서열 1 및 2); AD-20806 (서열 3 및 4); AD-20807 (서열 5 및 6); AD-20808 (서열 7 및 8); AD-20809 (서열 9 및 10); AD-20810 (서열 11 및 12); AD-20811 (서열 13 및 14); AD-20812 (서열 15 및 16); AD-20813 (서열 17 및 18); AD-20814 (서열 19 및 20); AD-20815 (서열 21 및 22); AD-20816 (서열 23 및 24); AD-20817 (서열 25 및 26); AD-20818 (서열 27 및 28); AD-20819 (서열 29 및 30); AD-20820 (서열 31 및 32); AD-20821 (서열 33 및 34); AD-20822 (서열 35 및 36); AD-20823 (서열 37 및 38); AD-20824 (서열 39 및 40); AD-20825 (서열 41 및 42); AD-20826 (서열 43 및 44); AD-20827 (서열 45 및 46); AD-20828 (서열 47 및 48); AD-20829 (서열 49 및 50); AD-20830 (서열 51 및 52); AD-20831 (서열 53 및 54); AD-20832 (서열 55 및 56); AD-20833 (서열 57 및 58); AD-20834 (서열 59 및 60); AD-20835 (서열 61 및 62); AD-20836 (서열 63 및 64); AD-20837 (서열 65 및 66); AD-20838 (서열 67 및 68); AD-20839 (서열 69 및 70); AD-20840 (서열 71 및 72); AD-20841 (서열 73 및 74); AD-20842 (서열 75 및 76); AD-20843 (서열 77 및 78); AD-20844 (서열 79 및 80); AD-20845 (서열 81 및 82); AD-20846 (서열 83 및 84); AD-20847 (서열 85 및 86); AD-20848 (서열 87 및 88); AD-20849 (서열 89 및 90); AD-20850 (서열 91 및 92); AD-20851 (서열 93 및 94); AD-20852 (서열 95 및 96); AD-20861 (서열 97 및 98); AD-20862 (서열 99 및 100); AD-20863 (서열 101 및 102); AD-20864 (서열 103 및 104); AD-20865 (서열 105 및 106); AD-20866 (서열 107 및 108); 및 AD-20867 (서열 109 및 110).

[0022] **특정한 조성물**

[0023] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본원의 표 (예를 들어, 표 1)에 제공된 임의의 서열 (또는 서열의 중복 세트)로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원의 표 (예를 들어, 표 1)에 제공된 임의의 서열 (또는 서열의 중복 세트)로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원에 제공된 임의의 서열로부터의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공된 임의의 RNAi 작용제의 제1 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제1 가닥 및 본원에 제공된 임의의 RNAi 작용

제의 제2 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 특정한 듀플렉스는 상기 제공되고 표 1의 임의의 하나 이상에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스를 포함한다. 각각의 상기 조성물의 추가의 변형된 서열 (예를 들어, 하나 이상의 변형된 염기를 포함하는 서열)은 또한 본 개시내용의 일부로서 고려된다.

[0024] 하기 표 A1은 베타-ENaC에 대한 다양한 RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥의 비변형 및 예시적인 변형된 서열에 대한 서열 번호를 제공한다. 서열 번호에 의해 나타난 구체적 서열 각각의 염기 조성은 표 1에 보다 상세하게 제공되어 있고, 그의 일부는 표 2에 제공되어 있다.

[0025] <표 A1> 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제를 위한 제1 및 제2 가닥 (예를 들어, 센스 ("SS") 및 안티센스 ("AS") 가닥)에 대한 서열 번호

RNAi 작용제 - 듀플렉스 명칭		변형된 서열 서열 번호	비변형된 서열 서열 번호
AD-20805	센스	1	111
	안티센스	2	112
AD-20806	센스	3	113
	안티센스	4	114
AD-20807	센스	5	115

[0026]

	안티센스	6	116
AD-20808	센스	7	117
	안티센스	8	118
AD-20809	센스	9	119
	안티센스	10	120
AD-20810	센스	11	121
	안티센스	12	122
AD-20811	센스	13	123
	안티센스	14	124
AD-20812	센스	15	125
	안티센스	16	126
AD-20813	센스	17	127
	안티센스	18	128
AD-20814	센스	19	129
	안티센스	20	130
AD-20815	센스	21	131
	안티센스	22	132
AD-20816	센스	23	133
	안티센스	24	134
AD-20817	센스	25	135
	안티센스	26	136
AD-20818	센스	27	137
	안티센스	28	138
AD-20819	센스	29	139
	안티센스	30	140
AD-20820	센스	31	141
	안티센스	32	142
AD-20821	센스	33	143
	안티센스	34	144
AD-20822	센스	35	145
	안티센스	36	146
AD-20823	센스	37	147
	안티센스	38	148
AD-20824	센스	39	149
	안티센스	40	150
AD-20825	센스	41	151
	안티센스	42	152
AD-20826	센스	43	153
	안티센스	44	154
AD-20827	센스	45	155
	안티센스	46	156
AD-20828	센스	47	157
	안티센스	48	158
AD-20829	센스	49	159
	안티센스	50	160
AD-20830	센스	51	161

[0027]

	안티센스	52	162
AD-20831	센스	53	163
	안티센스	54	164
AD-20832	센스	55	165
	안티센스	56	166
AD-20833	센스	57	167
	안티센스	58	168
AD-20834	센스	59	169
	안티센스	60	170
AD-20835	센스	61	171
	안티센스	62	172
AD-20836	센스	63	173
	안티센스	64	174
AD-20837	센스	65	175
	안티센스	66	176
AD-20838	센스	67	177
	안티센스	68	178
AD-20839	센스	69	179
	안티센스	70	180
AD-20840	센스	71	181
	안티센스	72	182
AD-20841	센스	73	183
	안티센스	74	184
AD-20842	센스	75	185
	안티센스	76	186
AD-20843	센스	77	187
	안티센스	78	188
AD-20844	센스	79	189
	안티센스	80	190
AD-20845	센스	81	191
	안티센스	82	192
AD-20846	센스	83	193
	안티센스	84	194
AD-20847	센스	85	195
	안티센스	86	196
AD-20848	센스	87	197
	안티센스	88	198
AD-20849	센스	89	199
	안티센스	90	200
AD-20850	센스	91	201
	안티센스	92	202
AD-20851	센스	93	203
	안티센스	94	204
AD-20852	센스	95	205
	안티센스	96	206
AD-20861	센스	97	207

[0028]

	안티센스	98	208
AD-20862	센스	99	209
	안티센스	100	210
AD-20863	센스	101	211
	안티센스	102	212
AD-20864	센스	103	213
	안티센스	104	214
AD-20865	센스	105	215
	안티센스	106	216
AD-20866	센스	107	217
	안티센스	108	218
AD-20867	센스	109	219
	안티센스	110	220

[0029]

[0030]

예를 들어, 표 A1에서, RNAi 작용제 AD-20805의 예시적인 변형된 서열은 서열 1 (센스 가닥) 및 서열 2 (안티센스 가닥)에 의해 나타내어진다. AD-20805의 비변형된 서열은 서열 111 (센스 가닥) 및 서열 112 (안티센스 가닥)에 의해 나타내어진다. 따라서, 표 A1은 베타-ENaC에 대한 다양한 RNAi 작용제 각각을 위한 비변형된 서열

및 하나 이상의 예시적인 변형된 서열의 제1 및 제2 가닥의 서열 식별번호를 나타낸다.

- [0031] **본원에 기재된 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제**
- [0032] 한 특정한 구체적 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스에서의 안티센스 가닥으로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3 개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0033] 이러한 실시양태의 다양한 구체적 실시양태가 하기 기재되어 있다.
- [0034] 한 실시양태에서, 조성물은 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 추가로 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제2 RNAi 작용제는 제1 작용제와 물리적으로 분리되어 있거나, 또는 둘은 물리적으로 연결되어 있다 (예를 들어, 공유적으로 연결되거나 달리 접합됨).
- [0035] 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 약 30개 이하의 nt 길이이다.
- [0036] 한 실시양태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 약 15 내지 약 30개의 뉴클레오티드 쌍 길이의 듀플렉스 영역을 형성한다.
- [0037] 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 약 15 내지 약 36개의 nt 길이 (약 18 내지 약 30개의 nt 길이 포함, 및 추가로 약 19 내지 약 23개의 nt 길이 포함)이다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 약 15개의 nt, 약 16개의 nt, 약 17개의 nt, 약 18개의 nt, 약 19개의 nt, 약 20개의 nt, 약 21개의 nt, 약 22개의 nt, 약 23개의 nt, 약 24개의 nt, 약 25개의 nt, 약 26개의 nt, 약 27개의 nt, 약 28개의 nt, 약 29개의 nt 및 약 30개의 nt로부터 선택된 길이를 갖는다.
- [0038] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 생물학적 샘플 또는 환경, 예를 들어 혈청 또는 장 세척액에서 RNAi 작용제가 증가된 안정성을 갖도록 하는 변형을 포함한다.
- [0039] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 당 백본 변형 (예를 들어, 포스포로티오에이트 연결) 및/또는 하나 이상의 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 모든 피리미딘은 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드이다.
- [0040] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 5'-우리딘-아데닌-3' (5'-ua-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-구아닌-3' (5'-ug-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-시티딘-아데닌-3' (5'-ca-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-시티딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-우리딘-3' (5'-uu-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임)를 포함한다.
- [0041] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 및 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로 이루어진 군으로부터 선택된 2'-변형을 포함한다. 한 실시양태에서, 모든 피리미딘은 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드이다.
- [0042] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 평활 말단을 포함한다.
- [0043] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 쌍을 이루지 않은 1 내지 4개의 뉴클레오티드를 갖는 오버행을 포함한다.
- [0044] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 상기 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 3'-말단에 오버행을 포함한다.
- [0045] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 렉틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에델린, 에피프리델라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 폴룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로덱스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합체, 인테그린-표적화 분자, 다가 양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린에 라이게이션된다.
- [0046] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 60% 억제할 수 있다.
- [0047] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도

약 70% 억제할 수 있다.

- [0048] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 80% 억제할 수 있다.
- [0049] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 90% 억제할 수 있다.
- [0050] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.1 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0051] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.01 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0052] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.001 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0053] **본원에 기재된 제1 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제**
- [0054] 한 특정한 구체적 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 제1 및 제2 가닥과 각각 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제1 가닥 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0055] 이러한 실시양태의 다양한 구체적 실시양태가 하기 기재되어 있다.
- [0056] 한 실시양태에서, 조성물은 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 추가로 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제2 RNAi 작용제는 제1 작용제와 물리적으로 분리되어 있거나, 또는 둘은 물리적으로 연결되어 있다 (예를 들어, 공유적으로 연결되거나 달리 접합됨).
- [0057] 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 약 30개 이하의 nt 길이이다.
- [0058] 한 실시양태에서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥은 약 15 내지 약 30개의 nt 쌍 길이의 듀플렉스 영역을 형성한다.
- [0059] 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 약 15 내지 약 36개의 nt 길이 (약 18 내지 약 23개의 nt 길이 포함, 및 약 19 내지 약 23개의 nt 길이 포함)이다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 적어도 약 15개의 nt, 약 16개의 nt, 약 17개의 nt, 약 18개의 nt, 약 19개의 nt, 약 20개의 nt, 약 21개의 nt, 약 22개의 nt, 약 23개의 nt, 약 24개의 nt, 약 25개의 nt, 약 26개의 nt, 약 27개의 nt, 약 28개의 nt, 약 29개의 nt 및 약 30개의 nt로부터 선택된 길이를 갖는다.
- [0060] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 생물학적 샘플 또는 환경, 예를 들어 혈청 또는 장 세척액에서 RNAi 작용제가 증가된 안정성을 갖도록 하는 변형을 포함한다.
- [0061] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 당 백분 변형 (예를 들어, 포스포로티오에이트 연결) 및/또는 하나 이상의 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함한다. 한 실시양태에서, 모든 피리미딘은 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드이다.
- [0062] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 5'-우리딘-아데닌-3' (5'-ua-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-구아닌-3' (5'-ug-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-시티딘-아데닌-3' (5'-ca-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-시티딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-우리딘-3' (5'-uu-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임)를 포함한다.
- [0063] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 및 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로 이루어진 군으로부터 선택된 2'-변형을 포함한다.
- [0064] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 평활 말단을 포함한다.
- [0065] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 쌍을 이루지 않은 1 내지 4개의 뉴클레오티드를 갖는 오버행을 포함한다.
- [0066] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 상기 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 3'-말단에 오버행을 포함한다.

- [0067] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 하나 이상의 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 렉틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에텔린, 에피프리텔라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 풀룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로텍스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합제, 인테그린-표적화 분자, 다가 양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린에 라이게이션된다.
- [0068] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 60% 억제할 수 있다.
- [0069] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 70% 억제할 수 있다.
- [0070] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 80% 억제할 수 있다.
- [0071] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 90% 억제할 수 있다.
- [0072] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.1 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0073] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.01 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0074] 한 실시양태에서, RNAi는 약 0.001 nM 이하의 EC50을 갖는다.
- [0075] **본원에 기재된 RNAi 작용제를 사용하는 치료 방법**
- [0076] 한 특정한 구체적 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 적어도 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC-관련 질환을 치료하는 방법에 관한 것이다. 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용은 RNAi 작용제를 포함하는 조성물이 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함하는 것인 이러한 방법에 관한 것이다.
- [0077] 이러한 실시양태의 다양한 특정한 구체적 실시양태가 하기 기재되어 있다.
- [0078] 한 실시양태에서, 베타-ENaC-관련 질환은 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압이다.
- [0079] 한 실시양태에서, 베타-ENaC-관련 질환은 남성 섬유증이다.
- [0080] 한 실시양태에서, 방법은 추가의 치료의 투여를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 추가의 치료는 치료 유효량의 조성물이다.
- [0081] 한 실시양태에서, 추가의 치료는 방법 (또는 절차)이다.
- [0082] 한 실시양태에서, 추가의 치료 및 RNAi 작용제는 임의의 순서로 투여될 수 있거나, 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0083] 한 실시양태에서, 방법은 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압에 대한 추가의 치료를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0084] 한 실시양태에서, 방법은 ENaC에 대한 추가의 길항제, 칼륨-보존성 이뇨제, 아밀로리드, 트리암테렌, 식이성 염 섭취의 조절, 항생제, DNase 요법, 알부트롤, N-아세틸시스테인, 호흡 요법, 타진 요법 및 유산소 운동의 목록으로부터 선택된 추가의 치료 또는 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0085] 한 실시양태에서, 조성물은 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제2 RNAi 작용제는 제1 작용제와 물리적으로 분리되어 있거나, 또는 둘은 물리적으로 연결되어 있다 (예를 들어, 공유적으로 연결되거나 달리 접합됨).

- [0086] 한 실시양태에서, 방법은 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 추가의 RNAi 작용제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0087] **본원에 기재된 RNAi 작용제를 사용하여 베타-ENaC의 발현을 억제하는 방법**
- [0088] 한 특정한 구체적 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 억제하는 방법에 관한 것이다. 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 적어도 안티센스 가닥을 포함하고/거나, 센스 가닥, 및 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0089] 본 발명의 이러한 측면의 다양한 실시양태가 하기 기재되어 있다.
- [0090] 한 실시양태에서, 개체는 베타-ENaC-관련 질환을 앓고 있거나 그에 걸리기 쉽다.
- [0091] 한 실시양태에서, 베타-ENaC-관련 질환은 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압이다.
- [0092] 한 실시양태에서, 베타-ENaC-관련 질환은 남성 섬유증이다.
- [0093] 한 실시양태에서, 방법은 추가의 치료의 투여를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 추가의 치료는 치료 유효량의 조성물이다.
- [0094] 한 실시양태에서, 추가의 치료는 방법 (또는 절차)이다.
- [0095] 한 실시양태에서, 추가의 치료 및 RNAi 작용제는 임의의 순서로 투여될 수 있거나, 또는 동시에 투여될 수 있다.
- [0096] 한 실시양태에서, 방법은 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압에 대한 추가의 치료를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0097] 한 실시양태에서, 방법은 ENaC에 대한 추가의 길항제, 칼륨-보존성 이뇨제, 아밀로리드, 트리암테렌, 식이성 염 섭취의 조절, 항생제, DNase 요법, 알부트롤, N-아세틸시스테인, 호흡 요법, 타진 요법 및 유산소 운동의 목록으로부터 선택된 추가의 치료 또는 요법을 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0098] 한 실시양태에서, 조성물은 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제2 RNAi 작용제는 제1 작용제와 물리적으로 분리되어 있거나, 또는 둘은 물리적으로 연결되어 있다 (예를 들어, 공유적으로 연결되거나 달리 접합됨).
- [0099] 한 실시양태에서, 방법은 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 추가의 RNAi 작용제를 투여하는 단계를 추가로 포함한다.
- [0100] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 제약 제제**
- [0101] 한 특정한 구체적 실시양태에서, 본 개시내용은 본 개시내용의 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다. 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 적어도 안티센스 가닥을 포함하고/거나, 센스 가닥, 및 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 상기 조성물은 제약상 유효한 제제 중에 존재한다.
- [0102] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 RNAi 작용제가 센스 가닥, 및 본원에 제공되고 예를 들어 표 1에 열거된 바와 같은 구체적 듀플렉스로부터 선택된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인, 베타-ENaC-관련 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의 RNAi 작용제의 용도에 관한 것이다.
- [0103] **ENaC**
- [0104] "ENaC"는 3개의 상이하지만 상동성인 서브유닛 (알파, 베타 및 감마)으로 구성된 막 단백질인 상피 나트륨 채널

을 의미한다.

- [0105] ENaC는 말단 네프론 (피질 및 수질 집합 세관) 및 말단 결장의 상피 세포의 정단 막에, 및 기도, 및 여러 분비선의 배출관에 존재한다. ENaC는 또한 태반, 뇌 및 방광에서 발현된다. 이것은 동일한 세포의 기저외측 막에 위치한 Na^+/K^+ -ATPase와 함께 이들 기관의 루멘에서 상피 세포 내로의 Na^+ 를 위한 제어된 진입 경로를 제공하고, 외부 매질에서 상피 세포를 통해 세포외액 내로의 및 혈액을 향한 Na^+ 의 능동적 지향성 수송을 담당한다. ENaC는 루멘에 직면한 정단 막 상에 위치하고, 루멘에서 상피 세포 내로의 나트륨의 이동을 허용한다. 이어서, ENaC를 통해 재흡수된 나트륨은 Na^+/K^+ -ATPase에 의해 상피 세포에서 혈류 내로 다시 배출된다. ENaC에 의한 나트륨의 재흡수는 일정한 세포의 Na^+ 농도를 유지하기 위해 물의 삼투성 섭취를 동반한다. 이는 혈액량을 변화시키고, 결과적으로 혈압에 영향을 미친다. 따라서, ENaC는 전해질 항상성, 및 혈액량 및 혈압의 제어에서 중요한 역할을 한다. 예를 들어, 문헌 [Saxena et al. 1998 Biochem. Biophys. Res. Comm. 252: 208-213]을 참조한다.
- [0106] ENaC는 이것이 발현되는 다양한 기관에서 다양한 기능적 역할을 갖는다. 신장 (집합 세관)에서, ENaC를 통한 Na^+ 의 조절된 재흡수는 비뇨기 Na^+ 배출 조절의 주요 메커니즘을 제공하고, 따라서 알도스테론의 호르몬 제어 하에 전체 유기체 Na^+ 균형의 섬세한 제어를 허용한다. 정단 막 전위에 대한 그의 탈분극 효과에 의해, Na^+ 채널은 또한 세관 K^+ 분비를 위한 구동력을 제공한다.
- [0107] ENaC의 특이적 억제제는 비뇨기 Na^+ 배출을 촉진시키고, K^+ 분비를 억제하고; 이들 약물 (아밀로리드 및 트리암테렌 포함)은 따라서 K^+ -보존성 이뇨제로서 사용된다. ENaC는 말단 결장에서 대변에서의 과도한 Na^+ 손실을 방지하는 유사한 기능적 역할을 갖는다. 기도에서, 중요한 역할은 출생시에 기도를 채우고 있는 유체를 재흡수하여 유체 분비 (출생 전)에서 유체 재흡수 (출생 후)로의 이동을 촉진시키는 것이다.
- [0108] 양성 섬유증 막횡단 전도도 조절자와 함께, 이것은 또한 점액 청소에 필요한 얇은 점막 유체 필름을 유지하는 기도에서의 유체 균형의 정밀한 조절에 참여한다. 타액선 및 한선의 배출관에서, ENaC의 활성화는 루멘의 Na^+ 농도를 감소시켜, 보다 저염의 타액의 배출을 허용하고 땀 유체에서의 Na^+ 의 주 손실을 방지하는 경향이 있다. 예를 들어, 문헌 [Hummler et al. 1999 Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571] 및 그에 인용된 참고문헌을 참조한다.
- [0109] ENaC의 서열 및/또는 발현에서의 변경 및 돌연변이는 ENaC의 과다-발현 또는 과다-활성을 유발할 수 있다. 본 개시내용의 RNAi 작용제를 제공하는 것은 베타-ENaC의 수준을 감소시킴으로써 Na^+ 의 조절된 재흡수에 대한 균형을 복구한다.
- [0110] **베타-ENaC**
- [0111] "베타-ENaC"는 유전자 또는 단백질 아밀로리드-민감성 나트륨 채널 서브유닛 베타 (또는 상기 단백질을 코딩하는 임의의 핵산)를 의미하며, 이는 또한 다양하게 표시된다: 나트륨 채널, 무전압-게이팅 1, 베타; SCNN1B; bENaC; ENaCb; ENaC-베타; SCNEB, 또는 β -ENaC. 추가의 식별자는 하기를 포함한다: OMIM: 600760; MGI: 104696; HomoleGene: 284; 및 GeneCards: SCNN1B. 추가의 정보는 하기에서 찾아볼 수 있다: 인간: Entrez 6338; Ensembl ENSG00000168447; UniProt P51168; RefSeq (mRNA) NM_000336; RefSeq (단백질) NP_000327; 위치 (UCSC) Chr 16: 23.22 - 23.3 Mb. 마우스: Entrez 20277; Ensembl ENSMUSG00000030873; UniProt Q3TP51; RefSeq (mRNA) NM_011325 RefSeq (단백질) NP_035455; 위치 (UCSC) Chr 7: 121.66 - 121.71 Mb.
- [0112] 인간 베타-ENaC의 아미노산 서열은 문헌 [Saxena et al. 1998 Biochem. Biophys. Res. Comm. 252: 208-213]에 제공되어 있다.
- [0113] 베타-ENaC의 기능적 도메인이 묘사되어 있다. 단백질은 세포내 N-말단 도메인 [아미노산 ("aa") 1 내지 50], 제1 막횡단 도메인 (aa 51 내지 71), 세포외 루프 (aa 72 내지 533), 제2 막횡단 도메인 (aa 534 내지 553) 및 C-말단 세포내 도메인 (aa 554 내지 640)을 갖는다.
- [0114] C-말단 세포내 도메인은 돌연변이가 리들 증후군 및 다른 질환에 관련되어 있는 2개의 영역을 함유한다: 아미노산 564 내지 595의 영역 및 "PY" 모티프 [aa (아미노산) 615 내지 618에서 아미노산 컨센서스 서열 PPXY를

가짐]. 예를 들어, 문헌 [Saxena et al. 1998]을 참조한다.

- [0115] 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제는 베타-ENaC의 특정한 기능적 도메인 또는 도메인들에 상응하는 mRNA의 일부와 상호작용할 수 있다. 다양한 실시양태에서, 본원의 RNAi 작용제는 기능적 도메인에 상응하는 서열에서, 예를 들어 N-말단 세포내 도메인에서, 제1 막횡단 도메인에서, 세포외 루프에서, 제2 막횡단 도메인에서, 또는 C-말단 세포내 도메인에서, 또는 보다 구체적으로는 아미노산 564 내지 595의 영역에서, 또는 PY 모티프 (아미노산 615 내지 618)에서 베타-ENaC mRNA에 특이적으로 결합한다.
- [0116] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용의 RNAi 작용제는 5' 또는 3' UTR (즉, 비번역 영역(들))에 결합한다.
- [0117] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용의 RNAi 작용제는 베타-ENaC mRNA에 결합하지만, 특정한 기능적 도메인에 상응하는 서열에서 결합하지 않는다 (예를 들어, N-말단 세포내 도메인에서 결합하지 않거나, 제1 막횡단 도메인에서 결합하지 않거나, 세포외 루프에서 결합하지 않거나, 제2 막횡단 도메인에서 결합하지 않거나, 또는 C-말단 세포내 도메인에서 결합하지 않거나, 또는 보다 구체적으로는 아미노산 564 내지 595의 영역에서 결합하지 않거나, 또는 PY 모티프 (아미노산 615 내지 618)에서 결합하지 않음).
- [0118] 본원의 실시양태에서, 베타-ENaC mRNA의 특정한 영역에 대한 RNAi 작용제의 결합은 베타-ENaC의 감소된 발현, 수준 및/또는 활성을 유발한다.
- [0119] 베타-ENaC의 수준을 감소시킴에 있어서의 RNAi 작용제의 효능은 직접적으로, 예를 들어 베타-ENaC mRNA 존재량의 수준 또는 단백질 자체의 수준을 측정함으로써 측정될 수 있다. 대안적으로, RNAi의 효능은 베타-ENaC의 공지된 활성 중 임의의 하나 이상의 수준을 측정함으로써 또는 베타-ENaC 하류의 경로 성분의 활성에서의 변화를 측정함으로써 간접적으로 측정될 수 있다.
- [0120] 상기 단백질의 주된 활성은 알파-ENaC 및 감마-ENaC, 및 아마도 때로는 델타-ENaC와 함께 나트륨 채널 ENaC를 형성하는 것이다. 베타-ENaC, 감마-ENaC 및 델타-ENaC는 또한 체장, 고환 및 난소에서 발견되는 특정한 유형의 채널을 형성할 수 있다. 베타-ENaC는 또한 WWP2 및 NEDD4와 상호작용하는 것으로 나타났다. 예를 들어, 문헌 [McDonald et al. (2002). Am. J. Physiol. Renal Physiol. 283 (3): F431-6; Harvey et al. 2001. J. Biol. Chem. 276 (11): 8597-601; Farr et al. (2000). Biochem. J. 345 Pt 3: 503-9]을 참조한다. 베타-ENaC의 활성은, 예를 들어 이들 다른 생물학적 성분과 함께 기능적 단위에 결합하고 이를 형성하는 그의 능력에 의해 측정될 수 있다. RNAi 작용제의 효능은 또한 점액 막 상의 표면 액체의 양을 측정함으로써, 및 베타-ENaC를 발현하는 조직의 조직학적 연구를 통해 간접적으로 측정될 수 있다.
- [0121] **다양한 종에서의 베타-ENaC 서열**
- [0122] 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제는 그의 서열이 인간 베타-ENaC 유전자 및 시험 동물로부터의 상동 유전자에 상응하는 mRNA의 서열과 완전히 일치하도록 설계될 수 있다. 따라서, 정확히 동일한 RNAi 작용제가 시험 동물 (예를 들어, 래트, 마우스, 시노몰구스 원숭이 등) 및 인간 둘 모두에서 사용될 수 있다. 특히 문헌 [Garty et al. 1997 Physiol. Rev. 77: 359-396; 및 Ahn et al. 1999 Am. J. Physiol. 277:F121-F129]에 기재된 바와 같이, 다양한 ENaC 유전자에 대한 서열이 인간, 마우스, 래트, 소 및 닭을 비롯한 다수의 종에서 결정되었다.
- [0123] 시노몰구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스(*Macaca fascicularis*) 또는 "시노")에서의 베타-ENaC 서열이 결정되었다.

[0124] 시노 베타-ENaC mRNA (서열 221) 및 인간 베타-ENaC mRNA (서열 222) 서열의 정렬을 하기 나타내었다.

```

시노 베타 -ENaC -----
인간 베타 -ENaC  GTGCTTCCCCGCCCCGGAACCTGCTCCCTCCCGAGTCGGTCTCGCCGCGCT 50

시노 베타 -ENaC -----GGTACCCAGCTTGCT 15
인간 베타 -ENaC  CGCCGGGTGTCCAGTGTACCAACACTCGGCCGCCGCCAGCTTGGC 100
                    *      *
                    *      *

시노 베타 -ENaC  TGTCTTTTTCAGAAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCAGATCAAT 65
인간 베타 -ENaC  GCGCACCCGCCCTCCGCCACCGCCGACAGCGCGCATCTCCGTGTCCCC 150
                    **      **      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  TCCCCGGGATCCGA-ATTGCGCCACCATGCACGTGAAGAAGTACCTGCTG 114
인간 베타 -ENaC  GCTCCGCCGCCCGAGCAGGTGCCACTATGCACGTGAAGAAGTACCTGCTG 200
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  AAGTGCTGCACCGGCTGCAGAAGGGCCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 164
인간 베타 -ENaC  AAGGGCTGCATCGGCTGCAGAAGGGCCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 250
                    ***      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  GCTGGTGTGGTACTGCGATAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGTATCA 214
인간 베타 -ENaC  GCTGGTGTGGTACTGCGACAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGATCA 300
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  TCTGCGAGGGGCCAAGAAGAAAGCCGTGTGGTTCTCTGCTCACCTGCTC 264
인간 베타 -ENaC  TCTGTGAGGGGCCAAGAAGAAAGCCATGTGGTTCTCTGCTCACCTGCTC 350
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  TTCACTGCTCTCGTCTGCTGGCAGTGGGGCATCTTCATCAGGACCTACTT 314
인간 베타 -ENaC  TTCGCGCCCTCGTCTGCTGGCAGTGGGGCATCTTCATCAGGACCTACTT 400
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  GAGCTGGGAGGTCAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGACCATGGACT 364
인간 베타 -ENaC  GAGCTGGGAGGTCAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGACCATGGACT 450
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  TCCCCGCGTCCACATCTGCAATGCTAGCCCTTCAAGTATTCCAAAGTC 414
인간 베타 -ENaC  TCCCTGCCGTCACCATCTGCAATGCTAGCCCTTCAAGTATTCCAAAATC 500
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  AAGCATTTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGGAAGCTGTCTGGAGAG 464
인간 베타 -ENaC  AAGCATTTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGGAAGCTGTCTGGAGAG 550
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  AATCCTGGCTCCTGAGCTAAGCCATGCCAATGCCACCAGGACCTGAACT 514
인간 베타 -ENaC  AATCCTGGCTCCTGAGCTAAGCCATGCCAATGCCACCAGGAACTGAACT 600
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  CTTCATCTGGAACCACACCCACTGGTCCTTATTGATGAACGGAACCCC 564
인간 베타 -ENaC  CTTCATCTGGAACCACACCCCTGGTCCTTATTGATGAACGGAACCCC 650
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  CACCACCCATGGTCTCGATCTCTTTGGAGATAACCACAATGGCTTAAC 614
인간 베타 -ENaC  CACCACCCATGGTCTCGATCTCTTTGGAGATAACCACAATGGCTTAAC 700
                    *      *      *      *      *      *      *      *
                    *      *      *      *      *      *      *      *

시노 베타 -ENaC  AAACAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCCATGGGTGCAAAAATGG 664
인간 베타 -ENaC  AAGCAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCCATGGGTGCAAAAATGG 750
    
```

[0125]

```

** *****
시노 베타 -ENaC CCATGAGACTATGTAGCCTCAACGGGACCCAGTGCACCTTCCGGAAC TTC 714
인간 베타 -ENaC CCATGAGACTATGTAGCCTCAACAGGACCCAGTGTACCTTCCGGAAC TTC 800
*****

시노 베타 -ENaC ACCAGCGCTACCCAGGCAGTGACAGAGTGGTACAGCCTGCAGGCCACCAA 764
인간 베타 -ENaC ACCAGTGTACCCAGGCATTGACAGAGTGGTACATCCTGCAGGCCACCAA 850
*****

시노 베타 -ENaC CATCTTTGCGCAGGTGCCGACAGGAGCTGGTGGAGATGAGCTACCCCG 814
인간 베타 -ENaC CATCTTTGCACAGGTGCCACAGCAGGAGCTAGTAGAGATGAGCTACCCCG 900
*****

시노 베타 -ENaC GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTGTTTGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 864
인간 베타 -ENaC GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTATTCGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 950
*****

시노 베타 -ENaC CGGAAC TTCACGTCCATCTTCTACCCTCACTATGGCACTGTACATCTT 914
인간 베타 -ENaC CGGAAC TTCACGTCCATCTTCTACCCTCACTATGGCACTGTACATCTT 1000
*****

시노 베타 -ENaC CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACTTCCTTCGGCCAACCCTGGACCTG 964
인간 베타 -ENaC CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACTTCCTTCGGCCAACCCTGGAACTG 1050
*****

시노 베타 -ENaC AATTGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1014
인간 베타 -ENaC AATTGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1100
*****

시노 베타 -ENaC TTCTTCGCGTCCACGGCTGGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC 1064
인간 베타 -ENaC TTCTTCGCGTCCACGGCCGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC 1150
*****

시노 베타 -ENaC ATACCCTTCATCAGAGACGAGGCATCTATGCCATGTCGGGGACAGAGA 1114
인간 베타 -ENaC ATACCCTTCATCAGAGATGAGGCATCTACGCCATGTCGGGGACAGAGA 1200
*****

시노 베타 -ENaC CGTCCATCGGGGTACTCGTGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGGAGCCCTAC 1164
인간 베타 -ENaC CGTCCATCGGGGTACTCGTGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGGAGCCCTAC 1250
*****

시노 베타 -ENaC AGCCCGTGCACCGTGAATGGCTCCGAGGTCCTCCAAAAC TTCACAG 1214
인간 베타 -ENaC AGCCCGTGCACCGTGAATGGTTCAGAGTCCCGTCCAAAAC TTCACAG 1300
*****

시노 베타 -ENaC TGACTACAACACGACCTACTCCATCCAGGCTGTCTTCGCTCCTGCTTCC 1264
인간 베타 -ENaC TGACTACAACACGACCTACTCCATCCAGGCTGTCTTCGCTCCTGCTTCC 1350
*****

시노 베타 -ENaC AAGACCACATGATCCGTAGCTGCAAGTGTGGGCACTACCTCTACCCACTG 1314
인간 베타 -ENaC AAGACCACATGATCCGTAAGTGTGCAAGTGTGGGCACTACCTCTACCCACTG 1400
*****

시노 베타 -ENaC CCCCCTGGGGAGAAA TACTGCAACAACCGGACTTCCCAGACTGGGCCCA 1364
인간 베타 -ENaC CCCCCTGGGGAGAAA TACTGCAACAACCGGACTTCCCAGACTGGGCCCA 1450
*****

시노 베타 -ENaC TTGCTACTCAGATCTGAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGACCTGCAT TG 1414
인간 베타 -ENaC TTGCTACTCAGATCTACAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGACCTGCAT TG 1500
*****

```


뉴클레오티드는 별표 (*)로 표시하였다.

[0130] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제는 인간, 래트 및 시노 베타-ENaC mRNA에서 동일한 서열을 포함한다. 상기 서열 동일성은 인간 시험 전의 동물 시험을 용이하게 한다. 또 다른 실시양태에서, 베타-ENaC RNAi 작용제는 인간, 마우스 및 시노 베타-ENaC mRNA에서 동일한 서열을 포함한다.

[0131] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 추가 실시양태**

[0132] 한 실시양태에서, 베타-ENaC RNAi 작용제는 임의의 다른 mRNA 또는 유전자의 서열과 일치하지 않는 서열을 포함한다. 한 실시양태에서, 베타-ENaC RNAi 작용제는 적어도 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 모든 다른 공지된 비-베타-ENaC mRNA 또는 유전자와 상이한 서열을 포함한다.

[0133] 한 실시양태에서, 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제는 그를 필요로 하는 환자 (예를 들어, 남성 심유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압을 앓는 환자)에게 투여된다.

[0134] 환자에게 또한 베타-ENaC에 특이적인 하나 초과 RNAi 작용제를 투여할 수 있다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제(들)는 임의로 그 질환에 적절한 하나 이상의 추가의 제약 작용제와 함께 투여될 수 있다. 한 실시양태에서, 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제(들)는 임의로 다른 임의의 적절한 추가의 치료와 함께 투여될 수 있으며, 여기서 추가의 치료는 조성물 또는 방법일 수 있다.

[0135] 남성 심유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압의 경우에, RNAi 작용제(들) 및 추가의 질환 치료(들)는 임의의 순서로, 동시에 또는 순차적으로, 또는 시간 경과에 따라 하나의 또는 다중 용량으로 투여될 수 있다.

[0136] **정의**

[0137] 편의상, 본 명세서, 실시예 및 첨부된 특허청구범위에 사용된 특정 용어 및 어구의 의미를 하기 제공한다. 본 명세서의 다른 부분에서의 용어의 용법과 본 섹션에서 제공된 그의 정의 사이에 명백한 모순이 존재하는 경우에, 본 섹션에서의 정의가 우선할 것이다.

[0138] **RNAi 작용제**

[0139] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 베타-ENaC RNAi 작용제 또는 적어도 베타-ENaC 핵산 (또는 그의 일부)에 상보적인 안티센스 핵산 서열을 포함하는 다른 조성물에 관한 것이거나, 또는 siRNA를 코딩하는 재조합 발현 벡터 또는 하기 정의된 바와 같은 RNAi로서 기능할 수 있는 안티센스 핵산을 포함하는 조성물에 관한 것이다. 본원에 사용된 "안티센스" 핵산은 베타-ENaC 단백질을 코딩하는 "센스" 핵산에 상보적인 (예를 들어, 이중-가닥 DNA의 코딩 가닥에 상보적이거나, mRNA에 상보적이거나, 또는 베타-ENaC 유전자 또는 핵산의 코딩 가닥에 상보적인) 뉴클레오티드 서열을 포함한다.

[0140] 본원에 사용된 용어 "베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제", "베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제", "베타-ENaC에 대한 iRNA 작용제", "베타-ENaC에 대한 siRNA", "베타-ENaC siRNA" 등은 siRNA (짧은 억제 RNA), shRNA (짧은 또는 소형 헤어핀 RNA), iRNA (간섭 RNA) 작용제, RNAi (RNA 간섭) 작용제, dsRNA (이중-가닥 RNA), 마이크로RNA 등을 지칭하고, 베타-ENaC mRNA를 특이적으로 표적화하고/거나 그에 특이적이고/거나 그에 결합하는 조성물을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "안티센스 핵산" 또는 "안티센스 핵산을 포함하는 조성물" 등은 광범위하게는 그의 표적에 대해 안티센스인 하나 이상의 핵산 가닥을 포함하는 임의의 조성물을 포함하도록 의도되고; 이는 임의의 siRNA, shRNA, iRNA, dsRNA, 마이크로RNA, 안티센스 올리고뉴클레오티드, 및 안티센스 핵산을 포함하는 임의의 다른 조성물을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 본원에 사용된 용어 "iRNA" 및 "RNAi"는, RNA (또는 그의 유도체)를 함유하고, RNA-유도된 침묵화 복합체 (RISC) 경로를 통해 또 다른 RNA 전사체의 표적화된 절단을 매개하는 작용제를 지칭한다. 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 RISC 복합체/경로를 활성화하는 올리고뉴클레오티드 조성물이다. 또 다른 실시양태에서, RNAi 작용제는 안티센스 가닥 서열 (안티센스 올리고뉴클레오티드)을 포함한다.

[0141] 본 개시내용의 RNAi 작용제(들)는 베타-ENaC mRNA를 표적화한다 (예를 들어, 그에 결합하거나, 그에 어닐링되거나, 기타 등등). 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 사용은 베타-ENaC 활성, 수준 및/또는 발현의 감소, 예를 들어 표적 유전자 또는 표적 서열의 "녹-다운" 또는 "녹-아웃"을 일으킨다. 특히 한 실시양태에서, 베타-ENaC의 과다-발현 또는 과다-활성을 특징으로 하는 질환 상태의 경우에, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 투여

는 정상 수준의 베타-ENaC 활성 및/또는 정상 수준의 Na⁺ 재흡수를 복구하기에 충분하도록 베타-ENaC 표적을 녹다운시킨다.

- [0142] 한 실시양태에서, RNAi는 단일 가닥 (예컨대, 본원에 기재된 바와 같은 shRNA)을 포함한다.
- [0143] 다양한 실시양태에서, 한쪽 또는 양쪽 가닥은 닉(nick)을 갖는다.
- [0144] 한 실시양태에서, 단일-가닥 RNAi 작용제 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드는 센스 및/또는 안티센스 가닥을 포함할 수 있다. 예를 들어, 문헌 [Sioud 2005 J. Mol. Biol. 348:1079-1090] 및 그에 인용된 참고문헌을 참조한다. 따라서, 본 개시내용은 본원에 기재된 RNAi 작용제의 센스 또는 안티센스 가닥을 포함하는 단일 가닥을 갖는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0145] 본 개시내용에 특히 유용한 siRNA는 베타-ENaC mRNA의 영역에 특이적으로 결합할 수 있는 것들을 포함하고, 하기 특성 중 하나 이상을 갖는다: 베타-ENaC의 코딩 절편에 결합함; 5' 비번역 영역과 코딩 절편의 시작점의 접합부에 또는 그 근처에 결합함; mRNA의 번역 개시 부위에 또는 그 근처에 결합함; 엑손과 인트론의 접합부에, 그를 가로질러, 또는 그 근처에 결합함; 다른 유전자의 mRNA 또는 전사체에 거의 또는 전혀 결합하지 않음 ("표적을 벗어난 효과"가 거의 또는 전혀 없음); 이중-가닥이 아닌 영역 또는 영역들 또는 줄기 영역에서 또는 그 근처에서, 예를 들어 루프 또는 단일-가닥 부분에서 베타-ENaC mRNA에 결합함; 번역원성을 거의 또는 전혀 도출하지 않음; 보존된 서열의 존재가 다양한 실험 동물을 사용하여 시험하는 것을 용이하게 하므로, 다양한 동물 종 (인간, 마우스, 래트, 시노 등 포함) 사이에서 보존되어 있는 베타-ENaC mRNA 서열의 절편에서 결합함; mRNA의 이중-가닥 영역(들)에 결합함; AT-풍부 영역 (예를 들어, 적어도 약 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 또는 60% AT-풍부)에 결합함; 및/또는 siRNA 활성을 감소시키는 것으로 공지되거나 의심되는 특정한 서열 (예를 들어, siRNA의 이중-가닥 부분의 분리를 감소시킬 수 있는 5' 말단에서의 GG 서열의 존재)이 결핍됨. 한 실시양태에서, 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제는 이들 특성 중 임의의 하나 이상을 갖는 이중-가닥 RNA일 수 있다.
- [0146] 본원에 사용된 용어 "이중-가닥 RNA" 또는 "dsRNA"는 제1 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제; 예를 들어, 2개의 역평행 및 실질적으로 상보적인 핵산 가닥 (이는 표적 RNA에 관하여 "센스" 및 "안티센스" 배향을 갖는 것으로 지칭될 것임)을 포함하는 혼성화된 듀플렉스 영역 (즉, 제1 가닥 및 제2 가닥으로부터의 뉴클레오티드 염기가 쌍을 이루는 영역)을 갖는 RNA 분자 또는 분자의 복합체를 포함하는 조성물을 지칭한다. mRNA 표적에 관하여, 안티센스 가닥은 또한 "가이드" 가닥으로도 불리고, 센스 가닥은 또한 "패신저" 가닥으로도 불린다. 패신저 가닥은 하기 중 적어도 하나 이상을 포함할 수 있다: 다른 가닥과 비교하여 1개 이상의 여분의 뉴클레오티드 (예를 들어, 벌지(bulge) 또는 1개 nt의 루프), 다른 가닥과 비교하여 닉, 겹 등. 다양한 실시양태에서, RNAi 작용제는 제1 가닥 및 제2 가닥을 포함한다. 다양한 실시양태에서, 제1 가닥은 센스 가닥이고, 제2 가닥은 안티센스 가닥이다. 다른 실시양태에서, 제1 가닥은 안티센스 가닥이고, 제2 가닥은 센스 가닥이다.
- [0147] 듀플렉스 영역은 RISC 경로를 통한 목적하는 표적 RNA의 특이적 분해를 허용하는 임의의 길이의 것일 수 있으나, 전형적으로는 9 내지 36 염기 쌍 ("bp") 길이, 예를 들어 15-30 bp 길이의 범위일 것이다. 9 내지 36 bp의 듀플렉스를 고려하여, 듀플렉스는 상기 범위 내 임의의 길이, 예를 들어 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 또는 36 bp 및 그 사이의 임의의 하위범위, 예컨대 (이에 제한되지 않음) 15-30 bp, 15-26 bp, 15-23 bp, 15-22 bp, 15-21 bp, 15-20 bp, 15-19 bp, 15-18 bp, 15-17 bp, 18-30 bp, 18-26 bp, 18-23 bp, 18-22 bp, 18-21 bp, 18-20 bp, 19-30 bp, 19-26 bp, 19-23 bp, 19-22 bp, 19-21 bp, 19-20 bp, 19 bp, 20-30 bp, 20-26 bp, 20-25 bp, 20-24 bp, 20-23 bp, 20-22 bp, 20-21 bp, 20 염기쌍, 21-30 bp, 21-26 bp, 21-25 bp, 21-24 bp, 21-23 bp, 21-22 bp, 21 bp, 22 bp 또는 23 bp일 수 있다. 다이스 및 유사한 효소를 사용한 프로세싱에 의해 세포에서 생성된 dsRNA는 일반적으로 약 19 내지 약 22 bp 길이의 범위 내에 있다. dsDNA의 듀플렉스 영역의 한 가닥은 표적 RNA의 영역에 실질적으로 상보적인 서열을 포함한다. 듀플렉스 구조를 형성하는 두 가닥은 하나 이상의 자기-상보적 듀플렉스 영역을 갖는 단일 RNA 분자로부터 유래할 수 있거나, 또는 혼성화하여 듀플렉스를 형성하는 2개 이상의 분리된 RNA 분자로부터 형성될 수 있다. 단일 분자의 2개의 자기-상보적 영역으로부터 듀플렉스 영역이 형성되는 경우에, 분자는 듀플렉스 구조를 형성하는 한 가닥의 3'-말단과 각각의 다른 가닥의 5'-말단 사이의 뉴클레오티드의 단일-가닥 쇠 (본원에서 "헤어핀 루프"로 지칭됨, 예를 들어 예컨대 shRNA 구축물에서 발견됨)에 의해 분리된 듀플렉스 영역을 가질 수 있다. 헤어핀 루프는 쌍을 이루지 않은 1개 이상의 뉴클레오티드를 포함할 수 있고; 일부 실시양태에서 헤어핀 루프는 쌍을 이루지 않은 적어도 3, 적어도 4, 적어도 5, 적어도 6, 적어도 7, 적어도 8, 적어도 9, 적어도 10, 적어도 20, 적어도 23개 또는 그 초과 뉴클레오티드를 포함할 수 있다.

dsRNA의 두 실질적으로 상보적인 가닥이 분리된 RNA 분자로 구성되는 경우에, 그 분자들은 공유적으로 연결될 필요는 없으나, 그러할 수 있다. 두 가닥이 헤어핀 루프에 의해 공유적으로 연결되어 있는 경우에, 구축물은 일반적으로 본원에서 및 당업계에서 "shRNA"로 지칭된다. 두 가닥이 헤어핀 루프 이외의 수단에 의해 공유적으로 연결되어 있는 경우에, 연결 구조는 "링커"로 지칭된다.

[0148] RNA 간섭

[0149] RNA 간섭 (RNAi)은 이중-가닥 RNA (dsRNA)를 사용하여 dsRNA와 동일한 서열을 함유하는 메신저 RNA (mRNA)를 분해하는 전사-후, 표적화된 유전자-침묵화 기술이다. RNAi의 프로세싱은 리보뉴클레아제 III (다이스)이 보다 긴 dsRNA를 siRNA로 불리는 보다 짧은 단편으로 절단할 때 발생한다. siRNA (소형 간섭 RNA)는 전형적으로 약 21 내지 23개의 뉴클레오티드 길이이고, 약 19 염기 쌍 듀플렉스를 포함한다. 이어서, 보다 작은 RNA 절편은 표적 mRNA의 분해를 매개한다. 다이스는 또한 번역 제어에 관련지어져 있는 보존된 구조의 전구체 RNA로부터의 21- 및 22-뉴클레오티드의 소형 일시적 RNA (stRNA)의 절제에 관련지어져 있다. 문헌 [Hutvagner et al. 2001, Science, 293, 834]. RNAi 반응은 또한 siRNA의 안티센스 가닥에 상보적인 단일-가닥 mRNA의 절단을 매개하는, 통상적으로 RNA-유도된 침묵화 복합체 (RISC)로 지칭되는 엔도뉴클레아제 복합체를 특징으로 한다. 표적 RNA의 절단은 siRNA 듀플렉스의 안티센스 가닥에 상보적인 영역의 중간에서 일어난다.

[0150] 한 측면에서, RNA 간섭 작용제는 표적 RNA 서열과 상호작용하여 표적 RNA의 절단을 유도하는 단일-가닥 RNA를 포함한다. 이론에 얽매이기를 원치 않는, 식물 및 무척추동물 세포 내로 도입된 긴 이중-가닥 RNA는 다이스로 공지된 유형 III 엔도뉴클레아제에 의해 siRNA로 분해된다 (문헌 [Sharp et al., Genes Dev. 2001, 15:485]). 리보뉴클레아제-III-유사 효소인 다이스는 dsRNA를 특징적인 2개 염기 3' 오버행을 갖는 19-23 염기 쌍의 짧은 간섭 RNA로 프로세싱한다 (문헌 [Bernstein, et al., (2001) Nature 409:363]). 이어서, siRNA는 하나 이상의 헬리카제가 siRNA 듀플렉스를 풀어낸 곳에서 RNA-유도된 침묵화 복합체 (RISC) 내로 도입되어, 이체는 쌍을 이루지 않은 siRNA 가닥 중 하나가 "가이드" 가닥으로서 작용하여 표적 인식을 안내할 수 있게 한다 (문헌 [Nykanen, et al., (2001) Cell 107:309]). 안티센스 가이드 가닥이 적절한 표적 mRNA에 결합하면, RISC 내의 하나 이상의 엔도뉴클레아제가 표적을 절단하여 침묵화를 유도한다 (문헌 [Elbashir, et al., (2001) Genes Dev. 15:188]). 따라서, 한 측면에서 본 개시내용은 RISC 복합체의 형성을 촉진시켜 표적 유전자의 침묵화를 일으키는 단일-가닥 RNA에 관한 것이다.

[0151] RNA 간섭은 또한 다양한 시스템에서 연구되어 왔다. 드로스필라(Drosophila) 배아 용해물에서의 연구 (문헌 [Elbashir et al. 2001 EMBO J. 20: 6877] 및 국제 PCT 공보 번호 WO 01/75164 (Tuschl et al.))는 특히 포유동물을 비롯한 다양한 시스템에서 효율적인 RNAi 활성을 매개하는 데 필수적인 siRNA 길이, 구조, 화학적 조성 및 서열에 대한 특정 요건을 밝혀내었다. 이들 연구는 21-뉴클레오티드 siRNA 듀플렉스가 3'-말단 디뉴클레오티드 오버행을 함유하는 경우에 가장 활성임을 보여주었다. 2'-데옥시 뉴클레오티드 (2'-H)로의 3'-말단 siRNA 오버행 뉴클레오티드의 치환은 허용되었다. 또한, siRNA 듀플렉스의 표적-상보적 가닥 상의 5'-포스페이트는 통상적으로 siRNA 활성에 요구된다. 가장 중요하게는 치료 용도를 위해, 50 bp보다 짧은 siRNA 듀플렉스는 포유동물 세포에서 인터페론 반응을 활성화하지 않는다. 예를 들어, WO 01/752164 (Tuschl et al.)를 참조한다.

[0152] 본원에 기재된 dsRNA 분자 (RNAi 작용제)는 따라서 베타-ENaC의 RNA 간섭에 유용하다.

[0153] RNAi 작용제의 특징: 센스 가닥, 안티센스 가닥 및 (임의적) 오버행

[0154] 다양한 실시양태에서, RNAi 작용제는 제1 가닥 및 제2 가닥, 예를 들어 센스 가닥 및 안티센스 가닥, 및 임의로 본원에서 오버행으로 지칭된 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드를 함유하는 듀플렉스의 한쪽 또는 양쪽 말단을 포함한다.

[0155] 용어 "안티센스 가닥"은 표적 서열에 대해 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 RNAi 작용제의 가닥을 지칭한다. 본원에 사용된 용어 "상보성의 영역"은 본원에 정의된 바와 같은 서열, 예를 들어 표적 서열에 실질적으로 상보적인 안티센스 가닥 상의 영역을 지칭한다. 상보성의 영역이 표적 서열에 완전히 상보적이지는 않은 경우에, 미스매치는 분자의 내부 또는 말단 영역에 있을 수 있다. 일반적으로, 가장 허용되는 미스매치는 말단 영역에, 예를 들어 5' 및/또는 3' 말단의 5, 4, 3 또는 2개의 뉴클레오티드 이내에 있다.

[0156] 본원에 사용된 용어 "센스 가닥"은 안티센스 가닥 (해당 용어는 본원에 정의된 바와 같음)의 영역에 실질적으로 상보적인 영역을 포함하는 RNAi 작용제의 가닥을 지칭한다.

[0157] 유전자의 서열은 개체로부터 개체 사이에서, 특히 코딩 절편 내의 위블 위치에서 또는 비번역 영역에서 달라질 수 있고; 개체는 또한 코딩 서열에서 서로 상이하어 mRNA에서 추가의 차이를 생성할 수 있다. 필요하다면 및

필요한 경우에, RNAi 작용제의 센스 및 안티센스 가닥의 서열은 따라서 개별 환자의 서열에 상응하도록 설계될 수 있다. RNAi 작용제는 또한 면역원성, 바람직하지 않은 mRNA에의 결합 (예를 들어, "표적을 벗어난 효과")을 감소시키거나 또는 혈중에서의 안정성을 증가시키도록 서열에서 변형될 수 있다. 이들 서열 변이체는 RNAi 작용제의 염기 또는 5' 또는 3' 또는 다른 말단-캡의 화학적 변형과 독립적이다.

[0158] RNAi 작용제는 또한 0, 1 또는 2개의 오버행을 가질 수 있고; 0개 nt의 오버행의 경우에, 이들은 평활-말단화되어 있다. RNAi 작용제는 0, 1 또는 2개의 평활 말단을 가질 수 있다. "평활-말단화 RNAi 작용제"에서는 두 가닥 모두가 염기-쌍으로 종결되고; 따라서 평활-말단화 분자는 3' 또는 5' 단일-가닥 뉴클레오티드 오버행이 결핍된다.

[0159] 본원에 사용된 용어 "오버행" 또는 "뉴클레오티드 오버행"은 RNAi 작용제의 듀플렉스 구조의 두 가닥 중 적어도 하나의 말단으로부터 돌출된 쌍을 이루지 않은 적어도 1개의 뉴클레오티드를 지칭한다. 예를 들어, dsRNA의 한 가닥의 3'-말단이 다른 가닥의 5'-말단을 넘어 연장되는 경우에, 또는 그 반대의 경우에, 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드(들)은 오버행을 형성한다. dsRNA는 적어도 1개의 뉴클레오티드의 오버행을 포함할 수 있고; 대안적으로는 오버행은 적어도 2개의 뉴클레오티드, 적어도 3개의 뉴클레오티드, 적어도 4개의 뉴클레오티드, 적어도 5개의 뉴클레오티드 또는 그 초과 뉴클레오티드를 포함할 수 있다. 오버행은 데옥시뉴클레오티드/뉴클레오시드를 비롯한 뉴클레오티드/뉴클레오시드 유사체를 포함하거나 그로 이루어질 수 있다. 오버행(들)은 센스 가닥, 안티센스 가닥 또는 이들의 임의의 조합 상에 있을 수 있다. 추가로, 오버행의 뉴클레오티드(들)은 dsRNA의 안티센스 또는 센스 가닥의 5' 말단, 3' 말단 또는 양쪽 말단 상에 존재할 수 있다.

[0160] RNAi 작용제는 또한 임의로 캡을 포함할 수 있다. 용어 "캡" 등은 이중-가닥 뉴클레오티드 듀플렉스의 말단에 부착되어 있는 화학적 모이어티를 포함하지만, 뉴클레오티드 또는 뉴클레오시드인 화학적 모이어티를 배제하기 위해 본원에서 사용된다. "3' 캡"은 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 3' 말단에 부착되어 있다. "5' 캡"은 뉴클레오티드 또는 올리고뉴클레오티드의 5' 말단에 부착되어 있다. 한 실시양태에서, 3' 말단 캡은 예를 들어 WO 2005/021749 및 WO 2007/128477에 개시된 바와 같다.

[0161] 본 개시내용은 따라서 RNAi 작용제 내에 안티센스 가닥 (이는 인접하거나 링커 또는 루프를 통해 연결될 수 있음)을 포함하는 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제를 고려한다. 보다 구체적인 실시양태에서, RNAi 작용제는 이중-가닥 또는 상보적 영역을 함께 포함하는 안티센스 가닥 및 센스 가닥을 포함한다. 한 실시양태에서, 이것은 또한 임의로 1 또는 2개의 오버행 및/또는 1 또는 2개의 캡을 포함할 수 있다. RNAi 작용제는 베타-ENaC의 RNA 간섭을 유도하는 데 사용된다.

[0162] **표적 및 상보적 서열**

[0163] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 유전자 베타-ENaC를 코딩하는 mRNA를 표적화한다 (예를 들어, 그에 특이적으로 결합하거나, 그에 어닐링되거나, 기타 등등). 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 사용은 베타-ENaC 활성, 수준 및/또는 발현의 감소, 예를 들어 표적 유전자 또는 표적 서열의 "녹다운" 또는 "녹아웃"을 일으킨다. 특히 한 실시양태에서, 베타-ENaC의 과다-발현 또는 과다-활성을 특징으로 하는 질환 상태의 경우에, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 투여는 정상 수준의 베타-ENaC 활성 및/또는 정상 수준의 Na⁺ 재흡수를 복구하기에 충분하도록 베타-ENaC 유전자를 녹다운시킨다.

[0164] 본원에 사용된 "표적 서열" 또는 "표적 유전자"는 1차 전사 생성물의 RNA 프로세싱의 생성물인 mRNA를 비롯하여, 유전자, 예를 들어 베타-ENaC 유전자의 전사 동안 형성된 mRNA 분자의 뉴클레오티드 서열의 인접 부분을 지칭한다. 서열의 표적 부분은 적어도 그 부분에서의 또는 그 근처의 iRNA-유도된 절단을 위한 기질로서의 역할을 하기에 충분히 길 것이다. 예를 들어, 표적 서열은 일반적으로 9-36개의 뉴클레오티드 ("nt") 길이, 예를 들어 15-30개의 nt 길이 (그 사이의 모든 하위범위 포함)일 것이다. 비제한적 예로서, 표적 서열은 15-30개의 nt, 15-26개의 nt, 15-23개의 nt, 15-22개의 nt, 15-21개의 nt, 15-20개의 nt, 15-19개의 nt, 15-18개의 nt, 15-17개의 nt, 18-30개의 nt, 18-26개의 nt, 18-23개의 nt, 18-22개의 nt, 18-21개의 nt, 18-20개의 nt, 19-30개의 nt, 19-26개의 nt, 19-23개의 nt, 19-22개의 nt, 19-21개의 nt, 19-20개의 nt, 19개의 nt, 20-30개의 nt, 20-26개의 nt, 20-25개의 nt, 20-24개의 nt, 20-23개의 nt, 20-22개의 nt, 20-21개의 nt, 20개의 nt, 21-30개의 nt, 21-26개의 nt, 21-25개의 nt, 21-24개의 nt, 21-23개의 nt, 또는 21-22개의 nt, 21개의 nt, 22개의 nt 또는 23개의 nt일 수 있다. RNAi의 센스 및 안티센스 가닥은 표적 핵산인 베타-ENaC의 서열에 상보적인 서열을 포함한다.

[0165] 달리 나타내지 않는 한, 본원에 사용된 용어 "상보적인"은 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티

드 또는 폴리뉴클레오티드가 특정 조건 하에서 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드와 혼성화되어 듀플렉스 구조를 형성하는 능력을 지칭한다. 이러한 조건은, 예를 들어 엄격할 수 있다 (예를 들어, 400 mM NaCl, 40 mM PIPES pH 6.4, 1 mM EDTA, 12-16시간 동안 50°C 또는 70°C, 이어서 세척). 유기체 내부에서 직면할 수 있는 생리학적으로 적절한 조건과 같은 다른 조건을 적용할 수 있다. 당업자는 혼성화된 뉴클레오티드의 궁극적인 적용에 따라, 두 서열의 상보성 시험에 가장 적절한 조건 세트를 결정할 수 있을 것이다.

[0166] 본원에 사용된 "상보적" 서열은 또한, 이들의 혼성화하는 능력에 관하여 상기 요구사항이 충족되는 한, 비-왓슨-크릭(non-Watson-Crick) 염기 쌍 및/또는 비-천연 및 변형된 뉴클레오티드로부터 형성된 염기 쌍을 포함할 수 있거나, 또는 전적으로 그로부터 형성될 수 있다. 이러한 비-왓슨-크릭 염기 쌍은 G:U 위블 또는 후그스타인(Hoogsteen) 염기 쌍형성을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다.

[0167] 본원의 용어 "상보적인", "완전히 상보적인" 및 "실질적으로 상보적인"은 추가로, 이들이 사용된 문맥으로부터 이해될 바와 같이, dsRNA의 센스 가닥 및 안티센스 가닥 사이의, 또는 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 표적 서열 사이의 염기 매칭에 관하여 사용될 수 있다.

[0168] 본원에 사용된 메신저 RNA (mRNA)의 "적어도 일부에 실질적으로 상보적인" 폴리뉴클레오티드는, 관심있는 mRNA (예를 들어, 베타-ENaC를 코딩하는 mRNA)의 인접 부분에 실질적으로 상보적인 폴리뉴클레오티드를 지칭한다. 예를 들어, 폴리뉴클레오티드는 해당 서열이 베타-ENaC를 코딩하는 mRNA의 중단되지 않은 일부에 실질적으로 상보적인 경우에는 베타-ENaC mRNA의 적어도 일부에 상보적이다.

[0169] RNAi 작용제 내의, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 dsRNA 내의 상보적 서열은 한쪽 또는 양쪽 뉴클레오티드 서열의 전체 길이에 걸쳐 제2 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드에 대해 염기-쌍형성된 제1 뉴클레오티드 서열을 포함하는 올리고뉴클레오티드 또는 폴리뉴클레오티드를 포함한다. 이러한 서열은 본원에서 서로에 관하여 "완전히 상보적인" 것으로 지칭될 수 있다. 그러나, 본원에서 제1 서열이 제2 서열에 관하여 "실질적으로 상보적인" 것으로 지칭되는 경우에는, 두 서열은 완전히 상보적일 수 있거나, 또는 이들은 30 염기 쌍 이하의 듀플렉스를 위한 혼성화시에, 이들의 궁극적인 적용 (예를 들어, RISC 경로를 통한 유전자 발현의 억제)에 가장 적절한 조건 하에서 혼성화하는 능력을 유지하는 한 1개 이상의, 그러나 일반적으로 5, 4, 3 또는 2개를 초과하지 않는 미스매치 염기 쌍을 형성할 수 있다. 그러나, 2개의 올리고뉴클레오티드가 혼성화시에 1개 이상의 단일-가닥 오버행을 형성하도록 설계된 경우에, 이러한 오버행은 상보성의 결정에 관하여 미스매치로 간주되지 않을 것이다. 예를 들어, 21개의 뉴클레오티드 길이의 한 올리고뉴클레오티드 및 23개의 뉴클레오티드 길이의 또 다른 올리고뉴클레오티드를 포함하는 듀플렉스 (여기서, 보다 긴 올리고뉴클레오티드는 보다 짧은 올리고뉴클레오티드에 완전히 상보적인 21개 뉴클레오티드의 서열을 포함함)는 본원에 기재된 목적상 "완전히 상보적인" 것으로 또한 지칭될 수 있다. 용어 오버행은 상기 기재된 바와 같이 이중-가닥 뉴클레오티드 듀플렉스의 3' 또는 5' 말단에서의 쌍을 이루지 않은 뉴클레오티드를 설명한다. 한 실시양태에서, 오버행은 0 내지 4개의 nt 길이이고, 3' 말단 상에 있다.

[0170] 따라서, 본 개시내용의 RNAi 작용제는 표적 베타-ENaC 내의 표적 서열에 상보적이거나 실질적으로 상보적이고, 센스 및 안티센스 가닥 (이는 인접하거나, 루프를 통해 연결되거나, 또는 달리 접합될 수 있음)을 포함하는 이중-가닥 (여기서, 이중-가닥 영역은 9 내지 36 bp 길이 (특히, 예를 들어 19-22 bp 또는 19-23 bp 길이)일 수 있음)이고, 추가로 임의로 3' 또는 5' 오버행을 포함할 수 있고, 상기 RNAi 작용제는 추가로 3' 캡을 포함할 수 있다. RNAi 작용제는 RNA 간섭, 베타-ENaC의 수준, 발현 및/또는 활성을 하향조절하는 것 또는 억제하는 것, 및/또는 대략 정상 수준의 ENaC 및/또는 베타-ENaC 활성 또는 ENaC에 관련된 다른 생물학적 기능을 확립시키는 것 또는 재확립시키는 것을 매개한다.

[0171] **베타-ENaC 수준, 발현 및/또는 활성을 저하시키는 RNAi 작용제**

[0172] 베타-ENaC를 표적화하기 위한 RNAi 작용제는, 본원에 제공된 베타-ENaC 서열에 결합하고 RNAi 메커니즘을 통해 베타-ENaC를 감소시키도록 작용하는 것들을 포함한다. 베타-ENaC에 대한 예시적인 siRNA는 예를 들어 표 1에 제공되어 있다.

[0173] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 대략 정상 수준의 베타-ENaC 활성, 발현 및/또는 수준, 및/또는 Na⁺ 재흡수가 달성되도록 베타-ENaC 유전자를 침묵화시키고/거나, 그의 발현을 억제하고/거나, 그의 발현을 하향조절하고/거나, 그의 발현을 저해한다.

[0174] 또한, 다양한 실시양태에서, 질환 상태 및 생물학적 정황에 따라, 정상 수준 미만 또는 정상 수준 초과인 베타-

ENaC 발현, 활성 및/또는 수준의 수준을 확립시키기 위해 본 개시내용의 RNAi 작용제를 사용하는 것이 허용된다.

[0175] 당업계에 공지된 임의의 방법을 이용하여 베타-ENaC siRNA에 의해 유도된 베타-ENaC 활성, 수준 및/또는 발현에서의 변화를 측정할 수 있다. siRNA의 효과를 결정하기 위해, siRNA의 투여 전, 투여 동안 및 투여 후에, 다중 시점에서 측정을 수행할 수 있다.

[0176] 용어 "침묵화시키다", "그의 발현을 억제하다", "그의 발현을 하향조절하다", "그의 발현을 저해하다" 등은, 이들이 베타-ENaC 유전자를 지칭하는 한, 본원에서 제1 세포 또는 세포군과 실질적으로 동일하지만 그와 같이 처리되지 않은 제2 세포 또는 세포군 (대조군 세포)과 비교시에, 베타-ENaC 유전자의 발현이 억제되도록 처리된 베타-ENaC 유전자가 전사되는 제1 세포 또는 세포군으로부터 단리되거나 그에서 검출될 수 있는 베타-ENaC mRNA의 양의 감소에 의해 드러나는, 베타-ENaC 유전자의 발현의 적어도 부분적인 저해를 지칭한다. 억제의 정도는 통상적으로 하기 식으로 표현된다.

[0177] <식 1>

$$\frac{(\text{대조군 세포 내의 mRNA}) - (\text{처리된 세포 내의 mRNA})}{(\text{대조군 세포 내의 mRNA})} \cdot 100\%$$

[0178]

[0179] 대안적으로, 억제의 정도는 베타-ENaC 유전자 발현에 기능적으로 연결되어 있는 파라미터, 예를 들어 베타-ENaC 유전자에 의해 코딩되는 단백질의 양, 폐 유체 수준 또는 점액 수준에서의 변경 등의 감소 면에서 제공될 수 있다. 원칙적으로, 베타-ENaC 유전자 침묵화는 구성적으로 또는 게놈 공학에 의해 베타-ENaC를 발현하는 임의의 세포에서, 및 임의의 적절한 검정에 의해 결정될 수 있다. 그러나, 주어진 RNAi 작용제가 특정 정도로 베타-ENaC 유전자의 발현을 억제하는지의 여부를 결정하기 위해 참조군 또는 대조군이 필요하고 따라서 본 개시내용에 포함되는 경우에, 하기 실시예에 제공된 검정은 이러한 참조군으로서의 역할을 할 것이다.

[0180] 예를 들어, 특정 경우에, 베타-ENaC 유전자의 발현은 본 개시내용에서 특징지어진 RNAi 작용제의 투여에 의해 적어도 약 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% 또는 50% 저해된다. 일부 실시양태에서, 베타-ENaC 유전자는 본 개시내용에서 특징지어진 RNAi 작용제의 투여에 의해 적어도 약 60%, 70% 또는 80% 저해된다. 일부 실시양태에서, 베타-ENaC 유전자는 본원에 기재된 바와 같은 RNAi 작용제의 투여에 의해 적어도 약 85%, 90% 또는 95% 또는 그를 초과하여 저해된다.

[0181] 베타-ENaC를 저해하는 RNAi 작용제의 능력은 우선 시험관내에서 (예를 들어, H441과 같은 시험 세포를 사용하여) 시험될 수 있다.

[0182] 이어서, 시험관내에서 베타-ENaC를 저해할 수 있는 RNAi 작용제는, 예를 들어 PBMC (말초 혈액 단핵 세포) 검정을 이용하여 면역자극에 대해 시험될 수 있다. RNAi 작용제는 또한 동물 시험으로 시험될 수 있다. 시험 및 대조 동물은, 예를 들어 문헌 [Hummer et al. 2005 J. Am. Soc. Nephrol. 16: 3160-3166; Randrianarison et al. 2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416; Cao et al. 2006 Am. J. Physiol. Renal Physiol.] 및 그에 인용된 참고문헌에 기재된 바와 같은, 베타-ENaC를 과다-발현 또는 과소-발현하는 것들을 포함한다. 베타-ENaC의 수준, 활성 및/또는 발현을 저해하거나 변경하는 RNAi 작용제는 다양한 베타-ENaC-관련 질환을 치료하기 위해 의약에서 사용될 수 있다.

[0183] 베타-ENaC 또는 베타-ENaC-관련 질환의 증상과 관련하여 "보다 낮은" 것은 이러한 수준의 통계적으로 유의한 감소를 의미한다. 상기 감소는, 예를 들어 적어도 10%, 적어도 20%, 적어도 30%, 적어도 40% 또는 그 초과일 수 있다. 특정한 질환에 있어서, 또는 특정한 질환을 앓는 개체에 있어서 베타-ENaC의 수준 또는 발현이 상승되는 경우에, 본 개시내용의 베타-ENaC RNAi 작용제를 사용한 치료는 특히 베타-ENaC의 수준 또는 발현을 문헌에서 이러한 장애가 없는 개체에 대해 정상 범위 이내로 간주되는 수준으로 감소시킬 수 있다. 베타-ENaC의 수준 또는 발현은 mRNA의 평가 (예를 들어, 노던 블롯 또는 PCR을 통해) 또는 단백질의 평가 (예를 들어, 웨스턴 블롯)에 의해 측정될 수 있다. 베타-ENaC 발현에 대한 RNAi 작용제의 효과는 베타-ENaC 유전자 전사 속도를 측정 (예를 들어, 노던 블롯; 또는 역전사효소 폴리머라제 연쇄 반응 또는 실시간 폴리머라제 연쇄 반응을 통해)함으로써 결정될 수 있다. RT-PCR을 이용하여, 베타-ENaC의 mRNA 수준이 신장, 췌장 및 전립선에서 높고, 간 및 비장에서 중간이라는 것을 보여주었다. 문헌 [Brauner-Osborne et al. 2001. Biochim. Biophys. Acta 1518: 237-248]. (세포 표면에 의해 발현되는) 베타-ENaC 수준의 직접 측정은, 예를 들어 베타-ENaC이 발현되는 조직의 웨스턴 블롯에 의해 이루어질 수 있다.

- [0184] 본원에 사용된 "하향조절"은 활성의 완전한 차단 (즉, 완전한 억제) 및/또는 발현의 완전한 차단을 비롯하여, 베타-ENaC의 생물학적 활성 및/또는 발현에서의 임의의 통계적으로 유의한 감소를 지칭한다. 예를 들어, "하향조절"은 베타-ENaC 수준, 활성 및/또는 발현에서의 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%의 감소를 지칭할 수 있다.
- [0185] 본원에 사용된 용어 베타-ENaC를 "억제하다" 또는 "억제하는"은 활성 및/또는 발현의 완전한 차단을 비롯하여, 베타-ENaC의 생물학적 수준, 활성 및/또는 발현에서의 임의의 통계적으로 유의한 감소를 지칭한다. 예를 들어, "억제"는 베타-ENaC 수준, 활성 및/또는 발현에서의 적어도 약 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 또는 100%의 감소를 지칭할 수 있다. 본원에 사용된 용어 "억제하다"는 유사하게는 임의의 다른 생물 작용제 또는 조성물을 지칭하면서 수준, 활성 및/또는 발현에서의 유의한 감소를 지칭한다.
- [0186] "수준"은 베타-ENaC RNAi 작용제가 베타-ENaC의 수준, 예를 들어 베타-ENaC mRNA의 수준 또는 베타-ENaC 단백질의 수준, 또는 베타-ENaC의 활성의 수준을 변경할 수 있다는 것을 의미한다.
- [0187] 일부 질환, 예컨대 낭성 섬유증은 과도한 ENaC-매개 Na^+ 흡수를 특징으로 한다. 특히 한 실시양태에서, 베타-ENaC의 과다-발현 및/또는 과다-활성을 특징으로 하는 질환의 경우에, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 투여는 베타-ENaC의 수준, 발현 및/또는 활성을 감소시킨다. 그러나, 과도하게 낮은 수준의 베타-ENaC는 또한 폐 유체 청소율의 감소 및 신장 기능장애를 유발할 수 있다. 문헌 [Randrianarison et al. 2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416]. 따라서, 다양한 실시양태에서, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 투여는 특히 정상 또는 대략 정상 수준의 베타-ENaC 활성, 발현 및/또는 수준을 확립 또는 재확립시킨다.
- [0188] 수준, 발현 및/또는 활성에 관하여 "정상" 또는 "대략 정상"은 건강한 세포, 조직 또는 기관에서의 베타-ENaC의 수준, 발현 또는 활성의 적어도 약 50%, 약 60%, 약 70%, 약 80%, 약 90% 및/또는 약 100%; 및/또는 최대 약 100%, 약 120%, 약 130%, 약 140% 또는 약 150%를 의미한다. 이는, 예를 들어 문헌 [Gambling et al. 2004 Kidney Intl. 65: 1774-1781]에 기재된 바와 같이 폐 또는 신장 균질물을 사용하여 측정될 수 있다. 특히 한 실시양태에서, 적절한 양의 적절한 베타-ENaC RNAi 작용제의 투여는 베타-ENaC 수준, 활성 및/또는 발현, 및/또는 Na^+ 재흡수 수준을 건강한 세포, 조직 또는 기관의 그것의 약 50% 내지 약 150%로, 보다 특히 약 60% 내지 약 140%로, 보다 특히 약 70% 내지 약 130%로, 보다 특히 약 80% 내지 약 120%로, 보다 특히 약 90% 내지 약 110%로, 가장 특히 약 100%로 복구한다. 베타-ENaC 활성의 수준은 또한 폐 유체 균형에 의해 간접적으로 측정될 수 있다. 폐 유체 균형은 혈관의 폐 수분의 양을 반영하는 무혈, 흡윤-대-건조 폐 중량비를 계산함으로써 추정될 수 있다. 문헌 [Randrianarison et al. 2007 Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294: 409-416]. 베타-ENaC 활성의 수준은 또한 폐, 특히 세기관지, 폐포관, 폐포 상피 및 혈관의 조직학적 연구에 의해 간접적으로 측정될 수 있다. 문헌 [Randrianarison et al. 2007; 및 Zhou et al. 2008 Am. J. Resp. Crit. Care Med. 178: 1245-1256]. 베타-ENaC mRNA 또는 단백질 수준의 직접 측정, 또는 조직학적 샘플의 분석 또는 폐 유체의 수준과 같은 간접 측정에 의해 결정시, 베타-ENaC-관련 질환이 있는 환자에게 베타-ENaC RNAi를 투여하는 것은 따라서 특히 베타-ENaC의 수준, 활성 및/또는 발현, 및 Na^+ 재흡수의 수준을 대략 정상 수준으로 복구한다.
- [0189] 또한, 다양한 실시양태에서, 질환 상태 및 생물학적 정황에 따라, 정상 수준 미만 또는 정상 수준 초과인 베타-ENaC 발현, 활성 및/또는 수준의 수준을 확립시키기 위해 본 개시내용의 RNAi 작용제를 사용하는 것이 허용된다.
- [0190] 다양한 인자가 ENaC 또는 구체적으로 베타-ENaC의 수준을 변경하는 것으로 공지되어 있다. ENaC의 생리학적 활성을 증가시키는 호르몬은 알도스테론, 바소프레신 및 인슐린을 포함한다. 베타-ENaC는 구체적으로 래트에서 바소프레신 및 수분 제한에 의해, 뿐만 아니라 나트륨-비카르보네이트 로딩 동안 상향조절된다. 이들 다양한 인자는 베타-ENaC 수준에 대한 RNAi 작용제의 효과를 결정함에 있어 대조군으로서 이용될 수 있다.
- [0191] **RNAi 작용제의 유형 및 그의 변형**
- [0192] 세포에서 특정한 단백질의 발현을 하향조절하기 위한 RNAi 작용제, 또는 안티센스 핵산을 포함하는 조성물의 용도는 당업계에 널리 공지되어 있다. RNAi 작용제는 또 다른 핵산 (예를 들어, mRNA)의 코딩 가닥에 상보적인 서열을 포함하고, 그에 수소 결합할 수 있다. 따라서, 다양한 실시양태에서, 본 개시내용의 RNAi 작용제는 예를 들어 표 1에 나타난 임의의 서열을 표적화하는 (예를 들어, 상보적이거나, 그에 수소 결합할 수 있거나, 기타 등등) 임의의 RNAi 작용제를 포함한다.

- [0193] mRNA에 상보적인 안티센스 서열은 mRNA의 코딩 영역, 5' 또는 3' 비번역 영역, 및/또는 코딩 및 비번역 영역을 가교하는 영역, 및/또는 이들의 일부에 상보적일 수 있다. 추가로, RNAi 작용제 또는 그의 일부는 mRNA를 코딩하는 유전자의 조절 영역, 예를 들어 전사 또는 번역 개시 서열 또는 조절 요소에 상보적일 수 있다. 특히, RNAi 작용제 또는 그의 일부는 코딩 가닥 상의 개시 코돈에 선행하거나 그에 놓인 영역, 또는 mRNA의 3' 비번역 영역에 상보적일 수 있다.
- [0194] RNAi 작용제 분자는 왓슨 및 크릭 염기 쌍형성 규칙에 따라 설계될 수 있다. RNAi 작용제는 베타-ENaC mRNA의 전체 코딩 영역에 상보적일 수 있으나, 보다 특히 베타-ENaC mRNA의 코딩 또는 비-코딩 영역의 단지 일부에만 안티센스인 올리고뉴클레오티드이다. 예를 들어, 안티센스 올리고뉴클레오티드는 베타-ENaC mRNA의 번역 개시 부위 주위의 영역에 상보적일 수 있다. 안티센스 올리고뉴클레오티드는, 예를 들어 약 5, 10, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 또는 50개의 뉴클레오티드 길이일 수 있다.
- [0195] RNAi 작용제는 내부에, 또는 한쪽 또는 양쪽 말단에 변형을 가질 수 있다. 말단에서의 변형은 RNAi 작용제를 안정화시켜 이것을 혈중 뉴클레아제에 의한 분해로부터 보호하도록 도울 수 있다. RNAi 작용제는 임의로, 유전자의 스플라이스 부위에 있는 것으로 또는 그 근처에 있는 것으로 공지되었거나 예상되는 베타-ENaC mRNA의 영역; 예를 들어, 엑손-인트론 접합부 (예를 들어, 문헌 [Saxena et al. 1998]에 기재된 바와 같음)에 지정될 수 있다.
- [0196] RNAi 작용제는 또한 임의로, mRNA의 공지되었거나 예상되는 노출 및/또는 단일-가닥 영역 (예를 들어, 루프)에 어닐링되도록 설계될 수 있다.
- [0197] RNAi 작용제는 당업계에 공지된 절차를 이용하여 화학적 합성 및 효소적 라이게이션 반응을 이용하여 구축할 수 있다. 예를 들어, RNAi 작용제는 자연 발생 뉴클레오티드, 또는 표적을 벗어난 효과를 감소시키고/거나 분자의 생물학적 안정성을 증가시키도록 또는 안티센스 및 센스 핵산 사이에 형성된 듀플렉스의 물리적 안정성을 증가시키도록 설계된 다양하게 변형된 뉴클레오티드를 사용하여 화학적으로 합성될 수 있다 (예를 들어, 포스포로티오에이트 유도체 및 아크리딘 치환된 뉴클레오티드가 사용될 수 있음).
- [0198] 각각의 "G", "C", "A", "T" 및 "U"는 일반적으로 각각 염기로서 구아닌, 시토신, 아데닌, 티미딘 및 우라실을 함유하는 뉴클레오티드를 의미한다. 그러나, 용어 "리보뉴클레오티드" 또는 "뉴클레오티드"는 또한 변형된 뉴클레오티드 또는 대용의 대체 모이어티를 지칭할 수 있다. 당업자는 구아닌, 시토신, 아데닌 및 우라실이 다른 모이어티로 대체되면서 이러한 대체 모이어티를 보유하는 뉴클레오티드를 포함하는 올리고뉴클레오티드의 염기 쌍형성 특성을 실질적으로 변경시키지 않을 수 있다는 것을 잘 알고 있다. 예를 들어, 비제한적으로, 이노신을 그의 염기로서 포함하는 뉴클레오티드는 아데닌, 시토신 또는 우라실을 함유하는 뉴클레오티드와 염기 쌍을 형성할 수 있다. 따라서, 우라실, 구아닌 또는 아데닌을 함유하는 뉴클레오티드는 본 개시내용에서 특징지어진 dsRNA의 뉴클레오티드 서열에서, 예를 들어 이노신을 함유하는 뉴클레오티드에 의해 대체될 수 있다. 또 다른 예에서, 올리고뉴클레오티드의 어느 곳에서든 아데닌 및 시토신이 구아닌 및 우라실로 대체되어, 각각 표적 mRNA와의 G-U 위블 염기 쌍을 형성할 수 있다. 이러한 대체 모이어티를 함유하는 서열은 본 개시내용에서 특징지어진 조성물 및 방법에 적합하다.
- [0199] 당업자는 용어 "RNA 분자" 또는 "리보핵산 분자"가 자연에서 발현 또는 발견되는 바와 같은 (즉, 자연 발생하는) RNA 분자뿐만 아니라, 본원에 기재된 바와 같거나 당업계에 공지된 바와 같은 하나 이상의 리보뉴클레오티드/리보뉴클레오시드 유사체 또는 유도체를 포함하는 RNA의 비-자연 발생 유사체 및 유도체도 또한 포함한다는 것을 인지할 것이다. 엄밀히 말하면, "리보뉴클레오시드"는 뉴클레오시드 염기 및 리보스 당을 포함하고, "리보뉴클레오티드"는 1, 2 또는 3개의 포스페이트 모이어티를 갖는 리보뉴클레오시드이다. 그러나, 용어 "리보뉴클레오시드" 및 "리보뉴클레오티드"는 본원에서 사용시에 동등한 것으로 간주될 수 있다. RNA는, 예를 들어 본원에 기재된 바와 같은 핵염기 구조에서 또는 리보스-포스페이트 백본 구조에서 변형될 수 있다. 그러나, 리보뉴클레오시드 유사체 또는 유도체를 포함하는 분자는 듀플렉스를 형성하는 능력을 유지하여야 한다. 비제한적 예로서, RNA 분자는 또한 적어도 1개의 변형된 리보뉴클레오시드, 예컨대 (이에 제한되지 않음) 2'-O-메틸 변형된 뉴클레오티드, 5' 포스포로티오에이트 연결 기를 포함하는 뉴클레오시드, 콜레스테릴 유도체 또는 도데칸산 비스테실아미드 기에 연결된 말단 뉴클레오시드, 잠금 뉴클레오시드, 무염기성 뉴클레오시드, 2'-데옥시-2'-플루오로 변형된 뉴클레오시드, 2'-아미노-변형된 뉴클레오시드, 2'-알킬-변형된 뉴클레오시드, 모르폴리노 뉴클레오시드, 잠금해제된 리보뉴클레오티드 (예를 들어, WO 2008/147824에 기재된 바와 같은 비-시클릭 뉴클레오티드 단량체), 포스포르아미데이트, 또는 뉴클레오시드를 포함하는 비-천연 염기, 또는 이들의 임의의 조합을 포함할 수 있다. 대안적으로, RNA 분자는 적어도 2개의 변형된 리보뉴클레오시드, 적어도 3개, 적어도 4

개, 적어도 5개, 적어도 6개, 적어도 7개, 적어도 8개, 적어도 9개, 적어도 10개, 적어도 15개, 적어도 20개 또는 그 초과, dsRNA 분자의 전체 길이 이하의 변형된 리보뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 변형은 RNA 분자에서 이러한 다수의 변형된 리보뉴클레오타이드 각각에 대해 동일할 필요는 없다. 한 실시양태에서, 본원에 기재된 방법 및 조성물에 사용하기 위해 고려되는 변형된 RNA는, 요구되는 듀플렉스 구조를 형성하는 능력을 가지며 RISC 경로를 통한 표적 RNA의 특이적 분해를 허용 또는 매개하는 펩티드 핵산 (PNA)이다.

[0200] RNAi 작용제를 생성하는 데 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오타이드의 예는 5-플루오로우라실, 5-브로모우라실, 5-클로로우라실, 5-아이오도우라실, 하이포크산틴, 크산틴, 4-아세틸시토신, 5-(카르복시히드록시메틸)우라실, 5-카르복시메틸아미노메틸-2-티오우리딘, 5-카르복시메틸아미노메틸우라실, 디히드로우라실, 베타-D-갈락토실쿠에오신, 이노신, N6-이소펜테닐아데닌, 1-메틸구아닌, 1-메틸이노신, 2,2-디메틸구아닌, 2-메틸아데닌, 2-메틸구아닌, 3-메틸시토신, 5-메틸시토신, N6-아데닌, 7-메틸구아닌, 5-메틸아미노메틸우라실, 5-메톡시아미노메틸-2-티오우라실, 베타-D-만노실쿠에오신, 5'-메톡시카르복시메틸우라실, 5-메톡시우라실, 2-메틸티오-N6-이소펜테닐아데닌, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 와이부톡시, 슈도우라실, 쿠에오신, 2-티오시토신, 5-메틸-2-티오우라실, 2-티오우라실, 4-티오우라실, 5-메틸우라실, 우라실-5-옥시아세트산 메틸에스테르, 우라실-5-옥시아세트산 (v), 5-메틸-2-티오우라실, 3-(3-아미노-3-N-2-카르복시프로필)우라실, (acp3)w 및 2,6-디아미노퓨린을 포함한다.

[0201] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 변형된 임의의 변형된 변이체를 포함한다. 변형된 변이체는 동일한 서열을 함유하지만, 포스페이트, 당, 염기, 뉴클레오타이드 등에 변형을 함유하도록 변형될 수 있다. 예를 들어, 변형된 변이체는 본원에 열거된 변형된 뉴클레오타이드 (예를 들어, 2'-변형된 C에 의해 대체된 C) 중 하나 이상을 함유할 수 있다.

[0202] 한 측면에서, 변형된 리보뉴클레오타이드는 데옥시리보뉴클레오타이드를 포함한다. 이러한 경우에, RNAi 작용제는 예를 들어 데옥시뉴클레오타이드 오버행(들), 또는 dsRNA의 이중-가닥 부분 내의 하나 이상의 데옥시뉴클레오타이드를 비롯한 하나 이상의 데옥시뉴클레오타이드를 포함할 수 있다. 그러나, 어떠한 상황 하에서도 이중-가닥 DNA 분자가 용어 "RNAi 작용제"에 포함되지 않는다는 것은 자명하다.

[0203] 2-뉴클레오타이드 3'-오버행을 갖는 21량체 siRNA 듀플렉스의 3'-말단 뉴클레오타이드 오버행 절편을 데옥시리보뉴클레오타이드로 대체하는 것은 RNAi 활성에 대한 역효과를 갖지 않는다. siRNA의 각각의 말단 상에서 4개 이하의 뉴클레오타이드를 데옥시리보뉴클레오타이드로 대체하는 것은 널리 허용되었고, 반면에 데옥시리보뉴클레오타이드로 전부 치환하는 것은 RNAi 활성이 없어지는 결과를 초래하였다. 국제 PCT 공보 번호 WO 00/44914 및 국제 PCT 공보 번호 WO 01/68836 (Beach et al.)은 siRNA가 질소 또는 황 헤테로원자 중 적어도 하나를 포함하도록 포스페이트-당 백본 또는 뉴클레오타이드를 변형시키는 것을 포함할 수 있다는 것을 예비적으로 시사한다. 캐나다 특허 출원 번호 2,359,180 (Kreutzer et al.)은 또한 이중-가닥 RNA-의존성 단백질 키나제 PKR의 활성화에 대항하기 위한 dsRNA 구축물에서 사용하기 위한 특정 화학적 변형, 구체적으로 2'-아미노 또는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드, 및 2'-O 또는 4'-C 메틸렌 가교를 함유하는 뉴클레오타이드를 기재한다. 추가의 3'-말단 뉴클레오타이드 오버행은 dT (데옥시티미딘), 2'-O,4'-C-에틸렌 티미딘 (eT) 및 2-히드록시에틸 포스페이트 (hp)를 포함한다.

[0204] 문헌 [Parrish et al. 2000 Molecular Cell 6: 1077-1087]에서는 긴 (>25개의 nt) siRNA 전사체를 이용하여 *C. elegans*에서 *unc-22* 유전자를 표적화하는 특정 화학적 변형을 시험하였다. 저자는 T7 및 T3 RNA 폴리머라제를 사용하여 티오포스페이트 뉴클레오타이드 유사체를 혼입시킴으로써 이들 siRNA 전사체 내로 티오포스페이트 잔기를 도입시키는 것을 기재하고 있으며, 2개의 포스포로티오에이트 변형된 염기를 갖는 RNA가 또한 RNAi로서 유효성에서의 실질적 감소를 갖는다는 것을 관찰하였다. 또한, 패리쉬 등(Parrish et al.)은 2개 초과 잔기의 포스포로티오에이트 변형은 간섭 활성을 검정할 수 없을 정도로 시험관내에서 RNA를 크게 불안정화시킨다고 보고하였다 (상기 문헌, 1081). 저자는 또한 긴 siRNA 전사체에서 뉴클레오타이드 당의 2'-위치에서의 특정 변형을 시험하였고, 리보뉴클레오타이드를 데옥시뉴클레오타이드로 치환하는 것이, 특히 우리딘에서 티미딘으로 및/또는 시티딘에서 데옥시-시티딘으로의 치환의 경우에, 간섭 활성에서의 실질적인 감소를 일으킨다는 것을 발견하였다 (상기 문헌). 또한, 저자는 siRNA의 센스 및 안티센스 가닥에서 우라실을 4-티오우라실, 5-브로모우라실, 5-아이오도우라실 및 3-(아미노알릴)우라실로, 및 구아노신을 이노신으로 치환하는 것을 비롯한 특정 염기 변형을 시험하였다. 4-티오우라실 및 5-브로모우라실 치환이 허용되는 것으로 나타난 반면에, 패리쉬는 이노신이 어느쪽 가닥에든 혼입된 경우에 간섭 활성에서의 실질적인 감소를 일으켰다고 보고하였다. 패리쉬는 또한 안티센스 가닥에서 5-아이오도우라실 및 3-(아미노알릴)우라실의 혼입이 마찬가지로 RNAi 활성에서의 실질적인 감소를 일으켰다고 보고하였다.

- [0205] 당업자는 당업계에 공지된 임의의 통상적인 방법을 이용하여, 목적하는 siRNA를 합성하고 변형시키는 것이 가능하다는 것을 알 것이다 (문헌 [Henschel et al. 2004 DEQOR: a web-based tool for the design and quality control of siRNAs. *Nucleic Acids Research* 32 (Web Server Issue): W113-W120] 참조). 또한, 안티센스 올리고뉴클레오티드, siRNA 또는 shRNA 발현 구축물/벡터에 유용한 다양한 조절 서열 (예를 들어, 구성적 또는 유도성 프로모터, 조직-특이적 프로모터 또는 그의 기능적 단편 등)이 있다는 것이 당업자에게 명백할 것이다.
- [0206] 그의 뉴클레아제 안정성 및 효능이 유의하게 증진되면서 핵산 분자 내로 도입될 수 있는 당, 염기, 포스페이트 및 백본 변형을 기재하는 당업계의 여러 예가 존재한다. 예를 들어, 올리고뉴클레오티드는 안정성을 증진시키고/거나 생물학적 활성을 증진시키기 위해 뉴클레아제 저항성 기를 사용한 변형, 예를 들어 2'-아미노, 2'-C-알릴, 2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-알릴, 2'-H 뉴클레오티드 염기 변형에 의해 변형된다 (검토를 위해서는 문헌 [Usman and Cedergren 1992 *TIBS*. 17: 34; Usman et al. 1994 *Nucleic Acids Symp. Ser.* 31: 163; Burgin et al. 1996 *Biochemistry* 35: 14090] 참조). 핵산 분자의 당 변형은 당업계에서 광범위하게 기재되어 있다.
- [0207] RNAi 작용제의 추가의 변형 및 접합이 기재되어 있다. 문헌 [Soutschek et al. 2004 *Nature* 432: 173-178]은 피롤리딘 링커에 의해 siRNA 분자의 센스 가닥의 3'-말단에 콜레스테롤을 접합시키고, 그에 의해 공유적이고 비가역적인 접합체를 생성하는 것을 나타내었다. RNAi 작용제의 화학적 변형 (다른 분자와의 접합 포함)은 또한 생체내 약동학적 체류 시간 및 효율을 향상시키기 위해 생성될 수 있다.
- [0208] 다양한 실시양태에서, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 하나 이상의 5'-우리딘-아데닌-3' (5'-ua-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 하나 이상의 5'-우리딘-구아닌-3' (5'-ug-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 하나 이상의 5'-시티딘-아데닌-3' (5'-ca-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-시티딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-우리딘-3' (5'-uu-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임)를 포함한다.
- [0209] 다양한 실시양태에서, RNAi 작용제는 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 및 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로 이루어진 군으로부터 선택된 2'-변형을 포함한다.
- [0210] 또 다른 실시양태에서, RNAi는 겹 또는 누락된 염기를 포함한다. 예를 들어, 포스페이트-당 백본은 존재하나, 염기는 누락되어 있을 수 있다.
- [0211] 또 다른 실시양태에서, RNAi 작용제는 단일-가닥 닉 (예를 들어, 백본 내 단절 또는 누락된 결합)을 갖는다. 다양한 실시양태에서, 단일-가닥 닉은 센스 또는 안티센스 가닥, 또는 둘 모두에 있을 수 있다.
- [0212] 상기 닉은, 예를 들어 센스 가닥 내에 있을 수 있고, 소형의 내부적으로 분절된 간섭 RNA, 또는 sisiRNA를 생성하며, 이는 닉이 없는 상응하는 RNAi 작용제에 비해 표적을 벗어난 효과를 보다 적게 가질 수 있다.
- [0213] 안티센스 핵산 또는 RNAi 작용제는 또한 대안적 백본, 예컨대 잠금 핵산 (LNA), 모르폴리노, 펩티드성 핵산 (PNA), 트레오스 핵산 (TNA) 또는 글리콜 핵산 (GNA)을 가질 수 있고/거나, 이것은 표지될 수 있다 (예를 들어, 방사성표지되거나 달리 태그가 부착됨).
- [0214] 한쪽 또는 양쪽 가닥은 대안적 백본을 포함할 수 있다.
- [0215] 또 다른 실시양태에서, 본 개시내용의 방법에 의해 사용된 RNAi 작용제는 α -아노머 핵산 분자를 포함할 수 있다. α -아노머 핵산 분자는, 통상의 β -유닛과는 대조적으로 가닥이 서로 평행하게 뻗는, 상보적 RNA와의 특이적 이중-가닥 하이브리드를 형성한다. 문헌 [Gaultier et al. 1987 *Nucleic Acids. Res.* 15: 6625-6641].
- [0216] 안티센스 핵산 분자는 또한 2'-o-메틸리보뉴클레오티드 (문헌 [Inoue et al. 1987 *Nucleic Acids Res.* 15: 6131-6148]) 또는 키메라 RNA-DNA 유사체 (문헌 [Inoue et al. 1987 *FEBS Lett.* 215: 327-330])를 포함할 수 있다.
- [0217] 또 다른 실시양태에서, RNAi 작용제는 리보자임이다. 리보자임은 리보자임이 그에 대한 상보적 영역을 갖는 단일-가닥 핵산, 예컨대 mRNA를 절단할 수 있는 리보뉴클레아제 활성을 갖는 촉매 RNA 분자이다. 따라서, 리보자임 [예를 들어, 해머헤드(hammerhead) 리보자임 (문헌 [Haselhoff et al. 1988, *Nature* 334: 585-591]에 기재됨)]은 베타-ENaC mRNA 전사체를 촉매적으로 절단하여, 그에 의해 베타-ENaC mRNA의 번역을 억제하기 위해 사용될 수 있다.

- [0218] 대안적으로, 유전자 발현은 베타-ENaC 유전자의 전사를 방지하는 삼중 나선 구조를 형성하도록 베타-ENaC의 조절 영역 (예를 들어, 프로모터 및/또는 인핸서)에 상보적인 뉴클레오티드 서열을 표적화함으로써 억제될 수 있다. 일반적으로, 문헌 [Helene 1991 Anticancer Drug Des. 6(6): 569-84; Helene et al. 1992 Ann. N.Y. Acad. Sci. 660: 27-36; 및 Maher 1992, Bioassays 14(12): 807-15]을 참조한다.
- [0219] **RNAi 작용제의 생산**
- [0220] RNAi 작용제는 핵산이 안티센스 배향으로 서브클로닝된 발현 벡터 (즉, 삽입된 핵산으로부터 전사된 RNA는 관심 있는 표적 핵산에 대해 안티센스 배향일 것임)를 사용하여 생물학적으로 생산될 수 있다. RNAi 작용제는 또한 핵산이 shRNA 구축물로서 서브클로닝된 발현 벡터 (즉, 삽입된 핵산으로부터 전사된 RNA는 관심 있는 표적 핵산에 대해 안티센스 배향인 제1 영역, 루프 또는 힌지를 포함하는 제2 영역, 및 관심 있는 표적 핵산에 대해 센스 배향인 제3 영역을 가질 것이며, 여기서 전사체의 제1 및 제3 영역은 바람직하게는 그 자신과 혼성화하여, 그에 의해 줄기-및-루프 구조를 형성함)를 사용하여 생물학적으로 생산될 수 있다.
- [0221] RNAi 작용제를 생산하는 방법은 당업계에 널리 공지되어 있고, 당업자에게 이용가능하다.
- [0222] RNAi의 합성을 위한 키트는, 예를 들어 뉴 잉글랜드 바이오랩스(New England Biolabs) 및 암비온(Ambion)으로부터 상업적으로 입수가 가능하다.
- [0223] **RNAi 작용제의 전달**
- [0224] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 당업계에 공지된 임의의 수단에 의해 (예를 들어, 시험관내에서 세포에, 시험 동물에게, 또는 인간에게) 전달되거나 도입될 수 있다.
- [0225] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 전형적으로, 이들이 베타-ENaC를 코딩하는 세포 mRNA 및/또는 게놈 DNA와 혼성화하여 전사 및/또는 번역을 억제함으로써 발현을 억제하도록 대상체에게 투여되거나 계내 생성된다. RNAi 작용제의 투여 경로의 예는 조직 부위에서의 직접 주사를 포함한다. 대안적으로, RNAi 작용제는 선택된 세포를 표적화하도록 변형된 다음에 전신 투여될 수 있다. 예를 들어, 전신 투여를 위해, 안티센스 분자는 예를 들어 안티센스 핵산 분자를 세포 표면 수용체 또는 항원에 결합하는 펩티드 또는 항체에 연결함으로써, 선택된 세포 표면에 발현된 수용체 또는 항원에 특이적으로 결합하도록 변형될 수 있다. 안티센스 핵산 분자는 또한 당업계에 널리 공지되고 예를 들어 US20070111230 (그의 전체 내용이 본원에 포함됨)에 기재된 벡터를 사용하여 세포에 전달될 수 있다. 안티센스 분자의 충분한 세포내 농도를 달성하기 위해, 안티센스 핵산 분자가 강한 pol II 또는 pol III 프로모터의 제어 하에 위치하는 벡터 구축물이 바람직하다.
- [0226] RNAi 작용제를 지칭하는 경우에, "세포 내로 도입시키는 것"은 당업자에 의해 이해되는 바와 같이 세포 내로의 섭취 또는 흡수를 용이하게 하거나 일으키는 것을 의미한다. RNAi 작용제의 흡수 또는 섭취는 도움 없는 확산 또는 활성 세포 과정을 통해, 또는 보조제 또는 장치에 의해 발생할 수 있다. 상기 용어의 의미는 시험관내의 세포에 제한되지 않고; RNAi 작용제는 또한 "세포 내로 도입"될 수 있고, 여기서 세포는 살아 있는 유기체의 일부이다. 이러한 경우에, 세포 내로의 도입은 유기체에의 전달을 포함할 것이다. 예를 들어 생체내 전달을 위해, RNAi 작용제는 조직 부위 내로 주사될 수 있거나, 또는 전신 투여될 수 있다. 생체내 전달은 또한 베타-글루칸 전달 시스템, 예컨대 미국 특허 번호 5,032,401 및 5,607,677, 및 미국 공보 번호 2005/0281781에 기재된 것들에 의한 것일 수 있다. 세포 내로의 시험관내 도입은 당업계에 공지된 방법, 예컨대 전기천공 및 리포펙션을 포함한다. 추가의 접근법은 본원에 기재되어 있거나 당업계에 공지되어 있다.
- [0227] RNAi 작용제의 조직으로의 전달은 물질이 표적 기관에 도달해야 하고, 또한 표적 세포의 세포질에 진입해야 한다는 점 둘 모두에 대한 문제이다. RNA는 세포 막에 침투할 수 없으므로 내이크드 RNAi 작용제의 전신 전달은 성공적이기 어렵다. RNA는 혈청 중에서 RNase 활성에 의해 빠르게 분해된다. 이들 이유로, RNAi 작용제를 표적 세포로 전달하기 위한 다른 메커니즘이 고안되었다. 당업계에 공지된 방법은 하기를 포함하나, 이에 제한되는 않는다: 바이러스 전달 (레트로바이러스, 아데노바이러스, 렌티바이러스, 바칼로바이러스, AAV); 리포솜 (리포펙타민, 양이온성 DOTAP, 중성 DOPC) 또는 나노입자 (양이온성 중합체, PEI), 박테리아 전달 (tkRNAi), 및 또한 안정성을 향상시키기 위한 siRNA의 화학적 변형 (LNA). 문헌 [Xia et al. 2002 Nat. Biotechnol. 20 및 Devroe et al. 2002. BMC Biotechnol. 2 1: 15]은 바이러스 벡터 내로의 siRNA의 혼입을 개시한다. RNAi 작용제의 전달을 위한 다른 시스템이 고려되고, 본 개시내용의 RNAi 작용제는 아직 발견되고/거나 FDA 또는 다른 관련 당국에 의해 승인되기 전인 다양한 방법에 의해 전달될 수 있다. 본 개시내용의 RNAi 작용제는 적합한 제약 조성물로 전달될 수 있다.

[0228] **RNAi 작용제의 제약 조성물**

[0229] 본원에 사용된 "제약 조성물"은 제약 유효량의 하나 이상의 베타-ENaC RNAi 작용제, 제약상 허용되는 담체, 및 임의로 상기 RNAi 작용제와 상승작용적으로 작용하는 추가의 질환 치료를 포함한다. 본원에 사용된 "약리학적 유효량", "치료 유효량" 또는 간단하게 "유효량"은 의도된 약리학적, 치료적 또는 예방적 결과를 일으키는 데 효과적인 RNAi 작용제의 양을 지칭한다. 예를 들어, 질환 또는 장애와 연관된 측정가능한 파라미터에서 적어도 10%의 감소가 있는 경우에 주어진 임상 치료가 효과적인 것으로 간주된다면, 해당 질환 또는 장애의 치료를 위한 약물의 치료 유효량은 해당 파라미터에서 적어도 10%의 감소를 일으키는 데 필요한 양이다. 이러한 실시양태에서, 베타-ENaC를 표적화하는 RNAi 작용제의 치료 유효량은 베타-ENaC 단백질 수준을 적어도 10% 감소시킬 수 있다. 추가 실시양태에서, 주어진 임상 치료는 질환 또는 장애와 연관된 측정가능한 파라미터에서 적어도 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 또는 95%의 감소가 있는 경우에 효과적인 것으로 간주되고, 해당 질환 또는 장애의 치료를 위한 약물의 치료 유효량은 해당 파라미터에서 각각 적어도 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 또는 95%의 감소를 일으키는 데 필요한 양이다.

[0230] 용어 "제약상 허용되는 담체"는 치료제의 투여를 위한 담체를 지칭한다. 이러한 담체는 염수, 완충 염수, 텍스트로스, 물, 글리세롤, 에탄올, 및 이들의 조합을 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 상기 용어는 구체적으로 세포 배양 배지를 배제한다. 경구 투여되는 약물의 경우에, 제약상 허용되는 담체는 제약상 허용되는 부형제, 예컨대 불활성 희석제, 붕해제, 결합제, 윤활제, 감미제, 향미제, 착색제 및 보존제를 포함하나, 이에 제한되지는 않는다. 적합한 불활성 희석제는 탄산나트륨 및 탄산칼슘, 인산나트륨 및 인산칼슘, 및 락토스를 포함하고, 반면에 옥수수 전분 및 알긴산은 적합한 붕해제이다. 결합제는 전분 및 젤라틴을 포함할 수 있고, 반면에 윤활제는, 존재하는 경우에, 일반적으로 스테아르산마그네슘, 스테아르산 또는 활석일 것이다. 원하는 경우에, 정제는 위장관에서의 흡수를 지연시키기 위해 글리세릴 모노스테아레이트 또는 글리세릴 디스테아레이트와 같은 물질로 코팅될 수 있다. 약물 제제에 포함된 작용제는 본원에 추가로 기재되어 있다.

[0231] 베타-ENaC RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물은 고체 형태, 예를 들어 분말, 과립, 정제, 환제, 젤캡, 젤라틴 캡슐, 리포솜, 좌제, 씹을 수 있는 형태 또는 패치일 수 있다. 베타-ENaC RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물은 또한 액체 형태, 예를 들어 용액, 에멀전, 현탁액, 엘릭시르 또는 시럽으로 존재할 수 있다. 적절한 액체 지지체는, 예를 들어 물, 유기 용매, 예컨대 폴리올, 예컨대 글리세롤 또는 글리콜, 예컨대 프로필렌 글리콜 및 폴리에틸렌 글리콜, 또는 에탄올, 크레모포르 EL(Cremophor EL), 또는 물 중 다양한 비율의 이들의 혼합물일 수 있다. 조성물은 알부민 또는 계면활성제로 코팅된 나노 크기 무정형 또는 결정질 과립을 포함할 수 있다.

[0232] 적절한 지지체는, 예를 들어 항박테리아제 및 항진균제, 완충제, 인산칼슘, 셀룰로스, 메틸 셀룰로스, 클로로부탄올, 코코아 버터, 착색제, 텍스트린, 유화제, 장용 코팅, 향미제, 젤라틴, 등장화제, 레시틴, 스테아르산마그네슘, 방향제, 폴리알콜, 예컨대 만니톨, 주사가능한 유기 에스테르, 예컨대 에틸 올레에이트, 파라벤, 페놀 소르브산, 폴리에틸렌 글리콜, 폴리비닐피롤리딘, 포스페이트 완충 염수 (PBS), 보존제, 프로필렌 글리콜, 나트륨 카르복시메틸셀룰로스, 염화나트륨, 소르비톨, 다양한 당 (수크로스, 프룩토스, 갈락토스, 락토스 및 트레할로스 포함 (이에 제한되지 않음)), 전분, 좌제 왁스, 활석, 식물성 오일, 예컨대 올리브 오일 및 옥수수 오일, 비타민, 왁스 및/또는 습윤제를 포함할 수 있다. 베타-ENaC RNAi 작용제의 경우에, 바람직한 지지체는 텍스트란 및 물, 예를 들어 물 중 5% 텍스트로스 (D5W)를 포함한다.

[0233] 제약 조성물의 생물학적 불활성 부분은 임의로 침식가능하여 RNAi 작용제의 시한 방출을 허용할 수 있다.

[0234] 제약 조성물은 전달, 안정성, 효능 또는 면역원성의 감소에 있어 도움을 주는 추가의 성분을 포함할 수 있다.

[0235] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물**

[0236] 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물의 추가의 성분을 첨가하여 전달, 안정성, 효능, 또는 면역원성의 감소에 있어 도움을 줄 수 있다.

[0237] 리포솜은 약물 전달 (예를 들어, 화학요법제의 전달)을 위해 이전부터 이용되어 왔다. 리포솜 (예를 들어, 양이온성 리포솜)은 PCT 공보 WO02/100435A1, WO03/015757A1 및 WO04029213A2; 미국 특허 번호 5,962,016; 5,030,453; 및 6,680,068; 및 미국 특허 출원 2004/0208921에 기재되어 있다. 리포솜을 제조하는 과정은 또한 WO04/002453A1에 기재되어 있다. 추가로, 중성 지질은 양이온성 리포솜 내로 혼입되어 왔다 (예를 들어, 문헌 [Farhood et al. 1995]).

- [0238] 양이온성 리포솜은 RNAi 작용제를 다양한 세포형에 전달하는 데 사용되어 왔다 (문헌 [Sioud and Sorensen 2003; 미국 특허 출원 2004/0204377; Duxbury et al., 2004; Donze and Picard, 2002]).
- [0239] 중성 리포솜의 용도는 문헌 [Miller et al. 1998] 및 미국 특허 출원 2003/0012812에 개시되어 있다.
- [0240] 본원에 사용된 용어 "SNALP"는 안정적인 핵산-지질 입자를 지칭한다. SNALP는 핵산, 예컨대 iRNA 또는 iRNA가 전사되는 플라즈미드를 포함하는 환원된 수성 내부를 코팅하는 지질의 소포를 나타낸다. SNALP는, 예를 들어 미국 특허 출원 공보 번호 20060240093, 20070135372에, 및 국제 출원 번호 WO 2009082817에 기재되어 있다.
- [0241] 지질-기반, 아민-기반 및 중합체-기반 기술을 이용한 화학적 형질감염이 암비온 인크.(Ambion Inc., 텍사스주 오스틴); 및 노바젠(Novagen), 이엠디 바이오사이언스, 인크(EMD Biosciences, Inc, 머크 KGaA(Merck KGaA)의 계열사, 독일 다름슈타트)로부터의 제품; 문헌 [Ovcharenko D (2003) "Efficient delivery of siRNAs to human primary cells." Ambion TechNotes 10 (5): 15-16]에 개시되어 있다. 추가로, 문헌 [Song et al. (Nat Med. published online (Fete 1 0, 2003) doi: 10.1038/nm828)] 및 다른 문헌 [Caplen et al. 2001 Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 98: 9742-9747; 및 McCaffrey et al. Nature 414: 34-39]은 간 세포가 siRNA의 주사에 의해 포유동물의 순환계 내로 효율적으로 형질감염될 수 있다는 것을 개시한다.
- [0242] 다양한 분자가 세포-특이적 RNAi 작용제 전달에 사용되어 왔다. 예를 들어, siRNA를 전달하기 위해 프로타민의 핵산-응축 특성이 특이적 항체와 조합되어 왔다. 문헌 [Song et al. 2005 Nat Biotech. 23: 709-717]. 자가-어셈블리 PEG화 다가양이온 폴리에틸렌이민 (PEI)이 또한 siRNA를 응축시키고 보호하는 데 사용되어 왔다. 문헌 [Schiffelers et al. 2004 Nucl. Acids Res. 32: e149, 141-1 10].
- [0243] 이어서, siRNA-함유 나노입자가 인테그린-과다발현 종양 신생혈관구조에 성공적으로 전달되었다. 문헌 [Hu-Lieskovan et al. 2005 Cancer Res. 65: 8984-8992].
- [0244] 본 개시내용의 RNAi 작용제는, 예를 들어 지질 나노입자 (LNP); 중성 리포솜 (NL); 중합체 나노입자; 이중-가닥 RNA 결합 모티프 (dsRBM)를 통해; 또는 RNAi 작용제의 변형 (예를 들어, dsRNA에의 공유 부착)을 통해 전달될 수 있다.
- [0245] 지질 나노입자 (LNP)는 자가-어셈블리 양이온성 지질 기반 시스템이다. 이들은, 예를 들어 중성 지질 (리포솜 기반); 양이온성 지질 (siRNA 로딩을 위해); 콜레스테롤 (리포솜 안정화를 위해); 및 PEG-지질 (제제 안정화, 전하 차폐, 및 혈류 중에서의 연장된 순환을 위해)을 포함할 수 있다.
- [0246] 양이온성 지질은, 예를 들어 헤드기, 링커, 꼬리 및 콜레스테롤 꼬리를 포함할 수 있다. LNP는, 예를 들어 우수한 종양 전달, 혈중에서의 연장된 순환, 작은 입자 (예를 들어, 100 nm 미만), 및 종양 미세환경 (이는 낮은 pH를 가지며 저산소임)에서의 안정성을 가질 수 있다.
- [0247] **중성 리포솜 (NL)은 비-양이온성 지질 기반 입자이다.**
- [0248] 중합체 나노입자는 자가-어셈블리 중합체-기반 입자이다.
- [0249] 이중-가닥 RNA 결합 모티프 (dsRBM)는 자가-어셈블리 RNA 결합 단백질이며, 변형을 필요로 할 것이다.
- [0250] 다양한 실시양태에서, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 하나 이상의 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 렉틴, 스테로이드, 우바울, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에델린, 에피프리델라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 폴룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로덱스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합제, 인테그린-표적화 분자, 다가양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린에 라이게이션된다.
- [0251] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 RNAi 작용제의 특정한 투여 방법에 적절한 다양한 성분을 포함하는 제약 조성물로 제조될 수 있다.
- [0252] **RNAi 작용제의 투여**
- [0253] 베타-ENaC를 포함하는 제약 조성물은 협측, 흡입 (취입 및 깊은 흡입 포함), 비내, 경구, 비경구, 이식, 경막외, 동맥내, 관절내, 피막내, 심장내, 뇌실내, 두개내, 피내, 근육내, 안와내, 복강내, 척수내, 흉골내, 경막내, 정맥내, 지주막하, 피막하, 피하, 표피하, 경내피, 경기관, 경혈관을 통한 주사 또는 주입, 직장내, 설하, 국소 및/또는 질내 경로에 의해 투여될 수 있다. 이는 주사, 주입, 피부 패치, 또는 당업계에 공지된 임

의 다른 방법에 의한 것일 수 있다. 제제는 전달을 위해 분말화되거나, 분무제화되거나, 에어로졸화되거나, 과립화되거나, 또는 달리 적절하게 제조될 수 있다. 액체의 경우에 투여는 느리거나, 또는 당업계에 공지된 일부 상황 하에 볼루스 주사가 신장을 통한 물질의 손실을 유발할 수 있음에도 불구하고 볼루스를 통할 수 있다.

[0254] 베타-ENaC RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물은 당업계에 공지된 의료 장치를 이용하여 투여될 수 있다. 예를 들어, 특정한 실시양태에서, RNAi 작용제는 무바늘 피하 주사 장치, 예컨대 미국 특허 번호 5,399,163, 5,383,851, 5,312,335, 5,064,413, 4,941,880, 4,790,824 또는 4,596,556에 개시된 장치를 이용하여 투여될 수 있다. 본 개시내용에 유용한 널리 공지된 이식물 및 모듈의 예는 하기를 포함한다: 의약을 제어된 속도로 분배하기 위한 이식가능한 미세주입 펌프를 개시하는 미국 특허 번호 4,487,603; 피부를 통해 의약을 투여하기 위한 치료 장치를 개시하는 미국 특허 번호 4,486,194; 정확한 주입 속도로 의약을 전달하기 위한 의약 주입 펌프를 개시하는 미국 특허 번호 4,447,233; 연속적인 약물 전달을 위한 가변성 유동식의 이식가능한 주입 장치를 개시하는 미국 특허 번호 4,447,224; 다중-챔버 구획을 갖는 삼투성 약물 전달 시스템을 개시하는 미국 특허 번호 4,439,196; 및 삼투성 약물 전달 시스템을 개시하는 미국 특허 번호 4,475,196. 다수의 다른 이러한 이식물, 전달 시스템 및 모듈이 당업자에게 공지되어 있다.

[0255] 특정 실시양태에서, RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물은 생체내에서 적절한 분포가 보장되도록 제제화될 수 있다. 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 투여는 전신성 (신체 전부)일 수 있거나, 또는 특히 베타-ENaC를 발현하는 (또는 과다-발현하거나 그의 과다-활성을 나타내는) 조직 또는 기관, 예컨대 폐, 신장, 결장 및 분비선에 표적화될 수 있다. 이들 특정한 조직 또는 기관을 표적화하기 위한 방법은 본원에 기재되어 있고/거나 당업계에 공지되어 있다. 예를 들어, 이들은 리포솜으로 제제화될 수 있다. 리포솜의 제조 방법에 대해서는, 예를 들어 미국 특허 4,522,811; 5,374,548; 및 5,399,331을 참조한다. 리포솜은 특이적인 세포 또는 기관 내로 선택적으로 수송되고 따라서 표적화된 약물 전달을 증진시키는 하나 이상의 모이어티를 포함할 수 있다 (예를 들어, 문헌 [V.V. Ranade (1989) J. Clin. Pharmacol. 29:685] 참조).

[0256] 예시적인 표적화 모이어티는 폴레이트 또는 비오틴 (예를 들어, 미국 특허 5,416,016 (Low et al.) 참조); 만노시드 (문헌 [Umezawa et al., (1988) Biochem. Biophys. Res. Commun. 153: 1038]); 항체 (문헌 [P.G. Bloeman et al. (1995) FEBS Lett. 357: 140; M. Owais et al. (1995) Antimicrob. Agents Chemother. 39: 180]); 계면활성제 단백질 A 수용체 (문헌 [Briscoe et al. (1995) Am. J. Physiol. 1233: 134]), 그의 다양한 종은 본 개시내용의 제제, 뿐만 아니라 본 발명의 분자의 성분을 포함할 수 있음; p120 (문헌 [Schreier et al. (1994) J. Biol. Chem. 269: 9090])을 포함하고; 또한 문헌 [K. Keinanen; M.L. Laukkanen (1994) FEBS Lett. 346: 123; J.J. Killion; I.J. Fidler (1994) Immunomethods 4: 273]을 참조한다.

[0257] 본 개시내용은 따라서 베타-ENaC-관련 질환의 치료에 사용하기 위한, 임의로 다양한 변형 및/또는 추가의 성분을 포함할 수 있는 베타-ENaC에 대한 하나 이상의 RNAi 작용제를 포함하는 제약 조성물을 포함한다.

[0258] **베타-ENaC-관련 질환**

[0259] 본 개시내용은 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제, 및 다양한 베타-ENaC-관련 질환을 치료하기 위해 인간 및 비-인간 동물에게 상기 RNAi 작용제를 투여하는 것을 포함한다.

[0260] "베타-ENaC-관련 질환"은 베타-ENaC의 수준, 발현 및/또는 활성에서의 기능장애에 관련된 임의의 질환, 및/또는 베타-ENaC의 수준, 발현 및/또는 활성을 조절함으로써 치료 및/또는 완화될 수 있는 임의의 질환을 의미한다. 특히, 이것은 낭성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압을 포함한다.

[0261] "낭성 섬유증" 또는 "CF"는 낭성 섬유증 막횡단 전도도 조절자 (CFTR) 유전자에서의 돌연변이와 연관된 흔한 유전병을 의미한다. CFTR은 cAMP-의존성 Cl⁻ 채널을 코딩하고, ENaC를 조절한다. CF 기도 상피에서, CFTR-매개 Cl⁻ 분비는 결함이 있고, ENaC-매개 Na⁺ 흡수는 증가된다. CF 기도에서의 이들 이온 수송 결함은 기도 표면 액체 (ASL) 부피 감소, 결함이 있는 점액 청소, 및 점액 점착을 유발하며, 이는 ASL 부피 감소가 CF 폐 질환의 발병기전에서 핵심 메카니즘임을 시사한다. 실험 마우스에서, 베타-ENaC의 기도-특이적 과다-발현은 단독으로 가속된 Na⁺ 수송이 ASL 부피 감소, 및 기도 점액 폐쇄증, 배상 세포 화생, 만성 호중구성 기도 염증, 박테리아 병원체의 감소된 청소율을 비롯한 CF-유사 폐 질환, 및 궁극적으로는 사망을 일으키기에 충분하다는 것을 입증하였다. 문헌 [Zhou et al. 2008] 및 그에 인용된 참고문헌을 참조한다.

[0262] "리들 증후군"은 종종 대사 알칼리증 및 저칼륨혈증, 알도스테론의 과잉을 특징으로 하는 모든 징후 (콘

증후군)를 동반하는 초기 및 중증 고혈압을 특징으로 하는 고혈압의 상염색체 우성 유전성 형태를 의미한다.

[0263] 그러나, 알도스테론의 혈장 수준은 낮다. 따라서, 리들 증후군은 또한 가성알도스테론증으로도 불린다. 고혈압의 상기 중증 형태는 저염 식이 및 Na^+ 채널 억제제 (K^+ -보존성 이뇨제)를 사용한 치료에 반응하고, 이는 ENaC의 조절에 중요한 결합이 있음을 시사한다. 상기 질환은 감마-ENaC에서의 돌연변이, 및 또한 베타-ENaC에서의 여러 돌연변이에 관련되어 있다 (PPXY의 컨센서스 서열을 갖는 "PY" 모티프에서의 P615S, P616L 및 Y618H; 및 또한 R564st, W574st, 579del32, Q589st, T592fr, A593fr 및 R595fr (여기서, "fr"은 프레임시프트이고, "de l"은 결실이고, "st"는 미성숙 정지 코돈임)).

[0264] 이들 돌연변이는 야생형 ENaC와 비교하여 과다활성인 Na^+ 채널의 과다발현을 유발한다. 상기 돌연변이는 또한 세포내 Na^+ 에서의 상승과 함께 정상적으로 발생하는 채널의 하향조절을 방지하고; 리들 돌연변이를 갖는 ENaC 채널은 높은 세포내 Na^+ 농도에도 불구하고 고도의 활성 상태로 남아 있다. 따라서, 리들 증후군을 갖는 돌연변이된 ENaC의 수준 및/또는 활성은 베타-ENaC에 대한 siRNA, 또는 리들 증후군에 대한 공지된 치료, 예컨대 저염 식이 및 Na^+ 채널 억제제 (K^+ -보존성 이뇨제)와 조합된 이러한 siRNA에 의해 조절될 수 있다.

[0265] 베타-ENaC-관련 질환에 대한 추가의 정보를 위해서는, 예를 들어 문헌 [Hummler et al. 1999. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571]을 참조한다.

[0266] "비만-연관 고혈압"은 비만과 관련되거나 연관된 고혈압 등을 의미한다. 비만은 고혈압과 연관되어 있다. (비만에서의) 증가된 교감신경 활성; 레닌-안지오텐신-알도스테론 시스템의 증가된 활성; 증가된 심장 박출량; 및 기관 주위의 간질성 지방으로부터의 증가된 기계적 압력, 고인슐린혈증 및/또는 인슐린 저항성을 비롯한 상기 상관관계를 설명하기 위해 다중 메커니즘이 제시되었다. 신장에 의한 나트륨 저류는 임의의 이들 메커니즘으로부터 유래될 수 있었다. 연결 세관 및 집합관에서, 나트륨 재흡수는 ENaC를 통해 발생한다. 베타-ENaC의 수준은 Zucker(Zucker) 래트 (비만에 대한 모델 동물) 내의 신장에서 증가되었다.

[0267] 문헌 [Bickel et al. 2001 Am. J. Physiol. Renal Physiol. 281: 639-648]. 다른 나트륨 수송체에서의 감소 없이 상기 및 다른 나트륨 수송체의 존재량에서의 상대적 증가는 증진된 세관 나트륨 재흡수를 일으킬 가능성이 있다. 그 결과, 신장 나트륨 수송체 존재량에서의 이들 변경은 비만인 포유동물 (인간 포함)에서의 상승된 혈압의 발생 및/또는 유지에 있어 역할을 할 수 있다.

[0268] "제1형 가성저알도스테론증", "PHA1", "PHA-1" 등은 미네랄코르티코이드 종말 기관 내성, 즉 알도스테론의 상승된 수준에도 불구하고 Na^+ 의 비뇨기 손실 및 감소된 K^+ 배출을 특징으로 하는 이종 임상적 증후군을 의미한다. 상기 증후군의 중증 형태는 상염색체 열성 소질로서 유전되고 (때로는 저나트륨혈증, 저혈압 및 고칼륨혈증의 치사성 에피소드를 일으킴), 여러 기관, 신장, 타액선, 한선 및 결장에서 Na^+ 수송의 변경을 보인다. PHA-1의 상기 형태를 보이는 여러 가계에서, 3개의 ENaC 서브유닛 중 임의의 하나에서의 돌연변이와의 연결성이 발견된다 (베타-ENaC에서의 G37S 포함).

[0269] 상염색체 우성 유전 양식을 갖는 PHA-1의 덜 중증인 형태는 대부분 영아기 동안 증후성이고, 연령에 따라 개선된다. 문헌 [Hummler et al. 1999. Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276: 567-571]을 참조한다.

[0270] 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 베타-ENaC-관련 질환, 특히 베타-ENaC의 변경된 발현, 활성 및/또는 수준과 연관된 질환을 치료하는 데 사용될 수 있다.

[0271] **베타-ENaC-관련 질환의 치료를 위한 RNAi 작용제의 용도**

[0272] 본원에 기재된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 인간 또는 비-인간 동물에게 투여될 수 있는 제약 조성물 내로 제제화될 수 있다. 이들 조성물은 하나 이상의 RNAi 작용제 및 임의로 베타-ENaC-관련 질환을 치료하기에 유용한 추가의 치료를 포함할 수 있다. 이들은 초기/예방적 치료의 일부로서 투여될 수 있고, 치료 유효 투여량으로 투여될 수 있다. 제약 조성물은 제약 담체를 포함할 수 있고, 당업계에 공지된 임의의 방법에 의해 투여될 수 있다. 본 개시내용의 이들 다양한 측면은 하기 추가의 상세한 설명에 기재되어 있다.

[0273] 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 베타-ENaC-관련 질환의 치료를 위해 인간 및 비-인간 동물에게 투여될 수 있다.

- [0274] 본 개시내용의 한 실시양태에서, 베타-ENaC RNAi 작용제를 포함하는 조성물은 비-인간 동물에게 투여될 수 있다. 예를 들어, 조성물은 닭, 칠면조, 가축 동물 (예컨대, 양, 돼지, 말, 소 등), 반려 동물 (예를 들어, 고양이 및 개)에 제공될 수 있고, 낭성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압 및 유사한 질환의 치료에 있어 효능을 가질 수 있다. 각 경우에, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 동물 계놈의 베타-ENaC 서열과 일치하도록, 및 특히 그 동물의 계놈 내 다른 모든 유전자로부터 적어도 1개 nt의 미스매치를 함유하도록 선택될 것이다. 본 개시내용의 RNAi 작용제는 따라서 인간 및 비-인간 동물에서 베타-ENaC-관련 질환의 치료에 사용될 수 있다.
- [0275] 베타-ENaC 발현과 관련하여 본원에 사용된 용어 "치료하다", "치료" 등은 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정의 경감 또는 완화를 지칭한다. 본 개시내용과 관련하여 본원에 하기 나열된 임의의 다른 (베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정 이외의) 상태와 관련이 있는 한, 용어 "치료하다", "치료" 등은 이러한 상태와 연관된 하나 이상의 증상을 경감시키거나 완화하는 것, 또는 이러한 상태의 진행 또는 예상되는 진행을 늦추거나 역전시키는 것, 예컨대 지질 장애, 예컨대 아테롬성동맥경화증의 진행을 늦추는 것을 의미한다.
- [0276] "치료"는 또한 예방, 요법, 치유, 또는 물리적 상태의 저하의 개선 또는 부재를 나타내는 환자의 상태에서의 임의의 다른 변화를 의미한다. "치료"는 베타-ENaC-관련 질환 (예를 들어, 낭성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및 비만-연관 고혈압)의 치료, 또는 환자가 갖는 임의의 다른 질병의 임의의 적절한 치료를 의미한다. 본원에 사용된 용어 "치료" 및 "치료하다"는, 이미 병들었거나 상태를 앓는 것으로 진단된 환자 뿐만 아니라, 질환에 걸릴 위험에 처해 있거나 질환을 갖는 것으로 의심되는 환자의 치료를 비롯하여, 예방적 또는 방지적 치료, 및 치유적 또는 질환-수정 치료 둘 모두를 지칭한다. 용어 "치료" 및 "치료하다"는 또한 질환을 앓지 않지만 비건강 상태, 예컨대 질소 불균형 또는 근육 손실이 발생하기 쉬울 수 있는 개체에서의 건강의 유지 및/또는 증진을 지칭한다. 한 실시양태에서, "치료"는 질환 상태의 예방을 포함하지 않는다. 따라서, 본 개시내용은 베타-ENaC-관련 질환을 앓는 개체 또는 베타-ENaC-관련 질환에 걸리기 쉬운 개체에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 억제하고/거나 베타-ENaC-관련 질환을 치료하기에 유용하다. 베타-ENaC-관련 질환을 "앓는" 개체는 질환의 검출가능한 증상 특징을 입증하였거나, 또는 베타-ENaC-관련 질환 병원체 또는 마커에 노출되었거나 그를 보유한 것으로 달리 임상적으로 나타났다. 비제한적 예로서, 베타-ENaC-관련 질환을 앓는 개체는 외형적인 증상을 보일 수 있거나; 또는 외형적인 증상은 전혀 보이지 않지만 베타-ENaC-관련 질환과 연관된 단백질 마커, 또는 혈중 병원체와 연관된 단백질 또는 유전 물질을 보유한다는 것을 임상 시험으로 보여줄 수 있다.
- [0277] 일부 베타-ENaC-관련 질환의 초기 치료는 후기보다는 초기에 투여되는 경우에 보다 효과적일 수 있다. 아밀로리드 (ENaC 억제제)의 예방적 초기 투여는 CF 모델 마우스를 치료함에 있어 유용했고, 반면에 후기 투여는 그러하지 않았다. 유사하게, CF에서의 항미생물제를 사용한 초기 개입은 감염이 확립된 후의 치료에 비해 보다 효과적이었다. 문헌 [Zhou et al. 2008]. 따라서, 한 특정한 실시양태에서, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 질환 확립 후에 투여되기보다는 질환이 나타나기 전에, 및/또는 예방적 작용제로서 초기에 투여된다.
- [0278] 베타-ENaC-관련 질환의 치료는, 베타 ENaC RNAi 작용제를 포함하고 임의로 추가의 치료 (이는 방법 (또는 절차), 또는 추가의 조성물 (예를 들어, 작용제 또는 추가의 RNAi 작용제)일 수 있음)를 추가로 포함하는 다양한 치료를 포함할 수 있다.
- [0279] **RNAi 작용제의 투여량 및 유효량**
- [0280] 본 개시내용의 RNAi 작용제는 그를 필요로 하는 환자에게 치료 유효량의 투여량으로 투여된다.
- [0281] "유효량" 또는 "치료 유효량"은 개체의 질환 또는 의학적 상태를 치료하거나, 또는 보다 일반적으로는 개체에게 영양상, 생리학상 또는 의료상 이익을 제공하는 양이다. 본원에 사용된 어구 "치료 유효량" 및 "예방 유효량"은 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정 또는 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정의 명백한 증상의 치료, 예방 또는 관리에 있어 치료 이점을 제공하는 양을 지칭한다. 치료상 유효한 구체적인 양은 보통의 진료의가 용이하게 결정할 수 있고, 당업계에 공지된 인자, 예컨대 예를 들어 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정의 유형, 환자의 병력 및 연령, 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정의 단계, 및 베타-ENaC 발현에 의해 매개되는 병리학 과정을 억제하는 다른 작용제의 투여에 따라 변화할 수 있다.
- [0282] 본 개시내용의 다양한 실시양태에서, 환자는 적어도 약 1, 3, 6 또는 9개월, 또는 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70 또는 75세이다. 다양한 실시양태에서, 환자는 최대 약 1, 3, 6 또는 9개월, 또는 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90 또는 100세이다. 다양한 실시양태에서, 환자는 적어도 약 5,

10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380 또는 400 lb의 체중을 갖는다. 다양한 실시양태에서, 환자는 최대 약 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380 또는 400 lb의 체중을 갖는다.

[0283] 본 개시내용의 다양한 실시양태에서, 투여량 [단지 활성 성분(들)만을 측정함]은 적어도 약 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000 ng, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000 마이크로그램, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000 mg일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 투여량은 최대 약 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 또는 1000 mg일 수 있다. 다양한 실시양태에서, 투여량은 적어도 1일 1회 초과, 매일, 매주 1회 초과, 매주, 2주마다, 매일, 및/또는 매 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 또는 12개월마다, 또는 이들의 조합으로 투여될 수 있다.

[0284] 다양한 실시양태에서, 투여량은 개체의 체중 또는 체표면적과 연관성이 있다. 실제 투여량 수준은 환자에 대한 독성 없이, 특정한 환자, 조성물 및 투여 방식에 대해 효과적인 양의 활성 성분을 얻도록 변화될 수 있다. 선택된 용량은 다양한 약동학 인자, 예컨대 사용된 특정한 RNAi 작용제의 활성, 투여 경로, RNAi 작용제의 배출 속도, 치료 지속기간, RNAi 작용제와 조합되어 사용되는 다른 약물, 화합물 및/또는 물질, 환자의 연령, 성별, 체중, 상태, 전반적 건강 및 이전 병력, 및 의학 분야에 널리 공지된 기타 인자에 따라 좌우될 것이다. 당업계의 통상의 지식을 갖는 의사 또는 수의사는 요구되는 RNAi 작용제의 유효량을 용이하게 결정할 수 있다. 적절한 용량은 치료 효과를 생성하는 데 유효한 최저 용량, 또는 부작용을 유발하지 않으면서 치료 효과를 생성하기에 충분히 낮은 용량인 양일 것이다.

[0285] 베타-ENaC에 대한 하나 이상의 RNAi 작용제의 치료 유효 투여량 이외에도, 본 개시내용의 제약 조성물은 상기 RNAi 작용제와 상승작용적으로 작용하는 추가의 질환 치료를 포함하거나 또는 그와 함께 사용될 수 있다. 예를 들어, 제약 조성물은 ENaC에 대한 추가의 길항제, 예컨대 칼륨-보존성 이뇨제, 아밀로리드 및 트리암테렌을 포함할 수 있다. 비제한적 예로서 식이성 염 섭취의 조절을 비롯한 추가의 치료가 제약 조성물과 함께 투여될 수 있다. 남성 섬유증을 치료하는 데 사용되는 경우에, 제약 조성물은 항생제, DNase 요법, 알부트롤, N-아세틸시스테인, 호흡 요법, 타진 요법, 유산소 운동, 및 남성 섬유증과 연관된 질병 (예를 들어, 설사, 골다공증, 당뇨병, 출혈 등)을 치료하기 위한 다양한 의약 및 요법을 비롯하여 (이에 제한되지 않음) 당업계에 공지된 다양한 의약 및 요법과 함께 사용될 수 있다.

[0286] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 추가 실시양태**

[0287] 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 하나 이상의 베타-ENaC RNAi 작용제를 포함하는 조성물을 포함한다. 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥 및 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 예를 들어 표 1에 열거된 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 서열로 이루어지거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그를 포함한다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 예를 들어 표 1에 열거된 임의의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어지거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그를 포함한다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 예를 들어 표 1에 열거된 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 서열로 이루어지고, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드를 추가로 포함한다. 한 실시양태에서, 안티센스 가닥은 예를 들어 표 1에 열거된 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어지고, 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 뉴클레오티드를 추가로 포함한다.

[0288] 또 다른 실시양태에서, 청구된 개시내용의 조성물은 예를 들어 표 1에 열거된 임의의 특정한 개별 RNAi 작용제를 포함하지 않는다. 본 개시내용의 또 다른 실시양태에서, 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제는 특허 또는 과학 문헌, 예를 들어 미국 특허 출원 번호 60/346,069 (PCT/US02/41850), 및 문헌 [Hyde et al. 2009, The 23rd North American Cystic Fibrosis Conference, Minneapolis, October 14-17, 2009]에 개시된 임의의 베타-ENaC RNAi 작용제; 또는 산타 크루즈 바이오테크놀로지(Santa Cruz Biotechnology, 캘리포니아주 산타 크루즈)로부터 sc-42418로서 구입가능한 것 (및 관련 제품)의 서열을 포함하지 않는다.

[0289] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 구체적 실시양태**

[0290] 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 구체적 실시양태가 본원에 개시되어 있다. 예시적인 듀플렉스 서열이

본원에 및 예를 들어 표 1에 제공되어 있다. 본 개시내용의 구체적 실시양태는 예를 들어 표 1에 열거된 RNAi 작용제의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 nt 또는 bp가 상이한 (예를 들어, 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는) 서열을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0291] 미스매치는 2개의 서열이 최대한 정렬 및 비교된 때의 염기 서열 또는 길이 사이의 차이로서 본원에서 정의된다. 미스매치는 한 서열의 염기가 다른 서열의 염기와 일치하지 않는 위치로 정의된다. 따라서, 예를 들어 한 서열 내의 위치가 특정한 염기 (예를 들어, A)를 갖고, 다른 서열 상의 상응하는 위치가 상이한 염기 (예를 들어, G)를 갖는 경우에 미스매치가 카운트된다.

[0292] 예를 들어, 한 서열 내의 위치가 염기 (예를 들어, A)를 갖고, 다른 서열 상의 상응하는 위치가 어떠한 염기도 갖지 않는 경우 (예를 들어, 해당 위치가 포스페이트-당 백본을 포함하지만 어떠한 염기도 포함하지 않는 무염기성 뉴클레오티드임)에도 또한 미스매치가 카운트된다. 어느 쪽 서열에서든 (또는 센스 또는 안티센스 가닥에서) 단일-가닥 Nick은 미스매치로서 카운트되지 않는다. 따라서, 비제한적 예로서, 한 서열이 서열 AG를 포함하지만 다른 서열이 A와 G 사이에 단일-가닥 Nick을 갖는 서열 AG를 포함하는 경우에는 어떠한 미스매치도 카운트되지 않을 것이다. 염기 변형도 또한 미스매치로 간주되지 않는다. 따라서, 한 서열이 C를 포함하고, 다른 서열이 동일한 위치에 변형된 C (예를 들어, 2'-변형)를 포함하는 경우에, 어떠한 미스매치도 카운트되지 않을 것이다.

[0293] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20807 (서열 5 및 6 또는 서열 115 및 116)의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0294] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20807의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0295] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20807을 포함한다.

[0296] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20807의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.

[0297] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20826 (서열 43 및 44 또는 서열 153 및 154)의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0298] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20826의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0299] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20826을 포함한다.

[0300] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20626의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.

[0301] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 서열 55 및 56 또는 서열 165 및 166을 포함하는 AD-20832의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0302] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20832의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0303] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832를 포함한다.

[0304] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.

[0305] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 서열 59 및 60 또는 서열 169 및 170을 포함하는 AD-20834의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0306] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20834의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.

[0307] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20834를 포함한다.

[0308] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20834의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.

- [0309] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 서열 87 및 88 또는 서열 197 및 198을 포함하는 AD-20848의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0310] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20848의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0311] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20848을 포함한다.
- [0312] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20848의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0313] 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 서열 97 및 98 또는 서열 207 및 208을 포함하는 AD-20861의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0314] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20861의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0315] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20861을 포함한다.
- [0316] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20861의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0317] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 H441 세포에서 10 nM의 시험관내 농도에서 베타-ENaC 유전자의 적어도 약 80% 녹다운 (약 20% 이하의 잔류 유전자 활성)을 나타내는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0318] 따라서, 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861 또는 AD-20834의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0319] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861 또는 AD-20834의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0320] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861 또는 AD-20834를 포함한다.
- [0321] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861 또는 AD-20834의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0322] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 H441 세포에서 10 nM의 시험관내 농도에서 베타-ENaC 유전자의 적어도 약 70% 녹다운 (약 30% 이하의 잔류 유전자 활성)을 나타내는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0323] 따라서, 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825 또는 AD-20867의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0324] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825 또는 AD-20867의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0325] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825 또는 AD-20867을 포함한다.
- [0326] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825 또는 AD-20867의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0327] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 H441 세포에서 10 nM의 시험관내 농도에서 베타-ENaC 유전자의 적어도 약 60%

녹다운 (약 40% 이하의 잔류 유전자 활성)을 나타내는 RNAi 작용제를 포함한다.

- [0328] 따라서, 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808 또는 AD-20827의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0329] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808 또는 AD-20827의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0330] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808 또는 AD-20827을 포함한다.
- [0331] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808 또는 AD-20827의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0332] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 H441 세포에서 10 nM의 시험관내 농도에서 베타-ENaC 유전자의 적어도 약 50% 녹다운 (약 50% 이하의 잔류 유전자 활성)을 나타내는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0333] 따라서, 한 특정한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836 또는 AD-20822의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0334] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 또한 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836; 또는 AD-20822의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 추가로 포함한다.
- [0335] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836 또는 AD-20822를 포함한다.
- [0336] 또 다른 특정한 실시양태에서, siRNA는 AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836 또는 AD-20822의 서열로 이루어진 서열을 갖는다.
- [0337] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**
- [0338] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20805의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥 및/또는 AD-20805의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0339] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20806의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥 및/또는 AD-20806의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0340] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20807의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥 및/또는 AD-20807의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도

- [0444] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 서열 211 - 212를 포함하는 AD-20863 및 그의 변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0445] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 서열 213 - 214를 포함하는 AD-20864 및 그의 변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0446] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 서열 215 - 216을 포함하는 AD-20865 및 그의 변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0447] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 서열 217 - 218을 포함하는 AD-20866 및 그의 변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0448] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 서열 219 - 220을 포함하는 AD-20867 및 그의 변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물에 관한 것이다.
- [0449] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**
- [0450] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 111 및 112를 포함하는 AD-20805의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0451] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 113 및 114를 포함하는 AD-20806의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0452] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 115 및 116을 포함하는 AD-20807의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0453] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 117 및 118을 포함하는 AD-20808의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0454] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 119 및 120을 포함하는 AD-20809의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0455] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 121 및 122를 포함하는 AD-20810의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0456] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 123 및 124를 포함하는 AD-20811의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0457] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 125 및 126을 포함하는 AD-20812의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0458] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 127 및 128을 포함하는 AD-20813의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0459] 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 129 및 130을 포함하는 AD-20814의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클

레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0504] 그리고 한 실시양태에서, 조성물은 센스 가닥, 및 서열 219 및 220을 포함하는 AD-20867의 안티센스 가닥과 0개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0505] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**

[0506] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 1 및 2를 포함하는 AD-20805의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0507] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 3 및 4를 포함하는 AD-20806의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0508] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 5 및 6을 포함하는 AD-20807의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0509] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 7 및 8을 포함하는 AD-20808의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0510] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 9 및 10을 포함하는 AD-20809의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0511] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 11 및 12를 포함하는 AD-20810의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0512] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 13 및 14를 포함하는 AD-20811의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0513] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 15 및 16을 포함하는 AD-20812의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0514] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 17 및 18을 포함하는 AD-20813의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0515] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 19 및 20을 포함하는 AD-20814의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0516] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 21 및 22를 포함하는 AD-20815의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0517] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 23 및 24를 포함하는 AD-20816의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.

[0518] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 25 및 26을 포함하는 AD-20817의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하

- [0548] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 85 및 86을 포함하는 AD-20847의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0549] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 87 및 88을 포함하는 AD-20848의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0550] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 89 및 90을 포함하는 AD-20849의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0551] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 91 및 92를 포함하는 AD-20850의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0552] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 93 및 94를 포함하는 AD-20851의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0553] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 95 및 96을 포함하는 AD-20852의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0554] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 97 및 98을 포함하는 AD-20861의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0555] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 99 및 100을 포함하는 AD-20862의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0556] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 101 및 102를 포함하는 AD-20863의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0557] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 103 및 104를 포함하는 AD-20864의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0558] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 105 및 106을 포함하는 AD-20865의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0559] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 107 및 108을 포함하는 AD-20866의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0560] 한 실시양태에서, 조성물은 변이체가 센스 가닥, 및 서열 109 및 110을 포함하는 AD-20867의 안티센스 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 것인 RNAi 작용제의 변형된 변이체를 포함한다.
- [0561] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**
- [0562] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20805 (서열 1 및 2 또는 서열 111 및 112)를 포함한다.
- [0563] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20806 (서열 3 및 4 또는 서열 113 및 114)을 포함한다.
- [0564] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20807 (서열 5 및 6 또는 서열 115 및 116)을 포함한다.

- [0565] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20808 (서열 7 및 8 또는 서열 117 및 118)을 포함한다.
- [0566] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20809 (서열 9 및 10 또는 서열 119 및 120)를 포함한다.
- [0567] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20810 (서열 11 및 12 또는 서열 121 및 122)을 포함한다.
- [0568] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20811 (서열 13 및 14 또는 서열 123 및 124)을 포함한다.
- [0569] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20812 (서열 15 및 16 또는 서열 125 및 126)를 포함한다.
- [0570] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20813 (서열 17 및 18 또는 서열 127 및 128)을 포함한다.
- [0571] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20814 (서열 19 및 20 또는 서열 129 및 130)를 포함한다.
- [0572] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20815 (서열 21 및 22 또는 서열 131 및 132)를 포함한다.
- [0573] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20816 (서열 23 및 24 또는 서열 133 및 134)을 포함한다.
- [0574] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20817 (서열 25 및 26 또는 서열 135 및 136)을 포함한다.
- [0575] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20818 (서열 27 및 28 또는 서열 137 및 138)을 포함한다.
- [0576] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20819 (서열 29 및 30 또는 서열 139 및 140)를 포함한다.
- [0577] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20820 (서열 31 및 32 또는 서열 141 및 142)을 포함한다.
- [0578] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20821 (서열 33 및 34 또는 서열 143 및 144)을 포함한다.
- [0579] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20822 (서열 35 및 36 또는 서열 145 및 146)를 포함한다.
- [0580] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20823 (서열 37 및 38 또는 서열 147 및 148)을 포함한다.
- [0581] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20824 (서열 39 및 40 또는 서열 149 및 150)를 포함한다.
- [0582] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20825 (서열 41 및 42 또는 서열 151 및 152)를 포함한다.
- [0583] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20826 (서열 43 및 44 또는 서열 153 및 154)을 포함한다.
- [0584] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20827 (서열 45 및 46 또는 서열 155 및 156)을 포함한다.
- [0585] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20828 (서열 47 및 48 또는 서열 157 및 158)을 포함한다.
- [0586] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20829 (서열 49 및 50 또는 서열 159 및 160)를 포함한다.
- [0587] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20830 (서열 51 및 52 또는 서열 161 및 162)을 포함한다.
- [0588] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20831 (서열 53 및 54 또는 서열 163 및 164)을 포함한다.
- [0589] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20832 (서열 55 및 56 또는 서열 165 및 166)를 포함한다.
- [0590] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20833 (서열 57 및 58 또는 서열 167 및 168)을 포함한다.
- [0591] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20834 (서열 59 및 60 또는 서열 169 및 170)를 포함한다.
- [0592] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20835 (서열 61 및 62 또는 서열 171 및 172)를 포함한다.
- [0593] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20836 (서열 63 및 64 또는 서열 173 및 174)을 포함한다.
- [0594] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20837 (서열 65 및 66 또는 서열 175 및 176)을 포함한다.
- [0595] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20838 (서열 67 및 68 또는 서열 177 및 178)을 포함한다.
- [0596] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20839 (서열 69 및 70 또는 서열 179 및 180)를 포함한다.
- [0597] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20840 (서열 71 및 72 또는 서열 181 및 182)을 포함한다.
- [0598] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20841 (서열 73 및 74 또는 서열 183 및 184)을 포함한다.
- [0599] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20842 (서열 75 및 76 또는 서열 185 및 186)를 포함한다.
- [0600] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20843 (서열 77 및 78 또는 서열 187 및 188)을 포함한다.

- [0601] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20844 (서열 79 및 80 또는 서열 189 및 190)를 포함한다.
- [0602] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20845 (서열 81 및 82 또는 서열 191 및 192)를 포함한다.
- [0603] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20846 (서열 83 및 84 또는 서열 193 및 194)을 포함한다.
- [0604] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20847 (서열 85 및 86 또는 서열 195 및 196)을 포함한다.
- [0605] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20848 (서열 87 및 88 또는 서열 197 및 198)을 포함한다.
- [0606] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20849 (서열 89 및 90 또는 서열 199 및 200)를 포함한다.
- [0607] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20850 (서열 91 및 92 또는 서열 201 및 202)을 포함한다.
- [0608] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20851 (서열 93 및 94 또는 서열 203 및 204)을 포함한다.
- [0609] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20852 (서열 95 및 96 또는 서열 205 및 206)를 포함한다.
- [0610] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20861 (서열 97 및 98 또는 서열 207 및 208)을 포함한다.
- [0611] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20862 (서열 99 및 100 또는 서열 209 및 210)를 포함한다.
- [0612] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20863 (서열 101 및 102 또는 서열 211 및 212)을 포함한다.
- [0613] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20864 (서열 103 및 104 또는 서열 213 및 214)를 포함한다.
- [0614] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20865 (서열 105 및 106 또는 서열 215 및 216)를 포함한다.
- [0615] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20866 (서열 107 및 108 또는 서열 217 및 218)을 포함한다.
- [0616] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 AD-20867 (서열 109 및 110 또는 서열 219 및 220)을 포함한다.
- [0617] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20805의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0618] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20806의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0619] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20807의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0620] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20808의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0621] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20809의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0622] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20810의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0623] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20811의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0624] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20812의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0625] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20813의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0626] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20814의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0627] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20815의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0628] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20816의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다.

포함한다.

- [0671] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20867의 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함한다. 이들 다양한 실시양태에서, 나열된 RNAi 작용제의 나열된 안티센스 가닥의 정확한 서열 및 길이인 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제는 변형된 뉴클레오티드, 3'-말단 캡, 및/또는 RNAi 작용제의 서열 또는 길이를 변경하지 않는 다른 변형을 포함할 수 있다.
- [0672] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**
- [0673] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20805의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0674] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20806의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0675] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20807의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0676] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20808의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0677] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20809의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0678] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20810의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0679] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20811의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0680] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20812의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0681] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20813의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0682] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20814의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0683] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20815의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0684] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20816의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0685] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20817의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0686] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20818의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0687] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20819의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0688] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20820의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0689] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20821의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0690] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20822의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.

- [0712] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20844의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0713] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20845의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0714] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20846의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0715] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20847의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0716] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20848의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0717] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20849의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0718] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20850의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0719] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20851의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0720] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20852의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0721] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20861의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0722] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20862의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0723] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20863의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0724] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20864의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0725] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20865의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0726] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20866의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0727] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20867의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함한다.
- [0728] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 다양한 실시양태**
- [0729] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20805의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위, 예를 들어 0-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 2-3, 2-4 또는 2-5개의 nt 등)를 추가로 포함한다.
- [0730] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20806의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0731] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20807의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10

개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.

- [0776] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20852의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0777] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20861의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0778] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20862의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0779] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20863의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0780] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20864의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0781] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20865의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0782] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20866의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.
- [0783] 한 실시양태에서, RNAi 작용제는 AD-20867의 안티센스 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 미스매치를 갖는 서열로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하며, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개의 nt (또는 그의 임의의 범위)를 추가로 포함한다.

[0784] 추가의 특정한 구체적 실시양태

[0785] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0786] 따라서, 다양한 실시양태에서:

[0787] 본 개시내용은 센스 가닥, 및 하기 듀플렉스 중 임의의 하나 이상 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체.

[0788] 추가의 특정한 구체적 실시양태

[0789] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 제1 가닥의 서열이 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 제1 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하고, 제2 가닥의 서열이 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 제2 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 제1 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

- [0790] 따라서, 다양한 실시양태에서:
- [0791] 본 개시내용은 제1 가닥의 서열이 하기 듀플렉스 중 임의의 하나 이상 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체의 제1 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하고, 제2 가닥의 서열이 하기 듀플렉스 중 임의의 하나 이상 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체의 제2 가닥의 서열과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 것인, 센스 및 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체.
- [0792] **추가된 특정한 실시양태**
- [0793] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥을 포함하거나 그로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0794] 따라서, 다양한 실시양태의 예가 하기 제공되어 있다.
- [0795] 본 개시내용은 센스 가닥, 및 하기의 안티센스 가닥을 포함하거나 그로 이루어진 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체.
- [0796] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하고, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 초과 nt (또는 그의 임의의 범위, 예를 들어 0-1, 1-2, 1-3, 1-4개의 nt 등)를 추가로 포함한다.
- [0797] 따라서, 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 센스 가닥, 및 하기의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하고, 여기서 안티센스 가닥은 임의로 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 또는 10개 또는 그 초과 nt (또는 그의 임의의 범위, 예를 들어, 0-1, 1-2, 1-3, 1-4개의 nt 등)를 추가로 포함한다: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체.
- [0798] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 제1 가닥의 서열이 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체의 제1 가닥의 서열을 포함하거나 그로 이루어지고, 제2 가닥의 서열이 본원에 개시된 임의의 RNAi 작용제 또는 그의 변형 또는 비변형된 변이체의 제2 가닥의 서열을 포함하거나 그로 이루어진 것인, 제1 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.
- [0799] 따라서, 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 제1 가닥의 서열이 하기의 제1 가닥의 서열을 포함하거나 그로 이루어지고, 제2 가닥의 서열이 하기의 제2 가닥의 서열을 포함하거나 그로 이루어진 것인, 제1 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825,

AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867.

[0800] 한 실시양태에서, 본 개시내용은 본원에 열거된 임의의 하나 이상의 RNAi 작용제를 포함한다.

[0801] **베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 중복 세트**

[0802] 다양한 실시양태에서, 본 개시내용은 중복 서열을 갖는 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 군에 관한 것이다. 따라서, 본 개시내용은 군 내의 각각의 RNAi 작용제가 동일한 군 내의 서로 다른 RNAi 작용제와 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19개 또는 그 초과 뉴클레오티드가 중복되는 것인 RNAi 작용제의 군을 포함한다. 특히, 한 실시양태에서, 중복은 적어도 12개의 nt이다.

[0803] 본원에 열거된 RNAi 작용제 중 일부는 서열에 있어 서로 중복된다. 표 2는 이들 중복 RNAi 작용제의 군 중 일부의 편집본을 나타내며, 여기서 군의 각 구성원은 동일한 군의 서로 다른 구성원과 적어도 12개의 nt가 중복된다. 센스 및 안티센스 가닥의 중복의 12-nt 부분을 나타내었다.

[0804] 따라서, 예를 들어 표 2에 나타낸 바와 같이, RNAi 작용제 AD-20807 및 AD-20832의 서열은 중복되며, 여기서 센스 가닥에서의 중복은 서열 UGAAGAAGUACC (서열 223)를 포함하고; 이들 RNAi 작용제는 또한 안티센스 가닥 서열에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 GGUACUUCUUCA (서열 224)를 포함한다. RNAi 작용제 AD-20807, AD-20862 및 AD-20832 모두는 센스 가닥에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 GAAGAAGUACCU (서열 225)를 포함하고; 이들 RNAi 작용제는 또한 안티센스 가닥에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 AGGUACUUCUUC (서열 226)를 포함한다. 따라서, 표 2에 나타낸 중복 RNAi 작용제의 이들 및 다른 다양한 세트는 공통의 기술적 특징, 예를 들어 센스 및 안티센스 가닥에서의 중복을 공유한다.

[0805] 베타-ENaC에 대한 중복 RNAi 작용제의 특정한 세트가 하기 표 2에 제공되어 있다.

[0806] 본 개시내용은 따라서 공통의 기술적 특징을 포함하는 RNAi 작용제의 임의의 군 또는 하위군을 포함하며, 여기서 공통의 기술적 특징은 센스 또는 안티센스 가닥에서의 서열의 (예를 들어, 적어도 12개의 nt의) 중복이다.

[0807] 따라서:

[0808] 본 개시내용은 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥 및/또는 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0809] 본 개시내용은 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 제1 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제1 가닥 및/또는 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 제2 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 nt가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0810] 본 개시내용은 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 제1 가닥의 서열을 포함하거나 그로 이루어진 제1 가닥 및 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 서열을 포함하거나 그로 이루어진 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함한다.

[0811] 본 개시내용은 제1 및 제2 가닥 (여기서, 제1 및 제2 가닥은 임의로 공유적으로 연결되거나, 루프 또는 링커를 통해 연결되거나, 또는 인접할 수 있음)을 포함하며, 여기서 제1 및/또는 제2 가닥이 AD-20807 및 AD-20832의 임의의 군 (또는 표 2에 나타낸 임의의 다른 군)의 0, 1, 2 또는 3개 nt 또는 bp의 미스매치를 갖는 서열 (임의로 0-10개의 nt 또는 bp를 추가로 포함함)을 포함하거나, 그로 본질적으로 이루어지거나, 또는 그로 이루어진 것인 RNAi 작용제를 포함한다.

[0812] 본 개시내용은 유사하게는 표 2에 나타낸 중복 RNAi 작용제의 군을 포함하는 다양한 실시양태를 포함한다.

[0813] **추가 정의**

[0814] 본원에 및 특허청구범위에 사용된 단수형은 하나 또는 하나를 초과하는 (즉, 적어도 하나의) 대상을 지칭한다.

[0815] 용어 "RNAi 작용제", "RNAi 작용제들", "RNAi 작용제(들)" 등은 모두 본 개시내용의 하나 이상의 RNAi 작용제를 비제한적으로 지칭한다.

- [0816] 본원에 개시된 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 특정한 예시적인 듀플렉스의 명칭은 가끔 번호 뒤에 접미사 "b"를 갖는다. 이는 배치 번호를 나타낸다. 따라서, 접미사 "b1"은 "배치 1"을 나타낸다. 따라서, 예를 들어 "AD-20807-b1"로 표시된 RNAi 듀플렉스는 구체적으로 배치 1로부터의 것이고, "AD-20807"로 표시된 임의의 RNAi 작용제와 동일한 서열을 갖는다.
- [0817] 달리 정의되지 않는 한, 본원에 사용된 전문 학술 용어는 본 개시내용이 속한 분야에 친숙한 전문가가 통상적으로 이해하는 바와 동일한 의미를 갖는다.
- [0818] 달리 나타내지 않는 한, 상세한 설명에 구체적으로 기재되지 않은 모든 방법, 단계, 기술 및 조작은, 당업자에게 명백할 바와 같이 그 자체로 공지된 방식으로 수행될 수 있고 수행되어 왔다. 참조는, 예를 들어 표준 핸드북 및 본원에 언급된 일반적인 배경 기술에 대해, 및 그에 인용된 추가의 참고문헌에 대해 다시 이루어진다.
- [0819] 본 개시내용에 대한 특허청구범위는 비제한적이며, 하기 제공되어 있다.
- [0820] 특정한 실시양태 및 특허청구범위가 본원에 상세히 개시되어 있을지라도, 이는 단지 예시 목적의 예로 행해진 것이며, 첨부된 특허청구범위의 범주, 또는 임의의 상응하는 미래 출원의 특허청구범위의 주제의 범주와 관련하여 제한하려는 의도가 아니다. 특히, 특허청구범위에 의해 정의된 바와 같은 본 개시내용의 취지 및 범주로부터 벗어나지 않으면서 다양한 치환, 변경 및 변형이 본 개시내용에 생성될 수 있다는 것이 본 발명자들에 의해 고려된다. 핵산 출발 물질, 관심있는 클론, 또는 라이브러리 유형의 선택은 본원에 기재된 실시양태의 지식을 갖는 당업자의 경우에는 일상적인 문제인 것으로 여겨진다. 다른 측면, 이점 및 변형이 하기 특허청구범위의 범주 내에 있는 것으로 간주된다. 이후에 출원된 상응하는 출원에서 청구 범주를 고쳐 쓰는 것은 다양한 국가의 특허법에 의한 제한으로 인한 것일 수 있으며, 특허청구범위의 주제를 포기하는 것으로 해석해서는 안 된다.
- [0821] 베타-ENaC에 대한 기재된 RNAi 작용제의 다양한 추가의 제제 및 명백한 변이체가 당업자에 의해 고안될 수 있다. 베타-ENaC에 대한 비제한적이고 예시적인 RNAi 작용제가 하기 실시예에 기재되어 있으며, 이는 특허청구범위에 기재된 바와 같은 본 개시내용의 범주를 제한하지 않는다.
- [0822] **실시예**
- [0823] **실시예 1**
- [0824] **생물정보학 및 베타-ENaC RNAi 작용제 (siRNA) 서열**
- [0825] 베타-ENaC 유전자 [인간으로부터의 "나트륨 채널, 무전압-게이팅 1 베타" (NCBI 인간 기호 SCNN1B), 및 시노물구스 원숭이 (마카카 파시쿨라리스) 및 래트 (라투스 노르베기쿠스)로부터의 이종상동성 서열]를 코딩하는 mRNA를 표적화하는 siRNA를 확인하기 위해 베타-ENaC 올리고뉴클레오티드 설계를 수행하였다. 설계 과정은 SCNNB1 전사체 NM_000336.2 (인간으로부터; NCBI GeneId 6338), NM_012648.1 (래트로부터; NCBI GeneId 24767) 및 전장 시노물구스 원숭이 서열 (본원에 기재됨)을 이용하였다.
- [0826] 모든 siRNA 듀플렉스는 3종의 SCNNB1 전사체 모두에 대해 100%의 동일성을 갖도록 설계하였다. 모든 서열은 전사체 NM_000336으로부터의 것이었다.
- [0827] 비변형된 서열 및 변형된 서열이 표 1에 열거되어 있다. 비변형된 서열은 서열 111 내지 220으로서 열거되어 있는 센스 및 안티센스 서열 둘 모두를 포함한다. 서열 222에서의 인간 베타-ENaC 전사체와 비교하여 제1 잔기의 상대적 위치가 또한 제공되어 있다.
- [0828] 하기 기재된 바와 같이, 표 1은 또한 이들 서열 (서열 1 내지 110)의 예시적인 변형된 변이체를 제공한다. 표 1 열에 대하여, "S"는 센스 가닥을 나타내고, "AS"는 안티센스 가닥을 나타내고, "Pos'n"은 제1 뉴클레오티드의 위치를 나타낸다. 소문자로 나타낸 (예를 들어, "c" 및 "u") 변형된 뉴클레오티드는 하기 표 1A에 기재된 바와 같다.
- [0829] 표 1 내의 서열에서, 변형된 서열 및 비변형된 서열은 임의로 3' 말단에 서열 "dTsdT"를 포함할 수 있다. 따라서, 예를 들어 AD-20805는 임의로 센스 가닥 내에 변형된 서열 cAGuGAcuAcAAcAcGAccdTsdT (서열 429) 및 안티센스 가닥 내에 GGUCGUUGuAGUcACUGdTsdT (서열 430)를 가질 수 있다. 하기 표 1A에 언급된 바와 같이, dT는 2'-데옥시-티미딘-5'-포스페이트이고, sdT는 2'-데옥시 티미딘 5'-포스포리토에이트이다.

[0830] <표 1> 베타-ENaC 서열

듀플렉스 ID		서열 번호	변형된 서열	서열 번호	비변형된 서열	위치
AD-20805	S	1	cAGuGAcuAcAAcAcGAcc	111	CAGUGACUACAACACGACC	1298
	AS	2	GGUCGUGUUGuAGUcACUG	112	GGUCGUGUUGUAGUCACUG	1298
AD-20806	S	3	AuGAcAGAGAAGGcAcuuc	113	AUGACAGAGAAGGCACUUC	1011
	AS	4	GAAGUGCCUUCUCUGUcAU	114	GAAGUGCCUUCUCUGUCAU	1011
AD-20807	S	5	GuGAAGAAGuAccuGcuGA	115	GUGAAGAAGUACCUCUGUGA	183
	AS	6	UcAGcAGGuACUUCUUCAC	116	UCAGCAGGUACUUCUUCAC	183
AD-20808	S	7	GuGAcuAcAAcAcGAccuA	117	GUGACUACAACACGACCUA	1300
	AS	8	uAGGUCGUGUUGuAGUcAC	118	UAGGUCGUGUUGUAGUCAC	1300
AD-20809	S	9	GGuGGAGGcccAcAccAAc	119	GGUGGAGGCCACACCAAC	1919
	AS	10	GUUGGUGUGGGCCUCcACC	120	GUUGGUGUGGGCCUCCACC	1919
AD-20810	S	11	uGGuGGAGGcccAcAccAA	121	UGGUGGAGGCCACACCAA	1918
	AS	12	UUGGUGUGGGCCUCcACcA	122	UUGGUGUGGGCCUCCACCA	1918
AD-20811	S	13	uuccAAGAccAcAuGAucc	123	UUCCAAGACCACAUGAUCC	1347
	AS	14	GGAUcAUGUGGUCUUGGAA	124	GGAUcAUGUGGUCUUGGAA	1347
AD-20812	S	15	AGcuGGGAGGucAgcGucu	125	AGCUGGGAGGUCAGCGUCU	402
	AS	16	AGACGCUGACCUCcAGCU	126	AGACGCUGACCUCcCAGCU	402
AD-20813	S	17	GGGAGAAuAcuGcAAcAA	127	GGGAGAAUACUGCAACAA	1408
	AS	18	UUGUUGcAGuAUUUCUCCC	128	UUGUUGCAGUAUUUCUCCC	1408
AD-20814	S	19	ccAGuuuGGcuucuuGGAuG	129	CCAGUUUGGCUUCUGGAUG	1748
	AS	20	cAUCcAGAAGCcAAACUGG	130	CAUCCAGAAGCCAAACUGG	1748
AD-20815	S	21	AGuGAcuAcAAcAcGAccu	131	AGUGACUACAACACGACCU	1299
	AS	22	AGGUCGUGUUGuAGUcACU	132	AGGUCGUGUUGUAGUCACU	1299
AD-20816	S	23	AAuAucAcccuGAGcAGGA	133	AAUAUCACCCUGAGCAGGA	1626
	AS	24	UCCUGCUcAGGUGAuAUU	134	UCCUGCUCAGGGUGAUUU	1626
AD-20817	S	25	ccuGcAGGccAccAAcAuc	135	CCUGCAGGCCACCAACAUC	836
	AS	26	GAUGUUGGUGGCCUGcAGG	136	GAUGUUGGUGGCCUGCAGG	836
AD-20818	S	27	AucAcccuGAGcAGGAAGG	137	AUCACCCUGAGCAGGAAGG	1629
	AS	28	CCUUCUGCUcAGGGUGAU	138	CCUUCUGCUCAGGGUGAU	1629
AD-20819	S	29	GcuGGGAGGucAgcGucuc	139	GCUGGGAGGUCAGCGUCUC	403
	AS	30	GAGACGCUGACCUCcAGC	140	GAGACGCUGACCUCcCAGC	403

[0831]

AD-20820	S	31	GAGcuGGGAGGucAGcGuc	141	GAGCUGGGAGGUcAGCGUC	401
	AS	32	GACGCUGACCUCcAGCUC	142	GACGCUGACCUCcAGCUC	401
AD-20821	S	33	GuGGccAGuuuGGcuucuG	143	GUGGCCAGUUUGGCUUCUG	1744
	AS	34	cAGAAGCcAAACUGGCcAC	144	CAGAAGCCAACUGGCCAC	1744
AD-20822	S	35	cAGuuuGGcuucuGGAuGG	145	CAGUUUGGCUUCUGGAUGG	1749
	AS	36	CcAUCcAGAAGCcAAACUG	146	CCAUCCAGAAGCCAACUG	1749
AD-20823	S	37	GGccAGuuuGGcuucuGGA	147	GGCCAGUUUGGCUUCUGGA	1746
	AS	38	UCcAGAAGCcAAACUGGCC	148	UCCAGAAGCCAACUGGCC	1746
AD-20824	S	39	cuGGGuGGccAGuuuGGcu	149	CUGGGUGGCCAGUUUGGCU	1740
	AS	40	AGCcAAACUGGCcACCcAG	150	AGCCAACUGGCCACCcAG	1740
AD-20825	S	41	ucuAcAGuGAcuAcAAcAc	151	UCUACAGUGACUACAACAC	1294
	AS	42	GUGUUGuAGUcACUGuAGA	152	GUGUUGUAGUCACUGUAGA	1294
AD-20826	S	43	GcAuGAcAGAGAAGGcAcu	153	GCAUGACAGAGAAGGCACU	1009
	AS	44	AGUGCCUUCUCUGUcAUGC	154	AGUGCCUUCUCUGUCAUGC	1009
AD-20827	S	45	AuAuAcccuGAGcAGGAA	155	AUAUCACCCUGAGCAGGAA	1627
	AS	46	UUCcUGcUcAGGGUGAuAU	156	UUCcUGcUcAGGGUGAUU	1627
AD-20828	S	47	cuAcAGuGAcuAcAAcAcG	157	CUACAGUGACUACAACACG	1295
	AS	48	CGUGUUGuAGUcACUGuAG	158	CGUGUUGUAGUCACUGUAG	1295
AD-20829	S	49	uAuAcccuGAGcAGGAAAG	159	UAUCACCCUGAGCAGGAAAG	1628
	AS	50	CUUCCUGcUcAGGGUGAuA	160	CUUCCUGcUcAGGGUGAUA	1628
AD-20830	S	51	uGcAGGccAccAAcAucuu	161	UGCAGGCCACCAACAUCUU	838
	AS	52	AAGAUGUUGGUGGCCUGcA	162	AAGAUGUUGGUGGCCUGCA	838
AD-20831	S	53	cAuGAcAGAGAAGGcAcuu	163	CAUGACAGAGAAGGCACUU	1010
	AS	54	AAGUGCCUUCUCUGUcAUG	164	AAGUGCCUUCUCUGUCAUG	1010
AD-20832	S	55	uGAAGAAGuAccuGcuGAA	165	UGAAGAAGUACCUGCUGAA	184
	AS	56	UUcAGcAGGuACUUCUcA	166	UUCAGCAGGUACUUCUcA	184
AD-20833	S	57	GcuGGuGGAGGcccAcAcc	167	GCUGGUGGAGGCCcACACC	1916
	AS	58	GGUGUGGGCCUCcAcCAGC	168	GGUGUGGGCCUCcACCAGC	1916
AD-20834	S	59	uAcAGuGAcuAcAAcAcGA	169	UACAGUGACUACAACACGA	1296
	AS	60	UCGUGUUGuAGUcACUGuA	170	UCGUGUUGUAGUCACUGUA	1296
AD-20835	S	61	AcAGAGAAGGcAcuuccuu	171	ACAGAGAAGGCACUCCUU	1014
	AS	62	AAGGAAGGCCUUCUCUGU	172	AAGGAAGGCCUUCUCUGU	1014
AD-20836	S	63	AcAGuGAcuAcAAcAcGAc	173	ACAGUGACUACAACACGAC	1297

[0832]

	AS	64	GUCGUGUUGuAGUcACUGU	174	GUCGUGUUGUAGUCACUGU	1297
AD-20837	S	65	uGAGcuGGGAGGucAGcGu	175	UGAGCUGGGAGGUCAGCGU	400
	AS	66	ACGCGUACCUCcAGCUcA	176	ACGCGUACCUCcAGCUcA	400
AD-20838	S	67	uGGccAGuuuGGcuucGG	177	UGGCCAGUUUGGCUUCUGG	1745
	AS	68	CcAGAAGCcAAACUGGCcA	178	CCAGAAGCCAACUGGCCA	1745
AD-20839	S	69	uGucucAGGAGcGGGAccA	179	UGUCUCAGGAGCGGGACCA	1600
	AS	70	UGGUCCCcGUCCUGAGAcA	180	UGGUCCCcGUCCUGAGAcA	1600
AD-20840	S	71	GuGGAGGcccAcAccAAcu	181	GUGGAGGCCcACACCAACU	1920
	AS	72	AGUUGGUGUGGGCCUCcAC	182	AGUUGGUGUGGGCCUCcAC	1920
AD-20841	S	73	GGGuGGccAGuuuGGcuuc	183	GGGUGGCCAGUUUGGCUUC	1742
	AS	74	GAAGCcAAACUGGCcACCC	184	GAAGCCAACUGGCCACCC	1742
AD-20842	S	75	GGuGGccAGuuuGGcuucu	185	GGUGGCCAGUUUGGCUUCU	1743
	AS	76	AGAAGCcAAACUGGCcACC	186	AGAAGCCAACUGGCCACC	1743
AD-20843	S	77	ucAcccuGAGcAGGAAGGG	187	UCACCCUGAGCAGGAAGGG	1630
	AS	78	CCCUCCUGCUcAGGGUGA	188	CCCUCCUGCUcAGGGUGA	1630
AD-20844	S	79	GccAGuuuGGcuucuGGAu	189	GCCAGUUUGGCUUCUGGAU	1747
	AS	80	AUCcAGAAGCcAAACUGGC	190	AUCCAGAAGCCAACUGGC	1747
AD-20845	S	81	AGcuGGuGGAGGcccAcAc	191	AGCUGGUGGAGGCCcACAC	1915
	AS	82	GUGUGGGCCUCcAcAGCU	192	GUGUGGGCCUCcACCAGCU	1915
AD-20846	S	83	AucuccAuGGcuGAcuGGc	193	AUCUCCAUGGCUGACUGGC	1545
	AS	84	GCcAGUcAGCcAUGGAGAU	194	GCCAGUCAGCCAUGGAGAU	1545
AD-20847	S	85	GGcAuGAcAGAGAAGGcAc	195	GGCAUGACAGAGAAGGCAC	1008
	AS	86	GUGCCUUCUCUGUcAUGCC	196	GUGCCUUCUCUGUcAUGCC	1008
AD-20848	S	87	GGAGAAuAcuGcAAcAAc	197	GGAGAAUAcUGCAACAAC	1409
	AS	88	GUUGUUGcAGuAUUUCUCC	198	GUUGUUGcAGuAUUUCUCC	1409
AD-20849	S	89	uGGGuGGccAGuuuGGcuu	199	UGGGUGGCCAGUUUGGCUU	1741
	AS	90	AAGCcAAACUGGCcACCCcA	200	AAGCCAACUGGCCACCCA	1741
AD-20850	S	91	GAGcuGGuGGAGGcccAcA	201	GAGCUGGUGGAGGCCcACA	1914
	AS	92	UGUGGGCCUCcAcAGCUC	202	UGUGGGCCUCcACCAGCUC	1914
AD-20851	S	93	GAcAGAGAAGGcAcuuccu	203	GACAGAGAAGGCACUCCU	1013
	AS	94	AGGAAGUGCCUUCUCUGUC	204	AGGAAGUGCCUUCUCUGUC	1013
AD-20852	S	95	AGuuuGGcuucuGGAuGGG	205	AGUUUGGCUUCUGGAUGGG	1750
	AS	96	CCcAUcCAGAAGCcAAACU	206	CCCAUCCAGAAGCCAACU	1750

[0833]

AD-20861	S	97	uGAcAGAGAAGGcAcuucc	207	UGACAGAGAAGGCACUCC	1012
	AS	98	GGAAGUGCCUUCUCUGUcA	208	GGAAGUGCCUUCUCUGUcA	1012
AD-20862	S	99	GAAGAAGuAccuGcuGAAG	209	GAAGAAGUACCUGCUGAAG	185
	AS	100	CUUcAGcAGGuACUUCUUC	210	CUUCAGCAGGUACUUCUUC	185
AD-20863	S	101	ucuccAuGGcuGAcuGGcc	211	UCUCCAUGGCUGACUGGCC	1546
	AS	102	GGCcAGUcAGCcAUGGAGA	212	GGCCAGUCAGCCAUGGAGA	1546
AD-20864	S	103	cuGGuGGAGGcccAcAccA	213	CUGGUGGAGGCCcACACCA	1917
	AS	104	UGGUGUGGGCCUCcACcAG	214	UGGUGUGGGCCUCcACCAG	1917
AD-20865	S	105	cAGAGAAGGcAcuuccuuc	215	CAGAGAAGGCACUCCUUC	1015
	AS	106	GAAGGAAGUGCCUUCUCUG	216	GAAGGAAGUGCCUUCUCUG	1015
AD-20866	S	107	cuGcAGGccAccAAcAucu	217	CUGCAGGCCACCAACAUCU	837
	AS	108	AGAUGUUGGUGGCCUGcAG	218	AGAUGUUGGUGGCCUGCAG	837
AD-20867	S	109	GGGcAuGAcAGAGAAGGcA	219	GGGCAUGACAGAGAAGGCA	1007
	AS	110	UGCCUUCUCUGUcAUGCCC	220	UGCCUUCUCUGUcAUGCCC	1007

[0834]

[0835] 서열 111 내지 220의 RNAi 작용제의 서열의 변형은 당업자에 의해 용이하게 구상된다. 이들 서열의 예시적 및 비제한적 변형이 구상되고, 또한 표 1에 열거되어 있다 (예를 들어, 서열 1 내지 110에서의 센스 및 안티센스 (AS) 서열).

[0836] 일부 변형은 엔도뉴클레아제에 민감성일 것으로 예상되는 부위에 위치시켰다. 일부 변형은 활성을 보존하면서 siRNA에 대한 면역 반응을 제거하도록 설계하였다. 일반적으로, 센스 가닥이 상당히 변형되었고, 안티센스 가닥이 약간 변형되었다. 일부 변형은 하나 초과를 목적으로 위해 수행하였다.

[0837] 표 1 및 다른 표의 서열은 이들 약어에 의해 나타내었다:

[0838] <표 1A> 약어

약어	뉴클레오티드(들)
A	아데노신-5'-포스페이트
C	시티딘-5'-포스페이트
G	구아노신-5'-포스페이트
dT	2'-데옥시-티미딘-5'-포스페이트
U	우리딘-5'-포스페이트
c	2'-O-메틸시티딘-5'-포스페이트
u	2'-O-메틸우리딘-5'-포스페이트
sdT	2'-데옥시 티미딘 5'-포스포리보오에이트

[0839]

[0840] siRNA 서열 선택

[0841] 총 55종의 센스 및 55종의 안티센스 인간 SCNNB1-유래 siRNA 올리고 (베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제)를 실시예 2에 기재된 바와 같이 합성하였다. 센스 및 그의 각각의 안티센스 올리고를 듀플렉스 내로 어닐링시켰다.

[0842] 실시예 1A

[0843] 베타-ENaC RNAi 작용제의 중복 세트

[0844] 본 개시내용은 또한 중복 서열을 갖는 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제의 군에 관한 것이다. 따라서, 본 개시내용은 군 내의 각각의 RNAi 작용제가 동일한 군 내의 서로 다른 RNAi 작용제와 적어도 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19개 또는 그 초과를 뉴클레오티드가 중복되는 RNAi 작용제의 군을 포함한다. 특히, 한 실시양태에서, 중복은 적어도 12개의 nt이다.

[0845] 본원에 열거된 RNAi 작용제 중 일부는 서열에 있어 서로 중복된다. 표 2는 중복 RNAi 작용제의 이들 군 중 일부의 편집본을 제공하며, 여기서 군의 각 구성원은 동일한 군의 서로 다른 구성원과 적어도 12개의 nt가 중복된다. 센스 및 안티센스 가닥의 중복의 12-nt 부분을 나타내었다.

[0846] 따라서, 예를 들어 표 2에 나타난 바와 같이, RNAi 작용제 AD-20807 및 AD-20832의 서열은 중복되며, 여기서 센스 가닥에서의 중복은 서열 UGAAGAAGUACC (서열 223)를 포함하고; 이들 RNAi 작용제는 또한 안티센스 가닥 서열에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 GGUACUUCUUCA (서열 224)를 포함한다. RNAi 작용제 AD-20807, AD-20862 및 AD-20832 모두는 센스 가닥에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 GAAGAAGUACCU (서열 225)를 포함하고; 이들 RNAi 작용제는 또한 안티센스 가닥에서 중복되며, 여기서 중복은 서열 AGGUACUUCUUC (서열 226)를 포함한다. 따라서, 표 2에 나타난 중복 RNAi 작용제의 이들 및 다른 다양한 세트는 공통의 기술적 특징, 예를 들어 센스 및 안티센스 가닥에서의 중복을 공유한다.

[0847] 베타-ENaC에 대한 중복 RNAi 작용제의 특정한 세트가 하기 표 2에 제공되어 있다.

[0848] 본 개시내용은 따라서 공통의 기술적 특징을 포함하는 RNAi 작용제의 임의의 군 또는 하위군을 포함하며, 여기서 공통의 기술적 특징은 센스 또는 안티센스 가닥에서의 서열의 (예를 들어, 적어도 12개의 nt의) 중복이다.

[0849] <표 2>

위치	센스 중복	서열 번호	안티센스 중복	서열 번호	베타-ENaC에 대한 중복 RNAi 작용제
183	UGAAGAAGUACC	223	GGUACUUCUUCA	224	AD-20807, AD-20832
184	GAAGAAGUACCU	225	AGGUACUUCUUC	226	AD-20807, AD-20862, AD-20832

[0850]

185	AAGAAGUACCU	227	CAGGUACUUCU	228	AD-20807, AD-20862, AD-20832
186	AGAAGUACCU	229	GCAGGUACUUC	230	AD-20807, AD-20862, AD-20832
187	GAAGUACCU	231	AGCAGGUACUUC	232	AD-20807, AD-20862, AD-20832
188	AAGUACCU	233	CAGCAGGUACU	234	AD-20807, AD-20862, AD-20832
189	AGUACCU	235	UCAGCAGGUACU	236	AD-20807, AD-20862, AD-20832
190	GUACCU	237	UUCAGCAGGUAC	238	AD-20862, AD-20832
400	GAGCUGGGAGGU	239	ACCUCCCAGCUC	240	AD-20820, AD-20837
401	AGCUGGGAGGUC	241	GACCUCCCAGCU	242	AD-20820, AD-20812, AD-20837
402	GCUGGGAGGUCA	243	UGACCUCCCAGC	244	AD-20820, AD-20819, AD-20812, AD-20837
403	CUGGGAGGUCAG	245	CUGACCUCCCAG	246	AD-20819, AD-20812, AD-20837
404	UGGGAGGUCAGC	247	GCUGACCUCCCA	248	AD-20820, AD-20819, AD-20837
405	GGGAGGUCAGCG	249	CGCUGACCUCCC	250	AD-20820, AD-20819, AD-20812, AD-20837
406	GGAGGUCAGCGU	251	ACGCUGACCUC	252	AD-20819, AD-20837
407	GAGGUCAGCGUC	253	GACGCUGACCUC	254	AD-20820, AD-20819, AD-20812
408	AGGUCAGCGUCU	255	AGACGCUGACCU	256	AD-20819, AD-20812
836	CUGCAGGCCACC	257	GGUGGCCUGCAG	258	AD-20866, AD-20817
837	UGCAGGCCACCA	259	UGGUGGCCUGCA	260	AD-20866, AD-20830, AD-20817
838	GCAGGCCACCAA	261	UUGGUGGCCUGC	262	AD-20866, AD-20830, AD-20817
839	CAGGCCACCAAC	263	GUUGGUGGCCUG	264	AD-20866, AD-20830, AD-20817
840	AGGCCACCAACA	265	UGUUGGUGGCCU	266	AD-20866, AD-20830, AD-20817
841	GGCCACCAACAU	267	AUGUUGGUGGCC	268	AD-20866, AD-20830, AD-20817
842	GCCACCAACAUC	269	GAUGUUGGUGGC	270	AD-20866, AD-20830, AD-20817
843	CCACCAACAUCU	271	AGAUGUUGGUGG	272	AD-20866, AD-20830
1007	GGCAUGACAGAG	273	CUCUGUCAUGCC	274	AD-20847, AD-20867
1008	GCAUGACAGAGA	275	UCUCUGUCAUGC	276	AD-20826, AD-20867
1009	CAUGACAGAGAA	277	UUCUCUGUCAUG	278	AD-20826, AD-20831, AD-20867
1010	AUGACAGAGAAG	279	CUUCUCUGUCAU	280	AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806
1011	UGACAGAGAAGG	281	CCUUCUCUGUCA	282	AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861

[0851]

1012	GACAGAGAAGGC	283	GCCUUCUCUGUC	284	AD-20851, AD-20847, AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861
1013	ACAGAGAAGGCA	285	UGCCUUCUCUGU	286	AD-20851, AD-20835, AD-20847, AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861
1014	CAGAGAAGGCAC	287	GUGCCUUCUCUG	288	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20826, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1015	AGAGAAGGCACU	289	AGUGCCUUCUCU	290	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20826, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1016	GAGAAGGCACUU	291	AAGUGCCUUCUC	292	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1017	AGAAGGCACUUC	293	GAAGUGCCUUCU	294	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20806, AD-20861
1018	GAAGGCACUUC	295	GGAAGUGCCUUC	296	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20861
1019	AAGGCACUUCU	297	AGGAAGUGCCUU	298	AD-20851, AD-20835, AD-20865
1020	AGGCACUUCUU	299	AAGGAAGUGCCU	300	AD-20835, AD-20865
1294	CUACAGUGACUA	301	UAGUCACUGUAG	302	AD-20828, AD-20825
1295	UACAGUGACUAC	303	GUAGUCACUGUA	304	AD-20834, AD-20825
1296	ACAGUGACUACA	305	UGUAGUCACUGU	306	AD-20828, AD-20834, AD-20825, AD-20836
1297	CAGUGACUACAA	307	UUGUAGUCACUG	308	AD-20834, AD-20805, AD-20825
1298	AGUGACUACAAC	309	GUUGUAGUCACU	310	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20825, AD-20836
1299	GUGACUACAACA	311	UGUUGUAGUCAC	312	AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20825
1300	UGACUACAACAC	313	GUGUUGUAGUCA	314	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20825, AD-20815, AD-20836
1301	GACUACAACACG	315	CGUGUUGUAGUC	316	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20836
1302	ACUACAACACGA	317	UCGUGUUGUAGU	318	AD-20834, AD-20805, AD-20808
1303	CUACAACACGAC	319	GUCGUGUUGUAG	320	AD-20805, AD-20808, AD-20815, AD-20836
1304	UACAACACGACC	321	GGUCGUGUUGUA	322	AD-20805, AD-20808
1305	ACAACACGACCU	323	AGGUCGUGUUGU	324	AD-20808, AD-20815
1408	GGAGAAAUACUG	325	CAGUAUUUCUCC	326	AD-20813, AD-20848
1409	GAGAAAUACUGC	327	GCAGUAUUUCUC	328	AD-20813, AD-20848
1410	AGAAAUACUGCA	329	UGCAGUAUUUCU	330	AD-20813, AD-20848
1411	GAAAUACUGCAA	331	UUGCAGUAUUUC	332	AD-20813, AD-20848

[0852]

1412	AAAUACUGCAAC	333	GUUGCAGUAUUU	334	AD-20813, AD-20848
1413	AAUACUGCAACA	335	UGUUGCAGUAUU	336	AD-20813, AD-20848
1414	AUACUGCAACAA	337	UUGUUGCAGUAU	338	AD-20813, AD-20848
1545	UCUCCAUGGCUG	339	CAGCCAUGGAGA	340	AD-20846, AD-20863
1546	CUCCAUGGCUGA	341	UCAGCCAUGGAG	342	AD-20846, AD-20863
1547	UCCAUGGCUGAC	343	GUCAGCCAUGGA	344	AD-20846, AD-20863
1548	CCAUGGCUGACU	345	AGUCAGCCAUGG	346	AD-20846, AD-20863
1549	CAUGGCUGACUG	347	CAGUCAGCCAUG	348	AD-20846, AD-20863
1550	AUGGCUGACUGG	349	CCAGUCAGCCAU	350	AD-20846, AD-20863
1551	UGGCUGACUGGC	351	GCCAGUCAGCCA	352	AD-20846, AD-20863
1626	AUAUCACCCUGA	353	UCAGGGUGUAUU	354	AD-20816, AD-20827
1627	UAUCACCCUGAG	355	CUCAGGGUGAUA	356	AD-20816, AD-20827, AD-20829
1628	AUCACCCUGAGC	357	GCUCAGGGUGAU	358	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20818
1629	UCACCCUGAGCA	359	UGCUCAGGGUGA	360	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1630	CACCCUGAGCAG	361	CUGCUCAGGGUG	362	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1631	ACCCUGAGCAGG	363	CCUGCUCAGGGU	364	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1632	CCCUGAGCAGGA	365	UCCUGCUCAGGG	366	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1633	CCUGAGCAGGAA	367	UUCUCUCUCAGG	368	AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1634	CUGAGCAGGAAG	369	CUUCUCUCUCAG	370	AD-20829, AD-20843, AD-20818
1635	UGAGCAGGAAGG	371	CCUUCUCUCUCA	372	AD-20843, AD-20818
1740	UGGGUGGCCAGU	373	ACUGGCCACCCA	374	AD-20824, AD-20849
1741	GGGUGGCCAGUU	375	AAUCUGGCCACCC	376	AD-20824, AD-20841, AD-20849
1742	GGUGGCCAGUUU	377	AAACUGGCCACC	378	AD-20824, AD-20842, AD-20841, AD-20849
1743	GUGGCCAGUUUG	379	CAAACUGGCCAC	380	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20841, AD-20849
1744	UGGCCAGUUUGG	381	CCAAACUGGCCA	382	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20849
1745	GGCCAGUUUGGC	383	GCCAAACUGGCC	384	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-20849
1746	GCCAGUUUGGCU	385	AGCCAAACUGGC	386	AD-20844, AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-20849
1747	CCAGUUUGGCUU	387	AAGCCAAACUGG	388	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-

[0853]

					20849
1748	CAGUUUGGCUUC	389	GAAGCCAAACUG	390	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20822, AD-20823
1749	AGUUUGGCUUCU	391	AGAAGCCAAACU	392	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20852, AD-20838, AD-20822, AD-20823
1750	GUUUUGGCUUCUG	393	CAGAAGCCAAAC	394	AD-20814, AD-20844, AD-20821, AD-20852, AD-20838, AD-20822, AD-20823
1751	UUUGGCUUCUGG	395	CCAGAAGCCAAA	396	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20838, AD-20822, AD-20823
1752	UUGGCUUCUGGA	397	UCCAGAAGCCAA	398	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20822, AD-20823
1753	UGGCUUCUGGAU	399	AUCCAGAAGCCA	400	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20822
1754	GGCUUCUGGAUG	401	CAUCCAGAAGCC	402	AD-20814, AD-20852, AD-20822
1755	GCUUCUGGAUGG	403	CCAUCCAGAAGC	404	AD-20852, AD-20822
1914	AGCUGGUGGAGG	405	CCUCCACCAGCU	406	AD-20850, AD-20845
1915	GCUGGUGGAGGC	407	GCCUCCACCAGC	408	AD-20850, AD-20845, AD-20833
1916	CUGGUGGAGGCC	409	GGCCUCCACCAG	410	AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1917	UGGUGGAGGCC	411	GGGCCUCCACCA	412	AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1918	GGUGGAGGCCCA	413	UGGGCCUCCACC	414	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1919	GUGGAGGCCCAC	415	GUGGGCCUCCAC	416	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1920	UGGAGGCCACACA	417	UGUGGGCCUCCA	418	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1921	GGAGGCCACAC	419	GUGUGGGCCUCC	420	AD-20809, AD-20810, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1922	GAGGCCACACC	421	GGUGUGGGCCUC	422	AD-20809, AD-20810, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1923	AGGCCACACCA	423	UGGUGUGGGCCU	424	AD-20809, AD-20810, AD-20864, AD-20840
1924	GGCCACACCAA	425	UUGGUGUGGGCC	426	AD-20809, AD-20810, AD-20840
1925	GCCCACACCAAC	427	GUUGGUGUGGGC	428	AD-20809, AD-20840

[0854]

[0855] NM_000336.2에서의 위치 ("Pos")를 나타내었다. 센스 및 안티센스 가닥에서의 중복의 12개의 예시적인 nt를 나타내었고; 다수의 경우에서, 중복은 실제로는 보다 길다.

[0856] 실시예 2

[0857] 베타-ENaC RNAi 작용제 서열의 합성

[0858] 표 1에 서열 1 내지 110으로서 열거된 변형된 베타-ENaC RNAi 작용제 서열을 머메이드(MerMade) 192 합성기 상에서 1 μmol 규모로 합성하였다.

[0859] 목록 내의 모든 서열에 대해, '엔도라이트' 화학을 하기 상세히 설명된 바와 같이 적용하였다.

[0860] 센스 가닥 내의 모든 피리미딘 (시토신 및 우라실)은 2'-O-메틸 염기 (2'-O-메틸 C 및 2'-O-메틸 U)를 함유하였다.

[0861] 안티센스 가닥에서, 리보 A 뉴클레오타이드에 (즉, 5' 위치를 향하여) 인접한 피리미딘을 그의 상응하는 2'-O-메틸 뉴클레오타이드로 대체하였다.

[0862] 센스 및 안티센스 서열 둘 모두의 3' 말단에서의 2-염기 dTsdT 확장을 도입시켰다.

- [0863] 서열 파일을 텍스트 파일로 변환하여, 머메이드 192 합성 소프트웨어에서의 로딩에 대해 호환가능하게 만들었다.
- [0864] **합성, 절단 및 탈보호:**
- [0865] 베타-ENaC 서열의 합성은 포스포르아미다이트 화학을 이용하는 고체 지지된 올리고뉴클레오티드 합성을 이용하였다.
- [0866] 상기 서열의 합성을 96 웰 플레이트에서 1 um 규모로 수행하였다. 아미다이트 용액을 0.1M 농도로 제조하였고, 에틸 티오 테트라졸 (아세토니트릴 중 0.6M)을 활성화제로서 사용하였다.
- [0867] 합성된 서열을, 제1 단계에서 메틸아민 및 제2 단계에서 플루오라이드 시약을 사용하여 96 웰 플레이트에서 절단 및 탈보호시켰다. 조 서열을 아세톤:에탄올 (80:20) 믹스를 사용하여 침전시키고, 펠릿을 0.2M 아세트산나트륨 완충제 중에 재현탁시켰다. 각각의 서열로부터의 샘플을 LC-MS에 의해 분석하여 정체를 확인하고, 정량화를 위해 UV로 분석하고, 선택된 샘플의 세트를 IEX 크로마토그래피에 의해 분석하여 순도를 결정하였다.
- [0868] **정제 및 탈염:**
- [0869] 베타-ENaC 서열을 AKTA 익스플로러 정제 시스템 상에서 소스(Source) 15Q 칼럼을 사용하여 정제하였다. 65°C의 칼럼 온도를 정제 동안 유지하였다. 샘플 주사 및 수집은 96 웰 (1.8 mL-깊은 웰) 플레이트에서 수행하였다. 전장 서열에 상응하는 단일 피크를 용리액 중에서 수집하였다. 정제된 서열을 AKTA 정제기를 이용하여 세파덱스(Sephadex) G25 칼럼 상에서 탈염시켰다. 탈염된 베타-ENaC 서열을 농도 (A260에서의 UV 측정에 의해) 및 순도 (이온 교환 HPLC에 의해)에 대해 분석하였다.
- [0870] 이어서, 단일 가닥을 어닐링에 적용시켰다.
- [0871] 베타-ENaC 단일 가닥 및 듀플렉스의 상세 목록을 상기 표 1에 나타내었다. 상기 듀플렉스를 베타-ENaC 유전자 수준을 녹다운시키는 그의 능력을 시험하기 위한 시험관내 스크리닝에 사용하였다.
- [0872] **실시예 3.**
- [0873] **베타-ENaC RNAi 작용제의 시험관내 스크리닝**
- [0874] 베타-ENaC RNAi 작용제를 시험관내에서 스크리닝하여 베타-ENaC 유전자 수준을 녹다운시키는 그의 능력을 결정하였다.
- [0875] **세포 배양 및 형질감염:**
- [0876] H441 (ATCC, 버지니아주 마나사스) 세포를 10% FBS, 스트렙토마이신 및 글루타민 (ATCC)으로 보충된 RPMI 1640 (ATCC) 중에서 37°C, 5% CO₂의 대기에서 전면배양에 근접하도록 성장시킨 후, 트립신처리에 의해 플레이트로부터 떼어내었다. Opti-MEM 5 µl를 96-웰 플레이트 내로 웰당 siRNA 듀플렉스 5 µl에, 웰당 Opti-MEM 10 µl + 리포펙타민 RNAiMax 0.2 µl (인비트로젠(Invitrogen), 캘리포니아주 칼스바드, cat # 13778-150)와 함께 첨가함으로써 역방향 형질감염을 수행하고, 15분 동안 실온에서 인큐베이션하였다. 이어서, 2.0 x10⁴개의 H441 세포를 함유하는 항생제 무함유 완전 성장 배지 80 µl를 첨가하였다. 세포를 RNA 정제 전에 24시간 동안 인큐베이션하였다. 55종의 베타-ENaC 듀플렉스 각각을 사용하여 단일 용량 스크리닝으로 0.1 또는 10 nM의 최종 듀플렉스 농도에서 실험을 수행하였다. 각각의 siRNA를 각각의 시험된 용량으로 3회 형질감염시켰다. 결과를 표 3에 나타내었다.
- [0877] 10 nM 및 0.1 nM 스크리닝에서 견고한 침묵화를 보여준 듀플렉스의 하위세트를 연속 희석을 이용하여 10 nM 내지 10 fM의 농도 범위에 걸쳐 검정하여 이들의 IC₅₀을 결정하였다. 결과를 표 4에 나타내었다.
- [0878] **전체 RNA 단리:**
- [0879] 세포를 수확하고, 용해/결합 용액 140 µl 중에서 용해시킨 다음, 에펜도르프 써모믹서(Eppendorf Thermomixer)를 사용하여 850 rpm에서 1분 동안 혼합하였다 (혼합 속도는 본 과정 전반에 걸쳐 동일함).
- [0880] 매그맥스-96(MagMAX-96) 전체 RNA 단리 키트 (어플라이드 바이오시스템(Applied Biosystem), 캘리포니아주 포스터 시티, 파트 #: AM1830)를 사용하여 전체 RNA를 단리하였다. 자기 비드 및 용해/결합 인핸서 혼합물 20 마이크로리터를 세포-용해물에 첨가하고, 5분 동안 혼합하였다. 자기 비드를 자기 스탠드를 사용하여 포획하고, 상청액을 비드를 건드리지 않으면서 제거하였다. 상청액을 제거한 후, 자기 비드를 세척 용액 1 (이소프로판올

첨가됨)로 세척하고, 1분 동안 혼합하였다. 비드를 다시 포획하고, 상청액을 제거하였다. 이어서, 비드를 세척 용액 2 (에탄올 첨가됨) 150 μ l로 세척하고, 포획하고, 상청액을 제거하였다. 이어서, DNase 혼합물 (매그 맥스 터보(turbo) DNase 완충제 및 터보 DNase) 50 μ l를 비드에 첨가하고, 이들을 10 내지 15분 동안 혼합하였다. 혼합한 후, RNA 재결합 용액 100 μ l를 첨가하고, 3분 동안 혼합하였다. 상청액을 제거하고, 자기 비드를 세척 용액 2 150 μ l로 다시 세척하고, 1분 동안 혼합하고, 상청액을 완전히 제거하였다. 자기 비드를 2분 동안 혼합하여 건조시킨 후, RNA를 물 50 μ l로 용리하였다.

[0881] **cDNA 합성:**

[0882] ABI 고품량 cDNA 역전사 키트 (어플라이드 바이오시스템즈, 캘리포니아주 포스터 시티, Cat #4368813)를 cDNA 합성에 사용하였다. 반응당 10X 완충제 2 μ l, 25X dNTP 0.8 μ l, 랜덤 프라이머 2 μ l, 역전사효소 1 μ l, RNase 억제제 1 μ l 및 H₂O 3.2 μ l의 마스터 믹스를 전체 RNA 10 μ l에 첨가하였다. cDNA를 바이오-라드(Bio-Rad) C-1000 또는 S-1000 열 순환기 (캘리포니아주 허클레스)를 이용하여 하기 단계를 통해 생성하였다: 25°C 10분, 37°C 120분, 85°C 5초, 4°C 유지.

[0883] **실시간 PCR:**

[0884] cDNA 2 μ l를 라이트사이클러(LightCycler) 480 384 웰 플레이트 (로슈(Roche) cat # 0472974001)에서 웰당 총 10 μ l 중 GAPDH 택맨(TaqMan) 프로브 (어플라이드 바이오시스템즈, Cat # 4326317E) 0.5 μ l, 베타-ENaC 택맨 프로브 (어플라이드 바이오시스템즈 cat # Hs00165722_m1) 0.5 μ l 및 로슈 프로브 마스터 믹스 (로슈 Cat # 04887301001) 5 μ l를 함유하는 마스터 믹스에 첨가하였다. 실시간 PCR을 라이트사이클러 480 실시간 PCR 기계 (로슈)에서 수행하였다. 각각의 듀플렉스를 두 독립적 형질감염에서 시험하였고, 각각의 형질감염을 2벌로 검정하였다.

[0885] 실시간 데이터를 $\Delta \Delta C_t$ 방법을 이용하여 분석하였다. 각각의 샘플을 GAPDH 발현에 대해 정규화하고, 녹다운을 비-표적화 듀플렉스 AD-1955로 형질감염된 세포와 관련하여 평가하였다. IC₅₀을 XL핏에서 4 파라미터 핏 모델을 이용하여 정의하였다.

[0886] 결과를 하기 나타내었다. 표 3은 55종의 베타-ENaC 듀플렉스 각각을 사용하여 단일 용량 스크리닝으로 0.1 nM 또는 10 nM의 최종 듀플렉스 농도에서 수행한 실험의 결과를 보여준다. "잔류 분획 메시지"는 10 nM 또는 0.1 nM에서의 잔류 유전자 수준을 나타낸다. 따라서, AD-20832-b1에 대한 제2열에서의 "0.17"은 10 nM의 농도에서 17%의 잔류 유전자 수준, 또는 83%의 발현의 녹다운이 있었음을 나타낸다. 접미사 "b1"이 "배치 1"을 나타낸다는 것에 또한 주목해야 한다. 따라서, 예를 들어 명칭 "AD-20832-b1"을 갖는 RNAi 작용제는 "AD-20832"로 표시된 RNAi 작용제와 동일한 서열을 갖는다.

[0887] <표 3> 베타-ENaC의 10 nM 및 0.1 nM 녹다운

	10 nM에서의 잔류 분획 메시지	0.1 nM에서의 잔류 분획 메시지	10 nM에서의 표준 편차	0.1 nM에서의 표준 편차
AD-20832-b1	0.17	0.33	0.04	0.03
AD-20848-b1	0.17	0.49	0.01	0.04
AD-20807-b1	0.18	0.26	0.02	0.05
AD-20826-b1	0.19	0.49	0.02	0.22
AD-20837-b1	0.19	0.51	0.04	0.04
AD-20861-b1	0.19	0.71	0.02	0.29
AD-20834-b1	0.20	0.34	0.06	0.05
AD-20806-b1	0.22	0.60	0.02	0.15
AD-20851-b1	0.23	0.55	0.04	0.07
AD-20865-b1	0.24	0.64	0.02	0.05
AD-20811-b1	0.25	0.52	0.17	0.23
AD-20819-b1	0.27	0.60	0.01	0.07
AD-20839-b1	0.27	0.55	0.06	0.05
AD-20835-b1	0.28	0.63	0.07	0.21
AD-20825-b1	0.30	0.72	0.11	0.15
AD-20867-b1	0.30	0.68	0.00	0.20
AD-20813-b1	0.34	0.56	0.17	0.36
AD-20823-b1	0.34	0.75	0.05	0.05
AD-20805-b1	0.36	0.86	0.02	0.09
AD-20831-b1	0.36	0.60	0.01	0.21
AD-20862-b1	0.38	0.93	0.02	0.29
AD-20808-b1	0.40	0.81	0.13	0.16
AD-20827-b1	0.40	2.55	0.07	1.44
AD-20828-b1	0.42	0.89	0.11	0.25
AD-20812-b1	0.47	0.74	0.32	0.36
AD-20836-b1	0.48	1.07	0.11	0.27
AD-20822-b1	0.49	0.94	0.11	0.09
AD-20810-b1	0.53	0.87	0.25	0.20
AD-20824-b1	0.54	1.12	0.08	0.33
AD-20844-b1	0.55	0.98	0.07	0.28
AD-20814-b1	0.60	1.30	0.09	0.12
AD-20838-b1	0.65	1.18	0.07	0.18
AD-20816-b1	0.66	1.38	0.05	0.17
AD-20845-b1	0.72	1.18	0.01	0.27
AD-20820-b1	0.75	0.89	0.06	0.14
AD-20830-b1	0.75	0.94	0.04	0.24
AD-20866-b1	0.77	1.24	0.03	0.57
AD-20809-b1	0.78	1.05	0.05	0.03
AD-20833-b1	0.79	0.99	0.01	0.35
AD-20821-b1	0.80	0.99	0.07	0.14
AD-20846-b1	0.83	1.13	0.10	0.15
AD-20818-b1	0.88	1.36	0.04	0.62
AD-20817-b1	0.89	1.11	0.11	0.19

[0888]

AD-20843-b1	0.92	1.64	0.11	0.16
AD-20840-b1	0.93	1.13	0.15	0.30
AD-20847-b1	0.94	0.99	0.64	0.12
AD-20815-b1	0.96	2.06	0.23	0.99
AD-20842-b1	0.96	1.37	0.16	0.28
AD-20852-b1	0.96	1.30	0.17	0.17
AD-20863-b1	0.99	0.84	0.24	0.11
AD-20864-b1	0.99	1.36	0.05	0.74
AD-20850-b1	1.00	1.22	0.14	0.14
AD-20829-b1	1.08	1.39	0.26	0.70
AD-20849-b1	1.11	1.31	0.27	0.17
AD-20841-b1	1.12	1.37	0.10	0.48

[0889]

[0890] 이들 실험에서 사용된 베타-ENaC에 대한 모든 RNAi 작용제는 표 1에 열거된 변형된 서열 (서열 1 내지 110)이었다.

[0891] 표 4는 10 nM 및 0.1 nM 스크리닝에서 견고한 침묵화를 보여준 듀플렉스의 하위세트를 연속 희석을 이용하여 10 nM 내지 10 fM의 농도 범위에 걸쳐 검정하여 그의 IC50을 결정하는 실험의 결과를 보여준다.

[0892] <표 4> 베타-ENaC 용량 반응 스크리닝

듀플렉스_ID	H441 뉴(New) (4회 복제물의 평균)		H441 올드(Old) (8회 복제물의 평균)	
	IC50nM	IC50 표준 편차	IC50nM	IC50 표준 편차
AD-20807	0.05	0.03	0.04	0.06
AD-20826	0.14	0.05	0.05	0.07
AD-20832	0.05	0.02	0.04	0.05
AD-20834	0.06	0.03	0.03	0.06
AD-20848	0.25	0.14	0.13	0.17
AD-20861	0.13	0.08	0.09	0.06

[0893]

[0894] 실시예 4

[0895] 베타-ENaC RNAi 작용제 AD-20807 및 AD-20832의 생체내 분석

[0896] 생체내 실험에서, 2종의 베타-ENaC RNAi 작용제 AD-20807 및 AD-20832를 래트에서 전체 폐에서의 베타-ENaC 유전자 수준을 낮추는 능력에 대해 시험하였다. 목적은 용량 반응을 결정하는 것이었다. 면역자극을 또한 측정하였다.

[0897] 사용한 래트 주는 스프라그-돌리(Sprague-Dawley)였고; 개체는 대략 280-300 그램의 체중을 가졌다. 래트에게 2일 동안 1일 1회 투여하였다. 이어서, 이들을 제2 투여 약 24시간 후에 안락사시켰다. 좌측 폐를 취하고, 베타-ENaC 수준의 qPCR 측정을 위해 분쇄하였고; 우측 폐를 결빙시켜 보관하였다.

[0898] <표 5>

군	래트 번호	체제	농도	군 당 래트
1	1-5	D5W	NA	5
2	6-10	AD1955	10mg/kg	5
3	11-15	AD20191	10mg/kg	5
4	16-20	AD20807	10mg/kg	5
5	12-25	AD20807	3mg/kg	5
6	26-30	AD20807	1mg/kg	5
7	31-35	AD20832	10mg/kg	4*
8	36-40	AD20832	3mg/kg	5
9	41-45	AD20832	1mg/kg	5

* 4마리의 군에서, 처음에는 5마리의 래트에게 투여하였으나, 각각의 군에서 1마리는 실험에서 생존하지 않았고 최종 데이터에 포함되지 않았다.

[0899]

[0900] 베타-ENaC에 대한 RNAi 작용제 AD20807 및 AD20832 둘 모두는 용량-의존적 방식으로 베타-ENaC 수준에서의 감소를 보였다. AD20807의 경우에, 베타-ENaC의 수준은 각각 1, 3 및 10 mg/kg의 투여량에서 대략 30%, 40% 및 50% 감소되었다.

[0901] 대조적으로, 베타-ENaC (bENaC) RNAi 작용제는 알파-ENaC (aENaC)의 수준을 감소시키지 않았다. 그러나, AD20832의 투여에 의한 알파-ENaC에서의 증가가 있었다.

[0902] 음성 대조군은 하기를 포함한다:

[0903] D5W: 물 중 5% 텍스트로스의 용액; 이것은 투여시에 siRNA를 희석하는 데 사용된 비히클임; AD1955: 알파- 또는 베타-ENaC를 특이적으로 표적화하지 않지만, 반딧불이 루시페라제를 표적화하는 siRNA; 및 AD20191: 베타-ENaC에 결합하지 않지만, 래트 알파-ENaC를 표적화하는 siRNA; 및 알파-ENaC를 표적화하는 AD-9201 (상기 특정한 실시예에서는 사용되지 않음).

[0904] 따라서, 베타-ENaC의 특이적인 녹-다운이 상기 실험에서 RNAi 작용제 AD20807 및 AD20832를 사용하여 밝혀졌다.

[0905] **실시예 5**

[0906] **베타-ENaC AD-20834의 생체내 분석**

[0907] 생체내 실험에서, 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20834를 래트에서 전체 폐에서의 베타-ENaC 유전자 수준을 녹다운시키는 그의 능력에 대해 시험하였다. 목적은 투여량 반응을 결정하는 것이었다. 면역자극을 또한 측정하였다.

[0908] 래트 주는 스프라그-돌리였고; 개체는 대략 280-300 그램의 체중을 가졌다. 래트에게 2일 동안 1일 1회 투여하였다. 이어서, 이들을 제2 투여 약 24시간 후에 안락사시켰다. 좌측 폐를 취하고, 베타-ENaC 수준의 qPCR 측정을 위해 분쇄하였고; 우측 폐를 결빙시켜 보관하였다.

[0909] <표 6>

군	래트 번호	제제	농도	군 당 래트
1	1-5	D5W	NA	5
2	6-10	AD1955	10mg/kg	4*
3	11-15	AD20191	10mg/kg	5
4	16-20	AD20834	10mg/kg	5
5	21-25	AD20834	3mg/kg	5
6	26-30	AD20834	1mg/kg	4*

*4마리의 군에서, 처음에는 5마리의 래트에게 투여하였으나, 각각의 군에서 1마리는 실험에서 생존하지 않았고 최종 데이터에 포함되지 않았다.

[0910] 300 그램 (0.3 kg)의 중량을 가정하여 하기 희석물을 제조하였다:

[0912] 10 mg/kg = 200 uL의 부피 중 siRNA 3 mg = 15 mg/mL

[0913] 3 mg/kg = 200 uL의 부피 중 siRNA 1 mg = 5 mg/mL

[0914] 1 mg/kg = 200 uL의 부피 중 siRNA 0.3 mg = 1.5 mg/mL

[0915] 데이터를 PPIB [펩티딜-프롤릴 시스-트랜스 이소머라제 B, 하우스키팅 (정규화) 유전자로서 이용함]에 대해 정규화하였다.

[0916] 실험은 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20834가 스프라그-돌리 래트에서 베타-ENaC 수준에서의 대략 40%의 감소를 나타낸다는 것을 보여주었다. 상기 효과는 베타-ENaC에 특이적이었다.

[0917] 대조군은 하기와 같았다: D5W (물 중 5% 텍스트로스)는 알파-ENaC 또는 베타-ENaC 수준에 대해 효과를 보이지 않는 음성 대조군이었다. AD1955는 알파- 또는 베타-ENaC에 결합하지 않고, 또한 알파- 또는 베타-ENaC 수준에 대해 거의 효과를 보이지 않는 대조군 siRNA였다. 알파-ENaC를 표적화하지만 베타-ENaC를 표적화하지 않는 양성 대조군 siRNA AD20191은 알파-ENaC 수준에서의 대략 50%의 감소를 나타냈지만, 베타-ENaC에 있어서는 그러하지 않았다.

[0918] 따라서, 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20834의 10 mg/kg의 투여량은 스프라그-돌리 래트에서 베타-ENaC 유전자 발현의 적어도 약 40% 억제를 나타내었다.

[0919] **실시예 6**

[0920] **베타-ENaC RNAi 작용제의 분석**

[0921] 스프라그-돌리 래트에서 생체내에서 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20807, AD20832, AD20834, AD20848 및 AD20861을 사용하여 추가의 실험을 수행하였다. 래트에게 제1일 및 제2일에 D5W 중 10 mg/kg으로 투여하고, 제3일에 안락사시키고, 폐를 수집하였다.

[0922] 결과를 도 1에 나타내었다. 결과는 대조군 유전자 PPIB에 대해 정규화된 좌측 폐로부터의 qPCR 데이터를 보여준다.

[0923] 도 1에서의 대조군은 하기와 같다: D5W (물 중 5% 텍스트로스)는 알파-ENaC 또는 베타-ENaC 수준에 대해 효과를

보이지 않는 음성 대조군이다. 양성 대조군은 알파-ENaC (αENaC)를 표적화하는 AD-9201이다.

[0924] 도 1에 나타낸 결과는 AD20807, AD20832, AD20834, AD20848 및 AD20861에 의한 베타-ENaC (βENaC)의 통계적으로 유의하고 특이적인 녹다운을 보여주었다. 베타-ENaC 유전자의 발현은 스프라그-돌리 래트에서 10 mg/kg의 이들 RNAi 작용제의 농도에서 적어도 약 40% 억제되었다.

[0925] 실시예 7

[0926] 인간 기관지 상피 세포에서의 ENaC 채널의 기능적 활성화에 대한 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20832의 시험관내 효과

[0927] 인간 기관지 상피 세포 (HBEC)를 베타-ENaC RNAi 작용제 AD20832를 비롯한 지정된 siRNA로 형질감염시켰다. 형질감염된 세포를 스냅웰(Snapwell) 인서트 상에 시딩하고, 24시간 동안 배양하였다. 후속적으로, 정단 배양 배지를 각각의 인서트로부터 제거하고, 세포를 공기 액체 계면 (ALI)에서 배양하였다. 세포를 기재된 바와 같이 ALI 후 제8일에 ENaC 및 CFTR 활성화에 대해 검정하였다. 세포 생존율에 대한 대조군으로서, ENaC 기능을 CFTR 활성화에 대해 정규화하고, 데이터를 형질감염되지 않은 대조군에 관한 백분율로서 나타내었다 (도 2a). 추가의 생존율 대조군으로서, 막횡단 저항을 또한 측정하였다 (도 2b). 알파 및 베타 ENaC 서브유닛 mRNA의 발현 분석을 각각의 인서트에 대해 수행하고, GAPDH 발현에 대해 정규화하였다 (도 2c). 데이터는 mRNA 발현의 70% 억제가 ENaC 채널의 50% 기능 억제를 일으키기에 충분하다는 것을 나타내었다. 이는 알파 또는 베타 서브유닛을 형질감염되지 않은 (음성) 및 비-특이적 (ns) siRNA 대조군과 비교했을 때 각각의 녹다운에 대해 참이었다. 데이터는 또한 베타 ENaC siRNA가 알파 ENaC mRNA 발현을 억제하지 않고, 그 반대의 경우도 성립한다는 것을 보여주었다.

[0928] 방법: 인간 기관지 상피 세포에서의 ENaC의 기능적 활성화

[0929] 인간 기관지 상피 세포 (HBEC)를 론자(Lonza)로부터 구입하고, 성장 배지 (BEGM + 싱글퀴츠(singlequots) - 론자) 중에서 빙결시키기 전에 1회 계대배양하였다. 후속적으로, 세포를 해동시키고, 전면배양으로 확장시키고, 형질감염을 위해 1:10으로 분할하였다. 한 번 80% 전면배양률이 되면, 세포의 각 플라스크를 총 부피 30 mL의 형질감염 배지 (BEGM (론자) 및 DMEM 고-글루코스 (깁코(Gibco))의 1:1 믹스, 첨가제 무함유) 중 2 μL/mL 리포펙타민 2000을 사용하여 30 nM의 지정된 siRNA로 형질감염시켰다. 형질감염 후 24시간째에, 세포를 분화 배지 (BEBM 및 DMEM/고-글루코스의 50:50 믹스, 싱글퀴츠 함유 (마이너스 트리-아이오도트레오닌 및 레티노산 보충물, 올-트랜스 레티노산을 50 nM로 개별적으로 첨가함)) 중에 2.5x10⁵개 세포/인서트로 6 웰 스냅웰 인서트 (코스타(Costar)) 상에 시딩하였다. 세포를 정단에서 분화 배지 0.5 mL 및 기저외측에서 분화 배지 2.5 mL로 보충하였다. 인서트 상에서 추가로 24시간 동안 배양한 후, 기저외측 배지를 교체하고 정단 배지를 제거하여, 이에 따라 세포가 공기 액체 계면 (ALI) 배양 상태로 만들었다. 세포를 ALI 후 제8일 (D8)에 ENaC 및 CFTR 활성화에 대해 검정하였다.

[0930] 형질감염된 세포의 이온 수송 표현형을 평가하기 위해, 스냅웰 인서트를 수직 확산 챔버 (코스타)에 고정시키고, (mM 단위로) 120 NaCl, 25 NaHCO₃, 3.3 KH₂PO₄, 0.8 K₂HPO₄, 1.2 CaCl₂, 1.2 MgCl₂ 및 10 글루코스를 함유하는 37°C로 유지되는 기체주입된 링거 용액 (O₂ 중 5% CO₂; pH 7.4)에 계속 담가두었다 (오스몰농도를 280 내지 300 mosmol/l로 유지함). 세포를 0 mV로 전압 고정시켰다 (모델 EVC4000; WPI). 막횡단 저항 (TM res)을, 30초 간격으로 2 mV 펄스를 적용하고 옴의 법칙을 이용하여 TM res를 계산함으로써 측정하였다. 단락 전류 데이터를 파워랩(PowerLab) 워크스테이션 (ADI 인스트루먼트(ADI Instruments))을 이용하여 기록하였다. 각각의 군에서의 ENaC 채널의 활성을, 10 μM의 ENaC 차단제 아밀로리드의 정단 첨가 후의 단락 전류에서의 변화 (아밀로리드-감도 전류)에 의해 평가하였다. CFTR을 통한 클로라이드 분비를, CFTR을 활성화하는 것으로 공지되어 있는 0.6 μM 포르스콜린(Forskolin)의 정단 및 기저외측 첨가 후의 단락 전류에서의 변화 (포르스콜린 반응)에 의해 평가하였다. 각각의 인서트에 대해 아밀로리드-감도 전류를 포르스콜린 반응에 대해 정규화하고, 데이터를 형질감염되지 않은 대조군에 관한 백분율로서 나타내었다. 연구의 말기에 각각의 인서트를 RNA 분석을 위해 용해시키고 (300 μL RLT 완충제 - 퀴아젠(Qiagen)), 기재된 바와 같은 rtPCR에 의한 mRNA 녹다운의 후속 분석을 위해 샘플을 유지시켰다.

[0931] 약어:

[0932] ALI 공기-액체 계면

[0933] BEGM 기관지 상피 성장 배지

- [0934] D6, D8 제6일, 제8일
- [0935] DMEM 둘베코 변형 이글 배지
- [0936] HBEC 인간 기관지 상피 세포
- [0937] TM res 막횡단 저항
- [0938] **등가물**
- [0939] 센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.
- [0940] 상기 단락 [0939]에 있어서, 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 추가로 포함하는 조성물.
- [0941] 상기 단락 [0939]에 있어서, 안티센스 가닥이 30개 이하의 뉴클레오티드 길이인 조성물.
- [0942] 상기 단락 [0939]에 있어서, 센스 가닥 및 안티센스 가닥이 15 내지 30개의 뉴클레오티드 쌍 길이의 듀플렉스 영역을 형성하는 것인 조성물.
- [0943] 상기 단락 [0939]에 있어서, 안티센스 가닥 및 센스 가닥이 독립적으로 19 내지 23개의 뉴클레오티드 길이인 조성물.
- [0944] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가, 생물학적 샘플 또는 환경에서 상기 RNAi 작용제가 증가된 안정성을 갖도록 하는 변형을 포함하는 것인 조성물.
- [0945] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 하나 이상의 변형된 백본 및/또는 하나 이상의 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.
- [0946] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 하기를 포함하는 것인 조성물:
- [0947] a) 하나 이상의 5'-우리딘-아데닌-3' (5'-ua-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드 임); 및/또는
- [0948] b) 하나 이상의 5'-우리딘-구아닌-3' (5'-ug-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드 임); 및/또는
- [0949] c) 하나 이상의 5'-시티딘-아데닌-3' (5'-ca-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-시티딘은 2'-변형된 뉴클레오티드 임); 및/또는
- [0950] d) 하나 이상의 5'-우리딘-우리딘-3' (5'-uu-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드 임).
- [0951] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 및 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로 이루어진 군으로부터 선택된 2'-변형을 포함하는 것인 조성물.
- [0952] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 평활 말단을 포함하는 것인 조성물.
- [0953] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 쌍을 이루지 않은 1 내지 4개의 뉴클레오티드를 갖는 오버행을 포함하는 것인 조성물.
- [0954] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 상기 RNAi 작용제의 안티센스 가닥의 3'-말단에 오버행을 포함하는 것인 조성물.
- [0955] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부여 모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 렉틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에델린, 에피프리델라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 폴룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로텍스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합체, 인테그린-표적화 분자, 다가양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린으로부터 선택된 하나 이상의 작용제에 라이게이션되

어 있는 것인 조성물.

- [0956] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 60% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0957] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 70% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0958] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 80% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0959] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 90% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0960] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi가 약 0.1 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0961] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi가 약 0.01 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0962] 상기 단락 [0939]에 있어서, RNAi가 약 0.001 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0963] 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 제1 및 제2 가닥과 각각 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 제1 가닥 및 제2 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.
- [0964] 상기 단락 [0963]에 있어서, 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 포함하는 조성물.
- [0965] 상기 단락 [0963]에 있어서, 제2 가닥이 30개 이하의 뉴클레오티드 길이인 조성물.
- [0966] 상기 단락 [0963]에 있어서, 제1 가닥 및 제2 가닥이 15 내지 30개의 뉴클레오티드 쌍 길이의 듀플렉스 영역을 형성하는 것인 조성물.
- [0967] 상기 단락 [0963]에 있어서, 제1 가닥 및 제2 가닥이 독립적으로 19 내지 23개의 뉴클레오티드 길이인 조성물.
- [0968] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가, 생물학적 샘플 또는 환경에서 상기 RNAi 작용제가 증가된 안정성을 갖도록 하는 변형을 포함하는 것인 조성물.
- [0969] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 포스포로티오에이트 및/또는 2'-변형된 뉴클레오티드를 포함하는 것인 조성물.
- [0970] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 하기를 포함하는 것인 조성물:
- [0971] 하나 이상의 5'-우리딘-아데닌-3' (5'-ua-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임); 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-구아닌-3' (5'-ug-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임);
- [0972] 및/또는 하나 이상의 5'-시티딘-아데닌-3' (5'-ca-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-시티딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임);
- [0973] 및/또는 하나 이상의 5'-우리딘-우리딘-3' (5'-uu-3') 디뉴클레오티드 (여기서, 5'-우리딘은 2'-변형된 뉴클레오티드임).
- [0974] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 2'-데옥시, 2'-데옥시-2'-플루오로, 2'-O-메틸, 2'-O-메톡시에틸 (2'-O-MOE), 2'-O-아미노프로필 (2'-O-AP), 2'-O-디메틸아미노에틸 (2'-O-DMAOE), 2'-O-디메틸아미노프로필 (2'-O-DMAP), 2'-O-디메틸아미노에틸옥시에틸 (2'-O-DMAEOE) 및 2'-O-N-메틸아세트아미도 (2'-O-NMA)로 이루어진 군으로부터 선택된 하나 이상의 2'-변형을 포함하는 것인 조성물.
- [0975] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 평활 말단을 포함하는 것인 조성물.
- [0976] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 쌍을 이루지 않은 1 내지 4개의 뉴클레오티드를 갖는 오버행을 포함하는 것인 조성물.
- [0977] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 안티센스 가닥의 3'-말단에 오버행을 포함하는 것인 조성물.
- [0978] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 진단 화합물, 리포터 기, 가교제, 뉴클레아제-저항성 부어

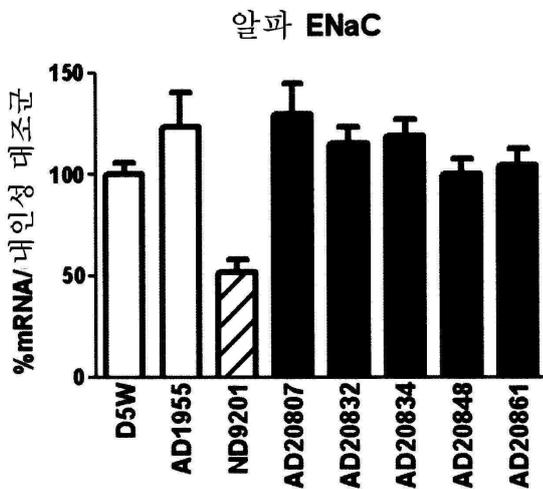
모이어티, 천연 또는 비통상적 핵염기, 친지성 분자, 콜레스테롤, 지질, 렉틴, 스테로이드, 우바올, 헤시게닌, 디오스게닌, 테르펜, 트리테르펜, 사르사사포게닌, 프리에텔린, 에피프리텔라놀-유도체화 리토콜산, 비타민, 탄수화물, 텍스트란, 폴룰란, 키틴, 키토산, 합성 탄수화물, 올리고 락테이트 15량체, 천연 중합체, 저- 또는 중-분자량 중합체, 이눌린, 시클로텍스트린, 히알루론산, 단백질, 단백질-결합체, 인테그린-표적화 분자, 다가양이온, 펩티드, 폴리아민, 펩티드 모방체 및/또는 트랜스페린으로부터 선택된 하나 이상의 작용제에 라이게이션되어 있는 것인 조성물.

- [0979] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 60% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0980] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 70% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0981] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 80% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0982] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi 작용제가 시험관내 H441 세포에서 10 nM의 농도에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 적어도 약 90% 억제할 수 있는 것인 조성물.
- [0983] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi가 약 0.1 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0984] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi가 약 0.01 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0985] 상기 단락 [0963]에 있어서, RNAi가 약 0.001 nM 이하의 EC50을 갖는 것인 조성물.
- [0986] 센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC-관련 질환을 치료하는 방법.
- [0987] 상기 단락 [0986]에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압인 방법.
- [0988] 상기 단락 [0986]에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증인 방법.
- [0989] 상기 단락 [0986]에 있어서, 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압에 대한 추가의 치료를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0990] 상기 단락 [0986]에 있어서, 조성물이 베타-ENaC에 대한 제2 RNAi 작용제를 포함하는 것인 방법.
- [0991] 상기 단락 [0986]에 있어서, 베타-ENaC에 대한 추가의 RNAi 작용제를 투여하는 단계를 추가로 포함하는 방법.
- [0992] 상기 단락 [0986]에 있어서, 추가의 치료의 투여를 추가로 포함하는 방법.
- [0993] 상기 단락 [0986]에 있어서, 추가의 치료가 조성물인 방법.
- [0994] 상기 단락 [0986]에 있어서, 추가의 치료가 방법인 방법.
- [0995] 상기 단락 [0986]에 있어서, 추가의 치료 및 RNAi 작용제를 임의의 순서로 투여할 수 있는 방법.
- [0996] 센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 조성물의 치료 유효량을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는, 개체에서 베타-ENaC 유전자의 발현을 억제하는 방법.
- [0997] 상기 단락 [0996]에 있어서, 개체가 베타-ENaC-관련 질환을 앓고 있거나 그에 걸리기 쉬운 것인 방법.
- [0998] 상기 단락 [0996]에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압인 방법.
- [0999] 상기 단락 [0996]에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 남성 섬유증인 방법.
- [1000] 상기 단락 [0999]에 있어서, 추가의 치료의 투여를 추가로 포함하는 방법.

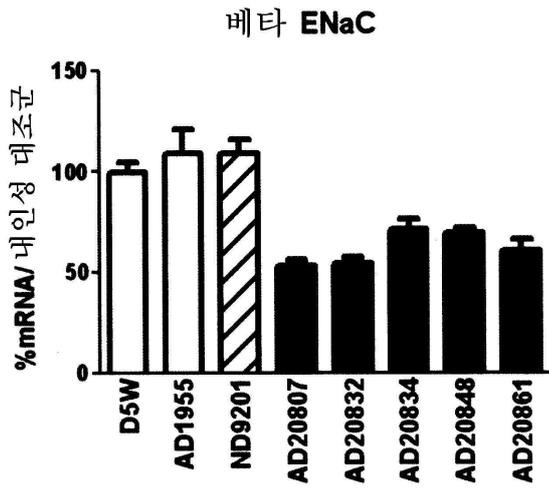
- [1001] 상기 단락 [1000]에 있어서, 추가의 치료가 조성물인 방법.
- [1002] 상기 단락 [1000]에 있어서, 추가의 치료가 방법인 방법.
- [1003] 상기 단락 [1000]에 있어서, 추가의 치료 및 RNAi 작용제를 임의의 순서로 투여할 수 있는 방법.
- [1004] 센스 가닥, 및 표 1에 제공된 베타-ENaC에 특이적인 RNAi 작용제의 안티센스 가닥과 0, 1, 2 또는 3개의 뉴클레오티드가 상이한 적어도 15개의 인접 뉴클레오티드를 포함하는 안티센스 가닥을 포함하는 RNAi 작용제를 포함하는 RNAi 제제에서 사용하기 위한 의약.
- [1005] 제약상 유효한 제제 중의 임의의 상기 조성물.
- [1006] 상기 단락 [0939]에 있어서, 치료 유효량의 상기 단락 [0939]에 따른 조성물을 개체에게 투여하는 단계를 포함하는 개체에서 베타-ENaC-관련 질환을 치료하는 방법에서 사용하기 위한 조성물.
- [1007] 베타-ENaC-관련 질환의 치료를 위한 의약의 제조에서의, 상기 단락 [0939]에 따른 조성물의 용도.
- [1008] 상기 단락 [1007]에 있어서, 베타-ENaC-관련 질환이 낭성 섬유증, 제1형 가성저알도스테론증 (PHA1), 리들 증후군, 고혈압, 알칼리증, 저칼륨혈증 및/또는 비만-연관 고혈압인 용도.
- [1009] 상기 단락 [0939]에 있어서, 모든 피리미딘이 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드인 조성물.
- [1010] 상기 단락 [0963]에 있어서, 모든 피리미딘이 2' O-메틸-변형된 뉴클레오티드인 조성물.

도면

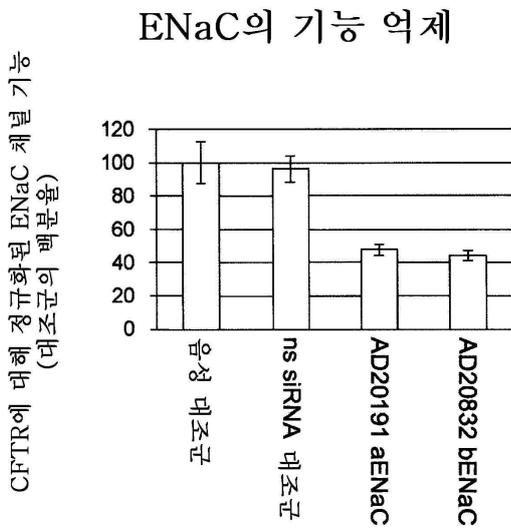
도면1a



도면1b

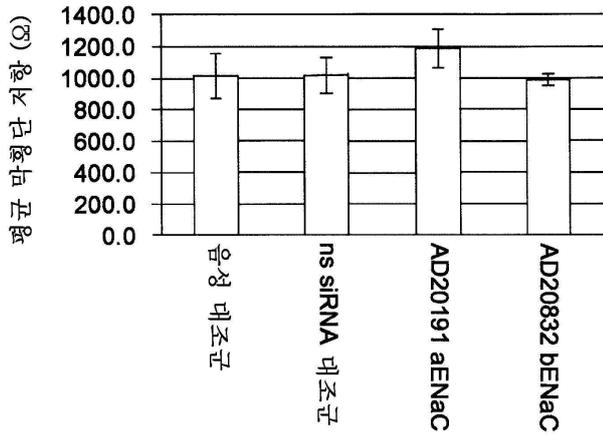


도면2a



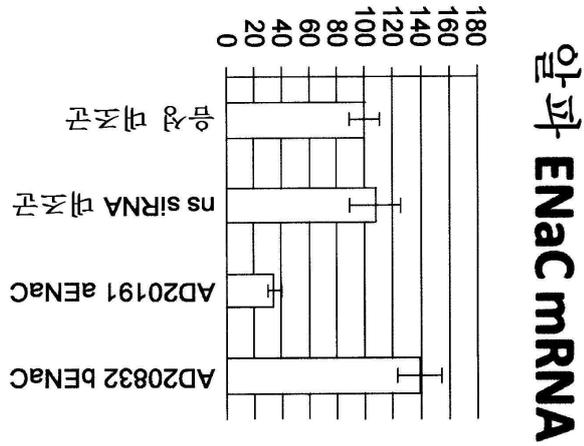
도면2b

막횡단 저항

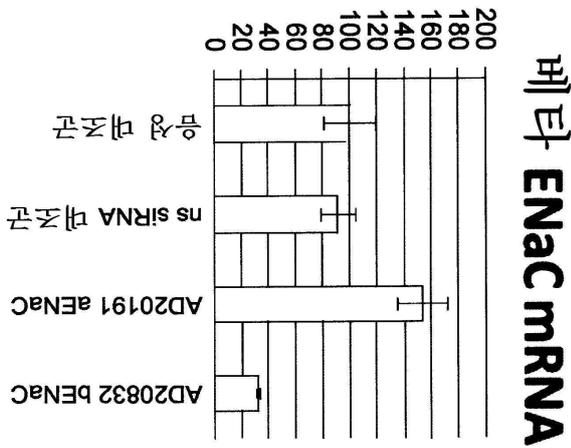


도면2c

알파 ENaC 발현 (대조군의 백분율)



베타 ENaC 발현 (대조군의 백분율)



서열 목록

SEQUENCE LISTING

- <110> Novartis AG
HICKMAN, Emma
- <120> ORGANIC COMPOSITIONS TO TREAT BETA-ENaC-RELATED DISEASES
- <130> 54121
- <160> 430
- <170> PatentIn version 3.5
- <210> 1

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 1
 cagugacuac aacacgacc 19
 <210> 2
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 2
 ggucguguug uagucacug 19

 <210> 3
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 3
 augacagaga aggcacuuc 19
 <210> 4
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 4
 gaagugccuu cucugucau 19
 <210> 5
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 5
 gugaagaagu accugcuga 19

<210> 6

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 6

ucagcaggua cuucuucac 19

<210> 7

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 7

gugacuacaa cagaccua 19

<210> 8

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 8

uaggucgugu uguagucac 19

<210> 9

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 9

gguggaggcc cacaccaac 19

<210> 10

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 10
 guuggugugg gccuccacc 19
 <210> 11
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 11
 ugguggaggc ccacaccaa 19
 <210> 12
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 12
 uugguguggg ccuccacca 19
 <210> 13
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 13
 uuccaagacc acaugaucc 19
 <210> 14
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 14
 ggaucaugug gucuuggaa 19
 <210> 15
 <211> 19
 <
 212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 15
 agcugggagg ucagcgucu 19
 <210> 16
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 16
 agacgcugac cucccagcu 19
 <210> 17
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 17
 gggagaaaaua cugcaacaa 19
 <210> 18
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 18
 uuguugcagu auuucuccc 19
 <210> 19
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 19
 ccaguuuggc uucuggaug 19
 <210> 20
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 20
 cauccagaag ccaaacugg 19
 <210> 21
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 21
 agugacuaca acacgaccu 19
 <210> 22
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 22
 aggucguguu guagucacu 19
 <210> 23
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 23
 aauaucaccc ugagcagga 19
 <210> 24
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 24
 uccugcucag ggugauau 19

<210> 25
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 25
 ccugcaggcc accaacauc 19
 <210> 26
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 26
 gauguuggug gccugcagg 19
 <210> 27
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 27
 aucaccuga gcaggaagg 19
 <210> 28
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 28
 ccuuccugcu caggugau 19
 <210> 29
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 29

gcugggaggu cagcgucuc 19
 <210> 30
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 30
 gagacgcuga ccucccagc 19
 <210> 31
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 31
 gagcugggag gucagcguc 19
 <210> 32
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 32
 gacgcugacc ucccagcuc 19
 <210> 33
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 33
 guggccaguu uggcuucug 19
 <210> 34
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 34
 cagaagccaa acugccac 19
 <210> 35
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 35
 caguuuggcu ucuggaugg 19
 <210> 36
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 36
 ccauccagaa gccaaacug 19
 <210> 37
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 37
 ggccaguuug gcuucugga 19
 <210> 38
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 38
 uccagaagcc aaacuggcc 19
 <210> 39
 <211> 19
 <

212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 39
 cuggguggcc aguuuggcu 19
 <210> 40
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 40
 agccaaacug gccaccag 19
 <210> 41
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 41
 ucuacaguga cuacaacac 19
 <210> 42
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 42
 guguuguagu cacuguaga 19
 <210> 43
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 43
 gcaugacaga gaaggcacu 19
 <210> 44

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 44
 agugccuucu cugucaugc 19
 <210> 45
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 45
 auaucacccu gagcaggaa 19
 <210> 46
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 46
 uuccugcuca gggugauau 19
 <210> 47
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 47
 cuacagugac uacaacacg 19
 <210> 48
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 48

cguguuguag ucacuguag	19
<210> 49	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 49	
uauacaccug agcaggaag	19
<210> 50	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 50	
cuuccugcuc agggugaua	19
<210> 51	
<211> 19	
<	
212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 51	
ugcaggccac caacauuu	19
<210> 52	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 52	
aagauguugg uggccugca	19
<210> 53	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	

<400> 53
 caugacagag aaggcacuu 19

<210> 54
 <211> 19
 <

212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 54
 aagugccuuc ucugucaug 19

<210> 55
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 55
 ugaagaagua ccugcugaa 19

<210> 56
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 56
 uucagcaggu acuucuuca 19

<210> 57
 <211> 19
 <

212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 57
 gcuggaggag gcccacacc 19

<210> 58
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 58
 ggugugggcc uccaccagc 19
 <210> 59
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 59
 uacagugacu acaacacga 19
 <210> 60
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 60
 ucguguugua gucacugua 19
 <210> 61
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 61
 acagagaagg cacuuccuu 19
 <210> 62
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 62
 aaggaagugc cuucucugu 19
 <210> 63
 <211> 19

<

212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 63

acagugacua caacacgac 19

<210> 64

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 64

gucguguugu agucacugu 19

<210> 65

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 65

ugagcuggga ggucagcgu 19

<210> 66

<211> 19

<

212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 66

acgcugaccu cccageuca 19

<210> 67

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 67

uggccaguuu ggcucugg 19

<210> 68
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 68
 ccagaagcca aacuggcca 19
 <210> 69
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 69
 ugucucagga gcgggacca 19
 <210> 70
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 70
 ugguccegcu ccugagaca 19
 <210> 71
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 71
 guggaggccc acaccaacu 19
 <210> 72
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 72
 aguuggugug ggccuccac 19
 <210> 73
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 73
 ggguggccag uuugcuuc 19
 <210> 74
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 74
 gaagccaaac uggccaccc 19
 <210> 75
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 75
 gguggccagu uggcuucu 19
 <210> 76
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 76
 agaagcaaaa cuggccacc 19
 <210> 77
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 77
 ucacccugag caggaaggg 19
 <210> 78
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 78
 cccuuccugc ucaggguga 19
 <210> 79
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 79
 gccaguuugg cuucuggau 19
 <210> 80
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 80
 auccagaagc caaacuggc 19
 <210> 81
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 81
 agcuggugga ggcccacac 19
 <210> 82
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 82
 gugugggccu ccaccagcu 19
 <210> 83
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 83
 aucuccaugg cugacuggc 19
 <210> 84
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 84
 gccagucagc cauggagau 19
 <210> 85
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 85
 ggcaugacag agaaggcac 19
 <210> 86
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 86
 gugccuucuc ugucaugcc 19
 <210> 87

<211> 19

<

212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 87

ggagaaauac ugcaacaac

19

<210> 88

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 88

guuguugcag uauuucucc

19

<210> 89

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 89

uggguggcca guuugcucu

19

<210> 90

<211> 19

<

212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 90

aagcacaacu ggccacca

19

<210> 91

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 91

gagcuggugg aggcccaca 19
 <210> 92
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 92

ugugggccuc caccagcuc 19
 <210> 93
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 93

gacagagaag gcacuuccu 19
 <210> 94
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 94

aggaagugcc uucucuguc 19
 <210> 95
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 95

aguuuggcuu cuggauggg 19
 <210> 96
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 96
 cccauccaga agccaaacu 19
 <210> 97
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 97
 ugacagagaa ggcacuucc 19
 <210> 98
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 98
 ggaagugccu ucucuguca 19
 <210> 99
 <211> 19
 <
 212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 99
 gaagaaguac cugcugaag 19
 <210> 100
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 100
 cuucagcagg uacuucuuc 19
 <210> 101
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 101
 ucuccauggc ugacuggcc 19
 <210> 102
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 102
 ggccagucag ccauggaga 19
 <210> 103
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 103
 cugguggagg cccacacca 19
 <210> 104
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 104
 uggugugggc cuccaccag 19
 <210> 105
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 105
 cagagaaggc acuuccuuc 19
 <210> 106

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 106
 gaaggaagug ccuucucug 19
 <210> 107
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 107
 cugcaggcca ccaacaucu 19
 <210> 108
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 108
 agauguuggu ggccugcag 19
 <210> 109
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 109
 gggcaugaca gagaaggca 19
 <210> 110
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 110
 ugccuucucu gucaugccc 19

<210> 111
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 111
 cagugacuac aacacgacc 19

 <210> 112
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 112
 ggucguguug uagucacug 19

 <210> 113
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 113
 augacagaga aggcacuuc 19

 <210> 114
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 114
 gaagugccuu cucugucau 19

 <210> 115
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 115
gugaagaagu accugcuga 19
<210> 116
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 116
ucagcaggua cuucuucac 19
<210> 117
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 117
gugacuacaa cagaccua 19
<210> 118
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 118
uaggucgugu uguagucac 19
<210> 119
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 119
gguggaggcc cacaccaac 19
<210> 120
<211> 19
<212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 120
 guuggugugg gccuccacc 19
 <210> 121
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 121
 ugguggaggc ccacaccaa 19
 <210> 122
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 122
 uugguguggg ccuccacca 19
 <210> 123
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 123
 uuccaagacc acaugaacc 19
 <210> 124
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 124
 ggaucaugug gucuuggaa 19
 <210> 125
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 125
 agcugggagg ucagcgucu 19
 <210> 126
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 126
 agacgcugac cucccagcu 19
 <210> 127
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 127
 gggagaaaua cugcaaca 19
 <210> 128
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 128
 uuguugcagu auuucuccc 19
 <210> 129
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 129
 ccaguuuggc uucuggaug 19

<210> 130
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 130
 cauccagaag ccaaacugg 19
 <210> 131
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 131
 agugacuaca acacgaccu 19
 <210> 132
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 132
 aggucguguu guagucacu 19
 <210> 133
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 133
 aauaucaccc ugagcagga 19
 <210> 134
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 134

uccugcucag ggugauauu 19

<210> 135

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 135

ccugcaggcc accaacauc 19

<210> 136

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 136

gauguuggug gccugcagg 19

<210> 137

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 137

aucaccuga gcaggaagg 19

<210> 138

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 138

ccuuccugcu caggugau 19

<210> 139

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 139
 gcugggaggu cagcgucuc 19
 <210> 140
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 140
 gagacgcuga ccucccagc 19
 <210> 141
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 141
 gagcugggag gucagcguc 19
 <210> 142
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 142
 gagcgugacc ucccagcuc 19
 <210> 143
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 143
 guggccaguu ugguucug 19
 <210> 144
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 144
 cagaagccaa acuggccac 19
 <210> 145
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 145
 caguuuggcu ucuggaugg 19
 <210> 146
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 146
 ccauccagaa gccaaacug 19
 <210> 147
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 147
 ggccaguuug gcuucugga 19
 <210> 148
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 148
 uccagaagcc aaacuggcc 19
 <210> 149

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 149
 cuggguggcc aguuuggcu 19
 <210> 150
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 150
 agccaaacug gccacccag 19
 <210> 151
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 151
 ucuacaguga cuacaacac 19
 <210> 152
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 152
 guguuguagu cacuguaga 19
 <210> 153
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 153

gcaugacaga gaaggcacu	19
<210> 154	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 154	
agugccuucu cugucaugc	19
<210> 155	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 155	
auaucacccu gaggaggaa	19
<210> 156	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 156	
uuccugcuca gggugauau	19
<210> 157	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 157	
cuacagugac uacaacacg	19
<210> 158	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	

<400> 158
 cguguuguag ucacuguag 19

<210> 159
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 159
 uaucaccug agcaggaag 19

<210> 160
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 160
 cuuccugcuc aggugaua 19

<210> 161
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 161
 ugcaggccac caacauuu 19

<210> 162
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 162
 aagauguugg uggcugca 19

<210> 163
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 163
 caugacagag aaggcacuu 19
 <210> 164
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 164
 aagugccuuc ucugucaug 19
 <210> 165
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 165
 ugaagaagua ccugcugaa 19
 <210> 166
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 166
 uucagcaggu acuucuca 19
 <210> 167
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 167
 gcugguggag gcccacacc 19
 <210> 168

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 168

ggugugggcc uccaccagc 19

<210> 169

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 169

uacagugacu acaacacga 19

<210> 170

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 170

ucguguugua gucacugua 19

<210> 171

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 171

acagagaagg cacuuccuu 19

<210> 172

<211> 19

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 172

aaggaagugc cuucucugu 19
 <210> 173
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 173

acagugacua caacacgac 19
 <210> 174
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 174

gucguguugu agucacugu 19
 <210> 175
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 175

ugagcuggga ggucagcgu 19
 <210> 176
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 176

acgcugaccu cccagcuca 19
 <210> 177
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 177
 uggccaguuu ggcucucgg 19
 <210> 178
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 178
 ccagaagcca aacuggcca 19
 <210> 179
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 179
 ugucucagga gcgggacca 19
 <210> 180
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 180
 ugguccegcuc cugagaca 19
 <210> 181
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 181
 guggaggccc acaccaacu 19
 <210> 182
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 182
 aguuggugug ggccuccac 19
 <210> 183
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 183
 ggguggccag uuuggcuc 19
 <210> 184
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 184
 gaagccaaac uggccacc 19
 <210> 185
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 185
 gguggccagu uuggcucu 19
 <210> 186
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 186
 agaagccaaa cuggccacc 19
 <210> 187

<211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 187
 ucaccugag caggaagg 19
 <210> 188
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 188
 cccuuccugc ucaggguga 19
 <210> 189
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 189
 gccaguuugg cuucuggau 19
 <210> 190
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 190
 auccagaagc caaacuggc 19
 <210> 191
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 191
 agcuggugga ggcccacac 19

<210> 192
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 192
 gugugggccu ccaccagcu 19

<210> 193
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 193
 aucuccaugg cugacuggc 19

<210> 194
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 194
 gccagucagc cauggagau 19

<210> 195
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 195
 ggcaugacag agaaggcac 19

<210> 196
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 196
gugccuucuc ugucaugcc 19
<210> 197
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 197
ggagaaauac ugcaacaac 19
<210> 198
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 198
guuguugcag uauuucucc 19
<210> 199
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 199
uggguggcca guuugcuu 19
<210> 200
<211> 19
<212> RNA
<213> Artificial
<220><223> RNAi Agent
<400> 200
aagccaaacu ggccacca 19
<210> 201
<211> 19
<212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 201
 gagcuggugg aggcccaca 19
 <210> 202
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 202
 ugugggccuc caccagcuc 19
 <210> 203
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 203
 gacagagaag gcacuuccu 19
 <210> 204
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 204
 aggaagugcc uucucuguc 19
 <210> 205
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 205
 aguuuggcuu cuggauggg 19
 <210> 206
 <211> 19

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 206
 cccauccaga agccaaacu 19
 <210> 207
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 207
 ugacagagaa ggcacuucc 19
 <210> 208
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 208
 ggaagugccu ucucuguca 19
 <210> 209
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 209
 gaagaaguac cugcugaag 19
 <210> 210
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 210
 cuucagcagg uacuucuc 19

<210> 211
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 211
 ucuccauggc ugacuggcc 19
 <210> 212
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 212
 ggccagucag ccauggaga 19
 <210> 213
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 213
 cugguggagg cccacacca 19
 <210> 214
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 214
 uggugugggc cuccaccag 19
 <210> 215
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 215

cagagaaggc acuuccuuc 19
 <210> 216
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 216

 gaaggaagug ccuucucug 19
 <210> 217
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 217

 cugcaggcca ccaacaucu 19
 <210> 218
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 218

 agauguuggu ggccugcag 19
 <210> 219
 <211> 19

 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 219

 gggcaugaca gagaaggca 19
 <210> 220
 <211> 19
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 220

ugccuucucu gucaugccc 19

<210> 221

<211> 2280

<212> DNA

<213> Cynomolgus

<400> 221

ggtaccacgc ttgcttggtc tttttgcaga agctcagaat aaacgctcaa ctttggcaga 60

tcaattcccc ggggatccga attcgccacc atgcacgtga agaagtacct gctgaagtgc 120

ctgcaccggc tgcagaaggc ccccggtac acgtacaagg agctgctggt gtggtactgc 180

gataacacca acaccacggc cccaagcgt atcatctgcg aggggcccaa gaagaaagcc 240

gtgtggttcc tgctcacctt gctcttcaact gctctcgtct gctggcagtg gggcatcttc 300

atcaggacct acttgagctg ggaggtcagc gtctccctct ccgtaggctt caagacctg 360

gacttccccg ccgtecacat ctgcaatgct agccccctca agtattccaa agtcaagcat 420

ttgtgaagg acctggatga gctgatggaa gctgtcctgg agagaatcct ggctcctgag 480

ctaagccatg ccaatgccac caggacctg aactcttcca tctggaacca cacaccactg 540

gtccttattg atgaacggaa cccccaccac cccatggtcc tcatctctt tggagataac 600

cacaatggct taacaacag ctcagcatca gaaaagatct gtaatgccca tgggtgcaaa 660

atggccatga gactatgtag cctcaacggg acccagtgc ccttccggaa cttcaccagc 720

gctaccacgg cagtgcaga gtggtacagc ctgcaggcca ccaacatctt tgcgcaggtg 780

ccgcagcagg agctggtgga gatgagctac cccggcgagc agatgatcct ggctgcctg 840

tttggagctg agccctgcaa ctaccggaac ttcacgtcca tcttctacc tcaactatggc 900

aactgttaca tcttcaactg gggcatgaca gagaaggcac ttccttcggc caaccctgga 960

cctgaatttg gctgaagtt gatcctggac atagccagg aagactacgt ccccttctc 1020

gcgtccacgg ctggggtcag gctgatgctt cagcagcaga ggtcataccc cttcatcaga 1080

gacgagggca tctatgcat gtcggggaca gagacgtcca tcggggtact cgtggacaag 1140

cttcagcgca tgggggagcc ctacagcccc tgcaccgtga atggctccga ggtccccgtc 1200

caaaacttct acagtgacta caacacgacc tactccatcc aggcctgtct tcgctcctgc 1260

ttccaagacc acatgatccg tagctgcaag tgtgggcaact acctctacc actgccccgt 1320

ggggagaaat actgcaacaa ccgggacttc ccagactggg cccattgcta ctcagatctg 1380

cagatgagcg tggcgcagag agagacctgc attggcatgt gcaaggaatc ctgcaatgac 1440
 acccagtaca agatgactat ctccatggct gactggcctt ctgaggcctc tgaggactgg 1500
 attttccacg tcttgtctca ggagcgggac caaagcacca atatcacct gagcaggaag 1560
 ggaattgtca agctcaacat ctacttccaa gaatttaact atcgacccat tgaagaatca 1620
 gcagccaata acctcgtctg gctgctctca aatctgggtg gccagtttgg cttctggatg 1680
 gggggctctg tgctgtgcct catcgagttt ggggagatca tcatcgactt tgtgtggatc 1740
 accatcatca agctggtggc cttggccaag agcctccggc agcggcgagc ccaagccagc 1800

 tactccggcc caccgcccac ggtggctgag ctggaggagg cccacaccaa cttcggctac 1860
 cagcctgaca cgccccccc cagccccaac accgggccct accccagtga gcaggccctg 1920
 cccatcccgg gcaccccgc cccaactat gactccctgc gtctgcagcc actggacgtc 1980
 atcgagtctg acagtgaggg tgatgccatc taagcggccg cctagaaata gcttgatctg 2040
 gttaccacta aaccagcctc aagaacaccc gaatggagtc tctaagctac ataatacaa 2100
 cttacacttt acaaaatggt gtccccaaa atgtagccat tcgtatctgc tcctaataaa 2160
 aagaaagttt cttcacattc taaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaccccc 2220

 ccccccccc cctgcagag atctgctagc ttgagtattc tatagagtca cctaataact 2280
 <210> 222
 <211> 2597
 <212> DNA
 <213> Homo sapien
 <400> 222

 gtgttcccc gcccctgaac ctgctccctc ccagtcggtc tcgccgcgct cgccgggtgt 60
 cccagtgtca ccaacactcg gccgccgccc ccagcttggc ggcaccgcc gcctccgcca 120
 ccgccgacag cgcgcatcct ccgtgtcccc gctccgcccg ccgagcaggt gccactatgc 180
 acgtgaagaa gtacctgctg aagggcctgc atcggtctga gaagggcccc ggctacacgt 240
 acaaggagct gctggtgtgg tactgcgaca acaccaacac ccacggcccc aagcgcacatca 300

 tctgtgaggg gcccaagaag aaagccatgt ggttctctgt caccctgtctc ttcgccgccc 360
 tcgtctgctg gcagtggggc atcttcatca ggacctactt gagctgggag gtcagcgtct 420
 ccctctccgt aggcttcaag accatggact tcctgccgt caccatctgc aatgctagcc 480
 ccttcaagta ttccaaaate aagcatttgc tgaaggacct ggatgagctg atggaagctg 540
 tcctggagag aatcctggct cctgagctaa gccatgcaa tgccaccagg aacctgaact 600
 tctccatctg gaaccacaca ccctggtccc ttattgatga acggaacccc caccacceca 660

tggtccttga tctctttgga gacaaccaca atggcttaac aagcagctca gcatcagaaa 720

 agatctglaa tgcccacggg tgcaaatgg ccatgagact atgtagctc aacaggaccc 780
 agtgtacctt ccggaacttc accagtgcta cccaggcatt gacagagtgg tacatcctgc 840
 aggccaccaa catctttgca caggtgccac agcaggagct agtagagatg agctaccccg 900
 gcgagcagat gatcctggcc tgcctattcg gagctgagcc ctgcaactac cggaacttca 960
 cgtccatctt ctaccctcac tatggcaact gttacatctt caactggggc atgacagaga 1020
 aggcacttcc ttcggccaac cctggaactg aattcggcct gaagttgac ctaggacatag 1080
 gccaggaaga ctacgtccc ttccttgcgt ccacggccgg ggtcaggctg atgcttcacg 1140

 agcagaggtc atacccttc atcagagatg agggcatcta cgccatgtcg gggacagaga 1200
 cgtccatcgg ggtactcgtg gacaagcttc agcgcctggg ggagccctac agcccgtgca 1260
 ccgtgaatgg ttctgaggtc cccgtccaaa acttctacag tgactacaac acgacctact 1320
 ccatccaggc ctgtcttcgc tectgcttcc aagaccacat gatccgtaac tgcaactgtg 1380
 gccactacct gtaccactg ccccgtgggg agaaactg caacaaccgg gacttcccag 1440
 actgggcca ttgctactca gatctacaga tgagcgtggc gcagagagag acctgcattg 1500
 gcatgtgcaa ggagtctgc aatgacacc agtacaagat gaccatctcc atggctgact 1560

 ggcttctga ggctccgag gactggattt tccacgtctt gtctcaggag cgggacaaa 1620
 gcaccaatat caccctgagc aggaaggaa ttgtcaagct caacatctac ttccaagaat 1680
 ttaactatcg caccattgaa gaatcagcag ccaataacat cgtctggctg ctctcgaatc 1740
 tgggtggcca gtttgcttc tggatgggg gctctgtgct gtgctcctc gagtttgggg 1800
 agatcatcat cgactttgtg tggatcacca tcatcaagct ggtggccttg gccaagagcc 1860
 tacggcagcg gcgagccaa gccagctacg ctggcccacc gccaccgtg gccgagctgg 1920
 tggaggcca caccaacttt ggttccagc ctgacacggc cccccgcagc cccaactg 1980

 ggccctacc cagtgagcag gccctgcca tcccaggcac cccgcccc aactatgact 2040
 cctgcgtct gcagccgctg gacgtcatg agtctgacag tgagggtgat gccatctaac 2100
 cctgccccg cccacccgg gcgctgaaa ctactgagc agccaagact gttgcccag 2160
 gccctactgt atggtgccct ctccaaagg tgggagggt agctctccag gccagagctt 2220
 gtgtccttca acagagagc cagcggcaac tggctcgtta ctggccaagg gctctgtaga 2280
 atcagggtgc tggtagagga tgcaggaata aattgtatct teacctggtt cctaccctcg 2340
 tcctacctg tctgatcct ggtcctgaag acccctcgga acacctctc ctggtggcag 2400

gccacttccc tcccagtgcc agtctccatc cacccagag aggaacaggc gggtgggcca 2460
 tgtggtttcc tccttctctgg ccttggtctgg cctctggggc aggggtggtg gagagatgga 2520
 agggcatcag gtgtagggac cctgccaagt ggcacctgat ttactctaga aaataaaagt 2580
 agaaaatact gagtcca 2597

<210> 223
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 223

ugaagaagua cc 12
 <210> 224
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 224

gguacuucuu ca 12
 <210> 225
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 225

gaagaaguac cu 12
 <210> 226
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 226

agguacuucu uc 12
 <210> 227
 <211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 227

aagaaguacc ug 12

<210> 228

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 228

cagguacuuc uu 12

<210> 229

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 229

agaaguaccu gc 12

<210> 230

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 230

gcagguacuu cu 12

<210> 231

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 231

gaaguaccug cu 12

<210> 232
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 232
 agcagguacu uc 12
 <210> 233
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 233
 aaguaccugc ug 12
 <210> 234
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 234
 cagcagguac uu 12
 <210> 235
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 235
 aguaccugcu ga 12
 <210> 236
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 236
 ucagcaggua cu 12
 <210> 237
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 237
 guaccugcug aa 12
 <210> 238
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 238
 uucagcaggu ac 12
 <210> 239
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 239
 gagcugggag gu 12
 <210> 240
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 240
 accucccagc uc 12
 <210> 241
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 241
 agcugggagg uc 12
 <210> 242
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 242
 gaccucccag cu 12
 <210> 243
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 243
 gcugggaggu ca 12
 <210> 244
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 244
 ugaccucca gc 12
 <210> 245
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 245
 cugggagguc ag 12
 <210> 246
 <211> 12

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 246
 cugaccucc ag 12
 <210> 247
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 247
 ugggagguca gc 12
 <210> 248
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 248
 gcugaccucc ca 12
 <210> 249
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 249
 gggaggucag cg 12
 <210> 250
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 250
 cgugaccuc cc 12
 <210> 251

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 251

ggaggucagc gu 12

<210> 252

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 252

acgcugaccu cc 12

<210> 253

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 253

gaggucagcg uc 12

<210> 254

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 254

gacgcugacc uc 12

<210> 255

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 255

aggucagcgu cu	12
<210> 256	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 256	
agacgcugac cu	12
<210> 257	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 257	
cugcaggcca cc	12
<210> 258	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 258	
gguggccugc ag	12
<210> 259	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 259	
ugcaggccac ca	12
<210> 260	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	

<220><223> RNAi Agent
 <400> 260
 ugguggccug ca 12
 <210> 261
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 261
 gcaggccacc aa 12
 <210> 262
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 262
 ugguggccu gc 12
 <210> 263
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 263
 caggccacca ac 12
 <210> 264
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 264
 guugguggcc ug 12
 <210> 265
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 265
 aggccaccaa ca 12
 <210> 266
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 266
 uguugguggc cu 12
 <210> 267
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 267
 ggccaccaac au 12
 <210> 268
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 268
 auguuggugg cc 12
 <210> 269
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 269
 gccaccaaca uc 12
 <210> 270

<211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 270
 gauguuggug gc 12
 <210> 271
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 271
 ccaccaacau cu 12
 <210> 272
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 272
 agauguuggu gg 12
 <210> 273
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 273
 ggcaugacag ag 12
 <210> 274
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 274
 cucugucaug cc 12

<210> 275
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 275
 gcaugacaga ga 12
 <210> 276
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 276
 ucucugucau gc 12
 <210> 277
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 277
 caugacagag aa 12
 <210> 278
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 278
 uucucuguca ug 12
 <210> 279
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 279
 augacagaga ag 12
 <210> 280
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 280
 cuucucuguc au 12
 <210> 281
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 281
 ugacagagaa gg 12
 <210> 282
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 282
 ccuucucugu ca 12
 <210> 283
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 283
 gacagagaag gc 12
 <210> 284
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 284
 gccuucucug uc 12
 <210> 285
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 285
 acagagaagg ca 12
 <210> 286
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 286
 ugccuucucu gu 12
 <210> 287
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 287
 cagagaaggc ac 12
 <210> 288
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 288
 gugccuucuc ug 12
 <210> 289
 <211> 12

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 289
 agagaaggca cu 12
 <210> 290
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 290
 agugccuucu cu 12
 <210> 291
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 291
 gagaaggcac uu 12
 <210> 292
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 292
 aagugccuuc uc 12
 <210> 293
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 293
 agaaggcacu uc 12

<210> 294
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 294
 gaagugccuu cu 12
 <210> 295
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 295
 gaagcacuu cc 12
 <210> 296
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 296
 ggaagugccu uc 12
 <210> 297
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 297
 aaggcacuuc cu 12
 <210> 298
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 298

aggaagugcc uu 12
 <210> 299
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 299
 aggcacuucc uu 12
 <210> 300
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 300
 aaggaagugc cu 12
 <210> 301
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 301
 cuacagugac ua 12
 <210> 302
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 302
 uagucacugu ag 12
 <210> 303
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 303
 uacagugacu ac 12
 <210> 304
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 304
 guagucacug ua 12
 <210> 305
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 305
 acagugacua ca 12
 <210> 306
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 306
 uguagucacu gu 12
 <210> 307
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 307
 cagugacuac aa 12
 <210> 308
 <211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 308

uuguagucac ug 12

<210> 309

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 309

agugacuaca ac 12

<210> 310

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 310

guuguaguca cu 12

<210> 311

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 311

gugacuacaa ca 12

<210> 312

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 312

uguuguaguc ac 12

<210> 313
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 313
 ugacuacaac ac 12
 <210> 314
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 314
 guguuguagu ca 12
 <210> 315
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 315
 gacuacaaca cg 12
 <210> 316
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 316
 cguguuguag uc 12
 <210> 317
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 317
 acuacaacac ga 12
 <210> 318
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 318
 ucguguugua gu 12
 <210> 319
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 319
 cuacaacacg ac 12
 <210> 320
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 320
 gucguguugu ag 12
 <210> 321
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 321
 uacaacacga cc 12
 <210> 322
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 322
 ggucguguug ua 12
 <210> 323
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 323
 acaacacgac cu 12
 <210> 324
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 324
 aggucguguu gu 12
 <210> 325
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 325
 ggagaaauac ug 12
 <210> 326
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 326
 caguauuucu cc 12
 <210> 327
 <211> 12

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 327
 gagaaauacu gc 12
 <210> 328
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 328
 gcaguauuuc uc 12
 <210> 329
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 329
 agaaauacug ca 12
 <210> 330
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 330
 ugcaguauuu cu 12
 <210> 331
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 331
 gaaauacugc aa 12
 <210> 332

<211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 332
 uugcaguauu uc 12
 <210> 333
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 333
 aaauacugca ac 12
 <210> 334
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 334
 guugcaguau uu 12
 <210> 335
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 335
 aaucugcaa ca 12
 <210> 336
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 336

uguugcagua uu	12
<210> 337	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 337	
auacugcaac aa	12
<210> 338	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 338	
uuguugcagu au	12
<210> 339	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 339	
ucuccauggc ug	12
<210> 340	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	
<220><223> RNAi Agent	
<400> 340	
cagccaugga ga	12
<210> 341	
<211> 12	
<212> RNA	
<213> Artificial	

<220><223> RNAi Agent
 <400> 341
 cuccauggcu ga 12
 <210> 342
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 342
 ucagccaugg ag 12
 <210> 343
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 343
 uccauggcug ac 12
 <210> 344
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 344
 gucagccaug ga 12
 <210> 345
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 345
 ccauggcuga cu 12
 <210> 346
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 346
 agucagccau gg 12
 <210> 347
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 347
 cauggcugac ug 12
 <210> 348
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 348
 cagucagcca ug 12
 <210> 349
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 349
 auggcugacu gg 12
 <210> 350
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 350
 ccagucagcc au 12
 <210> 351

<211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 351
 uggcugacug gc 12
 <210> 352
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 352
 gccagucagc ca 12
 <210> 353
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 353
 auaucacccu ga 12
 <210> 354
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 354
 ucaggugau au 12
 <210> 355
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 355
 uaucaccug ag 12

<210> 356

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 356

cucaggguga ua 12

<210> 357

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 357

aucaccuga gc 12

<210> 358

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 358

gcucagggug au 12

<210> 359

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 359

ucaccugag ca 12

<210> 360

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 360
 ugcucagggg ga 12
 <210> 361
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 361
 caccugagc ag 12
 <210> 362
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 362
 cugcucaggg ug 12
 <210> 363
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 363
 acccugagca gg 12
 <210> 364
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 364
 ccugcucagg gu 12
 <210> 365
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 365
 cccugagcag ga 12
 <210> 366
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 366
 uccugcucag gg 12
 <210> 367
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 367
 ccugagcagg aa 12
 <210> 368
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 368
 uuccugcuca gg 12
 <210> 369
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 369
 cugagcagga ag 12
 <210> 370
 <211> 12

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 370
 cuuccugcuc ag 12
 <210> 371
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 371
 ugagcaggaa gg 12
 <210> 372
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 372
 ccuuccugcu ca 12
 <210> 373
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 373
 uggguggcca gu 12
 <210> 374
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 374
 acuggccacc ca 12

<210> 375
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 375
 ggguggccag uu 12
 <210> 376
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 376
 aacuggccac cc 12
 <210> 377
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 377
 gguggccagu uu 12
 <210> 378
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 378
 aaacugcca cc 12
 <210> 379
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 379

guggccaguu ug 12

<210> 380

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 380

caaacuggcc ac 12

<210> 381

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 381

uggccaguuu gg 12

<210> 382

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 382

ccaacuggc ca 12

<210> 383

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 383

ggccaguuug gc 12

<210> 384

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 384
 gccaaacugg cc 12
 <210> 385
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 385
 gccaguuugg cu 12
 <210> 386
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 386
 agccaaacug gc 12
 <210> 387
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 387
 ccaguuuggc uu 12
 <210> 388
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 388
 aagccaaacu gg 12
 <210> 389
 <211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 389

caguuuggcu uc 12

<210> 390

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 390

gaagccaaac ug 12

<210> 391

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 391

aguuuggcuu cu 12

<210> 392

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 392

agaagccaaa cu 12

<210> 393

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 393

guuuggcuuc ug 12

<210> 394
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 394
 cagaagccaa ac 12
 <210> 395
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 395
 uuuggcuucu gg 12
 <210> 396
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 396
 ccagaagcca aa 12
 <210> 397
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 397
 uuggcuucug ga 12
 <210> 398
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent

<400> 398
 uccagaagcc aa 12
 <210> 399
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 399
 uggcuucugg au 12
 <210> 400
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 400
 auccagaagc ca 12
 <210> 401
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 401
 ggcuucugga ug 12
 <210> 402
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 402
 cauccagaag cc 12
 <210> 403
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 403
 gcuucuggau gg 12
 <210> 404
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 404
 ccauccagaa gc 12
 <210> 405
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 405
 agcuggugga gg 12
 <210> 406
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 406
 ccuccaccag cu 12
 <210> 407
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 407
 gcugguggag gc 12
 <210> 408
 <211> 12

<212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 408
 gccuccacca gc 12
 <210> 409
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 409
 cugguggagg cc 12
 <210> 410
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 410
 ggccuccacc ag 12
 <210> 411
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 411
 ugguggaggc cc 12
 <210> 412
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 412
 gggccuccac ca 12
 <210> 413

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 413

gguggaggcc ca 12

<210> 414

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 414

ugggccucca cc 12

<210> 415

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 415

guggaggccc ac 12

<210> 416

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 416

guggccucc ac 12

<210> 417

<211> 12

<212> RNA

<213> Artificial

<220><223> RNAi Agent

<400> 417

uggaggccca ca 12
 <210> 418
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 418

ugugggccuc ca 12
 <210> 419
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 419

ggaggccac ac 12
 <210> 420
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 420

guguggccu cc 12
 <210> 421
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 421

gaggccaca cc 12
 <210> 422
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial

<220><223> RNAi Agent
 <400> 422
 ggugugggcc uc 12
 <210> 423
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 423
 agccccacac ca 12
 <210> 424
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 424
 uggugugggc cu 12
 <210> 425
 <211> 12
 <212> RNA

 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 425
 ggcccacacc aa 12
 <210> 426
 <211> 12
 <212> RNA
 <213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 426
 ugguguggg cc 12
 <210> 427
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 427
 gcccacacca ac 12
 <210> 428
 <211> 12
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 428
 guuggugugg gc 12
 <210> 429
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 429
 cagugacuac aacacgacc 19
 <210> 430
 <211> 19
 <212> RNA

<213> Artificial
 <220><223> RNAi Agent
 <400> 430
 ggucguguug uagucacug 19