(19)国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 113454222 B
(45)授权公告日 2025.01.14

(21)申请号 201980092566.2
(22)申请日 2019.12.19
(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 113454222 A
(43)申请公布日 2021.09.28
(30)优先权数据
62/781,774 2018.12.19 US
62/862,472 2019.06.17 US
62/928,795 2019.10.31 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.08.19
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/067449 2019.12.19
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2020/132227 EN 2020.06.25
(73)专利权人 阿尼拉制药公司
地址 美国马萨诸塞州
(72)发明人 斯图尔特·米尔斯坦 柯克·布朗 贾亚普拉卡什·奈尔 马丁·迈尔 瓦桑特·贾达夫 马克·基廷 亚当·卡斯托雷诺 帕特里克·哈斯莱特 曼加拉·M·桑达拉潘迪安 凯文·菲茨杰拉德
(74)专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314
专利代理师 程伟
(51)Int.Cl.
*C12N 15/113*(2006.01)
*A61P 25/28*(2006.01)
(56)对比文件
CN 108064154 A,2018.05.22
US 2012252875 A1,2012.10.04
WO 2005003350 A2,2005.01.13
审查员 靳春鹏

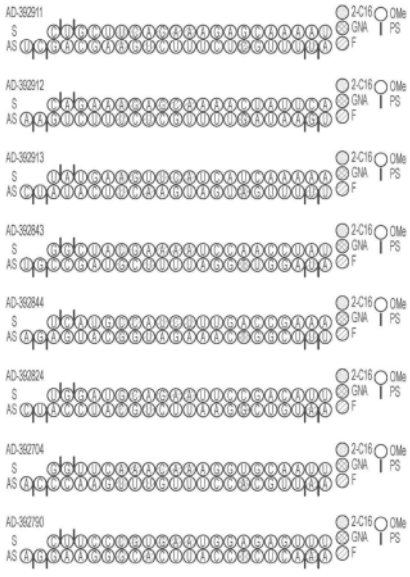
权利要求书4页 说明书249页
序列表（电子公布） 附图44页

(54)发明名称

# 淀粉样前体蛋白(APP)RNAi剂组成物及其使用方法

(57)摘要

本申请有关靶向APP基因的双链核糖核酸(dsRNAi)剂和组成物,以及使用所述dsRNAi剂和组成物抑制APP基因的表达的方法和治疗患有APP相关的疾病或病症的个体的方法,例如,脑淀粉样血管病(CAA)和早发型家族性阿兹海默症(EOFAD或eFAD)。



CN 113454222 B

1.一种抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链核糖核酸(RNAi)剂,其中,所述双链RNAi剂包含正义链和反义链,其中:

(a)所述正义链的核苷酸序列为5'-GGCUACGAAAAUCCAACCUAA-3'(SEQ ID NO:2735),其中,所述正义链与饱和或不饱和的C16烃链结合;以及

(b)所述反义链的核苷酸序列由5'-UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU-3'(SEQ ID NO:2743)的核苷酸序列所组成,

其中,所述正义链的所有核苷酸和所述反义链的所有核苷酸独立地经选自由2'-O-甲基修饰、2'-氟修饰、2'-脱氧修饰、2'-O-十六烷基修饰和乙二醇核酸(GNA)修饰所组成群组的核苷酸修饰进行修饰。

2.根据权利要求1所述的双链核糖核酸(RNAi)剂,其中,所述反义链包含一个或多个结合至一个或多个非末端核苷酸位置的亲脂性部分,任选地,通过连接子或载体。

3.根据权利要求1或2所述的双链RNAi剂,

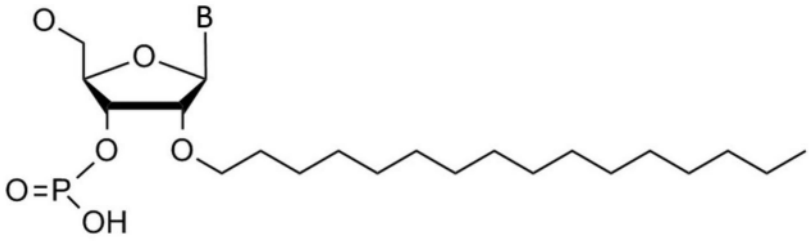
其中,所述核苷酸修饰包括3'末端脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dT)的短序列;

进一步包括至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键合;

其中,所述双链RNAi剂包含6至8个硫代磷酸酯核苷酸间键合;

其中,至少一条链包含至少2个核苷酸的3'突出端;

其中,所述C16烃链是




,

其中,B是核苷酸碱基或核苷酸碱基类似物,

任选地,其中,B选自由腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶和尿嘧啶所组成的群组;

其中,所述C16烃链通过取代所述内部核苷酸位置中的一个或多个核苷酸的载体进行结合,

任选地,其中,所述载体是选自由吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环基、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、喹噁啉基、哒嗪基、四氢呋喃基和十氢萘基;或是基于丝氨醇骨架或二乙醇胺骨架的无环部分所组成的群组的环状基团;

其中,所述C16烃链通过含有醚、硫醚、尿素、碳酸酯、胺、酰胺、马来酰亚胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺酰胺键合、点击反应的产物或氨基甲酸酯的连接子结合至所述双链RNAi剂;

其中,所述C16烃链结合至核碱基、糖部分或核苷间键合;

进一步包含在所述反义链的5'-端处的磷酸酯或磷酸酯类似物,

任选地,其中,所述磷酸酯类似物是5'-乙烯基磷酸酯(VP);

其中,所述C16烃链通过选自由DNA、RNA、二硫化物、酰胺、半乳糖胺的官能化单醣或寡糖、葡萄糖胺、葡萄糖、半乳糖、甘露糖及其组合所组成群组的生物可裂解连接子进行结合;

和/或

其中,所述正义链的3'端通过具有胺的环状基团的端帽保护,所述环状基团选自由吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环基、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、四氢呋喃基和十氢萘基所组成的群组。

4.根据权利要求1或2所述的双链RNAi剂,

其中,所述C16烃链附接至所述正义链的3'端或5'端;

其中,所述剂进一步包含至少一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合,

任选地,其中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的3'-末端,其中,所述链是反义链或所述链是正义链,

任选地,其中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的5'-末端,其中,所述链是反义链或所述链是正义链;和/或

任选地,其中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的5'-和3'-末端。

5.根据权利要求1或2所述的双链核糖核酸(RNAi)剂,

其中,所述正义链的所有核苷酸包含选自由2'-O-甲基的修饰和2'-氟的修饰所组成群组的修饰,

其中,所述正义链在5'-末端包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合,

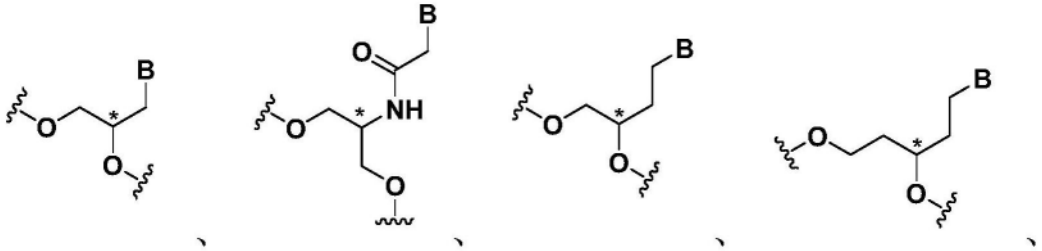
其中,所述反义链的所有核苷酸包含选自由2'-O-甲基修饰和2'-氟修饰所组成群组的修饰,和/或

其中,所述反义链包含位于5'末端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合和位于3'-末端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合。

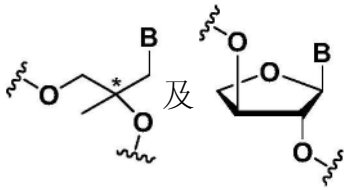
6.根据权利要求1所述的双链RNAi剂,

其中,所述RNAi剂的反义链在5'区域或其前驱物的前9个核苷酸位置中包含双链体的至少一个热不稳定修饰;和/或

任选地,其中,所述RNAi剂包含选自由



及



所组成的群组的双链体的热不稳定修饰,

其中,B是核碱基。

7.根据权利要求1所述的双链RNAi剂,其中,所述正义链为经修饰的5'-gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccusasa-3'(SEQ ID NO:2734)的核苷酸序列,且所述反义链为经修饰的5'-VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu-3'(SEQ ID NO:2742)的核苷酸序列,其中,a、

g、c和u分别为2′-O-甲基(2′-OMe)A、G、C和U;s为硫代磷酸酯键;Uf为2′-氟U;dA、dG和dT分别为2′-脱氧A、G和T;(Chd)为2'-O-十六烷基胞苷-3'-磷酸;(Tgn)为胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体;VP为5'-乙烯基磷酸酯。

8.根据权利要求1所述的RNAi剂,其中,所述正义链由经修饰的5'-gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccusasa-3'(SEQ ID NO:2734)的核苷酸序列所组成;且所述反义链由经修饰的5'-VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu-3'(SEQ ID NO:2742)的核苷酸序列所组成,其中,a、g、c和u分别为2′-O-甲基(2′-OMe)A、G、C和U;s为硫代磷酸酯键;Uf为2′-氟U;dA、dG和dT分别为2′-脱氧A、G和T;(Chd)为2'-O-十六烷基胞苷-3'-磷酸;(Tgn)为胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体;VP为5'-乙烯基磷酸酯。

9.一种包含根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂的细胞。

10.一种抑制APP基因的表达的医药组成物,包含根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂。

11.根据权利要求10所述的医药组成物,其中,所述双链RNAi剂施用至非缓冲溶液中;

其中,所述非缓冲溶液是生理盐水或水;

其中,所述双链RNAi剂与缓冲溶液一起施用,

任选地,其中,所述缓冲溶液包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶蛋白、碳酸盐或磷酸盐或其任何组合;和/或

任选地,其中,所述缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐溶液(PBS)。

12.一种医药组成物,包含根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂,以及脂质制剂,

任选地,其中,所述脂质制剂包含LNP。

13.一种根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂或根据权利要求10至12中任一项所述的医药组成物于制备于体外抑制细胞内淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的药物的用途;或

一种根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂或根据权利要求10至12中任一项所述的医药组成物于制备抑制患有脑淀粉样血管病(CAA)、早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)或阿兹海默症(AD)的个体中APP的表达的药物的用途;或

一种根据权利要求1至8中任一项所述的双链RNAi剂或根据权利要求10至12中任一项所述的医药组成物于制备治疗或预防个体的脑淀粉样血管病(CAA)、早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)或阿兹海默症(AD)的药物的用途。

14.根据权利要求13所述的用途,其中,所述细胞来自患有脑淀粉样血管病(CAA)、早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)或阿兹海默症(AD)的个体,

任选地,其中,所述个体是人类,

任选地,其中,所述个体选自由恒河猴、食蟹猴、小鼠和大鼠所组成的群组,

其中,所述APP的表达被抑制至少约30%;

其中,所述药物的剂量为约0.01mg/kg至约50mg/kg;

其中,所述药物为适用于鞘内施用的形式;

其中,所述药物导致Aβ积累的减少,

任选地,所述药物导致Aβ(1-40)和/或Aβ(1-42)积累的减少;

其中,所述药物导致个体中淀粉样蛋白斑块的形成和/或积累的减少;

其中,所述药物降低脑或脊柱组织中靶基因的表达;和/或

其中,所述脑或脊柱组织选自由皮质、小脑、纹状体、颈椎、腰椎和胸椎所组成的群组。

15.一种于体外抑制细胞内淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的方法,所述方法包括:

(a)将所述细胞与根据权利要求10至12中任一项所述的医药组成物接触;以及

(b)将步骤(a)中产生的所述细胞维持足以获得APP基因的mRNA转录物降解的时间,从而抑制所述APP基因在所述细胞中的表达。

16.根据权利要求15所述的方法,其中,所述APP表达被抑制至少约30%。

# 淀粉样前体蛋白(APP)RNAi剂组成物及其使用方法

## 技术领域

[0001] 本申请大体上有关靶向APP的RNAi剂和方法。

[0002] 序列表

[0003] 本申请包含序列表,其已以ASCII格式以电子方式提交,并通过引用整体并入本文。所述ASCII副本创建于2019年12月18日,名为53433_500WO01_SequenceListing_ST25.txt,大小为632kB。

## 背景技术

[0004] 淀粉样前体蛋白(APP)基因编码在神经元和神经胶质中表达的完整膜蛋白。虽然APP的主要功能尚不清楚,但分泌酶裂解形式的APP——尤其是Aβ裂解形式的APP,例如,Aβ(1-42)(又名Aβ42)和Aβ(1-40)(又名Aβ40)通常被发现为β淀粉样蛋白斑嵌段中的主要蛋白质——长期以来一直被描述为与受影响个体的阿兹海默症(AD)的发展和进展有关。实际上,鉴定个体中的β淀粉样蛋白斑嵌段对于AD的病理诊断是必要的。APP的Aβ裂解形式已被特别描述为在两种AD相关/相关疾病的发展中发挥关键甚至因果作用:脑淀粉样血管病(CAA)和早发型家族性阿兹海默症(EOFAD或eFAD)。

[0005] 用可选择地和有效地抑制APP的剂来抑制APP的表达和/或活性,从而阻断或抑制APP的Aβ裂解形式的产生和/或水平,将有助于预防或治疗多种APP相关疾病和病症,包括AD、CAA和EOFAD等。

[0006] 目前针对APP相关疾病和病症的治疗选择既有限又基本上无效。目前尚无针对遗传性CAA的疗法,且迄今为止已证明对散发型的AD和EOFAD进行治疗的尝试未成功——例如,迄今为止,所有使用BACE1(β-分泌酶)抑制剂治疗散发型AD的试验都失败了(Egan等人,TheNew England Journal of Medicine,378:1691-1703;Hung和Fu.Journal of Biomedical Science,24:47)。同时,许多Aβ导向的免疫疗法正处于不同的发展阶段,而许多人类γ-分泌酶抑制剂计划已因毒性而停止(Selkoe和Hardy.EMBO Molecular Medicine,8:595-608)。迄今为止,APP相关疾病或病症的已批准的药物治疗是针对症状的治疗,而非预防或治愈,此类治疗的疗效有限,特别是当APP相关疾病或病症在受影响的个体中发展时。因此,需要对患有APP相关疾病和病症的个体进行治疗,包括特别需要对患有遗传性CAA和EOFAD的个体进行治疗。

## 发明内容

[0007] 本申请提供影响RNA诱导型沉默复合体(RISC)介导的淀粉样前体蛋白(APP)基因的RNA转录物的切割(cleavage)的RNAi组成物。APP基因可以在细胞内,例如,个体内的细胞,例如,人类。本申请还提供使用本申请的RNAi组成物抑制APP基因的表达和/或治疗将从抑制或减少APP基因的表达中受益的个体的方法,例如,患有或易于患有APP相关疾病的个体,例如,脑淀粉样血管病(CAA)或阿兹海默症(AD),例如,早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。

[0008] 因此,在一方面,本申请提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链核糖核酸(RNAi)剂,其中所述RNAi剂包括正义链和反义链,以及其中所述反义链包括互补的区域,其包括与列于表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、26和30中任一者所列的任一反义序列相差不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸。在某些实施例中,比对(比较)序列之间的胸腺嘧啶对尿嘧啶和/或尿嘧啶对胸腺嘧啶的差异不计入比对(比较)序列之间不同的核苷酸差异。

[0009] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述dsRNA剂包括正义链和反义链,其中,所述正义链包括至少15个连续核苷酸,其与表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、26和30中任一者所列任一正义链序列相差不超过3个核苷酸;以及其中,所述反义链包括至少15个连续核苷酸,其与表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、26和30中所列任一反义链核苷酸序列相差不超过3个核苷酸。

[0010] 在一个实施例中,所述双链RNAi剂的所述正义链和所述反义链中的至少一者包括结合至一个或多个内部核苷酸位置的一个或多个亲脂性部分,任选地,通过连接子或载体。

[0011] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述dsRNA剂包括正义链和反义链,其中,所述正义链包括至少15个连续核苷酸,其与SEQID NOs:1至14的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸,其中,SEQ ID NOs:1至14的任何胸腺嘧啶的尿嘧啶的取代(当比较比对序列时)不算作导致所述与SEQ ID NOs:1至14的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的差异;以及其中,反义链包括至少15个连续核苷酸,其与SEQIDNOs:15至28的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸,其中,SEQIDNOs:15至28的任何胸腺嘧啶的尿嘧啶的取代(当比较比对序列时)不算作导致与SEQIDNOs:15至28的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的差异,其中,正义链和反义链中的至少一者包括结合至一个或多个内部核苷酸位置的一个或多个亲脂性部分,任选地,通过连接子或载体。

[0012] 在一个实施例中,所述双链RNAi剂的所述正义链包括至少15个连续核苷酸,其与AD-392911、AD-392912、AD-392816、AD-392704、AD-392843、AD-392855、AD-392840、AD-392835、AD-392729、AD-392916、AD-392876、AD-392863、AD-392917、AD-392783、AD-392765、AD-392791、AD-392800、AD-392711、AD-392801、AD-392826、AD-392818、AD-392792、AD-392802、AD-392766、AD-392767、AD-392834、AD-392974、AD-392784、AD-392744、AD-392752、AD-392737、AD-392918、AD-392919、AD-392803、AD-392804、AD-392827、AD-392828、AD-392785、AD-392829、AD-392920、AD-392921、AD-392768、AD-392805、AD-392769、AD-392753、AD-392714、AD-392703、AD-392715、AD-392836、AD-392966、AD-392832、AD-392972、AD-392961、AD-392967、AD-392894、AD-392864、AD-392865、AD-392922、AD-392833、AD-392968、AD-392962、AD-392963、AD-392969、AD-392973、AD-392923、AD-392866、AD-392877、AD-392707、AD-392926、AD-392927、AD-392717、AD-392700、AD-392878、AD-392718、AD-392929、AD-392819、AD-392745、AD-392770、AD-392806、AD-392771、AD-392820、AD-392821、AD-392786、AD-392772、AD-392699、AD-392868、AD-392719、AD-392880、AD-392930、AD-392932、AD-392869、AD-392870、AD-392896、AD-392720、AD-392746、AD-392773、AD-392807、AD-392730、AD-392721、AD-392933、AD-392881、AD-392897、AD-392898、AD-392899、AD-392935、AD-392882、AD-392738、AD-392739、AD-392936、AD-392900、AD-392901、AD-392937、AD-392883、AD-392975、AD-392938、AD-392902、AD-392941、AD-392942、AD-392943、AD-392944、

AD-392903、AD-392775、AD-392758、AD-392945、AD-392884、AD-392947、AD-392748、AD-392759、AD-392837、AD-392970、AD-392976、AD-392965、AD-392831、AD-392904、AD-392885、AD-392886、AD-392776、AD-392887、AD-392722、AD-392760、AD-392731、AD-392709、AD-392723、AD-392948、AD-392724、AD-392949、AD-392725、AD-392950、AD-392732、AD-392726、AD-392862、AD-392951、AD-392871、AD-392872、AD-397183、AD-397175、AD-397177、AD-397176、AD-397260、AD-397266、AD-397267、AD-397178、AD-397180、AD-397184、AD-397179、AD-397224、AD-397225、AD-397203、AD-397185、AD-397195、AD-397204、AD-397191、AD-397251、AD-397240、AD-397205、AD-397254、AD-397259、AD-397247、AD-397233、AD-397181、AD-397196、AD-397197、AD-397226、AD-397212、AD-397182、AD-397227、AD-397217、AD-397213、AD-397229、AD-397264、AD-397265、AD-397209、AD-397192、AD-397210、AD-397219、AD-397214、AD-397220、AD-397230、AD-397231、AD-397193、AD-397190、AD-397200、AD-397248、AD-397207、AD-397211、AD-397243、AD-397246、AD-397223、AD-397202、AD-397256、AD-397257、AD-397258、AD-397250、AD-397244、AD-454972、AD-454973、AD-454842、AD-454843、AD-454844、AD-994379、AD-961583、AD-961584、AD-961585或AD-961586双链体的所述正义链核苷酸序列的核苷酸序列相差不超过3个核苷酸。

[0013] 在另一个实施例中,所述双链RNAi剂的所述反义链包括至少15个连续核苷酸,其与AD-392911、AD-392912、AD-392816、AD-392704、AD-392843、AD-392855、AD-392840、AD-392835、AD-392729、AD-392916、AD-392876、AD-392863、AD-392917、AD-392783、AD-392765、AD-392791、AD-392800、AD-392711、AD-392801、AD-392826、AD-392818、AD-392792、AD-392802、AD-392766、AD-392767、AD-392834、AD-392974、AD-392784、AD-392744、AD-392752、AD-392737、AD-392918、AD-392919、AD-392803、AD-392804、AD-392827、AD-392828、AD-392785、AD-392829、AD-392920、AD-392921、AD-392768、AD-392805、AD-392769、AD-392753、AD-392714、AD-392703、AD-392715、AD-392836、AD-392966、AD-392832、AD-392972、AD-392961、AD-392967、AD-392894、AD-392864、AD-392865、AD-392922、AD-392833、AD-392968、AD-392962、AD-392963、AD-392969、AD-392973、AD-392923、AD-392866、AD-392877、AD-392707、AD-392926、AD-392927、AD-392717、AD-392700、AD-392878、AD-392718、AD-392929、AD-392819、AD-392745、AD-392770、AD-392806、AD-392771、AD-392820、AD-392821、AD-392786、AD-392772、AD-392699、AD-392868、AD-392719、AD-392880、AD-392930、AD-392932、AD-392869、AD-392870、AD-392896、AD-392720、AD-392746、AD-392773、AD-392807、AD-392730、AD-392721、AD-392933、AD-392881、AD-392897、AD-392898、AD-392899、AD-392935、AD-392882、AD-392738、AD-392739、AD-392936、AD-392900、AD-392901、AD-392937、AD-392883、AD-392975、AD-392938、AD-392902、AD-392941、AD-392942、AD-392943、AD-392944、AD-392903、AD-392775、AD-392758、AD-392945、AD-392884、AD-392947、AD-392748、AD-392759、AD-392837、AD-392970、AD-392976、AD-392965、AD-392831、AD-392904、AD-392885、AD-392886、AD-392776、AD-392887、AD-392722、AD-392760、AD-392731、AD-392709、AD-392723、AD-392948、AD-392724、AD-392949、AD-392725、AD-392950、AD-392732、AD-392726、AD-392862、AD-392951、AD-392871、AD-392872、AD-397183、AD-397175、AD-397177、AD-397176、AD-397260、AD-397266、AD-397267、AD-397178、AD-397180、AD-397184、AD-397179、AD-397224、AD-397225、AD-397203、AD-397185、AD-397195、AD-397204、AD-397191、AD-

397251、AD-397240、AD-397205、AD-397254、AD-397259、AD-397247、AD-397233、AD-397181、AD-397196、AD-397197、AD-397226、AD-397212、AD-397182、AD-397227、AD-397217、AD-397213、AD-397229、AD-397264、AD-397265、AD-397209、AD-397192、AD-397210、AD-397219、AD-397214、AD-397220、AD-397230、AD-397231、AD-397193、AD-397190、AD-397200、AD-397248、AD-397207、AD-397211、AD-397243、AD-397246、AD-397223、AD-397202、AD-397256、AD-397257、AD-397258、AD-397250、AD-397244、AD-454972、AD-454973、AD-454842、AD-454843、AD-454844、AD-994379、AD-961583、AD-961584、AD-961585或AD-961586双链体的反义核苷酸序列相差不超过3个核苷酸。

[0014] 任选地,所述双链RNAi剂包括至少一种经修饰的核苷酸。

[0015] 在某些实施例中,通过$\log K_{ow}$所测量的所述亲脂性部分的亲脂性超过0。

[0016] 在一些实施例中,通过所述双链RNAi剂的血浆蛋白结合测定中的未结合部分所测量的所述双链RNAi剂的疏水性超过0.2。在相关实施例中,所述血浆蛋白结合测定法使用人类血清白蛋白蛋白质的电泳迁移率变化分析。

[0017] 在某些实施例中,所述正义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0018] 在一些实施例中,所述反义链的实质上所有核苷酸为经修饰的核苷酸。任选地,所述正义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0019] 在某些实施例中,所述反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。任选地,所述正义链的所有核苷酸和反义链的所有核苷酸为经修饰核的苷酸。

[0020] 在一个实施例中,所述经修饰的核苷酸是脱氧核苷酸、3'末端脱氧胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧修饰的核苷酸、锁核苷酸、未锁核苷酸、构型受限核苷酸、受限乙基核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、2'-O-烯丙基修饰的核苷酸、2'-C-烷基修饰的核苷酸、2'-羟基修饰的核苷酸、2'-甲氧基乙基修饰的核苷酸、2'-O-烷基修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯、包含核苷酸的非天然碱基、四氢吡喃修饰的核苷酸、1,5-脱水己糖醇修饰的核苷酸、环己烯基修饰的核苷酸、包含5'-硫代磷酸酯基团的核苷酸、包含5'-磷酸甲酯基团的核苷酸、包含5'磷酸酯或5'的核苷酸磷酸盐类似物的核苷酸、包含乙烯基磷酸酯的核苷酸、包含腺苷-乙二醇核酸(GNA)的核苷酸、包含胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体的核苷酸、包含2-羟甲基-四氢呋喃-5-磷酸的核苷酸、包含2'-脱氧胸苷-3'磷酸酯的核苷酸、包含2'-脱氧鸟苷-3'-磷酸酯的核苷酸,或连接至胆固醇基衍生物和/或十二烷酸双癸酰氨基团的末端核苷酸。

[0021] 在相关的实施例中,所述经修饰的核苷酸是2'-脱氧-2'-氟修饰的核苷酸、2'-脱氧-修饰的核苷酸、3'末端脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dT)、锁核苷酸、无碱基核苷酸、2'-氨基修饰的核苷酸、2'-烷基修饰的核苷酸、吗啉基核苷酸、氨基磷酸酯和/或包含核苷酸的非天然碱基。

[0022] 在一个实施例中,所述经修饰的核苷酸包括3'末端脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dT)的短序列。

[0023] 在另一个实施例中,所述核苷酸上的修饰是2'-O-甲基、2'氟和GNA的修饰。

[0024] 在另外的实施例中,所述双链RNAi剂包括至少一个硫代磷酸酯核苷酸间键合。任选地,所述双链RNAi剂包括6至8个硫代磷酸酯核苷酸间键合。

[0025] 在某些实施例中,所述互补的区域的长度为至少17个核苷酸。任选地,所述互补的

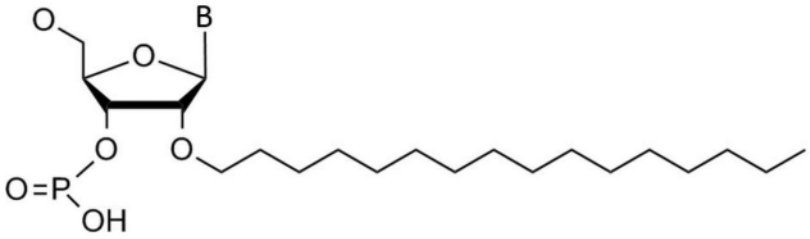
区域的长度为19至23个核苷酸。任选地,所述互补的区域的长度为19个核苷酸。

[0026] 在一个实施例中,每条链的长度不超过30个核苷酸。

[0027] 在另一个实施例中,至少一条链包括至少1个核苷酸的3'突出端。任选地,至少一条链包括至少2个核苷酸的3'突出端。

[0028] 在某些实施例中,所述双链RNAi剂进一步包括C16配体,其通过单价或支链的二价或三价的连接子结合至所述正义链的3'端、5'端或3'端和5'端。

[0029] 在一个实施例中,所述配体是

[0030] 

,

[0031] 其中,B是核苷酸碱基或核苷酸碱基类似物,任选地,其中,B是腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

[0032] 在另一实施例中,所述互补的区域包括表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、26和30中任一者的任一反义序列。

[0033] 在另外的实施例中,所述互补的区域是表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、26和30中任一者的任一反义序列。

[0034] 在一些实施例中,所述内部核苷酸位置包括除了链的每端的末端两个位置之外的所有位置。

[0035] 在相关实施例中,所述内部位置包括除了链的每端的三个末端位置之外的所有位置。任选地,所述内部位置排除正义链的切割位点区域。

[0036] 在一个实施例中,所述内部位置排除从正义链的5'-端开始计数的位置9至12。

[0037] 在另一个实施例中,所述内部位置排除从正义链的3'-端开始计数的位置11至13。任选地,所述内部位置排除反义链的切割位点区域。

[0038] 在一个实施例中,所述内部位置排除从反义链的5'-端开始计数的位置12至14。

[0039] 在另一个实施例中,所述内部位置排除从正义链的3'-端开始计数的位置11至13,以及从反义链的5'端开始计数的第12至14位置。

[0040] 在另外的实施例中,一个或多个亲脂性部分结合至下列内部位置的一个或多个:从每链的5'端开始计数,所述正义链的位置4至8和13至18以及所述反义链的位置6至10和15至18。任选地,一个或多个亲脂性部分结合至下列内部位置的一个或多个:从每链的5'-末端开始计数,所述正义链的位置5、6、7、15和17以及所述反义链的位置15和17。

[0041] 在某些实施例中,所述亲脂性部分是脂肪族、脂环族或多脂环族化合物。任选地,所述亲脂性部分是脂质、胆固醇、视黄酸、胆酸、金刚烷乙酸、1-芘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶基氧基己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕榈酸、肉荳蔻酸、O3-(油酰基)石胆酸、O3-(油酰基)胆酸、二甲氧基三苯甲基或吩噁嗪。

[0042] 在一些实施例中,所述亲脂性部分包含饱和或不饱和的$C_4$至$C_{30}$烃链,以及选自羟基、胺、羧酸、磺酸盐、磷酸盐、硫醇、叠氮化物和/或炔烃的任选的官能基。

[0043] 在某些实施例中,所述亲脂性部分包含饱和或不饱和的$C_6$至$C_{18}$烃链。任选地,所述亲脂性部分包含饱和或不饱和的$C_{16}$烃链。在一相关实施例中,所述亲脂性部分通过取代内部位置中的一个或多个核苷酸的载体进行结合。在某些实施例中,所述载体是环状基团,其为吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环基、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、喹噁啉基、哒嗪基、四氢呋喃基或十氢化萘;或是基于丝氨醇骨架或二乙醇胺骨架的无环部分。

[0044] 在一些实施例中,所述亲脂性部分通过包含醚、硫醚、尿素、碳酸酯、胺、酰胺、马来酰亚胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺酰胺键、点击反应的产物或氨基甲酸酯的连接子结合至双链RNAi剂。

[0045] 在一个实施例中,所述亲脂性部分结合至核碱基、糖部分或核苷间键合。

[0046] 在另一个实施例中,所述双链RNAi剂进一步包括在所述反义链5'-末端处的磷酸酯或磷酸酯类似物。任选地,磷酸酯类似物是5'-乙烯基磷酸酯(VP)。

[0047] 在某些实施例中,所述双链RNAi剂还包括靶向配体,其靶向介导传递至CNS组织的受体。在一个实施例中,所述靶向配体是C16配体。

[0048] 在一些实施例中,所述双链RNAi剂进一步包括靶向脑组织的靶向配体。

[0049] 在一个实施例中,所述亲脂性部分或靶向配体通过生物可裂解连接子进行结合,生物可裂解连接子是DNA、RNA、二硫化物、酰胺、半乳糖胺的官能化单醣或寡糖、葡萄糖胺、葡萄糖、半乳糖、甘露糖及其组合。

[0050] 在相关的实施例中,所述正义链的3'端通过具有胺的环状基团的端帽保护,所述环状基团是吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环基、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、四氢呋喃基或十氢萘基。

[0051] 在一个实施例中,所述RNAi剂包括至少一种经修饰的核苷酸,其为2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、包括乙二醇核酸(GNA)的核苷酸和/或包括乙烯基磷酸酯的核苷酸。任选地,所述RNAi剂包括下列各修饰中的至少一者:2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、包含乙二醇核酸(GNA)的核苷酸和包含乙烯基磷酸酯的核苷酸。

[0052] 在另一个实施例中,所述RNAi剂包括如图1A、图1B、表2A、表5A或表9所示的修饰核苷酸的模式(其中,2'-C16、2'-O-甲基、GNA、硫代磷酸酯和2'-氟修饰的位置如图1A、图1B、表2A、表5A或表9所示,与所展示的RNAi剂的单个核苷酸碱基序列无关)。

[0053] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的部分互补的区域,其中,各链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂是由式(III)表示:

[0054] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0055] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5' (III)

[0056] 其中:

[0057] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0058] p、p'、q和q'各自独立地为0至6;

[0059] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰的核苷酸或其组合的寡核苷酸序列,各序列包括至少两个不同修饰核苷酸;

[0060] $N_b$和$N_b$'各自独立地代表包括0至10个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核苷酸序列;

[0061] 各$n_p$、$n_p$'、$n_q$和$n_q$'各自可能存在或不存在,独立地代表突出端核苷酸;XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸的三个相同修饰的一个基序;

[0062] $N_b$上的修饰不同于Y上的修饰,Nb'上的修饰不同于Y'上的修饰;以及

[0063] 其中,所述正义链与至少一个配体结合。

[0064] 在一个实施例中,i是0;j是0;i是1;j是1;i和j两者均为0;或i和j两者均为1。

[0065] 在另一个实施例中,k是0;l是0;k是1;l是1;k和l两者均为0;或k和l两者均为1。

[0066] 在某些实施例中,XXX与X'X'X'互补,YYY与Y'Y'Y'互补,且ZZZ与Z'Z'Z'互补。

[0067] 在另一个实施例中,所述YYY基序出现在所述正义链的切割位点处或附近。

[0068] 在另外的实施例中,所述Y'Y'Y'基序出现在所述反义链的5'-端的位置11、12和13。任选地,Y'是2'-O-甲基。

[0069] 在一些实施例中,式(III)由式(IIIa)表示:

[0070] 正义:5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3'

[0071] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_a$'-$n_q$'5' (IIIa)

[0072] 在另一个实施例中,式(III)由式(IIIb)表示:

[0073] 正义:5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3'

[0074] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-Z'Z'Z'-$N_a$'-$n_q$'5' (IIIb)

[0075] 其中$N_b$和$N_b$'各自独立地代表包括1至5个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0076] 在另一个实施例中,式(III)由式(IIIc)表示:

[0077] 正义:5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3'

[0078] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-X'X'X'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_a$'-$n_q$'5' (IIIc)

[0079] 其中$N_b$和$N_b$'各自独立地代表包括1至5个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0080] 在某些实施例中,式(III)由式(IIId)表示:

[0081] 正义:5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3'

[0082] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-X'X'X'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-Z'Z'Z'-$N_a$'-$n_q$'5' (IIId)

[0083] 其中,$N_b$和$N_b$'各自独立地代表包括1至5个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列,$N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0084] 在另一个实施例中,所述双链区域的长度为15至30个核苷酸对。任选地,所述双链区域的长度为17至23个核苷酸对。

[0085] 在某些实施例中,所述双链区域的长度为17至25个核苷酸对。任选地,所述双链区域的长度为23至27个核苷酸对。

[0086] 在一些实施例中,所述双链区域的长度为19至21个核苷酸对。任选地,所述双链区域的长度为21至23个核苷酸对。

[0087] 在某些实施例中,每条链具有15至30个核苷酸。任选地,每条链具有19至30个核苷酸。

[0088] 在另一个实施例中,所述RNAi剂的核苷酸修饰是LNA、乙二醇核酸(GNA)、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-烷基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-氟、2'-脱氧和/或2'-羟

基,及其组合。任选地,所述核苷酸的修饰包括2'-O-甲基、2'-氟和/或GNA,及其组合。在相关实施例中,核苷酸上的修饰是2'-O-甲基或2'-氟修饰。

[0089] 在一个实施例中,RNAi剂包括一配体,所述配体是或包括通过二价或三价的支链连接子附接的一个或多个C16部分。

[0090] 在某些实施例中,所述配体附接于正义链的3'端。

[0091] 在一些实施例中,所述RNAi剂进一步包括至少一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合。在相关实施例中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的3'-端。任选地,所述链是反义链。在另一个实施例中,所述链是正义链。在相关实施例中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的5'-末端。任选地,所述链是反义链。在另一个实施例中,所述链是正义链。

[0092] 在另一个实施例中,所述硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于一条链的5'-和3'-末端。任选地,所述链是反义链。在另一个实施例中,所述链是正义链。

[0093] 在另外的实施例中,所述RNAi剂双链体的反义链5'-端的位置1的碱基对是A:U碱基对。

[0094] 在某些实施例中,Y核苷酸含有2'-氟的修饰。

[0095] 在一些实施例中,Y核苷酸含有2'-O-甲基的修饰。

[0096] 在某些实施例中,p'>0。可选地,p'=2。

[0097] 在一些实施例中,q'=0、p=0、q=0,且p'突出端核苷酸与靶向mRNA互补。

[0098] 在某些实施例中,q'=0、p=0、q=0,且p'突出端核苷酸与靶向mRNA不互补。

[0099] 在一个实施例中,所述RNAi剂的正义链总共有21个核苷酸,反义链总共有23个核苷酸。

[0100] 在另一个实施例中,至少一个$n_p$'通过硫代磷酸酯键合与相邻核苷酸连接。任选地,所有$n_p$'都通过硫代磷酸酯键合连接到相邻的核苷酸。

[0101] 在某些实施例中,本申请的所述RNAi剂是表2A、2B、3、5A、5B、6和/或9中所列的任何一者。

[0102] 在一些实施例中,所述正义链的所有核苷酸和所述反义链的所有核苷酸皆包括修饰。

[0103] 本申请的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的部分互补的区域,其中,每条链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂由式(III)表示:

[0104] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0105] 反义:3'

[0106] $n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5' (III)

[0107] 其中:

[0108] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0109] p、p'、q和q'各自独立地为0至6;

[0110] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核苷酸序列,各各序列包括至少两个不同的经修饰的核苷酸;Nb和Nb'各自独立地代表一个寡

核苷酸序列,包括0至10个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸;

[0111] 各$n_p$、$n_p$'、$n_q$和$n_q$'各自可存在或可不存在,独立地代表突出端核苷酸;XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序,其中,修饰为2'-O-甲基或2'-氟的修饰;

[0112] $N_b$上的修饰不同于Y上的修饰,$N_b$'上的修饰不同于Y'上的修饰;以及其中,所述正义链与至少一个配体结合。

[0113] 本申请的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的部分互补的区域,其中,每条链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂由式(III)表示:

[0114] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0115] 反义:3'

[0116] $n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5' (III)

[0117] 其中:

[0118] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0119] 各$n_p$、$n_q$和$n_q$'各自可存在或可不存在,独立地代表突出端核苷酸;

[0120] p、q和q'各自独立地为0至6;

[0121] $n_p$'>0且至少一个np'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻的核苷酸;

[0122] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包括至少两个不同的经修饰的核苷酸;$N_b$和$N_b$'各自独立地代表一个寡核苷酸序列,包括0至10个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸;

[0123] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序,其中,所述修饰为2'-O-甲基、乙二醇核酸(GNA)或2'-氟的修饰;

[0124] $N_b$上的修饰不同于Y上的修饰,$N_b$'上的修饰不同于Y'上的修饰;和其中,所述正义链与至少一个配体结合。

[0125] 本揭露的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的部分互补的区域,其中,每条链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂由式(III)表示:

[0126] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0127] 反义:3'

[0128] $n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5' (III)

[0129] 其中:

[0130] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0131] 各$n_p$、$n_q$和$n_q$'各自可能存在或可能不存在,独立地代表突出端核苷酸;p、q和q'各自独立地为0至6;

[0132] $n_p$'>0且至少一个$n_p$'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻的核苷酸;

[0133] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包括至少两个不同的经修饰的核苷酸;

[0134] $N_b$和$N_b$'各自独立地代表一个寡核苷酸序列,包括0至10个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸;

[0135] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序,其中,所述修饰为2'-O-甲基或2'-氟的修饰;

[0136] $N_b$上的修饰不同于Y上的修饰,$N_b$'上的修饰不同于Y'上的修饰;以及其中,所述正义链与至少一种配体结合,可选地,其中,所述配体是一种或多种C16配体。

[0137] 本揭露的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的部分互补的区域,其中,每条链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂由式(III)表示:

[0138] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0139] 反义:3'

[0140] $n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5' (III)

[0141] 其中:

[0142] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0143] 各$n_p$、$n_q$和$n_q$'各自可存在或可不存在,独立地代表突出端核苷酸;

[0144] p、q和q'各自独立地为0至6;

[0145] $n_p$'>0且至少一个np'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻的核苷酸;

[0146] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包括至少两个不同的经修饰的核苷酸;

[0147] $N_b$和$N_b$'各自独立地代表一个寡核苷酸序列,包括0至10个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸;

[0148] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'、和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序,其中修饰为2′-O-甲基或2′-氟修饰;

[0149] $N_b$上的修饰不同于Y上的修饰,$N_b$'上的修饰不同于Y'上的修饰;

[0150] 其中,所述正义链包括至少一个硫代磷酸酯键合;以及

[0151] 其中,所述正义链与至少一种配体结合,任选地,其中,所述配体是一种或多种C16配体。

[0152] 本申请的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括与反义链互补的正义链,其中,所述反义链包括与编码APP的mRNA的一部分互补的区域,其中,每条链的长度为约14至约30个核苷酸,其中,所述双链RNAi剂由式(III)表示:

[0153] 正义:5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3'

[0154] 反义:3'$n_p$'-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_a$'-$n_q$'5' (IIIa)

[0155] 其中:

[0156] 各$n_p$、$n_q$和$n_q$'各自可存在或可不存在,独立地代表突出端核苷酸;

[0157] p、q和q'各自独立地为0至6;

[0158] $n_p$'>0且至少一个np'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻的核苷酸;

[0159] $N_a$和$N_a$'各自独立地代表包括0至25个经修饰或未经修饰或其组合的核苷酸的寡核

苷酸序列,各序列包括至少两个不同的经修饰的核苷酸;

[0160] YYY和Y'Y'Y'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序,其中修饰为2'-O-甲基或2'-氟的修饰;

[0161] 其中,所述正义链包括至少一个硫代磷酸酯键合;以及

[0162] 其中,所述正义链与至少一种配体结合,任选地,其中,所述配体是一种或多种C16配体。

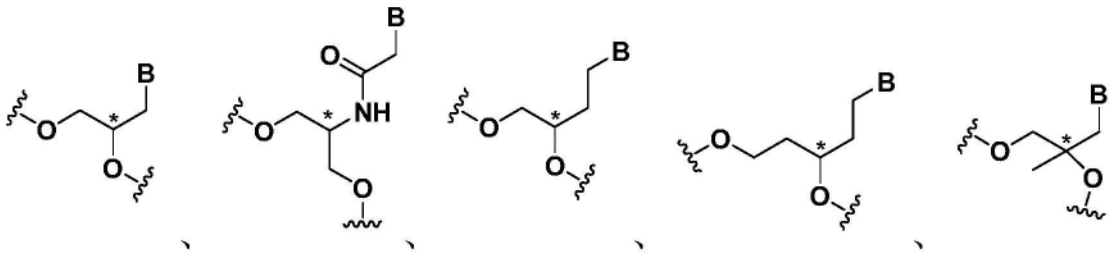
[0163] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括形成双链区域的正义链和反义链,其中,所述正义链包含与SEQ ID NOs:1至14的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,且所述反义链包含与SEQ ID NOs:15至28的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,其中,所述正义链的实质上所有核苷酸都包括2'-O-甲基修饰、GNA和/或2'-氟修饰的修饰,其中,所述正义链在5'末端包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中,所述反义链的实质上所有核苷酸包括选自由2'-O-甲基修饰和2'-氟修饰所组成群组的修饰,其中,所述反义链包括5'末端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合和3'-末端的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合,以及其中,所述正义链与一个或多个C16配体结合。

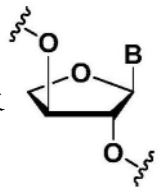
[0164] 本申请的另一方面提供一种抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链RNAi剂,其中,所述双链RNAi剂包括形成双链区域的正义链和反义链,其中,所述正义链包含与SEQ ID NOs:1至14的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸,且所述反义链包含与SEQ ID NOs:15至28的任一核苷酸序列相差不超过3个核苷酸的至少15个连续核苷酸序列,其中,所述正义链包括至少一个3'-末端脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dT),以及其中,所述反义链包括至少一个3'-末端脱氧胸腺嘧啶核苷酸(dT)。

[0165] 在一个实施例中,所述正义链的所有核苷酸和所述反义链的所有核苷酸为经修饰的核苷酸。

[0166] 在另一个实施例中,每条链具有19至30个核苷酸。

[0167] 在某些实施例中,所述RNAi剂的反义链在5'区域或其前驱物的前9个核苷酸位置内包括双链体的至少一个热不稳定修饰。任选地,所述双链体的热不稳定修饰是以下中的一种或多种:

[0168] 

及 

[0169] 其中,B是核碱基。

[0170] 本申请的另一方面提供含有本申请的双链RNAi剂的细胞。

[0171] 本申请的另一方面提供抑制APP基因的表达的医药组成物,其包括本申请的双链RNAi剂。

[0172] 在一个实施例中,所述双链RNAi剂施用至非缓冲溶液中。任选地,所述非缓冲溶液是生理盐水或水。

[0173] 在另一个实施例中,双链RNAi剂与缓冲溶液一起施用。任选地,所述缓冲溶液包括乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶蛋白、碳酸盐或磷酸盐或其任何组合。在另一个实施例中,所述缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐溶液(PBS)。

[0174] 本申请的另一方面提供包含本申请的双链RNAi剂和脂质制剂的医药组成物。

[0175] 在一个实施例中,所述脂质制剂包括LNP。

[0176] 本申请的另一方面提供抑制细胞中淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的方法,所述方法包括:(a)将所述细胞与本申请的所述双链RNAi剂或所述医药组成物接触;(b)将步骤(a)中产生的所述细胞维持足够的时间以获得APP基因的mRNA转录物降解的时间,从而抑制APP基因在细胞中的表达。

[0177] 在一个实施例中,所述细胞在个体中。可选地,个体是人类。

[0178] 在某些实施例中,所述个体是恒河猴、食蟹猴、小鼠或大鼠。

[0179] 在一个实施例中,所述人类个体患有APP相关病症。任选地,所述APP相关病症是脑淀粉样血管病(CAA)。

[0180] 在另一个实施例中,所述APP相关病症是早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。在另一个实施例中,所述APP相关病症是阿兹海默症(AD)。

[0181] 在某些实施例中,所述APP的表达被RNAi剂抑制至少约30%。

[0182] 本申请的另一方面提供治疗患有将受益于所述APP的表达减少的病症的个体的方法,所述方法包括将治疗有效量的本申请的所述双链RNAi剂或所述医药组成物施用至个体,从而治疗所述个体。

[0183] 在某些实施例中,所述方法进一步包括将额外的治疗剂施用至个体。

[0184] 在某些实施例中,所述双链RNAi剂以约0.01mg/kg至约50mg/kg的剂量施用。

[0185] 在一些实施例中,所述双链RNAi剂鞘内施用至个体。

[0186] 在某些实施例中,将所述双链RNAi施用至个体导致Aβ积累减少。任选地,将所述双链RNAi施用至个体导致Aβ(1-40)和/或Aβ(1-42)积累的减少。

[0187] 在相关实施例中,将dsRNA施用至个体导致个体中淀粉样蛋白斑嵌段形成和/或积累的减少。

[0188] 在一个实施例中,所述方法降低脑或脊柱组织中靶基因的表达。任选地,所述脑或脊柱组织是皮质、小脑、纹状体、颈椎、腰椎和/或胸椎。

[0189] 本申请的另一方面提供抑制个体中APP的表达的方法,所述方法包括:将治疗有效量的本申请的双链RNAi剂或本申请的医药组成物施用至个体,从而抑制APP在个体中的表达。

[0190] 本申请的另一方面提供一种治疗或预防个体的APP相关疾病或病症的方法,所述方法包括将治疗有效量的本申请的双链RNAi剂或医药组成物施用至个体,从而治疗或预防个体中的APP相关疾病或病症。

[0191] 在某些实施例中,所述APP相关疾病或病症是脑淀粉样血管病(CAA)和/或阿兹海

默症(AD)。任选地,所述AD是早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。

[0192] 本申请的另一方面提供执行本申请的方法的套组,所述套组包括:a)本申请的双链RNAi剂,和b)使用说明,以及c)任选地,将所述双链RNAi剂施用至个体的装置。

[0193] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链核糖核酸(RNAi)剂,其中,所述RNAi剂具有正义链和反义链,以及其中,所述反义链包括互补的区域,所述互补的区域包括至少15个连续核苷酸,其与AD-392911、AD-392912、AD-392816、AD-392704、AD-392843、AD-392855、AD-392840、AD-392835、AD-392729、AD-392916、AD-392876、AD-392863、AD-392917、AD-392783、AD-392765、AD-392791、AD-392800、AD-392711、AD-392801、AD-392826、AD-392818、AD-392792、AD-392802、AD-392766、AD-392767、AD-392834、AD-392974、AD-392784、AD-392744、AD-392752、AD-392737、AD-392918、AD-392919、AD-392803、AD-392804、AD-392827、AD-392828、AD-392785、AD-392829、AD-392920、AD-392921、AD-392768、AD-392805、AD-392769、AD-392753、AD-392714、AD-392703、AD-392715、AD-392836、AD-392966、AD-392832、AD-392972、AD-392961、AD-392967、AD-392894、AD-392864、AD-392865、AD-392922、AD-392833、AD-392968、AD-392962、AD-392963、AD-392969、AD-392973、AD-392923、AD-392866、AD-392877、AD-392707、AD-392926、AD-392927、AD-392717、AD-392700、AD-392878、AD-392718、AD-392929、AD-392819、AD-392745、AD-392770、AD-392806、AD-392771、AD-392820、AD-392821、AD-392786、AD-392772、AD-392699、AD-392868、AD-392719、AD-392880、AD-392930、AD-392932、AD-392869、AD-392870、AD-392896、AD-392720、AD-392746、AD-392773、AD-392807、AD-392730、AD-392721、AD-392933、AD-392881、AD-392897、AD-392898、AD-392899、AD-392935、AD-392882、AD-392738、AD-392739、AD-392936、AD-392900、AD-392901、AD-392937、AD-392883、AD-392975、AD-392938、AD-392902、AD-392941、AD-392942、AD-392943、AD-392944、AD-392903、AD-392775、AD-392758、AD-392945、AD-392884、AD-392947、AD-392748、AD-392759、AD-392837、AD-392970、AD-392976、AD-392965、AD-392831、AD-392904、AD-392885、AD-392886、AD-392776、AD-392887、AD-392722、AD-392760、AD-392731、AD-392709、AD-392723、AD-392948、AD-392724、AD-392949、AD-392725、AD-392950、AD-392732、AD-392726、AD-392862、AD-392951、AD-392871、AD-392872、AD-397183、AD-397175、AD-397177、AD-397176、AD-397260、AD-397266、AD-397267、AD-397178、AD-397180、AD-397184、AD-397179、AD-397224、AD-397225、AD-397203、AD-397185、AD-397195、AD-397204、AD-397191、AD-397251、AD-397240、AD-397205、AD-397254、AD-397259、AD-397247、AD-397233、AD-397181、AD-397196、AD-397197、AD-397226、AD-397212、AD-397182、AD-397227、AD-397217、AD-397213、AD-397229、AD-397264、AD-397265、AD-397209、AD-397192、AD-397210、AD-397219、AD-397214、AD-397220、AD-397230、AD-397231、AD-397193、AD-397190、AD-397200、AD-397248、AD-397207、AD-397211、AD-397243、AD-397246、AD-397223、AD-397202、AD-397256、AD-397257、AD-397258、AD-397250、AD-397244AD-454972、AD-454973、AD-454842、AD-454843、AD-454844、AD-994379、AD-961583、AD-961584、AD-961585或AD-961586的反义链核碱基序列中的任一者相差不超过3个核苷酸。

[0194] 在一个实施例中,所述RNAi剂包括以下修饰中的一种或多种:2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-C-烷基修饰的核苷酸、包含乙二醇核酸(GNA)、硫代磷酸酯

(PS)和乙烯基磷酸酯(VP)的核苷酸。任选地,所述RNAi剂包括以下各修饰中的至少一者:2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-C-烷基修饰的核苷酸、包含乙二醇核酸(GNA)、硫代磷酸酯和乙烯基磷酸酯(VP)的核苷酸。

[0195] 在另一个实施例中,所述RNAi剂包括四个或多个PS修饰,任选地,六至十个PS修饰,任选地,八个PS修饰。

[0196] 在另一个实施例中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包括5'-末端和3'-末端,以及,所述RNAi剂包括位于RNAi剂的每个正义链和反义链的3'-和5'-末端的倒数第二个和最后一个核苷酸间键合处的八个PS修饰。

[0197] 在另一个实施例中,RNAi剂的每个正义链和反义链中包括5'-末端和3'-末端,以及,所述RNAi剂仅包括一种包括GNA的核苷酸。任选地,所述包括GNA的核苷酸位于反义链的5'-末端的第七个核碱基残基位置的反义链上。

[0198] 在另外的实施例中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包括5'-末端和3'-末端,以及,所述RNAi剂包括一个和四个之间的2'-C-烷基修饰的核苷酸。任选地,2'-C-烷基修饰核苷酸是2'-C16-修饰的核苷酸。任选地,所述RNAi剂包括单个2'-C16修饰的核苷酸。任选地,所述单个2'-C16修饰的核苷酸位于所述正义链上的5'末端的第六个核碱基位置的正义链上或5'端的末端核碱基位置。

[0199] 在另一个实施例中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包括5'末端和3'末端,以及,所述RNAi剂包括两个或多个2'-氟修饰核苷酸。任选地,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包含两个或多个2'-氟修饰的核苷酸。任选地,所述2'-氟修饰的核苷酸位于所述正义链的5'-末端的核碱基位置7、9、10和11的正义链上以及反义链的5'-末端的核碱基位置2、14和16的反义链上。

[0200] 在另外的实施例中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包括5'-末端和3'-末端,以及,所述RNAi剂包括一个或多个VP修饰。任选地,所述RNAi剂在所述反义链的5'-末端包括单个VP修饰。

[0201] 在另一个实施例中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链各自包括5'末端和3'末端,以及,所述RNAi剂包括两个或多个2'-O-甲基修饰的核苷酸。任选地,所述RNAi剂在未经2'-氟、2'-C-烷基或乙二醇核酸(GNA)修饰的所有核碱基位置包括2'-O-甲基修饰的核苷酸。任选地,两个或多个2'-O-甲基修饰的核苷酸位于所述正义链5'末端的位置1、2、3、4、5、8、12、13、14、15、16、17、18、19、20和21的正义链上以及反义链5'末端的位置1、3、4、5、6、8、9、10、11、12、13、15、17、18、19、20、21、22和23的反义链上。

[0202] 本申请的另一方面提供抑制淀粉样前体蛋白(APP)基因的表达的双链核糖核酸(RNAi)剂,其中,所述RNAi剂包括正义链和反义链,以及其中,所述反义链包括至少15个连续核碱基的长度的区域,其与APP NM_00484位置1891至1919;APP NM_00484位置2282至2306;APP NM_00484位置2464至2494;APP NM_00484位置2475至2638;APP NM_00484位置2621至2689;APP NM_00484位置2682至2725;APP NM_00484位置2705至2746;APP NM_00484位置2726至2771;APP NM_00484位置2754至2788;APP NM_00484位置2782至2813;APP NM_00484位置2801至2826;APP NM_00484位置2847至2890;APP NM_00484位置2871至2896;APP NM_00484位置2882至2960;APP NM_00484位置2942至2971;APP NM_00484位置2951至3057;APP NM_00484位置3172至3223;APP NM_00484位置3209至3235;NM_00484位置3256至3289;

NM_00484位置3302至3338;APP NM_00484位置3318至3353;APP NM_00484位置3334至3361,APP NM_001198823.1位置251至284;APP NM_001198823.1位置362至404;APP NM_001198823.1位置471至510;APP NM_001198823.1位置532至587;APP NM_001198823.1位置601至649;APP NM_001198823.1位置633至662;APP NM_001198823.1位置1351至1388;APP NM_001198823.1位置1609至1649;APP NM_001198823.1位置1675至1698;APP NM_001198823.1位置1752至1787;APP NM_001198823.1位置2165至2217;APP NM_001198823.1位置2280至2344或APP NM_001198823.1位置2403至2431的靶向APP序列充分互补,以影响APP敲除,且在与所述靶向APP序列充分互补以影响APP敲除的所述至少15个连续核碱基中相差不超过3个核苷酸。

[0203] 本申请的另一方面提供一种双链RNAi剂,其包含选自由2'-O-甲基修饰核苷酸、2'-氟修饰核苷酸、2'-C-烷基修饰核苷酸、包含乙二醇核酸(GNA)、硫代磷酸酯(PS)和乙烯基磷酸酯(VP)的核苷酸所组成群组的一个或多个修饰,任选地,其中,所述RNAi剂包含选自由2'-O-甲基修饰的核苷酸、2'-氟修饰的核苷酸、2'-C-烷基修饰的核苷酸、包含乙二醇核酸(GNA)、硫代磷酸酯和乙烯基磷酸酯(VP)的核苷酸所组成群组的各修饰中的至少一者。

[0204] 本申请的另一方面提供所述RNAi剂包含四个或多个PS修饰,任选地,六至十个PS修饰,任选地,八个PS修饰。

[0205] 本申请的另一方面提供所述RNAi剂的每个正义链和反义链包含5'-末端和3'-末端,以及其中,RNAi剂包含八个位于RNAi剂的正义和反义链的各自的3'-和5'-末端的倒数第二个和最后一个核苷酸间键合处。

[0206] 本申请的另一方面提供所述RNAi剂的每个正义链和反义链包含5'-末端和3'-末端,以及其中,所述RNAi剂仅包含一个包含GNA的核苷酸,任选地,其中,所述包含GNA的核苷酸位于反义链的5'-末端的第七个核碱基残基位置的反义链上。

[0207] 本申请的另一方面提供RNAi剂的每个正义链和反义链包含5'-末端和3'-末端,以及其中,所述RNAi剂包含一个和四个之间的2'-C-烷基修饰的核苷酸,任选地,其中,所述2'-C-烷基修饰核苷酸是2'-C16-修饰的核苷酸,任选地,其中,所述RNAi剂包含单个2'-C16-修饰的核苷酸,任选地,所述单个2'-C16修饰的核苷酸位于正义链的5'-末端的第六个核碱基的位置或5'端的末端核碱基位置的正义链上。

[0208] 本申请的另一方面提供RNAi剂的每个正义链和反义包含5'-末端和3'-末端,以及其中,所述RNAi剂包含两个或多个2'-氟修饰的核苷酸,任选地,其中,所述RNAi剂的每个正义链和反义链包含两个或多个2'-氟修饰的核苷酸,任选地,其中,所述2'-氟修饰的核苷酸位于正义链的5'-末端的核碱基位置7、9、10和11的正义链上以及反义链的5'-末端的核碱基位置2、14和16的反义链上。

[0209] 本申请的另一方面提供RNAi剂的每个正义链和反义链包含5'-末端和3'-末端,以及其中RNAi剂包含一个或多个VP修饰,任选地,其中,所述RNAi剂在反义链的5'-末端包含单个VP修饰。

[0210] 本申请的另一方面提供RNAi剂的每个正义链和反义链包含5'-末端和3'-末端,以及其中,所述RNAi剂包含两个或多个2'-O-甲基修饰的核苷酸,任选地,其中,所述RNAi剂在未经2'-氟、2'-C-烷基或乙二醇核酸(GNA)修饰的所有核碱基位置处包含2'-O-甲基修饰的核苷酸,任选地,其中,两个或多个2'-O-甲基修饰的核苷酸位于正义链的5'-末端的位置1、

2、3、4、5、8、12、13、14、15、16、17、18、19、20和21的正义链上,以及从反义链的5'-末端的位置1、3、4、5、6、8、9、10、11、12、13、15、17、18、19、20、21、22和23的反义链上。

## 附图说明

[0211] 通过实例的方式给出以下的详细描述,但不旨在将本申请仅限制于所描述的特定实施例,结合附图可以最好地理解,其中:

[0212] 图1A和图1B示出针对体内hsAPP敲除活性测试的经修饰的RNAi剂的示意图。

[0213] 图2A和图2B示出对图1A和图1B中所示的经修饰的RNAi剂观察到的体内hsAPP敲除活性结果。

[0214] 图3A示出在靶向遗传性脑淀粉样血管病(hCAA)中有效的人类APP(hAPP)siRNA的鉴定策略的方案。

[0215] 图3B是Be(2)C细胞中浓度为10nM的hAPP siRNA的体外内源性筛选中剩余mRNA百分比的图。

[0216] 图4A是说明在BE(2)C神经元细胞中APP siRNA转染的时间的示意图。APP siRNA以10、1和0.1nM转染,并在转染后24和48小时进行评估。

[0217] 图4B示出APP双链体siRNA的应用浓度与转染后48小时对BE(2)C细胞中剩余mRNA百分比的图。

[0218] 图4C是转染48小时后BE(2)C细胞上清液中可溶性APPα(顶部)和β(底部)物质的两张图。

[0219] 图5A示出APP siRNA非人类灵长类(NHP)筛选研究设计的方案。评估5种化合物,每个实验使用5只动物。在开始时给予单次鞘内(IT)注射72mg的标靶化合物。

[0220] 图5B是将72mg的AD-454972靶向APP对食蟹猴进行IT给药后,BE(2)C(底部)中可溶性APPα(顶部)和β(底部)物质的两张图。

[0221] 图5C示出于食蟹猴中72mg的AD-454972靶向APP的IT给药后第29天组织mRNA敲除的结果。

[0222] 图5D示出靶向APP的AD-454972化合物的结构的示意图(顶部)和示出于食蟹猴中72mg的AD-454972靶向APP的IT给药后第29天,组织中AD-454972化合物传递水平的表格(底部)。

[0223] 图6是示出于食蟹猴中72mg的AD-454972靶向APP的IT给药后2至3个月收集的CSF可溶性APPα和β(顶部)以及CSFβ淀粉样蛋白(底部)的结果的两张图。

[0224] 图7A是示出于食蟹猴中72mg的AD-454842靶向APP的IT给药后,在第8、15和29天收集并分析可溶性APPα和β(顶部)和淀粉样蛋白β38、40和42(底部)的CSF结果的两张图。

[0225] 图7B示出于食蟹猴中72mg的AD-454842靶向APP的IT给药后第29天的组织中AD-454842化合物传递水平的表格。

[0226] 图8A是示出于食蟹猴中72mg的AD-454843靶向APP的IT给药后,在第8、15和29天收集的CSF结果并分析可溶性APPα和β(顶部)和淀粉样蛋白β38、40和42(底部)的两张图。

[0227] 图8B示出于食蟹猴中72mg的AD-454843靶向APP的IT给药后第29天的组织mRNA敲除的结果。

[0228] 图8C是示出于食蟹猴中72mg的AD-454843靶向APP的IT给药后第29天组织中的AD-

454843化合物传递水平的表格。

[0229] 图9A是示出于食蟹猴中72mg的AD-454843靶向APP的IT给药后2至3个月收集的CSF可溶性APPα和β(顶部)以及CSFβ淀粉样蛋白(底部)的结果的两张图。

[0230] 图9B示出于食蟹猴中72mg的AD-454843靶向APP的IT给药后第85天的组织mRNA敲除的结果。

[0231] 图10A是示出于食蟹猴中72mg的AD-454844靶向APP的IT给药后,在第8、15和29天收集并分析可溶性APPα和β(顶部)和淀粉样蛋白β38、40和42(底部)的结果的两张图。

[0232] 图10B示出于食蟹猴中72mg的AD-454844靶向APP的IT给药后第29天的组织mRNA敲除的结果。

[0233] 图10C示出靶向APP的AD-454844化合物的结构的示意图(顶部)和示出于食蟹猴中72mg的AD-454844靶向APP的IT给药后第29天组织中AD-454844化合物传递水平的表(底部)。

[0234] 图11A是示出于食蟹猴中72mg的靶向APP的siRNA的IT给药后第29天在组织中的高水平化合物传递的表格。

[0235] 图11B示出在高水平(图11A)靶向APP的化合物传递的对食蟹猴进行IT给药后第29天组织mRNA敲除的结果的图。

[0236] 图11C是示出于食蟹猴中72mg的靶向APP对食蟹猴进行IT给药后的高水平化合物传递(图11A)在第8、15和29天收集并分析可溶性APPα和β(顶部)和淀粉样蛋白β38、40和42(底部)的CSF结果的两张图。

[0237] 图12A是示出5个miRNA双链体研究的平均值的两张图。上图是5种化合物于食蟹猴中IT给药后第29天在72mg的siRNA中对食蟹猴的结果的箱线图。下图是于食蟹猴中IT给药后29天每个组织中剩余的mRNA量相对于对照组的箱线图。

[0238] 图12B是示出重复的miRNA双链体研究的两张图,72mg靶向APP的siRNA化合物于食蟹猴中IT给药后,其中在第8、15和29天收集CSF并分析可溶性APPα和β(顶部)和淀粉样蛋白β38、40和42(底部)。

[0239] 图13A示出靶向APP的AD-454972于食蟹猴中IT给药后29天纹状体组织中剩余APP mRNA百分比。

[0240] 图13B示出在靶向APP的AD-454973于食蟹猴中IT给药后29天纹状体组织中剩余APP mRNA百分比。

[0241] 图13C示出在靶向APP的AD-454842于食蟹猴中IT给药后29天纹状体组织中剩余APP mRNA百分比。

[0242] 图13D示出在靶向APP的AD-454843于食蟹猴中IT给药后29天纹状体组织中剩余APP mRNA百分比。

[0243] 图13E示出在靶向APP的AD-454844于食蟹猴中IT给药后29天纹状体组织中剩余APP mRNA百分比。

[0244] 图14A和图14B是针对小鼠体内hsAPP敲除活性筛选具有富含AU的种子的经修饰的RNAi剂的示意图。

[0245] 图15示出用富含AU的种子处理的AAV8.HsAPP-CDS3TRNC小鼠肝脏中的%hs APP敲除。图中包含PBS、Naïve和AD-392927(RLD592)对照组。

[0246] 图16A至16D是针对AAV小鼠体内hsAPP敲除活性筛选的经经修饰的先导RNAi剂的示意图。

[0247] 图17A和图17B是描绘用先导寡核苷酸处理的AAV8.HsAPP-CDS3TRNC小鼠肝脏中的％hsAPP敲除的图。图中包含PBS和Naïve，对照组。

[0248] 图18A至18D是在AAV小鼠中针对体内hsAPP敲除活性进行筛选且分别基于AD-886864亲本(图18A)、AD-886899亲本(图18B)、AD-886919亲本(图18C)和AD-886823亲本(图18D)分组为家族的经修饰的先导RNAi剂的示意图。

[0249] 图19是展示AD-454844 4个月研究的APP敲除非人类灵长类动物(NHP)筛选研究设计的方案，其中，在开始时向食蟹猴单次鞘内(IT)注射60mg的目标化合物。

[0250] 图20A至20G显示来自C16 siRNA结合物的体内筛选的资料，包括亲本AD-454855和源自AD-454855的结构活性关系研究的另外5种siRNA结合物。图描绘鞘内施用60mg的每种化合物后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。图20A是AD-454844给药4个月后对于两名非人类的灵长类个体的可溶性APPα和β的图。图20B示出在AD-454844施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。图20C示出在5’末端C16siRNA结合物AD-994379施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比的图。图20D示出在AD-961583施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。图20E示出在AD-961584施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。图20F示出在AD-961585施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。图20G示出在AD-961586施用后第8、15和19天从CSF收集的可溶性APPα和β百分比。

[0251] 图21A和21B是针对非人类灵长类动物体内APP敲除活性筛选的C16经修饰的先导RNAi剂的示意图。图21A是亲本内部C16RNAi剂AD-454844和5’末端C16 siRNA剂AD-994379的示意图。图21B是RNAi剂AD-961583、AD-961584、AD-961585和AD-961586的示意图。

## 具体实施方式

[0252] 本申请提供RNAi组成物，其影响淀粉样前体蛋白(APP)基因的RNA转录物的RNA诱导型缄默化复合体(RISC)介导的裂解。APP基因可以在细胞内，例如，个体内的细胞，例如人类内的细胞。本申请还提供使用本申请的RNAi组成物抑制APP基因的表达和/或治疗患有疾病的个体的方法，所述疾病将受益于抑制或降低APP基因的表达，例如，APP相关疾病，例如脑淀粉样血管病(CAA)或阿兹海默症(AD)，例如早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。

[0253] 本申请的RNAi剂包括具有约30个核苷酸或更小的长度的区域的RNA链(反义链)，例如15至30、15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个核苷酸长度，所述区域与APP基因的mRNA转录物的至少一部分基本互补。

[0254] 在某些实施例中，本申请的RNAi剂包括RNA链(反义链)，其可以包括更长的长度，例如多达66个核苷酸，例如36至66、26至36、25至36、31至60、22至43、27至53个核苷酸长度，具有至少19个连续核苷酸的区域，所述区域与APP基因的mRNA转录物的至少一部分基本互

补。这些具有较长反义链的RNAi剂优选包括长度为20至60个核苷酸的第二条RNA链(正义链),其中正义链和反义链形成18至30个连续核苷酸的双链体。

[0255] 这些RNAi试剂的使用能够在哺乳动物中靶向降解APP基因的mRNA。特别是非常低剂量的APP RNAi试剂可以特异性和有效地介导RNA干扰(RNAi),从而显著抑制APP基因的表现。使用基于细胞的测定,本发明人已经证明靶向APP的RNAi试剂可以介导RNAi,导致APP基因表现的显著抑制。因此,包含这些RNAi试剂的方法和组成物可治疗将受益于APP蛋白水平和/或活性降低的个体,例如患有APP相关疾病,例如CAA或AD的个体,包括例如EOFAD。

[0256] 以下详细描述公开瞭如何制备和使用含有RNAi试剂的组成物来抑制APP基因的表现,以及治疗患有将受益于所述基因表现的抑制和/或减少的疾病和病症的个体的组成物和方法。

[0257] I.定义

[0258] 为了可以更容易地理解本申请,首先定义某些术语。此外,应当注意,无论何时引用参数的值或值的范围,都旨在将所引用的值中间的值和范围也旨在成为本申请的一部分。

[0259] 冠词“一个(a)”和“一个(an)”在本文中用于指代冠词的一个或多个(即,至少一个)语法对象。举例来说,“一个元素”是指一个元素或多于一个元素,例如复数个元素。

[0260] 术语“包括”在本文中用于表示短语“包括但不限于”,且可以与短语“包括但不限于”互换使用。术语“或”在本文中用于表示术语“和/或”并且可与术语“和/或”互换使用,除非上下文另有明确指示。

[0261] 术语“约”在本文中用于表示在本领域的典型公差范围内。例如,“约”可以理解为与平均值相差约2个标准差。在某些实施例中,约是指±10%。在某些实施例中,约是指±5%。当大约出现在一系列数字或范围之前时,可以理解“大约”可以修饰所述系列或范围中的每个数字。

[0262] 数字或一系列数字之前的术语“至少”被理解为包括与术语“至少”相邻的数字,以及逻辑上可以包括的所有后续数字或整数,从上下文清楚。例如,核酸分子中核苷酸的数目必须是整数。例如,“21个核苷酸的核酸分子的至少18个核苷酸”是指18、19、20或21个核苷酸具有指定的特性。当至少存在于一系列数字或范围之前时,应理解“至少”可以修饰所述系列或范围中的每个数字。

[0263] 如本文所用,“不大于”或“小于”被理解为与短语相邻的值和逻辑较低的值或整数,从上下文到零是逻辑上的。例如,具有“不超过2个核苷酸”的突出端的双链体具有2、1或0个核苷酸的突出端。当“不超过”出现在一系列数字或范围之前,可以理解为“不超过”可以修饰所述系列或范围中的每个数字。

[0264] 术语“APP”淀粉样蛋白前驱蛋白(APP),也称为β淀粉样蛋白前驱蛋白、阿兹海默症淀粉样蛋白和脑血管淀粉样肽等,具有来自任何脊椎动物或哺乳动物来源的胺基酸序列,包括但不限于人类、牛、鸡、嚙齿动物、小鼠、大鼠、猪、绵羊、灵长类动物、猴和豚鼠,除非另有说明。所述术语还指维持天然APP(包括,例如,β-淀粉样肽(1-40)、β-淀粉样肽(1-38)的至少一种体内或体外活性的天然APP的片段和变体)和β-淀粉样肽(1-42)形式的Aβ肽等),包括维持具有神经毒性特征的APP片段的一种或多种活性的APP片段的变体(例如,明确涵盖维持神经毒性特征的Aβ42肽的变体形式)。所述术语包括APP的全长未加工前驱物形式以

及由信号肽的翻译后裂解产生的成熟形式。所述术语还包括通过进一步裂解从APP衍生的肽,包括例如Aβ肽。人类APP的核苷酸和氨基酸序列可以在例如GenBank登录号GI:228008405(NM_201414;SEQ ID NO:1)中找到。人类APP的核苷酸和氨基酸序列也可以在例如GenBank登录号GI:228008403(NM_000484.3;SEQ ID NO:2)、GenBank登录号GI:228008404(NM_201413.2、SEQ ID NO:3)、GenBank登录号GI:324021746(NM_001136016.3、SEQ ID NO:4)、GenBank登录号GI:228008402(NM_001136129.2、SEQ ID NO:5)、GenBank登录号GI:228008401(NM_001136130.2、SEQ ID NO:6)、GenBank登录号GI:324021747(NM_001136131.2、SEQ ID NO:7)、GenBank登录号GI:324021737(NM_001204301.1、SEQ ID NO:8)、GenBank登录号GI:324021735(NM_001204302.1、SEQ ID NO:9);和GenBank登录号GI:324021739(NM_001204303.1、SEQ ID NO:10)、和GenBank登录号GI:1370481385(XM_024452075.1、SEQ ID NO:11)中找到。

[0265] 食蟹猴APP的核苷酸和氨基酸序列可以在例如GenBank登录号GI:982237868(XM_005548883.2;SEQ ID NO:12)中找到。小鼠APP的核苷酸和氨基酸序列可以在例如GenBank登录号GI:311893400(NM_001198823;SEQ ID NO:13)中找到。大鼠APP的核苷酸和氨基酸序列可以在例如GenBank登录号GI:402692725(NM_019288.2;SEQ ID NO:14)中找到。使用公开可用的资料库,例如GenBank、UniProt和OMIM,可以轻松获得APP序列的其他实例。

[0266] 如本文所用,术语“APP”还指通过APP基因的天然存在的DNA序列变异,例如APP基因中的单核苷酸多态性,在细胞中表达的特定多肽。APP基因内的许多SNP已被鉴定并且可以在例如NCBIdbSNP(参见例如www.ncbi.nlm.nih.gov/snp)中找到。APP基因内的SNP的非限制性实例可以在NCBI dbSNP登录号rs193922916、rs145564988、rs193922916、rs214484、rs281865161、rs364048、rs466433、rs466448、rs532876832、rs63749810、rs63749964、rs63750064、rs63750066、rs63750151、rs63750264、rs63750363、rs63750399、rs63750445、rs63750579、rs63750643、rs63750671、rs63750734、rs63750847、rs63750851、rs63750868、rs63750921、rs63750973、rs63751039、rs63751122和rs63751263中找到。在Hooli等人(Neurology 78:1250-57)中鉴定了先前已描述在EOFAD的发展中起作用的某些实例性稀有APP变体。此外,最近发现,在测序的cDNA中包含外显子内连接的各种“非经典”APP变体与AD患者大脑中体细胞基因重组的发生有关(PCT/US2018/030520,其全部内容通过引用并入本文)。此类“非经典”APP变体的实例包括cAPP-R3/16(SEQ ID NO:1865)、cAPP-R3/16-2(SEQ ID NO:1866)、cAPP-R2/18(SEQ ID NO:1867)、cAPP-R6/18(SEQ ID NO:1868)、cAPP-R3/14(SEQ ID NO:1869)、cAPP-R3/17(SEQ ID NO:1870)、cAPP-R1/11(SEQ ID NO:1871)、cAPP-R1/13(SEQ ID NO:1872)、cAPP-R1/11-2(SEQ ID NO:1873)、cAPP-R1/14(SEQ ID NO:1874)、cAPP-R2/17(SEQ ID NO:1875)、cAPP-R2/16(SEQ ID NO:1876)、cAPP-R6/17(SEQ ID NO:1877)、cAPP-R2/14(SEQ ID NO:1878)、cAPP-R14/17-d8(SEQ ID NO:1879)和cAPP-D2/18-3(SEQ ID NO:1880)。明确预期本申请的RNAi剂可用于靶向“非经典”APP变体和/或可设计和使用任选地对此类“非经典”APP变体具有特异性的RNAi剂,任选地与本申请的其他RNAi剂,包括靶向天然形式的APP的那些。这种“非经典”的APP变体被描述为在检测的HIV患者群体中明显不存在,与预期水平相比,HIV患者群体中AD的患病率显著降低,这表明逆转录酶抑制剂和/或其他抗逆转录病毒药物通常治疗HIV患者的疗法也可能对AD发挥治疗/预防作用。因此,明确预期本申请的RNAi剂可以任选地与逆转录酶抑制剂和/或其他抗逆转录

病毒疗法组合使用,治疗和/或预防目的。

[0267] 如本文所用,“靶序列”是指在APP基因转录期间形成的mRNA分子的核苷酸序列的连续部分,包括作为初级转录产物的RNA加工产物的mRNA。在一个实施例中,序列的靶标部分将至少足够长以用作在APP基因转录期间形成的mRNA分子的核苷酸序列部分处或附近进行RNAi定向裂解的底物。

[0268] 靶序列的长度可为约9至36个核苷酸,例如,长度为约15至30个核苷酸。例如,靶序列的长度可为约15至30个核苷酸、15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24,20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个核苷酸。上述所记载的范围和长度的中间范围和长度也被认为是本申请的一部分。

[0269] 如本文所用,术语“包含序列的链”是指包含由使用标准核苷酸命名法提及的序列描述的核苷酸链的寡核苷酸。

[0270] “G”、“C”、“A”、“T”和“U”各自通常代表分别含有鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷和尿嘧啶作为碱基的核苷酸。然而,应当理解,术语“核糖核苷酸”或“核苷酸”也可以指经修饰的核苷酸,如下文进一步详述,或替代替代部分(参见例如表1)。本领域技术人员非常清楚鸟嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸苷和尿嘧啶可以被其他部分替换,而不会显著改变包含带有这种替换部分的核苷酸的寡核苷酸的碱基配对特性。例如但不限于,包含肌苷作为其碱基的核苷酸可以与包含腺嘌呤、胞嘧啶或尿嘧啶的核苷酸进行碱基配对。因此,包含尿嘧啶、鸟嘌呤或腺嘌呤的核苷酸可以在本申请内容中表征的dsRNA的核苷酸序列中被包含例如肌苷的核苷酸替换。在另一个例子中,寡核苷酸中任何地方的腺嘌呤和胞嘧啶可以分别替换为鸟嘌呤和尿嘧啶,以形成与靶mRNA的G-U摆动碱基配对。含有此类置换部分的序列适用于本申请内容中的组成物和方法。

[0271] 术语“iRNA”、“RNAi剂”、“iRNA剂”、“RNA干扰剂”在本文中可互换使用,是指包含本文定义的所述术语的RNA并且介导RNA转录物的靶向裂解的剂通过RNA诱导型缄默化复合体(RISC)途径。RNA干扰(RNAi)是指导mRNA序列特异性降解的制程。RNAi调节,例如,抑制APP在细胞中的表达,例如个体内的细胞,例如哺乳动物个体。

[0272] 在一个实施例中,本申请内容的RNAi剂包括与靶RNA序列例如APP靶mRNA序列相互作用以指导靶RNA的裂解的单链RNAi。不希望受理论束缚,据信引入细胞的长双链RNA被称为Dicer的III型核酸内切酶分解为包含正义链和反义链的双链短干扰RNA(siRNA)(Sharp等人,(2001)Genes Dev.15:485)。Dicer,一种核糖核酸酶III样酶,将这些dsRNA加工成19至23个碱基对的短干扰RNA,具有特征性的两个碱基3’突出端(Bernstein等人,,(2001)Nature 409:363)。然后将这些siRNA整合到RNA诱导型缄默化复合体(RISC)中,其中一个或多个解旋酶解开siRNA双链体,使互补反义链能够引导靶识别(Nykanen等人,(2001)Cell 107:309)。在与合适的靶标mRNA结合后,RISC中的一种或多种内切核酸酶裂解靶标以诱导沉默(Elbashir,等人,(2001)Genes Dev.15:188)。因此,在一方面,本申请内容有关在细胞内产生的单链RNA(ssRNA)(siRNA双链体的反义链)并且其促进RISC复合物的形成以实现靶

基因的沉默,即APP基因。因此,术语“siRNA”在本文中也用于指代如上所述的RNAi。

[0273] 在另一个实施例中,RNAi剂可以是引入细胞或生物体中以抑制靶mRNA的单链RNA。单链RNAi剂与RISC核酸内切酶Argonaute 2结合,然后裂解靶mRNA。单链siRNA通常有15至30个核苷酸并经过化学修饰。美国专利号8,101,348和Lima等人,(2012)Cell150:883-894中描述了单链RNA的设计和测试,其各自的全部内容通过引用并入本文。本文所述的任何反义核苷酸序列均可用作本文所述的单链siRNA或通过Lima等人,(2012)Cell 150:883-894中所述的方法化学修饰。

[0274] 在另一个实施例中,用于本申请的组成物和方法的“RNAi剂”是双链RNA并且在本文中被称为“双链RNAi剂”、“双链RNA(dsRNA)分子”、“dsRNA剂”或“dsRNA”。术语“dsRNA”是指核糖核酸分子的复合物,具有包含两条反平行且基本互补的核酸链的双链体结构,被称为相对于靶RNA具有“正义”和“反义”方向,即,一个APP基因。在本申请的一些实施例中,双链RNA(dsRNA)通过本文称为RNA干扰或RNAi的转录后基因沉默机制触发靶RNA(例如mRNA)的降解。

[0275] 一般而言,dsRNA分子的每条链的许多核苷酸是核糖核苷酸,但如本文详细描述的,每条或两条链还可以包括一个或多个非核糖核苷酸,例如脱氧核糖核苷酸和/或经修饰的核苷酸。此外,如本说明书中所用,“RNAi剂”可包括具有化学修饰的核糖核苷酸;RNAi剂可能包括多个核苷酸的大量修饰。如本文所用,术语“经修饰的核苷酸”是指独立地具有修饰的糖部分、经修饰的核苷酸间键合和/或经修饰的核碱基的核苷酸。因此,术语经修饰的核苷酸包括对核苷间键合、糖部分或核碱基的例如官能基或原子的取代、添加或去除。适用于本申请的剂的修饰包括本文公开的或本领域已知的所有类型的修饰。出于本说明书和权利要求的目的,在siRNA类型分子中使用的任何此类修饰都包含在“RNAi剂”中。

[0276] 在本申请的某些实施例中,如果在RNAi剂中存在脱氧核苷酸,其被认为是天然存在的核苷酸形式,则可以被认为构成经修饰的核苷酸。

[0277] 双链体区域可以是允许通过RISC途径特异性降解所需靶标RNA的任何长度,并且长度可以为约9至36个碱基对,例如长度为约15至30个碱基对,例如约9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35或36个碱基对的长度,例如约15至30、15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24、20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个碱基对的长度。上述所记载的范围和长度的中间范围和长度也被认为是本申请的一部分。

[0278] 形成双链体结构的两条链可以是一个较大RNA分子的不同部分,或者其可以是单独的RNA分子。如果两条链是一个较大分子的一部分,因此在一条链的3’末端和相应的另一条链的5’末端之间通过不间断的核苷酸链连接,形成双链结构,则连接RNA链被称为“发夹茎环(hairpin loop)”。发夹茎环可包含至少一个未配对的核苷酸。在一些实施例中,发夹茎环可包含至少2个、至少3个、至少4个、至少5个、至少6个、至少7个、至少8个、至少9个、至少10个、至少20个、至少23个或更多未配对的核苷酸。在一些实施例中,发夹茎环可以是10

个或更少的核苷酸。在一些实施例中,发夹茎环可以是8个或更少的未配对核苷酸。在一些实施例中,发夹茎环可以是4至10个未配对的核苷酸。在一些实施例中,发夹茎环可为4至8个核苷酸。

[0279] 当dsRNA的两条基本上互补的链由单独的RNA分子组成时,这些分子不需要,但可以共价连接。在其中两条链通过不同于形成双链体结构的一条链的3'末端和相应另一条链的5'末端之间的不间断核苷酸链的方式共价连接的某些实施例中,连接结构被称为作为"连接子"(尽管注意本文别处定义的某些其他结构也可称为"连接子")。RNA链可以具有相同或不同数量的核苷酸。碱基对的最大数量是dsRNA最短链中的核苷酸数量减去双链体中存在的任何突出端。除了双链体结构之外,RNAi还可以包含一个或多个核苷酸突出端。在RNAi剂的一个实施例中,至少一条链包含至少1个核苷酸的3'突出端。在另一个实施例中,至少一条链包含至少2个核苷酸的3'突出端,例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸。在其他实施例中,RNAi剂的至少一条链包含至少1个核苷酸的5'突出端。在某些实施例中,至少一条链包含至少2个核苷酸的5'突出端,例如2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14或15个核苷酸。在其他实施例中,RNAi剂的一条链的3'末端和5'末端均包含至少1个核苷酸的突出端。

[0280] 在一个实施例中,本申请内容的RNAi剂是dsRNA,其每条链包含19至23个核苷酸,其与靶RNA序列例如APP靶mRNA序列相互作用以指导靶RNA的裂解。不希望受理论束缚,引入细胞的长双链RNA经称为Dicer的III型核酸内切酶分解成siRNA(Sharp等人,(2001)Genes Dev.15:485)。Dicer,一种核糖核酸酶III样酶,将dsRNA加工成19至23个碱基对的短干扰RNA,具有特征性的两个碱基3'突出端(Bernstein等人,(2001)Nature 409:363)。后将siRNA整合到RNA诱导型缄默化复合体(RISC)中,其中一个或多个解旋酶解开siRNA双链体,使互补反义链能够引导靶识别(Nykanen等人,(2001)Cell 107:309)。在与合适的靶标mRNA结合后,RISC中的一种或多种内切核酸酶裂解靶标以诱导沉默(Elbashir等人,(2001)Genes Dev.15:188)。

[0281] 如本文所用,术语"核苷酸突出端"是指从RNAi剂例如dsRNA的双链体结构突出的至少一个未配对核苷酸。例如,当dsRNA一条链的3'末端延伸超出另一条链的5'末端时,反之亦然,则存在核苷酸突出端。dsRNA可以包含至少一个核苷酸的突出端;或者,突出端可包含至少两个核苷酸、至少三个核苷酸、至少四个核苷酸、至少五个核苷酸或更多。核苷酸突出端可包含核苷酸/核苷类似物或由其组成,包括脱氧核苷酸/核苷。突出端可以在正义链、反义链或其任何组合上。此外,突出端的核苷酸可存在于dsRNA的反义链或正义链的5'末端、3'末端或两端。

[0282] 在一个实施例中,dsRNA的反义链在3'末端和/或5'末端具有1-10个核苷酸,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出端。在一个实施例中,dsRNA的正义链在3'末端和/或5'末端具有1-10个核苷酸,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出端。在另一个实施例中,突出端中的一个或多个核苷酸被核苷硫代磷酸酯替换。

[0283] 在某些实施例中,dsRNA的反义链具有1至10个核苷酸在3'末端和/或5'末端,例如0至3、1至3、2至4、2至5、4至10、5至10,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出端。在一个实施例中,dsRNA的正义链在3'末端和/或5'末端具有1至10个核苷酸,例如1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸的突出端。在另一个实施例中,突出端中的一个或多个核苷酸被核苷

硫代磷酸酯替换。

[0284] 在某些实施例中,正义链或反义链或两者上的突出端可包括比10个核苷酸长的延伸长度,例如1至30个核苷酸、2至30个核苷酸、10至30个核苷酸或10至15个核苷酸长度。在某些实施例中,延伸的突出端位于双链体的正义链上。在某些实施例中,延伸的突出端存在于双链体正义链的3’末端。在某些实施例中,延伸的突出端存在于双链体正义链的5’末端。在某些实施例中,延伸的突出端位于双链体的反义链上。在某些实施例中,延长的突出端存在于双链体反义链的3’末端。在某些实施例中,延长的突出端存在于双链体的反义链的5’末端。在某些实施例中,突出端中的一个或多个核苷酸被核苷硫代磷酸酯替换。在某些实施例中,突出部包括自互补部分,使得突出部能够形成在生理条件下稳定的发夹结构。

[0285] 如本文所用,关于dsRNA的术语“平端(blunt)”或“平末端”是指在dsRNA的给定末端没有未配对的核苷酸或核苷酸类似物,即没有核苷酸突出端。dsRNA的一端或两端可以是平的。如果dsRNA的两端都是平端,则称所述dsRNA是平端的。需要明确的是,“平端”dsRNA是两端都是平端的dsRNA,即分子的任一端都没有核苷酸突出端。大多数情况下,这样的分子在其整个长度上都是双链的。

[0286] 术语“反义链”或“引导链”是指RNAi剂的链,例如dsRNA,其包括与靶序列例如APP mRNA基本互补的区域。

[0287] 如本文所用,术语“互补的区域”是指反义链上与本文定义的序列例如靶序列例如APP核苷酸序列基本上互补的区域。当互补的区域与靶序列不完全互补时,错配可能位于分子的内部或末端区域。通常,最可容忍的错配位于末端区域,例如在RNAi剂5’-和/或3’末端的5、4、3或2个核苷酸内。

[0288] 如本文所用,术语“正义链”或“随从链”是指RNAi剂的链,其包括与本文定义的所述术语的反义链区域基本互补的区域。

[0289] 如本文所用,术语“切割区”是指紧邻切割位点的区域。切割位点是靶上发生裂解的末端。在一些实施例中,切割区在切割位点的任一端且紧邻切割位点包含三个碱基。在一些实施例中,切割区在切割位点的任一端且紧邻切割位点包含两个碱基。在一些实施例中,切割位点特异性地出现在由反义链的核苷酸10和11结合的末端处,并且切割区包含核苷酸11、12和13。

[0290] 如本文所用,除非另有说明,术语“互补”在用于描述与第二核苷酸序列相关的第一核苷酸序列时,是指包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸杂交并形成核苷酸序列的能力。如本领域技术人员将理解的,在某些条件下具有包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸的双链体结构。例如,此类条件可以是严格条件,其中严格条件可以包括:400mM NaCl、40mM PIPES pH 6.4、1mM EDTA、50℃或70℃12至16小时,然后洗涤(参见例如“Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Sambrook等人,(1989)Cold Spring Harbor Laboratory Press”)。可以应用其他条件,例如在生物体内可能遇到的生理相关条件。本领域技术人员将能够根据杂交核苷酸的最终应用确定最适合测试两个序列互补性的条件集。

[0291] RNAi剂内的互补序列,例如本文所述的dsRNA内的互补序列,包括包含第一核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸与包含第二核苷酸序列的寡核苷酸或多核苷酸在一个或两个核苷酸序列的全长上的碱基配对。此类序列在本文中可被称为彼此“完全互补”。然而,当第一序列相对于本文中的第二序列被称为“基本互补”时,这两个序列可以是完全互补的,或

者其可以形成一个或多个,但对于多达30个碱基对的双链体,杂交时通常不超过5、4、3或2个错配碱基对,同时保留在与其最终应用最相关的条件下杂交的能力,例如,通过RISC途径抑制基因的表达。然而,当两个寡核苷酸被设计为在杂交时形成一个或多个单链突出端时,这种突出端在互补性的确定方面不应被视为错配。例如,包含一个长度为21个核苷酸的寡核苷酸和另一个长度为23个核苷酸的寡核苷酸的dsRNA,其中较长的寡核苷酸包含与较短的寡核苷酸完全互补的21个核苷酸的序列,对于此处描述的目的。

[0292] 如本文所用,“互补”序列还可以包括或完全由非沃森-克里克碱基对和/或由非天然和经修饰的核苷酸形成的碱基对,只要上述关于他们的杂交能力得到了满足。这种非Watson-Crick碱基对包括但不限于G:U Wobble或Hoogstein碱基对。

[0293] 本文中的术语“互补”、“完全互补”和“基本互补”可用于dsRNA的正义链和反义链之间的碱基匹配,或RNAi剂的反义链和靶序列之间的碱基匹配,正如将从其使用上下文中理解的那样。

[0294] 如本文所用,“与信使RNA(mRNA)的至少一部分基本互补”的多核苷酸是指与感兴趣的mRNA(例如,编码APP的mRNA)的连续部分基本互补的多核苷酸。例如,如果序列与编码APP的mRNA的非中断部分基本互补,则多核苷酸与APP mRNA的至少一部分互补。

[0295] 因此,在一些实施例中,本文公开的反义链多核苷酸与靶APP序列完全互补。在其他实施例中,本文公开的反义链多核苷酸与靶APP序列基本互补并包含连续核苷酸序列,所述序列在其全长上与SEQ ID NO:1至14的核苷酸序列的等效区域至少互补约80%,或与SEQ ID NO:1至14的片段互补,例如约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%。

[0296] 在其他实施例中,本文揭露的反义多核苷酸与靶APP序列基本上互补并包含连续核苷酸序列,所述序列在其全长上与表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B或26中任一项中的任一条正义链核苷酸序列至少约80%互补,或与表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B或26中任一项中的正义链核苷酸序列中任一项的片段互补,例如约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%。

[0297] 在一个实施例中,本申请的RNAi剂包括与反义多核苷酸基本上互补的正义链,反义多核苷酸又与靶APP序列相同,以及其中,正义链多核苷酸包含在其全长上与SEQ ID NOs:15至28或SEQ ID NOs:15至28中任一项的片段的核苷酸序列的等效区域至少约80%互补的连续核苷酸序列,例如约85%、约86%、约87%、约88%、约89%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%或约99%互补。

[0298] 在一个实施例中,APP基因的表达的至少部分抑制是通过APP mRNA的量的减少来评估的,APP mRNA可以从其中转录APP基因的第一细胞或细胞组中分离或检测到,且已经或已经被处理使得APP基因的表达被抑制,与第一细胞或细胞组基本相同但已经或未经如此处理的第二细胞或细胞组(对照细胞)相比.抑制程度可以表示为:

[0299] $$\frac{(\text{对照组细胞中的mRNA}) - (\text{治愈细胞中的mRNA})}{(\text{对照组细胞中的mRNA})} \bullet 100\%$$

[0300] 如本文所用,短语“使细胞与RNAi剂接触”,例如dsRNA,包括通过任何可能的方式

接触细胞。使细胞与RNAi剂接触包括使细胞在体外与RNAi剂接触或在体内将细胞与RNAi剂接触。接触可以直接或间接进行。因此,例如,可以通过执行所述方法的个体将RNAi剂与细胞进行物理接触,或者,可以将RNAi剂置于允许或导致其随后与细胞接触的情况中。

[0301] 体外接触细胞可以例如通过将细胞与RNAi剂一起温育来进行。体内接触细胞可以例如通过将RNAi剂注射到细胞所在的组织中或附近,或通过将RNAi剂注射到另一个区域,例如中枢神经系统(CNS),任选地通过鞘内注射、玻璃体内注射或其他注射,或注射到血流或皮下空间,从而使药剂随后到达待接触细胞所在的组织。例如,RNAi剂可以包含和/或结合到配体,例如亲脂性部分或如下所述和进一步详述的部分,例如在美国申请号62/668,072、62/738,747和/或62/773,082,在感兴趣的末端例如CNS引导和/或以其他方式稳定RNAi剂。体外和体内接触方法的组合也是可能的。例如,细胞也可以在体外与RNAi剂接触,随后移植到个体中。

[0302] 在一个实施例中,使细胞与RNAi剂接触包括通过促进或影响摄取或吸收到细胞中来“引入”或“将RNAi剂传递到细胞中”。RNAi剂的吸收或摄取可通过独立的扩散或活性细胞制程,或通过辅助剂或装置发生。将RNAi剂引入细胞可以在体外和/或体内。例如,对于体内引入,可以将RNAi剂注射到组织部位或全身施用。体外引入细胞包括本领域已知的方法,例如电穿孔和脂质转染。进一步的方法在下文中描述和/或在本领域中是已知的。

[0303] 术语“亲脂体”或“亲脂性部分”泛指对脂质具有亲和力的任何化合物或化学部分。表征亲脂性部分亲脂性的一种方法是通过辛醇-水分配系数$\log K_{ow}$,其中$K_{ow}$是平衡状态下两相系统中化学物质在辛醇相中的浓度与其在水相中的浓度之比.辛醇-水分配系数是实验室测量的物质特性。然而,其也可以通过使用归因于化学物质结构成分的系数来预测,这些系数是使用第一原理或经验方法计算的(例如,参见Tetko等人,J.Chem.Inf.Comput.Sci.41:1407-21(2001),其全部内容通过引用并入本文)。其提供物质倾向于非水或油性环境而不是水(即其亲水/亲油平衡)的趋势的热力学测量。原则上,当$\log K_{ow}$超过0时,化学物质具有亲脂性。通常,亲脂性部分具有超过1、超过1.5、超过2、超过3、超过4、超过5或超过10的$\log K_{ow}$。例如,6-氨基己醇的$\log K_{ow}$预计约为0.7。使用相同的方法,预测胆固醇N-(己基-6-醇)氨基甲酸酯的$\log K_{ow}$为10.7。

[0304] 分子的亲脂性可以根据其携带的官能基而改变。例如,在亲脂性部分的末端添加羟基或氨基可以增加或减少亲脂性部分的分配系数(例如,$\log K_{ow}$)值。

[0305] 或者,与一个或多个亲脂性部分结合的双链RNAi剂的疏水性可以通过其蛋白质结合特性来测量。例如,在某些实施例中,可以确定双链RNAi剂的血浆蛋白结合测定中的未结合部分与双链RNAi剂的相对疏水性正相关,然后可以与沈默活性正相关双链RNAi剂。

[0306] 在一个实施例中,所确定的血浆蛋白结合测定法是使用人类血清白蛋白蛋白质的电泳迁移率变化分析(EMSA)。这种结合测定的实例性方案在例如美国申请号62/668,072、62/738,747和/或62/773,082中有详细说明。双链RNAi剂的疏水性,通过结合测定中未结合的siRNA的分数来测量,超过0.15、超过0.2、超过0.25、超过0.3、超过0.35、超过0.4、超过0.45或超过0.5,以增强siRNA的体内传递。

[0307] 因此,将亲脂性部分与双链RNAi剂的内部位置结合为增强的siRNA体内传递提供最佳疏水性。

[0308] 术语“脂质奈米颗粒”或“LNP”是包含脂质层的囊泡,脂质层包封药物活性分子,例

如核酸分子,例如rNAi剂或RNAi剂从其转录的质粒。LNP在例如美国专利号6,858,225、6,815,432、8,158,601和8,058,069中有所描述,其全部内容通过引用并入本文。

[0309] 如本文所用,“个体”是动物,例如哺乳动物,包括灵长类动物(例如人类、非人类灵长类动物,例如猴子和黑猩猩)、非灵长类动物(例如牛、猪、骆驼、美洲驼、马、山羊、兔子、绵羊、仓鼠、豚鼠、猫、狗、老鼠、老鼠、马和鲸鱼)或鸟(例如,鸭子或鹅)。在一个实施例中,个体是人类,例如正在治疗或评估将受益于APP的表达减少的疾病、病症或病况的人类;有可能受益于APP表达减少的疾病、病症或病况的人类;患有可从APP表达减少中受益的疾病、病症或病况的人类;和/或因如本文所述的APP的表达降低而受益的疾病、病症或病况治疗的人类。

[0310] 如本文所用,术语“治疗”或“疗法”是指有益的或期望的结果,包括但不限于减轻或改善与APP基因的表达和/或APP蛋白产生相关的一种或多种症状,例如APP-相关疾病或病症例如AD、CAA(例如,遗传性CAA)和EOFAD等。“治疗”还可以指与不进行治疗时的预期存活期相比延长存活期。

[0311] 在个体的APP水平或疾病标志物或症状的上下文中,术语“较低”是指所述水平在统计学上显著降低。降低可以是例如至少10%、至少15%、至少20%、至少25%、至少30%、至少35%、至少40%、至少45%、至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或更多。在某些实施例中,降低至少为20%。个体中APP水平的上下文中的“较低”优选下降至没有这种病症的个体的正常范围内可接受的水平。

[0312] 如本文所用,当“预防”或“防止”用于指疾病、病症或其病况时,将受益于APP基因的表达和/或APP蛋白产生的减少,是指减少个体出现与此类疾病、病症或病况相关的症状的可能性,例如APP基因的表达的症状,例如各种形式的Aβ(例如Aβ38、Aβ40和/或Aβ42等)的存在.)、淀粉样斑嵌段和/或脑淀粉样血管病(CAA)或阿兹海默症(AD),包括例如早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。未能发展疾病、病症或病症,或与此类疾病、病症或病况相关的症状的发展减少(例如,在临床上接受的所述疾病或病症的量表上减少至少约10%),或延迟症状的表达(例如,延迟数天、数周、数月或数年)被认为是有效的预防。

[0313] 如本文所用,术语“APP相关疾病”是由APP基因的表达或APP蛋白产生引起或与之相关的疾病或病症。术语“APP相关疾病”包括以下疾病、病症或病症将受益于APP基因的表达、复制或蛋白质活性的降低。APP相关疾病的非限制性实例包括例如脑淀粉样血管病(CAA)和阿兹海默症(AD),包括例如早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。

[0314] 如本文所用,“治疗有效量”旨在包括RNAi剂的量,当施用于患有APP相关病症的个体时,足以实现疾病的治疗(例如,通过减少、改善或维持现有疾病或疾病的一种或多种症状)。“治疗有效量”可以根据RNAi剂、剂的施用方式、疾病及其严重程度和病史、年龄、体重、家族史、基因组成、先前或伴随治疗的类型(如果有的话)以及待治疗对象的其他个体特征而变化。

[0315] 如本文所用,“预防有效量”旨在包括当给予患有APP相关病症的个体时足以预防或改善所述疾病或所述疾病的一种或多种症状的RNAi剂的量.改善疾病包括减缓疾病的进程或降低后来发展的疾病的严重程度。“预防有效量”可能因RNAi剂、剂的施用方式、疾病风险程度以及病史、年龄、体重、家族史、基因组成、先前或伴随治疗的类型以及待治疗患者的

任何和其他个体特征而变化。

[0316] “治疗有效量”或“预防有效量”还包括以适用于任何治疗的合理益处/风险比产生一些所需局部或全身作用的RNAi剂的量。在本申请内容的方法中使用的RNAi剂可以以足以产生适用于此类治疗的合理益处/风险比的量施用。

[0317] 本文使用的短语“药学上可接受的”是指那些在合理医学判断范围内适用于与人类个体和动物个体的组织接触的化合物、材料、组成物和/或剂型。与合理的收益/风险比相称的过度毒性、刺激、过敏反应或其他问题或并发症。

[0318] 如本文所用,短语“药学上可接受的载体”是指药学上可接受的材料、组成物或赋形剂,例如液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、制造助剂(例如,润滑剂、滑石镁、硬脂酸钙或锌,或硬脂酸)或溶剂包封材料,参与将主题化合物从一个器官或身体的一部分携带或运输到另一个器官或身体的一部分。在与制剂的其他成分相容并且对所治疗的个体无害的意义上,每种载体必须是“可接受的”。可用作药学上可接受的载体的材料的一些实例包括:(1)糖类,例如乳糖、葡萄糖和蔗糖;(2)淀粉,如玉米淀粉、马铃薯淀粉;(3)纤维素及其衍生物,如羧甲基纤维素钠、乙基纤维素、醋酸纤维素等;(4)黄芪胶粉;(5)麦芽;(6)明胶;(7)润滑剂,如镁态(magnesium state)、十二烷基硫酸钠、滑石粉等;(8)赋形剂,可可脂、栓剂蜡等;(9)油类,如花生油、棉籽油、红花油、香油、橄榄油、玉米油、豆油等;(10)二醇类,如丙二醇;(11)多元醇,如甘油、山梨醇、甘露醇、聚乙二醇等;(12)酯类,油酸乙酯、月桂酸乙酯等;(13)琼脂;(14)缓冲剂,如氢氧化镁、氢氧化铝等;(15)海藻酸;(16)无热原水;(17)等渗盐水;(18)林格氏液;(19)乙醇;(20)pH缓冲溶液;(21)聚酯、聚碳酸酯和/或聚酐;(22)填充剂,如多肽和氨基酸。(23)血清成分,如血清白蛋白、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL);(22)其他用于药物制剂的无毒相容物质。

[0319] 如本文所用,术语“样品”包括从个体分离的类似流体、细胞或组织的集合,以及存在于个体体内的流体、细胞或组织。生物流体的实例包括血液、血清和浆液、血浆、脑脊液、眼液、淋巴液、尿液、唾液等。组织样本可包括来自组织、器官或局部区域的样本。例如,样品可以来自特定器官、器官的部分或那些器官内的流体或细胞。在某些实施例中,样品可以源自脑(例如,全脑或脑的某些部分或脑中的某些类型的细胞,例如神经元和神经胶质细胞(星形胶质细胞、少突胶质细胞、小胶质细胞)。在一些实施例中,“来自个体的样品”是指从个体抽取的血液或血浆。在进一步的实施例中,“源自个体的样品”是指源自个体的脑组织(或其亚组分)或视网膜组织(或其亚组分)。

[0320] II.揭露的RNAi剂

[0321] 本文描述抑制APP基因的表达的RNAi剂。在一个实施例中,RNAi剂包括抑制APP基因在细胞中表达的双链核糖核酸(dsRNA)分子,例如个体体内的细胞,例如哺乳动物,例如具有APP相关性的人类病症,例如脑淀粉样血管病(CAA)或阿兹海默症(AD),包括例如早发型家族性阿兹海默症(EOFAD)。dsRNA包括具有互补的区域的反义链,所述互补的区域与在APP基因的表达中形成的mRNA的至少一部分互补。互补的区域的长度为约30个核苷酸或更短(例如,约30、29、28、27、26、25、24、23、22、21、20、19或18个核苷酸或更短的长度)。在与表达APP基因的细胞接触时,RNAi剂抑制APP基因(例如,人类、灵长类动物、非灵长类动物或鸟类APP基因)的表达至少约10%,例如通过,例如,基于PCR或支链DNA(bDNA)的方法,或基于蛋白质的方法,例如通过免疫荧光分析,使用例如蛋白质印迹或流式细胞术技术。

[0322] dsRNA包括两条互补的RNA链,其在使用dsRNA的条件下杂交形成双链体结构。dsRNA的一条链(反义链)包括与靶序列基本互补且通常完全互补的互补的区域。靶序列可以来源于APP基因的表达制程中形成的mRNA序列。另一条链(正义链)包括与反义链互补的区域,使得当在合适的条件下组合时,两条链杂交并形成双链体结构。如本文别处所述和本领域已知的,dsRNA的互补序列也可以作为单个核酸分子的自身互补的区域包含在内,而不是在单独的寡核苷酸上。

[0323] 双链体结构的长度通常在15和30个碱基对之间,例如在15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24,20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个碱基对之间的长度。在某些优选的实施例中,双链体结构的长度在18至25个碱基对之间,例如18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至25、20至24,20至23、20至22、20至21、21至25、21至24、21至23、21至22、22至25、22至24、22至23、23至25、23至24或24至25个碱基对的长度。上述所记载的范围和长度的中间范围和长度也被认为是本申请的一部分。

[0324] 类似地,与靶序列互补的区域的长度在15至30个核苷酸之间,例如在15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24,20至23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个核苷酸的长度。上述所记载的范围和长度的中间范围和长度也被认为是本申请的一部分。

[0325] 在一些实施例中,dsRNA的长度在约15和约23个核苷酸之间,或在约25和约30个核苷酸之间。一般来说,dsRNA的长度足以作为Dicer酶的底物。例如,本领域众所周知,长于约21至23个核苷酸的dsRNA可以作为Dicer的底物。正如本领域技术人员也将认识到的,被靶向裂解的RNA区域通常是较大RNA分子的一部分,通常是mRNA分子。在相关的情况下,mRNA靶标的“部分”是mRNA靶标的连续序列,其长度足以使其成为RNAi定向裂解(即通过RISC途径裂解)的底物。

[0326] 本领域技术人员还将认识到双链体区域是dsRNA的主要功能部分,例如约9至36个碱基对的双链体区域,例如约10至36、11至36、12至36、13至36、14至36、15至36、9至35、10至35、11至35、12至35、13至35、14至35、15至35、9至34、10至34、11至34、12至34、13至34、14至34、15至34、9至33、10至33、11至33、12至33、13至33、14至33、15至33、9至32、10至32、11至32、12至32、13至32、14至32、15至32、9至31、10至31、11至31、12至31、13至32、14至31、15至31、15至30、15至29、15至28、15至27、15至26、15至25、15至24、15至23、15至22、15至21、15至20、15至19、15至18、15至17、18至30、18至29、18至28、18至27、18至26、18至25、18至24、18至23、18至22、18至21、18至20、19至30、19至29、19至28、19至27、19至26、19至25、19至24、19至23、19至22、19至21、19至20、20至30、20至29、20至28、20至27、20至26、20至25、20至24,20至

23、20至22、20至21、21至30、21至29、21至28、21至27、21至26、21至25、21至24、21至23或21至22个碱基对。因此,在一个实施例中,就其被加工成功能性双链体的程度而言,例如,15至30个碱基对,其靶向用于裂解的所需RNA,具有大于30个碱基对的双链体区域的RNA分子或RNA分子复合体。碱基对是dsRNA。因此,本领域技术人员将认识到,在一个实施例中,miRNA是dsRNA。在另一个实施例中,dsRNA不是天然存在的miRNA。在另一个实施例中,用于靶向APP的表达的RNAi剂不是通过裂解更大的dsRNA在靶细胞中产生的。

[0327] 如本文所述的dsRNA还可包括一个或多个单链核苷酸突出端,例如1、2、3或4个核苷酸。具有至少一个核苷酸突出端的dsRNA相对于其平端对应物可以具有出乎意料地优越的抑制特性。核苷酸突出端可包含核苷酸/核苷类似物或由其组成,包括脱氧核苷酸/核苷。突出端可以在正义链、反义链或其任何组合上。此外,突出端的核苷酸可存在于dsRNA的反义链或正义链的5’末端、3’末端或两端。

[0328] dsRNA可通过本领域已知的标准方法合成,如下文进一步讨论,例如,通过使用自动化DNA合成仪,例如可从例如Biosearch应用生物系统公司商购获得。

[0329] 本申请内容的RNAi剂可以使用两步制程来制备。首先,分别制备双链RNA分子的单条链。然后,组成物链被退火。可以使用液相或固相有机合成或两者来制备siRNA化合物的各个链。有机合成的优势在于可以容易地制备包含非天然或经修饰的核苷酸的寡核苷酸链。本申请的单链寡核苷酸可以使用液相或固相有机合成或两者来制备。

[0330] 在一方面,本申请的dsRNA包括至少两个核苷酸序列,正义序列和反义序列。正义链序列可以选自表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26中任一个提供的序列组,以及正义链的反义链的相应核苷酸序列可以选自表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26中任一项的序列组。在这方面,两个序列之一与两个序列中的另一个互补,其中一个序列与在APP基因的表达中产生的mRNA序列基本互补。因此,在这方面,dsRNA将包括两个寡核苷酸,其中一个寡核苷酸在表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26中的任一个中被描述为正义链(随从链,passenger strand),且第二寡核苷酸在表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26中任一项中被描述为的正义链的相应反义链(引导链,guide strand)。因此,例如,表3的正义和反义链序列的下列成对选择明确涵盖为形成本申请的双链体:SEQ ID NOs:855和856;SEQ ID NOs:857和858;SEQ ID NOs:859和860;SEQ ID NOs:861和862;SEQ ID NOs:863和864;SEQ ID NOs:865和866;SEQ ID NOs:867和868;SEQ ID NOs:869和870;SEQ ID NOs:871和872;SEQ ID NOs:873和874;SEQ ID NOs:875和876;SEQ ID NOs:877和878;SEQ ID NOs:879和880;SEQ ID NOs:881和882;SEQ ID NOs:883和884;SEQ ID NOs:885和886;SEQ ID NOs:887和888;SEQ ID NOs:889和890;SEQ ID NOs:891和892;SEQ ID NOs:893和894;SEQ ID NOs:895和896;SEQ ID NOs:897和898;SEQ ID NOs:899和900;SEQ ID NOs:901和902;SEQ ID NOs:903和904;SEQ ID NOs:905和906;SEQ ID NOs:907和908;SEQ ID NOs:909和910;SEQ ID NOs:911和912;SEQ ID NOs:913和914;SEQ ID NOs:915和916;SEQ ID NOs:917和918;SEQ ID NOs:919和920;SEQ ID NOs:921和922;SEQ ID NOs:923和924;SEQ ID NOs:925和926;SEQ ID NOs:927和928;SEQ ID NOs:929和930;SEQ ID NOs:931和932;SEQ ID NOs:933和934;SEQ ID NOs:935和936;SEQ ID NOs:937和938;SEQ ID NOs:939和940;SEQ ID NOs:941和942;SEQ ID NOs:943和944;SEQ ID NOs:945和946;SEQ ID NOs:947和948;SEQ ID NOs:949和950;SEQ ID NOs:951和952;SEQ ID NOs:953和

954;SEQ ID NOs:955和956;SEQ ID NOs:957和958;SEQ ID NOs:959和960;SEQ ID NOs:961和962;SEQ ID NOs:963和964;SEQ ID NOs:965和966;SEQ ID NOs:967和968;SEQ ID NOs:969和970;SEQ ID NOs:971和972;SEQ ID NOs:973和974;SEQ ID NOs:975和976;SEQ ID NOs:977和978;SEQ ID NOs:979和980;SEQ ID NOs:981和982;SEQ ID NOs:983和984;SEQ ID NOs:985和986;SEQ ID NOs:987和988;SEQ ID NOs:989和990;SEQ ID NOs:991和992;SEQ ID NOs:993和994;SEQ ID NOs:995和996;SEQ ID NOs:997和998;SEQ ID NOs:999和1000;SEQ ID NOs:1001和1002;SEQ ID NOs:1003和1004;SEQ ID NOs:1005和1006;SEQ ID NOs:1007和1008;SEQ ID NOs:1009和1010;SEQ ID NOs:1011和1012;SEQ ID NOs:1013和1014;SEQ ID NOs:1015和1016;SEQ ID NOs:1017和1018;SEQ ID NOs:1019和1020;SEQ ID NOs:1021和1022;SEQ ID NOs:1023和1024;SEQ ID NOs:1025和1026;SEQ ID NOs:1027和1028;SEQ ID NOs:1029和1030;SEQ ID NOs:1031和1032;SEQ ID NOs:1033和1034;SEQ ID NOs:1035和1036;SEQ ID NOs:1037和1038;SEQ ID NOs:1039和1040;SEQ ID NOs:1041和1042;SEQ ID NOs:1043和1044;SEQ ID NOs:1045和1046;SEQ ID NOs:1047和1048;SEQ ID NOs:1049和1050;SEQ ID NOs:1051和1052;SEQ ID NOs:1053和1054;SEQ ID NOs:1055和1056;SEQ ID NOs:1057和1058;SEQ ID NOs:1059和1060;SEQ ID NOs:1061和1062;SEQ ID NOs:1063和1064;SEQ ID NOs:1065和1066;SEQ ID NOs:1067和1068;SEQ ID NOs:1069和1070;SEQ ID NOs:1071和1072;SEQ ID NOs:1073和1074;SEQ ID NOs:1075和1076;SEQ ID NOs:1077和1078;SEQ ID NOs:1079和1080;SEQ ID NOs:1081和1082;SEQ ID NOs:1083和1084;SEQ ID NOs:1085和1086;SEQ ID NOs:1087和1088;SEQ ID NOs:1089和1090;SEQ ID NOs:1091和1092;SEQ ID NOs:1093和1094;SEQ ID NOs:1095和1096;SEQ ID NOs:1097和1098;SEQ ID NOs:1099和1100;SEQ ID NOs:1101和1102;SEQ ID NOs:1103和1104;SEQ ID NOs:1105和1106;SEQ ID NOs:1107和1108;SEQ ID NOs:1109和1110;SEQ ID NOs:1111和1112;SEQ ID NOs:1113和1114;SEQ ID NOs:1115和1116;SEQ ID NOs:1117和1118;SEQ ID NOs:1119和1120;SEQ ID NOs:1121和1122;SEQ ID NOs:1123和1124;SEQ ID NOs:1125和1126;SEQ ID NOs:1127和1128;SEQ ID NOs:1129和1130;SEQ ID NOs:1131和1132;SEQ ID NOs:1133和1134;SEQ ID NOs:1135和1136;SEQ ID NOs:1137和1138;SEQ ID NOs:1139和1140;SEQ ID NOs:1141和1142;SEQ ID NOs:1143和1144;SEQ ID NOs:1145和1146;SEQ ID NOs:1147和1148;SEQ ID NOs:1149和1150;SEQ ID NOs:1151和1152;SEQ ID NOs:1153和1154;SEQ ID NOs:1155和1156;SEQ ID NOs:1157和1158;SEQ ID NOs:1159和1160;SEQ ID NOs:1161和1162;SEQ ID NOs:1163和1164;SEQ ID NOs:1165和1166;SEQ ID NOs:1167和1168;SEQ ID NOs:1169和1170;SEQ ID NOs:1171和1172;SEQ ID NOs:1173和1174;SEQ ID NOs:1175和1176;SEQ ID NOs:1177和1178;SEQ ID NOs:1179和1180;SEQ ID NOs:1181和1182;SEQ ID NOs:1183和1184;SEQ ID NOs:1185和1186;SEQ ID NOs:1187和1188;SEQ ID NOs:1189和1190;SEQ ID NOs:1191和1192;SEQ ID NOs:1193和1194;SEQ ID NOs:1195和1196;SEQ ID NOs:1197和1198;SEQ ID NOs:1199和1200;SEQ ID NOs:1201和1202;SEQ ID NOs:1203和1204;SEQ ID NOs:1205和1206;SEQ ID NOs:1207和1208;SEQ ID NOs:1209和1210;SEQ ID NOs:1211和1212;SEQ ID NOs:1213和1214;SEQ ID NOs:1215和1216;SEQ ID NOs:1217和1218;SEQ ID NOs:1219和1220;SEQ ID NOs:1221和1222;SEQ ID NOs:1223和1224;SEQ ID NOs:1225和1226;SEQ ID NOs:1227和1228;SEQ ID NOs:1229和1230;

SEQ ID NOs:1231和1232;SEQ ID NOs:1233和1234;SEQ ID NOs:1235和1236;SEQ ID NOs:1237和1238;SEQ ID NOs:1239和1240;SEQ ID NOs:1241和1242;SEQ ID NOs:1243和1244;SEQ ID NOs:1245和1246;SEQ ID NOs:1247和1248;SEQ ID NOs:1249和1250;SEQ ID NOs:1251和1252;SEQ ID NOs:1253和1254;SEQ ID NOs:1255和1256;SEQ ID NOs:1257和1258;SEQ ID NOs:1259和1260;SEQ ID NOs:1261和1262;SEQ ID NOs:1263和1264;SEQ ID NOs:1265和1266;SEQ ID NOs:1267和1268;SEQ ID NOs:1269和1270;SEQ ID NOs:1271和1272;SEQ ID NOs:1273和1274;SEQ ID NOs:1275和1276;SEQ ID NOs:1277和1278;SEQ ID NOs:1279和1280;SEQ ID NOs:1281和1282;SEQ ID NOs:1283和1284;SEQ ID NOs:1285和1286;SEQ ID NOs:1287和1288;SEQ ID NOs:1289和1290;SEQ ID NOs:1291和1292;SEQ ID NOs:1293和1294;SEQ ID NOs:1295和1296;SEQ ID NOs:1297和1298;SEQ ID NOs:1299和1300;SEQ ID NOs:1301和1302;SEQ ID NOs:1303和1304;SEQ ID NOs:1305和1306;SEQ ID NOs:1307和1308;SEQ ID NOs:1309和1310;SEQ ID NOs:1311和1312;SEQ ID NOs:1313和1314;SEQ ID NOs:1315和1316;SEQ ID NOs:1317和1318;SEQ ID NOs:1319和1320;SEQ ID NOs:1321和1322;SEQ ID NOs:1323和1324;SEQ ID NOs:1325和1326;SEQ ID NOs:1327和1328;SEQ ID NOs:1329和1330;SEQ ID NOs:1331和1332;SEQ ID NOs:1333和1334;SEQ ID NOs:1335和1336;SEQ ID NOs:1337和1338;SEQ ID NOs:1339和1340;SEQ ID NOs:1341和1342;SEQ ID NOs:1343和1344;SEQ ID NOs:1345和1346;SEQ ID NOs:1347和1348;SEQ ID NOs:1349和1350;SEQ ID NOs:1351和1352;SEQ ID NOs:1353和1354;SEQ ID NOs:1355和1356;SEQ ID NOs:1357和1358;SEQ ID NOs:1359和1360;SEQ ID NOs:1361和1362;SEQ ID NOs:1363和1364;SEQ ID NOs:1365和1366;SEQ ID NOs:1367和1368;SEQ ID NOs:1369和1370;SEQ ID NOs:1371和1372;SEQ ID NOs:1373和1374;SEQ ID NOs:1375和1376;SEQ ID NOs:1377和1378;SEQ ID NOs:1379和1380;SEQ ID NOs:1381和1382;SEQ ID NOs:1383和1384;SEQ ID NOs:1385和1386;SEQ ID NOs:1387和1388;SEQ ID NOs:1389和1390;SEQ ID NOs:1391和1392;SEQ ID NOs:1393和1394;SEQ ID NOs:1395和1396;SEQ ID NOs:1397和1398;SEQ ID NOs:1399和1400;和SEQ ID NOs:1401和1402。类似地,还明确涵盖本申请的表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26的正义和反义链的成对组合,包括,例如,选自表2A的正义链与选自表2B的反义链,反之亦然,等等。

[0331] 在一个实施例中,dsRNA的基本互补序列包含在单独的寡核苷酸上。在另一个实施例中,dsRNA的基本互补序列包含在单个寡核苷酸上。

[0332] 应当理解,尽管表2A、2B、5A、5B、9、10、12、14、16A、16B和26中的序列被描述为经修饰的和/或结合的序列,但本申请例如本申请的dsRNA,可以包含表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B和26中的任一项中列出的任何一种序列,其是未经修饰的、未结合和/或与本文所述不同的经修饰的和/或结合。

[0333] 本领域技术人员熟知具有约20至23个碱基对(例如,21个碱基对)的双链体结构的dsRNA被认为在诱导RNA干扰方面特别有效(Elbashir等人,(2001)EMBO J.,20:6877-6888)。然而,其他人已经发现更短或更长的RNA双链体结构也可能有效(Chu及Rana(2007)RNA 14:1714-1719;Kim等人,(2005)Nat Biotech 23:222-226)。在上述实施例中,由于本文提供的寡核苷酸序列的性质,本文所述的dsRNA可以包括至少一条长度至少为21个核苷酸的链。可以合理地预期,与上述dsRNA相比,较短的双链体在一端或两端仅减去几个核苷

酸可能同样有效。因此,具有源自本文提供的序列之一的至少15、16、17、18、19、20或多个连续核苷酸的序列的dsRNA,其抑制APP基因的表达的能力不同来自包含全序列的dsRNA的超过约5、10、15、20、25或30％的抑制被认为在本申请的范围内。

[0334] 此外,本文所述的RNA鉴定APP转录物中对RISC介导的裂解敏感的末端。因此,本申请进一步描述了靶向所述末端内的RNAi剂。如本文所用,如果RNAi剂促进转录物在所述特定末端内任何位置的裂解,则称所述RNAi剂靶向于RNA转录物的特定末端内。这种RNAi剂通常包括来自本文提供的序列之一的至少约15个连续核苷酸,其与取自与APP基因中所选序列相邻的区域的额外核苷酸序列结合。

[0335] 如本文所述的RNAi剂可含有与靶序列的一个或多个错配。在一个实施例中,如本文所述的RNAi剂包含不超过3个错配。在某些实施例中,如果RNAi剂的反义链包含与靶序列的错配,则错配可以任选地限制在来自互补的区域的5'-或3'末端的最后5个核苷酸内。例如,在此类实施例中,对于23个核苷酸的RNAi剂,与APP基因的区域互补的链通常在中心13个核苷酸内不包含任何错配。本文所述的方法或本领域已知的方法可用于确定含有与靶序列错配的RNAi剂是否有效抑制APP基因的表达。考虑具有错配的RNAi剂在抑制APP基因的表达方面的功效很重要,特别是如果已知APP基因中的特定互补的区域在群体内具有多态性序列变异。

[0336] III.本申请的经修饰的RNAi剂

[0337] 在一个实施例中,本申请的RNAi剂的RNA,例如dsRNA,是未经修饰的,且不包含例如本领域已知和本文所述的化学修饰的和/或结合。在另一个实施例中,本申请内容的RNAi剂(例如dsRNA)的RNA经化学修饰的以增强稳定性或其他有益特性。在本申请的某些实施例中,本申请的RNAi剂的基本上所有核苷酸都为经修饰的。在本申请的其他实施例中,本申请的RNAi剂的所有经修饰的核苷酸。其中"基本上所有经修饰的核苷酸"的本申请内容的RNAi剂大部分但不是完全经修饰的且可以包括不超过5、4、3、2或1个未经修饰的核苷酸。在本申请内容的其他实施方式中,本申请内容的RNAi剂可以包括不超过5、4、3、2或1个经修饰的核苷酸。

[0338] 本申请内容中的核酸可以通过本领域中充分建立的方法合成和/或修饰,例如在"核酸化学的当前方案",在此引入Beaucage,S.L.等人,(Edrs.),John Wiley&Sons,Inc.,New York,NY,USA作为参考。修饰包括例如末端修饰,例如5'末端修饰(磷酸化、结合、反向连接)或3'末端修饰(结合、DNA核苷酸、反向连接等);碱基修饰,例如用稳定碱基、去稳定碱基或与扩展的伴侣库进行碱基配对的碱基替换,去除碱基(无碱基核苷酸)或结合碱基;糖修饰(例如,在2'位置或4'位置)或替换糖;和/或骨架修饰,包括磷酸二酯键的修饰或替换。可用于本文所述实施例的RNAi剂的具体实例包括但不限于含有经修饰骨架或不含天然核苷间键合的RNA。具有经修饰骨架的RNA包括骨架中没有磷原子的那些。出于本说明书的目的,并且如本领域有时引用的,在其核苷间主链中不具有磷原子的修饰的RNA也可以被认为是寡核苷。在一些实施例中,经修饰的RNAi剂将在其核苷间主链中具有磷原子。

[0339] 经修饰的RNA骨架包括例如硫代磷酸酯、手性硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸三酯、氨基烷基磷酸三酯、甲基和其他烷基磷酸酯,包括3'-亚烷基磷酸酯和手性磷酸酯、次磷酸酯、氨基磷酸酯,包括3'-氨基氨基磷酸酯和氨基烷基氨基磷酸酯、硫代磷酰胺、硫代烷基磷酸酯、硫酰烷基磷酸三酯、和具有正常3'-5'连接的硼酸磷酸酯、其2'-5'连接的类似物,

以及具有倒置极性的那些,其中相邻的核苷单元对在3'-5'到5'-3'或2'-5'到5'-2'连接。还包括各种盐、混合盐和游离酸形式。

[0340] 教导制备上述含磷键的代表性美国专利包括但不限于美国专利第3,687,808号;美国专利第4,469,863号;美国专利第4,476,301号;美国专利第5,023,243号;美国专利第5,177,195号;美国专利第5,188,897号;美国专利第5,264,423号;美国专利第5,276,019号;美国专利第5,278,302号;美国专利第5,286,717号;美国专利第5,321,131号;美国专利第5,399,676号;美国专利第5,405,939号;美国专利第5,453,496号;美国专利第5,455,233号;美国专利第5,466,677号;美国专利第5,476,925号;美国专利第5,519,126号;美国专利第5,536,821号;美国专利第5,541,316号;美国专利第5,550,111号;美国专利第5,563,253号;美国专利第5,571,799号;美国专利第5,587,361号;美国专利第5,625,050号;美国专利第6,028,188号;美国专利第6,124,445号;美国专利第6,160,109号;美国专利第6,169,170号;美国专利第6,172,209号;美国专利第6,239,265号;美国专利第6,277,603号;美国专利第6,326,199号;美国专利第6,346,614号;美国专利第6,444,423号;美国专利第6,531,590号;美国专利第6,534,639号;美国专利第6,608,035号;美国专利第6,683,167号;美国专利第6,858,715号;美国专利第6,867,294号;美国专利第6,878,805号;美国专利第7,015,315号;美国专利第7,041,816号;美国专利第7,273,933号;美国专利第7,321,029号及;美国专利RE39464号,其各自的整体内容通过引用并入本文。

[0341] 其中不包括磷原子的经修饰的RNA主链具有由短链烷基或环烷基核苷间键合、混合杂原子和烷基或环烷基核苷间键合或一个或多个短链杂原子或杂环核苷间键合形成的主链。这些包括具有吗啉键(部分由核苷的糖部分形成);硅氧烷主链;硫化物、亚砜和砜骨架;甲乙酰和硫甲乙酰骨架;亚甲基甲乙酰和硫甲乙酰骨架;含有主链的烯烃;氨基磺酸盐骨架;亚甲基亚氨基和亚甲基肼基主链;磺酸盐和磺酰胺主链;酰胺骨架;以及其他混合有N、O、S和$CH_2$的组份的部分。

[0342] 教导制备上述寡核苷的代表性美国专利包括但不限于美国专利第5,034,506号;美国专利第5,166,315号;美国专利第5,185,444号;美国专利第5,214,134号;美国专利第5,216,141号;美国专利第5,235,033号;美国专利第5,64,562号;美国专利第5,264,564号;美国专利第5,405,938号;美国专利第5,434,257号;美国专利第5,466,677号;美国专利第5,470,967号;美国专利第5,489,677号;美国专利第5,541,307号;美国专利第5,561,225号;美国专利第5,596,086号;美国专利第5,602,240号;美国专利第5,608,046号;美国专利第5,610,289号;美国专利第5,618,704号;美国专利第5,623,070号;美国专利第5,663,312号;美国专利第5,633,360号;美国专利第5,677,437号;及美国专利第5,677,439号,每篇的整体内容通过引用并入本文。

[0343] 在其他实施例中,考虑将合适的RNA类似物用于RNAi剂,其中核苷酸单元的糖和核苷间键合,即主链均被新基团替换。保持碱基单位以与合适的核酸标靶化合物杂交。一种这样的寡聚化合物,一种已被证明具有优异杂交特性的RNA类似物,被称为肽核酸(PNA)。在PNA化合物中,RNA的糖主链被含有酰胺的主链,特别是氨乙基甘氨酸主链取代。核碱基被保留并直接或间接地与骨架酰胺部分的氮杂氮原子结合。教导PNA化合物制备的代表性美国专利包括但不限于美国专利第5,539,082号;美国专利第5,714,331号;和美国专利第5,719,262号,每篇的整体内容通过引用并入本文。适用于本申请内容的RNAi剂的其他PNA化

合物描述于例如Nielsen等人,Science,1991,254,1497-1500中。

[0344] 本申请中的一些实施例包括具有硫代磷酸酯骨架的RNA和具有杂原子骨架的寡核苷,特别是--$CH_2$--NH--$CH_2$-、--$CH_2$--N($CH_3$)--O--$CH_2$--[已知作为亚甲基(甲基亚氨基)或MMI主链]、--$CH_2$--O--N($CH_3$)--$CH_2$--、--$CH_2$--N($CH_3$)--N($CH_3$)--$CH_2$--和--N($CH_3$)--$CH_2$--$CH_2$--[其中天然磷酸二酯主链表示为--O--P--O--$CH_2$--],上述美国专利第5,489,677号,和上述美国专利第5,602,240号的酰胺主链。在一些实施例中,本文中表征的RNA具有上述美国专利第5,034,506号的吗啉骨架结构。

[0345] 经修饰的RNA还可以包含一个或多个取代的糖部分。此处表征的RNAi剂,例如dsRNA,可以在2'-位置包括以下之一:OH、F、O-、S-或N-烷基;O-、S-或N-烯基;O-、S-或N-炔基;或O-烷基-O-烷基,其中,烷基、烯基和炔基可以是取代或未取代的$C_1$至$C_{10}$烷基或$C_2$至$C_{10}$烯基和炔基。实例性的合适修饰包括O[($CH_2$)$_n$O]$_m$$CH_3$、O($CH_2$)$_n$$OCH_3$、O($CH_2$)$_n$$NH_2$、O($CH_2$)$_n$$CH_3$、O($CH_2$)$_n$$ONH_2$及O($CH_2$)$_n$ON[($CH_2$)$_n$$CH_3$)]$_2$,其中n和m为1至约10。在其他实施例中,dsRNA在2'位置包括以下之一:$C_1$至$C_{10}$低级烷基、取代的低级烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或O-芳烷基、SH、$SCH_3$、OCN、Cl、Br、CN、$CF_3$、$OCF_3$、$SOCH_3$、$SO_2CH_3$、$ONO_2$、$NO_2$、$N_3$、$NH_2$,、杂环烷基、杂环烷芳基、氨基烷基氨基、聚烷基氨基、取代甲硅烷基、RNA裂解基团、信息基团、嵌入剂、用于改善RNAi剂药代动力学特性的基团或用于改善RNAi剂药效特性的基团,以及具有类似特性的其他取代基。在一些实施例中,修饰包括2'甲氧基乙氧基(2'-O--$CH_2$$CH_2$$OCH_3$,也称为2'-O-(2-甲氧基乙基)或2'-MOE)(Martin等人,Helv.Chim.Acta,1995,78:486-504),即烷氧基-烷氧基基团。另一个实例性修饰是2'-二甲氨基乙氧基,即O($CH_2$)$_2$ON($CH_3$)$_2$基团,也称为2'-DMAOE,如下文实施例中所述,和2'-二甲氨基乙氧基乙氧基(本领域也称为2'-O-二甲氨基乙氧基乙基或2'-DMAEOE),即2'-O--$CH_2$--O--$CH_2$--N($CH_2$)$_2$。进一步的实例性修饰包括:5'-Me-2'-F核苷酸、5'-Me-2'-OMe核苷酸、5'-Me-2'-脱氧核苷酸(这三个家族中的R和S异构体);2'-烷氧基烷基;和2'-NMA(N-甲基乙酰胺)。

[0346] 其他修饰包括2'-甲氧基(2'-$OCH_3$)、2'-氨基丙氧基(2'-$OCH_2CH_2CH_2NH_2$)、2'-O-十六烷基和2'氟(2'-F)。也可以在RNAi剂的RNA上的其他位置进行类似的修饰,特别是3'末端核苷酸或2'-5'连接的dsRNA中糖的3'位置和5'末端核苷酸的5'位置.RNAi剂还可以具有糖类似物,例如代替戊呋喃糖的环丁基部分。教导制备此类修饰的糖结构的代表性美国专利包括但不限于美国专利第4,981,957号;美国专利第5,118,800号;美国专利第5,319,080号;美国专利第5,359,044号;美国专利第5,393,878号;美国专利第5,446,137号;美国专利第5,466,786号;美国专利第5,514,785号;美国专利第5,519,134号;美国专利第5,567,811号;美国专利第5,576,427号;美国专利第5,591,722号;美国专利第5,597,909号;美国专利第5,610,300号;美国专利第5,627,053号;美国专利第5,639,873号;美国专利第5,646,265号;美国专利第5,658,873号;美国专利第5,670,633号;及美国专利第5,700,920号,其中某些与本申请共同拥有。上述每一个的整体内容通过引用并入本文。

[0347] 本申请的RNAi剂还可以包括核碱基(在本领域中通常简称为“碱基”)修饰或取代。如本文所用,“未经修饰的”或“天然”核碱基包括嘌呤碱基腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G),以及嘧啶碱基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)和尿嘧啶(U)。经修饰的核碱基包括其他合成和天然核碱基,例如5-甲基胞嘧啶(5-me-C)、5-羟甲基胞嘧啶、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤、6-甲基以及其他腺嘌呤和鸟嘌呤烷基衍生物、腺嘌呤和鸟嘌呤的2-丙基和其他烷基衍生物、2-

硫尿嘧啶、2-硫代胸腺嘧啶和2-硫代胞嘧啶、5-卤代尿嘧啶和胞嘧啶、5-丙炔基尿嘧啶和胞嘧啶、6-偶氮尿嘧啶、胞嘧啶和胸腺嘧啶、5-尿嘧啶(假尿嘧啶)、4-硫尿嘧啶、8-卤素、8-氨基、8-硫醇、8-硫代烷基、8-羟基和其他8-取代的腺嘌呤和鸟嘌呤、5-卤素,特别是5-溴、5-三氟甲基和其他5-取代的尿嘧啶和胞嘧啶、7-甲基鸟嘌呤和7-甲基腺嘌呤、8-氮杂鸟嘌呤和8-氮杂腺嘌呤、7-脱氮鸟嘌呤和7-氮杂腺嘌呤以及3-脱氮鸟嘌呤和3-脱氮杂腺嘌呤。进一步的核碱基包括美国专利第3,687,808号中公开的那些,在生物化学、生物技术和医学中的经修饰的核苷Biochemistry,Biotechnology and Medicine,Herdewijn,P.ed.Wiley-VCH,2008中公开的那些;The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering,pages 858-859,Kroschwitz,J.L,ed.John Wiley&Sons,1990中公开的那些,这些由Englisch等人,(1991)Angewandte Chemie,International Edition,30:613,以及由Sanghvi,Y S.,Chapter 15,dsRNA Research and Applications,pages 289-302,Crooke,S.T.和Lebleu,B.,Ed.,CRC Press,1993公开的那些。这些核碱基中的某些对于增加本申请中表征的寡聚化合物的结合亲和力特别有用。这些包括5-取代的嘧啶、6-氮杂嘧啶和N-2、N-6和0-6取代的嘌呤,包括2-氨基丙基腺嘌呤、5-丙炔基尿嘧啶和5-丙炔基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代已显示可将核酸双链体稳定性提高0.6至1.2℃(Sanghvi,Y.S.,Crooke,S.T.及Lebleu,B.,Eds.,dsRNA Research and Applications,CRC Press,Boca Raton,1993,pp.276-278)且是实例性碱基取代,甚至更特别地当与2'-O-甲氧基乙基糖修饰组合时。

[0348] 教导制备某些上述经修饰的核碱基以及其他经修饰的核碱基的代表性美国专利包括但不限于上述记载的3,687,808、4,845,205号;美国专利第5,130,30号;美国专利第5,134,066号;美国专利第5,175,273号;美国专利第5,367,066号;美国专利第5,432,272号;美国专利第5,457,187号;美国专利第5,459,255号;美国专利第5,484,908号;美国专利第5,502,177号;美国专利第5,525,711号;美国专利第5,552,540号;美国专利第5,587,469号;美国专利第5,594,121,5,596,091号;美国专利第5,614,617号;美国专利第5,681,941号;美国专利第5,750,692号;美国专利第6,015,886号;美国专利第6,147,200号;美国专利第6,166,197号;美国专利第6,222,025号;美国专利第6,235,887号;美国专利第6,380,368号;美国专利第6,528,640号;美国专利第6,639,062号;美国专利第6,617,438号;美国专利第7,045,610号;美国专利第7,427,672号;及美国专利第7,495,088号,每篇的整体内容通过引用并入本文。

[0349] 本申请的经修饰的RNAi剂也可以包括一种或多种锁核酸(LNA)。锁核酸是具有经修饰的核糖部分的核苷酸,其中核糖部分包含连接2'和4'碳的额外桥。这种结构有效地将核糖"锁定"在3'-endo结构构型中。已证明向siRNA添加锁核酸可增加血清中siRNA的稳定性,并减少脱靶效应(Elmen,J.等人,(2005)Nucleic Acids Research 33(1):439-447;Mook,OR.等人,(2007)Mol Canc Ther 6(3):833-843;Grunweller,A.等人,(2003)Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。

[0350] 本申请的经修饰的RNAi剂也可以包括一个或多个双环糖部分修饰。"双环糖"是通过两个原子的桥接修饰的呋喃糖基环。"双环核苷"("BNA")是具有糖部分的核苷,所述糖部分包含连接糖环的两个碳原子的桥,从而形成双环系统。在某些实施例中,桥连接糖环的4'-碳和2'-碳。因此,在一些实施例中,本申请的药剂可包括一种或多种锁核酸(LNA)。锁核

酸是具有经修饰的核糖部分的核苷酸,其中核糖部分包含连接2'和4'碳的额外桥。换句话说,LNA是包含双环糖部分的核苷酸,所述双环糖部分包含4'-CH2-O-2'桥。这种结构有效地将核糖"锁定"在3'-endo构型中。已证明向siRNA添加锁核酸可增加血清中siRNA的稳定性,并减少脱靶效应(Elmen,J.等人,(2005)Nucleic Acids Research 33(1):439-447;Mook,OR.等人,(2007)Mol Canc Ther 6(3):833-843;Grunweller,A.等人,(2003)Nucleic Acids Research 31(12):3185-3193)。用于本申请的多核苷酸的双环核苷的实例包括但不限于在4'和2'核糖基环原子之间包含桥的核苷。在某些实施例中,本申请的反义多核苷酸剂包括一种或多种包含4'至2'桥的双环核苷。此类4'至2'桥连双环核苷的实例包括但不限于4''-($CH_2$)—O-2′(LNA);4′-($CH_2$)—S-2′;4′-($CH_2$)2—O-2′(ENA);4′-CH($CH_3$)—O-2′(也称为"受限乙基"或"cEt")和4′-CH($CH_2OCH_3$)—O-2′(及其类似物;参见,例如,美国专利第7,399,845号);4′-C($CH_3$)($CH_3$)—O-2′(及其类似物;参见例如美国专利第8,278,283号);4′-$CH_2$—N($OCH_3$)-2′(及其类似物;参见例如美国专利第8,278,425号);4′-$CH_2$—O—N($CH_3$)-2′(参见,例如,美国专利公开第2004/0171570号);4′-$CH_2$—N(R)—O-2′,其中R是H、$C_1$-$C_{12}$烷基或保护基团(参见例如美国专利第7,427,672号);4′-$CH_2$—C(H)($CH_3$)-2′(参见例如Chattopadhyaya等人,J.Org.Chem.,2009,74,118-134);和4′-$CH_2$—C(=CH2)-2′(及其类似物;参见,例如,美国专利第8,278,426号)。上述每篇的全部内容特此通过引用并入本文。

[0351] 教导锁定核酸核苷酸的制备的另外的代表性美国专利和美国专利公开包括但不限于以下:美国专利第6,268,490号;美国专利第6,525,191号;美国专利第6,670,461号;美国专利第6,770,748号;美国专利第6,794,499号;美国专利第6,998,484号;美国专利第7,053,207号;美国专利第7,034,133;7,084,125号;美国专利第7,399,845号;美国专利第7,427,672号;美国专利第7,569,686号;美国专利第7,741,457号;美国专利第8,022,193号;美国专利第8,030,467号;美国专利第8,278,425号;美国专利第8,278,426号;美国专利第8,278,283号;美国专利公开第US 2008/0039618号;美国专利公开第2009/0012281号,其每一篇的整体内容通过引用并入本文。

[0352] 可以制备具有一种或多种立体化学糖构型的任何前述双环核苷,包括例如α-L-呋喃核糖和β-D-呋喃核糖(参见WO 99/14226)。

[0353] 本申请内容的经修饰的RNAi剂也可以包括一个或多个受限的乙基核苷酸。如本文所用,"受限乙基核苷酸"或"cEt"是包含双环糖部分的锁核酸,所述双环糖部分包含4'-CH($CH_3$)-O-2'桥。在一个实施例中,受限乙基核苷酸处于本文称为"S-cEt"的S构型。

[0354] 本申请的RNAi剂还可以包括一个或多个"构型限制核苷酸"("CRN")。CRN是核苷酸类似物,带有连接核糖的C2'和C4'碳或核糖的C3和-C5'碳的连接子。CRN将核糖环锁定为稳定的构型并增加与mRNA的杂交亲和力。连接子的长度足以将氧置于稳定性和亲和力的最佳位置,从而减少核糖环褶皱。

[0355] 教导某些上述CRN的制备的代表性出版物包括但不限于美国专利公开第2013/0190383号;以及PCT公开第WO 2013/036868号,其各自的全部内容特此通过引用并入本文。

[0356] 在一些实施例中,本申请内容的RNAi剂包含一种或多种为UNA(未锁核酸)核苷酸的单体。UNA是未锁定的无环核酸,其中糖的任何键已被去除,形成未锁定的"糖"残基。在一个实例中,UNA还包括C1'-C4'之间的键已被去除的单体(即C1'和C4'碳之间的共价碳-氧-碳键)。在另一个例子中,糖的C2'-C3'键(即C2'和C3'碳之间的共价碳-碳键)已被去除(参

见Nuc.Acids Symp.Series,52,133-134(2008)及Fluiter等人,Mol.Biosyst.,2009,10,1039,作为参考并入本文)。

[0357] 教导UNA制备的代表性美国出版物包括但不限于美国专利第8,314,227号;和美国专利公开第2013/0096289号;美国专利公开第2013/0011922和号;美国专利公开第2011/0313020号,其整体内容通过引用结合在此。

[0358] 对RNA分子末端的潜在稳定修饰可以包括N-(乙酰胺基己酰基)-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6-NHAc)、N-(己酰基-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6)、N-(乙酰基-4-羟基脯氨醇)(Hyp-NHAc),胸苷-2'-O-胸苷(醚),N-(氨基己酰基)-4-羟基脯氨醇(Hyp-C6-氨基),2-二十二烷酰基-尿苷-3″-磷酸盐、倒置基dT(idT)等。所述修饰的公开可以在PCT公开号WO2011/005861中找到。

[0359] 其他经修饰的RNAi剂本发明的包括5'磷酸或5'磷酸类似物,例如,一个5'末端磷酸或磷酸盐上的反义链模仿一个RNAi剂。合适的磷酸盐类似物公开于例如美国专利公开号2012/0157511中,其全部内容通过引用并入本文。

[0360] A.包含本申请内容的经修饰的RNAi剂

[0361] 在本申请的某些方面,本申请的双链RNAi剂包括具有经化学修饰的剂,例如在2012年11月16日提交的WO 2013/075035中公开的剂,其全部内容通过引用并入本文。如本文和PCT公开号WO 2013/075035中所示,通过将三个连续核苷酸上的三个相同修饰的一个或多个基序引入RNAi剂的正义链和/或反义链中,特别是在或靠近切割位点。在一些实施例中,RNAi剂的正义链和反义链可以另外经完全修饰。这些基序的引入中断了正义和/或反义链的修饰模式(如果存在)。RNAi剂可以任选地与C16配体结合,例如在正义链上。RNAi剂可以任选地用(S)-乙二醇核酸(GNA)修饰进行修饰,例如在反义链的一个或多个残基上。产生的RNAi剂表达出优异的基因沉默活性。

[0362] 更具体而言,令人惊讶地发现,当双链RNAi剂的正义链和反义链经完全修饰以在至少一个的切割位点处或附近的三个连续核苷酸上具有三个相同修饰的一个或多个基序时,RNAi剂的基因沉默活性显著增强。

[0363] 因此,本申请提供能够在体内抑制靶基因(即,APP基因)表达的双链RNAi剂。RNAi剂包含正义链和反义链。RNAi剂的每条链的长度可以在12至30个核苷酸的范围内。例如,每条链的长度可以在14至30个核苷酸之间、长度在17至30个核苷酸之间、长度在25至30个核苷酸之间、长度在27至30个核苷酸之间、长度在17至23个核苷酸之间、长度在17至21个核苷酸之间,长度在17至19个核苷酸之间,长度在19至25个核苷酸之间,长度在19至23个核苷酸之间,长度在19至21个核苷酸之间,长度在21至25个核苷酸之间,或长度在21至23个核苷酸之间。

[0364] 正义链和反义链通常形成双链体双链RNA("dsRNA"),本文也称为"RNAi剂"。RNAi剂的双链体区域的长度可以是12至30个核苷酸对。例如,双链体区域的长度可为14至30个核苷酸对、长度为17至30个核苷酸对、长度为27至30个核苷酸对、长度为17至23个核苷酸对、长度为17至21个核苷酸对、长度为17至19个核苷酸对、长度为19至25个核苷酸对、长度为19至23个核苷酸对、长度为19至21个核苷酸对、长度为21至25个核苷酸对或长度为21至23个核苷酸对。在另一个例子中,双链区域的长度选自15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26和27个核苷酸。

[0365] 在一种实施方式中,RNAi剂可以在一条或两条链的3'末端、5'末端或两端包含一个或多个突出端区域和/或封端基团。突出端的长度可以在1至6个核苷酸,例如长度为2至6个核苷酸、长度为1至5个核苷酸、长度为2至5个核苷酸、长度为1至4个核苷酸长度、长度为2至4个核苷酸、长度为1至3个核苷酸、长度为2至3个核苷酸或长度为1至2个核苷酸。突出端可能是一条链比另一条长的结果,或者是两条相同长度的链交错的结果。突出端可以与靶mRNA形成错配,或者其可以与被靶向的基因序列互补,或者可以是另一个序列。第一和第二链也可以连接,例如,通过额外的碱基形成发夹,或通过其他非碱基连接子。

[0366] 在一个实施例中,RNAi剂的突出端区域中的核苷酸可以各自独立地是经修饰的或未经修饰的核苷酸,包括但不限于2'-糖修饰的,例如2-F、2'-O甲基、胸苷(T),以及其任何组合。

[0367] 例如,TT可以是任一链上任一端的突出端序列。突出端可以与靶mRNA形成错配,或者其可以与被靶向的基因序列互补,或者可以是另一个序列。

[0368] RNAi剂的正义链、反义链或两条链的5'-或3'-突出端可以被磷酸化。在一些实施例中,突出区域包含两个核苷酸,在这两个核苷酸之间具有硫代磷酸酯,其中这两个核苷酸可以相同或不同。在一个实施例中,突出端存在于正义链、反义链或两条链的3'末端。在一个实施例中,所述3'-突出端存在于反义链中。在一个实施例中,所述3'-突出端存在于正义链中。

[0369] RNAi剂可能只包含一个突出端,可以增强RNAi的干扰活性,而不影响其整体稳定性。例如,单链突出端可以位于正义链的3'末端,或者,位于反义链的3'末端。RNAi也可能有一个平端,位于反义链的5'末端(或正义链的3'末端),反之亦然。通常,RNAi的反义链在3'末端有一个核苷酸突出端,5'末端是钝端。虽然不希望受理论束缚,但反义链5'末端的不对称平端和反义链的3'末端突出有利于引导链加载到RISC制程中。

[0370] 在一个实施例中,RNAi剂是长度为19个核苷酸的双端平端分子,其中正义链在5'末端的位置7、8、9位置的三个连续核苷酸上含有三个2'-F修饰的至少一个基序。反义链在5'末端的位置11、12、13的三个连续核苷酸上包含至少一个基序的三个2'-O-甲基修饰。

[0371] 在另一个实施例中,RNAi剂是长度为20个核苷酸的双末端钝聚体,其中,正义链在5'末端的位置8、9、10的三个连续核苷酸上含有三个2'-F修饰的至少一个基序。结尾。反义链在5'末端位置11、12、13的三个连续核苷酸上包含至少一个基序的三个2'-O-甲基修饰。

[0372] 在又一个实施例中,RNAi剂是长度为21个核苷酸的双端平端,其中正义链在来自5'末端的9、10、11位的三个连续核苷酸上包含三个2'-F修饰的至少一个基序。结尾。反义链在5'末端的位置11、12、13的三个连续核苷酸上包含至少一个基序的三个2'-O-甲基修饰。

[0373] 在一个实施例中,RNAi剂包含21个核苷酸的正义链和23个核苷酸的反义链,其中,正义链在5'末端的位置9、10、11的三个连续核苷酸上含有至少一个基序的三个2'-F修饰;反义链在5'末端的位置11、12、13的三个连续核苷酸上含有至少一个基序的三个2'-O-甲基修饰,其中,RNAi剂的一端是平端,而另一端包含2个核苷酸突出端。优选地,2个核苷酸突出端位于反义链的3'末端。当2个核苷酸突出端在反义链的3'末端时,末端三个核苷酸之间可能有两个硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中三个核苷酸中有两个是突出端核苷酸,第三个核苷酸是下一个配对核苷酸到突出端核苷酸。在一个实施例中,RNAi剂另外在正义链的5'末端和反义链的5'末端的末端三个核苷酸之间具有两个硫代磷酸酯核苷酸间键合。在一个实

施例中,RNAi剂的正义链和反义链中的每个核苷酸,包括作为基序一部分的核苷酸,都是经修饰的核苷酸。在一个实施例中,每个残基独立地用2'-O-甲基或3'-氟修饰,例如在交替基序中。任选地,RNAi剂还包含配体(任选地,C16配体)。

[0374] 在一个实施例中,RNAi剂包含正义链和反义链,其中正义链的长度为25至30个核苷酸残基,其中第一链的5'末端核苷酸(位置1)开始,位置1至23包括至少8个核糖核苷酸;反义链长度为36至66个核苷酸残基,从3'末端核苷酸开始,在与正义链的1至23位配对形成双链体的位置包含至少8个核糖核苷酸;其中至少反义链的3'末端核苷酸与正义链未配对,并且多达6个连续的3'末端核苷酸与正义链未配对,从而形成1至6个核苷酸的3'单链突出端;其中反义链的5'末端包含10至30个与正义链未配对的连续核苷酸,从而形成10至30个核苷酸的单链5'突出端;其中当正义链和反义链对齐以实现最大互补性时,至少正义链的5'末端和3'末端核苷酸与反义链的核苷酸碱基配对,从而在正义链和反义链之间形成基本上双链的区域;当双链核酸被引入哺乳动物细胞时,反义链沿着至少19个反义链长度的核糖核苷酸与靶RNA充分互补以降低靶基因的表达;以及其中正义链在三个连续核苷酸上包含三个2'-F修饰的至少一个基序,其中至少一个基序出现在切割位点处或附近。反义链在切割位点处或附近的三个连续核苷酸上包含至少一个基序的三个2'-O-甲基修饰。

[0375] 在一个实施例中,RNAi剂包含正义链和反义链,其中RNAi剂包含长度为至少25且至多29个核苷酸的第一链和长度为至多30个核苷酸且长度为至多的第二链,在5'末端的位置11、12、13的三个连续核苷酸上的三个2'-O-甲基修饰的至少一个基序;其中第一条链的3'末端和第二条链的5'末端形成平端,第二条链的3'末端比第一条链长1至4个核苷酸,其中位于长度至少为25个核苷酸,且第二链沿着第二链长度的至少19个核苷酸与靶mRNA充分互补以在将RNAi剂引入哺乳动物细胞时降低靶基因的表达,以及其中RNAi的切嵌段裂解剂优先产生包含第二条链3'末端的siRNA,从而降低哺乳动物中靶基因的表达。任选地,RNAi剂还包含配体。

[0376] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链在三个连续核苷酸上包含三个相同修饰的至少一个基序,其中基序之一出现在正义链的切割位点处。

[0377] 在一个实施例中,RNAi剂的反义链还可以在三个连续核苷酸上包含三个相同修饰的至少一个基序,其中基序之一出现在反义链的切割位点处或附近。

[0378] 对于具有长度为17至23个核苷酸的双链体区域的RNAi剂,反义链的切割位点通常位于5'末端的位置10、11和12附近。因此,三个相同修饰的基序可能出现在位置9、10、11;位置10、11、12;位置11、12、13;位置12、13、14;或反义链的位置13、14、15,反义链5'末端第1个核苷酸开始的计数,或从反义链5'-端双链区域内第1个配对核苷酸开始的计数。反义链中的切割位点也可能根据RNAi双链区5'末端的长度而变化。

[0379] RNAi剂的正义链可以在链的切割位点的三个连续核苷酸上包含至少一个具有三个相同修饰的基序;且所述反义链可以在所述链的切割位点处或附近的三个连续核苷酸上具有三个相同修饰的至少一个基序。当正义链和反义链形成双链体时,正义链和反义链可以排列成正义链上三个核苷酸中的一个基序和反义链上三个核苷酸中的一个基序至少有一个核苷酸重叠,即正义链中基序的三个核苷酸中的至少一个与反义链中基序的三个核苷酸中的至少一个形成碱基对。或者,至少两个核苷酸可以重叠,或者所有三个核苷酸都可以重叠。

[0380] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链可以在三个连续核苷酸上包含多于一个的三个相同修饰的基序。第一个基序可以出现在链的切割位点处或附近,其他基序可以是翼修饰。本文中的术语“翼修饰(wing modification)”是指在链的另一部分出现的基序,所述基序在同一链的切割位点处或附近与基序分离。翼修饰与第一个基序相邻或被至少一个或多个核苷酸隔开。当基序彼此直接相邻时,基序的化学性质彼此不同,并且当基序被一个或多个核苷酸隔开时,化学性质可以相同或不同。可能存在两个或多个机翼修饰。例如,当存在两个翼修饰时,每个翼修饰可能发生在相对于第一个基序的一端,所述基序位于或靠近切割位点或在前导基序的任一侧。

[0381] 与正义链相同,RNAi剂的反义链可以在三个连续核苷酸上包含一个以上三个相同修饰的基序,其中至少一个基序出现在链的切割位点处或附近。所述反义链还可以包含一个或多个以类似于可能存在于正义链上的翼修饰的比对方式的翼修饰。

[0382] 在一个实施例中,RNAi剂的正义链或反义链上的翼修饰通常不包括在链的3’末端、5’末端或两端的第一个或两个末端核苷酸。

[0383] 在另一个实施例中,RNAi剂的正义链或反义链上的翼修饰通常不包括在链的3’末端、5’末端或两端的双链区内的第一个或两个配对核苷酸.

[0384] 当RNAi剂的正义链和反义链各自含有至少一个翼修饰时,翼修饰可能落在双链体区域的同一端,并且具有1、2或3个核苷酸的重叠。

[0385] 当RNAi剂的正义链和反义链各自包含至少两个翼修饰时,正义链和反义链可以这样排列,使得每个来自一条链的两个修饰落在双链区域的一端,具有一个、两个或三个核苷酸的重叠;来自一条链的两个修饰落在双链体区域的另一端,具有一个、两个或三个核苷酸的重叠;一条链两个修饰落在前导基序的每一侧,在双链体区域中有一个、两个或三个核苷酸的重叠。

[0386] 在一个实施例中,RNAi剂包含与靶的错配、在双链体中或其组合。不匹配可能发生在突出端区或双链区。碱基对可以根据其促进解离或解链的倾向进行排序(例如,根据特定配对的缔合或解离自由能,最简单的方法是在单个对的基础上检查这些对,尽管下一个邻居或类似的分析也可以使用)。在促进解离方面:A:U优于G:C;G:U优于G:C;并且I:C优于G:C(I=肌苷)。错配,例如,非典型或典型以外的配对(如本文别处所述)比典型(A:T、A:U、G:C)配对优选;和包含通用碱基的配对优于典型配对。

[0387] 在一个实施例中,RNAi剂包含来自反义链5’末端的双链区域内的前1、2、3、4或5个碱基对中的至少一个,其独立地选自:A:U、G:U、I:C和错配对,例如,非典型的或典型以外的配对或包含通用碱基的配对,以促进双链体5’末端反义链的解离。

[0388] 在一个实施例中,从反义链的5’末端开始的双链体区域内第1位的核苷酸选自由A、dA、dU、U和dT组成的组。或者,双链体区域内从反义链的5’末端的前1、2或3个碱基对中的至少一个是AU碱基对。例如,双链区内从反义链5’末端开始的第一个碱基对是AU碱基对。

[0389] 在另一个实施例中,正义链3’末端的核苷酸是脱氧胸腺嘧啶(dT)。在另一个实施例中,反义链3’末端的核苷酸是脱氧胸腺嘧啶(dT)。在一个实施例中,有脱氧胸腺嘧啶核苷酸的短序列,例如在正义和/或反义链的3’末端上的两个dT核苷酸。

[0390] 在一个实施例中,正义链序列可由式(I)表示:

[0391] $5'n_p\text{-}N_a\text{-}(XXX)_i\text{-}N_b\text{-}YYY\text{-}N_b\text{-}(ZZZ)_j\text{-}N_a\text{-}n_q\ 3'$ (I)

[0392] 其中：

[0393] i和j各自独立地为0或1；

[0394] p和q各自独立地为0至6；

[0395] $N_a$各自独立地代表包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列，各序列包含至少两个不同经修饰的核苷酸；

[0396] $N_b$各自独立地代表包含0-10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列；

[0397] $n_p$和$n_q$各自独立地代表一个突出端核苷酸；

[0398] 其中$N_b$和Y没有相同的修饰；以及

[0399] XXX、YYY和ZZZ各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序。优选地，YYY是所有2'-F修饰的核苷酸。

[0400] 在一个实施例中，$N_a$和/或$N_b$包括交替模式的修饰。

[0401] 在一个实施例中，YYY基序出现在正义链的切割位点处或附近。例如，当RNAi剂具有长度为17至23个核苷酸的双链体区域时，YYY基序可以出现在从5'末端第1个核苷酸开始计数(例如：可以出现在位置6、7、8、7、8、9、8、9、10、9、10、11、10、11、12或11、12、13)的正义链切割位点处或附近；或可选地，从双链体区域内的从5'末端的第1个配对核苷酸开始计数。

[0402] 在一个实施例中，i为1且j为0，或i为0且j为1，或i与j均为1。因此正义链可由以下公式表示：

[0403] 5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3' (Ib)；

[0404] 5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3' (Ic)；或

[0405] 5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3' (Id)。

[0406] 当正义链由式(Ib)表示时，$N_b$表示包含0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0407] 每个$N_a$可以独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0408] 当正义链如式(Ic)表示时，$N_b$表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$可以独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0409] 当正义链表示为式(Id)时，每个$N_b$独立地表示包含0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。优选地，$N_b$是0、1、2、3、4、5或6。每个$N_a$可以独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0410] X、Y和Z中的每一个可以彼此相同或不同。

[0411] 在其他实施例中，i为0且j为0，且正义链可由下式表示：

[0412] 5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3' (Ia)。

[0413] 当正义链由式(Ia)表示时，每个$N_a$可以独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0414] 在一实施例中，RNAi的反义链序列可由式(II)表示：

[0415] 5'

[0416] $n_{q'}$-$N_a$'-(Z'Z'Z')$_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-(X'X'X')$_l$-N'$_a$-$n_p$'3' (II)

[0417] 其中：

[0418] k和l各自独立地为0或1；

[0419] p'和q'各自独立地为0至6；

[0420] 每个$N_a$'独立地代表包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列，各序列包含至少两个不同经修饰的核苷酸；

[0421] 每个$N_b$'独立地代表包含0至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列；

[0422] 每个$n_p$'和$n_q$'独立地代表一个突出端核苷酸；

[0423] 其中$N_b$'和Y'没有相同的修饰；

[0424] 以及

[0425] X'X'X'、Y'Y'Y'和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序。

[0426] 在一个实施例中，$N_a$'和/或$N_b$'包括交替模式的修饰。

[0427] Y'Y'Y'基序出现在反义链的切割位点处或附近。例如，当所述RNAi剂具有17至23个核苷酸长度的双链体区，Y'Y'Y'基序可发生在反义链的9、10、11、10、11、12；11、12、13；12、13、14；或13、14、15位置，与从5'-端1st核苷酸开始计数；或任选地，从从5'末端双链体区域内1st配对核苷酸开始的计数。优选地，Y'Y'Y'基序出现在位置11、12、13处。

[0428] 在一个实施例中，Y'Y'Y'基序都是2'-OMe修饰核苷酸。

[0429] 在一个实施例中，k是1并且l是0，或者k是0并且l是1，或者k和l都是1。

[0430] 因此，反义链可用下式表示：

[0431] 5'$n_q$,-$N_a$'-Z'Z'Z'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_a$'-$n_p$,3' (IIb)；

[0432] 5'$n_q$,-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-X'X'X'-$n_p$,3' (IIc)；或

[0433] 5'$n_q$,-$N_a$'-Z'Z'Z'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-X'X'X'-$N_a$'-$n_p$,3' (IId)。

[0434] 当反义链由下式(IIb)代表，$N_b$'代表包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$'独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0435] 当反义链被表示为式(IIc)中、$N_b$'代表包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$'独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0436] 当反义链如式(IId)表示时，每个$N_b$'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸。每个$N_a$'独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。优选地，$N_b$是0、1、2、3、4、5或6。

[0437] 在其他实施例中，k为0且l为0且反义链可由下式表示：

[0438] 5'$n_p$,-$N_a$,-Y'Y'Y'-$N_a$,-$n_q$,3' (Ia).

[0439] 当反义链表示为式(IIa)时，每个$N_a$'独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0440] X'、Y'和Z'中的每一个可以彼此相同或不同。

[0441] 正义链和反义链的每个核苷酸可以独立地被LNA、HNA、CeNA、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羟基或2'-氟修饰。例如，正义链和反义链的每个核苷酸独立地被2'-O-甲基或2'-氟修饰。特别是，每个X、Y、Z、X'、Y'和Z'可以代表2'-O-甲基

修饰或2'-氟修饰。

[0442] 在一个实施例中,当双链体区域为21nt时,RNAi剂的正义链可包含从5'末端的第1个核苷酸开始计数出现在所述链的位置9、10和11的YYY基序,或任选地,从5'末端开始计数,双链区域内第1个配对核苷酸开始;Y代表2'-F修饰。正义链可以另外包含XXX基序或ZZZ基序作为双链区另一端的翼修饰;XXX和ZZZ各自独立地代表2'-OMe修饰或2'-F修饰。

[0443] 在一个实施例中,反义链可以包含出现在从5'末端的第一个核苷酸开始的计数的链位置11、12、13的Y'Y'Y'基序,或任选地,从5'末端开始计数,从双链体区域内第一个配对核苷酸开始;Y'代表2'-O-甲基修饰。反义链可以另外包含X'X'X'基序或Z'Z'Z'基序作为双链区另一端的翼修饰;X'X'X'和Z'Z'Z'各自独立地表示2'-OMe修饰或2'-F修饰。

[0444] 上述式(Ia)、(Ib)、(Ic)和(Id)中任一个表示的正义链分别与式(IIa)、(IIb)、(IIc)和(IId)中任一个表示的反义链形成双链体。

[0445] 因此,用于本申请的方法中的RNAi剂可包含正义链和反义链,每条链具有14至30个核苷酸,RNAi双链体由式(III)表示:

[0446] 正义:5'$n_p$-$N_a$-$(XXX)_i$-$N_b$-YYY-$N_b$-$(ZZZ)_j$-$N_a$-$n_q$ 3'

[0447] 反义:3'

[0448] $n_p$'-$N_a$'-$(X'X'X')_k$-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-$(Z'Z'Z')_l$-$N_a$'-$n_q$'5'

[0449] (III)

[0450] 其中:

[0451] i、j、k和l各自独立地为0或1;

[0452] p、p'、q和q'各自独立地为0至6;

[0453] 每个$N_a$和$N_a$'独立地代表包含0至25个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列,各序列包含至少两个不同的经修饰的核苷酸;

[0454] 每个$N_b$和$N_b$'独立地代表包含0至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列;

[0455] 其中

[0456] 各$n_p$'、$n_p$、$n_q$'和$n_q$各自可能存在或不存在,独立地代表突出端核苷酸;以及

[0457] XXX、YYY、ZZZ、X'X'X'、Y'Y'Y'和Z'Z'Z'各自独立地代表三个连续核苷酸上三个相同修饰的一个基序。

[0458] 在一实施例中,i为0且j为0;或i为1且j为0;或i为0且j为1;或i和j均为0;或者i和j都是1。在另一个实施例中,k是0且l是0;或k为1且l为0;k为0,l为1;或k和l均为0;或者k和l都是1。

[0459] 形成RNAi双链体的正义链和反义链的实例性组合包括下式:

[0460] 5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3'

[0461] 3'$n_p$'-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_a$'$n_q$'5'

[0462] (IIIa)

[0463] 5'$n_p$-$N_a$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3'

[0464] 3'$n_p$'-$N_a$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-Z'Z'Z'-$N_a$'$n_q$'5'

[0465] (IIIb)

[0466] 5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_a$-$n_q$ 3'

[0467] 3'$n_p$'-$N_a$'-X'X'X'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_a$'-$n_q$'5'

[0468] (IIIc)

[0469] 5'$n_p$-$N_a$-XXX-$N_b$-YYY-$N_b$-ZZZ-$N_a$-$n_q$ 3'

[0470] 3'$n_p$'-$N_a$'-X'X'X'-$N_b$'-Y'Y'Y'-$N_b$'-Z'Z'Z'-$N_a$-$n_q$'5'

[0471] (IIId)

[0472] 当RNAi剂由式(IIIa)表示时,每个$N_a$独立地表示包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0473] 当RNAi剂由式(IIIb)表示时,每个$N_b$独立地代表包含1至10、1至7、1至5或1至4个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0474] 当RNAi剂如式(IIIc)表示时,每个$N_b$、$N_b$'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。

[0475] 当RNAi剂如式(IIId)表示时,每个$N_b$、$N_b$'独立地表示包含0至10、0至7、0至10、0至7、0至5、0至4、0至2或0个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。每个$N_a$、$N_a$'独立地代表包含2至20、2至15或2至10个经修饰的核苷酸的寡核苷酸序列。$N_a$、$N_a$'、$N_b$和$N_b$'中的每一个独立地包括交替模式的修饰。

[0476] 在一个实施例中,当RNAi剂由式(IIId)表示时,$N_a$修饰是2'-O-甲基或2'氟修饰。在另一个实施例中,当RNAi剂由式(IIId)表示时,$N_a$修饰是2'-O-甲基或2'氟修饰且$n_p$'>0且至少一个$n_p$'连接到通过硫代磷酸酯键合连接相邻的核苷酸。在又一个实施例中,当RNAi剂由式(IIId)表示时,$N_a$修饰是2'-O-甲基或2'氟修饰,$n_p$'>0且至少一个$n_p$'通过硫代磷酸酯键合连接到一个相邻的核苷酸,和正义链通过一个二价的或三价的支链连接(以下描述)附接结合至一个或多个C16(或相关)部分。在另一个实施例中,当RNAi剂由式(IIId)表示时,$N_a$修饰是2'-O-甲基或2'氟修饰,$n_p$'>0且至少一个$n_p$'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻核苷酸,正义链包括至少一个硫代磷酸酯键合,和正义链结合至一个或多个C16(或相关)部分,任选地附连通过一个二价的或三价的支链的连接子。

[0477] 在一个实施例中,当RNAi剂由式(IIIa)表示时,$N_a$修饰是2'-O-甲基或2'氟修饰,$n_p$'>0且至少一个$n_p$'通过硫代磷酸酯键合连接到相邻核苷酸,正义链包含至少一个硫代磷酸酯键合,且正义链与通过二价或三价支链连接子连接的一个或多个C16(或相关)部分结合。

[0478] 在一个实施例中,RNAi剂是包含至少两个由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的双链体的多聚体,其中双链体通过连接子连接。连接子可以是可裂解的或不可裂解的。任选地,多聚体还包含配体。每个双链体可以靶向相同的基因或两个不同的基因;或者每个双链体可以在两个不同的靶末端靶向相同的基因。

[0479] 在一个实施例中,RNAi剂是包含三个、四个、五个、六个或多个式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的双链体的多聚体,其中双链体连接通过连接子。连接子可以是可裂解的或不可裂解的。任选地,多聚体还包含配体。每个双链体可以靶向相同的基因或两个不同的基因;或者每个双链体可以在两个不同的靶末端靶向相同的基因。

[0480] 在一个实施例中,由式(III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)和(IIId)表示的两种RNAi剂在5'末端和3'末端之一或两者相互连接并且任选地结合至配体。每种药剂都可以靶向相同

的基因或两种不同的基因;或者每个药剂可以在两个不同的靶末端靶向相同的基因。

[0481] 各种公开文件描述了可用于本申请内容的方法中的多聚体RNAi剂。此类公开文件包括WO2007/091269、美国专利第7858769号、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887和WO2011/031520,其各自的全部内容通过引用并入本文。在某些实施例中,本申请内容的RNAi剂可包括GalNAc配体,即使目前预计此类GalNAc配体对于本申请内容的优选鞘内/CNS传递途径的价值有限。

[0482] 如下文更详细描述的,包含一种或多种碳水化合物部分与RNAi剂的结合物的RNAi剂可以优化RNAi剂的一种或多种特性。在许多情况下,碳水化合物部分将连接到RNAi剂的经修饰的亚基。例如,dsRNA剂的一个或多个核糖核苷酸亚基的核糖可以被另一部分替换,例如连接有碳水化合物配体的非碳水化合物(优选环状)载体。其中亚基的核糖已被如此取代的核糖核苷酸亚基在本文中称为核糖取代经修饰的亚基(RRMS)。环状载体可以是碳环系统,即所有环原子都是碳原子,或杂环系统,即一个或多个环原子可以是杂原子,例如氮、氧、硫。环状载体可以是单环系统,或者可以包含两个或多个环,例如稠环。环状载体可以是完全饱和的环系统,或者其可以包含一个或多个双键。

[0483] 配体可以通过载体连接到多核苷酸。载体包括(i)至少一个“骨架连接点”,优选两个“骨架连接点”和(ii)至少一个“共享连接点”。如本文所用,“骨架连接点”是指官能基,例如羟基,或一般而言,可用于且适合于将载体并入骨架中的键,例如磷酸酯或经修饰的磷酸酯,例如,核糖核酸的含硫主链。在一些实施例中,“共享连接点”(TAP)是指环状载体的构成环原子,例如碳原子或杂原子(不同于提供骨架连接点的原子),其连接选定的部分。所述部分可以是例如碳水化合物,例如单醣、二糖、三糖、四糖、寡糖和多醣。任选地,选择的部分通过插入的系链连接到环状载体。因此,环状载体通常包括官能基,例如氨基,或者通常提供适合于将另一化学实体例如配体结合或束缚到构成环的键。

[0484] RNAi剂可以通过载体与配体结合,其中载体可以是环状基团或非环状基团;优选地,所述环状基团选自吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、喹噁啉基、哒嗪基、四氢呋喃和十氢化萘;优选地,无环基团选自丝氨醇主链或二乙醇胺主链。

[0485] 在某些具体实施例中,RNAi剂为在本申请的方法中使用的是从在表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、和26中任一项中所列的组的剂。这些剂还可包含配体。

[0486] IV.APP敲除治疗APP相关疾病

[0487] 本申请的某些方面有关RNAi剂介导的APP相关疾病或病症的敲除,包括CAA和AD,包括遗传性CAA和EOFAD,以及散发型和/或晚发型AD。

[0488] 遗传性CAA(hCAA)是一种血管蛋白病,淀粉样蛋白治疗假说相对简单且临床可检验。这是一种毁灭性的罕见疾病,目前尚无治疗方法。生化和成像生物标志物都存在用于临床验证抗APP siRNA介导的hCAA治疗。

[0489] 考虑使用本申请内容的RNAi剂进行治疗的一种特定类型的hCAA是“荷兰型”Aβ hCAA,估计其患者群体有数百人,主要位于荷兰和西澳大利亚。在APP相关疾病中,hCAA的独特之处在于纯血管性:在CAA中,淀粉样原纤维沉积在中枢神经系统实质和软脑膜的小动脉和毛细血管中,导致CAA患者由于脑缺血和微出血导致认知能力下降。CAA存在于超过80%的所有AD个体中(25%的AD个体患有中度至重度CAA),并且CAA的发生率随着个体年龄的增

长而上升,70岁以上老年人的发生率约为50%年龄。

[0490] 以下是遗传性CAA的典型表达:

[0491] 淀粉样蛋白-β-散发型CAA、HCHWA-荷兰和意大利型EOFAD、LOAD、21三染色体

[0492] ABr-家族性英国痴呆症

[0493] ADan-家族性丹麦痴呆症

[0494] 胱抑素C-HCHWA-冰岛型(HCHWA-遗传性脑出血伴淀粉样变性)

[0495] 凝溶胶蛋白-家族性淀粉样变性-芬兰型

[0496] 朊病毒蛋白-朊病毒病

[0497] 甲状腺素运载蛋白-遗传性系统性淀粉样变性

[0498] 如上所述,Aβ-hCAA(又名APP-hCAA)是一种与脑内出血相关的快速进展的痴呆症。CAA的已知适应症包括APP-hCAA和散发型CAA。其他可能的CAA适应症包括:与EOFAD(PSEN1;APP;PSEN2)相关的CAA;与唐氏综合症相关的CAA;和与晚发型阿兹海默症相关的CAA(其患病率很常见,如上所述)。

[0499] 以APP-hCAA为指征,APP-hCAA的患病率尚不清楚;然而,纯APP-hCAA不如EOFAD常见(已在数百人中报导了荷兰型hCAA(有关APP E693Q突变))。通常,APP-hCAA症状的发作发生在35至45岁之间;APP-hCAA通常在2至5年内发展为严重CVA,导致CVA死亡的高峰年龄为55岁。

[0500] 散发型CAA作为适应症的患病率相对较高:其是老年人脑叶出血(ICH)的常见原因。其也是一种快速进展的疾病,在5年的平均随访时间内,316名患者中有86名(36%)发生复发性ICH(Van Etten等人,2016 Neurology)。在一项研究中观察到,散发型CAA的累积痴呆发病率在1年时为14%,在5年时为73%(Xiong等人,2017 J Cerebr Blood Flow Metab)。散发型CAA也与AD广泛重叠,因为已确定大约25%的AD大脑中存在晚期CAA;然而,不到50%的CAA病例实际上符合AD的病理标准。

[0501] 为了在用本申请内容的RNAi剂治疗的个体中评估APP敲除的功效,明确考虑可溶形式的APP,特别是包括APPα和APPβ可用作评估APP敲除效率的脑脊液(CSF)生物标志物.

[0502] CAA中β淀粉样蛋白的产生、消除和沈积:越来越多的证据表明Aβ的主要来源是神经元。其是由β-和γ-分泌酶按与神经元活动成比例的顺序裂解淀粉样前体蛋白(APP)产生的。通过四种主要途径从大脑中消除Aβ:(a)内肽酶(例如脑啡肽酶和胰岛素降解酶(IDE))的蛋白水解降解;(b)受体介导的脑实质细胞清除(小胶质细胞、星形胶质细胞和较小程度的神经元);(c)通过血脑屏障(BBB)主动转运到血液中;(d)沿血管周围通路消除,间质液从大脑排出。专门的载体(例如ApoE)和/或受体转运机制(例如,低密度脂蛋白受体(LDLR)和LDLR相关蛋白(LRP1))参与所有主要的细胞清除途径。血管沉积是由增加Aβ40:Aβ42比率的因素促进的(而增加的Aβ42导致寡聚化和淀粉样斑嵌段)并阻碍血管周围通道。随着清除机制随着年龄的增长而失效,Aβ越来越多地从血管周围引流通路进入脑毛细血管和小动脉的基底膜,导致CAA。ApoE等位基因对Aβ产生、消除和沈积的不同分子和细胞制程具有不同的影响,其会增加或减少发生CAA的风险(Charidimou A等人,J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012;83:124-137)。

[0503] APP的循序裂解通过两种途径发生。APP蛋白家族被认为具有较大的、具有生物活性的N端胞外域以及较短的C端,其中包含关键的酪氨酸-谷氨酸-天冬酰胺-脯氨酸-苏氨

酸-酪氨酸(YENPTY;SEQ ID NO:1863)衔接蛋白X11和Fe65结合的蛋白质分选结构域。产生的Aβ肽裂解产物在胞外域内开始并继续进入跨膜区域。在一种途径中,APP被α-分泌酶裂解,然后是γ-分泌酶在执行APP的非淀粉样蛋白加工制程中。在第二个途径中,APP的淀粉样蛋白生成制程有关BACE1裂解,然后是γ-分泌酶。这两种方法都产生可溶性胞外结构域(sAPPα和sAPPβ)和胞内相同的C末端片段(AICD;SEQ ID NO:1864;Thinakaran和Koo.J.Biol.Chem.283:29615-19;Reinhard等人,The EMBO Journal,24:3996-4006;Walsh等人,Biochemical Society Transactions,35:416-420;O'Brien和Wong.Annu Rev Neurosci.34:185-204)。

[0504] CAA组织病理学包括血管壁的形态学变化(如苏木精-伊红染色所示)和Aβ沉积。在软脑膜小动脉中,已经观察到显著的结构改变和双桶化(Charidimou等人,J Neurol Neurosurg Psychiatry 83:124-137)。在轻度和中度CAA中,仅检测到极小的结构变化;然而,在先进的CAA中,已经检测到显著的结构改变,其中最极端的是双桶化(中膜外层的分离和分层)。使用Aβ的免疫组织化学检测也观察到了软脑膜小动脉中CAA相关变化的类似病理范围。在轻度CAA中,在检查的血管壁中观察到淀粉样蛋白的斑片状沉积。中度CAA表达出更密集的淀粉样蛋白沉积,横跨整个血管壁,而重度CAA表达出双球血管和内皮受累。皮质小动脉中CAA的病理学发现表明Aβ沉积与疾病严重程度成正比。中度CAA示出Aβ的泛壁沉积以及周围脑实质中的Aβ沉积,而在重度CAA中,观察到双桶状血管,尽管与软脑膜血管相比,这种情况不太常见(Charidimou等人).

[0505] CAA的发病机制也已被检查。脑实质产生的β淀粉样蛋白通常通过血管周围途径清除。已观察到特定CAA倾向Aβ变体的Aβ表达过度产生和Aβ的延迟引流,导致淀粉样蛋白沉积在中枢神经系统小动脉中层。可溶性和不溶性淀粉样原纤维已被确定为对血管平滑肌有毒,此类原纤维取代了这些细胞,使血管反应性丧失。已经观察到对内皮的进一步损伤导致微出血、微梗塞和导致痴呆的组织破坏。进一步的进展导致了脑出血,这通常被观察到是致命的。CAA已被观察到最常发生在枕叶,较少发生在海马体、小脑、基底神经节,并且通常不在深部中央灰质、皮质下白质和脑干中(Charidimou等人)。

[0506] 已经为CAA人体研究的性能确定了许多潜在的结果标记。除了有症状的脑内出血外,微出血、脑白质白斑(WMH)和淀粉样蛋白成像与疾病的严重程度和进展有关(Greenburg等人,Lancet Neurol 13:419-28)。

[0507] 可用的测定也可用于检测人脑脊液样本中的可溶性APP水平。特别是,sAPP和sAPPβ是APP的可溶性形式,已被确定为PD(药效学)生物标志物。在非人类灵长类动物(NHP)CSF样本中也检测到了分析物,此类检测可以在NHP中进行功效研究。Aβ40/42/38肽和总tau/P181Tau的检测也已被描述并正在当前的研究中实施。

[0508] 成像生物标志物也可用于CAA研究,因为已确定脑血管功能可反映CAA的病理学。成像已专门用于测量视觉刺激后的血氧水平依赖性(BOLD)信号(Van Opstal等人,The lancet Neurology;16(2);2017;Peca S等人,Neurology.2013;81(19);Switzer A等人,NeuroImage Clinical;2016)。在对CAA个体进行BOLD fMRI时(评估运动和视觉任务的组血氧水平依赖性功能性MRI反应),已观察到CAA患者的功能性MRI激活减少。特别地,在视觉皮质BOLD fMRI的活性已观察到具有较高的体积WMH和更高的微出血计数相关联(Peca等人,Neurology 2013;81(19);Switzer等人,NeuroImage Clinical 2016)。

[0509] CAA的动物模型亦有描述,其允许确定APP敲除对CAA病理学的影响并鉴定可翻译的生物标志物。特别是,已经开发了多种表达突变人类APP并示出CAA病理的囓齿动物模型,包括Tg-SwDI/NOS2-/-。在Tg-SwDI/NOS2-/-模型小鼠中,随着模型小鼠年龄的增加,Aβ水平升高。血管周围过度磷酸化的tau蛋白也与毛细血管淀粉样蛋白相关,不仅在Tg-SwDI/NOS2-/-小鼠中,而且在人类CAA 1型样本中也存在(Hall及Roberson.Brain Res Bull.2012;88(1):3-12;Attems等人,Nephrology and Applied Neurobiology,2011,37,75-93)。AD的CVN小鼠模型(APPSDI/NOS2KO)也表达出表达型,包括海马体、丘脑和皮质中的淀粉样斑嵌段、增加的组织炎症和行为缺陷。还开发了转基因大鼠模型(携带hAPP突变)。

[0510] 因此,APP已被确定为遗传性脑淀粉样血管病(CAA)的靶点。导致严重形式的CAA的APP突变包括A692G(佛来米希)、E693Q(荷兰)、E693K(意大利)和D694N(爱荷华州)已被报导。同时,导致早发型AD的APP突变包括E665D、K670N、M671L(瑞典)、T714A(伊朗)、T714I(奥地利)、V715M(法国)、V715A(德国)、I716V(佛罗里达)、I716T、V717I(伦敦)、V717F、V717G和V717L已被描述。特别是APP E693Q(荷兰)突变导致严重的CAA,几乎没有实质神经原纤维缠结;E693Q增加β淀粉样蛋白聚集和毒性;E693K(意大利)是类似的,但E693G(北极)、E693A和E693delta突变会导致没有CAA或CAA很少的EOFAD;以及APP D694N(爱荷华州)会导致具有典型AD病理的严重CAA。除了上述点突变外,导致APP过度表达的APP重复也已被确定为导致Aβ沉积。同时,尚未描述任何已知的APP突变可以阻止或延迟APP-hCAA。除了APP突变体,还观察到AβCAA的PSEN1(L282V)和PSEN2(N141I)突变。同时,ApoEε2(独立于AD)和ApoEε4(依附于AD)也被报导为CAA的危险因素(Rensink A等人,Brain Research Reviews,43(2)2003)。

[0511] 本申请的某些方面有关靶向APP以在具有APP-hCAA的个体中进行敲除。由于目前没有针对CAA的疾病改善疗法,因此需要此类药剂。在某些实施例中,本申请内容的RNAi剂应提供整个CNS中突变体和WT APP水平的约60至80%的敲除。

[0512] 具有杂合APP突变的人类存在于pLI评分为0.3的一般人群中;然而,到目前为止,还没有发现人类APP基因敲除。

[0513] 治疗人类CAA的药理学尝试包括:

[0514] Pfizer公司在36名患有晚发型CAA的个体中研究了一种淀粉样蛋白40抗体Ponezumab,在60天的过程中对Ponezumab或安慰剂的3次输注进行了评估,以通过BOLD fMRI测量脑血管反应性以及脑血管反应性的变化。水肿、梗死、Aβ、认知改变和其他次要结果。Ponezumab示出出药物与安慰剂的差异,但未达到主要终点。

[0515] BAN2401-系统性传递的β淀粉样蛋白治疗性抗体被证实是安全的,但也可能导致局部脑水肿。在最近的LOAD中BAN2401的II期18个月试验中,安慰剂的SAE发生率为17.6%,最高剂量(每两周10mg/kg)的SAE发生率为15.5%。淀粉样蛋白相关成像异常-水肿(ARIA-E)在APOE4携带者的最高剂量下为14.6%。

[0516] 与动物CAA模型相比,ponezumab在降低β淀粉样蛋白负荷和血管反应性方面在CAA小鼠模型中是有效的(Bales,2018)。与此同时,全球APP基因敲除小鼠也被进一步认为是可行的。

[0517] 以下实例性生物标志物和病理资料还进一步验证了β淀粉样蛋白在CAA发病机制中的主要作用:

[0518] 已观察到遗传形式的“纯”CAA(即缺乏实质斑嵌段淀粉样蛋白)的特征在于淀粉样蛋白中主要的Aβ40沉积,而不是实质AD中的Aβ42;

[0519] 已经观察到CAA不是“tau病(tauopathy)”,CSF中T-tau和P-tau水平正常,与AD中观察到的水平升高相反;

[0520] 通过PiB PET测量的脑淀粉样蛋白负荷增加与CSF Aβ40水平降低的负相关已被确定为CAA独有的;以及

[0521] 体外和体内实验资料为CAA中的朊病毒假说提供越来越多的支持,其中含有遗传性CAA突变的Aβ40具有错误折迭和诱导WT蛋白错误折迭的倾向,因此两者都存在于淀粉样原纤维中(类似于转甲状腺素蛋白(TTR))。

[0522] 如以下实施例中所公开的,本申请提供许多小鼠/大鼠交叉反应性APP靶向双链体(包括,例如,AD-397177、AD397192、AD-397196、AD-397182、AD397190、AD-397265和AD-397203),基于对APP肝脏mRNA获得的筛选结果,当双链体以2mg/Kg单次施用时,在施用后第21天评估。本申请还提供许多人类/食蟹猴交叉反应性双链体(包括,例如,AD-392911、AD-392912、AD-392703、AD-392866、AD-392927、AD-392913、AD-392843、AD-392916、AD-392714、AD-392844、AD-392926、AD-392824、AD-392704和AD-392790),基于为治疗初代食蟹猴肝细胞和人类BE(2)C细胞获得的筛选结果。

[0523] 还明确考虑了RNAi剂介导的EOFAD敲除。与hCAA一样,EOFAD是一种破坏性和罕见的疾病,对于hCAA,APP的因果作用已经确定,并且与散发型和/或晚发型AD(可选晚发型AD伴随严重CAA作为晚发型AD的一个子类)EOFAD是一种发生在年轻成人中的渐进性痴呆神经退行性疾病,发病年龄在60至65岁之前,通常在55岁之前。

[0524] EOFAD的患病率估计为每100,000人中41.2人的高危人群(即40至59岁的人),其中61%受EOFAD影响的人有EOFAD阳性家族史(其中13%三代人中受影响的个体)。EOFAD占所有AD的比例不到3%(Bird,Genetics in Medicine,10:231-239;Brien及Wang.Annu Rev Neu Sci,2011,34:185-204;NCBI Gene Reviews)。

[0525] 提供APP靶(OMIM 104300)的人类基因验证,已确定导致EOFAD的某些APP突变,包括如上所述的E665D、K670N、M671L(瑞典)、T714A(伊朗)、T714I(奥地利)、V715M(法国)、V715A德语)、I716V(佛罗里达)、I716T、V717I(伦敦)、V717F、V717G和V717L。此外,还确定了导致EOFAD和CAA的显性β淀粉样前体蛋白突变。

[0526] 不希望受理论束缚,认为AD的发病机制始于海马体,即紧邻两侧侧脑室上方的灰质脊。这种组织的退化被认为会导致早期疾病的记忆丧失特征。虽然蛋白质水平的神经变性机制一直存在很大争议,但与EOFAD相关的APP重复表明APP的过度表达可能足以引起AD。(Haass和Selkoe.Nature Reviews Molecular Cell Biology,8:101-112)。

[0527] 与EOFAD和CAA相比,散发型AD的发病机制尚不清楚,临床定义的散发型AD人群可能在机制上是异质的。

[0528] 本申请的某些方面有关靶向APP以在患有EOFAD的个体中进行敲除。存在对此类药剂的需求,因为对于更普遍的AD,尤其是EOFAD,仅存在针对症状的治疗(功效有限)。在某些实施例中,本申请内容的RNAi剂应提供整个CNS中突变体和WT APP水平的约60至80%的敲除。一项来自人类遗传学的进一步观察表明,能够降低CNS细胞中APP水平的APP靶向疗法可能具有治疗功效,即鉴定了一种A673T突变,可保护普通人群中的AD和痴呆症携带者

(Jonsson等人,Nature Letter,488.doi:doi:10.1038/nature11283)。A673T取代与β-分泌酶切割位点相邻,且已被描述为导致细胞检测中β-淀粉样蛋白减少40％。因此,显性负性APP点突变体似乎可以保护家庭免受AD侵害,进一步加强了RNAi剂介导的APP敲除可以在至少某些形式的AD(包括EOFAD)中发挥类似的保护和/或治疗作用。

[0529] 帮助APP靶向RNAi剂开发的初始阶段,已经注意到APP敲除小鼠是可行的(OMIM 104300),这有望允许在先导化合物开发制程中可行地使用小鼠作为模型系统。与小鼠相反,虽然在一般人群中存在EXAC评分为0.3的具有杂合APP突变的人类,但迄今为止尚未发现人类APP基因敲除。可用于开发靶向APP的RNAi剂的生物标志物包括CSF中的APP和MAPT肽,即使在基因同质的人群中,其亦应允许快速评估和有用的功效(Mo等人,(2017)Alzheimers&Dementia:Diagnosis,Assessment&Disease Monitoring,6:201-209)。

[0530] 如上所述,治疗散发型AD和EOFAD的尝试迄今已被证明是不成功的——例如,迄今为止,所有用于治疗散发型AD的BACE1(β-分泌酶)抑制剂(BACE1i)试验都失败了(Egan等人,The New England Journal of Medicine,378:1691-1703;Hung和Fu.Journal of Biomedical Science,24:47)。在此类BACEi测试中,尚未在基因定义的人群中完成研究(仅临床研究)。值得注意的是,最近的BACE1i研究表明,在根据年龄和临床标准选择的人群中,verubecestat(新药)将淀粉样蛋白水平降低了60％,这些标准表明可能诊断为AD(Egan等人,The New England Journal of Medicine,378:1691-1703;Hung和Fu.Journal of Biomedical Science,24:47)。同时,一种流行的Aβ导向免疫疗法在最近的散发型AD试验中证明了概念证明,支持正在进行的临床III期试验((Selkoe和Hardy.EMBO Molecular Medicine,8:595-608)。鉴于其在APP裂解中的作用,γ-分泌酶也已成为某些AD导向试验的靶。然而,迄今为止,尚未在遗传定义的人群中完成γ-分泌酶抑制剂试验;且一些计画因毒性而停止(Selkoe及Hardy)。

[0531] 因此,需要能够治疗或预防受影响个体的APP相关疾病或病症的药剂。

[0532] 明确预期使用本申请内容的RNAi剂最终可靶向所有APP相关疾病或病症——具体而言,本申请内容的RNAi剂也预期靶向散发型CAA和散发型和/或晚发型AD,甚至考虑到这些特定APP相关疾病目前面临的诊断/表达型问题(进一步预期这些疾病的诊断也将继续改进)。

[0533] V.与配体结合的RNAi剂

[0534] 本申请内容的RNAi剂的RNA的另一种修饰有关将一个或多个增强RNAi的活性、细胞分布或细胞摄取的配体、部分或结合物化学连接至RNA。此类部分包括但不限于脂质部分,例如胆固醇部分(Letsinger等人,(1989)Proc.Natl.Acid.Sci.USA,86:6553-6556)、胆酸(Manoharan等人,(1994)Biorg.Med.Chem.Let.,4:1053-1060)、硫醚,例如绿柱石-S-三苯甲基硫醇(Manoharan等人,(1992)Ann.N.Y.Acad.Sci.,660:306-309;Manoharan等人,(1993)Biorg.Med.Chem.Let.,3:2765-2770)、硫胆固醇(Oberhauser等人,(1992)Nucl.Acids Res.,20:533-538)、脂肪链,例如十二烷二醇或十一烷基残基(Saison-Behmoaras等人,(1991)EMBO J,10:1111-1118;Kabanov等人,(1990)FEBS Lett.,259:327-330;Svinarchuk等人,(1993)Biochimie,75:49-54)、磷脂,例如二-十六烷基-外消旋-甘油或三乙基-铵1,2-二-O-十六烷基-外消旋-甘油-3-磷酸酯(Manoharan等人,(1995)Tetrahedron Lett.,36:3651-3654;Shea等人,(1990)Nucl.Acids Res.,18:3777-3783)、

多胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,(1995)Nucleosides&Nucleotides,14:969-973),或金刚烷乙酸(Manoharan等人,(1995)Tetrahedron Lett.,36:3651-3654)、棕榈基部分(Mishra等人,(1995)Biochim.Biophys.Acta,1264:229-237),或十八胺或己胺基-羰基氧胆固醇部分(Crooke等人,(1996)J.Pharmacol.Exp.Ther.,277:923-937)。

[0535] 在一个实施例中,配体改变其所掺入的RNAi剂的分布、靶向或寿命。在优选的实施例中,配体提供对选定靶标例如分子、细胞或细胞类型、区室例如细胞或器官区室、组织、器官或身体区域的增强的亲和力,例如与不存在这种配体的物种相比。优选的配体不参与双链核酸中的双链配对。

[0536] 配体可包括天然存在的物质,例如蛋白质(例如人类血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白(LDL)或球蛋白);碳水化合物(例如,葡聚醣、支链淀粉、几丁质、壳聚醣、菊粉、环糊精、N-乙酰胺基葡萄糖、N-乙酰半乳糖胺或透明质酸);或脂质。配体也可以是重组或合成分子,例如合成聚合物,例如合成聚氨基酸。聚氨基酸的实例包括聚氨基酸是聚赖氨酸(PLL)、聚L天冬氨酸、聚L-谷氨酸、苯乙烯-马来酸酐共聚物、聚(L-丙交酯-共-乙醇酸)共聚物、二乙烯基醚-马来酸酐共聚物、N-(2-羟丙基)甲基丙烯酰胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙烯醇(PVA)、聚氨酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-异丙基丙烯酰胺聚合物或聚磷嗪。多胺的实例包括:聚乙烯亚胺、聚赖氨酸(PLL)、精氨、亚精氨、多胺、假肽-多胺、拟肽多胺、树枝状多胺、精氨酸、脒、鱼精蛋白、阳离子脂质、阳离子卟啉、多胺的季盐或α螺旋肽。

[0537] 配体还可以包括靶向基团,例如细胞或组织靶向剂,例如凝集素、糖蛋白、脂质或蛋白质,例如结合特定细胞类型,例如肾细胞的抗体。靶向基团可以是促甲状腺素、促黑素、凝集素、糖蛋白、表面活性蛋白A、黏蛋白碳水化合物、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰-半乳糖胺、N-乙酰-葡糖胺多价甘露糖、多价岩藻糖、糖基化聚氨基酸、多价半乳糖、转铁蛋白、双磷酸盐、聚谷氨酸盐、聚天冬氨酸盐、脂质、胆固醇、类固醇、胆汁酸、叶酸、维生素B12、维生素A、生物素或RGD肽或RGD肽类似物。

[0538] 配体的其他例子包括染料、嵌入剂(例如吖啶)、交联剂(例如补骨脂素、丝裂霉素C)、卟啉(TPPC4、特萨菲林(texaphyrin)、噻啉(Sapphyrin))、多环芳烃(例如吩嗪、二氢吩嗪)、人工核酸内切酶(例如EDTA)、亲脂性分子,例如胆固醇、胆酸、金刚烷乙酸、1-芘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶基氧基己基、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕榈酸、肉荳蔻酸、O3-(油酰基)石胆酸、O3-(油酰基)胆酸、二甲氧基三苯甲基或吩噁嗪)和肽结合物(例如,触角肽、Tat肽)、烷基化剂、磷酸盐、氨基、巯基、PEG(例如PEG-40K)、MPEG、$[MPEG]_2$、聚氨基、烷基、取代烷基、放射性标记物、酶、半抗原(例如生物素)、转运/吸收促进剂(例如,阿司匹林、维生素E、叶酸)、合成核糖核酸酶(例如,咪唑、双咪唑、组胺、咪唑簇、吖啶-咪唑结合物、四氮杂大环的Eu3+复合物)、二硝基苯基、HRP或AP。

[0539] 配体可以是蛋白质,例如糖蛋白,或肽,例如对共配体具有特定亲和力的分子,或结合特定细胞类型例如CNS细胞的抗体,例如抗体。配体还可以包括激素和激素受体。其还可包括非肽类物质,例如脂质、凝集素、碳水化合物、维生素、辅助因子、多价乳糖、多价半乳糖、N-乙酰-半乳糖胺、N-乙酰-葡糖胺多价甘露糖或多价岩藻糖。

[0540] 配体可以是一种物质,例如,一种药物,其可以通过例如破坏细胞的细胞骨架,例如通过破坏细胞的微管、微丝和/或中间丝来增加RNAi剂对细胞的摄取。药物可以是,例如,紫杉醇、长春新碱、长春碱、细胞松弛素、诺考达唑、茉莉花内酯(japlakinolide)、海藻蛋白

A、鬼笔环肽、斯温霍利德A(swinholide A)、茚满(indanocine)或肌球蛋白(myoservin)。

[0541] 在一些实施例中,与本文所述的RNAi剂连接的配体充当药代动力学调节剂(PK调节剂)。PK调节剂包括亲脂性物质、胆汁酸、类固醇、磷脂类似物、肽、蛋白质结合剂、PEG、维生素等。实例性PK调节剂包括但不限于胆固醇、脂肪酸、胆酸、石胆酸、二烷基甘油酯、二酰基甘油酯、磷脂、鞘脂、萘普生、布洛芬、维生素E、生物素等。还已知包含多个硫代磷酸酯键合的寡核苷酸与血清蛋白结合,因此短的寡核苷酸,例如约5个碱基、10个碱基、15个碱基或20个碱基的寡核苷酸,在主链中包含多个硫代磷酸酯键合也适用于本申请作为配体(例如作为PK调节配体)。此外,结合血清成分(例如血清蛋白)的适体也适合用作本文所述实施例中的PK调节配体。

[0542] 本申请内容的配体结合的寡核苷酸可以通过使用带有突出端反应性官能基的寡核苷酸合成,例如源自连接分子附着到寡核苷酸上的那些(如下所述)。所述反应性寡核苷酸可以直接与市售配体、合成的带有多种保护基团的配体或具有连接部分的配体反应。

[0543] 本申请的结合物中使用的寡核苷酸可以通过众所周知的固相合成技术方便地和常规地制备。用于此类合成的设备由多个供应商出售,包括例如,应用生物系统公司(Foster City,CA)。可以额外地或替代地使用本领域已知的用于此类合成的任何其他方式。还已知使用类似技术来制备其他寡核苷酸,例如硫代磷酸酯和烷基化衍生物。

[0544] 在本申请的配体结合的寡核苷酸和带有配体-分子的序列特异性连接的核苷中,寡核苷酸和寡核苷可以利用标准核苷酸或核苷前驱物,或已经带有序列特异性的核苷酸或核苷结合物前驱物在合适的DNA合成仪上组装已经带有配体分子的连接部分、配体-核苷酸或核苷-结合物前驱物,或带有非核苷配体的结构单元。

[0545] 当使用已经带有连接部分的核苷酸结合物前驱物时,序列特异性连接核苷的合成通常完成,然后配体分子与连接部分反应以形成配体结合的寡核苷酸。在一些实施例中,除了可商购且常规用于寡核苷酸合成的标准亚磷酰胺和非标准亚磷酰胺之外,本申请的寡核苷酸或连接的核苷通过自动合成仪使用源自配体-核苷结合物的亚磷酰胺合成。

[0546] A.亲脂性部分

[0547] 在某些实施例中,亲脂性部分是脂族的、环状的例如脂环族的或多环的例如多脂环族化合物,例如类固醇(例如甾醇)或直链或支链的脂族烃。亲脂性部分通常可以包含烃链,其可以是环状的或无环的。烃链可包含各种取代基和/或一个或多个杂原子,例如氧或氮原子。此类亲脂性脂肪族部分包括但不限于饱和或不饱和$C_4$-$C_{30}$烃(例如$C_6$-$C_{18}$烃)、饱和或不饱和脂肪酸、蜡(例如脂肪酸和脂肪二酰胺的一元醇酯)、萜烯(例如,$C_{10}$萜烯、$C_{15}$倍半萜烯、$C_{20}$二萜、$C_{30}$三萜和$C_{40}$四萜)和其他多脂环烃。例如,亲脂性部分可以包含$C_4$至$C_{30}$烃链(例如,$C_4$至$C_{30}$烷基或烯基)。在一些实施例中,亲脂性部分包含饱和或不饱和的$C_6$至$C_{18}$烃链(例如,线性$C_6$至$C_{18}$烷基或烯基)。在一个实施例中,亲脂性部分包含饱和或不饱和$C_{16}$烃链(例如,线性$C_{16}$烷基或烯基)。

[0548] 亲脂性部分可以通过本领域已知的任何方法连接至RNAi剂,包括通过亲脂性部分中已经存在或引入到RNAi剂中的官能基,例如羟基(例如—CO—$CH_2$—OH)。亲脂性部分中已经存在或引入到RNAi剂中的官能基包括但不限于羟基、胺、羧酸、磺酸盐、磷酸盐、硫醇、叠氮化物和炔烃。

[0549] RNAi剂与亲脂性部分的结合可例如通过在羟基与烷基R-、烷酰基RCO-或取代的氨

基甲酰基RNHCO-之间形成醚或羧酸或氨基甲酸酯键而发生。烷基R可以是环状的(例如环己基)或非环状的(例如直链或支链的;以及饱和的或不饱和的)。烷基R可以是丁基、戊基、己基、庚基、辛基、壬基、癸基、十一烷基、十二烷基、十三烷基、十四烷基、十五烷基、十六烷基、十七烷基或十八烷基等。

[0550] 在一些实施例中,亲脂性部分通过连接子结合至双链RNAi剂,连接子包含醚、硫醚、尿素、碳酸盐、胺、酰胺、马来酰亚胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺酰胺键、点击反应(例如,来自叠氮化物-炔烃环加成的三唑)或氨基甲酸酯。

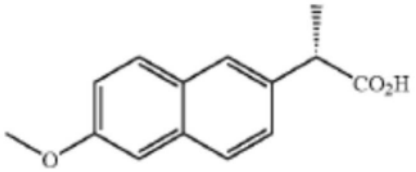
[0551] 在另一个实施例中,亲脂性部分是类固醇,例如甾醇。类固醇是含有全氢-1,2-环戊基菲环系统的多环化合物。类固醇包括但不限于胆汁酸(例如胆酸、脱氧胆酸和脱氢胆酸)、可的松、地高辛、睾酮、胆固醇和阳离子类固醇,例如可的松。"胆固醇衍生物"是指例如通过取代、添加或去除取代基而衍生自胆固醇的化合物。

[0552] 在另一个实施例中,亲脂性部分是芳香部分。在此上下文中,术语"芳族"泛指单芳烃和多芳烃。芳族基团包括但不限于包含一到三个芳环的$C_6$-$C_{14}$芳基部分,其可以任选地被取代;"芳烷基"或"芳烷基"基团包含与烷基共价连接的芳基,其中任一者可独立地被任选地取代或未取代;和"杂芳基"基团。如本文所用,术语"杂芳基"是指具有5至14个环原子,优选5、6、9或10个环原子的基团;具有在循环阵列中共享的6、10或14π电子,并且除碳原子外,还具有1至约3个选自由氮(N)、氧(O)和硫(S)组成的组的杂原子。

[0553] 如本文所用,"取代的"烷基、环烷基、芳基、杂芳基或杂环基团是具有1至约4个,优选1至约3个,更优选1或2个非氢取代基的基团。合适的取代基包括但不限于卤素、羟基、硝基、卤代烷基、烷基、烷芳基、芳基、芳烷基、烷氧基、芳氧基、氨基、酰胺基、烷基氨基甲酰基、芳基氨基甲酰基、氨基烷基、烷氧基羰基、羧基、羟烷基、烷磺酰基、芳烃磺酰基、烷磺酰胺基、芳烷基磺酰胺基、烷基羰基、酰氧基、氰基和脲基。

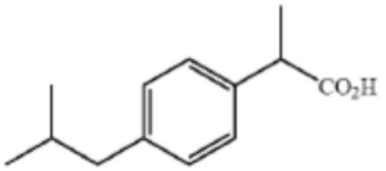
[0554] 在一些实施例中,亲脂性部分是芳烷基,例如2-芳基丙酰基部分。选择芳烷基的结构特征使得亲脂性部分在体内结合至少一种蛋白质。在某些实施例中,选择芳烷基的结构特征使得亲脂性部分结合血清、血管或细胞蛋白质。在某些实施例中,芳烷基的结构特征促进与白蛋白、免疫球蛋白、脂蛋白、α-2-巨球蛋白或α-1-糖蛋白的结合。

[0555] 在某些实施例中,配体是萘普生(Naproxen)或萘普生的结构衍生物。萘普生的合成制程可以在美国专利第3,904,682号中和美国专利第4,009,197号中找到,其全部内容以引用方式并入本文。萘普生的化学名称为(S)-6-甲氧基-α-甲基-2-萘乙酸酯,结构式为




。

[0556] 在某些实施例中,配体是布洛芬或布洛芬的结构衍生物。布洛芬的合成制程可以在美国专利第3,228,831号中找到,其全部内容通过引用并入本文。布洛芬的结构式为




。

[0557] 另外的实例性芳烷基在美国专利第7,626,014号中进行了说明,所述专利通过引用整体并入本文。

[0558] 在另一个实施例中,合适的亲脂性部分包括脂质、胆固醇、视黄酸、胆酸、金刚烷乙酸、1-芘丁酸、二氢睾酮、1,3-双-O(十六烷基)甘油、香叶基氧基己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基、棕榈酸、肉豆蔻酸、O3-(油酰基)石胆酸、O3-(油酰基)胆酸、布洛芬、萘普生、二甲氧基三苯甲基或吩噁嗪。

[0559] 在某些实施例中,可以将多于一种的亲脂性部分并入双链RNAi剂中,特别是当亲脂性部分具有低亲脂性或疏水性时。在一个实施例中,两个或多个亲脂性部分被并入双链RNAi剂的同一条链中。在一个实施例中,双链RNAi剂的每条链都掺入了一个或多个亲脂性部分。在一个实施例中,两个或多个亲脂性部分被并入双链RNAi剂的相同位置(即,相同的核碱基、相同的糖部分或相同的核苷间键合)。这可以通过例如通过载体结合两个或多个亲脂性部分和/或通过支化连接子结合两个或多个亲脂性部分和/或通过一个或多个连接子结合两个或多个亲脂性部分来实现,具有一个或多个连续连接亲脂性部分的连接子。

[0560] 亲脂性部分可以通过与RNAi剂的核糖直接连接而与RNAi剂结合。或者,亲脂性部分可以通过连接子或载体与双链RNAi剂结合。

[0561] 在某些实施例中,亲脂性部分可以通过一个或多个连接子(系链)与RNAi剂结合。

[0562] 在一个实施例中,亲脂性部分通过含有醚、硫醚、尿素、碳酸盐、胺、酰胺、马来酰亚胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺酰胺键、点击反应产物(例如,来自叠氮化物-炔烃环加成的三唑)或氨基甲酸酯的连接子与双链RNAi剂结合。

[0563] 实例性的连接子、系链、载体、核酸修饰、结合物、配体和用于实现本申请的靶向APP的RNAi剂的中枢神经系统定向传递的其他部分在例如美国申请第62/668,072、62/738,747和/或62/773,082号,其全部内容通过引用并入本文。

[0564] B.脂质结合物

[0565] 在一个实施例中,配体或结合物是脂质或基于脂质的分子。这种脂质或基于脂质的分子优选结合血清蛋白,例如人类血清白蛋白(HSA)。HSA结合配体允许结合物的血管分布到靶组织,例如身体的非肾靶组织。在某些实施例中,靶组织可以是CNS,包括脑的神经胶质细胞。其他可以结合HSA的分子也可以用作配体。例如,可以使用neproxin或阿司匹林。脂质或基于脂质的配体可以(a)增加对结合物降解的抵抗力,(b)增加靶向或转运到靶细胞或细胞膜中,和/或(c)可用于调节与血清蛋白的结合,例如,HSA。

[0566] 基于脂质的配体可抑制,例如,控制结合物与靶组织的结合。例如,与HSA结合更强的脂质或基于脂质的配体将不太可能靶向肾脏,因此不太可能从体内清除。与HSA结合较弱的脂质或基于脂质的配体可用于将结合物靶向肾脏。

[0567] 任选地,基于脂质的配体结合HSA。优选地,其以足够的亲和力结合HSA,使得结合物优选分布至非肾组织。然而,优选亲和力不强到不能逆转HSA-配体结合。

[0568] 在另一个优选的实施例中,基于脂质的配体与HSA弱结合或根本不结合,使得结合

物优选分布至肾脏。也可以使用靶向肾细胞的其他部分代替基于脂质的配体或除了基于脂质的配体。

[0569] 在另一方面,配体是被靶细胞例如增殖细胞吸收的部分,例如维生素。这些特别适用于治疗以不需要的细胞增殖为特征的疾病,例如恶性或非恶性类型的细胞,例如癌细胞。实例性维生素包括维生素A、E和K。其他实例性维生素包括B族维生素,例如叶酸、B12、核黄素、生物素、吡哆醛或其他维生素或被靶细胞例如脑细胞吸收的营养素。还包括HSA和低密度脂蛋白(LDL)。

[0570] C.细胞渗透剂

[0571] 在另一方面,配体是细胞渗透剂,优选为螺旋细胞渗透剂。优选地,所述剂是两亲性的。实例性剂是肽,例如tat或触角足(antennopedia)。如果剂是肽,则可以对其进行修饰,包括肽类似物、转化异构体、非肽或假肽键以及D-氨基酸的使用。螺旋剂优选为α-螺旋剂,其优选为具有亲脂相和疏脂相。

[0572] 配体可以是肽或肽类似物。肽类似物(在本文中也称为寡肽类似物)是能够折迭成类似于天然肽的确定的三维结构的分子。肽和肽类似物的至附接的RNAi剂可影响的药物动力学分布RNAi剂,如通过增强细胞识别和吸收。肽或肽类似物部分可以是约5至50个氨基酸的长度,例如约5、10、15、20、25、30、35、40、45或50个氨基酸的长度。

[0573] 肽或肽类似物可以是例如细胞渗透肽、阳离子肽、两亲肽或疏水肽(例如,主要由Tyr、Trp或Phe组成)。肽部分可以是树枝状肽、受限肽或交联肽。在另一个替代例中,肽部分可包括疏水性膜易位序列(MTS)。实例性的含有疏水性MTS的肽是具有氨基酸序列AAVALLPAVLLALLAP(SEQ ID NO:29)的RFGF。包含疏水性MTS的RFGF类似物(例如,氨基酸序列AALLPVLLAAP(SEQ ID NO:30))也可以是靶向部分。肽部分可以是"传递"肽,其可以携带大极性分子,包括肽、寡核苷酸以及跨细胞蛋白的膜。例如,来自HIV Tat蛋白(GRKKRRQRRRPPQ(SEQ ID NO:31)和果蝇触角足蛋白(RQIKIWFQNRRMKWKK(SEQ ID NO:32)的序列已被发现能够作为传递肽发挥功能,肽或肽类似物可由DNA的随机序列编码,例如从噬菌体展示库或单珠一化合物(OBOC)组合库中鉴定的肽(Lam等人,Nature,354:82-84,1991)。为了细胞靶向目的,通过掺入的单体单元与dsRNA剂拴系的肽或肽类似物的实例是精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)-肽或RGD类似物。肽部分的长度可在约5个氨基酸至约40个氨基酸的范围内。肽部分可具有结构修饰,例如以增加稳定性或直接构象特性。可以利用下面描述的任何结构修改。

[0574] 用于本申请的组成物和方法的RGD肽可以是线性的或环状的,且可以修饰,例如糖基化或甲基化,以促进靶向特定组织。含RGD的肽和肽类似物可能包括D-氨基酸,以及合成的RGD类似物。除了RGD,还可以使用其他靶向整联蛋白配体的部分。所述配体的优选结合物靶向PECAM-1或VEGF。

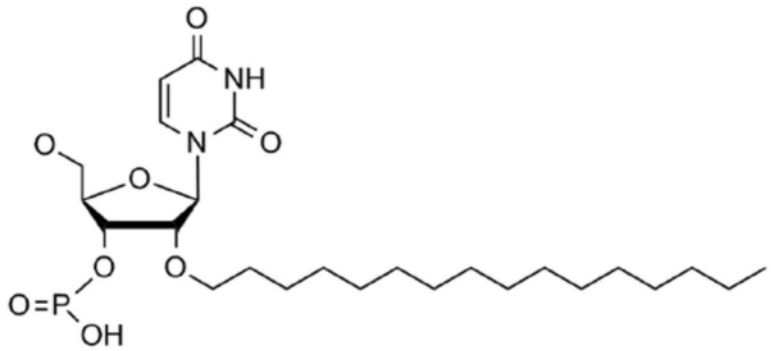
[0575] "细胞渗透肽"能够渗透细胞,例如微生物细胞,例如细菌或真菌细胞,或哺乳动物细胞,例如人类细胞。微生物细胞渗透肽可以是例如α-螺旋线性肽(例如,LL-37或赛洛平P1(Ceropin P1))、含有二硫键的肽(例如,α-防御素、β-防御素或细菌素),或仅包含一个或两个主要氨基酸(例如,PR-39或吲哚美辛(indolicidin))的肽。细胞渗透肽还可包括核定位信号(NLS)。例如,细胞渗透肽可以是二分两亲性肽,例如MPG,其衍生自HIV-1gp41的融合肽域和SV40大T抗原的NLS(Simeoni等人,Nucl.Acids Res.31:2717-2724,2003)。

[0576] D.碳水化合物结合物和配体

[0577] 在本申请的组成物和方法的一些实施例中,RNAi剂寡核苷酸进一步包含碳水化合物。碳水化合物结合的RNAi剂有利于核酸的体内传递,以及适用于体内治疗用途的组成物,如本文所述。如本文所用,“碳水化合物”是指本身是由一个或多个具有氧、氮或硫原子的具有至少6个碳原子(可以是直链、支链或环状)的单醣单元组成的碳水化合物的化合物与每个碳原子键合;或具有碳水化合物部分作为其一部分的化合物,所述碳水化合物部分由一个或多个单醣单元组成,每个单醣单元具有至少六个碳原子(可以是直链、支链或环状),每个碳原子上都连接有氧、氮或硫原子。代表性的碳水化合物包括醣类(包含约4、5、6、7、8或9个单醣单元的单醣、二糖、三糖和低聚醣)和多醣,例如淀粉、糖原、纤维素和多醣胶。具体的单醣包括C5及以上(例如C5、C6、C7或C8)糖;二糖和三糖包括具有两个或三个单醣单元(例如C5、C6、C7或C8)的糖。

[0578] 在一个实施例中,用于本申请的组成物和方法的碳水化合物结合物是单醣。

[0579] 在某些实施例中,本申请的组成物和方法包括C16配体。在实例性实施例中,本申请内容的C16配体具有以下结构(以下针对尿嘧啶碱基举例说明,但对于呈现任何碱基(C、G、A等)和/或具有如本文所述的任何其他修饰,前提是保留2’核糖连接)并且连接在如此修饰的残基内的核糖的2’位置:

[0580] 


[0581] 化学式:$C_{25}H_{43}N_2O_8P$

[0582] 精确质量:530.2757

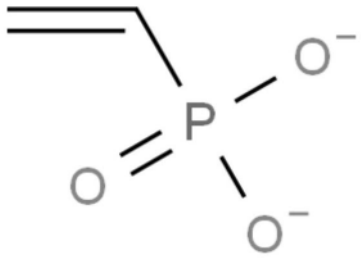
[0583] 分子量:530.5913

[0584] 如上所示,C16配体修饰的残基在如此修饰的实例性残基(此处为尿嘧啶)的2’-核糖位置具有直链烷基。

[0585] 在一些实施例中,一个碳水化合物结合物本申请的RNAi剂的还包括如上述那样,例如,但不限于,一个PK调节剂和/或细胞渗透肽的一个或多个另外的配体。

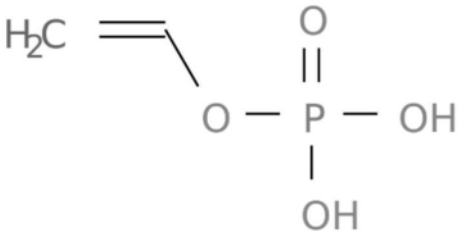
[0586] 适用于本申请的其他碳水化合物结合物(和连接子)包括在PCT公开号WO 2014/179620和WO 2014/179627中描述的那些,其各自的全部内容通过引用并入本文。

[0587] 在某些实施例中,本申请的组成物和方法包括如本文所述的RNAi剂的乙烯基磷酸酯(VP)修饰。在实例性实施例中,本申请的乙烯基磷酸酯具有以下结构:

[0588] 

[0589] 本申请的乙烯基磷酸酯可连接至本申请的dsRNA的反义链或正义链。在某些优选的实施例中,本申请的乙烯基磷酸酯连接至dsRNA的反义链,任选地在dsRNA的反义链的5'末端。

[0590] 本申请的组成物和方法也考虑了乙烯基磷酸酯修饰。实例性的乙烯基磷酸酯结构是:

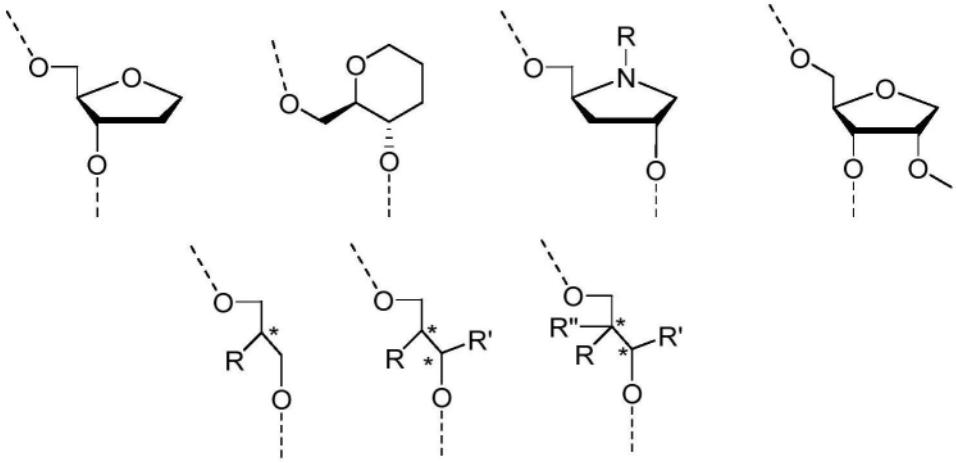
[0591] 

[0592] E.热不稳定修饰

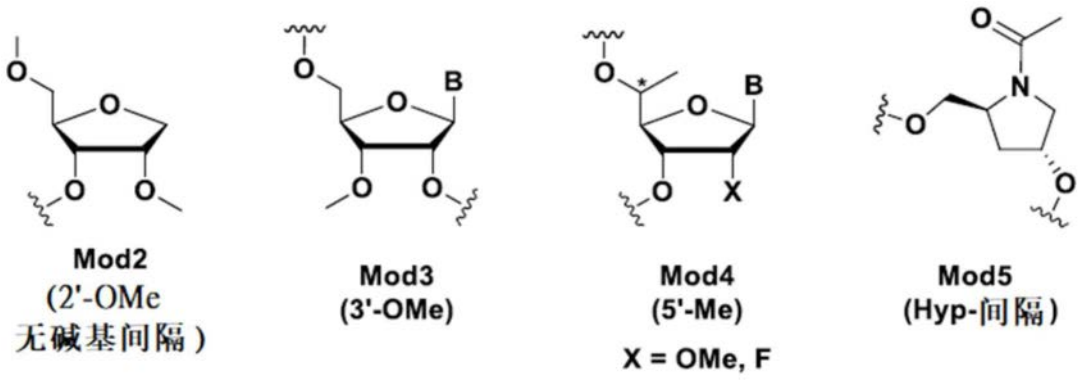
[0593] 在某些实施例中,dsRNA分子可以通过在反义链的种子区(即,在反义链5'末端的2至9位)掺入热不稳定修饰来优化RNA干扰,以减少或抑制-靶基因沉默。已经发现,具有在反义链的前9个核苷酸位置(从5'末端计数)包含至少一个双链体的热不稳定修饰的反义链的dsRNA降低了脱靶基因沉默活性。因此,在一些实施例中,反义链在反义链的5'区域的前9个核苷酸位置内包含至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个或多个)双链体的热不稳定修饰。在一些实施例中,双链体的一个或多个热不稳定修饰位于从反义链的5'末端的位置2至9,或优选为位置4至8。在一些进一步的实施例中,双链体的热不稳定修饰位于从反义链的5'末端的位置6、7或8。在另外一些实施例中,双链体的热不稳定修饰位于从反义链的5'末端的位置7。术语"热不稳定修饰"包括导致dsRNA具有较低总解链温度(Tm)的修饰(优选为比dsRNA的Tm低1、2、3或4度的Tm)而不进行此类修饰的修饰。在一些实施例中,双链体的热不稳定修饰位于从反义链的5'末端位置2、3、4、5或9。

[0594] 热不稳定修饰可包括但不限于无碱基修饰;与相反链中的相反核苷酸错配;以及糖修饰,例如2'-脱氧修饰或无环核苷酸,例如未锁定核酸(UNA)或乙二醇核酸(GNA)。

[0595] 例举的无碱基修饰包括,但都不限于以下内容:

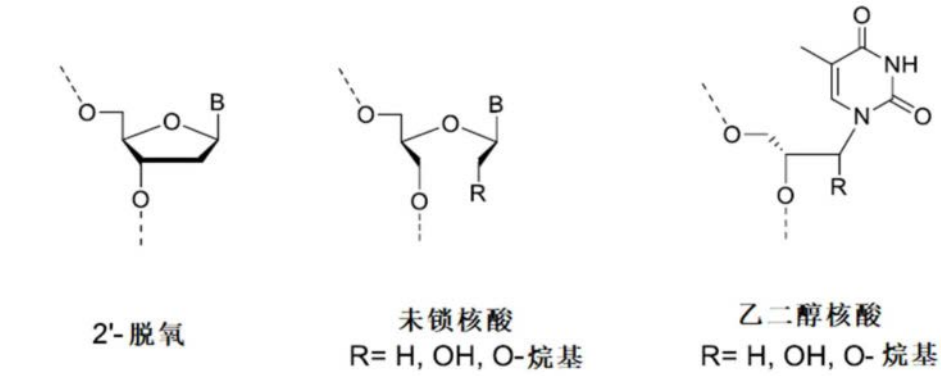
[0596] 

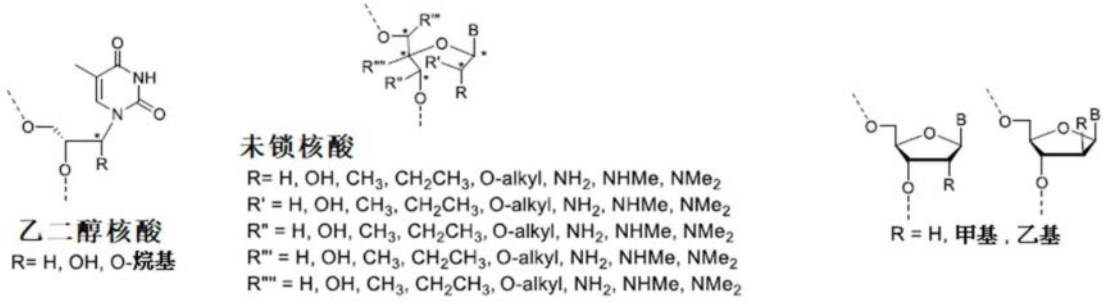
[0597] 其中R＝H、Me、Et或OMe;R'＝H、Me、Et或OMe;R＝H、Me、Et或OMe

[0598] 


[0599] 其中B是经修饰的或未经修饰的核碱基。

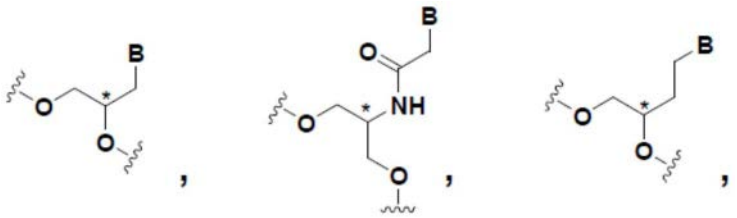
[0600] 例举的糖修饰包括,但都不限于以下内容:

[0601] 

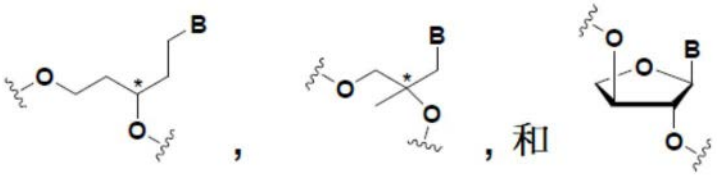




[0602] 其中,B是经修饰的或未经修饰的核碱基。

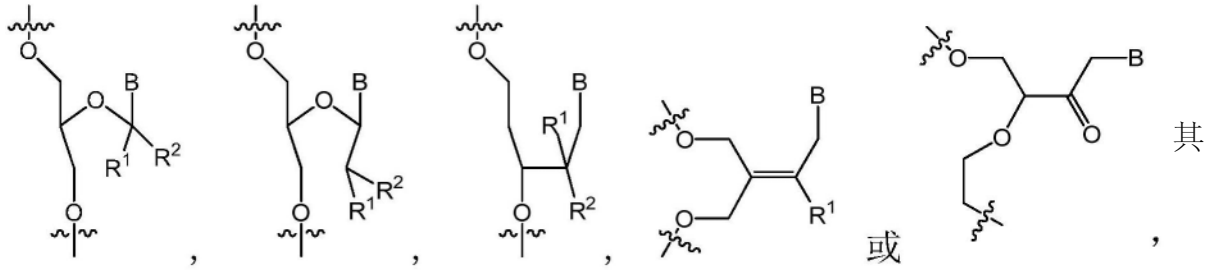
[0603] 在一些实施例中,双链体的热不稳定修饰选自:



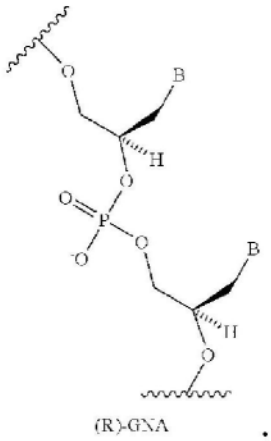
[0604]



[0605] 其中B是经修饰或未经修饰的核碱基,每个结构上的星号代表R、S或外消旋体。

[0606] 术语“无环核苷酸”是指具有无环核糖的任何核苷酸,例如,其中核糖碳之间的任何键(例如,C1’至C2’、C2’至C3’、C3’至C4’、C4’至O4’或C1’至O4’)不存在和/或核糖碳或氧(例如C1’、C2’、C3’、C4’或O4’)中的至少一个独立地或组合地不存在于核苷酸。在一些实施例中,无环核苷酸是  其中,B是一个经修饰的或未经修饰的核碱基,$R^1$和$R^2$独立地是H、卤素、$OR_3$,或烷基;且$R_3$是H、烷基、环烷基、芳基、芳烷基、杂芳基或糖。术语“UNA”是指未锁定的无环核酸,其中,糖的任何键已被去除,形成未锁定的“糖”残基。在一个实例中,UNA还包括C1’至C4’之间的键被去除(即C1’和C4’碳之间的共价碳-氧-碳键)的单体。在另一个例子中,糖的C2’-C3’键(即C2’和C3’碳之间的共价碳-碳键)被去除(参见Mikhailov等人,Tetrahedron Letters,26(17):2059(1985);以及Fluiter等人,Mol.Biosyst.,10:1039(2009),在此通过引用并入整体)。无环衍生物在不影响Watson-Crick配对的情况下提供更大的骨架灵活性。无环核苷酸可以通过2’-5’或3’-5’键连接。

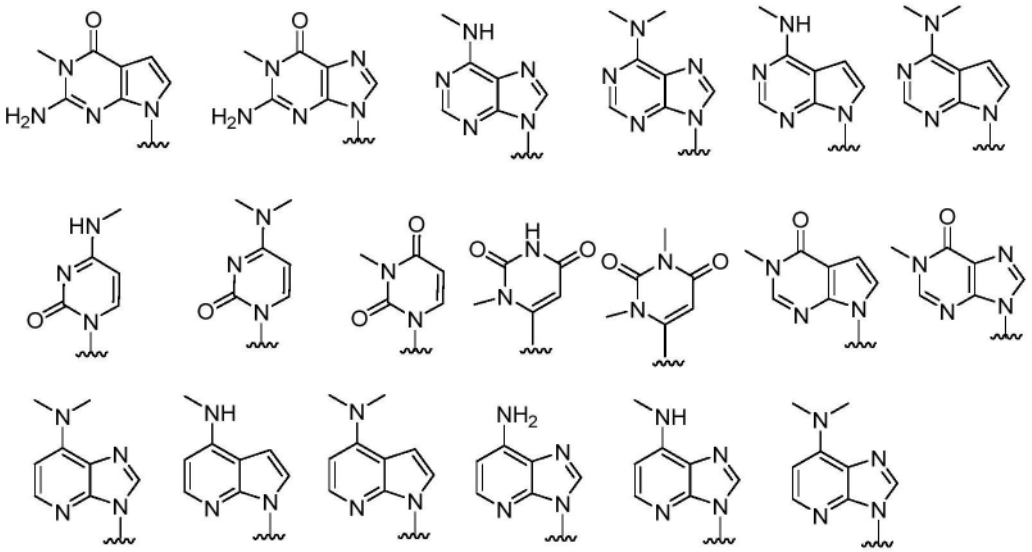
[0607] 术语“GNA”是指乙二醇核酸,其是一物质似于DNA或RNA的聚合物,但其“骨架”的组成不同,其由通过磷酸二酯键连接的重复甘油单元组成:

[0608] 

(R)-GNA

[0609] 双链体的热不稳定修饰可以是热不稳定核苷酸和dsRNA双链体内相反链中的相对核苷酸之间的错配(即,非互补碱基对)。实例性错配碱基对包括G:G、G:A、G:U、G:T、A:A、A:C、C:C、C:U、C:T、U:U、T:T、U:T或其组合。本领域已知的其他错配碱基配对也适用于本发明。错配可以发生在天然存在的核苷酸或经修饰的核苷酸的核苷酸之间,即,错配碱基配对可以发生在来自各个核苷酸的核碱基之间,而与核苷酸的核糖上的修饰无关。在某些实施例中,dsRNA分子在错配配对中含有至少一个核碱基,即2'-脱氧核碱基;例如,2'-脱氧核碱基在正义链中。

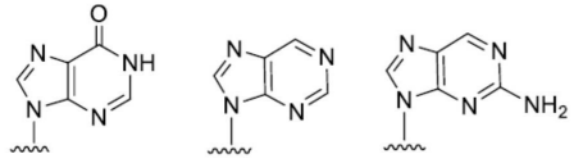
[0610] 在一些实施例中,反义链种子区中双链体的热不稳定修饰包括与靶mRNA上的互补碱基的WC H-键合受损的核苷酸,例如:

[0611] 

[0612] 在WO 2011/133876中详细描述了无碱基核苷酸、无环核苷酸修饰(包括UNA和GNA)和错配修饰的更多实例,其通过引用整体并入本文。

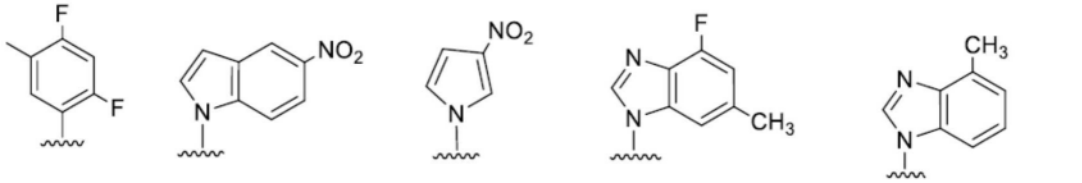
[0613] 热不稳定修饰还可包括具有降低或消除与相对碱基形成氢键的能力的通用碱基和磷酸盐修饰。

[0614] 在一些实施例中,双链体的热不稳定修饰包括具有非典型碱基的核苷酸,例如但不限于与相反链中的碱基形成氢键的能力受损或完全丧失的核碱基修饰。如WO 2010/0011895中所述,已经针对dsRNA双链体的中心区域的去稳定评估了这些核碱基修饰,所述文献通过引用整体并入本文。实例性的核碱基修饰是:



肌苷 星云碱 2-氨基嘌呤

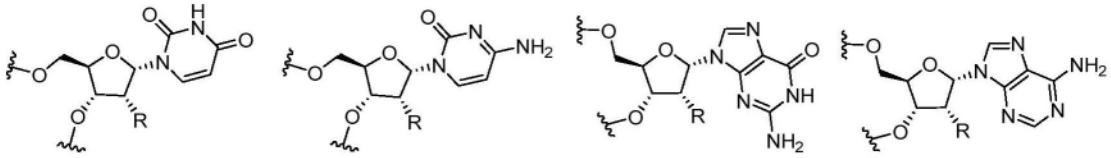
[0615]



2,4-二氟甲苯 5-硝基吲哚 3-硝基吡咯 4-氟-6-甲基苯并咪唑 4-甲基苯并咪唑

[0616] 在一些实施例中,反义链的种子区域的双链体的热不稳定修饰包括一个或多个与靶mRNA上的碱基互补的核苷酸,例如:

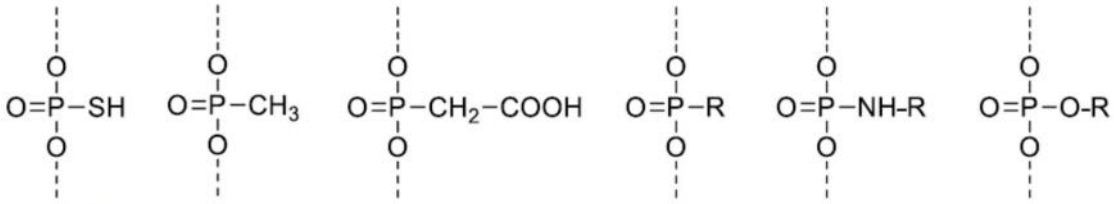
[0617]



[0618] 其中,R是H、OH、$OCH_3$、F、$NH_2$、NHMe、$NMe_2$或O-烷基。

[0619] 与天然磷酸二酯键相比,已知会降低dsRNA双链体的热稳定性的实例性磷酸酯修饰是:

[0620]



R = 烷基

[0621] R基团的烷基可以是$C_1$-$C_6$烷基。R基团的具体烷基包括但不限于甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、戊基和己基。

[0622] 正如本领域技术人员将认识到的,鉴于核碱基的功能作用定义了本申请内容的RNAi剂的特异性,而核碱基修饰可以以本文所述的各种方式进行,例如,将去稳定化的修饰引入到RNAi剂中例如,为了相对于脱靶效应增强对靶效应,本申请的RNAi剂上可用的和通常存在的修饰的范围对于非核碱基修饰趋于大得多,例如,对多核糖核苷酸的糖基和/或磷酸骨架的修饰。本申请的其他部分更详细地描述了此类修饰,并且明确考虑了本申请的RNAi剂,其具有天然核碱基或修饰的核碱基,如上文和/或本文别处所述。

[0623] 除了包含热不稳定修饰的反义链之外,dsRNA还可以包含一个或多个稳定修饰。例如,dsRNA可以包含至少两个(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)稳定修饰。不受限制地,稳定修饰都可以存在于一条链中。在一些实施例中,正义链和反义链均包含至少两个稳定修饰。稳定修饰可以发生在正义链或反义链的任何核苷酸上。例如,稳定修饰可以发生在正义链和/或反义链上的每个核苷酸上;每个稳定修饰可以交替出现在正义链或反义链上;或者正义链或反义链包含交替模式的稳定修饰。正义链上稳定修饰的交替模式可以与反义链相同或不同,并且正义链上稳定修饰的交替模式可以相对于

反义链上稳定修饰的交替模式发生变化链。

[0624] 在一些实施例中,反义链包含至少两个(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)稳定化经修饰的。不受限制地,反义链中的稳定修饰可以存在于任何位置。在一些实施例中,反义包括在从5'末端的位置2、6、8、9、14和16的稳定修饰。在一些其他实施例中,反义包括在5'末端的位置2、6、14和16的稳定化修饰。在还有一些其他实施例中,反义包括在从5'末端的位置2、14和16的稳定化修饰。

[0625] 在一些实施例中,反义链包含至少一个与去稳定修饰相邻的稳定修饰。例如,稳定修饰可以是去稳定修饰的5'末端或3'末端处的核苷酸,即,在离去稳定修饰的位置-1或+1的位置。在一些实施例中,反义链在去稳定修饰的5'末端和3'末端的每一个处包含稳定修饰,即从去稳定修饰的位置-1和+1位置。

[0626] 在一些实施例中,反义链在去稳定化修饰的3'末端处,即在去稳定化修饰位置的+1和+2位处包含至少两个稳定化修饰。

[0627] 在一些实施例中,正义链包含至少两个(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)稳定修饰。不受限制地,正义链中的稳定修饰可以存在于任何位置。在一些实施例中,正义链在从5'末端位置7、10和11包含稳定修饰。在一些其他实施例中,正义链在从5'末端的位置7、9、10和11包含稳定修饰。在一些实施例中,正义链包含在与反义链的从5'末端的位置11、12和15相反或互补的位置处的稳定化修饰。在一些其他实施例中,正义链包含在与反义链的5'末端的位置11、12、13和15相反或互补的位置的稳定化修饰。在一些实施例中,正义链包含两个、三个或四个稳定修饰的嵌段。

[0628] 在一些实施例中,正义链在与反义链中双链体的热不稳定修饰相反或互补的位置不包含稳定化修饰。

[0629] 实例性的热稳定修饰包括但不限于2'-氟修饰。其他热稳定修饰包括但不限于LNA。

[0630] 在一些实施例中,本申请的dsRNA包含至少四个(例如,四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)2'-氟核苷酸。没有限制,2'-氟核苷酸都可以存在于一条链中。在一些实施例中,正义链和反义链均包含至少两个2'-氟核苷酸。2'-氟修饰可以发生在正义链或反义链的任何核苷酸上。例如,2'-氟修饰可以发生在正义链和/或反义链上的每个核苷酸上;每个2'-氟修饰可以交替出现在正义链或反义链上;或者正义链或反义链包含交替模式的两个2'-氟修饰。正义链上2'-氟修饰的交替模式可以与反义链相同或不同,并且正义链上2'-氟修饰的交替模式可以相对于反义链上的2'-氟修饰。

[0631] 在一些实施例中,反义链包含至少两个(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)2'-氟核苷酸。没有限制,反义链中的2'-氟修饰可以存在于任何位置。在一些实施例中,反义在5'末端的位置2、6、8、9、14和16包含2'-氟核苷酸。在一些其他实施例中,反义在从5'末端的位置2、6、14和16包含2'-氟核苷酸。在其他一些实施例中,反义在5'末端的位置2、14和16包含2'-氟核苷酸。

[0632] 在一些实施例中,反义链包含至少一个与去稳定修饰相邻的2'-氟核苷酸。例如,2'-氟核苷酸可以是去稳定修饰的5'末端或3'末端处的核苷酸,即,在离去稳定修饰的位置-1或+1的位置处。在一些实施例中,反义链在去稳定修饰的5'末端和3'末端中的每一个处包含2'-氟核苷酸,即从去稳定修饰的位置开始的-1和+1位。

[0633] 在一些实施例中,反义链在去稳定化修饰的3'末端处,即在去稳定化修饰位置的+1和+2位处包含至少两个2'-氟核苷酸。

[0634] 在一些实施例中,正义链包含至少两个(例如,两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个或多个)2'-氟核苷酸。在没有限制的情况下,正义链中的2'-氟修饰可以存在于任何位置。在一些实施例中,反义在5'末端的位置7、10和11包含2'-氟核苷酸。在一些其他实施例中,正义链在5'末端的位置7、9、10和11包含2'-氟核苷酸。在一些实施例中,正义链在与反义链的5'末端位置11、12和15相对或互补的位置包含2'-氟核苷酸。在一些其他实施例中,正义链在与反义链的5'末端位置11、12、13和15相对或互补的位置包含2'-氟核苷酸。在一些实施例中,正义链包含两个、三个或四个2'-氟核苷酸的嵌段。

[0635] 在一些实施例中,正义链在反义链中与双链体的热不稳定修饰相反或互补的位置不包含2'-氟核苷酸。

[0636] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子包含21个核苷酸(nt)的正义链和23个核苷酸(nt)的反义链,其中所述反义链包含至少一种热不稳定核苷酸,其中所述至少一种热不稳定核苷酸出现在反义链的种子区(即,在反义链5'末端的位置2至9),其中dsRNA的一端是平端,而另一端包含2nt突出端,其中dsRNA任选地进一步具有以下特征中的至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个或所有七个):(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)反义包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(iii)正义链与配体结合;(iv)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(v)正义链包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(vi)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vii)dsRNA在反义链的5'末端包含一个平末端。优选地,2nt突出端位于反义的3'末端。

[0637] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子包含正义链和反义链,其中:正义链的长度为25至30个核苷酸残基,其中从所述的5'末端核苷酸(位置1)开始,位置1至23正义链包含至少8个核糖核苷酸;反义链长度为36至66个核苷酸残基,从3'末端核苷酸开始,在与正义链1至23位配对形成双链体的位置上至少有8个核糖核苷酸;其中至少反义链的3'末端核苷酸与正义链未配对,并且多达6个连续的3'末端核苷酸与正义链未配对,从而形成1至6个核苷酸的3'单链突出端;其中反义链的5'末端包含10至30个与正义链未配对的连续核苷酸,从而形成10至30个核苷酸的单链5'突出端;其中当正义链和反义链对齐以实现最大互补性时,至少正义链的5'末端和3'末端核苷酸与反义链的核苷酸碱基配对,从而在正义链和反义链之间形成基本上双链的区域;当所述双链核酸被引入哺乳动物细胞时,反义链沿着至少19个反义链长度的核糖核苷酸与靶RNA充分互补以降低靶基因的表达;以及其中反义链包含至少一个热不稳定核苷酸,其中至少一个热不稳定核苷酸在反义链的种子区中(即在反义链5'末端的位置2至9)。例如,热不稳定核苷酸发生在与正义链的5'末端的位置14至17相对或互补的位置之间,以及其中dsRNA任选地还具有至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个或所有七个)以下特征:(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)反义包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(iii)正义链与配体结合;(iv)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(v)正义链包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(vi)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vii)dsRNA包含长度为12至30个核苷酸对的双链体区域。

[0638] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子包含正义链和反义链,其中,所述dsRNA分子包含长度为至少25且至多29个核苷酸的正义链和长度至多为30的反义链,其具有正义链的

核苷酸包含从5’末端位置11易受酶促降解的经修饰的核苷酸,其中,所述正义链的3’末端和所述反义链的5’末端形成平端并且所述反义链在其3’末端比正义链长1至4个核苷酸,其中,当将所述dsRNA分子引入哺乳动物细胞时降低靶基因的表达,以及其中所述dsRNA的切丁酶裂解优先产生包含所述3’末端的siRNA反义链,从而降低哺乳动物中靶基因的表达,双链区域的长度至少为25个核苷酸,且所述反义链沿着所述反义链长度的至少19nt与靶标mRNA充分互补,其中,反义链包含至少一种热不稳定核苷酸,其中,至少一种热不稳定核苷酸位于反义链的种子区(即反义链5’末端的位置2至9),以及其中dsRNA任选地进一步具有以下特征中的至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个或所有七个):(i)反义包含2、3、4、5或6个2’-氟修饰;(ii)反义包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(iii)正义链与配体结合;(iv)正义链包含2、3、4或5个2’-氟修饰;(v)正义链包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(vi)dsRNA包含至少四个2’-氟修饰;(vii)dsRNA具有长度为12至29个核苷酸对的双链体区域。

[0639] 在一些实施例中,dsRNA分子的正义链和反义链中的每个核苷酸都可以经修饰。每个核苷酸可以用相同或不同的修饰进行修饰,所述修饰可以包括非连接磷酸氧中的一个或两个和/或连接磷酸氧中的一个或多个的一个或多个改变;改变核糖的成分,例如,改变核糖上的2’羟基;用“脱磷”连接子批次替换磷酸部分;修饰或替换天然存在的碱基;以及核糖-磷酸骨架的替换或修饰。

[0640] 作为核酸的是亚基的聚合物,许多修饰发生在其中的核酸内重复的位置,例如,基座的变形或磷酸部分或磷酸部分的非连接O。在某些情况下,修饰会发生在核酸中的所有主题位置,但在许多情况下不会。例如,修饰可能仅发生在3’或5’末端位置,可能仅发生在末端区域,例如末端核苷酸上的位置或一条链的最后2、3、4、5、10个核苷酸中。修饰可能发生在双链区域、单链区域或两者中。修饰可能仅发生在RNA的双链区域,也可能仅发生在RNA的单链区域。例如,在非连接O位置的硫代磷酸酯修饰可能仅发生在一个或两个末端,可能仅发生在末端区域,例如末端核苷酸上的位置或一条链的最后2、3、4、5、10个核苷酸中,或可能出现在双链和单链区域,特别是在末端。5’末端或末端可以被磷酸化。

[0641] 可能的是,例如,在突出端包括特定碱基,或在单链突出端,例如,在5’或3’突出端,或这两者包括经修饰的核苷酸或核苷酸替代物,以增强稳定性。例如,可能需要在突出端中包含嘌呤核苷酸。在一些实施例中,3’或5’突出端中的所有或一些碱基可以被经修饰,例如,用本文所述的经修饰的。修饰可以包括,例如,在核糖的2’位置使用本领域已知的修饰进行修饰,例如,使用脱氧核糖核苷酸、2’-脱氧-2’-氟(2’-F)或2’-O-甲基修饰而不是核碱基的核糖,以及磷酸基团中的修饰,例如硫代磷酸酯修饰。突出端不需要与靶序列同源。

[0642] 在一些实施例中,正义链和反义链的每个残基独立地用LNA、HNA、CeNA、2’-甲氧基乙基、2’-O-甲基、2’-O-烯丙基、2’-C-烯丙基、2’-脱氧或2’-氟。链可以包含多个修饰。在一些实施例中,正义链和反义链的每个残基独立地用2’-O-甲基或2’-氟修饰。应当理解,这些修饰是对存在于反义链中的双链体的至少一种热不稳定修饰的补充。

[0643] 正义链和反义链上通常存在至少两种不同的修饰。这两种修饰可以是2’-脱氧、2’-O-甲基或2’-氟修饰、无环核苷酸或其他修饰。在一些实施例中,正义链和反义链各自包含选自2’-O-甲基或2’-脱氧的两种不同修饰核苷酸。在一些实施例中,正义链和反义链的每个残基独立地用2’-O-甲基核苷酸、2’-脱氧核苷酸、2’-脱氧-2’-氟核苷酸、2’-ON-甲基

乙酰胺(2'-O-NMA)核苷酸、2'-O-二甲氨基乙氧基乙基(2'-O-DMAEOE)核苷酸、2'-O-氨基丙基(2'-O-AP)核苷酸或2'-ara-F核苷酸。同样,应理解,这些修饰是对反义链中存在的双链体的至少一种热不稳定修饰的补充。

[0644] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子包含交替模式的修饰,特别是在B1、B2、B3、B1'、B2'、B3'、B4'区域中。如本文所用,术语"交替基序"或"备选模式"是指具有一个或多个经修饰的基序,每个修饰发生在一条链的交替核苷酸上。交替核苷酸可以指每隔一个核苷酸或每三个核苷酸一个,或类似的模式。例如,如果A、B和C分别代表对核苷酸的一物质型的修饰,则交替基序可以是"ABABABABABAB…,"、"AABBAABBAABB…,"、"AABAABAABAAB…,"、"AAABAAABAAAB…,"、"AAABBBAAABBB…,"或"ABCABCABCABC…,"等。

[0645] 交替基序中包含的修饰类型可以相同或不同。例如,如果A、B、C、D各自代表核苷酸上的一种类型的修饰,交替模式,即每隔一个核苷酸的修饰,可以是相同的,但是可以选择每条正义链或反义链来自交替基元内的几种修饰可能性,例如"ABABAB…"、"ACACAC…"、"BDBDBD…"或"CDCDCD…,"等。

[0646] 在一些实施例中,相对于反义链上交替基序的修饰模式,本申请内容的dsRNA分子包含正义链上交替基序的修饰模式。这种转变可以使得正义链的核苷酸的修饰组对应于反义链的核苷酸的不同修饰组,反之亦然。例如,当来自双链区域内的正义链与dsRNA双链体中的反义链配对时,正义链中的交替基序可以从链的5'-3'处以"ABABAB"开头,反义链中的交替基序可以从链的3'-5'处以"BABABA"开头。作为另一个例子,双链体区域中,正义链中的交替基序可以从链的5'-3'处的"AABBAABB"开始,反义链中的交替基序可以从链的3'-5'处的"BBAABBAA"开始,使得正义链和反义链之间的修饰模式发生完全或部分转移。

[0647] 本申请的dsRNA分子可以进一步包含至少一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合。硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰可发生在正义链或反义链或两者的任何位置的正义链或反义链的任何核苷酸上。例如,核苷酸间键合修饰可以发生在正义链和/或反义链上的每个核苷酸上;每个核苷酸间键合修饰可以在正义链或反义链上以交替模式发生;或正义链或反义链包含交替模式的两种核苷酸间键合修饰。正义链上核苷酸间键合修饰的交替模式可以与反义链相同或不同,且正义链上核苷酸间键合修饰的交替模式相对于核苷酸间键合修饰的交替模式可以有变化在反义链上。

[0648] 在一些实施例中,dsRNA分子在突出区域中包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰。例如,突出端区域包含两个核苷酸,在这两个核苷酸之间具有硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合。还可以进行核苷酸间键合修饰以将突出端核苷酸与双链体区域内的末端配对核苷酸连接。例如,至少2、3、4或所有突出端核苷酸可以通过硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合连接,并且任选地,可以有额外的硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合连接突出端核苷酸与紧邻突出端核苷酸的配对核苷酸。例如,末端三个核苷酸之间可能存在至少两个硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中三个核苷酸中的两个是突出端核苷酸,第三个是与突出端核苷酸相邻的配对核苷酸。优选地,这些末端三个核苷酸可以位在反义链的3'末端。

[0649] 在一些实施例中,dsRNA分子的正义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个磷酸酯核苷酸间键合隔开的2至10个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的1至10个嵌段,其中,硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列的任

何位置,且所述正义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的反义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键的反义链配对。

[0650] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17或18个磷酸酯核苷酸间键合隔开的2个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列中的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键的反义链配对。

[0651] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15或16个磷酸酯核苷酸间键合隔开的3个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列中的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键合的反义链配对。

[0652] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13或14个磷酸酯核苷酸间键合隔开的4个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键合任一者的反义链配对。

[0653] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11或12个磷酸核苷酸间键合隔开的5个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列中的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸键的反义链配对。

[0654] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7、8、9或10个磷酸核苷酸间键合隔开的6个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合位于寡核苷酸序列的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键合的反义链配对。

[0655] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5、6、7或8个磷酸酯核苷酸间键合隔开的7个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一键位于寡核苷酸序列的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键的反义链配对。

[0656] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3、4、5或6个磷酸酯核苷酸间键合隔开的8个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列中的任何位置,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键的反义链配对。

[0657] 在一些实施例中,dsRNA分子的反义链包含由1、2、3或4个磷酸酯核苷酸间键合隔开的9个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合的2个嵌段,其中硫代磷酸酯或甲基磷酸酯

核苷酸间键合之一位于寡核苷酸序列,且所述反义链与包含硫代磷酸酯、甲基磷酸酯和磷酸酯核苷酸间键合的任意组合的正义链或包含硫代磷酸酯或甲基磷酸酯或磷酸酯键合的反义链配对。

[0658] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子在正义和/或反义链的末端位置的1至10个内进一步包含一个或多个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰。例如,至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸可通过正义和/或反义链的一端或两端的硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合连接。

[0659] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子在每条正义链和/或反义链的双链体的内部区域的1至10个内进一步包含一个或多个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰。例如,至少2、3、4、5、6、7、8、9或10个核苷酸可以通过硫代磷酸甲基磷酸酯核苷酸间键合连接在双链区域的从正义的5'末端8至16位置;dsRNA分子可以任选地在末端位置的1至10个内进一步包含一个或多个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0660] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内包含1至5个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰以及在正义链的位置18至23内的1至5个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'-末端计数),以及在反义链的1和2位置有1到5个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰,在反义链的18至23位置有1到5个修饰(从5'-末端计数)。

[0661] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子进一步包含1至5位内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和有义链的18至23位内的一个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'-端计数),以及在在反义链的位置1和2处有一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,在反义链的18至23位置有两个硫代磷酸酯或甲基磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数)。

[0662] 在一些实施例中,本公开内容的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和在正义链的位置18至23内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0663] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子还包含正义链的位置1至5内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和正义链的位置18至23内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0664] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子还包含正义链的位置1至5内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和正义链的位置18至23内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置18至23(从5'端计数)内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0665] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内包含一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和在正义链的位置18至23内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2位置的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰以及反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0666] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内和在位置18

至23内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'至末端计数),以及在位置1和2有两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,在反义链的位置18至23(从5'端计数)有一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0667] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5(从5'端计数)内包含一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及在位置1和2有两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,在反义链的位置18至23(从5'端计数)有一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0668] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子在正义链的位置1至5(从5'端计数)内进一步包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及位置1和2的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0669] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内和位置18至23内包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及在位置1和2有两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,在反义链的位置18至23(从5'端计数)有一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0670] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和在正义链的位置18至23内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰以及反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0671] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子进一步在正义链的位置1至5内包含两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和在正义链的位置18至23内的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数),以及位置1和2的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置18至23(从5'端计数)内的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰。

[0672] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步包含在位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及正义链位置20和21的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端开始计数),以及反义链位置1和位置21的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端开始计数)。

[0673] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子在位置1进一步包含一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及正义链位置21的硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端开始计数),以及位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链位置20和21的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'端计数)。

[0674] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步包含在正义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及在正义链的位置位置21和22的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'末端计数),和一个位置1的硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置21的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'末端计数)。

[0675] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子进一步包含在正义链的位置1和2的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,以及在正义链的位置21和22的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'末端计数),和一个位置1的硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和反义链的位置21的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'末端计数)。

[0676] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子进一步包含在位置1的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰,和在正义链的位置21的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'-端计

数),以及两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰在位置1和2以及在位置23和23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰是反义链(从5'末端计数)。

[0677] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子还包含在正义链的位置1的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰和在正义链的位置21的一个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰(从5'末端计数)和两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰在位置1和2以及在位置23和23的两个硫代磷酸酯核苷酸间键合修饰是反义链(从5'末端计数)。

[0678] 在一些实施例中,本申请的化合物包含骨架手性中心的图案。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少5个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少6个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少7个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少8个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少9个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Sp构型中包含至少10个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少11个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少12个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少13个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少14个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少15个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少16个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少17个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少18个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少19个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过8个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过7个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过6个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过5个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过4个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过3个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过2个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式在Rp构型中包含不超过1个核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过8个非手性的核苷酸间键合(作为非限制性实例,磷酸二酯)。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过7个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过6个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过5个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过4个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过3个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过2个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含不超过1个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少10个核苷酸间键合和不超过8个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少11个核苷酸间键合和不超过7个非手性的核苷酸间键合。在一些实

施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少12个核苷酸间键合和不超过6个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少13个核苷酸间键合和不超过6个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少14个核苷酸间键合和不超过5个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,主链手性中心的常见模式包含Sp构型中的至少15个核苷酸间键合和不超过4个非手性的核苷酸间键合。在一些实施例中,Sp构型中的核苷酸间连接任选地是连续的或不连续的。在一些实施例中,Rp构型中的核苷酸间连接任选地是连续的或不连续的。在一些实施例中,非手性的核苷酸间连接任选地是连续的或不连续的。

[0679] 在一些实施例中,本申请的化合物包含嵌段是立体化学嵌段。在一些实施例中,嵌段是Rp嵌段,因为嵌段的每个核苷酸间连接是Rp。在一些实施例中,5'-嵌段是Rp嵌段。在一些实施例中,3'-嵌段是Rp嵌段。在一些实施例中,嵌段是Sp嵌段,因为所述嵌段的每个核苷酸间连接是Sp。在一些实施例中,5'-嵌段是Sp嵌段。在一些实施例中,3'-嵌段是Sp嵌段。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含Rp和Sp嵌段。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含一个或多个Rp但不包含Sp嵌段。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含一个或多个Sp但不包含Rp阻断。在一些实施例中,提供的寡核苷酸包含一个或多个PO嵌段,其中每个核苷酸间键合为天然磷酸酯键合。

[0680] 在一些实施例中,本申请的化合物包含5'-嵌段是Sp嵌段,其中每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,5'-嵌段是Sp嵌段,其中每个核苷酸间键合是经修饰的核苷酸间键合且每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,5'-嵌段是Sp嵌段,其中每个核苷酸间键合是硫代磷酸酯键合且每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,5'-嵌段包含4个或多个核苷单元。在一些实施例中,5'-嵌段包含5个或多个核苷单元。在一些实施例中,5'-嵌段包含6个或多个核苷单元。在一些实施例中,5'-嵌段包含7个或多个核苷单元。在一些实施例中,3'-嵌段是Sp嵌段,其中每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,3'-嵌段是Sp嵌段,其中每个核苷酸间键合是经修饰的核苷酸间键合并且每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,3'-嵌段是Sp嵌段,其中每个核苷酸间键合是硫代磷酸酯键合并且每个糖部分包含2'-F修饰。在一些实施例中,3'-嵌段包含4个或多个核苷单元。在一些实施例中,3'-嵌段包含5个或多个核苷单元。在一些实施例中,3'-嵌段包含6个或多个核苷单元。在一些实施例中,3'-嵌段包含7个或多个核苷单元。

[0681] 在一些实施例中,本申请的化合物在一个区域中包含一种核苷或寡核苷酸后接特定类型的核苷酸间键合,例如天然磷酸酯键、经修饰的核苷酸间键合、Rp手性核苷酸间键合、Sp手性核苷酸间键合等在一些实施例中,A后面是Sp。在一些实施例中,A之后是Rp。在一些实施例中,A后面是天然磷酸酯键(PO)。在一些实施例中,U后面是Sp。在一些实施例中,U后面是Rp。在一些实施例中,U后面是天然磷酸酯键(PO)。在一些实施例中,C后面是Sp。在一些实施例中,C后面是Rp。在一些实施例中,C之后是天然磷酸酯键(PO)。在一些实施例中,G后面是Sp。在一些实施例中,G后面是Rp。在一些实施例中,G后面是天然磷酸酯键(PO)。在一些实施例中,C和U之后是Sp。在一些实施例中,C和U之后是Rp。在一些实施例中,C和U之后是天然磷酸酯键(PO)。在一些实施例中,A和G之后是Sp。在一些实施例中,A和G之后是Rp。

[0682] 在一些实施例中,反义链包含核苷酸位置21和22之间以及核苷酸位置22和23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中反义链包含位于反义链种子区的双链体的至少一个热不

稳定修饰。即,在反义链的5'末端的位置2至9,以及其中dsRNA任选地进一步具有至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或所有八个)以下特征:(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)反义包含3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(iii)正义链与配体结合;(iv)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(v)正义链包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(vi)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vii)dsRNA包含长度为12-40个核苷酸对的双链体区域;(viii)dsRNA在反义链的5'末端有一个平端。

[0683] 在一些实施例中,反义链包含核苷酸位置1和2之间、核苷酸位置2和3之间、核苷酸位置21和22之间以及核苷酸位置22和23之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中反义链包含至少一个热不稳定的位于反义链种子区(即反义链5'末端的位置2至9)的双链体的修饰,以及其中dsRNA任选地进一步具有至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或所有八个)以下特征:(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)正义链与配体结合;(iii)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(iv)正义链包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(v)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vi)dsRNA包含长度为12至40个核苷酸对的双链体区域;(vii)dsRNA包含长度为12至40个核苷酸对的双链体区域;(viii)dsRNA在反义链的5'末端有一个平端。

[0684] 在一些实施例中,正义链包含核苷酸位置1和2之间以及核苷酸位置2和3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合,其中反义链包含位于反义链种子区的双链体的至少一个热不稳定修饰。即,在反义链的5'末端的位置2至9),以及其中dsRNA任选地进一步具有至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个或所有八个)以下特征:(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)反义包含1、2、3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(iii)正义链与配体结合;(iv)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(v)正义链包含3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(vi)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vii)dsRNA包含长度为12-40个核苷酸对的双链体区域;(viii)dsRNA在反义链的5'末端有一个平端。

[0685] 在一些实施例中,正义链包含核苷酸位置1和2之间和核苷酸位置2和3之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合,反义链包含核苷酸位置1和2之间、核苷酸位置2和3之间、核苷酸位置之间的硫代磷酸酯核苷酸间键合21和22以及核苷酸位置22和23之间,其中反义链包含位于反义链种子区(即,在5'末端的位置2至9)的双链体的至少一个热不稳定修饰,以及其中dsRNA任选地进一步具有以下特征中的至少一个(例如,一个、两个、三个、四个、五个、六个或所有七个):(i)反义包含2、3、4、5或6个2'-氟修饰;(ii)正义链与配体结合;(iii)正义链包含2、3、4或5个2'-氟修饰;(iv)正义链包含3、4或5个硫代磷酸酯核苷酸间键合;(v)dsRNA包含至少四个2'-氟修饰;(vi)dsRNA包含长度为12至40个核苷酸对的双链体区域;(vii)dsRNA在反义链的5'末端有一个平端。

[0686] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子包含与靶的错配、在双链体中或其组合。错配可能发生在突出端区或双链区。碱基对可以根据其促进解离或解链的倾向进行排序(例如,根据特定配对的结合或解离自由能,最简单的方法是在单个对的基础上检查这些对,尽管下一个邻居或类似的分析也可以使用)。在促进解离方面:A:U优于G:C;G:U优于G:C;并且I:C优于G:C(I=肌苷)。错配,例如,非典型或非典型配对(如本文别处所述)比典型(A:T、A:U、G:C)配对优选;以及包含通用碱基的配对优于典型配对。

[0687] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子包含来自反义链的5'末端的双链体区域内

的前1、2、3、4或5个碱基对中的至少一个可以独立地选自以下组的:A:U、G:U、I:C和错配对,例如,非典型或非典型配对或包含通用碱基的配对,以促进5'末端反义链的解离的双链体。

[0688] 在一些实施例中,在双链体区域内的反义链5'末端位置1的核苷酸选自由A、dA、dU、U和dT组成的组。或者,从反义链的5'末端开始的双链体区域内的前1、2或3个碱基对中的至少一个是AU碱基对。例如,从反义链的5'末端开始,双链区域内的第一个碱基对是AU碱基对。

[0689] 据发现,引入4'-修饰和/或5'-修饰核苷酸引入、以磷酸二酯(PO),硫代磷酸酯(PS)、硫代磷酸酯(PS2)和/或二核苷酸在单链或双链寡核苷酸的任何位置的二硫代磷酸酯(PS2)键的3'末端,可以对核苷酸间键合施加空间效应,从而保护或稳定其免受核酸酶的影响。

[0690] 在一些实施例中,在单链或双链siRNA的任何位置的二核苷酸的3'末端处引入5'-修饰的核苷。例如,可以在单链或双链siRNA的任何位置的二核苷酸的3'末端引入5'-烷基化核苷。核糖5'位置的烷基可以是外消旋或手性纯的R或S异构体。实例性的5'-烷基化核苷是5'-甲基核苷。5'-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。

[0691] 在一些实施例中,在单链或双链siRNA的任何位置处的二核苷酸的3'末端引入4'-修饰的核苷。例如,可以在单链或双链siRNA的任何位置的二核苷酸的3'末端处引入4'-烷基化核苷。核糖4'位置的烷基可以是外消旋或手性纯的R或S异构体。实例性的4'-烷基化核苷是4'-甲基核苷。4'-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。或者,可在单链或双链siRNA的任何位置处的二核苷酸的3'末端处引入4'-O-烷基化核苷。核糖的4'-O-烷基可以是外消旋或手性纯的R或S异构体。实例性的4'-O-烷基化核苷是4'-O-甲基核苷。4'-O-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。

[0692] 在一些实施例中,在dsRNA的正义链或反义链上的任何位置引入5'-烷基化核苷,并且此类修饰保持或提高dsRNA的效力。5'-烷基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。实例性的5'-烷基化核苷是5'-甲基核苷。5'-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。

[0693] 在一些实施例中,在dsRNA的正义链或反义链上的任何位置引入4'-烷基化核苷,且此类修饰保持或提高dsRNA的效力。4'-烷基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。实例性的4'-烷基化核苷是4'-甲基核苷。4'-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。

[0694] 在一些实施例中,在dsRNA的正义链或反义链上的任何位置引入4'-O-烷基化核苷,并且此类修饰保持或提高dsRNA的效力。5'-烷基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。实例性的4'-O-烷基化核苷是4'-O-甲基核苷。4'-O-甲基可以是外消旋的或手性纯的R或S异构体。

[0695] 在一些实施例中,本申请内容的dsRNA分子可包含2'-5'键合(具有2'-H、2'-OH和2'-OMe并且具有P=O或P=S)。例如,2'-5'键合修饰可用于促进核酸酶抗性或抑制正义链与反义链的结合,或可用于正义链的5'末端以避免RISC激活正义链。

[0696] 在另一个实施例中,本申请的dsRNA分子可以包含L糖(例如,L核糖、具有2'-H、2'-OH和2'-OMe的L-阿拉伯糖)。例如,这些L糖修饰可用于促进核酸酶抗性或抑制正义链与反义链的结合,或可用于正义链的5'末端以避免RISC激活正义链。

[0697] 各种公开文件描述了多聚体siRNA,其皆可与本申请的dsRNA一起使用。此类出版物包括国际专利公开第2007/091269号、美国专利第7858769号、国际专利公开第WO2010/

141511号、WO2010/141511WO2007/117686号、WO2010/141511WO2009/014887号和WO2010/141511WO2011/031520号,其全部内容在此并入。

[0698] 包含一种或多种碳水化合物部分与dsRNA分子结合的dsRNA分子可以优化dsRNA分子的一种或多种特性。在许多情况下,碳水化合物部分将连接到dsRNA分子的经修饰的亚基上。例如,dsRNA分子的一个或多个核糖核苷酸亚基的核糖可以被另一部分替换,例如连接有碳水化合物配体的非碳水化合物(优选环状)载体。其中亚基的核糖已被如此置换的核糖核苷酸亚基在本文中称为核糖置换经修饰的亚基(RRMS)。环状载体可以是碳环系统,即所有环原子都是碳原子,或杂环系统,即一个或多个环原子可以是杂原子,例如氮、氧、硫。环状载体可以是单环系统,或者可以包含两个或多个环,例如稠环。环状载体可以是完全饱和的环系统,或其可以包含一个或多个双键。

[0699] 配体可以通过载体连接到多核苷酸上。载体包括(i)至少一个“骨架连接点”,优选两个“骨架连接点”和(ii)至少一个“系链连接点”。如本文所用,“骨架连接点”是指官能基,例如羟基,或一般而言,可用于且适合于将载体并入骨架中的键,例如磷酸酯或经修饰的磷酸酯,例如,核糖核酸的含硫主链。在一些实施例中,“系链连接点”(TAP)是指环状载体的构成环原子,例如碳原子或杂原子(不同于提供骨架连接点的原子),其连接选定的部分。所述部分可以是例如碳水化合物,例如单醣、二糖、三糖、四糖、寡糖和多醣。任选地,所选择的部分通过插入系链连接至环状载体。因此,环状载体将通常包括官能基,例如氨基,或通常提供适合于并入或束缚另一化学实体例如配体至构成环的键。

[0700] 在一个实施例中,本申请的dsRNA分子通过载体与配体结合,其中载体可以是环状基团或非环状基团;优选地,所述环状基团选自吡咯啶基、吡唑啉基、吡唑啶基、咪唑啉基、咪唑啶基、哌啶基、哌嗪基、[1,3]二氧戊环、噁唑啶基、异噁唑啶基、吗啉基、噻唑基、异噻唑基、喹噁啉基、哒嗪基、四氢呋喃基及十氢萘基;优选地,无环基团选自丝氨醇主链或二乙醇胺主链。

[0701] 本申请的双链RNA(dsRNA)剂可以任选地与一种或多种配体结合。配体可以连接到正义链、反义链或两条链的3’末端、5’末端或两端。例如,配体可结合至正义链,特别是正义链的3’末端。

[0702] 在一些实施例中,本申请的dsRNA分子是5’磷酸化的或在5’主要末端包括磷酰基类似物。5’-磷酸修饰包括那些与RISC介导的基因沉默相容的修饰。合适的修饰包括:5’-单磷酸((HO)$_2$(O)P-O-5’);5’-二磷酸((HO)$_2$(O)P-O-P(HO)(O)-O-5’);5’-三磷酸((HO)$_2$(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5’);5’-鸟苷帽(7-甲基化或非甲基化)(7m-G-O-5’-(HO)(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5’);5’-腺苷帽(Appp),以及任何经修饰或未经修饰核苷酸帽结构(N-O-5’-(HO)(O)P-O-(HO)(O)P-O-P(HO)(O)-O-5’);5’-单硫代磷酸酯(硫代磷酸酯;(HO)$_2$(S)P-O-5’);5’-单二硫代磷酸酯(二硫代磷酸酯;(HO)(HS)(S)P-O-5’)、5’-硫代磷酸酯((HO)2(O)P-S-5’);氧/硫的任何额外组合取代单磷酸盐、二磷酸盐和三磷酸盐(例如5’-α-硫代三磷酸盐、5’-γ-硫代三磷酸盐等)、5’-氨基磷酸酯((HO)$_2$(O)P-NH-5’、(HO)(NH$_2$)(O)P-O-5’)、5’-烷基磷酸酯(R=烷基=甲基、乙基、异丙基、丙基等,例如RP(OH)(O)-O-5’-、5’-链烯基磷酸酯(即乙烯基、取代乙烯基)、(OH)$_2$(O)P-5’-CH2-)、5’-烷基醚磷酸酯(R=烷基醚=甲氧基甲基(MeOCH2-)、乙氧基甲基等,例如RP(OH)(O)-O-5’-)。在一实例中,修饰可置于dsRNA分子的反义链中。

[0703] F.连接子

[0704] 在一些实施例中,本文所述的结合物或配体可通过可裂解或不可裂解的各种连接子连接至RNAi剂寡核苷酸。

[0705] 术语“连接子”或“连接基团”是指连接化合物的两个部分的有机部分,例如共价连接化合物的两个部分。连接子通常包含直接键或原子(例如氧或硫)、单元(例如NR8、C(O)、C(O)NH、SO、$SO_2$、$SO_2$NH或原子链,例如但不限于:取代或未取代的烷基、取代或未取代的烯基、取代或未取代的炔基、芳烷基、芳烯基、芳炔基、杂芳基烷基、杂芳基烯基、杂芳基炔基、杂环基烷基、杂环基烯基、杂环炔基、芳基、杂芳基、杂环基、环烷基、环烯基、烷芳基烷基、烷芳基烯基、烷芳基炔基、烯基芳基烷基、烯基芳基烯基、烯基芳基炔基、炔基芳基烷基、炔基芳基烯基、炔基芳基炔基、烷基杂芳基烷基、烷基杂芳基烯基、烷基杂芳基炔基、烯基杂芳基烷基、烯基杂芳基烯基、烯基杂芳基炔基、炔基杂芳基烷基、炔基杂芳基烯基、炔基杂芳基炔基、烷基杂环基烷基、烷基杂环烯基、烷基杂环基炔基、烯基杂环基烷基、烯基杂环基烯基、烯基杂环基炔基、炔基杂环基烷基、炔基杂环基烯基、炔基杂环基炔基、烷芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基杂芳基、烯基杂芳基、炔基杂芳基,其中一个或多个亚甲基可以被O、S、S(O)、$SO_2$、N(R8)、C(O)、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环;中断或终止,(O)、取代或未取代的芳基、取代或未取代的杂芳基、取代或未取代的杂环;其中R8是氢、酰基、脂肪族或取代的脂肪族。在一个实施例中,连接子介于约1至24个原子、2至24、3至24、4至24、5至24、6至24、6至18、7至18、8至18个原子、7至17、8至17、6至16、7至17或8至16个原子。

[0706] 可裂解的连接基团是一种在细胞外足够稳定的连接基团,但在进入靶细胞时被裂解以释放连接子保持在一起的两个部分。在一个优选的实施例中,可裂解的连接基团裂解至少约10次、20次、30次、40次、50次、60次、70次、80次、90次或更多,或至少约100次在靶细胞中或第一参考条件下更快(其可以,例如,被选择为类似物或代表细胞内条件)中比在个体的血液,或第二参考条件下(其可以,例如,被选择为模拟或代表血液或血清中发现的状况)。

[0707] 可裂解的连接基团对裂解剂敏感,例如pH、氧化还原电位或降解分子的存在。通常,与血清或血液相比,裂解剂在细胞内更普遍或以更高的水平或活性被发现。此类降解剂的实例包括:针对特定底物选择的或不具有底物特异性的氧化还原剂,包括,存在于细胞中的氧化或还原酶或还原剂如硫醇,其可通过以下方式降解氧化还原可裂解的连接基团:减少;酯酶;可以产生酸性环境的内体或剂,例如,导致pH值为5或更低的那些;可以通过充当一般酸、肽酶(可以是底物特异性的)和磷酸酶来水解或降解酸可裂解的连接基团的酶。

[0708] 可裂解的连接基团,例如二硫键,可能对pH敏感。人类血清的pH值为7.4,而细胞内的平均pH值略低,约为7.1至7.3。内体具有更酸性的pH值,在5.5至6.0的范围内,而溶酶体具有更酸性的pH值,约为5.0。一些连接子将具有可裂解的连接基团,所述连接基团在优选的pH值下被裂解,从而从细胞内的配体或细胞的所需隔室中释放阳离子脂质。

[0709] 连接子可包括可被特定酶裂解的可裂解连接基团。并入连接子中的可裂解连接基团的类型可取决于要靶向的细胞。

[0710] 通常,候选可裂解连接基团的适用性可以通过测试降解剂(或条件)裂解候选连接基团的能力来评估。还需要测试候选可裂解连接基团在血液中或与其他非靶组织接触时抵

抗裂解的能力。因此,可以确定第一种和第二种情况之间对裂解的相对易感性,其中选择第一种以指示靶细胞中的裂解,选择第二种以指示其他组织或生物流体中的裂解,例如,血液或血清。评估可以在无细胞系统、细胞、细胞培养、器官或组织培养或整个动物中进行。在无细胞或培养条件下进行初步评估并通过对整个动物的进一步评估进行确认可能很有用。在优选的实施例中,与血液或血清相比(或在选择模拟细胞外条件的体外条件下),有用的候选化合物在细胞中被裂解至少约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90或约100倍(或在选择为模拟细胞内条件)。

[0711] i.氧化还原可裂解连接基团

[0712] 在一个实施例中,可裂解的连接基团是在还原或氧化时裂解的氧化还原可裂解的连接基团。可还原裂解的连接基团的一个例子是二硫键连接基团(-SS-)。为了确定候选的可裂解连接基团是否是合适的"可还原裂解连接基团",或者例如是否适合与特定的iRNA部分和特定的靶向剂一起使用,可以参考本文所述的方法。例如,可以通过与二硫苏糖醇(DTT)或使用本领域已知的剂的其他还原剂一起温育来评估候选药物,其模拟将在细胞例如靶细胞中观察到的裂解速率。还可以在选择模拟血液或血清条件的条件下评估候选药物。一方面,候选化合物在血液中最多被裂解约10%。在其他实施例中,与血液相比(或在选择模拟细胞外条件的体外条件下),有用的候选化合物在细胞中降解至少约2、4、10、20、30、40、50、60、70、80、90或约100倍(或在选择为的体外条件下)。候选化合物的裂解速率可以在选择模拟细胞内介质的条件下使用标准酶动力学分析确定,并与选择模拟细胞外介质的条件进行比较。

[0713] ii.基于磷酸盐的可裂解连接基团

[0714] 在另一个实施例中,可裂解连接子包含基于磷酸盐的可裂解连接基团。基于磷酸酯的可裂解连接基团被降解或水解磷酸酯基团的剂裂解。裂解细胞中磷酸基团的剂的实例是酶,例如细胞中的磷酸酶。基于磷酸盐的连接基团的例子是-O-P(O)(ORk)-O-、-O-P(S)(ORk)-O-、-O-P(S)(SRk)-O-、-S-P(O)(ORk)-O-、-O-P(O)(ORk)-S-、-S-P(O)(ORk)-S-、-O-P(S)(ORk)-S-、-S-P(S)(ORk)-O-、-O-P(O)(Rk)-O-、-O-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-O-、-S-P(S)(Rk)-O-、-S-P(O)(Rk)-S-、-O-P(S)(Rk)-S-。优选的实施例是-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(OH)-S-、-S-P(O)(OH)-S-、-O-P(S)(OH)-S-、-S-P(S)(OH)-O-、-O-P(O)(H)-O-、-O-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-O-、-S-P(S)(H)-O-、-S-P(O)(H)-S-、-O-P(S)(H)-S-。优选的实施例是-O-P(O)(OH)-O-。可以使用与上述方法类似的方法来评估这些候选药物。

[0715] iii.酸可裂解的连接基团

[0716] 在另一个实施例中,可裂解连接子包含酸可裂解连接基团。酸可裂解连接基团是一个被在酸性条件下裂解连接基团。在优选的实施例中,酸可裂解的连接基团在pH值为约6.5或更低(例如,约6.0、5.75、5.5、5.25、5.0或更低)的酸性环境中被裂解,或被诸如酶的剂裂解一般酸。在细胞中,特定的低pH细胞器,例如内体和溶酶体,可以为可酸裂解的连接基团提供裂解环境。酸可裂解连接基团的实例包括但不限于腙、酯和氨基酸酯。酸可裂解基团可具有通式-C=NN-、C(O)O或-OC(O)。一个优选的实施例是当与酯的氧相连的碳(烷氧基)是芳基、取代的烷基或叔烷基如二甲基戊基或叔丁基时。可以使用与上述方法类似的方法来评估这些候选药物。

[0717] iv.基于酯的连接基团

[0718] 在另一个实施例中,可裂解连接子包含基于酯的可裂解连接基团。基于酯的可裂解连接基团被细胞中的酶例如酯酶和酰胺酶裂解。基于酯的可裂解连接基团的实例包括但不限于亚烷基、亚烯基和亚炔基的酯。酯可裂解的连接基团具有通式-C(O)O-或-OC(O)-。可以使用与上述方法类似的方法来评估这些候选药物。

[0719] v.基于肽的裂解基团

[0720] 在又一个实施例中,可裂解连接子包含基于肽的可裂解连接基团。基于肽的可裂解连接基团被细胞中的酶如肽酶和蛋白酶裂解。基于肽的可裂解连接基团是在氨基酸之间形成的肽键,以产生寡肽(例如,二肽、三肽等)和多肽。基于肽的可裂解基团不包括酰胺基团(-C(O)NH-)。酰胺基团可以在任何亚烷基、亚烯基或亚炔基之间形成。肽键是氨基酸之间形成的一种特殊类型的酰胺键,以产生肽和蛋白质。基于肽的裂解基团通常限于在产生肽和蛋白质的氨基酸之间形成的肽键(即酰胺键),并且不包括整个酰胺官能基。基于肽的可裂解连接基团具有通式-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-,其中RA和RB是两个相邻氨基酸的R基团。可以使用与上述方法类似的方法来评估这些候选药物。

[0721] 教导制备RNA结合物的代表性美国专利包括但不限于美国专利第4,828,979号;美国专利第4,948,882号;美国专利第5,218,105号;美国专利第5,525,465号;美国专利第5,541,313号;美国专利第5,545,730号;美国专利第5,552,538号;美国专利第5,578,717,5,580,731号;美国专利第5,591,584号;美国专利第5,109,124号;美国专利第5,118,802号;美国专利第5,138,045号;美国专利第5,414,077号;美国专利第5,486,603号;美国专利第5,512,439号;美国专利第5,578,718号;美国专利第5,608,046号;美国专利第4,587,044号;美国专利第4,605,735号;美国专利第4,667,025号;美国专利第4,762,779号;美国专利第4,789,737号;美国专利第4,824,941号;美国专利第4,835,263号;美国专利第4,876,335号;美国专利第4,904,582号;美国专利第4,958,013号;美国专利第5,082,830号;美国专利第5,112,963号;美国专利第5,214,136号;美国专利第5,082,830号;美国专利第5,112,963号;美国专利第5,214,136号;美国专利第5,245,022号;美国专利第5,254,469号;美国专利第5,258,506号;美国专利第5,262,536号;美国专利第5,272,250号;美国专利第5,292,873号;美国专利第5,317,098号;美国专利第5,371,241,5,391,723号;美国专利第5,416,203,5,451,463号;美国专利第5,510,475号;美国专利第5,512,667号;美国专利第5,514,785号;美国专利第5,565,552号;美国专利第5,567,810号;美国专利第5,574,142号;美国专利第5,585,481号;美国专利第5,587,371号;美国专利第5,595,726号;美国专利第5,597,696号;美国专利第5,599,923号;美国专利第5,599,928号以及5,688,941号;美国专利第6,294,664号;美国专利第6,320,017号;美国专利第6,576,752号;美国专利第6,783,931号;美国专利第6,900,297号;美国专利第7,037,646号;美国专利第8,106,022号,每篇的整体内容通过引用并入本文。

[0722] 没有必要对给定化合物中的所有位置都进行统一修饰,事实上,可以将不止一种上述修饰并入单个化合物中,或者甚至在RNAi剂中的单个核苷中。本申请还包括为嵌合化合物的RNAi剂。

[0723] 在本申请内容的上下文中,“嵌合”RNAi剂或“嵌合体”是RNAi剂,优选dsRNA,其包含两个或多个化学上不同的区域,每个区域由至少一个单体单元组成,即。dsRNA化合物的

情况。这些RNAi剂通常包含至少一个区域,其中RNA经修饰,从而赋予RNAi剂增强的对核酸酶降解的抗性、增强的细胞摄取和/或增强的对靶核酸的结合亲和力。RNAi剂的额外区域可用作能够裂解RNA:DNA或RNA:RNA杂交体的酶的底物。例如,RNase H是一种细胞内切核酸酶,其裂解RNA:DNA双链体的RNA链。因此,RNase H的激活导致RNA靶标的裂解,从而大大提高了RNAi剂介导的基因表达抑制的效率。因此,与杂交到同一靶区域的硫代磷酸脱氧dsRNAs相比,当使用嵌合dsRNAs时,通常可以用较短的RNAi剂获得可比较的结果。RNA靶标的裂解可以通过凝胶电泳和,如果需要,本领域已知的相关核酸杂交技术进行常规检测。

[0724] 在某些情况下,RNAi剂的RNA可以经非配体基团修饰。甲许多非配体分子已经被结合到RNAi剂以增强活性,细胞分布或细胞摄取的RNAi剂,以及用于执行这种轭合的制程是在科学文献中提供。此类非配体部分包括脂质部分,例如胆固醇(Kubo,T.等人,Biochem.Biophys.Res.Comm.,2007,365(1):54-61;Letsinger等人,Proc.Natl.Acad.Sci.USA,1989,86:6553)、胆酸(Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Lett.,1994,4:1053)、硫醚,例如,己基-S-三苯硫醇(Manoharan 等人,Ann.N.Y.Acad.Sci.,1992,660:306;Manoharan等人,Bioorg.Med.Chem.Let.,1993,3:2765)、硫胆固醇(Oberhauser等人,Nucl.Acids Res.,1992,20:533)、脂肪链,例如十二烷二醇或十一烷基残基(aison-Behmoaras等人,EMBO J.,1991,10:111;Kabanov等人,FEBS Lett.,1990,259:327;Svinarchuk等人,Biochimie,1993,75:49)、磷脂,例如,二-十六烷基-rac-甘油或三乙基铵1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-H-磷酸酯(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651;Shea等人,Nucl.Acids Res.,1990,18:3777)、多胺或聚乙二醇链(Manoharan等人,Nucleosides&Nucleotides,1995,14:969)或金刚烷乙酸(Manoharan等人,Tetrahedron Lett.,1995,36:3651)、棕榈基部分(Mishra等人,Biochim.Biophys.Acta,1995,1264:229)或十八胺或己胺基-羰基-氧胆固醇部分(Crooke等人,J.Pharmacol.Exp.Ther.,1996,277:923)。上面列出了教导制备这种RNA结合物的代表性美国专利。典型的结合方案有关在序列的一个或多个位置带有氨基连接子的RNA的合成。然后使用适当的结合剂或活化剂使氨基与被结合的分子反应。结合反应可以在RNA仍然结合在固相支持物上或在RNA裂解后在溶液相中进行。通过HPLC纯化RNA结合物通常提供纯结合物。

[0725] VI.本申请的RNAi剂的传递

[0726] 将本申请内容的RNAi剂传递至细胞,例如个体体内的细胞,例如人类个体(例如,有需要的个体,例如患有APP相关病症的个体,例如CAA和/或AD,例如EOFAD)可以通过多种不同的方式实现。例如,可以通过在体外或体内使细胞与本申请内容的RNAi剂接触来进行传递。体内传递也可通过施用一种组成物直接进行一个RNAi剂,例如,的dsRNA,给个体。或者,体内传递可以通过施用一种或多种编码和指导RNAi剂表达的载体间接进行。这些替代方案将在下面进一步讨论。

[0727] 一般而言,传递核酸分子(体外或体内)的任何方法都可以适用于与本申请内容的RNAi剂一起使用(参见例如Akhtar S.和Julian RL.,(1992)Trends Cell.Biol.2(5):139-144以及WO94/02595,其全部内容通过引用并入本文)。对于体内传递,传递RNAi剂要考虑的因素包括例如传递剂的生物稳定性、非特异性效应的预防以及传递剂在靶组织中的积累。RNAi剂的非特异性作用可以通过局部施用来最小化,例如,通过直接注射或植入组织或局

部施用制剂。局部施用到治疗部位最大化剂的局部浓度,限制了剂可以用其他方式由剂而受到损害或可降解剂的全身组织的暴露,并允许更低的总剂量RNAi剂施用。几项研究表明,当局部施用RNAi剂时,基因产物可以成功敲除。例如,通过玻璃体内注射在食蟹猴中(Tolentino,MJ.等人,(2004)Retina 24:132-138)和小鼠视网膜下注射眼内传递(Reich,SJ.等人,(2003)Mol.Vis.9:210-216)在年龄相关性黄斑变性的实验模型中均示出可防止新血管形成。此外,在小鼠中直接瘤内注射dsRNA可减少肿瘤体积(Pille,J等人,(2005)Mol.Ther.11:267-274)并可延长荷瘤小鼠的存活时间(Kim,WJ.等人,(2006)Mol.Ther.14:343-350;Li,S.等人,(2007)Mol.Ther.15:515-523)。RNA干扰也示出通过直接注射局部传递至CNS的成功(Dorn,G.等人,2004)Nucleic Acids 32:e49;Tan,PH.等人,(2005)Gene Ther.12:59-66;Makimura,H.等人,(2002)BMC Neurosci.3:18;Shishkina,GT.等人,(2004)Neuroscience 129:521-528;Thakker,ER.,等人,(2004)Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.101:17270-17275;Akaneya,Y.等人,(2005)J.Neurophysiol.93:594-602)和通过鼻内施用到肺(Howard,KA.等人,(2006)Mol.Ther.14:476-484;Zhang,X.等人,(2004)J.Biol.Chem.279:10677-10684;Bitko,V.等人,(2005)Nat.Med.11:50-55)。为了全身性地施用治疗疾病的RNAi剂,可以使用药物传递系统修饰或替代地传递RNA;这两种方法都可以防止dsRNA在体内被核酸内切酶和核酸外切酶快速降解。RNA或药物载体的修饰还可以允许将RNAi剂靶向靶组织并避免不希望的脱靶效应(例如,不希望受理论束缚,已确定使用如本文所述的GNA使dsRNA的种子区域不稳定,导致此类dsRNA相对于脱靶效应更偏向于对靶效应,如这种种子区域不稳定会显著削弱这种脱靶效应)。。RNAi剂可以通过化学结合到亲脂性基团(如胆固醇)进行修饰,以增强细胞摄取并防止降解。例如,针对与亲脂性胆固醇部分结合的ApoB的RNAi剂被全身注射到小鼠体内,并导致肝脏和空肠中apoB mRNA的敲除(Soutschek,J.等人,(2004)Nature 432:173-178)。在前列腺癌小鼠模型中,RNAi剂与适体的结合已被证明可抑制肿瘤生长并介导肿瘤消退(McNamara,JO.等人,(2006)Nat.Biotechnol.24:1005-1015)。在替代实施例中,可以使用药物传递系统例如奈米颗粒、树枝状聚合物、聚合物、脂质体或阳离子传递系统传递RNAi剂。带正电荷的阳离子传递系统促进分子RNAi剂(带负电荷)的结合,还增强了带负电荷的细胞膜上的相互作用,以允许细胞有效吸收RNAi剂。阳离子脂质、树枝状聚合物或聚合物可以与RNAi剂结合,或被诱导形成包裹RNAi剂的囊泡或胶束(参见例如Kim SH.等人,(2008)Journal of Controlled Release 129(2):107-116)。当全身施用时,囊泡或胶束的形成进一步防止了RNAi剂的降解。制备和施用阳离子-RNAi剂复合物的方法在本领域技术人员的能力范围内(参见例如,Sorensen,DR.,等人,(2003)J.Mol.Biol 327:761-766;Verma,UN.等人,(2003)Clin.Cancer Res.9:1291-1300;Arnold,AS等人,(2007)J.Hypertens.25:197-205,其通过引用整体并入本文)。可用于全身传递RNAi剂的药物传递系统的一些非限制性实例包括DOTAP(Sorensen,DR.等人,(2003),supra;Verma,UN.等人,(2003),supra)、低聚转染胺(Oligofectamine),“solid nucleic acid lipid particles”(Zimmermann,TS.等人,(2006)Nature 441:111-114)、心磷脂(cardiolipin)(Chien,PY.等人,(2005)Cancer Gene Ther.12:321-328;Pal,A.等人,(2005)Int J.Oncol.26:1087-1091)、聚乙烯亚胺(Bonnet ME.等人,(2008)Pharm.Res.Aug 16 Epub ahead of print;Aigner,A.(2006)J.Biomed.Biotechnol.71659)、精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸(RGD)肽(Liu,

S.(2006)Mol.Pharm.3:472-487),和聚酰胺胺(Tomalia,DA.等人,(2007)Biochem.Soc.Trans.35:61-67;Yoo,H.等人,(1999)Pharm.Res.16:1799-1804)。在一些实施例中,RNAi剂与环糊精形成复合物用于全身施用。RNAi剂和环糊精的施用方法和医药组成物可以在美国专利第7,427,605号中找到,所述专利通过引用整体并入本文。

[0728] 本申请的某些方面有关降低细胞中APP靶基因表达的方法,包括使所述细胞与本申请的双链RNAi剂接触。在一个实施例中,细胞是肝外细胞,任选地是CNS细胞。

[0729] 本申请的另一方面有关降低个体中APP靶基因表达的方法,包括向个体施用本申请的双链RNAi剂。

[0730] 本申请的另一方面有关治疗患有CNS病症的个体的方法,包括向个体施用治疗有效量的本申请的靶向APP的双链RNAi剂,从而治疗个体。可以通过本申请内容的方法治疗的实例性CNS病症包括阿兹海默症、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、额颞叶痴呆、亨廷顿病、帕金森病、脊髓小脑病、朊病毒和拉弗拉病。

[0731] 在一个实施例中,双链RNAi剂鞘内施用。通过鞘内施用双链RNAi剂,所述方法可以降低APP靶基因在大脑或脊柱组织中的表达,例如,皮质、小脑、纹状体、颈椎、腰椎和胸椎。

[0732] 为便于阐述,本节中的配方、组成物和方法主要针对经修饰的siRNA化合物进行讨论。然而,可以理解的是,这些制剂、组成物和方法可以与其他siRNA化合物一起实施,例如,未经修饰的siRNA化合物,并且这样的实践在本申请范围内。可以通过多种途径将包含RNAi剂的组成物传递给个体。实例性途径包括:鞘内、静脉内、局部、直肠、肛门、阴道、鼻、肺、眼。

[0733] 本申请内容的RNAi剂可以掺入适合施用的医药组成物中。此类组成物通常包括一种或多种RNAi剂和药学上可接受的载体。如本文所用,术语“药学上可接受的载体”旨在包括与药物施用相容的任何和所有溶剂、分散介质、包衣、抗菌剂和抗真菌剂、等渗透剂和吸收延迟剂等。此类介质和剂用于药物活性物质的用途是本领域公知的。除非任何常规介质或药剂与活性化合物不相容,否则考虑其在组成物中的使用。也可将补充活性化合物掺入组成物中。

[0734] 本申请的医药组成物可以多种方式施用,这取决于是需要局部治疗还是全身治疗以及待治疗的区域。施用可以是局部(包括眼部、阴道、直肠、鼻内、经皮)、口服或肠胃外施用。肠胃外施用包括静脉滴注、皮下、腹膜内或肌内注射,或鞘内或脑室内施用。

[0735] 可选择施用途径和部位以增强靶向性。例如,为了靶向肌肉细胞,将肌肉注射到感兴趣的肌肉中将是一个合乎逻辑的选择。可以通过以气溶胶形式施用RNAi剂来靶向肺细胞。血管内皮细胞可以通过用RNAi剂涂覆球囊导管并机械引入DNA来靶向。

[0736] 用于局部施用的制剂可包括透皮贴剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉末。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必要的或期望的。带涂层的避孕套、手套等也可能有用。

[0737] 用于口服施用的组成物包括粉剂或颗粒剂、混悬剂或水溶液、糖浆剂、酏剂或非水介质、片剂、胶囊剂、锭剂或锭剂。在片剂的情况下,可以使用的载体包括乳糖、柠檬酸钠和磷酸的盐。片剂中常用各种崩解剂,如淀粉,润滑剂如硬脂酸镁、十二烷基硫酸钠和滑石粉。对于以胶囊形式口服施用,有用的稀释剂是乳糖和高分子量聚乙二醇。当口服使用需要水性悬浮液时,核酸组成物可以与乳化剂和悬浮剂组合。如果需要,可以添加某些甜味剂和/或调味剂。

[0738] 用于鞘内或心室内施用的组成物可包括无菌水溶液,其还可含有缓冲剂、稀释剂和其他合适的添加剂。

[0739] 肠胃外施用的制剂可以包括无菌水溶液,其也可以含有缓冲剂、稀释剂和其他合适的添加剂。脑室内注射可以通过例如附接到储液器的脑室内导管来促进。对于静脉内使用,可以控制溶质的总浓度以使制剂等渗透。

[0740] 在一个实施例中,siRNA化合物,例如双链siRNA化合物或ssiRNA化合物、组成物的施用是肠胃外的,例如静脉内(例如,作为推注或作为可扩散输注)、皮内、腹膜内、肌肉内、鞘内、心室内、颅内、皮下、经黏膜、颊、舌下、内窥镜、直肠、口腔、阴道、局部、肺、鼻内、尿道或眼。施用可由个体或由其他人,例如,保健提供者提供。药物可以按计量的剂量提供,也可以在分配计量的剂量的分配器中提供。下文更详细地讨论了选定的传递方式。

[0741] 鞘内施用。在一个实施例中,双链RNAi剂通过鞘内注射(即注射到沐浴脑和脊髓组织的脊髓液中)传递。RNAi剂鞘内注射到脊髓液中可以作为推注或通过微型泵进行,微型泵可以植入皮下,提供siRNA定期和持续输送到脊髓液中。脊髓液从脉络丛开始循环,在脊髓和背根神经节周围向下循环,然后向上经过小脑和皮质到达蛛网膜颗粒,在那里液体可以离开中枢神经系统,即,根据注射化合物的大小、稳定性和溶解度,鞘内传递的分子可以击中整个中枢神经系统的靶。

[0742] 在一些实施例中,鞘内施用是通过泵进行的。泵可以是手术植入的渗透泵。在一个实施例中,渗透泵被植入椎管的蛛网膜下腔以促进鞘内施用。

[0743] 在一些实施例中,鞘内施用是通过用于药物的鞘内传递系统进行的,所述系统包括含有一定体积药剂的储器和被配置为传递包含在储器中的药剂的一部分的泵。关于所述鞘内传递系统的更多细节可以在2015年1月28日提交的PCT/US2015/013253中找到,其全文以引用方式并入。

[0744] 鞘内注射的RNAi剂的量可能因一个靶基因而异,并且必须为每个靶基因单独确定必须应用的适当量。通常,所述量的范围在10μg至2mg之间,优选50μg至1500μg,更优选100μg至1000μg。

[0745] A.揭露的载体编码的RNAi剂

[0746] RNAi剂靶向APP基因可以从插入到DNA或RNA载体(参见,Couture,A等人,TIG.(1996),12:5-10;Skillern,A.等人,国际PCT公开号WO 00/22113,Conrad,国际PCT公开号WO 00/22114,和Conrad,美国专利号6,054,299)。表达可以是短暂的(几小时到几周)或持续的(几周到几个月或更长时间),这取决于所使用的特定构建体和靶组织或细胞类型。这些转基因可以作为线性构建体、环状质粒或病毒载体引入,病毒载体可以是整合或非整合载体。还可以构建转基因以允许其作为染色体外质粒遗传(Gassmann等人,(1995)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 92:1292)。

[0747] RNAi剂的单个或多个链可以从表达载体上的启动子转录。在要表达两条分开的链以产生例如dsRNA的情况下,可以将两个分开的表达载体共同引入(例如,通过转染或感染)到靶细胞中。或者,dsRNA的每条单独链都可以由位于同一表达质粒上的启动子转录。在一个实施例中,dsRNA表达为通过连接子多核苷酸序列连接的反向重复多核苷酸,使得dsRNA具有茎环结构。

[0748] RNAi剂表达载体通常是DNA质粒或病毒载体。与真核细胞相容的表达载体,优选与

脊椎动物细胞相容的表达载体,可用于产生重组构建体以表达本文所述的RNAi剂。真核细胞表达载体是本领域众所周知的并且可从许多商业来源获得。通常,提供的此类载体包含用于插入所需核酸区段的方便限制性末端。RNAi剂表达载体的传递可以是全身性的,例如通过静脉内或肌肉内施用,通过施用至从患者外植的靶细胞然后重新引入患者,或通过允许引入所需靶细胞的任何其他方式。

[0749] 可与本文所述的方法和组成物一起使用的病毒载体系统包括但不限于(a)腺病毒载体;(b)逆转录病毒载体,包括但不限于慢病毒载体、莫洛尼鼠白血病病毒等;(c)腺相关病毒载体;(d)单纯疱疹病毒载体;(e)SV 40载体;(f)多瘤病毒载体;(g)乳头状瘤病毒载体;(h)小核糖核酸病毒载体;(i)痘病毒载体,例如正痘病毒载体,例如痘苗病毒载体或禽痘病毒载体,例如金丝雀痘或禽痘;(j)辅助依赖型或无肠腺病毒。复制缺陷病毒也可能是有利的。不同的载体会或不会被整合到细胞的基因组中。如果需要,构建体可以包括用于转染的病毒序列。或者,可以将构建体并入能够进行游离复制的载体,例如EPV和EBV载体。用于重组表达RNAi剂的构建体通常需要调节元件,例如启动子、增强子等,以确保RNAi剂在靶细胞中的表达。对于载体和构建体要考虑的其他方面是本领域已知的。

[0750] VII.本申请的医药组成物

[0751] 本申请还包括包含本申请的RNAi剂的医药组成物和制剂。在一个实施例中,本文提供包含本文所述的RNAi剂和药学上可接受的载体的医药组成物。含有RNAi剂的医药组成物可治疗与APP基因的表达或活性相关的疾病或病症,例如APP相关疾病,例如CAA或AD,例如EOFAD。

[0752] 此类医药组成物基于传递方式配制。一个例子是配制用于通过肠胃外传递全身施用的组成物,例如通过静脉内(IV)、肌肉内(IM)或用于皮下(subQ)传递。另一个例子是配制用于直接传递到CNS中的组成物,例如,通过鞘内或玻璃体内注射途径,任选地通过输注到脑中,例如通过连续泵输注。

[0753] 本申请的医药组成物可以以足以抑制APP基因表达的剂量施用。一般而言,本公开内容的RNAi剂的合适剂量将在约0.001至约200.0毫克/千克接受者体重/天的范围内,一般在每天每公斤体重约1至50毫克的范围内。通常,本申请内容的RNAi剂的合适剂量将在约0.1mg/kg(毫克/公斤)至约5.0mg/kg,优选约0.3mg/kg和约3.0mg/kg的范围内。

[0754] 重复施用方案可包括定期给予治疗量的RNAi剂,例如每两个月或每月至每年一次。在某些实施例中,RNAi剂施用约每月一次至约每季度一次(即,约每三个月一次)。

[0755] 在初始治疗方案之后,治疗可以以较低频率进行。

[0756] 剂量单位可以混合用于在延长的时间内传递,例如,使用常规的持续释放制剂,其在延长的时间内提供RNAi剂的持续释放。持续释放制剂是本领域公知的并且特别适用于在特定部位传递药剂,例如可以与本申请的药剂一起使用。在所述实施例中,剂量单位包含相应的倍数,例如每月剂量。

[0757] 在其他实施例中,单剂量的医药组成物可以是持久的,从而以不超过1、2、3或4或更多周的间隔施用后续剂量。在本申请的一些实施例中,每周一次施用单剂量的本申请的医药组成物。在本申请的其他实施例中,每两个月施用单剂量的本申请的医药组成物。

[0758] 本领域技术人员将理解,某些因素可影响有效治疗个体所需的剂量和时间,包括但不限于疾病或病症的严重程度、先前的治疗、个体的总体健康状况和/或年龄,以及其他

存在的疾病。此外,用治疗有效量的组成物治疗个体可包括单次治疗或一系列治疗。如本文别处所述,可以使用常规方法或基于使用适当动物模型的体内测试来估计本申请所涵盖的单个RNAi剂的有效剂量和体内半衰期。

[0759] 小鼠遗传学的进步产生了许多用于研究各种人类疾病的小鼠模型,例如可从APP的表达减少中受益的APP相关疾病。此类模型可用于RNAi剂的体内测试,以及用于确定治疗有效剂量。合适的小鼠模型是本领域已知的并且包括例如本文别处描述的AD和/或CAA模型。

[0760] 本申请的医药组成物可以多种方式施用,这取决于是需要局部治疗还是全身治疗以及待治疗的区域。施用可以是局部施用(例如,通过透皮贴剂)、肺部施用,例如通过吸入或吹入粉末或气雾剂,包括通过喷雾器;气管内、鼻内、表皮和透皮、口服或肠胃外。肠胃外施用包括静脉内、动脉内、皮下、腹膜内或肌肉内注射或输注;皮下,例如,通过植入装置;或颅内,例如,通过实质内、鞘内或心室内施用。

[0761] 所述RNAi剂可以以这样的方式被传递至靶向特定组织,例如中枢神经系统(例如,神经元,神经胶质和/或脑血管组织)。

[0762] 用于局部施用的医药组成物和制剂可以包括透皮贴剂、软膏、洗剂、乳膏、凝胶、滴剂、栓剂、喷雾剂、液体和粉末。常规的药物载体、水性、粉末或油性基质、增稠剂等可能是必要的或合乎需要的。带涂层的避孕套、手套等也很有用。合适的局部制剂包括其中本申请中特征化的RNAi剂与局部传递剂例如脂质、脂质体、脂肪酸、脂肪酸酯、类固醇、螯合剂和表面活性剂混合的那些。合适的脂质和脂质体包括中性(例如二油酰磷脂酰DOPE乙醇胺、二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱DMPC、二硬脂酰磷脂酰胆碱)、阴离子型(例如二肉豆蔻酰磷脂酰甘油DMPG)和阳离子型(例如二油酰四甲基氨基丙基二油酰乙醇胺和二油酰磷脂酰乙醇胺)。本申请内容中的RNAi剂可以被包裹在脂质体中或可以与其形成复合物,特别是与阳离子脂质体形成复合物。或者,RNAi剂可以与脂质复合,特别是与阳离子脂质复合。合适的脂肪酸和酯包括但不限于花生四烯酸、油酸、二十烷酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸、三癸酸、单油酸、二月桂酸甘油酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱或$C_{1-20}$烷基酯(例如肉豆蔻酸异丙酯IPM)、甘油单酯、甘油二酯或其药学上可接受的盐。美国专利第6,747,014号中详细描述了局部制剂,所述专利通过引用并入本文。

[0763] A)包含膜分子组装体的RNAi剂制剂

[0764] 用于本申请内容的组成物和方法中的RNAi剂可以被配制用于在膜分子组装体例如脂质体或胶束中传递。如本文所用,术语“脂质体”是指由排列成至少一个双层,例如一个双层或多个双层的两亲脂质组成的囊泡。脂质体包括单层和多层囊泡,其具有由亲脂性材料和水性内部形成的膜。水性部分含有RNAi剂组成物。亲脂性材料将水性内部与水性外部隔离,水性外部通常不包括RNAi剂组成物,尽管在一些实例中,其可以。脂质体可用于将活性成分转移和传递至作用部位。因为脂质体膜在结构上类似于生物膜,当脂质体应用于组织时,脂质体双层与细胞膜的双层融合。随着脂质体和细胞融合的进行,包含RNAi剂的内部水性内容物被传递到细胞中,在那里RNAi剂可以与靶标RNA特异性结合并可以介导RNAi。在一些情况下,脂质体也被特异性靶向,例如,将RNAi剂引导至特定细胞类型。

[0765] 可以通过多种方法制备含有RNAi剂的脂质体。在一个实例中,脂质体的脂质组分

溶解在去污剂中,从而与脂质组分形成胶束。例如,脂质组分可以是两亲性阳离子脂质或脂质结合物。去污剂可以具有高临界胶束浓度并且可以是非离子的。实例性的去污剂包括胆酸盐、CHAPS、辛基葡糖苷、脱氧胆酸盐和月桂酰肌氨酸。然后将RNAi剂制剂添加到包含脂质成分的胶束中。脂质上的阳离子基团与RNAi剂相互作用并在RNAi剂周围凝聚形成脂质体。缩合后,例如通过透析除去去污剂以产生RNAi剂的脂质体制剂。

[0766] 如果需要,可以在缩合反应期间加入有助于缩合的载体化合物,例如,通过受控加入。例如,载体化合物可以是核酸以外的聚合物(例如精氨或亚精氨)。还可以调节pH值以有利于冷凝。

[0767] 在例如WO 96/37194中进一步描述了用于生产稳定的多核苷酸传递载体的方法,所述多核苷酸传递载体并入多核苷酸/阳离子脂质复合物作为传递载体的结构组分,其全部内容通过引用并入本文。脂质体形成还可以包括Felgner,P.L.等人,(1987)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 8:7413-7417;U.S.Pat.No.4,897,355;U.S.Pat.No.5,171,678;Bangham等人,(1965)M.Mol.Biol.23:238;Olson等人,(1979)Biochim.Biophys.Acta 557:9;Szoka等人,(1978)Proc.Natl.Acad.Sci.75:4194;Mayhew等人,(1984)Biochim.Biophys.Acta 775:169;Kim等人,(1983)Biochim.Biophys.Acta 728:339;和Fukunaga等人,(1984)Endocrinol.115:757描述的实例性方法的一个或多个方面。制备用作传递载体的适当大小的脂质聚集体的常用技术包括超声处理和冻融加挤出(参见,例如Mayer等人,(1986)Biochim.Biophys.Acta 858:161)。微流化可以在以下情况下使用:需要始终小(50至200nm)和相对均匀的聚集体(Mayhew等人,(1984)Biochim.Biophys.Acta 775:169)。这些方法很容易适用于将RNAi剂制剂包装到脂质体中。

[0768] 脂质体分为两大类。阳离子脂质体是带正电荷的脂质体,其与带负电荷的核酸分子相互作用形成稳定的复合物。带正电的核酸/脂质体复合物与带负电的细胞表面结合并被内体化。由于内体内的酸性pH,脂质体破裂,将其内容物释放到细胞质中(Wang等人,(1987)Biochem.Biophys.Res.Commun.,147:980-985)。

[0769] pH敏感或带负电荷的脂质体会捕获核酸而不是与其复合。由于核酸和脂质都带类似电荷,因此会发生排斥而不是复合物的形成。然而,一些核酸被包裹在这些脂质体的水性内部。pH敏感脂质体已被用于将编码胸苷激酶基因的核酸传递至培养的细胞单层。在靶细胞中检测到外源基因的表达(Zhou等人,(1992)Journal of Controlled Release,19:269-274)。

[0770] 脂质体组成物的一种主要类型包括除天然衍生的磷脂酰胆碱之外的磷脂。例如,中性脂质体组成物可由二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱(DMPC)或二棕榈酰磷脂酰胆碱(DPPC)形成。阴离子脂质体组成物通常由二肉豆蔻酰磷脂酰甘油形成,而阴离子融合脂质体主要由二油酰磷脂酰乙醇胺(DOPE)形成。另一种脂质体组成物由磷脂酰胆碱(PC)形成,例如大豆PC和卵PC。另一物质型由磷脂和/或磷脂酰胆碱和/或胆固醇的混合物形成。

[0771] 将脂质体在体外和体内引入细胞的其他方法的实例包括美国专利第5,283,185号;美国专利第5,171,678号;WO 94/00569;WO 93/24640;WO 91/16024;Felgner,(1994)J.Biol.Chem.269:2550;Nabel,(1993)Proc.Natl.Acad.Sci.90:11307;Nabel,(1992)Human Gene Ther.3:649;Gershon,(1993)Biochem.32:7143;以及Strauss,(1992)EMBO J.11:417。

[0772] 还检查了非离子脂质体系统以确定其在将药物传递至皮肤中的效用,特别是包含非离子表面活性剂和胆固醇的系统。包含Novasome™I(甘油二月桂酸酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂醚)和Novasome™II(二硬脂酸甘油酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂醚)的非离子脂质体制剂用于将环孢菌素-A传递至真皮老鼠皮。结果表明,此类非离子脂质体系统可有效促进环孢菌素A沉积到皮肤的不同层中(Hu等人,(1994)S.T.P.Pharma.Sci.,4(6):466)。

[0773] 脂质体还包括"空间稳定的"脂质体,如本文所用,所述术语是指包含一种或多种特化脂质的脂质体,当掺入脂质体时,相对于缺乏此类特化脂质的脂质体导致循环寿命延长。空间稳定的脂质体的实例是其中脂质体(A)的形成囊泡的脂质部分的一部分包含一种或多种醣脂,例如单唾液酸神经节苷脂$G_{M1}$,或(B)用一种或多种亲水性聚合物衍生化的脂质体,例如聚乙二醇(PEG)部分。尽管不希望受任何特定理论的束缚,但本领域认为,至少对于包含神经节苷脂、鞘磷脂或PEG衍生的脂质的空间稳定的脂质体,这些空间稳定的脂质体的循环半衰期的增强源自减少对网状内皮系统(RES)细胞的摄取(Allen等人,(1987)FEBS Letters,223:42;Wu等人,(1993)Cancer Research,53:3765)。

[0774] 包含一种或多种醣脂的各种脂质体是本领域已知的。Papahadjopoulos等人,(Ann.N.Y.Acad.Sci.,(1987),507:64)报导单唾液酸神经节苷脂G的能力$_{M1}$、半乳糖脑苷硫酸盐和磷脂酰肌醇,以提高脂质体的血液半衰期。Gabizon等人,(Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.,(1988),85,:6949)阐述了这些发现。美国专利第4,837,028号和WO 88/04924,这二者与Allen等人,公开了脂质体,其包含(1)鞘磷脂和(2)神经节苷脂$G_{M1}$或半乳糖脑苷硫酸酯。美国专利第5,543,152号(Webb等人,)公开了包含鞘磷脂的脂质体。WO97/13499(Lim等人,)中公开了包含1,2-sn-二肉豆蔻酰磷脂酰胆碱的脂质体。

[0775] 在一个实施例中,使用阳离子脂质体。阳离子脂质体具有能够与细胞膜融合的优点。非阳离子脂质体虽然不能与质膜有效融合,但在体内被巨噬细胞吸收,可用于将RNAi剂传递至巨噬细胞。

[0776] 脂质体的其他优点包括:从天然磷脂中获得的脂质体具有生物相容性和可生物降解性;脂质体可掺入多种水溶性和脂溶性药物;脂质体可以保护包封在其内部隔室中的RNAi剂免于代谢和降解(Rosoff,in"Pharmaceutical Dosage Forms,"Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,volume 1,p.245)。脂质体制剂制备中的重要考虑因素是脂质表面电荷、囊泡大小和脂质体的水体积。

[0777] 带正电荷的合成阳离子脂质N-[1-(2,3-二烯氧基)丙基]-N,N,N-三甲基氯化铵(DOTMA)可用于形成小脂质体,这些脂质体与核酸自发地相互作用形成脂质-能够与组织培养细胞的细胞膜的带负电荷的脂质融合的核酸复合物,导致RNAi剂的传递(参见,例如,Felgner,P.L.等人,(1987)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 8:7413-7417,以及美国专利第4,897,355号的DOTMA及其与DNA的用途的叙述和美国专利号4,897,355针对DOTMA及其使用于DNA的描述)。

[0778] DOTMA类似物、1,2-双(油酰氧基)-3-(三甲基氨)丙烷(DOTAP)可与磷脂结合使用以形成DNA复合囊泡。Lipofectin™ Bethesda Research Laboratories,Gaithersburg,Md.)是一种将高度阴离子核酸输送到活组织培养细胞中的有效剂,所述细胞包含带正电荷的DOTMA脂质体,所述脂质体与带负电荷的多核苷酸自发相互作用形成复合物。当使用足够多的带正电荷的脂质体时,所得复合物上的净电荷也是正电荷。以这种方式制备的带正电

的复合物自发地附着在带负电的细胞表面,与质膜融合,并有效地将功能性核酸输送到例如组织培养细胞中。另一种可商购的阳离子脂质,1,2-双(油酰氧基)-3,3-(三甲基氨)丙烷("DOTAP")(Boehringer Mannheim,Indianapolis,Indiana)与DOTMA的不同之处在于油酰部分通过酯链接,而不是醚键链接。

[0779] 其他报导的阳离子脂质化合物包括与多种部分结合的那些,包括例如羧精氨,其与两物质型的脂质中的一种结合,包括化合物如5-羧基精氨甘氨酸二辛基油酰胺("DOGS")(Transfectam™,Promega,Madison,Wisconsin)和二棕榈酰磷脂酰乙醇胺5-羧基精酰胺("DPPES")(参见例如美国专利第5,171,678号)。

[0780] 另一种阳离子脂质结合物包括脂质与胆固醇的衍生化("DC-Chol"),胆固醇已与DOPE组合制成脂质体(参见Gao,X.及Huang,L.,(1991)Biochim.Biophys.Res.Commun.179:280)。据报导,通过将多聚赖氨酸与DOPE结合而制备的脂多聚赖氨酸在血清存在下对转染有效(Zhou,X.等人,(1991)Biochim.Biophys.Acta 1065:8)。对于某些细胞系,据说这些含有共轭阳离子脂质的脂质体比含有DOTMA的组成物表达出更低的毒性并提供更有效的转染。其他可商购的阳离子脂质产品包括DMRIE和DMRIE-HP(Vical,La Jolla,California)和脂质体(DOSPA)(Life Technology,Inc.,Gaithersburg,Maryland)。WO 98/39359和WO 96/37194中描述了适用于传递寡核苷酸的其他阳离子脂质。

[0781] 脂质体制剂特别适合局部施用,脂质体与其他制剂相比具有几个优点。这些优点包括与施用药物的高全身吸收相关的副作用减少、施用药物在所需靶标处的积累增加以及将RNAi剂施用到皮肤中的能力。在一些实施方式中,脂质体用于将RNAi剂传递至表皮细胞并且还用于增强RNAi剂向真皮组织例如进入皮肤的渗透。例如,脂质体可以局部应用。已记录将配制为脂质体的药物局部传递至皮肤(参见,例如,Weiner等人,(1992)Journal of Drug Targeting,vol.2,405-410以及du Plessis等人,(1992)Antiviral Research,18:259-265;Mannino,R.J.及Fould-Fogerite,S.,(1998)Biotechniques 6:682-690;Itani,T.等人,(1987)Gene 56:267-276;Nicolau,C.等人,(1987)Meth.Enzymol.149:157-176;Straubinger,R.M.及Papahadjopoulos,D.(1983)Meth.Enzymol.101:512-527;Wang,C.Y.及Huang,L.,(1987)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 84:7851-7855)。

[0782] 还检查了非离子脂质体系统以确定其在将药物传递至皮肤中的效用,特别是包含非离子表面活性剂和胆固醇的系统。包含Novasome I(甘油二月桂酸酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂醚)和Novasome II(二硬脂酸甘油酯/胆固醇/聚氧乙烯-10-硬脂醚)的非离子脂质体制剂用于将药物传递到小鼠皮肤的真皮中。此类具有RNAi剂的制剂可治疗皮肤病。

[0783] 包含RNAi剂的脂质体可以制成高度可变形的。这种变形能力可以使脂质体穿透小于脂质体平均半径的孔。例如,转移体是一种可变形的脂质体。可以通过将表面边缘活化剂(通常是表面活性剂)添加到标准脂质体组成物中来制备转移体。可以例如通过感染皮下传递包括RNAi剂的传递体,以将RNAi剂传递至皮肤中的角质形成细胞。为了穿过完整的哺乳动物皮肤,脂质囊泡必须在合适的透皮梯度的影响下穿过一系列细孔,每个细孔的直径都小于50nm。此外,由于脂质特性,这些转移小体可以自我优化(适应毛孔的形状,例如皮肤中的毛孔)、自我修复,并且可以经常到达其靶而不破碎,并且经常是自我加载。

[0784] 适用于本申请的其他制剂在2008年1月2日提交的美国临时申请序列号61/018,616中;61/018,611,2008年1月2日提交;61/039,748,2008年3月26日提交;2008年4月22日

提交的61/047,087和2008年5月8日提交的61/051,528有所描述。2007年10月3日提交的PCT申请号PCT/US2007/080331也描述了适用于本申请的制剂。

[0785] 传递体是另一物质型的脂质体,是高度可变形的脂质聚集体,是药物传递载体的有吸引力的候选药物。传递体可以被描述为脂滴,其非常容易变形,以至于其很容易穿透比液滴小的孔。传递体可适应使用其环境,例如,其可以自我优化(适应皮肤毛孔的形状)、自我修复、经常到达靶而不破碎,并且经常自我加载。为了制造转移体,可以向标准脂质体组成物中添加表面边缘活化剂,通常是表面活性剂。传递体已被用于将血清白蛋白输送到皮肤。已证明转移体介导的血清白蛋白传递与皮下注射含有血清白蛋白的溶液一样有效。

[0786] 表面活性剂广泛应用于制剂中,例如本文所述的那些,特别是乳液(包括微乳液)和脂质体。对许多不同类型的表面活性剂(天然和合成)的性质进行分类和排序的最常用方法是使用亲水/亲油平衡(HLB)。亲水基团(也称为"头部")的性质为对制剂中使用的不同表面活性剂进行分类提供最有用的方法(Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,1988,p.285)。

[0787] 如果表面活性剂分子没有被电离,则其被归类为非离子表面活性剂。非离子表面活性剂在药物和化妆品中得到广泛应用,并且可在很宽的pH值范围内使用。通常,其HLB值范围从2到约18,这取决于其结构。非离子表面活性剂包括非离子酯,例如乙二醇酯、丙二醇酯、甘油酯、聚甘油酯、脱水山梨糖醇酯、蔗糖酯和乙氧基化酯。非离子链烷醇酰胺和醚,例如脂肪醇乙氧基化物、丙氧基化醇和乙氧基化/丙氧基化嵌段聚合物也包括在这一类中。聚氧乙烯表面活性剂是非离子表面活性剂类中最受欢迎的成员。

[0788] 如果表面活性剂分子在溶解或分散在水中时带有负电荷,则所述表面活性剂被归类为阴离子表面活性剂。阴离子表面活性剂包括羧酸盐如皂、酰基乳酸盐、氨基酸酰基酰胺、硫酸酯如烷基硫酸盐和乙氧基化烷基硫酸盐、磺酸盐如烷基苯磺酸盐、酰基羟乙磺酸盐、酰基牛磺酸盐和磺基琥珀酸盐,和磷酸盐。阴离子表面活性剂类别中最重要的成员是烷基硫酸盐和皂类。

[0789] 如果表面活性剂分子在溶解或分散在水中时带有正电荷,则所述表面活性剂被归类为阳离子表面活性剂。阳离子表面活性剂包括季铵盐和乙氧基化胺。季铵盐是此类中最常用的成员。

[0790] 如果表面活性剂分子具有携带正电荷或负电荷的能力,则所述表面活性剂被归类为两性的。两性表面活性剂包括丙烯酸衍生物、取代的烷基酰胺、N-烷基甜菜碱和磷脂。

[0791] 表面活性剂在药物产品、制剂和乳剂中的使用已经过审查(Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,1988,p.285)。

[0792] 用于本申请内容的方法中的RNAi剂也可以作为胶束制剂提供。"胶束"在本文中被定义为特定类型的分子组装体,其中两亲性分子以球形结构排列,使得分子的所有疏水部分都向内定向,而使亲水部分与周围的水相接触。如果环境是疏水的,则存在相反的排列。

[0793] 适合通过透皮膜传递的混合胶束制剂可以通过混合siRNA组成物、碱金属$C_8$至$C_{22}$烷基硫酸盐和胶束形成化合物的水溶液来制备。实例性的胶束形成化合物包括卵磷脂、透明质酸、透明质酸的药学上可接受的盐、乙醇酸、乳酸、洋甘菊提取物、黄瓜提取物、油酸、亚油酸、亚麻酸、单油酸、单油酸酯、单月桂酸酯、琉璃苣油、月见草油、薄荷醇、三羟基氧代胆烷基甘氨酸及其药学上可接受的盐、甘油、聚甘油、赖氨酸、聚赖氨酸、甘油三油酸酯、聚氧

乙烯醚及其类似物、聚多卡醇烷基醚及其类似物、鹅去氧胆酸盐、脱氧胆酸盐及其混合物。胶束形成化合物可以在加入碱金属烷基硫酸盐的同时或之后加入。混合胶束将通过成分的基本上任何物质的混合而形成,但是为了提供较小尺寸的胶束而剧烈混合。

[0794] 在一种方法中,制备包含siRNA组成物和至少碱金属烷基硫酸盐的第一胶束组成物。然后将第一胶束组成物与至少三种胶束形成化合物混合以形成混合胶束组成物。在另一种方法中,胶束组成物通过混合siRNA组成物、碱金属烷基硫酸盐和至少一种胶束形成化合物,然后加入剩余的胶束形成化合物并剧烈混合来制备。

[0795] 可以将苯酚和/或间甲酚添加到混合胶束组成物中以稳定制剂并防止细菌生长。或者,苯酚和/或间甲酚可与胶束形成成分一起加入。也可以在形成混合胶束组成物之后加入等渗透剂如甘油。

[0796] 为了以喷雾形式传递胶束制剂,可以将制剂放入气雾剂分配器中并且分配器装有推进剂。受压的推进剂在分配器中呈液态。调整成分的比例,使得水相和推进剂相成为一相,即存在一相。如果有两个阶段,则必须在分配一部分内容物之前摇动分配器,例如通过计量阀。分配剂量的药剂从计量阀中喷射出细细的喷雾。

[0797] 推进剂可包括含氢氯氟烃、含氢氟烃、二甲醚和乙醚。在某些实施例中,可以使用HFA 134a(1,1,1,2四氟乙烷)。

[0798] 主要成分的具体浓度可以通过相对简单的实验来确定。为了通过口腔吸收,通常需要增加,例如至少两倍或三倍,通过注射或通过胃肠道施用的剂量。

[0799] 脂质颗粒

[0800] RNAi剂,例如本申请中的dsRNA,可以完全包封在脂质制剂中,例如LNP,或其他核酸-脂质颗粒。

[0801] 如本文所用,术语“LNP”是指稳定的核酸-脂质颗粒。LNP通常包含阳离子脂质、非阳离子脂质和防止颗粒聚集的脂质(例如,PEG-脂质结合物)。LNP对于全身应用极为有用,因为其在静脉(iv)注射后表达出延长的循环寿命并在远端部位(例如,与施用部位物理分离的部位)积累。LNP包括“pSPLP”,其包括如PCT公开号WO 00/03683中所述的封装的缩合剂-核酸复合物。本申请的颗粒通常具有约50nm至约150nm、更通常约60nm至约130nm、更通常约70nm至约110nm、最通常约70nm至约90nm的平均直径,并且基本上无毒。此外,当存在于本申请的核酸-脂质颗粒中时,核酸在水溶液中抵抗核酸酶的降解。核酸-脂质颗粒及其制备方法公开于例如美国专利5,976,567;5,981,501;6,534,484;6,586,410;6,815,432;美国公开号2010/0324120和PCT公开号WO96/40964。

[0802] 在一个实施例中,脂质与药物的比例(质量/质量比)(例如,脂质与dsRNA的比例)将在约1:1至约50:1、约1:1至约25:1、约3:1至约15:1、约4:1至约10:1、约5:1至约9:1或约6:1至约9:1的范围内。上述所记载的范围的中间范围也被认为是本申请的一部分。

[0803] 用于传递RNAi剂的某些具体制剂LNP已经在本领域中已经描述,包括,例如,“LNP01”制剂如所描述的,例如,在国际申请公开号WO2008/042973,其在此通过引用并入本文。

[0804] 下表中鉴定了另外的实例性脂质-dsRNA制剂。

[0805]

| | 可电离/阳离子脂质 | 阳离子脂质/非阳离子脂质/胆固醇/PEG-脂质结合物<br>脂质：siRNA 比率 |
|---|---|---|
| SNALP-1 | 1,2-二亚萘基氧基-N,N-二甲氨基丙烷(DLinDMA) | DLinDMA/DPPC/胆固醇/PEG-cDMA<br>(57.1/7.1/34.4/1.4)<br>脂质:siRNA ~ 7:1 |
| 2-XTC | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DPPC/胆固醇/PEG-cDMA<br>57.1/7.1/34.4/1.4<br>脂质:siRNA ~ 7:1 |
| LNP05 | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>57.5/7.5/31.5/3.5<br>脂质:siRNA ~ 6:1 |
| LNP06 | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>57.5/7.5/31.5/3.5<br>脂质:siRNA ~ 11:1 |
| LNP07 | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>60/7.5/31/1.5,<br>脂质:siRNA ~ 6:1 |

[0806]

| | | |
|---|---|---|
| LNP08 | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>60/7.5/31/1.5,<br>脂质:siRNA ~ 11:1 |
| LNP09 | 2,2-二亚油基-4-二甲氨基乙基-[1,3]-二氧戊环(XTC) | XTC/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA 10:1 |
| LNP10 | (3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-di((9Z,12Z)-十八-9,12-二烯基)四氢-3aH-环戊烷[d][1,3]二氧六环-5-胺(ALN100) | ALN100/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA 10:1 |
| LNP11 | (6Z,9Z,28Z,31Z)-七十碳-6,9,28,31-四烯-19-基 4-(二甲氨基)丁酸酯(MC3) | MC-3/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA 10:1 |
| LNP12 | 1,1'-(2-(4-(2-((2-(双(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)(2-羟基十二烷基)氨基)乙基)哌嗪-1-基)乙基氮杂)didodecan-2-羟基(Tech G1) | Tech G1/DSPC/胆固醇/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA 10:1 |
| LNP13 | XTC | XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 33:1 |
| LNP14 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG<br>40/15/40/5<br>脂质:siRNA: 11:1 |
| LNP15 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/GalNAc-PEG-DSG<br>50/10/35/4.5/0.5<br>脂质:siRNA: 11:1 |
| LNP16 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 7:1 |
| LNP17 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG<br>50/10/38.5/1.5 |

[0807]

| | | |
|---|---|---|
| | | 脂质:siRNA: 10:1 |
| LNP18 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 12:1 |
| LNP19 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG<br>50/10/35/5<br>脂质:siRNA: 8:1 |
| LNP20 | MC3 | MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 10:1 |
| LNP21 | C12-200 | C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 7:1 |
| LNP22 | XTC | XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG<br>50/10/38.5/1.5<br>脂质:siRNA: 10:1 |

[0808] DSPC:二硬脂酰磷脂酰胆碱

[0809] DPPC:二棕榈酰磷脂酰胆碱

[0810] PEG-DMG:PEG-二肉豆蔻酰甘油(C14-PEG,或PEG-C14)(PEG,平均莫耳重量为2000)

[0811] PEG-DSG:PEG-二苯乙烯基甘油(C18-PEG,或PEG-C18)(PEG,平均莫耳重量为2000)

[0812] PEG-cDMA:PEG-氨基甲酰基-1,2-二肉豆蔻基氧基丙胺(PEG,平均莫耳重量为2000)

[0813] 在2009年4月15日提交的国际公开号WO2009/127060中描述了包含SNALP(1,2-二亚氨基氧基-N,N-二甲氨基丙烷(DLinDMA))的制剂,其通过引用并入本文。

[0814] PCT公开号WO 2010/088537中描述了包含XTC的制剂,其全部内容通过引用并入本文。

[0815] 包含MC3的制剂描述于例如2010年6月10日提交的美国公开号2010/0324120中,其全部内容通过引用并入本文。

[0816] 包含ALNY-100的制剂描述于PCT公开号WO 2010/054406中,其全部内容通过引用并入本文。

[0817] 包含C12-200的制剂描述于PCT公开号WO 2010/129709中,其全部内容通过引用并入本文。

[0818] 用于口服施用的组成物和制剂包括粉剂或颗粒剂、微粒、奈米颗粒、悬浮液或在水或非水介质中的溶液、胶囊、凝胶胶囊、小袋、片剂或微型片剂。增稠剂、调味剂、稀释剂、乳化剂、分散助剂或黏合剂可能是合乎需要的。在一些实施例中,口服制剂是其中本申请中表征的dsRNA与一种或多种渗透促进剂表面活性剂和螯合剂联合施用的那些制剂。合适的表

面活性剂包括脂肪酸和/或其酯或盐、胆汁酸和/或其盐。合适的胆汁酸/盐包括鹅去氧胆酸(chenodeoxycholic acid,CDCA)和(ursodeoxychenodeoxycholic acid,UDCA)、胆酸、脱氢胆酸、脱氧胆酸、葡萄糖酸、甘醇酸、甘氨脱氧胆酸、牛磺胆酸、牛磺脱氧胆酸、牛磺-24,25-二氢-夫西地钠(sodium tauro-24,25-dihydro-fusidate)和葡萄糖二氢夫西地钠。合适的脂肪酸包括花生四烯酸、十一烷酸、油酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉荳蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、1-单癸酸甘油酯、1-十二烷基氮杂环庚-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱或甘油单酯、甘油二酯或其药学上可接受的盐(例如钠)。在一些实施例中,使用渗透增强剂的组合,例如脂肪酸/盐与胆汁酸/盐的组合。一种实例性组合是月桂酸、癸酸和UDCA的钠盐。其他渗透促进剂包括聚氧乙烯-9-十二烷基醚、聚氧乙烯-20-十六烷基醚。本申请中特征的DsRNA可以以颗粒形式包括喷雾干燥颗粒或复合以形成微粒或奈米颗粒以口服传递。DsRNA复合剂包括聚氨基酸;聚亚胺;聚丙烯酸酯;聚烷基丙烯酸酯、聚氧乙烷、聚氰基丙烯酸烷基酯;阳离子化明胶、白蛋白、淀粉、丙烯酸酯、聚乙二醇(PEG)和淀粉;聚氰基丙烯酸烷基酯;DEAE衍生的聚亚胺、花粉、纤维素和淀粉。合适的络合剂包括壳聚醣、N-三甲基壳聚醣、聚-L-赖氨酸、聚组氨酸、聚鸟氨酸、聚精氨、鱼精蛋白、聚乙烯吡啶、聚硫二乙基氨基甲基乙烯P(TDAE)、聚氨基苯乙烯(例如对氨基)、聚(氰基丙烯酸甲酯)、聚(氰基丙烯酸乙酯)、聚(氰基丙烯酸丁酯)、聚(氰基丙烯酸异丁酯)、聚(氰基丙烯酸异己酯)、DEAE-甲基丙烯酸酯,DEAE-丙烯酸己酯,DEAE-丙烯酰胺,DEAE-白蛋白和DEAE-葡聚醣、聚甲基丙烯酸酯、聚丙烯酸己酯、聚(D,L-乳酸)、聚(DL-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)、藻酸盐和聚乙二醇(PEG))dsRNA的口服制剂及其制备在美国专利第6,887,906号、美国公开号20030027780和美国专利第6,747,014号中有详细描述,每篇都通过引用并入本文。

[0819] 用于肠胃外、实质内(进入脑)、鞘内、心室内或肝内施用的组成物和制剂可包括无菌水溶液,其还可含有缓冲剂、稀释剂和其他合适的添加剂,例如但不限于渗透促进剂、载体化合物和其他药学上可接受的载体或赋形剂。

[0820] 本申请的医药组成物包括但不限于溶液、乳液和含有脂质体的制剂。这些组成物可由多种组分产生,包括但不限于预制液体、自乳化固体和自乳化半固体。特别优选的是在治疗APP相关疾病或病症时靶向大脑的制剂。

[0821] 可以方便地以单位剂型提供的本申请的药物制剂可以根据制药工业中众所周知的常规技术来制备。此类技术包括将活性成分与药物载体或赋形剂结合的步骤。通常,通过将活性成分与液体载体或细分的固体载体或两者均匀且紧密地结合,然后如果需要,使产品成型来制备制剂。

[0822] 本申请的组成物可以配制成许多可能的剂型中的任一种,例如但不限于片剂、胶囊剂、凝胶胶囊剂、液体糖浆剂、软凝胶剂、栓剂和灌肠剂。本申请的组成物还可配制成在水性、非水性或混合介质中的悬浮液。水性悬浮液还可包含增加悬浮液黏度的物质,包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚醣。悬浮液还可以含有稳定剂。

[0823] 其他配方

[0824] i.乳液

[0825] 本申请的组成物可以制备和配制为乳液。乳液通常是一种液体以直径通常超过0.1m的液滴形式分散在另一种液体中的异质系统(参见例如Ansel's Pharmaceutical

Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,Volume 1,p.245;Block in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 2,p.335;Higuchi等人,in Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1985,p.301)。乳液通常是双相体系,包含两个不混溶的液相,彼此紧密混合和分散。通常,乳液可以是油包水(w/o)或水包油(o/w)物质。当水相被细分为微小液滴并分散到大量油相中时,所得组成物称为油包水(w/o)乳液。或者,当油相被细分为微小液滴并分散到大量水相中时,所得组成物称为水包油(o/w)乳液。除了分散相和活性药物之外,乳剂还可以包含额外的组分,所述活性药物可以作为水相、油相中的溶液或本身作为单独的相存在。乳化剂、稳定剂、染料和抗氧化剂等药物赋形剂也可以根据需要存在于乳剂中。药物乳液也可以是由多于两相组成的多重乳液,例如在油包水包油(o/w/o)和油包水的情况下水(w/o/w)乳液。这种复杂的配方通常具有简单的二元乳液所不具备的某些优点。多重乳液,其中o/w乳液的单个油滴包围小水滴构成w/o/w乳液。同样,包裹在油性连续相中稳定的水滴中的油滴系统提供一种o/w/o乳液。

[0826] 乳液的特征在于很少或没有热力学稳定性。通常,乳液的分散相或不连续相很好地分散到外相或连续相中,并通过乳化剂或制剂的黏度保持这种形式。乳液的任一相都可以是半固体或固体,如乳液型软膏基质和乳膏。其他稳定乳液的方法需要使用乳化剂,这些乳化剂可以加入到乳液的任一相中。乳化剂大致可分为四类:合成表面活性剂、天然存在的乳化剂、吸收基质和精细分散的固体(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199)。

[0827] 合成表面活性剂,也称为表面活性剂,已发现在乳液配方中具有广泛的适用性,并已在文献中进行了综述(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.285;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,1988,volume 1,p.199)。表面活性剂通常是两亲性的并且包含亲水和疏水部分。表面活性剂的亲水性与疏水性的比率被称为亲水/亲油平衡(HLB),是在制剂制备中分类和选择表面活性剂的重要工具。表面活性剂可以分为基于亲水基团的性质不同的类:非离子、阴离子、阳离子和双性(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY Rieger,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,

N.Y.,volume 1,p.285)。

[0828] 用于乳液配方的天然乳化剂包括羊毛脂、蜂蜡、磷脂、卵磷脂和阿拉伯胶。吸收性基质具有亲水性,因此其可以吸收水形成w/o乳液,同时保持其半固体的稠度,例如无水羊毛脂和亲水性凡士林。细碎的固体也被用作良好的乳化剂,特别是与表面活性剂和黏性制剂结合使用。这些包括极性无机固体,例如重金属氢氧化物,不溶胀黏土,例如膨润土、凹凸棒石、锂蒙脱石、高岭土、蒙脱石、胶体硅酸铝和胶体硅酸镁铝、颜料和非极性固体,例如碳或三硬脂酸甘油酯。

[0829] 多种非乳化材料也包含在乳液配方中,并有助于乳液的性能。这些包括脂肪、油、蜡、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、保湿剂、亲水胶体、防腐剂和抗氧化剂(Block,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.335;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199).

[0830] 亲水胶体或亲水胶体包括天然存在的树胶和合成聚合物,例如多醣(例如阿拉伯胶、琼脂、海藻酸、角叉菜胶、瓜尔胶、刺梧桐胶和黄蓍胶)、纤维素衍生物(例如羧甲基纤维素和羧丙基纤维素)和合成聚合物聚合物(例如,卡波姆、纤维素醚和羧乙烯基聚合物)。其在水中分散或溶胀形成胶体溶液,通过在分散相液滴周围形成坚固的界面膜并增加外相的黏度来稳定乳液。

[0831] 由于乳液通常含有多种成分,如碳水化合物、蛋白质、甾醇和磷脂,这些成分可以很容易地支持微生物的生长,因此这些配方通常含有防腐剂。乳液配方中常用的防腐剂包括对羟基苯甲酸甲酯、对羟基苯甲酸丙酯、季铵盐、苯扎氯铵、对羟基苯甲酸酯和硼酸。抗氧化剂通常也添加到乳液配方中以防止配方变质。使用的抗氧化剂可以是自由基清除剂,例如生育酚、没食子酸烷基酯、丁基羟基茴香醚、丁基羟基甲苯,或还原剂例如抗坏血酸和焦亚硫酸钠,以及抗氧化增效剂例如柠檬酸、酒石酸和卵磷脂。

[0832] 乳液制剂通过皮肤病学、口服和肠胃外途径的应用及其制造方法已在文献中进行了综述(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199)。由于易于配制以及从吸收和生物利用度的角度来看功效,用于口服传递的乳液制剂已被非常广泛地使用(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.245;Idson,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.199)。矿物油基泻药、油溶性维生素和高脂肪营养制剂是通常作为O/W乳剂口服施用的材料。

[0833] ii.微乳液

[0834] 在本申请的一个实施例中,RNAi剂和核酸的组成物被配制成微乳液。微乳液可以

定义为水、油和两亲物的系统,其是单一的光学各向同性和热力学稳定的液体溶液(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.245)。通常微乳液是通过首先将油分散在表面活性剂水溶液中,然后加入足量的第四组分(通常是中间链长的醇)以形成透明系统而制备的系统。因此,微乳液也被描述为两种不混溶液体的热力学稳定、各向同性透明分散体,由表面活性分子的界面膜稳定(Leung及Shah,in:Controlled Release of Drugs:Polymers and Aggregate Systems,Rosoff,M.,Ed.,1989,VCH Publishers,New York,pages 185-215)。微乳液通常通过三到五种成分的组合来制备,这些成分包括油、水、表面活性剂、助表面活性剂和电解质。微乳液是油包水(w/o)还是水包油(o/w)型取决于所用油和表面活性剂的性质以及极性分子的结构和几何堆积表面活性剂分子的头部和烃尾部(Schott,in Remington's Pharmaceutical Sciences,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1985,p.271)。

[0835] 利用相图的现象学方法已被广泛研究,并且已经为本领域技术人员提供关于如何配制微乳液的全面知识(参见例如Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems,Allen,LV.,Popovich NG.及Ansel HC.,2004,Lippincott Williams&Wilkins(8th ed.),New York,NY;Rosoff,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.245;Block,in Pharmaceutical Dosage Forms,Lieberman,Rieger及Banker(Eds.),1988,Marcel Dekker,Inc.,New York,N.Y.,volume 1,p.335)。与传统乳剂相比,微乳剂具有将水不溶性药物溶解在自发形成的热力学稳定液滴制剂中的优势。

[0836] 用于制备微乳液的表面活性剂包括但不限于离子表面活性剂、非离子表面活性剂、Brij 96、聚氧乙烯油基醚、聚甘油脂肪酸酯、四甘油单月桂酸酯(ML310)、四甘油单油酸酯(MO310)、六甘油单油酸酯PO310)、六甘油五油酸酯(PO500)、十甘油单癸酸酯(MCA750)、十甘油单油酸酯(MO750)、十甘油倍半油酸酯(SO750)、十甘油十油酸酯(DAO750),单独或与共表面活性剂组合。辅助表面活性剂,通常是短链醇,如乙醇、1-丙醇和1-丁醇,通过渗透到表面活性剂膜中来增加界面流动性,从而由于表面活性剂分子之间产生的空隙空间而产生无序的膜。然而,可以在不使用辅助表面活性剂的情况下制备微乳液,并且无醇自乳化微乳液系统是本领域已知的。水相通常可以是但不限于水、药物的水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇和乙二醇的衍生物。油相可包括但不限于材料例如Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯、中链(C8-C12)单、二和三甘油酯、聚氧乙基化甘油脂肪酸酯、脂肪醇、聚乙二醇化甘油酯、饱和聚乙二醇化C8-C10甘油酯、植物油和硅油。

[0837] 从药物溶解和增强药物吸收的角度来看,微乳剂尤其令人感兴趣。已经提出基于脂质的微乳剂(o/w和w/o)来提高药物(包括肽)的口服生物利用度(参见例如美国专利号6,191,105;7,063,860;7,070,802;7,157,099;Constantinides等人,Pharmaceutical Research,1994,11,1385-1390;Ritschel,Meth.Find.Exp.Clin.Pharmacol.,1993,13,205)。微乳液具有以下优点:改善药物溶解性、保护药物免于酶水解、由于表面活性剂诱导的膜流动性和渗透性改变而可能增强药物吸收、易于制备、与固体剂型相比易于口服施用、

提高临床效力,以及降低毒性(参见例如,美国专利号6,191,105;7,063,860;7,070,802;7,157,099;Constantinides等人,Pharmaceutical Research,1994,11,1385;Ho等人,J.Pharm.Sci.,1996,85,138-143)。当其组分在环境温度下聚集在一起时,微乳液通常可以自发形成。这在配制不耐热药物、肽或RNAi剂时特别有利。在化妆品和药物应用中,微乳液在活性成分的透皮传递方面也很有效。预期本申请的微乳液组成物和制剂将促进RNAi剂和核酸从胃肠道的增加的全身吸收,以及改善RNAi剂和核酸的局部细胞摄取。

[0838] 本申请内容的微乳液还可以包含额外的组分和添加剂,例如脱水山梨糖醇单硬脂酸酯(Grill 3)、Labrasol和渗透促进剂以改善制剂的性质并增强本申请内容的RNAi剂和核酸的吸收。本申请内容的微乳液中使用的渗透促进剂可归类为属于五个大类之一,表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合非表面活性剂((Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,p.92)。上面已经讨论了这些类中的每一个。

[0839] iii.微粒

[0840] 本申请内容的RNAi剂可被并入颗粒,例如,微粒。微粒可以通过喷雾干燥生产,但也可以通过其他方法生产,包括冻干、蒸发、流化床干燥、真空干燥或这些技术的组合。

[0841] iv.渗透增强剂

[0842] 在一个实施例中,本申请使用各种渗透增强剂来实现核酸,特别是RNAi剂到动物皮肤的有效传递。大多数药物以离子化和非离子化形式存在于溶液中。然而,通常只有脂溶性或亲脂性药物容易穿过细胞膜。已经发现,如果要穿过的细胞膜用渗透促进剂处理,即使是非亲脂性药物也可以穿过细胞膜。除了帮助非亲脂性药物扩散穿过细胞膜外,渗透促进剂还增强了亲脂性药物的渗透性。

[0843] 渗透促进剂可以归类为属于五个大类之一,即表面活性剂、脂肪酸、胆汁盐、螯合剂和非螯合非表面活性剂(参见例如Malmsten,M.Surfactants and polymers in drug delivery,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,p.92)。下文更详细地描述了上述各类渗透促进剂。

[0844] 表面活性剂(或“表面活性剂”)是一种化学实体,当溶解在水溶液中时,会降低溶液的表面张力或水溶液与另一种液体之间的界面张力,结果是通过吸收RNAi剂黏膜增强。除了胆汁盐和脂肪酸之外,这些渗透促进剂包括例如十二烷基硫酸钠、聚氧乙烯-9-月桂基醚和聚氧乙烯-20-十六烷基醚(参见例如Malmsten,M.Surfactants and polymers in drug delivery,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,p.92);和全氟化学乳液,如FC-43(Takahashi等人,J.Pharm.Pharmacol.,1988,40,252)。

[0845] 作为渗透促进剂的各种脂肪酸及其衍生物包括,例如,油酸、月桂酸、癸酸(正癸酸)、肉豆蔻酸、棕榈酸、硬脂酸、亚油酸、亚麻酸、二癸酸、三癸酸、单油酸甘油酯(1-单油酰基-rac-甘油)、二月桂酸酯、辛酸、花生四烯酸、1-单癸酸甘油酯、1-十二烷基氮杂环庚烷-2-酮、酰基肉碱、酰基胆碱、其$C_{1-20}$烷基酯(例如,甲基、异丙基)和叔丁基)及其单甘油酯和二甘油酯(即油酸酯、月桂酸酯、癸酸酯、肉豆蔻酸酯、棕榈酸酯、硬脂酸酯、亚油酸酯等)(参见例如Touitou,E.等人,Enhancement in Drug Delivery,CRC Press,Danvers,MA,2006;Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,p.92;

Muranishi,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1990,7,1-33;El Hariri等人,J.Pharm.Pharmacol.,1992,44,651-654)。

[0846] 胆汁的生理作用包括促进脂质和脂溶性维生素的分散和吸收(参见例如Malmsten,M.Surfactants and polymers in drug delivery,Informa Health Care,New York,NY,2002;Brunton,Chapter 38 in:Goodman&Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics,9th Ed.,Hardman等人Eds.,McGraw-Hill,New York,1996,pp.934-935)。各种天然胆汁盐及其合成衍生物可作为渗透促进剂。因此,术语"胆汁盐"包括任何天然存在的胆汁成分以及其任何合成衍生物。合适的胆汁盐包括例如胆酸(或其药学上可接受的钠盐、胆酸钠)、脱氢胆酸(脱氢胆酸钠)、脱氧胆酸(脱氧胆酸钠)、葡萄糖酸(甘氨酸钠)、甘胆酸(甘胆酸钠)、甘草脱氧胆酸(甘氨脱氧胆酸钠)、牛磺胆酸(牛磺胆酸钠)、牛磺脱氧胆酸(牛磺脱氧胆酸钠)、鹅去氧胆酸(鹅去氧胆酸钠)、熊去氧胆酸(UDCA)、牛磺-24,25-二氢呋喃二氢呋喃二氢呋喃糖酸钠(ST)和聚氧乙烯-9-月桂基醚(POE)(参见例如Malmsten,M.Surfactants and polymers in drug delivery,Informa Health Care,New York,NY,2002;Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,page 92;Swinyard,Chapter 39 In:Remington's Pharmaceutical Sciences,18th Ed.,Gennaro,ed.,Mack Publishing Co.,Easton,Pa.,1990,pages 782-783;Muranishi,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1990,7,1-33;Yamamoto等人,J.Pharm.Exp.Ther.,1992,263,25;Yamashita等人,J.Pharm.Sci.,1990,79,579-583)。

[0847] 结合本申请使用的螯合剂可定义为通过与溶液形成复合物从溶液中去除金属离子的化合物,结果是RNAi剂通过黏膜的吸收增强。关于其在本申请内容中作为渗透促进剂的用途,螯合剂还具有作为DNase抑制剂的附加优势,因为大多数特征DNA核酸酶需要二价金属离子进行催化,因此被螯合剂抑制(Jarrett,J.Chromatogr.,1993,618,315-339)。合适的螯合剂包括但不限于乙二氨四乙酸二钠(EDTA)、柠檬酸、水杨酸盐(例如,水杨酸钠、5-甲氧基水杨酸盐和高香草酸盐)、胶原的N-酰基衍生物、月桂醇聚醚-9和N-氨基酰基衍生物β-二酮(烯胺)(参见例如Katdare,A.等人,Excipient development for pharmaceutical,biotechnology,and drug delivery,CRC Press,Danvers,MA,2006;Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,page 92;Muranishi,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1990,7,1-33;Buur等人,J.Control Rel.,1990,14,43-51)。

[0848] 如本文所用,非螯合非表面活性剂渗透增强化合物可定义为作为螯合剂或作为表面活性剂表现出微不足道的活性但仍然增强通过消化道黏膜吸收RNAi剂的化合物(参见例如Muranishi,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1990,7,1-33)。这类渗透促进剂包括,例如,不饱和环脲、1-烷基-和1-烯基氮杂环-烷酮衍生物(Lee等人,Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems,1991,page 92);和非甾体抗炎剂,例如双氯芬酸钠、吲哚美辛和保泰松(Yama

[0849] 还可以将在细胞水平上增强RNAi剂摄取的药剂添加到本申请的医药组成物和其他组成物中。例如,阳离子脂质,如脂质体(Junichi等人,美国专利号5,705,188)、阳离子甘油衍生物和聚阳离子分子,如聚赖氨酸(Lollo等人,PCT申请WO 97/30731)也是已知的以增强dsRNA的细胞摄取。市售转染剂的实例包括例如Lipofectamine™(Invitrogen;Carlsbad,

CA),Lipofectamine 2000™(Invitrogen;Carlsbad,CA),293fectin™(Invitrogen;Carlsbad,CA),Cellfectin™(Invitrogen;Carlsbad,CA),DMRIE-C™(Invitrogen;Carlsbad,CA),FreeStyle™ MAX(Invitrogen;Carlsbad,CA),Lipofectamine™ 2000 CD(Invitrogen;Carlsbad,CA),Lipofectamine™(Invitrogen;Carlsbad,CA),RNAiMAX(Invitrogen;Carlsbad,CA),Oligofectamine™(Invitrogen;Carlsbad,CA),Optifect™(Invitrogen;Carlsbad,CA),X-tremeGENE Q2 Transfection Reagent(Roche;Grenzacherstrasse,Switzerland),DOTAP Liposomal Transfection Reagent(Grenzacherstrasse,Switzerland),DOSPER Liposomal Transfection Reagent(Grenzacherstrasse,Switzerland),或Fugene(Grenzacherstrasse,Switzerland),Transfectam®Reagent(Promega;Madison,WI),TransFast™ Transfection Reagent(Promega;Madison,WI),Tfx™-20 Reagent(Promega;Madison,WI),Tfx™-50 Reagent(Promega;Madison,WI),DreamFect™(OZ Biosciences;Marseille,France),EcoTransfect(OZBiosciences;Marseille,France),TransPass$^{a}$ D1 Transfection Reagent(New England Biolabs;Ipswich,MA,USA),LyoVec™/LipoGen™(Invitrogen;San Diego,CA,USA),PerFectin Transfection Reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),NeuroPORTER Transfection Reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),GenePORTER Transfection reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),GenePORTER 2 Transfection reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),Cytofectin Transfection Reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),BaculoPORTER Transfection Reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),TroganPORTER™ transfection Reagent(Genlantis;San Diego,CA,USA),RiboFect(Bioline;Taunton,MA,USA),PlasFect(Bioline;Taunton,MA,USA),UniFECTOR(B-Bridge International;Mountain View,CA,USA),SureFECTOR(B-Bridge International;Mountain View,CA,USA),或HiFect™(B-Bridge International,Mountain View,CA,USA)等。

[0850] 可以使用其他剂来增强所施用核酸的渗透,包括二醇类例如乙二醇和丙二醇、吡咯类例如2-吡咯、氮酮和萜烯类例如柠檬烯和薄荷酮。

[0851] v.载体

[0852] 本申请的某些组成物还在制剂中掺入载体化合物。如本文所用,“载体化合物”或“载体”可以指核酸或其类似物,其是惰性的(即,本身不具有生物活性)但被体内制程识别为核酸,通过例如降解具有生物活性的核酸或促进其从循环中去除来降低具有生物活性的核酸的生物利用度。核酸和载体化合物的共同施用,通常是后者物质过量,可能导致肝脏、肾脏或其他循环外储库中回收的核酸量显著减少,这可能是由于载体之间的竞争化合物和共同受体的核酸。例如,当与聚肌苷酸、硫酸葡聚糖、聚胞苷酸或4-乙酰氨基-4’异硫氰基-芪-2,2’-二磺酸共同施用时,肝组织中部分硫代磷酸酯dsRNA的回收率会降低(Miyao等人,DsRNA Res.Dev.,1995,5,115-121;Takakura等人,DsRNA&Nucl.Acid Drug Dev.,1996,6,177-183)。

[0853] vi.赋形剂

[0854] 与载体化合物相反,“药物载体”或“赋形剂”是药学上可接受的溶剂、悬浮剂或用于将一种或多种核酸传递至动物的任何其他药理学惰性载体。赋形剂可以是液体或固体,

并在考虑到计划的施用方式的情况下进行选择,以便在与核酸和给定医药组成物的其他成分组合时提供所需的体积、稠度等。典型的药物载体包括但不限于黏合剂(例如预胶化玉米淀粉、聚乙烯吡咯烷酮或羟丙基甲基纤维素等);填充剂(例如,乳糖和其他醣类、微晶纤维素、果胶、明胶、硫酸钙、乙基纤维素、聚丙烯酸酯或磷酸氢钙等);润滑剂(例如,硬脂酸镁、滑石粉、二氧化硅、胶体二氧化硅、硬脂酸、金属硬脂酸盐、氢化植物油、玉米淀粉、聚乙二醇、苯甲酸钠、乙酸钠等);崩解剂(例如,淀粉、羟基乙酸淀粉钠等);和润湿剂(例如,十二烷基硫酸钠等)。

[0855] 不与核酸发生有害反应的适用于非肠胃外施用的药学上可接受的有机或无机赋形剂也可用于配制本申请的组成物。合适的药学上可接受的载体包括但不限于水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、黏性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。

[0856] 用于局部施用核酸的制剂可包括无菌和非无菌水溶液、在常见溶剂如醇中的非水溶液或在液体或固体油基中的核酸溶液。溶液还可以包含缓冲液、稀释剂和其他合适的添加剂。可以使用不与核酸发生有害反应的适用于非肠胃外施用的药学上可接受的有机或无机赋形剂。

[0857] 合适的药学上可接受的赋形剂包括但不限于水、盐溶液、醇、聚乙二醇、明胶、乳糖、直链淀粉、硬脂酸镁、滑石、硅酸、黏性石蜡、羟甲基纤维素、聚乙烯吡咯烷酮等。

[0858] vii.其他组成物

[0859] 本申请内容的组成物可以另外包含其他在医药组成物中常规发现的辅助成分,以其本领域确立的使用水平。因此,例如,组成物可包含额外的、相容的、药学活性材料,例如止痒剂、收敛剂、局部麻醉剂或抗炎剂,或可包含用于物理配制组成物的各种剂型的额外材料本申请的物质,例如染料、调味剂、防腐剂、抗氧化剂、遮光剂、增稠剂和稳定剂。然而,当添加此类材料时,不应过度干扰本申请的组成物的组分的生物活性。制剂可以灭菌,如果需要,可以与助剂混合,例如润滑剂、防腐剂、稳定剂、润湿剂、乳化剂、影响渗透压的盐、缓冲剂、着色剂、调味剂和/或芳香物质等不会与制剂的核酸发生有害的相互作用。

[0860] 水性悬浮液可包含增加悬浮液黏度的物质,包括例如羧甲基纤维素钠、山梨糖醇和/或葡聚醣。悬浮液还可以含有稳定剂。

[0861] 在一些实施例中,本申请中表征的医药组成物包括(a)一种或多种RNAi剂和(b)一种或多种通过非RNAi机制起作用并且可治疗APP相关病症的剂。此类药剂的实例包括但不限于抗炎剂、抗脂肪变性剂、抗病毒剂和/或抗纤维化剂,或包括治疗AD(包括EOFAD)和/或CAA的其他药剂课程。

[0862] 此类化合物的毒性和治疗功效可以通过细胞培养物或实验动物中的标准制药制程来确定,例如,用于确定$LD_{50}$(对50%的群体致死的剂量)和$ED_{50}$(对50%的群体治疗有效的剂量)。毒性和治疗作用之间的剂量比是治疗指数,其可以表示为比值$LD_{50}/ED_{50}$。优选表达出高治疗指数的化合物。

[0863] 从细胞培养试验和动物研究中获得的资料可用于制定一系列用于人类的剂量。本申请中的本文特征的组成物的剂量通常在包括$ED_{50}$且毒性很小或没有毒性的循环浓度范围内。剂量可在此范围内变化,这取决于所采用的剂型和所采用的施用途径。对于在本申请内容中表征的方法中使用的任何化合物,治疗有效剂量可以最初从细胞培养测定中估计。可

以在动物模型中配制剂量以达到化合物或适当时包括$IC_{50}$的靶序列的多肽产物的循环血浆浓度范围(例如,实现降低的多肽浓度)(即,如在细胞培养物中测定的实现对症状的半数最大抑制的测试化合物的浓度。此类信息可用于更准确地确定人体的有用剂量。例如,可以通过高效液相色谱法测量血浆中的水平。

[0864] 除了其施用之外,如上所述,本申请中的特征RNAi剂可以与有效治疗由APP表达介导的病理制程的其他已知剂组合施用。在任何情况下,施用医师可以根据使用本领域已知或本文所述的标准功效测量所观察到的结果来调整RNAi药剂施用的量和时间。

[0865] VIII.套件

[0866] 在某些方面,本申请提供的套组包括合适的容器,所述容器含有siRNA化合物的药物制剂,例如双链siRNA化合物或ssiRNA化合物(例如前驱物,例如更大的siRNA可以加工成ssiRNA化合物的化合物,或编码siRNA化合物的DNA,例如,双链siRNA化合物,或ssiRNA化合物,或其前驱物)。在某些实施例中,可以在一个容器中提供药物制剂的各个组分。或者,可能需要在两个或多个容器中分别提供药物制剂的组分,例如,一个容器用于siRNA化合物制剂,而至少另一个容器用于载体化合物。所述套件可以以多种不同的配置包装,例如一个或多个容器在单个盒子中。例如,可以根据随套组提供的说明组合不同的组分。可以根据本文所述的方法组合组分,例如,以制备和施用医药组成物。所述套件还可包括传递装置。

[0867] IX.抑制APP表达的方法

[0868] 本申请还提供抑制细胞中APP基因表达的方法。所述方法包括将细胞与有效抑制细胞中APP表达的量的RNAi剂例如双链RNAi剂接触,从而抑制细胞中APP的表达。在本申请的某些实施例中,APP在CNS(例如,脑)细胞中被优先抑制。

[0869] 细胞与RNAi剂(例如双链RNAi剂)的接触可以在体外或体内进行。使细胞在体内与RNAi剂接触包括使个体例如人类个体体内的细胞或细胞组与RNAi剂接触。接触细胞的体外和体内方法的组合也是可能的。

[0870] 如上所述,接触细胞可以是直接的或间接的。此外,接触细胞可以通过靶向配体完成,包括本文所述的或本领域已知的任何配体。在一些实施例中,靶向配体是碳水化合物部分,例如C16配体,或将RNAi剂引导至感兴趣末端的任何其他配体。

[0871] 如本文所用,术语“抑制”与“减少”、“沉默”、“下调”、“抑制”和其他类似术语可互换使用,并且包括任何水平的抑制。在某些实施例中,可以在细胞培养条件下评估例如对于本申请内容的RNAi剂的抑制水平,例如,其中细胞培养物中的细胞通过Lipofectamine™介导的转染以接近的浓度进行转染。10nM或更少、1nM或更少等的细胞。可以通过比较细胞培养物中的预处理水平与细胞培养物中的后处理水平来确定给定RNAi剂的敲除,任选地也与在与加扰或其他形式的控制RNAi剂平行。细胞培养中例如至少10%或更多、至少20%或更多等的敲除可由此被鉴定为“抑制”和/或“减少”、“下调”或“抑制”等的指示.发生了。明确预期也可以在体内系统中评估靶向mRNA和/或编码的蛋白质水平(以及因此由本申请的RNAi剂引起的“抑制”程度等)的RNAi剂的体内系统。在本领域描述的适当控制的条件下立即公开。

[0872] 如本文中所使用的,短语“抑制的APP的表达”包括任何APP基因的表达的抑制(例如,例如,小鼠APP基因,大鼠APP基因,猴APP基因,或人类APP基因)以及编码APP蛋白的APP基因的变体或突变体。因此,在遗传操作的细胞、细胞群或生物体的背景下,APP基因可以是

野生型APP基因、突变APP基因或转基因APP基因。

[0873] “抑制APP基因的表达”包括APP基因的任何抑制水平,例如APP基因表达的至少部分抑制,例如至少约20%的抑制。在某些实施例中,抑制是通过在至少约25%,至少约30%,至少约35%,至少约40%,至少约45%,至少约50%,在至少约55%,在至少约60%、至少约65%、至少约70%、至少约75%、至少约80%、至少约85%、至少约90%、至少约91%、至少约92%、至少约93%、至少约94%、至少约95%、至少约96%、至少约97%、至少约98%或至少约99%。

[0874] 可以基于与APP基因表达相关的任何变量的水平,例如APP mRNA水平或APP蛋白水平(包括APP裂解产物)来评估APP基因的表达。也可以根据本文所述的APP相关生物标志物的水平间接评估APP的表达。

[0875] 可以通过这些变量中的一个或多个的绝对或相对水平与对照水平相比的降低来评估抑制。对照水平可以是本领域中使用的任何类型的对照水平,例如,施用前基线水平,或从未处理或用对照处理的类似个体、细胞或样品确定的水平(例如如,例如,仅缓冲液对照或无活性剂对照)。

[0876] 在某些实施例中,替代标记可用于检测APP的抑制。例如,如通过可接受的诊断和监测标准所证明的减少APP表达的药剂对APP相关病症,例如CNS病症如EOFAD、CAA或其他病症的有效预防或治疗,可以理解为证明临床上APP的相关减少。

[0877] 在本申请的方法的一些实施例中,APP基因的表达被抑制至少20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%或95%,或低于测定的检测水平。在某些实施例中,所述方法包括APP表达的临床相关抑制,例如如用降低APP表达的药剂治疗个体后的临床相关结果所证明的。

[0878] APP基因表达的抑制可以通过第一细胞或细胞组(此类细胞可能存在于,例如,来自个体的样品中)表达的mRNA量的减少来证明,其中APP基因被转录并且已经或已经被处理(例如,通过将一个或多个细胞与本申请内容的RNAi剂接触,或通过向其中存在或曾经存在细胞的个体施用本申请内容的RNAi剂)使得APP基因的表达与第一细胞或细胞组基本相同但未经或未经如此处理的第二细胞或细胞组相比被抑制(未用RNAi处理的对照细胞)剂或未用靶向靶基因的RNAi剂处理)。抑制程度可以表示为:

[0879] $$\frac{(\text{对照组细胞中的mRNA}) - (\text{治愈细胞中的mRNA})}{(\text{对照组细胞中的mRNA})} \bullet 100\%$$

[0880] 在其他实施例中,可以根据与APP基因表达功能相关的参数的降低来评估APP基因表达的抑制,例如APP蛋白表达、APP裂解产物的形成和/或水平,或APP信号通路。APP基因沉默可以在表达构建体的内源或异源APP的任何表达APP的细胞中通过本领域已知的任何测定来确定。

[0881] APP蛋白表达的抑制可以通过细胞或细胞组表达的APP蛋白水平(例如,来自个体的样品中表达的蛋白水平)的降低来证明。如上所述,对于mRNA抑制的评估,经处理的细胞或细胞组中蛋白质表达水平的抑制可以类似地表示为对照细胞或细胞组中蛋白质水平的百分比。

[0882] 可用于评估APP基因表达抑制的对照细胞或细胞组包括尚未与本申请内容的RNAi剂接触的细胞或细胞组。例如,对照细胞或细胞组可以在用RNAi剂治疗个体之前源自个体

(例如人类或动物个体)。

[0883] 可以使用本领域已知的用于评估mRNA表达的任何方法来确定由细胞或细胞组表达的APP mRNA的水平。在一个实施例中,样品中APP的表达水平通过检测转录的多核苷酸或其部分,例如APP基因的mRNA来确定。可以使用RNA提取技术从细胞中提取RNA,包括例如使用酸性苯酚/异硫氰酸胍提取(RNAzol B;Biogenesis)、RNeasy ™ RNA制备套组(Qiagen®)或PAXgene(PreAnalytix,瑞士)。利用核糖核酸杂交的典型分析形式包括核连续分析、RT-PCR、RNase保护分析、northern印迹、原位杂交和微阵列分析。可以使用PCT公开WO2012/177906中描述的方法检测循环APP mRNA,其全部内容通过引用并入本文。

[0884] 在一些实施例中,APP的表达水平使用核酸探针确定。如本文所用,术语"探针"是指能够选择性结合特定APP的任何分子。探针可由本领域技术人员合成,或衍生自适当的生物制剂。探针可以专门设计为带有标签。可用作探针的分子的实例包括但不限于RNA、DNA、蛋白质、抗体和有机分子。

[0885] 分离的mRNA可用于杂交或扩增分析,包括但不限于Southern或Northern分析、聚合酶链反应(PCR)分析和探针阵列。一种确定mRNA水平的方法有关将分离的mRNA与可与APP mRNA杂交的核酸分子(探针)接触。在一个实施例中,mRNA被固定在固体表面上并与探针接触,例如通过在琼脂糖凝胶上运行分离的mRNA并将mRNA从凝胶转移到膜,例如硝酸纤维素。在一个替代实施例中,探针固定在固体表面上并且mRNA与探针接触,例如,在Affymetrix基因芯片阵列中。本领域技术人员可以容易地采用已知的mRNA检测方法来确定APP mRNA的水平。

[0886] 用于确定样品中APP表达水平的另一种方法有关样品中例如mRNA的核酸扩增和/或逆转录酶(以制备cDNA)的制程,例如通过RT-PCR(实验实施例集)参见Mullis,1987,美国专利号4,683,202),连接酶链反应(Barany(1991)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88:189-193),自我持续序列复制(Guatelli等人,(1990)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 87:1874-1878)、转录扩增系统(Kwoh等人,(1989)Proc.Natl.Acad.Sci.USA 86:1173-1177)、Q-Beta Q-Beta Replicase(Lizardi等人,(1988)Bio/Technology 6:1197)、滚环复制(Lizardi等人,美国专利号5,854,033)或任何其他核酸扩增方法,然后使用本领域技术人员熟知的技术检测扩增的分子。本领域的技能。如果核酸分子的数量非常少,则这些检测方案对于检测核酸分子特别有用。在本申请的特定方面,APP的表达水平通过定量荧光RT-PCR(即,TaqMan™系统)、通过Dual-Glo®荧光素酶测定或通过用于测量APP的其他本领域公认的方法来确定表达和/或mRNA水平。

[0887] APP mRNA的表达水平可以使用膜印迹(例如用于杂交分析,例如Northern、Southern、dot等)或微孔、样品管、凝胶、珠或纤维(或任何固体支持物,包括结合核酸)。参见美国专利号5,770,722、5,874,219、5,744,305、5,677,195和5,445,934,其通过引用并入本文。APP表达水平的测定还可包括在溶液中使用核酸探针。

[0888] 在一些实施例中,使用支链DNA(bDNA)测定或实时PCR(qPCR)评估mRNA表达水平。在本文提供的实施例中描述并举例说明了所述PCR方法的使用。此类方法还可用于检测APP核酸、SREBP核酸或PNPLA3核酸。

[0889] 可以使用本领域已知的用于测量蛋白质水平的任何方法来确定APP蛋白质表达的水平。此类方法包括例如电泳、毛细管电泳、高效液相色谱(HPLC)、薄层色谱(TLC)、超扩散

色谱、流体或凝胶沉淀反应、吸收光谱、比色测定、分光光度测定、流式细胞术、免疫扩散(单一或双重)、免疫电泳、蛋白质印迹、放射免疫测定(RIA)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、免疫荧光测定、电化学发光测定等。此类测定还可用于检测指示APP蛋白、APP裂解产物或与APP相关的其他蛋白质(例如PSEN1、PSEN2等)的存在或复制的蛋白质。

[0890] 在一些实施例中,在本发明的方法的功效的APP相关疾病的治疗我S通过APP mRNA水平(例如降低评估,通过对Aβ水平的CSF样品的评估,通过脑活检,或以其他方式)。

[0891] 在本申请的方法的一些实施例中,RNAi剂施用给个体,使得RNAi剂是德尔ivered到对象内的特定末端。APP表达的抑制可以使用来自个体体内特定末端例如CNS细胞的样品中APP mRNA或APP蛋白的水平或水平变化的测量来评估。在某些实施例中,所述方法包括APP表达的临床相关抑制,例如如用降低APP表达的药剂治疗个体后的临床相关结果所证明的。

[0892] 如本文所用,术语检测或确定分析物的水平被理解为表示执行确定材料例如蛋白质、RNA是否存在的步骤。如本文所用,检测或确定方法包括检测或确定低于所用方法的检测水平的分析物水平。-

[0893] X.治疗或预防APP相关疾病的方法

[0894] 本申请还提供使用本申请的RNAi剂和/或含有本申请的RNAi剂的组成物来减少和/或抑制细胞中APP表达的方法。所述方法包括将细胞与本申请内容的dsRNA接触并将细胞维持足够的时间以获得APP基因的mRNA转录物的降解,从而抑制APP基因在细胞中的表达。基因表达的降低可以通过本领域已知的任何方法来评估。例如,可以通过使用本领域技术人员常规的方法,例如Northern印迹、qRT-PCR;以及测定APP的mRNA表达水平来确定APP表达的降低。通过使用本领域技术人员常规的方法例如蛋白质印迹、免疫学技术确定APP的蛋白质水平。在APP的表达的降低还可以通过在APP的可溶性裂解产物,水平测量的降低间接评估例如,在可溶性APP的水平的降低、APPβ和/或可溶性Aβ肽、其任选个体的脑脊液样本。

[0895] 在本申请的方法中,细胞可以在体外或体内接触,即细胞可以在个体体内。

[0896] 适合使用椎间盘损伤方法治疗的细胞可以是表达APP基因的任何细胞。适用于本申请的方法的细胞可以是哺乳动物细胞,例如灵长类细胞(例如人类细胞或非人类灵长类细胞,例如猴细胞或黑猩猩细胞)、非-灵长类动物细胞(例如牛细胞、猪细胞、骆驼细胞、美洲驼细胞、马细胞、山羊细胞、兔细胞、绵羊细胞、仓鼠、豚鼠细胞、猫细胞、狗细胞、大鼠细胞、小鼠细胞、狮子细胞、老虎细胞、熊细胞或水牛细胞)、鸟细胞(例如,鸭细胞或鹅细胞)或鲸细胞。在一个实施例中,细胞是人类细胞,例如人类CNS细胞。

[0897] APP表达在细胞中被抑制至少约5、6、7、8、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、36、37、38、39、40、41、42、43、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99,或约100%。在优选的实施例中,APP表达被抑制至少20%。

[0898] 本申请的体内方法可以包括向个体施用含有RNAi剂的组成物,其中所述RNAi剂包括与待治疗的哺乳动物的APP基因的RNA转录物的至少一部分互补的核苷酸序列。.当待治疗的生物体是哺乳动物例如人类时,组成物可以通过本领域已知的任何方式施用,包括但

不限于口服、腹膜内或肠胃外途径,包括颅内(例如,心室内、实质内和鞘内)、静脉内、肌肉内、玻璃体内、皮下、透皮、气道(气雾剂)、鼻腔、直肠和局部(包括口腔和舌下)施用。在某些实施例中,组成物通过静脉输注或注射施用。在某些实施例中,组成物通过皮下注射施用。

[0899] 在一些实施例中,施用是通过长效注射进行的。长效注射可能会在很长一段时间内以一致的方式释放RNAi剂。因此,长效注射可降低获得所需效果所需的施用频率,例如所需的APP抑制或治疗或预防效果。长效注射也可以提供更一致的血清浓度。长效注射可包括皮下注射或肌内注射。在优选的实施例中,长效注射是皮下注射。

[0900] 在一些实施例中,施用是通过泵进行的。泵可以是外部泵或外科植入泵。在某些实施例中,泵是皮下植入的渗透泵。在其他实施例中,泵是输液泵。输液泵可用于静脉内、皮下、动脉或硬膜外输液。在优选实施例中,输液泵是皮下输液泵。在其他实施例中,泵是将RNAi剂传递至CNS的外科植入泵。

[0901] 可以根据需要局部治疗还是全身治疗以及基于待治疗的区域来选择施用方式。可选择施用途径和部位以增强靶向。

[0902] 一方面,本申请还提供抑制哺乳动物中APP基因的表达的方法。所述方法包括向哺乳动物施用包含靶向哺乳动物细胞中APP基因的dsRNA的组成物并维持哺乳动物足够时间以获得APP基因的mRNA转录物的降解,从而抑制APP基因的表达。在单元格中。基因表达的降低可以通过本领域已知的任何方法和通过例如本文所述的qRT-PCR的方法来评估。可以通过本领域已知的任何方法和通过本文所述的方法例如ELISA来评估蛋白质产生的减少。在一个实施例中,CNS活检样品或脑脊液(CSF)样品用作监测APP基因和/或蛋白质表达(或因此的替代物,如本文所述或本领域已知的)减少的组织材料。

[0903] 本申请进一步提供治疗有需要的个体的方法。本申请内容的治疗方法包括以治疗有效量的靶向APP基因的RNAi剂或将本申请内容的RNAi剂施用于个体,例如将受益于APP表达的减少和/或抑制的个体。一种包含靶向APP基因的RNAi剂的医药组成物。

[0904] 本申请还提供降低个体的Aβ40和/或Aβ42水平的方法。所述方法包括给予一个RNAi剂本申请的用于个体,例如,个体会从APP表达的减少和/或抑制中受益,以治疗有效量的一个RNAi剂靶向APP基因或医药组成物,其包括一种靶向APP基因的RNAi剂。

[0905] 此外,本申请提供在个体中预防、治疗和/或抑制APP相关疾病或病症(例如,CAA和/或AD,任选地EOFAD)的进展,例如APP-相关疾病或病症的进展的方法-在患有APP相关疾病或病症的个体或有发展为APP相关疾病或病症的风险的个体中,与神经变性、淀粉样蛋白斑形成增加和/或认知能力下降相关的疾病或病症。所述方法包括向个体施用治疗有效量的本文提供的任何dsRNA或医药组成物,从而预防、治疗和/或抑制个体的APP相关疾病或病症的进展。

[0906] 本申请的RNAi剂可以作为“游离RNAi剂”施用。在不存在医药组成物的情况下施用游离RNAi剂。裸RNAi剂可以在合适的缓冲溶液中。缓冲溶液可包含乙酸盐、柠檬酸盐、醇溶谷蛋白、碳酸盐或磷酸盐,或其任何组合。在一实施例中,缓冲溶液是磷酸盐缓冲盐水(PBS)。可以调节含有RNAi剂的缓冲溶液的pH和渗透压以使其适合施用于个体。

[0907] 或者,本申请内容的RNAi剂可以作为医药组成物施用,例如dsRNA脂质体制剂。

[0908] 将受益于APP基因的表达的减少和/或抑制的个体是患有APP相关病症的个体。术语“APP相关疾病”包括将受益于APP基因的表达、复制或蛋白质活性的降低的疾病、病症或

病症。APP相关疾病的非限制性实例包括例如CAA(包括hCAA和散发型CAA)和AD(包括EOFAD、散发型和/或晚发型AD,可选地与CAA)。

[0909] 本申请进一步提供使用RNAi剂或其医药组成物的方法,例如治疗将从APP表达的降低和/或抑制中受益的个体,例如患有APP相关病症的个体,联合使用与其他药物和/或其他治疗方法,例如,使用已知药物和/或已知治疗方法,例如目前治疗这些疾病的那些。例如,在某些实施例中,靶向APP的RNAi剂与例如可治疗如本文别处所述或本领域已知的APP相关病症的剂组合施用。例如,适用于治疗将受益于APP表达减少的个体的其他药剂,例如患有APP相关病症的个体,可以包括目前用于治疗AD症状的药剂。此类药剂的非限制性实例可包括胆碱酯酶抑制剂(例如多奈哌齐、利伐斯汀和加兰他敏)、美金刚、BACE1i、免疫疗法和分泌酶抑制剂。的RNAi剂和另外的治疗剂可以在相同的时间和/或在同一组合施用,例如,鞘内,或另外的治疗剂可以作为单独的组成物的一部分或在不同的时间和/或通过另一种方法施用本领域已知的或本文中描述的。

[0910] 在一个实施例中,所述方法包括施用本文特征的组成物使得靶APP基因的表达降低,例如约1、2、3、4、5、6、7、8、12、16、18、24小时、28、32小时或大约36小时。在一个实施例中,靶APP基因的表达在延长的持续时间内降低,例如至少约2、3、4天或更长时间,例如约1周、2周、3周或4周或更长时间。

[0911] 优选地,可用于本文特征化的方法和组成物的RNAi剂特异性靶向靶APP基因的RNA(初级或加工的)。可以如本文所述制备和实施用于使用RNAi剂抑制这些基因表达的组成物和方法。

[0912] 根据本申请内容的方法施用dsRNA可导致患有APP相关病症的患者的此类疾病或病症的严重性、体征、症状和/或标志物降低。上下文中的“降低”是指所述水平在统计上显著降低。减少可以是例如至少约5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或大约100%。

[0913] 可以评估治疗或预防疾病的功效,例如通过测量疾病进展、疾病缓解、症状严重程度、疼痛减轻、生活质量、维持治疗效果所需的药物剂量、疾病标志物的水平或任何适用于正在治疗或针对预防的特定疾病的其他可测量参数。通过测量这些参数中的任何一个或参数的任何组合来监测治疗或预防的功效完全在本领域技术人员的能力范围内。例如,可以通过例如定期监测个体的认知、CSF Aβ水平等来评估APP相关病症的治疗功效。后来读数与初始读数的比较为医生提供指示:其治疗是有效的。通过测量这些参数中的任何一个或参数的任何组合来监测治疗或预防的功效完全在本领域技术人员的能力范围内。关于靶向APP的RNAi药剂或其医药组成物的施用,“有效对抗”APP相关病症表示以临床上合适的方式施用对至少有统计学意义的部分患者产生有益效果,例如症状的改善、治愈、疾病的减少、寿命的延长、生活质量的改善,或熟悉治疗APP相关疾病和相关原因的医生普遍认为具有积极意义的其他效果。

[0914] 当疾病状态的一个或多个参数在统计学上显著改善,或者未能恶化或出现原本预期的症状时,治疗或预防效果是明显的。例如,疾病的可测量参数的至少10%,优选至少20%、30%、40%、50%或更多的有利变化可以指示有效治疗。对于给定的RNAi剂的药物或所述药物制剂也可以使用如本领域中已知的给定疾病的实验动物模型来判断。当使用实验动物模型时,当观察到标志物或症状在统计学上显著减少时,证明治疗的有效性。

[0915] 或者,如诊断领域的本领域技术人员基于临床上接受的疾病严重性分级量表(仅作为痴呆的智力测试的一个实例)所确定的疾病严重性的降低,可以测量功效。任何导致例如使用适当量表测量的疾病严重程度减轻的积极变化,代表使用如本文所述的RNAi剂或RNAi剂制剂的充分治疗。

[0916] 可以向个体施用治疗量的dsRNA,例如约0.01mg/kg至约200mg/kg。

[0917] 所述RNAi剂可以鞘内在一段时间内施用,通过玻璃体内注射和/或通过静脉内输注,定期。在某些实施例中,在初始治疗方案之后,治疗可以在较低频率的基础上进行。RNAi剂的施用可以将例如患者的细胞、组织、血液、CSF样品或其他隔室中的APP水平降低至少约5%、6、7、8、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、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、39、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98或至少约99%或更多。在优选的实施例中,RNAi剂的施用可以将例如患者的细胞、组织、血液、CSF样品或其他隔室中的APP水平降低至少20%。

[0918] 在给予全剂量的RNAi药剂之前,患者可以给予较小的剂量,例如5%的输液反应,并监测不良反应,例如过敏反应。在另一个例子中,可以监测患者的不想要的免疫刺激作用,例如增加的细胞因子(例如,TNF-α或INF-α)水平。

[0919] 或者,RNAi剂可以皮下施用,即通过皮下注射。一次或多次注射可用于向个体传递所需的例如每月剂量的RNAi剂。注射可以在一段时间内重复。可以定期重复施用。在某些实施例中,在初始治疗方案之后,治疗可以在较低频率的基础上进行。重复施用方案可以包括定期给予治疗量的RNAi剂,例如每月一次或延长至每年一次或每2、3、4和/或5年一次。在某些实施例中,RNAi剂施用约每月一次至约每季度一次(即,约每三个月一次)。

[0920] 除非另有定義,本文使用的所有技術和科學術語與本领域技术人员通常理解的含義相同。儘管類似於或等同於本文所述的那些方法和材料可用於實踐或測試本發明中表徵的RNAi試劑和方法,但下文描述了合適的方法和材料。在此提及的所有出版物、專利申請、專利和其他參考文獻均通过引用整体併入。如有衝突,以本說明書(包括定義)為準。此外,材料、方法和實施例僅是說明性的而不是限制性的。

[0921] 实例

[0922] 實例1.RNAi試劑設計、合成、選擇和体外評估

[0923] 本實施例描述APP RNAi試劑的設計、合成、選擇和体外評估方法。

[0924] 試劑來源

[0925] 在本文未具体给出剂来源的情况下,此类剂可以从分子生物学剂的任何供应商处以用于分子生物学应用的质量/纯度标准获得。

[0926] 生物信息学

[0927] 靶向人类淀粉样蛋白β前驱蛋白基因的组的siRNA剂(APP;human NCBI refseq NM_201414;NCBI GeneID:351;SEQ ID NO:1),以及在毒理学种APP直向同源物从食蟹猴(食蟹猴:XM_005548883.2;SEQ ID NO:12)是使用自定义R和Python设计的。所有siRNA设计都与人类APP转录本完美匹配,并且有一个子集与食蟹猴直向同源物完美匹配或接近完美匹配。人类NM_201414 REFSEQ mRNA,版本2,长度为3423个碱基。siRNA设计集的基本原理和方

法如下:使用随机森林模型确定从位置10到末端的每个潜在23mer siRNA的预测功效,所述模型源自对来自数千个不同siRNA设计靶向的mRNA敲除的直接测量一组多样化的脊椎动物基因。对于siRNA的每条链,在蛮力搜索中使用自定义Python脚本来测量siRNA与人类转录组中所有潜在比对之间的错配数量和位置。对种子区域中的错配给予额外权重,此处定义为反义寡核苷酸的位置2至9,以及siRNA的切割位点,此处定义为反义寡核苷酸的位置10至11。对于种子错配、切割位点和直到反义位置19的其他位置,错配的相对权重为2.8、1.2、1。忽略第一个位置的错配。通过对每个加权错配的值求和来计算每个链的特异性得分。优先选择在人类和猴中的反义评分≥3且预测功效≥50%敲除(161个序列),或反义评分≥2且预测敲除≥60%的siRNA(118个序列)。

[0928] 第二组siRNA靶向毒理学种Mus musculus(小鼠)淀粉样前体蛋白(App,人类APP的直向同源物;小鼠NCBI refseq NM_001198823;NCBI GeneID:11820;SEQ ID NO:13)以及Rattus norvegicus(大鼠)App ortholog:NM_019288.2(SEQ ID NO:14)是使用定制的R和Python脚本设计的。所有siRNA设计都与小鼠App转录本完美匹配,并且一个子集与大鼠直向同源物完美匹配或接近完美匹配。小鼠NM_001198823REFSEQ mRNA,版本1,长度为3377个碱基。对人类序列使用与上述相同的选择制程,但应用以下选择标准:优先选择在小鼠和大鼠中反义评分≥2.8且预测功效≥50%敲除的siRNA(85个序列),或反义得分≥2和≥61%预测敲除(8个序列)。

[0929] APP序列的合成

[0930] APP单链和双链体的合成

[0931] 所有寡核苷酸均在MerMade 192合成仪上使用通用或定制支持物以1μmole规模制备。所有亚磷酰胺都以100mM的浓度在100%乙腈或9:1乙腈:DMF中使用,使用2-氰乙基亚磷酰胺的标准方案,不同之处在于结合时间延长至400秒。使用9:1乙腈:水中的50mM $I_2$溶液产生磷酸键,使用9:1吡啶:乙腈中的100mM DDTT以产生硫代磷酸酯键合,实现新形成键的氧化。合成三苯甲基后,将色谱柱与150μL 40%甲胺水溶液孵育45分钟,然后将溶液通过真空排入96孔板中。重复温育并用新鲜的甲胺水溶液排干后,将含有粗寡核苷酸溶液的板密封并在室温下再振摇60分钟以完全去除所有保护基团。通过将1.2mL的9:1乙腈:EtOH添加到每个孔中,然后在-20℃下孵育过夜来完成粗寡核苷酸的沉淀。然后将板以3000RPM离心45分钟,从每个孔中取出上清液,并将沉淀物重新悬浮在950μL的20mM NaOAc水溶液中。每种粗溶液最终在GE Hi-Trap脱盐柱(Sephadex G25 Superfine)上脱盐,用水洗脱最终的寡核苷酸产物。分别使用ESI-MS和IEX HPLC确认所有特性和纯度。

[0932] APP单股的退火在Tecan液体处理机器人上进行。正义和反义单链在96孔板中以等莫耳比组合,并用10x PBS缓冲,以在1x PBS中提供10μM的最终双链体浓度。结合互补单链后,将96孔板SEALE d紧紧并且在在100℃的烘箱中加热40分钟并使其缓慢达到室温历时的2至3小时,并随后直接用于在适当浓度的体外筛选试验。

[0933] 经修饰的APP义和反义链序列的详细列表在示出表2A、2B、3、5A、5B、6、9、10至15、16A、16B、和26和未经修饰的APP感的详细清单和反义链的序列示出在表3、6、11、13、15、和26。

[0934] 体外初代小鼠、初代食蟹猴肝细胞、Be(2)C和Neuron2A筛选:细胞培养和转染:

[0935] 人类Be(2)C(ATCC)、小鼠Neuro2A(ATCC)、初代小鼠肝细胞(BioreclamationIVT)

和初代食蟹猴肝细胞(BioreclamationIVT)通过在每孔中加入4.9μl Opti-MEM和0.1μl RNAiMAX(Invitrogen,Carlsbad CA.目录号13778-150)至5μl的siRNA每孔双链体,4个重复的每个的小号的iRNA双链体,到384孔板中,并在室温下孵育15分钟。然后将含有~5x$10^3$细胞的40μl培养基添加到siRNA混合物中。细胞在RNA纯化前孵育24小时。多剂量实验在10nM和0.1nM下进行。

[0936] 使用DYNABEADS mRNA隔离套件(Invitrogen,part#:610-12)分离总RNA:

[0937] 使用DYNABEADs(Invitrogen,cat#61012)在BioTek-EL406平台上使用自动化方案分离RNA。简而言之,将70μl裂解/结合缓冲液和10μl含有3μl磁珠的裂解缓冲液添加到含有细胞的平板中。将板在电磁振荡器上室温孵育10分钟,然后捕获磁珠并去除上清液。然后用150μl洗涤缓冲液A洗涤珠子结合的RNA 2次,用洗涤缓冲液B洗涤一次。然后用150μl洗脱缓冲液洗涤珠子,重新捕获并去除上清液。

[0938] 使用ABI高容量cDNA逆转录套组(应用生物系统公司,Foster City,CA,Cat#4368813)合成cDNA:

[0939] 10μl的含有1主混合物的μl 10X缓冲液、0.4μl 25X的dNTPs、1μl 10X随机引物、0.5μl逆转录酶、0.5μl RNA酶抑制剂和6.6μl $H_2O$/每个反应加入到上面分离的RNA。将板密封、混合并在室温下在电磁振荡器上孵育10分钟,然后在37℃下孵育2小时。

[0940] 实时PCR:

[0941] 将2μl cDNA添加到包含0.5μl人类GAPDH TaqMan探针(4326317E)、0.5μl APP人类探针(Hs00169098_m1)和5μl Lightcycler 480探针预混合物(Roche Cat#04081388)的预混液中,每孔401孔板(Roche cat#04887301001)。或者,将2μl cDNA添加到预混液中,每孔中含有0.5μl小鼠GAPDH TaqMan探针(4352339E)、0.5μl APP小鼠探针(Mm01344172_m1)和5μl Lightcycler 480探针预混液(Roche Cat#04008730)384孔板(Roche cat#04887301001)。或者将2μl cDNA添加到含有0.5μl Cyno GAPDH TaqMan探针(正向引物:5'-GCATCCTGGGCTACACTGA-3'(SEQ ID NO:2903),反向引物:5'-TGGGTGTCGCTGTTGAAGTC-3'(SEQ ID NO:2904),探针:5'HEX-CCAGGTGGTCTCCTCC-3'BHQ-1(SEQ ID NO:2905))和0.5μl APP食蟹猴探针(Mf01552291_m1)和5μl Lightcycler 480探针预混液(Roche Cat#04887301001)在384孔板(Roche cat#04881730l001)中的每孔。实时PCR在LightCycler480实时PCR系统(Roche)中进行。每个双链体至少进行两次测试,并将资料标准化为用非靶向对照siRNA转染的细胞。

[0942] 为了计算相对倍数变化,使用ΔΔCt方法分析实时资料,并标准化为用非靶向对照siRNA转染的细胞进行的测定。测定结果示于表4和7中。

[0943] 表1:用于表示核酸序列的核苷酸单体的缩写。

[0944] 应当理解,当这些单体存在于寡核苷酸中时,其通过5'-3'-磷酸二酯键相互连接。

[0945]

| 缩写 | 核苷酸 |
|---|---|
| A | 3'-磷酸腺苷 |
| Agn | (S)-乙二醇-腺苷 |
| Ahd | 2'-*O*-十六烷基腺苷-3'-磷酸 |
| Af | 2'-氟腺苷-3'-磷酸 |
| Afs | 2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸酯 |
| As | 腺苷-3'-硫代磷酸酯 |
| C | 胞苷-3'-磷酸 |
| Cgn | (S)-乙二醇-胞苷 |
| Chd | 2'-*O*-十六烷基胞苷-3'-磷酸 |
| Cf | 2'-氟胞苷-3'-磷酸 |
| Cfs | 2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸酯 |
| Cs | 胞苷-3'-硫代磷酸酯 |
| G | 鸟苷-3'-磷酸 |
| Ggn | (S)-乙二醇-鳥苷 |
| Ghd | 2'-*O*-十六烷基鳥苷-3'-磷酸 |
| Gf | 2'-氟鸟苷-3'-磷酸 |
| Gfs | 2'-氟鸟苷-3'-硫代磷酸酯 |
| Gs | 鸟苷-3'-硫代磷酸酯 |
| T | 5'-甲基尿苷-3'-磷酸 |
| Tgn | (S)-乙二醇-5'-甲基尿苷 |
| Tf | 2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸盐 |
| Tfs | 2'-氟-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| Ts | 5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| U | 尿苷-3'-磷酸 |
| Uhd | 2'-*O*-十六烷基尿苷-3'-磷酸 |

[0946]

| 缩写 | 核苷酸 |
|---|---|
| Uf | 2'-氟尿苷-3'-磷酸 |
| Ufs | 2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| Us | 尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| N | 任何核苷酸（G、A、C、T 或 U） |
| a | 2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸 |
| as | 2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯 |
| c | 2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸 |
| cs | 2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸酯 |
| g | 2'-O-甲基鸟苷-3'-磷酸 |
| gs | 2'-O-甲基鸟苷-3'-硫代磷酸酯 |
| t | 2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸盐 |
| ts | 2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| u | 2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸 |
| us | 2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯 |
| s | 硫代磷酸酯键合 |
| L96 | N-[三(GalNAc-烷基)-酰胺基癸酰基)]-4-羟脯氨醇-(GalNAc-烷基)3 |
| dT | 2`-脱氧胸苷-3`-磷酸 |
| dC | 2`-脱氧胞苷-3`-磷酸 |
| P | 磷酸盐 |
| VP | 乙烯基磷酸酯 |

[0947]

表 2A. 人类 APP 经修饰的序列

| 双链体名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392699 | gsasccc (Ahd) AfuUfAfAfgucCuacuuuL96 | 33 | asAfsagua (Ggn) gacuuaAfuUfgggucsasc | 34 | GUGACCCAAUUAAGUCCUACUUU | 35 |
| AD-392700 | uscsucc (Uhd) GfaUfUfAfAfuuuaucacauL96 | 36 | asUfsguga (Tgn) aaauaaUfcAfggagasgsa | 37 | UCUCUCCUGAUUAUUUAUCACAU | 38 |
| AD-392703 | cscsuga (Ahd) CfuUfGfAfAfauuaauccauL96 | 39 | asUfsggau (Tgn) aauucaAfgUfucaggscsa | 40 | UGCCUGAACUUGAAUUAAUCCAC | 41 |
| AD-392704 | gsgsuuc (Ahd) AfaCfAfAfAfaggugcaauuL96 | 42 | asAfsuugc (Agn) ccuuugUfuUfgaacccsca | 43 | UGGGUUCAAACAAAGGUGCAAUC | 44 |
| AD-392705 | ususuac (Uhd) CfaUfUfAfAfucgccuuuugL96 | 45 | csAfsaaag (Ggn) cgauaaUfgAfguaaasusc | 46 | GAUUUACUCAUUAUCGCCUUUUG | 47 |
| AD-392707 | asususua (Ghd) CfuGfUfAfAfucaaacuagUL96 | 48 | asCfsuagu (Tgn) ugauacAfgCfuaaaususc | 49 | GAAUUUAGCUGUAUCAAACUAGU | 50 |
| AD-392708 | asgsuau (Uhd) CfcUfUfUfUfccugaucacuL96 | 51 | asGfsugau (Cgn) aggaaaGfgAfauacususa | 52 | UAAGUAUUCCUUUCCUGAUCACU | 53 |
| AD-392709 | gscsuua (Uhd) GfaCfAfUfUfgaucgcuuucL96 | 54 | gsAfsaagc (Ggn) aucaugUfcAfuaagcsasa | 55 | UUGCUUAUGACAUGAUCGCUUUC | 56 |
| AD-392710 | asasgau (Ghd) UfgUfCfUfUfucaauuugUaL96 | 57 | usAfscaaa (Tgn) ugaagaCfaCfaucuusasa | 58 | UUAAGAUGUGUCUUCAAUUUGUA | 59 |
| AD-392711 | gscsaaa (Ahd) CfcAfUfUfUfgcuucacuauL96 | 60 | asUfsagug (Agn) agcaauGfgUfuuugcsusg | 61 | CAGCAAAACCAUUGCUUCACUAC | 62 |
| AD-392712 | asususua (Chd) UfcAfUfUfUfaucgccuuuuL96 | 63 | asAfsaagg (Cgn) gauaauGfaGfuaaauscsa | 64 | UGAUUUACUCAUUAUCGCCUUUU | 65 |
| AD-392713 | usascuc (Ahd) UfuAfUfUfCfgccuuuugauL96 | 66 | asUfscaaa (Agn) ggcgauAfaUfgaguasasa | 67 | UUUACUCAUUAUCGCCUUUUGAC | 68 |
| AD-392714 | usgsccu (Ghd) AfaCfUfUfUfgaauuaaucuL96 | 69 | asGfsauua (Agn) uucaagUfuCfaggcasusc | 70 | GAUGCCUGAACUUGAAUUAAUCC | 71 |
| AD-392715 | csusgaa (Chd) UfuGfAfAfUfuaauccacaL96 | 72 | usGfsugga (Tgn) uaauucAfaGfuucagsgsc | 73 | GCCUGAACUUGAAUUAAUCCACA | 74 |
| AD-392716 | ususuag (Chd) UfgUfAfUfUfcaaacuaguUL96 | 75 | asAfscuag (Tgn) uugauaCfaGfcuaaasusu | 76 | AAUUUAGCUGUAUCAAACUAGUG | 77 |
| AD-392717 | gsasaua (Ghd) AfuUfCfUfUfcuccugauuaL96 | 78 | usAfsauca (Ggn) gaggagAfuCfuauucsasu | 79 | AUGAAUAGAUUCUCCUCCUGAUUA | 80 |
| AD-392718 | uscscug (Ahd) UfuAfUfUfUfuaucacauauL96 | 81 | asUfsaugu (Ggn) auaaauAfaUfcaggasgsa | 82 | UCUCCUGAUUAUUUAUCACAUAG | 83 |
| AD-392719 | cscscaa (Uhd) UfaAfGfUfUfccuacuuuauL96 | 84 | asUfsaaag (Tgn) aggacuUfaAfuugggsusc | 85 | GACCCAAUUAAGUCCUACUUUAC | 86 |
| AD-392720 | csasuau (Ghd) CfuUfUfAfagaaucgauuL96 | 87 | asAfsucga (Tgn) ucuuaaAfgCfauaugsusa | 88 | UACAUAUGCUUUAAGAAUCGAUG | 89 |
| AD-392721 | csusucu (Chd) UfuGfCfCfUfuaguauucuL96 | 90 | asGfsaaua (Cgn) uuaggcAfaGfagaagcsca | 91 | UGCUUCUCUUGCCUAAGUAUUCC | 92 |

[0948]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392722 | csasuug(Chd)UfuAfUfGfacaugaucgguL96 | 93 | asCfsgauc(Agn)ugucauAfaGfcaaugsasu | 94 | AUCAUGCUUAUGACAUGAUCGC | 95 |
| AD-392723 | csusuau(Ghd)AfcAfUfGfaucgcuuucuL96 | 96 | asGfsaaag(Cgn)gaucauGfuCfauaagscsa | 97 | UGCUUAUGACAUGAUCGCUUUCU | 98 |
| AD-392724 | usasuga(Chd)AfuGfAfUfcgcuuucuauL96 | 99 | asUfsagaa(Agn)gcgaucAfuGfucauasasg | 100 | CUUAUGACAUGAUCGCUUUCUAC | 101 |
| AD-392725 | usgsaca(Uhd)GfaUfCfGfcuuucuacauL96 | 102 | asUfsguag(Agn)aagcgaUfcAfugucasusa | 103 | UAUGACAUGAUCGCUUUCUACAC | 104 |
| AD-392726 | gsasucg(Chd)UfuUfCfUfacacuguauuL96 | 105 | asAfsuaca(Ggn)uguagaAfaGfcgaucsasu | 106 | AUGAUCGCUUUCUACACUGUAUU | 107 |
| AD-392727 | asasaac(Uhd)AfuUfCfAfgaugacgucuL96 | 108 | asGfsacgu(Cgn)aucugaAfuAfguuuusgsc | 109 | GCAAAACUAUUCAGAUGACGUCU | 110 |
| AD-392728 | asasacu(Ahd)UfuCfAfGfaugacgucuuL96 | 111 | asAfsgacg(Tgn)caucugAfaUfaguuususg | 112 | CAAAACUAUUCAGAUGACGUCUU | 113 |
| AD-392729 | ascsgaa(Ahd)AfuCfCfAfaccuacaaguL96 | 114 | asCfsuugu(Agn)gguuggAfuUfuucgusasg | 115 | CUACGAAAAUCCAACCUACAAGU | 116 |
| AD-392730 | usgscuu(Chd)UfcUfUfGfccuaaguauuL96 | 117 | asAfsuacu(Tgn)aggcaaGfaGfaagcasgsc | 118 | GCUGCUUCUCCUUGCCUAAGUAUU | 119 |
| AD-392731 | usgscuu(Ahd)UfgAfCfAfugaucgcuuuL96 | 120 | asAfsagcg(Agn)ucauguCfaUfaagcasasu | 121 | AUUGCUUAUGACAUGAUCGCUUU | 122 |
| AD-392732 | usgsauc(Ghd)CfuUfUfCfuacacuguauL96 | 123 | asUfsacag(Tgn)guagaaAfgCfgaucasusg | 124 | CAUGAUCGCUUUCUACACUGUAU | 125 |
| AD-392733 | asuscgc(Uhd)UfuCfUfAfcacuguauuaL96 | 126 | usAfsauac(Agn)guguagAfaAfgcgauscsa | 127 | UGAUCGCUUUCUACACUGUAUUA | 128 |
| AD-392734 | uscsuuu(Ghd)AfcCfGfAfaacgaaaacuL96 | 129 | asGfsuuuu(Cgn)guuucgGfuCfaaagasusg | 130 | CAUCUUUGACCGAAACGAAAACC | 131 |
| AD-392735 | gsusucu(Ghd)GfgUfUfGfacaauauucaL96 | 132 | usGfsauau(Tgn)ugucaaCfcCfagaacscsu | 133 | AGGUUCUGGGUUGACAAUAUCA | 134 |
| AD-392736 | usgsggu(Uhd)GfaCfAfAfauucaagauL96 | 135 | asUfscuug(Agn)uauuugUfcAfacccasgsa | 136 | UCUGGGUUGACAAAUAUCAAGAC | 137 |
| AD-392737 | gsasuuu(Ahd)CfuCfAfUfuaucgccuuuL96 | 138 | asAfsaggc(Ggn)auaaugAfgUfaaaucsasu | 139 | AUGAUUUACUCAUUAUCGGCCUUU | 140 |
| AD-392738 | uscscuu(Uhd)CfcUfGfAfucacuaugcaL96 | 141 | usGfscaua(Ggn)ugaucaGfgAfaaggasasu | 142 | AUUCCUUUCCUGAUCACUAUGCA | 143 |
| AD-392739 | csusuuc(Chd)UfgAfUfCfacuaugcauuL96 | 144 | asAfsugca(Tgn)agugauCfaGfgaaagsgsa | 145 | UCCUUUCCUGAUCACUAUGCAUU | 146 |
| AD-392740 | asusugc(Uhd)UfaUfGfAfcaugaucgcuL96 | 147 | asGfscgau(Cgn)augucaUfaAfgcaausgsa | 148 | UCAUUGCUUAUGACAUGAUCGCU | 149 |
| AD-392741 | uscsuuu(Ahd)AfcCfAfGfucugaaguuuL96 | 150 | asAfsacuu(Cgn)agacugGfuUfaaagasasa | 151 | UUUCUUUAACCAGUCUGAAGUUU | 152 |
| AD-392742 | gsgsauc(Ahd)GfuUfAfCfggaaacgauuL96 | 153 | asAfsucgu(Tgn)uccguaAfcUfgauccsusu | 154 | AAGGAUCAGUUACGGAAACGAUG | 155 |

[0949]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392743 | csusggg(Uhd)UfgAfCfAfaauaucaagaL96 | 156 | usCfsuuga(Tgn)auuuguCfaAfcccagsasa | 157 | UUCUGGGUUGACAAAUAUCAAGA | 158 |
| AD-392744 | asusgau(Uhd)UfaCfUfCfauuaucgccuL96 | 159 | asGfsgcga(Tgn)aaugagUfaAfaucausasa | 160 | UUAUGAUUUACUCAUUAUCGCCU | 161 |
| AD-392745 | csusugu(Ghd)GfuUfUfGfugacccaauuL96 | 162 | asAfsuugg(Ggn)ucacaaAfcCfacaagsasa | 163 | UUCUUGUGGUUUGUGACCCAAUU | 164 |
| AD-392746 | asusaug(Chd)UfuUfAfAfgaaucgaugL96 | 165 | asCfsaucg(Agn)uucuuaAfaGfcauausgsu | 166 | ACAUAUGCUUUAAGAAUCGAUGG | 167 |
| AD-392747 | ususugu(Chd)CfaCfGfUfaucuuggguL96 | 168 | asCfsccaa(Agn)gauacgUfgGfacaaasasa | 169 | UUUUGUCCACGUAUCUUUGGGU | 170 |
| AD-392748 | uscsauu(Ghd)UfaAfGfCfacuuuacguL96 | 171 | asCfsguaa(Agn)agugcuUfaCfaaugasasc | 172 | GUCAUUGUAAGCACUUUUACGG | 173 |
| AD-392749 | gsgscca(Ahd)CfaUfGfAfuuagugaacuL96 | 174 | asGfsuuca(Cgn)uaaucaUfgUfuggccsasa | 175 | UUGGCCAACAUGAUUAGUGAACC | 176 |
| AD-392750 | gsasuca(Ghd)UfuAfCfGfgaaacgauguL96 | 177 | asCfsaucg(Tgn)uuccguAfaCfugaucscsu | 178 | AGGAUCAGUUACGGAAACGAUGC | 179 |
| AD-392751 | usascgg(Ahd)AfaCfGfAfugcucucauuL96 | 180 | asAfsugag(Agn)gcaucgUfuUfccguasasc | 181 | GUUACGGAAACGAUGCUCUCAUG | 182 |
| AD-392752 | usgsauu(Uhd)AfcUfCfAfuuaucgccuuL96 | 183 | asAfsggcg(Agn)uaaugaGfuAfaaucasusa | 184 | UAUGAUUUACUCAUUAUCGCCUU | 185 |
| AD-392753 | gsusaga(Uhd)GfcCfUfGfaacuugaauuL96 | 186 | asAfsuuca(Agn)guucagGfcAfucuacsusu | 187 | AAGUAGAUGCCUGAACUUGAAUU | 188 |
| AD-392754 | ususgua(Uhd)AfuUfAfUfucuugugguuL96 | 189 | asAfsccac(Agn)agaauuAfuAfuacaascsu | 190 | AGUUGUAUAUUAUCUUGUGGUU | 191 |
| AD-392755 | asususgc(Uhd)GfcUfUfCfugcuauauuuL96 | 192 | asAfsauau(Agn)gcagaaGfcAfgcaauscsu | 193 | AGAUUGCUGCUUCUGCUAUAUUU | 194 |
| AD-392756 | usgscua(Uhd)AfuUfUfGfugauauaggaL96 | 195 | usCfscuau(Agn)ucacaaAfuAfuagcasgsa | 196 | UCUGCUAUAUUUGUGAUAUAGGA | 197 |
| AD-392757 | ascsaca(Uhd)UfaGfGfCfauugagacuuL96 | 198 | asAfsgucu(Cgn)aaugccUfaAfugugusgsc | 199 | GCACACAUUAGGCAUUGAGACUU | 200 |
| AD-392758 | asasgaa(Uhd)CfcCfUfGfuucauuguaaL96 | 201 | usUfsacaa(Tgn)gaacagGfgAfuucuususu | 202 | AAAAGAAUCCCUGUUCAUUGUAA | 203 |
| AD-392759 | csasuug(Uhd)AfaGfCfAfcuuuacgguL96 | 204 | asCfscgua(Agn)aagugcUfuAfcaaugsasa | 205 | UUCAUUGUAAGCACUUUUACGGG | 206 |
| AD-392760 | ususgcu(Uhd)AfuGfAfCfaugaucgcuuL96 | 207 | asAfsgcga(Tgn)caugucAfuAfagcaasusg | 208 | CAUUGCUUAUGACAUGAUCGCUU | 209 |
| AD-392761 | csasagg(Ahd)UfcAfGfUfuacggaaacuL96 | 210 | asGfsuuuc(Cgn)guaacuGfaUfccuugsgsu | 211 | ACCAAGGAUCAGUUACGGAAACG | 212 |
| AD-392762 | asgsguu(Chd)UfgGfGfUfugacaaauauL96 | 213 | asUfsauuu(Ggn)ucaaccCfaGfaaccusgsg | 214 | CCAGGUUCUGGGUUGACAAAUAU | 215 |
| AD-392763 | asasgau(Ghd)UfgGfGfUfucaaacaaauL96 | 216 | asUfsuugu(Tgn)ugaaccCfaCfaucuuscsu | 217 | AGAAGAUGUGGGUUCAAACAAAG | 218 |

[0950]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392764 | csusgaa(Ghd)AfaGfAfAfacaguacacaL96 | 219 | usGfsugua(Cgn)uguuucUfuCfuucagscsa | 220 | UGCUGAAGAAGAAACAGUACACA | 221 |
| AD-392765 | asasguu(Ghd)GfaCfAfGfcaaaaccauuL96 | 222 | asAfsuggu(Tgn)uugcugUfcCfaacuuscsa | 223 | UGAAGUUGGACAGCAAAACCAUU | 224 |
| AD-392766 | asuscgg(Uhd)GfuCfCfAfuuuauagaauL96 | 225 | asUfsucua(Tgn)aaauggAfcAfccgausgsg | 226 | CCAUCGGUGUCCAUUUAUAGAAU | 227 |
| AD-392767 | uscsggu(Ghd)UfcCfAfUfuauagaauaL96 | 228 | usAfsuucu(Agn)uaaaugGfaCfaccgasusg | 229 | CAUCGGUGUCCAUUUAUAGAAUA | 230 |
| AD-392768 | gscsugu(Ahd)AfcAfCfAfaguagaugcuL96 | 231 | asGfscauc(Tgn)acuuguGfuUfacagcsasc | 232 | GUGCUGUAACACAAGUAGAUGCC | 233 |
| AD-392769 | asasgua(Ghd)AfuGfCfCfugaacuugaaL96 | 234 | usUfscaag(Tgn)ucaggcAfuCfuacuusgsu | 235 | ACAAGUAGAUGCCUGAACUUGAA | 236 |
| AD-392770 | ususgug(Ghd)UfuUfGfUfgacccaauuaL96 | 237 | usAfsauug(Ggn)gucacaAfaCfcacaasgsa | 238 | UCUUGUGGUUUGUGACCCAAUUA | 239 |
| AD-392771 | gsususg(Uhd)GfaCfCfCfaauuaagucuL96 | 240 | asGfsacuu(Agn)auugggUfcAfcaaacscsa | 241 | UGGUUUGUGACCCAAUUAAGUCC | 242 |
| AD-392772 | gsusgac(Chd)CfaAfUfUfaaguccuacuL96 | 243 | asGfsuagg(Agn)cuuaauUfgGfgucacsasa | 244 | UUGUGACCCAAUUAAGUCCUACU | 245 |
| AD-392773 | usasugc(Uhd)UfuAfAfGfaaucgaugguL96 | 246 | asCfscauc(Ggn)auucuuAfaAfgcauasusg | 247 | CAUAUGCUUUAAGAAUCGAUGGG | 248 |
| AD-392774 | ususugu(Ghd)AfuAfUfAfggaauuaagaL96 | 249 | usCfsuuaa(Tgn)uccuauAfuCfacaaasusa | 250 | UAUUUGUGAUAUAGGAAUUAAGA | 251 |
| AD-392775 | asasaga(Ahd)UfcCfCfUfguucauugaaL96 | 252 | usAfscaau(Ggn)aacaggGfaUfucuuususc | 253 | GAAAAGAAUCCCUGUUCAUUGUA | 254 |
| AD-392776 | usgsauu(Ghd)UfaCfAfGfaaucauugcuL96 | 255 | asGfscaau(Ggn)auucugUfaCfaaucasusc | 256 | GAUGAUUGUACAGAAUCAUUGCU | 257 |
| AD-392777 | usgsccu(Ghd)GfaCfAfAfacccuucuuuL96 | 258 | asAfsagaa(Ggn)gguuugUfcCfaggcasusg | 259 | CAUGCCUGGACAAACCCUUCUUU | 260 |
| AD-392778 | gsasgca(Ahd)AfaCfUfAfuucagaugauL96 | 261 | asUfscauc(Tgn)gaauagUfuUfugcucsusu | 262 | AAGAGCAAAACUAUUCAGAUGAC | 263 |
| AD-392779 | asgsuga(Ahd)CfcAfAfGfgaucaguuauL96 | 264 | asUfsaacu(Ggn)auccuuGfgUfucacusasa | 265 | UUAGUGAACCAAGGAUCAGUUAC | 266 |
| AD-392780 | usgsaac(Chd)AfaGfGfAfucaguuacguL96 | 267 | asCfsguaa(Cgn)ugauccUfuGfguucascsu | 268 | AGUGAACCAAGGAUCAGUUACGG | 269 |
| AD-392781 | csasguu(Ahd)CfgGfAfAfacgaugcucuL96 | 270 | asGfsagca(Tgn)cguuucCfgUfaacugsasu | 271 | AUCAGUUACGGAAACGAUGCUCU | 272 |
| AD-392782 | asgsaag(Ahd)UfgUfGfGfguucaaacaaL96 | 273 | usUfsguuu(Ggn)aacccaCfaUfcuucusgsc | 274 | GCAGAAGAUGUGGGUUCAAACAA | 275 |
| AD-392783 | cscsucu(Ghd)AfaGfUfUfggacagcaaaL96 | 276 | usUfsugcu(Ggn)uccaacUfuCfagaggscsu | 277 | AGCCUCUGAAGUUGGACAGCAAA | 278 |
| AD-392784 | ususaug(Ahd)UfuUfAfCfucauuaucguL96 | 279 | asCfsgaua(Agn)ugaguaAfaUfcauaasasa | 280 | UUUUAUGAUUUACUCAUUAUCGC | 281 |

[0951]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392785 | ascsagc(Uhd)GfuGfCfUfguaacacaauL96 | 282 | asUfsugug(Tgn)uacagcAfcAfgcuguscsa | 283 | UGACAGCUGUGCUGUAACACAAG | 284 |
| AD-392786 | usgsuga(Chd)CfcAfAfUfuaaguccuauL96 | 285 | asUfsagga(Cgn)uuaauuGfgGfucacasasa | 286 | UUUGUGACCCAAUUAAGUCCUAC | 287 |
| AD-392787 | usascau(Ahd)UfgCfUfUfuagaaucgaL96 | 288 | usCfsgauu(Cgn)uaaagCfaUfauguasasa | 289 | UUUACAUAUGCUUUAAGAAUCGA | 290 |
| AD-392788 | gsusaaa(Uhd)AfaAfUfAfcauucuuggaL96 | 291 | usCfscaag(Agn)auguauUfuAfuuuacsasu | 292 | AUGUAAAUAAAUACAUUCUUGGA | 293 |
| AD-392789 | uscsagu(Uhd)AfcGfGfAfaacgaugcuuL96 | 294 | asAfsgcau(Cgn)guuuccGfuAfacugasusc | 295 | GAUCAGUUACGGAAACGAUGCUC | 296 |
| AD-392790 | csusucc(Chd)GfuGfAfAfuggagaguuuL96 | 297 | asAfsacuc(Tgn)ccauucAfcGfggaagsgsa | 298 | UCCUUCCCGUGAAUGGAGAGUUC | 299 |
| AD-392791 | asgsuug(Ghd)AfcAfGfCfaaaaccauuuL96 | 300 | asAfsaugg(Tgn)uuugcuGfuCfcaacususc | 301 | GAAGUUGGACAGCAAAACCAUUG | 302 |
| AD-392792 | cscscau(Chd)GfgUfGfUfccauuuauauL96 | 303 | asUfsauaa(Agn)uggacaCfcGfaugggsusa | 304 | UACCCAUCGGUGUCCAUUUAUAG | 305 |
| AD-392793 | usgscac(Ahd)CfaUfUfAfggcauugagaL96 | 306 | usCfsucaa(Tgn)gccuaaUfgUfgugcascsa | 307 | UGUGCACACAUUAGGCAUUGAGA | 308 |
| AD-392794 | cscsaac(Ahd)UfgAfUfUfUfagugaaccaaL96 | 309 | usUfsgguu(Cgn)acuaauCfaUfguuggscsc | 310 | GGCCAACAUGAUUAGUGAACCAA | 311 |
| AD-392795 | asusgau(Uhd)AfgUfGfAfaccaaggauuL96 | 312 | asAfsuccu(Tgn)gguucaCfuAfaucausgsu | 313 | ACAUGAUUAGUGAACCAAGGAUC | 314 |
| AD-392796 | ususagu(Ghd)AfaCfCfAfaggaucaguuL96 | 315 | asAfscuga(Tgn)ccuuggUfuCfacuaasusc | 316 | GAUUAGUGAACCAAGGAUCAGUU | 317 |
| AD-392797 | asascca(Ahd)GfgAfUfCfaguuacggaaL96 | 318 | usUfsccgu(Agn)acugauCfcUfuggususcsa | 319 | UGAACCAAGGAUCAGUUACGGAA | 320 |
| AD-392798 | gsusuac(Ghd)GfaAfAfCfgaugcucucaL96 | 321 | usGfsagag(Cgn)aucguuUfcCfguaacsusg | 322 | CAGUUACGGAAACGAUGCUCUCA | 323 |
| AD-392799 | gsasugc(Ahd)GfaAfUfUfCfccgacaugauL96 | 324 | asUfscaug(Tgn)cggaauUfcUfgcaucscsa | 325 | UGGAUGCAGAAUUCCGACAUGAC | 326 |
| AD-392800 | ususgga(Chd)AfgCfAfCfAfaaccauugcuL96 | 327 | asGfscaau(Ggn)guuuugCfuGfuccaascsu | 328 | AGUUGGACAGCAAAACCAUUGCU | 329 |
| AD-392801 | asasacc(Ahd)UfuGfCfUfUfcacuacccaL96 | 330 | usGfsggua(Ggn)ugaagcAfaUfgguususg | 331 | CAAAACCAUUGCUUCACUACCCA | 332 |
| AD-392802 | cscsauc(Ghd)GfuGfUfCfCfcauuuauagaL96 | 333 | usCfsuaua(Agn)auggacAfcCfgauggsgsu | 334 | ACCCAUCGGUGUCCAUUUAUAGA | 335 |
| AD-392803 | ususauc(Ghd)CfcUfUfUfUfugacagcugaL96 | 336 | asCfsagcu(Ggn)ucaaaaGfgCfgauaasusg | 337 | CAUUAUCGCCUUUUGACAGCUGU | 338 |
| AD-392804 | asuscgc(Chd)UfuUfUfGfacagcugugaL96 | 339 | asCfsacag(Cgn)ugucaaAfaGfgcgausasa | 340 | UUAUCGCCUUUUGACAGCUGUGC | 341 |
| AD-392805 | ascsaca(Ahd)GfuAfGfAfUfugccugaacuL96 | 342 | asGfsuuca(Ggn)gcaucuAfcUfUfugugususa | 343 | UAACACAAGUAGAUGCCUGAACU | 344 |

[0952]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392806 | usgsugg(Uhd)UfuGfUfGfacccaauuaaL96 | 345 | usUfsaauu(Ggn)ggucacAfaAfccacasasg | 346 | CUGUGGUUUGUGACCCAAUUAA | 347 |
| AD-392807 | gsgsgau(Ghd)CfuUfCfAfugugaacguuL96 | 348 | asAfscguu(Cgn)acaugaAfgCfaucccscsc | 349 | GGGGGAUGCUUCAUGUGAACGUG | 350 |
| AD-392808 | usgsugc(Ahd)CfaCfAfUfuaggcauugaL96 | 351 | usCfsaaug(Cgn)cuaaugUfgUfgcacasusa | 352 | UAUGUGCACACAUUAGGCAUUGA | 353 |
| AD-392809 | asasaug(Ghd)AfaGfUfGfgcaauauaauL96 | 354 | asUfsuaua(Tgn)ugccacUfuCfcauuususc | 355 | GAAAAUGGAAGUGGCAAUAUAAG | 356 |
| AD-392810 | asusgga(Ahd)GfuGfGfCfaauauaagguL96 | 357 | asCfscuua(Tgn)auugccAfcUfuccaususu | 358 | AAAUGGAAGUGGCAAUAUAAGGG | 359 |
| AD-392811 | usgsccc(Ghd)AfgAfUfCfcuguuaaacuL96 | 360 | asGfsuuua(Agn)caggauCfuCfgggcasasg | 361 | CUUGCCCGAGAUCCUGUUAAACU | 362 |
| AD-392812 | asusuag(Uhd)GfaAfCfCfaaggaucaguL96 | 363 | asCfsugau(Cgn)cuugguUfcAfcuaauscsa | 364 | UGAUUAGUGAACCAAGGAUCAGU | 365 |
| AD-392813 | gsasacc(Ahd)AfgGfAfUfCfaguuacggaL96 | 366 | usCfscgua(Agn)cugauuCfuUfgguucsasc | 367 | GUGAACCAAGGAUCAGUUACGGA | 368 |
| AD-392814 | asasgga(Uhd)CfaGfUfUfUfacggaaacgaL96 | 369 | usCfsguuu(Cgn)cguaacUfgAfuccuusgsg | 370 | CCAAGGAUCAGUUACGGAAACGA | 371 |
| AD-392815 | csasaca(Chd)AfgAfAfAfacgaaguugaL96 | 372 | usCfsaacu(Tgn)cguuuuCfuGfguugusgsc | 373 | GCCAACACAGAAAACGAAGUUGA | 374 |
| AD-392816 | usgsggu(Uhd)CfaAfAfCfaaaggugcaaL96 | 375 | usUfsgcac(Cgn)uuuguUfgAfacccascsa | 376 | UGUGGGUUCAAACAAAGGUGCAA | 377 |
| AD-392817 | csasgug(Ahd)UfcGfUfCfaucaccuuguL96 | 378 | asCfsaagg(Tgn)gaugacGfaUfcacugsusc | 379 | GACAGUGAUCGUCAUCACCUUGG | 380 |
| AD-392818 | ascscca(Uhd)CfgGfUfGfuccauuuauaL96 | 381 | usAfsuaaa(Tgn)ggacacCfgAfugggusasg | 382 | CUACCCAUCCGGUGUCCAUUUAUA | 383 |
| AD-392819 | uscsuug(Uhd)GfgUfUfUfUfgugacccaauL96 | 384 | asUfsuggg(Tgn)cacaaaCfcAfcaagasasu | 385 | AUUCUUGUGGUUUGUGACCCAAU | 386 |
| AD-392820 | ususugu(Ghd)AfcCfCfAfauuaaguccuL96 | 387 | asGfsgacu(Tgn)aauuggGfuCfacaaascsc | 388 | GGUUUGUGACCCAAUUAAGUCCU | 389 |
| AD-392821 | ususgug(Ahd)CfcCfAfAfuuaaguccuaL96 | 390 | usAfsggac(Tgn)uaauugGfgUfcacaasasc | 391 | GUUUGUGACCCAAUUAAGUCCUA | 392 |
| AD-392822 | ususcag(Ahd)UfgAfCfGfucuuggccaaL96 | 393 | usUfsggcc(Agn)agacguCfaUfcugaasusa | 394 | UAUUCAGAUGACGUCUUGGCCAA | 395 |
| AD-392823 | asuscag(Uhd)UfaCfGfGfaaacgaugcuL96 | 396 | asGfscauc(Ggn)uuuccgUfaAfcugauscsc | 397 | GGAUCAGUUACGGAAACGAUGCU | 398 |
| AD-392824 | usgsgau(Ghd)CfaGfAfAfuuccgacauuL96 | 399 | asAfsuguc(Ggn)gaauucUfgCfauccasusc | 400 | GAUGGAUGCAGAAUUCCGACAUG | 401 |
| AD-392825 | gsuscca(Ahd)GfaUfGfCfCfagcagaacguL96 | 402 | asCfsguuc(Tgn)gcugcaUfcUfuggacsasg | 403 | CUGUCCAAGAUGCAGCAGAACGG | 404 |
| AD-392826 | usasccc(Ahd)UfcGfGfUfguccauuuauL96 | 405 | asUfsaaau(Ggn)gacaccGfaUfggguasgsu | 406 | ACUACCCAUCCGGUGUCCAUUUAU | 407 |

[0953]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392827 | usususug(Ahd)CfaGfCfUfgugcuguaauL96 | 408 | asUfsuaca(Ggn)cacagcUfgUfcaaaasgsg | 409 | CCUUUUGACAGCUGUGCUGCUGUAAC | 410 |
| AD-392828 | ususgac(Ahd)GfcUfGfUfgcuguaacauL96 | 411 | asUfsguua(Cgn)agcacaGfcUfgucaasasa | 412 | UUUUGACAGCUGUGCUGUAACAC | 413 |
| AD-392829 | asgscug(Uhd)GfcUfGfUfaacacaaguaL96 | 414 | usAfscuug(Tgn)guuacaGfcAfcagcusgsu | 415 | ACAGCUGUGCUGUAACACAAGUA | 416 |
| AD-392830 | gsususuu(Ahd)UfgUfGfCfcacacauuagL96 | 417 | asCfsuaau(Ggn)ugugcaCfaUfaaaacsasg | 418 | CUGUUUUAUGUGCACACAUUAGG | 419 |
| AD-392831 | ususcaa(Uhd)UfaCfCfAfagaauucucuL96 | 420 | asGfsagaa(Tgn)ucuuggUfaAfuugaagsga | 421 | UCUUCAAUUACCAAGAAUUCUCC | 422 |
| AD-392832 | csascac(Ahd)UfcAfGfUfaauguauuucuL96 | 423 | asGfsaaua(Cgn)auuacuGfaUfgugugsgsa | 424 | UCCACACAUCAGUAAUGUAUUCU | 425 |
| AD-392833 | usgsguc(Uhd)CfuAfUfAfcuacauuauuL96 | 426 | asAfsuaau(Ggn)uaguauAfgAfgaccasasa | 427 | UUUGGUCUCUAUACUACAUUAUU | 428 |
| AD-392834 | ascscccg(Uhd)UfuUfAfUfgauuuacucaL96 | 429 | usGfsagua(Agn)aucauaAfaAfcgggususu | 430 | AAACCCGUUUUAUGAUUUACUCA | 431 |
| AD-392835 | usascga(Ahd)AfaUfCfCfaaccuacaauL96 | 432 | asUfsugua(Ggn)guuggaUfuUfucguasgsc | 433 | GCUACGAAAAUCCAACCUACAAG | 434 |
| AD-392836 | uscscac(Ahd)CfaUfCfAfguaauguauuL96 | 435 | asAfsuaca(Tgn)uacugaUfgUfguggasusu | 436 | AAUCCACACAUCAGUAAUGUAUU | 437 |
| AD-392837 | csusggu(Chd)UfuCfAfAfuuaccaagaaL96 | 438 | usUfscuug(Ggn)uaauugAfaGfaccagscsa | 439 | UGCUGGUCUUCAAUUACCAAGAA | 440 |
| AD-392838 | gscscau(Chd)UfuUfGfAfccgaaacgaaL96 | 441 | usUfscguu(Tgn)cggucaAfaGfauggcsasu | 442 | AUGCCAUCUUUGACCGAAACGAA | 443 |
| AD-392839 | cscsauc(Uhd)UfuGfAfCfcgaaacgaaaL96 | 444 | usUfsucgu(Tgn)ucggucAfaAfgauggscsa | 445 | UGCCAUCUUUGACCGAAACGAAA | 446 |
| AD-392840 | csusacg(Ahd)AfaAfUfCfcaaccuacaaL96 | 447 | usUfsguag(Ggn)uuggauUfuUfcguagscsc | 448 | GGCUACGAAAAUCCAACCUACAA | 449 |
| AD-392841 | asuscca(Chd)AfcAfUfCfCfaguaauguauL96 | 450 | asUfsacau(Tgn)acugauGfuGfuggaususa | 451 | UAAUCCACACAUCAGUAAUGUAU | 452 |
| AD-392842 | csasugc(Chd)AfuCfUfUfUfugaccgaaauL96 | 453 | asUfsuucg(Ggn)ucaaagAfuGfgcaugsasg | 454 | CUCAUGCCAUCUUUGACCGAAAC | 455 |
| AD-392843 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfUfccaaccuauuL96 | 456 | asUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 457 | ACGGCUACGAAAAUCCAACCUAC | 458 |
| AD-392844 | uscsaug(Chd)CfaUfCfUfUfuugaccgaaaL96 | 459 | usUfsucgg(Tgn)caaagaUfgGfcaugasgsa | 460 | UCUCAUGCCAUCUUUGACCGAAA | 461 |
| AD-392845 | csasgua(Chd)AfcAfUfCfCfcauucaucauL96 | 462 | asUfsgaug(Agn)augguGfuGfuacugsusu | 463 | AACAGUACACAUCCAUUCAUCAU | 464 |
| AD-392846 | asascgg(Chd)UfaCfGfAfaaauccaacuL96 | 465 | asGfsuugg(Agn)uuuucgUfaGfccguuscsu | 466 | AGAACGGCUACGAAAAUCCAACC | 467 |
| AD-392847 | gsasagu(Uhd)UfcAfUfUfUfuaugauacaaL96 | 468 | usUfsguau(Cgn)auaaauGfaAfacuucsasg | 469 | CUGAAGUUCAUUUAUGAUACAA | 470 |

[0954]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392848 | asusgcc(Ahd)UfcUfUfUfgaccgaaacuL96 | 471 | asGfsuuuc(Ggn)gucaaaGfaUfggcausgsa | 472 | UCAUGCCAUCUUUGACCGAAACG | 473 |
| AD-392849 | gsasacg(Ghd)CfuAfCfGfaaaauccaauL96 | 474 | asUfsugga(Tgn)uuucguAfgCfcguucsusg | 475 | CAGAACGGCUACGAAAAUCCAAC | 476 |
| AD-392850 | uscsuuc(Ghd)UfgCfCfUfguuuauguuL96 | 477 | asAfscaua(Agn)aacaggCfaCfgaagasasa | 478 | UUUCUUCGUGCCUGUUUAUGUG | 479 |
| AD-392851 | ususgcc(Chd)GfaGfAfUfccuguuaaauL96 | 480 | asUfsuuaa(Cgn)aggaucUfcGfggcaasgsa | 481 | UCUUGCCCGAGAUCCUGUUAAAC | 482 |
| AD-392852 | csusucg(Uhd)GfcCfUfGfuuuaugugUL96 | 483 | asCfsacau(Agn)aaacagGfcAfcgaagsasa | 484 | UUCUUCGUGCCUGUUUAUGUGC | 485 |
| AD-392853 | gscsgcc(Ahd)UfgUfCfCfcaaaguuuauL96 | 486 | asUfsaaac(Tgn)uugggaCfaUfggcgcsusg | 487 | CAGCGCCAUGUCCCAAAGUUUAC | 488 |
| AD-392854 | gsuscau(Ahd)GfcGfAfCfagugaucguuL96 | 489 | asAfscgau(Cgn)acugucGfcUfaugacsasa | 490 | UUGUCAUAGCGACAGUGAUCGUC | 491 |
| AD-392855 | gscsuac(Ghd)AfaAfAfUfccaaccuacaL96 | 492 | usGfsuagg(Tgn)uggauuUfuCfguagcscsg | 493 | CGGCUACGAAAAUCCAACCUACA | 494 |
| AD-392856 | asusagc(Ghd)AfcAfGfUfgaucgucauuL96 | 495 | asAfsugac(Ggn)aucacuGfuCfgcuausgsa | 496 | UCAUAGCGACAGUGAUCGUCAUC | 497 |
| AD-392857 | csusugc(Chd)CfgAfGfAfuccuguuaaaL96 | 498 | usUfsuaac(Agn)ggaucuCfgGfgcaagsasg | 499 | CUCUUGCCCGAGAUCCUGUUAAA | 500 |
| AD-392858 | csuscau(Ghd)CfcAfUfCfcuuugaccgaaL96 | 501 | usUfscggu(Cgn)aaagauGfgCfaugagsasg | 502 | CUCUCAUGCCAUCUUUGACCGAA | 503 |
| AD-392859 | ascsggc(Uhd)AfcGfAfAfaauccaaccuL96 | 504 | asGfsguug(Ggn)auuuucGfuAfgccgususc | 505 | GAACGGCUACGAAAAUCCAACCU | 506 |
| AD-392860 | csasuca(Ahd)AfaAfUfUfgguguucuuuL96 | 507 | asAfsagaa(Cgn)accaauUfuUfugaugsasu | 508 | AUCAUCAAAAAUGGUGUUCUUU | 509 |
| AD-392861 | asuscca(Ahd)CfcUfAfCfaaguucuuugL96 | 510 | csAfsaaga(Agn)cuuguaGfgUfuggaususu | 511 | AAAUCCAACCUACAAGUUCUUUG | 512 |
| AD-392862 | csgscuu(Uhd)CfuAfCfAfcuguauuacaL96 | 513 | usGfsuaau(Agn)caguguAfgAfaagcgsasu | 514 | AUCGCUUUCUACACUGUAUUACA | 515 |
| AD-392863 | uscscaa(Chd)CfuAfCfAfaguucuuugaL96 | 516 | usCfsaaag(Agn)acuuguAfgGfuuggasusu | 517 | AAUCCAACCUACAAGUUCUUUGA | 518 |
| AD-392864 | uscsucu(Chd)UfuUfAfCfauuuggucuL96 | 519 | asGfsacca(Agn)aauguaAfaGfagagasusa | 520 | UAUCUCUCUUUACAUUUUGGUCU | 521 |
| AD-392865 | csuscuc(Uhd)UfuAfCfAfuuuggucuuL96 | 522 | asAfsgacc(Agn)aaauguAfaAfgagagsasu | 523 | AUCUCUCUUUACAUUUUGGUCUC | 524 |
| AD-392866 | ususugu(Ghd)UfaCfUfGfuaaagaauuuL96 | 525 | asAfsauuc(Tgn)uuacagUfaCfacaaasasc | 526 | GUUUUGUGUACUGUAAAGAAUUU | 527 |
| AD-392867 | gsusgua(Chd)UfgUfAfAfagaauuuagUL96 | 528 | asCfsuaaa(Tgn)ucuuuaCfaGfuacacsasa | 529 | UUGUGUACUGUAAAGAAUUUAGC | 530 |
| AD-392868 | ascscca(Ahd)UfuAfAfGfucuacuuuaL96 | 531 | usAfsaagu(Agn)ggacuuAfaUfuggguscsa | 532 | UGACCCAAUUAAGUCCUACUUUA | 533 |

[0955]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392869 | uscscua(Chd)UfuUfAfCfauaugcuuuaL96 | 534 | usAfsaagc(Agn)uauguaAfaGfuaggascsu | 535 | AGUCCUACUUUACAUAUGCUUUA | 536 |
| AD-392870 | cscsuac(Uhd)UfuAfCfAfuaugcuuuaaL96 | 537 | usUfsaaag(Cgn)auauguAfaAfguaggsasc | 538 | GUCCUACUUUACAUAUGCUUUAA | 539 |
| AD-392871 | ususcua(Chd)AfcUfGfUfUfauuacauaaaL96 | 540 | usUfsuaug(Tgn)aauacaGfuGfuagaasasg | 541 | CUUUCUACACUGUAUUACAUAAA | 542 |
| AD-392872 | uscsuac(Ahd)CfuGfUfAfuuacauaaauL96 | 543 | asUfsuuau(Ggn)uaauacAfgUfguagasasa | 544 | UUUCUACACUGUAUUACAUAAAU | 545 |
| AD-392873 | csususuu(Ahd)AfgAfUfGfugucuucaauL96 | 546 | asUfsugaa(Ggn)acacauCfuUfaaaagsasa | 547 | UUCUUUUAAGAUGUGUCUUCAAU | 548 |
| AD-392874 | asusgug(Uhd)CfuUfCfAfauuguauaaL96 | 549 | usUfsauac(Agn)aauugaAfgAfcacauscsu | 550 | AGAUGUGUCUUCAAUUGUAUAA | 551 |
| AD-392875 | asuscaa(Ahd)AfaUfUfGfguguucuuugL96 | 552 | csAfsaaga(Agn)caccaaUfuUfuugausgsa | 553 | UCAUCAAAAAUUGGUGUUCUUUG | 554 |
| AD-392876 | asasauc(Chd)AfaCfCfUfacaaguucuuL96 | 555 | asAfsgaac(Tgn)uguaggUfuGfgauuususc | 556 | GAAAAUCCAACCUACAAGUUCUU | 557 |
| AD-392877 | gsusacu(Ghd)UfaAfAfGfaauuuagcuuL96 | 558 | asAfsgcua(Agn)auucuuUfaCfaguacsasc | 559 | GUGUACUGUAAAGAAUUUAGCUG | 560 |
| AD-392878 | csusccu(Ghd)AfuUfAfUfuuaucacauaL96 | 561 | usAfsugug(Agn)uaaauaAfuCfaggagsasg | 562 | CUCUCCUGAUUAUUUAUCACAUA | 563 |
| AD-392879 | gscscag(Uhd)UfgUfAfUfauuauucuuuL96 | 564 | asAfsagaa(Tgn)aauauaCfaAfcuggcsusa | 565 | UAGCCAGUGUAUAUUAUUCUUG | 566 |
| AD-392880 | asasuua(Ahd)GfuCfCfUfacuuacauaL96 | 567 | usAfsugua(Agn)aguaggAfcUfuaauusgsg | 568 | CCAAUUAAGUCCUACUUUACAUA | 569 |
| AD-392881 | csusugc(Chd)UfaAfGfUfauccuuucuL96 | 570 | asGfsaaag(Ggn)aauacuUfaGfgcaagsasg | 571 | CUCUUGCCUAAGUAUUCCUUUCC | 572 |
| AD-392882 | asusucc(Uhd)UfuCfCfUfgaucacuauuL96 | 573 | asAfsuagu(Ggn)aucaggAfaAfggaausasc | 574 | GUAUUCCUUUCCUGAUCACUAUG | 575 |
| AD-392883 | ascsuau(Ghd)CfaUfUfUfuaaaguuaaaL96 | 576 | usUfsuaac(Tgn)uuaaaaUfgCfauagusgsa | 577 | UCACUAUGCAUUUUAAAGUUAAA | 578 |
| AD-392884 | usgsuuc(Ahd)UfuGfUfAfagcacuuuuaL96 | 579 | usAfsaaag(Tgn)gcuuacAfaUfgaacasgsg | 580 | CCUGUUCAUUGUAAGCACUUUUA | 581 |
| AD-392885 | asasuua(Chd)CfaAfGfAfauucuccaaaL96 | 582 | usUfsugga(Ggn)aauucuUfgGfuaauusgsa | 583 | UCAAUUACCAAGAAUUCUCCAAA | 584 |
| AD-392886 | ususacc(Ahd)AfgAfAfUfucuccaaaauL96 | 585 | asUfsuuug(Ggn)agaauuCfuUfgguaasusu | 586 | AAUUACCAAGAAUUCUCCAAAAC | 587 |
| AD-392887 | uscsauu(Ghd)CfuUfAfUfgacaugaucuL96 | 588 | asGfsauca(Tgn)gucauaAfgCfaaugasusu | 589 | AAUCAUUGCUUAUGACAUGAUCG | 590 |
| AD-392889 | ususuua(Ahd)GfaUfGfUfgucuucaauuL96 | 591 | asAfsuuga(Agn)gacacaUfcUfuaaaasgsa | 592 | UCUUUUAAGAUGUGUCUUCAAUU | 593 |
| AD-392890 | asusccu(Ghd)UfuAfAfAfcuuccuacaaL96 | 594 | usUfsguag(Ggn)aaguuuAfaCfaggauscsu | 595 | AGAUCCUGUUAAACUUCCUACAA | 596 |

[0956]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392891 | ascsuau(Uhd)CfaGfAfUfgacgucuugUL96 | 597 | asCfsaaga(Cgn)gucaucUfgAfauagususu | 598 | AAACUAUUCAGAUGACGUCUUGG | 599 |
| AD-392892 | gsususca(Uhd)CfaUfCfAfaaaauugguuL96 | 600 | asAfsccaa(Tgn)uuuugaUfgAfugaacsusu | 601 | AAGUUCAUCAUCAAAAUUGGUG | 602 |
| AD-392893 | usasucu(Chd)UfcUfUfUfUfacauuuuggUL96 | 603 | asCfscaaa(Agn)uguaaaGfaGfagauasgsa | 604 | UCUAUCUCUCUUUACAUUUUGGU | 605 |
| AD-392894 | asuscuc(Uhd)CfuUfUfAfCfauuuuggUuL96 | 606 | asAfsccaa(Agn)auguaaAfgAfgagausasg | 607 | CUAUCUCUCUUUACAUUUUGGUC | 608 |
| AD-392895 | usgsugu(Ahd)CfuGfUfAfaagaauuuauL96 | 609 | asUfsaaau(Tgn)cuuuacAfgUfacacasasa | 610 | UUUGUGUACUGUAAAGAAUUUAG | 611 |
| AD-392896 | csusacu(Uhd)UfaCfAfUfaugcuuuaaauL96 | 612 | asUfsuaaa(Ggn)cauaugUfaAfaguagsgsa | 613 | UCCUACUUUACAUAUGCUUUAAG | 614 |
| AD-392897 | usgsccu(Ahd)AfgUfAfUfUfuccuuuccuuL96 | 615 | asAfsggaa(Agn)ggaauaCfuUfaggcasasg | 616 | CUUGCCUAAGUAUUCCUUUCCUG | 617 |
| AD-392898 | asasgua(Uhd)UfcCfUfUfUfuccugaucauL96 | 618 | asUfsgauc(Agn)ggaaagGfaAfuacuusasg | 619 | CUAAGUAUUCCUUUCCUGAUCAC | 620 |
| AD-392899 | gsusauu(Chd)CfuUfUfCfCfcugaucacuaL96 | 621 | usAfsguga(Tgn)caggaaAfgGfaauacsusu | 622 | AAGUAUUCCUUUCCUGAUCACUA | 623 |
| AD-392900 | ususccu(Ghd)AfuCfAfCfUfuaugcauuuuL96 | 624 | asAfsaaug(Cgn)auagugAfuCfaggaasasg | 625 | CUUUCCUGAUCACUAUGCAUUUU | 626 |
| AD-392901 | csusgau(Chd)AfcUfAfUfUfgcauuuuaaaL96 | 627 | usUfsuaaa(Agn)ugcauaGfuGfaucagsgsa | 628 | UCCUGAUCACUAUGCAUUUUAAA | 629 |
| AD-392902 | csascgu(Ahd)UfcUfUfUfUfggucuuugaL96 | 630 | usCfsaaag(Agn)cccaaaGfaUfacgugsgsa | 631 | UCCACGUAUCUUUGGGUCUUUGA | 632 |
| AD-392903 | usgsggu(Chd)UfuUfGfAfUfuaaagaaaauL96 | 633 | asUfsuuuc(Tgn)uuaucaAfaGfacccasasa | 634 | UUUGGGUCUUUGAUAAAGAAAAG | 635 |
| AD-392904 | uscsaau(Uhd)AfcCfAfAfUfgaauucuccaL96 | 636 | usGfsgaga(Agn)uucuugGfuAfauugasasg | 637 | CUUCAAUUACCAAGAAUUCUCCA | 638 |
| AD-392906 | uscsgcu(Uhd)UfcUfAfCfUfacuguauuauL96 | 639 | asUfsaaua(Cgn)aguguaGfaAfagcgasusc | 640 | GAUCGCUUUCUACACUGUAUUAC | 641 |
| AD-392907 | asususu(Chd)UfuUfAfAfUfccagucugaaL96 | 642 | usUfscaga(Cgn)ugguuaAfaGfaaaaususg | 643 | CAAUUUUCUUUAACCAGUCUGAA | 644 |
| AD-392908 | csususua(Ahd)CfcAfGfUfUfcugaaguuucL96 | 645 | gsAfsaacu(Tgn)cagacuGfgUfuaaagsasa | 646 | UUCUUUAACCAGUCUGAAGUUUC | 647 |
| AD-392909 | usasaga(Uhd)GfuGfUfCfUfuucaauuugUL96 | 648 | asCfsaaau(Tgn)gaagacAfcAfucuuasasa | 649 | UUUAAGAUGUGUCUUCAAUUUGU | 650 |
| AD-392910 | gsasucc(Uhd)GfuUfAfAfUfacuuccuacaL96 | 651 | usGfsuagg(Agn)aguuuaAfcAfggaucsusc | 652 | GACAUCCUGUUAAACUUCCUACA | 653 |
| AD-392911 | csusgcu(Uhd)CfaGfAfAfUfagagcaaaauL96 | 654 | asUfsuuug(Cgn)ucuuucUfgAfagcagscsu | 655 | AGCUGCUUCAGAAAGAGCAAAAC | 656 |
| AD-392912 | csasgaa(Ahd)GfaGfCfAfUfaaacuauucaL96 | 657 | usGfsaaua(Ggn)uuuugcUfcUfuucugsasa | 658 | UUCAGAAAGAGCAAAACUAUUCA | 659 |

[0957]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392913 | usasuga(Ahd)GfuUfCfAfucaucaaaaaL96 | 660 | usUfsuuug(Agn)ugaugaAfcUfucauasusc | 661 | GAUAUGAAGUUCAUCAUCAAAAA | 662 |
| AD-392914 | csasuca(Uhd)CfaAfAfAfaugguguuuL96 | 663 | asAfsacac(Cgn)aauuuuUfgAfugaugsasa | 664 | UUCAUCAUCAAAAAUUGGUGUUC | 665 |
| AD-392915 | uscsaaa(Ahd)AfuUfGfGfuguucuuugUL96 | 666 | asCfsaaag(Agn)acaccaAfuUfuuugasusg | 667 | CAUCAAAAAUUGGUGUUCUUUGC | 668 |
| AD-392916 | asasaau(Chd)CfaAfCfCfuacaaguucUL96 | 669 | asGfsaacu(Tgn)guagguUfgGfauuuuscsg | 670 | CGAAAAUCCAACCUACAAGUUCU | 671 |
| AD-392917 | cscsaac(Chd)UfaCfAfAfguucuuugaaUL96 | 672 | asUfscaaa(Ggn)aacuugUfaGfguuggsasu | 673 | AUCCAACCUACAAGUUCUUUGAG | 674 |
| AD-392918 | ascsuca(Uhd)UfaUfCfGfccuuuugacaL96 | 675 | usGfsucaa(Agn)aggcgaUfaAfugagusasa | 676 | UUACUCAUUAUCGCCUUUUGACA | 677 |
| AD-392919 | csuscau(Uhd)AfuCfGfCfcuuuugacauL96 | 678 | asUfsguca(Agn)aaggcgAfuAfaugagsusa | 679 | UACUCAUUAUCGCCUUUUGACAG | 680 |
| AD-392920 | usgsugc(Uhd)GfuAfAfCfacaaguagauL96 | 681 | asUfscuac(Tgn)uguguuAfcAfgcacasgsc | 682 | GCUGUGCUGUAACACAAGUAGAU | 683 |
| AD-392921 | gsusgcu(Ghd)UfaAfCfAfcaaguagauuL96 | 684 | asAfsucua(Cgn)uuguguUfaCfagcacsasg | 685 | CUGUGCUGUAACACAAGUAGAUG | 686 |
| AD-392922 | uscsuuu(Ahd)CfaUfUfUfuggucucuauL96 | 687 | asUfsagag(Agn)ccaaaaUfgUfaaagasgsa | 688 | UCUCUUUACAUUUUGGUCUCUAU | 689 |
| AD-392923 | asusggg(Uhd)UfuUfGfUfguacuguaaaL96 | 690 | usUfsuaca(Ggn)uacacaAfaAfcccauususa | 691 | UAAUGGGUUUUGUGUACUGUAAA | 692 |
| AD-392924 | ususgug(Uhd)AfcUfGfUfaaagaauuuaL96 | 693 | usAfsaauu(Cgn)uuuacaGfuAfcacaasasa | 694 | UUUUGUGUACUGUAAAGAAUUUA | 695 |
| AD-392925 | gscsugu(Ahd)UfcAfAfAfcuagugcauuL96 | 696 | asAfsugca(Cgn)uaguuuGfaUfacagcsusa | 697 | UAGCUGUAUCAAACUAGUGCAUG | 698 |
| AD-392926 | csusagu(Ghd)CfaUfGfAfauagauucuuL96 | 699 | asAfsgaau(Cgn)uauucaUfgCfacuagsusu | 700 | AACUAGUGCAUGAAUAGAUUCUC | 701 |
| AD-392927 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucuL96 | 702 | asGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 703 | ACUAGUGCAUGAAUAGAUUCUCU | 704 |
| AD-392928 | csuscuc(Chd)UfgAfUfUfUfauuuaucacaL96 | 705 | usGfsugau(Agn)aauaaauCfaGfgagagsasa | 706 | UUCUCUCCUGAUUAUUUAUCACA | 707 |
| AD-392929 | cscsuga(Uhd)UfaUfUfUfUfaucacauagUL96 | 708 | asCfsuaug(Tgn)gauaaaUfaAfucaggsasg | 709 | CUCCUGAUUAUUUAUCACAUAGC | 710 |
| AD-392930 | usasagu(Chd)CfuAfCfUfUfuacauaugUL96 | 711 | asCfsauau(Ggn)uaaaguAfgGfacuuasasu | 712 | AUUAAGUCCUACUUUACAUAUGC | 713 |
| AD-392931 | asgsucc(Uhd)AfcUfUfUfUfacauaugccuUL96 | 714 | asAfsgcau(Agn)uguaaaGfuAfggacususa | 715 | UAAGUCCUACUUUACAUAUGCUU | 716 |
| AD-392932 | gsusccu(Ahd)CfuUfUfAfcauaugcuuuL96 | 717 | asAfsagca(Tgn)auguaaAfgUfaggacsusu | 718 | AAGUCCUACUUUACAUAUGCUUU | 719 |
| AD-392933 | ususcuc(Uhd)UfgCfCfUfaaguauuccuL96 | 720 | asGfsgaau(Agn)cuuaggCfaAfgagaasgsc | 721 | GCUUCUCUUGCCUAAGUAUUCCU | 722 |

[0958]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392934 | csuscuu(Ghd)CfcUfAfAfAfguauuccuuuL96 | 723 | asAfsagga(Agn)uacuuaGfgCfaagagsasa | 724 | UUCUCUUGCCUAAGUAUUCCUUU | 725 |
| AD-392935 | usasuuc(Chd)UfuUfCfCfCfugaucacuauL96 | 726 | asUfsagug(Agn)ucaggaAfaGfgaauascsu | 727 | AGUAUUCCUUUCCUGAUCACUAU | 728 |
| AD-392936 | ususucc(Uhd)GfaUfCfAfCfuaugcauuuL96 | 729 | asAfsaugc(Agn)uagugaUfcAfggaaasgsg | 730 | CCUUUCCUGAUCACUAUGCAUUU | 731 |
| AD-392937 | csascua(Uhd)GfcAfUfUfUfuaaaguuaaL96 | 732 | usUfsaacu(Tgn)uaaaauGfcAfuagugsasu | 733 | AUCACUAUGCAUUUUAAAGUUAA | 734 |
| AD-392938 | csusgca(Uhd)UfuUfAfCfCfuguacagauuL96 | 735 | asAfsucug(Tgn)acaguaAfaAfugcagsusc | 736 | GACUGCAUUUUACUGUACAGAUU | 737 |
| AD-392939 | ususcug(Chd)UfaUfAfUfUfuugugauauaL96 | 738 | usAfsuauc(Agn)caaauaUfaGfcagaasgsc | 739 | GCUUCUGCUAUAUUUGUGAUAUA | 740 |
| AD-392940 | uscsugc(Uhd)AfuAfUfUfUfugugauauauL96 | 741 | asUfsauau(Cgn)acaaauAfuAfgcagasasg | 742 | CUUCUGCUAUAUUUGUGAUAUAG | 743 |
| AD-392941 | ascsgua(Uhd)CfuUfUfGfgucuuugauL96 | 744 | asUfscaaa(Ggn)acccaaAfgAfuacgusgsg | 745 | CCACGUAUCUUUGGGUCUUUGAU | 746 |
| AD-392942 | uscsuuu(Ghd)GfgUfCfUfuugauaaagaL96 | 747 | usCfsuuua(Tgn)caaagaCfcCfaaagasusa | 748 | UAUCUUUGGGUCUUUGAUAAAGA | 749 |
| AD-392943 | csususg(Ghd)GfuCfUfUfUfugauaaagaaL96 | 750 | usUfscuuu(Agn)ucaaagAfcCfcaagsasu | 751 | AUCUUUGGGUCUUUGAUAAAGAA | 752 |
| AD-392944 | ususggg(Uhd)CfuUfUfGfauaaagaaaaL96 | 753 | usUfsuucu(Tgn)uaucaaAfgAfcccaasasg | 754 | CUUUGGGUCUUUGAUAAAGAAAA | 755 |
| AD-392945 | asgsaau(Chd)CfcUfGfUfUfucauuguaauL96 | 756 | asUfsuaca(Agn)ugaacaGfgGfauucususu | 757 | AAAGAAUCCCUGUUCAUUGUAAG | 758 |
| AD-392946 | gsasauc(Chd)CfuGfUfUfUfcauuguaaguL96 | 759 | asCfsuuac(Agn)augaacAfgGfgauucsusu | 760 | AAGAAUCCCUGUUCAUUGUAAGC | 761 |
| AD-392947 | gsusuca(Uhd)UfgUfAfAfAfgcacuuuuauL96 | 762 | asUfsaaaa(Ggn)ugcuuaCfaAfugaacsasg | 763 | CUGUUCAUUGUAAGCACUUUUAC | 764 |
| AD-392948 | ususaug(Ahd)CfaUfGfAfUfcgcuuucuaL96 | 765 | usAfsgaaa(Ggn)cgaucaUfgUfcauaasgsc | 766 | GCUUAUGACAUGAUCGCUUUCUA | 767 |
| AD-392949 | asusgac(Ahd)UfgAfUfCfCfgcuuucuacaL96 | 768 | usGfsuaga(Agn)agcgauCfaUfgucausasa | 769 | UUAUGACAUGAUCGCUUUCUACA | 770 |
| AD-392950 | csasuga(Uhd)CfgCfUfUfUfucuacacugL96 | 771 | asCfsagug(Tgn)agaaagCfgAfucaugsusc | 772 | GACAUGAUCGCUUUCUACACUGU | 773 |
| AD-392951 | csususc(Uhd)AfcAfCfUfUfguauuacaaL96 | 774 | usAfsugua(Agn)uacaguGfuAfgaaagscsg | 775 | CGCUUUCUACACUGUAUUACAUA | 776 |
| AD-392952 | gsasuuc(Ahd)AfuUfUfUfCfcuuuaaccaL96 | 777 | asUfsgguu(Agn)aagaaaAfuUfgaaucsusg | 778 | CAGAUUCAAUUUUCUUUAACCAG | 779 |
| AD-392953 | ususucu(Uhd)UfaAfCfCfCfagucugaaguL96 | 780 | asCfsuuca(Ggn)acuggUfuAfagaaasasu | 781 | AUUUUCUUUAACCAGUCUGAAGU | 782 |
| AD-392954 | ususuaa(Ghd)AfuGfUfGfUfcucuucaauuuL96 | 783 | asAfsauug(Agn)agacacAfuCfuuaaasasg | 784 | CUUUUAAGAUGUGUCUUCAAUUU | 785 |

[0959]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392955 | ususaag(Ahd)UfgUfGfUfcuucaauuugL96 | 786 | csAfsaauu(Ggn)aagacaCfaUfcuuaasasa | 787 | UUUUAAGAUGUGUCUUCAAUUUG | 788 |
| AD-392956 | asgsaug(Uhd)GfuCfUfUfcaauuuguauL96 | 789 | asUfsacaa(Agn)uugaagAfcAfcaucususa | 790 | UAAGAUGUGUCUUCAAUUUGUAU | 791 |
| AD-392957 | usgsucu(Uhd)CfaAfUfUfuguauaaaauL96 | 792 | asUfsuuua(Tgn)acaaauUfgAfagacascsa | 793 | UGUGUCUUCAAUUUGUAUAAAAU | 794 |
| AD-392958 | csususca(Ahd)UfuUfGfUfauaaaauggL96 | 795 | asCfscauu(Tgn)uauacaAfaUfugaagsasc | 796 | GUCUUCAAUUUGUAUAAAAUGGU | 797 |
| AD-392959 | asusggu(Ghd)UfuUfUfCfauguaaauaaL96 | 798 | usUfsauuu(Agn)caugaaAfaCfaccaususu | 799 | AAAUGGUGUUUUCAUGUAAAUAA | 800 |
| AD-392960 | ususcuu(Uhd)UfaAfGfAfugugucuucaL96 | 801 | usGfsaaga(Cgn)acaucuUfaAfaagaasgsg | 802 | CCUUCUUUUAAGAUGUGUCUUCA | 803 |
| AD-392961 | usgsuau(Uhd)CfuAfUfCfucucuuuacaL96 | 804 | usGfsuaaa(Ggn)agagauAfgAfauacasusu | 805 | AAUGUAUUCUAUCUCUCUUUACA | 806 |
| AD-392962 | gsuscuc(Uhd)AfuAfCfUfacauuauuaaL96 | 807 | usUfsaaua(Agn)uguaguAfuAfgagacscsa | 808 | UGGUCUCUAUACUACAUUAUUAA | 809 |
| AD-392963 | uscsucu(Ahd)UfaCfUfAfcauuauuaauL96 | 810 | asUfsuaau(Agn)auguagUfaUfagagascsc | 811 | GGUCUCUAUACUACAUUAUUAAU | 812 |
| AD-392964 | csuscua(Uhd)AfcUfAfCfauuauuaauuL96 | 813 | asAfsuuaa(Tgn)aauguaGfuAfuagagsasc | 814 | GUCUCUAUACUACAUUAUUAAUG | 815 |
| AD-392965 | csusuca(Ahd)UfuAfCfCfaagaauucuuL96 | 816 | asAfsgaau(Tgn)cuugguAfaUfugaagsasc | 817 | GUCUUCAAUUACCAAGAAUUCUC | 818 |
| AD-392966 | cscsaca(Chd)AfuCfAfGfuaauguauuuL96 | 819 | asAfsauac(Agn)uuacugAfuGfuguggsasu | 820 | AUCCACACAUCAGUAAUGUAUUC | 821 |
| AD-392967 | csusauc(Uhd)CfuCfUfUfuacauuuuguL96 | 822 | asCfsaaaa(Tgn)guaaagAfgAfgauagsasa | 823 | UUCUAUCUCUCUUUACAUUUUGG | 824 |
| AD-392968 | gsgsucu(Chd)UfaUfAfCfuacauuauuaL96 | 825 | usAfsauaa(Tgn)guaguaUfaGfagaccsasa | 826 | UUGGUCUCUAUACUACAUUAUUA | 827 |
| AD-392969 | uscsuau(Ahd)CfuAfCfAfuuauuaauguL96 | 828 | asCfsauua(Agn)uaauguAfgUfauagasgsa | 829 | UCUCUAUACUACAUUAUUAAUGG | 830 |
| AD-392970 | gsgsucu(Uhd)CfaAfUfUfUfaccaagaauuL96 | 831 | asAfsuucu(Tgn)gguaauUfgAfagaccsasg | 832 | CUGGUCUUCAAUUACCAAGAAUU | 833 |
| AD-392971 | csasgga(Uhd)AfuGfAfAfguucaucauuL96 | 834 | asAfsugau(Ggn)aacuucAfuAfuccugsasg | 835 | CUCAGGAUAUGAAGUUCAUCAUC | 836 |
| AD-392972 | ascsaca(Uhd)CfaGfUfAfauguauucuaL96 | 837 | usAfsgaau(Agn)cauuacUfgAfugugusgsg | 838 | CCACACAUCAGUAAUGUAUUCUA | 839 |
| AD-392973 | csusaua(Chd)UfaCfAfUfuauaauggugL96 | 840 | asCfscauu(Agn)auaaugUfaGfuauagsasg | 841 | CUCUAUACUACAUUAUUAAUGGG | 842 |
| AD-392974 | cscscgu(Uhd)UfuAfUfGfauuuacucauL96 | 843 | asUfsgagu(Agn)aaucauAfaAfacgggsusu | 844 | AACCCGUUUUAUGAUUUACUCAU | 845 |
| AD-392975 | ususcca(Uhd)GfaCfUfGfcauuuacuuL96 | 846 | asAfsguaa(Agn)augcagUfcAfuggaasasa | 847 | UUUUCCAUGACUGCAUUUUACUG | 848 |

[0960]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392976 | uscsuuc(Ahd)AfuUfAfCfcaagaauucuL96 | 849 | asGfsaauu(Cgn)uugguaAfuUfgaagascsc | 850 | GGUCUUCAAUUACCAAGAAUUCU | 851 |
| AD-392977 | csusgaa(Ghd)UfuUfCfAfuuaugauauL96 | 852 | asUfsauca(Tgn)aaaugaAfaCfuucagsasc | 853 | GUCUGAAGUUCAUUUAUGAUAC | 854 |

表2B. 人类APP经修饰的序列，无“L96”连接子

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392699 | gsasccc(Ahd)AfuUfAfAfguccuacuuu | 33 | asAfsagua(Ggn)gacuuaAfuUfgggucsasc | 34 | GUGACCCAAUUAAGUCCUACUUU | 35 |
| AD-392700 | uscsucc(Uhd)GfaUfUfAfuuuaucacau | 36 | asUfsguga(Tgn)aaauaaUfcAfggagasgsa | 37 | UCUCUCCUGAUUAUUUAUCACAU | 38 |
| AD-392703 | cscsuga(Ahd)CfuUfGfAfauuaauccau | 39 | asUfsggau(Tgn)aauucaAfgUfucaggscsa | 40 | UGCCUGAACUUGAAUUAAUCCAC | 41 |
| AD-392704 | gsgsuuc(Ahd)AfaCfAfAfaggugcaauu | 42 | asAfsuugc(Agn)ccuuugUfuUfgaaccscsa | 43 | UGGGUUCAAACAAAGGUGCAAUC | 44 |
| AD-392705 | ususuac(Uhd)CfaUfUfAfucgccuuuug | 45 | csAfsaaag(Ggn)cgauaaUfgAfguaaasusc | 46 | GAUUUACUCAUUAUCGGCCUUUG | 47 |
| AD-392707 | asususua(Ghd)CfuGfUfAfucaaacuagu | 48 | asCfsuagu(Tgn)ugauacAfgCfuaaaususc | 49 | GAAUUUAGCUGUAUCAAACUAGU | 50 |
| AD-392708 | asgsuau(Uhd)CfcUfUfUfccugaucacu | 51 | asGfsugau(Cgn)aggaaaGfgAfauacususa | 52 | UAAGUAUUCCUUUCCUGAUCACU | 53 |
| AD-392709 | gscsuua(Uhd)GfaCfAfUfgaucgcuuuc | 54 | gsAfsaagc(Ggn)aucaugUfcAfuaagcsasa | 55 | UUGCUUAUGACAUGAUCGCUUUC | 56 |
| AD-392710 | asasgau(Ghd)UfgUfCfUfucaauuugua | 57 | usAfscaaa(Tgn)ugaagaCfaCfaucuusasa | 58 | UUAAGAUGUGUCUUCAAUUGUA | 59 |
| AD-392711 | gscsaaa(Ahd)CfcAfUfUfgcuucacuau | 60 | asUfsagug(Agn)agcaauGfgUfuuugcsusg | 61 | CAGCAAAACCAUUGCUUCACUAC | 62 |
| AD-392712 | asususa(Chd)UfcAfUfUfuaucgccuuuu | 63 | asAfsaagg(Cgn)gauaauGfaGfuaaauscsa | 64 | UGAUUUACUCAUUAUCGGCCUUUU | 65 |
| AD-392713 | usascuc(Ahd)UfuAfUfCfgccuuuugau | 66 | asUfscaaa(Agn)ggcgauAfaUfgaguasasa | 67 | UUUACUCAUUAUCGGCCUUUUGAC | 68 |
| AD-392714 | usgsccu(Ghd)AfaCfUfUfgaauuaaucu | 69 | asGfsauua(Agn)uucaagUfuCfaggcasusc | 70 | GAUGCCUGAACUUGAAUUAAUCC | 71 |
| AD-392715 | csusgaa(Chd)UfuGfAfAfuuaauccaca | 72 | usGfsugga(Tgn)uaauucAfaGfuucagsgsc | 73 | GCCUGAACUUGAAUUAAUCCACA | 74 |

[0961]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392716 | usususag(Chd)UfgUfAfUfcaaacuaguu | 75 | asAfscuag(Tgn)uugauaCfaGfcuaaasusu | 76 | AAUUUAGCUGUAUCAAACUAGUG | 77 |
| AD-392717 | gsasaua(Ghd)AfuUfCfUfcuccugauua | 78 | usAfsauca(Ggn)gagagaAfuCfuauucsasu | 79 | AUGAAUAGAUUCUCUCCUGAUUA | 80 |
| AD-392718 | uscscug(Ahd)UfuAfUfUfuaucacauau | 81 | asUfsaugu(Ggn)auaaauAfaUfcaggasgsa | 82 | UCUCCUGAUUAUUUAUCACAUAG | 83 |
| AD-392719 | cscscaa(Uhd)UfaAfGfUfccuacuuuau | 84 | asUfsaaag(Tgn)aggacuUfaAfuugggsusc | 85 | GACCCAAUUAAGUCCUACUUUAC | 86 |
| AD-392720 | csasuau(Ghd)CfuUfUfAfagaaucgauu | 87 | asAfsucga(Tgn)ucuuaaAfgCfauaugsusa | 88 | UACAUAUGCUUUAAGAAUCGAUG | 89 |
| AD-392721 | csususcu(Chd)UfuGfCfCfuaagauaucu | 90 | asGfsaaua(Cgn)uuaggcAfaGfagaagscsa | 91 | UGCUUCUCCUUGCCUAAGUAUUCC | 92 |
| AD-392722 | csasuug(Chd)UfuAfUfGfacaugaucgu | 93 | asCfsgauc(Agn)ugucauAfaGfcaaugsasu | 94 | AUCAUUGCUUAUGACAUGAUCGC | 95 |
| AD-392723 | csusuau(Ghd)AfcAfUfGfaucgcuuucu | 96 | asGfsaaag(Cgn)gaucauGfuCfauaagscsa | 97 | UGCUUAUGACAUGAUCGCUUUCU | 98 |
| AD-392724 | usasuga(Chd)AfuGfAfUfcgcuuucuau | 99 | asUfsagaa(Agn)gcgaucAfuGfucauasasg | 100 | CUUAUGACAUGAUCGCUUUCUAC | 101 |
| AD-392725 | usgsaca(Uhd)GfaUfCfGfcuuucuacau | 102 | asUfsguag(Agn)aagcgaUfcAfugucasusa | 103 | UAUGACAUGAUCGCUUUCUACAC | 104 |
| AD-392726 | gsasucg(Chd)UfuUfCfUfacacuguauu | 105 | asAfsuaca(Ggn)uguagaAfaGfcgaucsasu | 106 | AUGAUCGCUUUCUACACUGUAUU | 107 |
| AD-392727 | asasaac(Uhd)AfuUfCfAfgaugacgucu | 108 | asGfsacgu(Cgn)aucugaAfuAfguuuusgsc | 109 | GCAAAACUAUUCAGAUGACGUCU | 110 |
| AD-392728 | asasacu(Ahd)UfuCfAfGfaugacgucuu | 111 | asAfsgacg(Tgn)caucugAfaUfaguuususg | 112 | CAAACUAUUCAGAUGACGUCUU | 113 |
| AD-392729 | ascsgaa(Ahd)AfuCfCfAfaccuacaagu | 114 | asCfsuugu(Agn)gguuggAfuUfuucgusasg | 115 | CUACGAAAAUCCAACCUACAAGU | 116 |
| AD-392730 | usgscuu(Chd)UfcUfUfGfccuaaguauu | 117 | asAfsuacu(Tgn)aggcaaGfaGfaagcasgsc | 118 | GCUGCUUCUCUUGCCUAAGUAUU | 119 |
| AD-392731 | usgscuu(Ahd)UfgAfCfAfugaucgcuuu | 120 | asAfsagcg(Agn)ucauguCfaUfaagcasasu | 121 | AUUGCUUAUGACAUGAUCGCUUU | 122 |
| AD-392732 | usgsauc(Ghd)CfuUfUfCfuacacuguau | 123 | asUfsacag(Tgn)guagaaAfgCfgaucasusg | 124 | CAUGAUCGCUUUCUACACUGUAU | 125 |
| AD-392733 | asuscgc(Uhd)UfuCfUfAfcacuguauua | 126 | usAfsauac(Agn)guguagAfaAfgcgauscsa | 127 | UGAUCGCUUUCUACACUGUAUUA | 128 |
| AD-392734 | uscsuuu(Ghd)AfcCfGfAfaacgaaaacu | 129 | asGfsuuuu(Cgn)guuucgGfuCfaaagasusg | 130 | CAUCUUUGACCGAAACGAAAACC | 131 |
| AD-392735 | gsusucu(Ghd)GfgUfUfGfacaaauauca | 132 | usGfsauau(Tgn)ugucaaCfcCfagaacscsu | 133 | AGGUUCUGGGUUGACAAAUAUCA | 134 |
| AD-392736 | usgsggu(Uhd)GfaCfAfAfauaucaagau | 135 | asUfscuug(Agn)uauuugUfcAfacccasgsa | 136 | UCUGGGUUGACAAAUAUCAAGAC | 137 |

[0962]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392737 | gsasuuu(Ahd)CfuCfAfUfuaucgccuuu | 138 | asAfsaggc(Ggn)auaaugAfgUfaaaucsasu | 139 | AUGAUUUACUCAUUAUCGGCUUU | 140 |
| AD-392738 | uscscuu(Uhd)CfcUfGfAfucacuaugca | 141 | usGfscaua(Ggn)ugaucaGfgAfaaggasasu | 142 | AUUCCUUUCCUGAUCACUAUGCA | 143 |
| AD-392739 | csusuuc(Chd)UfgAfUfCfacuaugcauu | 144 | asAfsugca(Tgn)agugauCfaGfgaaagsgsa | 145 | UCCUUUCCUGAUCACUAUGCAUU | 146 |
| AD-392740 | asusugc(Uhd)UfaUfGfAfcaugaucgcu | 147 | asGfscgau(Cgn)augucaUfaAfgcaausgsa | 148 | UCAUUGCUUAUGACAUGAUCGCU | 149 |
| AD-392741 | uscsuuu(Ahd)AfcCfAfGfucugaaguuu | 150 | asAfsacuu(Cgn)agacugGfuUfaaagasasa | 151 | UUUCUUUAACCAGUCUGAAGUUU | 152 |
| AD-392742 | gsgsauc(Ahd)GfuUfAfCfggaaacgauu | 153 | asAfsucgu(Tgn)uccguaAfcUfgauccsusu | 154 | AAGGAUCAGUUACGGAAACGAUG | 155 |
| AD-392743 | csusggg(Uhd)UfgAfCfAfaauaucaaga | 156 | usCfsuuga(Tgn)auuuguCfaAfcccagsasa | 157 | UUCUGGGUUGACAAAUAUCAAGA | 158 |
| AD-392744 | asusgau(Uhd)UfaCfUfCfauuaucgccu | 159 | asGfsgcga(Tgn)aaugagUfaAfaucausasa | 160 | UUAUGAUUUACUCAUUAUCGCCU | 161 |
| AD-392745 | csusugu(Ghd)GfuUfUfGfugacccaauu | 162 | asAfsuugg(Ggn)ucacaaAfcCfacaagsasa | 163 | UUCUUGUGGUUUGUGACCCAAUU | 164 |
| AD-392746 | asusaug(Chd)UfuUfAfAfgaaucgaugu | 165 | asCfsaucg(Agn)uucuuaAfaGfcauausgsu | 166 | ACAUAUGCUUUAAGAAUCGAUGG | 167 |
| AD-392747 | usususgu(Chd)CfaCfGfUfaucuuugggu | 168 | asCfsccaa(Agn)gauacgUfgGfacaaasasa | 169 | UUUUUGUCCACGUAUCUUUGGGU | 170 |
| AD-392748 | uscsauu(Ghd)UfaAfGfCfacuuuuacgu | 171 | asCfsguaa(Agn)agugcuUfaCfaaugasasc | 172 | GUUCAUUGUAAGCACUUUUACGG | 173 |
| AD-392749 | gsgscca(Ahd)CfaUfGfAfuuagugaacu | 174 | asGfsuuca(Cgn)uaaucaUfgUfuggccsasa | 175 | UUGGCCAACAUGAUUAGUGAACC | 176 |
| AD-392750 | gsasuca(Ghd)UfuAfCfGfgaaacgaugu | 177 | asCfsaucg(Tgn)uuccguAfaCfugaucscsu | 178 | AGGAUCAGUUACGGAAACGAUGC | 179 |
| AD-392751 | usascgg(Ahd)AfaCfGfAfugcucucauu | 180 | asAfsugag(Agn)gcaucgUfuUfccguasasc | 181 | GUUACGGAAACGAUGCUCUCAUG | 182 |
| AD-392752 | usgsauu(Uhd)AfcUfCfAfuuaucgccuu | 183 | asAfsggcg(Agn)uaaugaGfuAfaaucasusa | 184 | UAUGAUUUACUCAUUAUCGCCUU | 185 |
| AD-392753 | gsusaga(Uhd)GfcCfUfGfaacuugaauu | 186 | asAfsuuca(Agn)guucagGfcAfucuacsusu | 187 | AAGUAGAUGCCUGAACUUGAAUU | 188 |
| AD-392754 | ususgua(Uhd)AfuUfAfUfucuugugguu | 189 | asAfsccac(Agn)agaauaAfuAfuacaascsu | 190 | AGUUGUAUAUUAUUCUUGUGGUU | 191 |
| AD-392755 | asusugc(Uhd)GfcUfUfCfugcuauauuu | 192 | asAfsauau(Agn)gcagaaGfcAfgcaauscsu | 193 | AGAUUGCUGCUUCUGCUAUAUUU | 194 |
| AD-392756 | usgscua(Uhd)AfuUfUfGfugauauagga | 195 | usCfscuau(Agn)ucacaaAfuAfuagcasgsa | 196 | UCUGCUAUAUUUGUGAUAUAGGA | 197 |
| AD-392757 | ascsaca(Uhd)UfaGfGfCfauugagacuu | 198 | asAfsgucu(Cgn)aaugccUfaAfugugusgsc | 199 | GCACACAUUAGGCAUUGAGACUU | 200 |

[0963]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392758 | asasgaa(Uhd)CfcCfUfGfuucauuguaa | 201 | usUfsacaa(Tgn)gaacagGfgAfuucususu | 202 | AAAAGAAUCCCUGUUCAUUGUAA | 203 |
| AD-392759 | csasuug(Uhd)AfaGfCfAfcuuuuacggu | 204 | asCfscgua(Agn)aagugcUfuAfcaaugsasa | 205 | UUCAUUGUAAGCACUUUUACGGG | 206 |
| AD-392760 | ususgcu(Uhd)AfuGfAfCfaugaucgcuu | 207 | asAfsgcga(Tgn)caugucAfuAfagcaasusg | 208 | CAUUGCUUAUGACAUGAUCGCUU | 209 |
| AD-392761 | csasagg(Ahd)UfcAfGfUfuacggaaacu | 210 | asGfsuuuc(Cgn)guaacuGfaUfccuugsgsu | 211 | ACCAAGGAUCAGUUACGGAAACG | 212 |
| AD-392762 | asgsguu(Chd)UfgGfGfUfugacaaauau | 213 | asUfsauuu(Ggn)ucaaccCfaGfaaccusgsg | 214 | CCAGGUUCUGGGUUGACAAAUAU | 215 |
| AD-392763 | asasgau(Ghd)UfgGfGfUfucaaacaaau | 216 | asUfsuugu(Tgn)ugaaccCfaCfaucuuscsu | 217 | AGAAGAUGUGGGUUCAAACAAAG | 218 |
| AD-392764 | csusgaa(Ghd)AfaGfAfAfacaguacaca | 219 | usGfsugua(Cgn)uguuucUfuCfuucagscsa | 220 | UGCUGAAGAAGAAACAGUACACA | 221 |
| AD-392765 | asasguu(Ghd)GfaCfAfGfcaaaaccauu | 222 | asAfsuggu(Tgn)uugcugUfcCfaacuuscsa | 223 | UGAAGUUGGACAGCAAAACCAUU | 224 |
| AD-392766 | asuscgg(Uhd)GfuCfCfAfuuuauagaau | 225 | asUfsucua(Tgn)aaauggAfcAfccgausgsg | 226 | CCAUCGGUGUCCAUUUAUAGAAU | 227 |
| AD-392767 | uscsggu(Ghd)UfcCfAfUfuauagaaua | 228 | usAfsuucu(Agn)uaaaugGfaCfaccgasusg | 229 | CAUCGGUGUCCAUUUAUAGAAUA | 230 |
| AD-392768 | gscsugu(Ahd)AfcAfCfAfaguagaugcu | 231 | asGfscauc(Tgn)acuuguGfuUfacagcsasc | 232 | GUGCUGUAACACAAGUAGAUGCC | 233 |
| AD-392769 | asasgua(Ghd)AfuGfCfCfugaacuugaa | 234 | usUfscaag(Tgn)ucaggcAfuCfuacuusgsu | 235 | ACAAGUAGAUGCCUGAACUUGAA | 236 |
| AD-392770 | ususgug(Ghd)UfuUfGfUfgacccaauua | 237 | usAfsauug(Ggn)gucacaAfaCfcacaasgsa | 238 | UCUUGUGGUUUGUGACCCAAUUA | 239 |
| AD-392771 | gsusuug(Uhd)GfaCfCfCfaauuaagucu | 240 | asGfsacuu(Agn)auugggUfcAfcaaacscsa | 241 | UGGUUUGUGACCCAAUUAAGUCC | 242 |
| AD-392772 | gsusgac(Chd)CfaAfUfUfUfaaguccuacu | 243 | asGfsuagg(Agn)cuuaauUfgGfgucacsasa | 244 | UUGUGACCCAAUUAAGUCCUACU | 245 |
| AD-392773 | usasugc(Uhd)UfuAfAfGfGfaaucgauggu | 246 | asCfscauc(Ggn)auucuuAfaAfgcauasusg | 247 | CAUAUGCUUUAAGAAUCGAUGGG | 248 |
| AD-392774 | ususugu(Ghd)AfuAfUfAfUfggaauuaaga | 249 | usCfsuuaa(Tgn)uccuauAfuCfacaaaususa | 250 | UAUUUGUGAUAUAGGAAUUAAGA | 251 |
| AD-392775 | asasaga(Ahd)UfcCfCfCfUfguucauugua | 252 | usAfscaau(Ggn)aacaggGfaUfucuuususc | 253 | GAAAAGAAUCCCUGUUCAUUGUA | 254 |
| AD-392776 | usgsauu(Ghd)UfaCfAfGfGfaaucauugcu | 255 | asGfscaau(Ggn)auucugUfaCfaaucasusc | 256 | GAUGAUUGUACAGAAUCAUUGCU | 257 |
| AD-392777 | usgsccu(Ghd)GfaCfAfAfacccuucuuu | 258 | asAfsagaa(Ggn)gguuugUfcCfaggcasusg | 259 | CAUGCCUGGACAAACCCUUCUUU | 260 |
| AD-392778 | gsasgca(Ahd)AfaCfUfAfuucagaugau | 261 | asUfscauc(Tgn)gaauagUfuUfugcucsusu | 262 | AAGAGCAAAACUAUUCAGAUGAC | 263 |

[0964]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392779 | asgsuga(Ahd)CfcAfAfGfgaucaguuau | 264 | asUfsaacu(Ggn)auccuuGfgUfucacusasa | 265 | UUAGUGAACCAAGGAUCAGUUAC | 266 |
| AD-392780 | usgsaac(Chd)AfaGfGfAfucaguuacgu | 267 | asCfsguaa(Cgn)ugauccUfuGfguucascsu | 268 | AGUGAACCAAGGAUCAGUUACGG | 269 |
| AD-392781 | csasguu(Ahd)CfgGfAfAfacgaugcucu | 270 | asGfsagca(Tgn)cguuucCfgUfaacugsasu | 271 | AUCAGUUACGGAAACGAUGCUCU | 272 |
| AD-392782 | asgsaag(Ahd)UfgUfGfGfguucaaacaa | 273 | usUfsguuu(Ggn)aacccaCfaUfcuucusgsc | 274 | GCAGAAGAUGUGGGUUCAAACAA | 275 |
| AD-392783 | cscsucu(Ghd)AfaGfUfUfUfggacagcaaa | 276 | usUfsugcu(Ggn)uccaacUfuCfagaggscsu | 277 | AGCCUCUGAAGUUGGACAGCAAA | 278 |
| AD-392784 | ususaug(Ahd)UfuUfAfCfcucauuaucgu | 279 | asCfsgaua(Agn)ugaguaAfaUfcauaasasa | 280 | UUUUAUGAUUUACUCAUUAUCGC | 281 |
| AD-392785 | ascsagc(Uhd)GfuGfCfUfguaacacaau | 282 | asUfsugug(Tgn)uacagcAfcAfgcuguscsa | 283 | UGACAGCUGUGCUGUAACACAAG | 284 |
| AD-392786 | usgsuga(Chd)CfcAfAfUfuaaguccuau | 285 | asUfsagga(Cgn)uuaauuGfgGfucacasasa | 286 | UUUGUGACCCAAUUAAGUCCUAC | 287 |
| AD-392787 | usascau(Ahd)UfgCfUfUfUfuaagaaucga | 288 | usCfsgauu(Cgn)uuaaagCfaUfauguasasa | 289 | UUUACAUAUGCUUUAAGAAUCGA | 290 |
| AD-392788 | gsusaaa(Uhd)AfaAfUfAfcauucuugga | 291 | usCfscaag(Agn)auguauUfuAfuuuacsasu | 292 | AUGUAAAUAAAUACAUUCUUGGA | 293 |
| AD-392789 | uscsagu(Uhd)AfcGfGfAfaacgaugcuu | 294 | asAfsgcau(Cgn)guuuccGfuAfacugasusc | 295 | GAUCAGUUACGGAAACGAUGCUC | 296 |
| AD-392790 | csusucc(Chd)GfuGfAfAfuggagaguuu | 297 | asAfsacuc(Tgn)ccauucAfcGfggaagsgsa | 298 | UCCUUCCCGUGAAUGGAGAGUUC | 299 |
| AD-392791 | asgsuug(Ghd)AfcAfGfCfaaaaccauuu | 300 | asAfsaugg(Tgn)uuugcuGfuCfcaacususc | 301 | GAAGUUGGACAGCAAAACCAUUG | 302 |
| AD-392792 | cscscau(Chd)GfgUfGfUfccauuuauau | 303 | asUfsauaa(Agn)uggacaCfcGfaugggsusa | 304 | UACCCAUCGGUGUCCAUUUAUAG | 305 |
| AD-392793 | usgscac(Ahd)CfaUfUfAfggcauugaga | 306 | usCfsucaa(Tgn)gccuaaUfgUfgugcascsa | 307 | UGUGCACACAUUAGGCAUUGAGA | 308 |
| AD-392794 | cscsaac(Ahd)UfgAfUfUfUfagugaaccaa | 309 | usUfsgguu(Cgn)acuaauCfaUfguuggscsc | 310 | GGCCAACAUGAUUAGUGAACCAA | 311 |
| AD-392795 | asusgau(Uhd)AfgUfGfAfaccaaggauu | 312 | asAfsuccu(Tgn)ggucaCfuAfaucausgsu | 313 | ACAUGAUUAGUGAACCAAGGAUC | 314 |
| AD-392796 | ususagu(Ghd)AfaCfCfAfaggaucaguu | 315 | asAfscuga(Tgn)ccuuggUfuCfacuaasusc | 316 | GAUUAGUGAACCAAGGAUCAGUU | 317 |
| AD-392797 | asascca(Ahd)GfgAfUfCfaguuacggaa | 318 | usUfsccgu(Agn)acugauCfcUfugguuscsa | 319 | UGAACCAAGGAUCAGUUACGGAA | 320 |
| AD-392798 | gsusuac(Ghd)GfaAfAfCfgaugcucuca | 321 | usGfsagag(Cgn)aucguuUfcCfguaacsusg | 322 | CAGUUACGGAAACGAUGCUCUCA | 323 |
| AD-392799 | gsasugc(Ahd)GfaAfUfUfccgacaugau | 324 | asUfscaug(Tgn)cggaauUfcUfgcaucscsa | 325 | UGGAUGCAGAAUUCCGACAUGAC | 326 |

[0965]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392800 | ususgga(Chd)AfgCfAfAfaaccauugcu | 327 | asGfscaau(Ggn)guuuugCfuGfuccaascsu | 328 | AGUGGACAGCAAAACCAUUGCU | 329 |
| AD-392801 | asasacc(Ahd)UfuGfCfUfucacuaccca | 330 | usGfsggua(Ggn)ugaagcAfaUfgguuusgg | 331 | CAAACCAUUGCUUCACUACCCA | 332 |
| AD-392802 | cscsauc(Ghd)GfuGfUfCfcauuuauaga | 333 | usCfsuaua(Agn)auggacAfcCfgauggsgsu | 334 | ACCCAUCGGUGUCCAUUUAUAGA | 335 |
| AD-392803 | ususauc(Ghd)CfcUfUfUfugacagcugu | 336 | asCfsagcu(Ggn)ucaaaadGfgCfgauaasusg | 337 | CAUUAUCGCCUUUUGACAGCUGU | 338 |
| AD-392804 | asuscgc(Chd)UfuUfUfUfGfacagcugugu | 339 | asCfsacag(Cgn)ugucaaAfaGfgcgausasa | 340 | UUAUCGCCUUUUGACAGCUGUGC | 341 |
| AD-392805 | ascsaca(Ahd)GfuAfGfAfugccugaacu | 342 | asGfsuuca(Ggn)gcaucuAfcUfugugususa | 343 | UAACACAAGUAGAUGCCUGAACU | 344 |
| AD-392806 | usgsugg(Uhd)UfuGfUfGfacccaauuaa | 345 | usUfsaauu(Ggn)ggucacAfaAfccacasasg | 346 | CUUGUGGUUUGUGACCCAAUUAA | 347 |
| AD-392807 | gsgsgau(Ghd)CfuUfCfAfugugaacguu | 348 | asAfscguu(Cgn)acaugaAfgCfaucccscsc | 349 | GGGGAUGCUUCAUGUGAACGUG | 350 |
| AD-392808 | usgsugc(Ahd)CfaCfAfUfuaggcauuga | 351 | usCfsaaug(Cgn)cuaaugUfgUfgcacasusa | 352 | UAUGUGCACACAUUAGGCAUUGA | 353 |
| AD-392809 | asasaug(Ghd)AfaGfUfGfgcaauauaau | 354 | asUfsuaua(Tgn)ugccacUfuCfcauuususc | 355 | GAAAUGGAAGUGGCAAUAUAAG | 356 |
| AD-392810 | asusgga(Ahd)GfuGfGfCfaauauaaggu | 357 | asCfscuua(Tgn)auugccAfcUfuccaususu | 358 | AAAUGGAAGUGGCAAUAUAAGGG | 359 |
| AD-392811 | usgsccc(Ghd)AfgAfUfCfcuguuaaacu | 360 | asGfsuuua(Agn)caggauCfuCfgggcasasg | 361 | CUUGCCCGAGAUCCUGUUAAACU | 362 |
| AD-392812 | asusuag(Uhd)GfaAfCfCfcaaggaucagu | 363 | asCfsugau(Cgn)cuugguUfcAfcuaauscsa | 364 | UGAUUAGUGAACCAAGGAUCAGU | 365 |
| AD-392813 | gsasacc(Ahd)AfgGfAfUfcaguuacgga | 366 | usCfscgua(Agn)cugaucCfuUfgguucsasc | 367 | GUGAACCAAGGAUCAGUUACGGA | 368 |
| AD-392814 | asasgga(Uhd)CfaGfUfUfacggaaacga | 369 | usCfsguuu(Cgn)cguaacUfgAfuccuusgsg | 370 | CCAAGGAUCAGUUACGGAAACGA | 371 |
| AD-392815 | csasaca(Chd)AfgAfAfAfacgaaguuga | 372 | usCfsaacu(Tgn)cguuuuCfuGfuguugsgsc | 373 | GCCAACACAGAAAACGAAGUUGA | 374 |
| AD-392816 | usgsggu(Uhd)CfaAfAfCfaaaggugcaa | 375 | usUfsgcac(Cgn)uuuguuUfgAfacccascsa | 376 | UGUGGGUUCAAACAAAGGUGCAA | 377 |
| AD-392817 | csasgug(Ahd)UfcGfUfCfaucaccuugu | 378 | asCfsaagg(Tgn)gaugacGfaUfcacugsusc | 379 | GACAGUGAUCGUCAUCACCUUGG | 380 |
| AD-392818 | ascscca(Uhd)CfgGfUfGfuccauuuaua | 381 | usAfsuaaa(Tgn)ggacacCfgAfugggusasg | 382 | CUACCCAUCGGUGUCCAUUUAUA | 383 |
| AD-392819 | uscsuug(Uhd)GfgUfUfUfgugacccaau | 384 | asUfsuggg(Tgn)cacaaaCfcAfcaagasasu | 385 | AUUCUUGUGGUUUGUGACCCAAU | 386 |
| AD-392820 | ususugu(Ghd)AfcCfCfAfauuaaguccu | 387 | asGfsgacu(Tgn)aauuggGfuCfacaaascsc | 388 | GGUUUGUGACCCAAUUAAGUCCU | 389 |

[0966]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392821 | ususgug(Ahd)CfcCfAfAfuuaaguccua | 390 | usAfsggac(Tgn)uaauugGfgUfcacaasasc | 391 | GUUUGUGACCCAAUUAAGUCCUA | 392 |
| AD-392822 | ususcag(Ahd)UfgAfCfGfucuuggccaa | 393 | usUfsggcc(Agn)agacguCfaUfcugaasusa | 394 | UAUUCAGAUGACGUCUUGGCCAA | 395 |
| AD-392823 | asuscag(Uhd)UfaCfGfGfaaacgaugcu | 396 | asGfscauc(Ggn)uuuccgUfaAfcugauscsc | 397 | GGAUCAGUUACGGAAACGAUGCU | 398 |
| AD-392824 | usgsgau(Ghd)CfaGfAfAfuuccgacauu | 399 | asAfsuguc(Ggn)gaauucUfgCfauccasusc | 400 | GAUGGAUGCAGAAUUCCGACAUG | 401 |
| AD-392825 | gsuscca(Ahd)GfaUfGfCfagcagaacgu | 402 | asCfsguuc(Tgn)gcugcaUfcUfuggacsasg | 403 | CUGUCCAAGAUGCAGCAGAACGG | 404 |
| AD-392826 | usasccc(Ahd)UfcGfGfUfguccauuuau | 405 | asUfsaaau(Ggn)gacaccGfaUfggguasgsu | 406 | ACUACCCAUCGGUGUCCAUUUAU | 407 |
| AD-392827 | ususuug(Ahd)CfaGfCfUfgugcuguaau | 408 | asUfsuaca(Ggn)cacagcUfgUfcaaaasgsg | 409 | CCUUUUGACAGCUGUGCUGUAAC | 410 |
| AD-392828 | ususgac(Ahd)GfcUfGfUfgcuguaacau | 411 | asUfsguua(Cgn)agcacaGfcUfgucaasasa | 412 | UUUUGACAGCUGUGCUGUAACAC | 413 |
| AD-392829 | asgscug(Uhd)GfcUfGfUfaacacaagua | 414 | usAfscuug(Tgn)guuacaGfcAfcagcusgsu | 415 | ACAGCUGUGCUGUAACACAAGUA | 416 |
| AD-392830 | gsususu(Ahd)UfgUfGfCfacacauuagu | 417 | asCfsuaau(Ggn)ugugcaCfaUfaaaacsasg | 418 | CUGUUUUAUGUGCACACAUUAGG | 419 |
| AD-392831 | ususcaa(Uhd)UfaCfCfAfagaaucucu | 420 | asGfsagaa(Tgn)ucuuggUfaAfuugaasgsa | 421 | UCUUCAAUUACCAAGAAUCUCC | 422 |
| AD-392832 | csascac(Ahd)UfcAfGfUfaauguauucu | 423 | asGfsaaua(Cgn)auuacuGfaUfgugugsga | 424 | UCCACACAUCAGUAAUGUAUUCU | 425 |
| AD-392833 | usgsguc(Uhd)CfuAfUfAfcuacauuauu | 426 | asAfsuaau(Ggn)uaguauAfgAfgaccasasa | 427 | UUUGGUCUCUAUACUACAUUAUU | 428 |
| AD-392834 | ascsccg(Uhd)UfuUfAfUfgauuuacuca | 429 | usGfsagua(Agn)aucauaAfaAfcgggususu | 430 | AAACCCGUUUUAUGAUUUACUCA | 431 |
| AD-392835 | usasgga(Ahd)AfaUfCfCfaaccuacaau | 432 | asUfsugua(Ggn)guuggaUfuUfucguasgsc | 433 | GCUACGAAAAUCCAACCUACAAG | 434 |
| AD-392836 | uscscac(Ahd)CfaUfCfCfAfguaauguauu | 435 | asAfsuaca(Tgn)uacugaUfgUfguggasusu | 436 | AAUCCACACAUCAGUAAUGUAUU | 437 |
| AD-392837 | csusggu(Chd)UfuCfAfAfuuaccaagaa | 438 | usUfscuug(Ggn)uaauugAfaGfaccagscsa | 439 | UGCUGGUCUUCAAUUACCAAGAA | 440 |
| AD-392838 | gscscau(Chd)UfuUfGfAfccgaaacgaa | 441 | usUfscguu(Tgn)cggucaAfaGfauggcsasu | 442 | AUGCCAUCUUUGACCGAAACGAA | 443 |
| AD-392839 | cscsauc(Uhd)UfuGfAfCfcgaaacgaaa | 444 | usUfsucgu(Tgn)ucggucAfaAfgauggscsa | 445 | UGCCAUCUUUGACCGAAACGAAA | 446 |
| AD-392840 | csusacg(Ahd)AfaAfUfCfcaaccuacaa | 447 | usUfsguag(Ggn)uuggauUfuUfcguagscsc | 448 | GGCUACGAAAAUCCAACCUACAA | 449 |
| AD-392841 | asuscca(Chd)AfcAfUfCfCfaguaauguau | 450 | asUfsacau(Tgn)acugauGfuGfuggaususa | 451 | UAAUCCACACAUCAGUAAUGUAU | 452 |

[0967]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392842 | csasugc(Chd)AfuCfUfUfUfugaccgaaau | 453 | asUfsuucg(Ggn)ucaaagAfuGfgcaugsasg | 454 | CUCAUGCCAUCUUUGACCGAAAC | 455 |
| AD-392843 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuau | 456 | asUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 457 | ACGGCUACGAAAUCCAACCUAC | 458 |
| AD-392844 | uscsaug(Chd)CfaUfCfUfUfuugaccgaaa | 459 | usUfsucgg(Tgn)caaagaUfgGfcaugasgsa | 460 | UCUCAUGCCAUCUUUGACCGAAA | 461 |
| AD-392845 | csasgua(Chd)AfcAfUfCfCfauucaucau | 462 | asUfsgaug(Agn)auggauGfuGfuacugsusu | 463 | AACAGUACACAUCCAUUCAUCAU | 464 |
| AD-392846 | asascgg(Chd)UfaCfGfAfAaauccaacu | 465 | asGfsuugg(Agn)uuuucgUfaGfccguuscsu | 466 | AGAACGGCUACGAAAAUCCAACC | 467 |
| AD-392847 | gsasagu(Uhd)UfcAfUfUfUfuaugauacaa | 468 | usUfsguau(Cgn)auaaauGfaAfacuucsasg | 469 | CUGAAGUUUCAUUUAUGAUACAA | 470 |
| AD-392848 | asusgcc(Ahd)UfcUfUfUfUfgaccgaaacu | 471 | asGfsuuuc(Ggn)gucaaaGfaUfggcausgsa | 472 | UCAUGCCAUCUUUGACCGAAACG | 473 |
| AD-392849 | gsasacg(Ghd)CfuAfCfGfGfaaaauccaau | 474 | asUfsugga(Tgn)uuucguAfgCfcguucsusg | 475 | CAGAACGGCUACGAAAAUCCAAC | 476 |
| AD-392850 | uscsuuc(Ghd)UfgCfCfUfUfguuuauguu | 477 | asAfscaua(Agn)aacaggCfaCfgaagasasa | 478 | UUUCUUCGUGCCUGUUUUAUGUG | 479 |
| AD-392851 | ususgcc(Chd)GfaGfAfUfccuguuaaau | 480 | asUfsuuaa(Cgn)aggaucUfcGfggcaasgsa | 481 | UCUUGCCCGAGAUCCUGUUAAAC | 482 |
| AD-392852 | csusucg(Uhd)GfcCfUfGfUfuuuaugugu | 483 | asCfsacau(Agn)aaacagGfcAfcgaagsasa | 484 | UUCUUCGUGCCUGUUUUAUGUGC | 485 |
| AD-392853 | gscsgcc(Ahd)UfgUfCfCfCfaaaguuuau | 486 | asUfsaaac(Tgn)uugggaCfaUfggcgcsusg | 487 | CAGCGCCAUGUCCCAAAGUUUAC | 488 |
| AD-392854 | gsuscau(Ahd)GfcGfAfCfCfagugaucguu | 489 | asAfscgau(Cgn)acugucGfcUfaugacsasa | 490 | UUGUCAUAGCGACAGUGAUCGUC | 491 |
| AD-392855 | gscsuac(Ghd)AfaAfAfUfUfccaaccuaca | 492 | usGfsuagg(Tgn)uggauuUfuCfguagcscsg | 493 | CGGCUACGAAAAUCCAACCUACA | 494 |
| AD-392856 | asusagc(Ghd)AfcAfGfUfUfgaucgucauu | 495 | asAfsugac(Ggn)aucacuGfuCfgcuausgsa | 496 | UCAUAGCGACAGUGAUCGUCAUC | 497 |
| AD-392857 | csusugc(Chd)CfgAfGfAfUfccuguuaaa | 498 | usUfsuaac(Agn)ggaucuCfgGfgcaagsasg | 499 | CUCUUGCCCGAGAUCCUGUUAAA | 500 |
| AD-392858 | csuscau(Ghd)CfcAfUfCfUfuugaccgaa | 501 | usUfscggu(Cgn)aaagauGfgCfaugagsasg | 502 | CUCUCAUGCCAUCUUUGACCGAA | 503 |
| AD-392859 | ascsggc(Uhd)AfcGfAfUfAfaauccaaccu | 504 | asGfsguug(Ggn)auuuucGfuAfgccgususc | 505 | GAACGGCUACGAAAAUCCAACCU | 506 |
| AD-392860 | csasuca(Ahd)AfaAfUfUfUfgguguucuuu | 507 | asAfsagaa(Cgn)accaauUfuUfugaugsasu | 508 | AUCAUCAAAAAUUGGUGUUCUUU | 509 |
| AD-392861 | asuscca(Ahd)CfcUfAfCfCfaaguucuuug | 510 | csAfsaaga(Agn)cuuguaGfgUfuggaususu | 511 | AAAUCCAACCUACAAGUUCUUUG | 512 |
| AD-392862 | csgscuu(Uhd)CfuAfCfCfAfcuguauuaca | 513 | usGfsuaau(Agn)caguguAfgAfaagcgsasu | 514 | AUCGCUUUCUACACUGUAUUACA | 515 |

[0968]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392863 | uscscaa(Chd)CfuAfCfAfaguucuuuga | 516 | usCfsaaag(Agn)acuuguAfgGfuuggasusu | 517 | AAUCCAACCUACAAGUUCUUUGA | 518 |
| AD-392864 | uscsucu(Chd)UfuUfAfCfauuuuggucu | 519 | asGfsacca(Agn)aauguaAfaGfagagasusa | 520 | UAUCUCUCUUUACAUUUUGGUCU | 521 |
| AD-392865 | csuscuc(Uhd)UfuAfCfAfuuuuggucuu | 522 | asAfsgacc(Agn)aaauguAfaAfgagagsasu | 523 | AUCUCUCUUUACAUUUUGGUCUC | 524 |
| AD-392866 | ususugu(Ghd)UfaCfUfGfuaaagaauuu | 525 | asAfsauuc(Tgn)uuacagUfaCfacaaasasc | 526 | GUUUUGUGUACUGUAAAGAAUUU | 527 |
| AD-392867 | gsusgua(Chd)UfgUfAfAfagaauuuagu | 528 | asCfsuaaa(Tgn)ucuuuaCfaGfuacacsasa | 529 | UUGUGUACUGUAAAGAAUUUAGC | 530 |
| AD-392868 | ascscca(Ahd)UfuAfAfGfuccuacuuua | 531 | usAfsaagu(Agn)ggacuuAfaUfuggguscsa | 532 | UGACCCAAUUAAGUCCUACUUUA | 533 |
| AD-392869 | uscscua(Chd)UfuUfAfCfauaugcuuua | 534 | usAfsaagc(Agn)uauguaAfaGfuaggascsu | 535 | AGUCCUACUUUACAUAUGCUUUA | 536 |
| AD-392870 | cscsuac(Uhd)UfuAfCfAfuaugcuuuaa | 537 | usUfsaaag(Cgn)auauguAfaAfguaggsasc | 538 | GUCCUACUUUACAUAUGCUUUAA | 539 |
| AD-392871 | ususcua(Chd)AfcUfGfUfauuacauaaa | 540 | usUfsuaug(Tgn)aauacaGfuGfuagaasasg | 541 | CUUUCUACACUGUAUUACAUAAA | 542 |
| AD-392872 | uscsuac(Ahd)CfuGfUfAfuuacauaaaau | 543 | asUfsuuau(Ggn)uaauacAfgUfguagasasa | 544 | UUUCUACACUGUAUUACAUAAAU | 545 |
| AD-392873 | csusuuu(Ahd)AfgAfUfGfugucucaau | 546 | asUfsugaa(Ggn)acacauCfuUfaaagsasa | 547 | UUCUUUUAAGAUGUGUCUCAAU | 548 |
| AD-392874 | asusgug(Uhd)CfuUfCfAfauuguauaa | 549 | usUfsauac(Agn)aauugaAfgAfcacauscsu | 550 | AGAUGUGUCUUCAAUUGUAUAA | 551 |
| AD-392875 | asuscaa(Ahd)AfaUfUfGfguguucuuug | 552 | csAfsaaga(Agn)caccaaUfuUfuugausgsa | 553 | UCAUCAAAAAUUGGUGUUCUUUG | 554 |
| AD-392876 | asasauc(Chd)AfaCfCfUfacaaguucuu | 555 | asAfsgaac(Tgn)uguaggUfuGfgauuususc | 556 | GAAAAUCCAACCUACAAGUUCUU | 557 |
| AD-392877 | gsusacu(Ghd)UfaAfAfGfaauuuagcuu | 558 | asAfsgcua(Agn)auucuuUfaCfaguacsasc | 559 | GUGUACUGUAAAGAAUUUAGCUG | 560 |
| AD-392878 | csusccu(Ghd)AfuUfAfUfuuaucacaua | 561 | usAfsugug(Agn)uaaauaAfuCfaggagsasg | 562 | CUCUCCUGAUUAUUUAUCACAUA | 563 |
| AD-392879 | gscscag(Uhd)UfgUfAfUfauuauucuuu | 564 | asAfsagaa(Tgn)aauauaCfaAfcuggcsusa | 565 | UAGCCAGUUGUAUAUUAUUCUUG | 566 |
| AD-392880 | asasuua(Ahd)GfuCfCfUfacuuuacaua | 567 | usAfsugua(Agn)aguaggAfcUfuaauusgsg | 568 | CCAAUUAAGUCCUACUUUACAUA | 569 |
| AD-392881 | csusugc(Chd)UfaAfGfUfauccuuucu | 570 | asGfsaaag(Ggn)aauacuUfaGfgcaagsasg | 571 | CUCUUGCCUAAGUAUUCCUUUCC | 572 |
| AD-392882 | asusucc(Uhd)UfuCfCfUfgaucacuauu | 573 | asAfsuagu(Ggn)aucaggAfaAfggaausasc | 574 | GUAUUCCUUUCCUGAUCACUAUG | 575 |
| AD-392883 | ascsuau(Ghd)CfaUfUfUfuaaaguuaaa | 576 | usUfsuaac(Tgn)uuaaaaUfgCfauagusgsa | 577 | UCACUAUGCAUUUUAAAGUUAAA | 578 |

[0969]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392884 | usgsuuc (Ahd) UfuGfUfAfagcacuuuua | 579 | usAfsaaag (Tgn) gcuuacAfaUfgaacasgsg | 580 | CCUGUUCAUUGUAAGCACUUUUA | 581 |
| AD-392885 | asasuua (Chd) CfaAfGfAfauucuccaaa | 582 | usUfsugga (Ggn) aauucuUfgGfuaauusgsa | 583 | UCAAUUACCAAGAAUUCUCCAAA | 584 |
| AD-392886 | ususacc (Ahd) AfgAfAfUfucuccaaaau | 585 | asUfsuuug (Ggn) agaauuCfuUfgguaasusu | 586 | AAUUACCAAGAAUUCUCCAAAAC | 587 |
| AD-392887 | uscsauu (Ghd) CfuUfAfUfgacaugaucu | 588 | asGfsauca (Tgn) gucauaAfgCfaaugasusu | 589 | AAUCAUUGCUUAUGACAUGAUCG | 590 |
| AD-392889 | ususuua (Ahd) GfaUfGfUfgucuucaauu | 591 | asAfsuuga (Agn) gacacaUfcUfuaaaasgsa | 592 | UCUUUUAAGAUGUGUCUUCAAUU | 593 |
| AD-392890 | asusccu (Ghd) UfuAfAfAfcuuccuacaa | 594 | usUfsguag (Ggn) aaguuuAfaCfaggauscsu | 595 | AGAUCCUGUUAAACUUCCUACAA | 596 |
| AD-392891 | ascsuau (Uhd) CfaGfAfUfgacgucuugu | 597 | asCfsaaga (Cgn) gucaucUfgAfauagususu | 598 | AAACUAUUCAGAUGACGUCUUGG | 599 |
| AD-392892 | gsusuca (Uhd) CfaUfCfAfaaaauggguu | 600 | asAfsccaa (Tgn) uuuugaUfgAfugaacsusu | 601 | AAGUUCAUCAUCAAAAAUGGGUG | 602 |
| AD-392893 | usasucu (Chd) UfcUfUfUfUfacauuuuggu | 603 | asCfscaaa (Agn) uguaaaGfaGfagauasgsa | 604 | UCUAUCUCUCUUUACAUUUUGGU | 605 |
| AD-392894 | asuscuc (Uhd) CfuUfUfAfcauuuuggguu | 606 | asAfsccaa (Agn) auguaaAfgAfgagausasg | 607 | CUAUCUCUCUUUACAUUUUGGUC | 608 |
| AD-392895 | usgsugu (Ahd) CfuGfUfAfaagaauuuau | 609 | asUfsaaau (Tgn) cuuuacAfgUfacacasasa | 610 | UUUGUGUACUGUAAAGAAUUUAG | 611 |
| AD-392896 | csusacu (Uhd) UfaCfAfUfaugcuuuaau | 612 | asUfsuaaa (Ggn) cauaugUfaAfaguagsgsa | 613 | UCCUACUUUACAUAUGCUUUAAG | 614 |
| AD-392897 | usgsccu (Ahd) AfgUfAfUfuccuuuccuu | 615 | asAfsggaa (Agn) ggaauaCfuUfaggcasasg | 616 | CUUGCCUAAGUAUUCCUUUCCUG | 617 |
| AD-392898 | asasgua (Uhd) UfcCfUfUfUfuccugaucau | 618 | asUfsgauc (Agn) ggaaagGfaAfuacuusasg | 619 | CUAAGUAUUCCUUUCCUGAUCAC | 620 |
| AD-392899 | gsusauu (Chd) CfuUfUfCfcugaucacua | 621 | usAfsguga (Tgn) caggaaAfgGfaauacsusu | 622 | AAGUAUUCCUUUCCUGAUCACUA | 623 |
| AD-392900 | ususccu (Ghd) AfuCfAfCfuaugcauuuu | 624 | asAfsaaug (Cgn) auagugAfuCfaggaasasg | 625 | CUUUCCUGAUCACUAUGCAUUUU | 626 |
| AD-392901 | csusgau (Chd) AfcUfAfUfUfgcauuuuaaa | 627 | usUfsuaaa (Agn) ugcauaGfuGfaucagsgsa | 628 | UCCUGAUCACUAUGCAUUUUAAA | 629 |
| AD-392902 | csascgu (Ahd) UfcUfUfUfUfggucuuuga | 630 | usCfsaaag (Agn) cccaaaGfaUfacgugsgsa | 631 | UCCACGUAUCUUUGGGUCUUUGA | 632 |
| AD-392903 | usgsggu (Chd) UfuUfGfAfuaaagaaaau | 633 | asUfsuuuc (Tgn) uuaucaAfaGfacccasasa | 634 | UUUGGGUCUUUGAUAAAGAAAAG | 635 |
| AD-392904 | uscsaau (Uhd) AfcCfAfAfgaauucuccа | 636 | usGfsgaga (Agn) uucuugGfuAfauugasasg | 637 | CUUCAAUUACCAAGAAUUCUCCA | 638 |
| AD-392906 | uscsgcu (Uhd) UfcUfAfCfacuguauuau | 639 | asUfsaaua (Cgn) aguguaGfaAfagcgasusc | 640 | GAUCGCUUUCUACACUGUAUUAC | 641 |

[0970]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392907 | asusuuu(Chd)UfuUfAfAfccagucugaa | 642 | usUfscaga(Cgn)ugguuaAfaGfaaaaususg | 643 | CAAUUUUCUUUAACCAGUCUGAA | 644 |
| AD-392908 | csusuua(Ahd)CfcAfGfUfcugaaguuuc | 645 | gsAfsaacu(Tgn)cagacuGfgUfuaaagsasa | 646 | UUCUUUAACCAGUCUGAAGUUUC | 647 |
| AD-392909 | usasaga(Uhd)GfuGfUfCfcuucaauuugu | 648 | asCfsaaau(Tgn)gaagacAfcAfucuuasasa | 649 | UUUAAGAUGUGUCUUCAAUUUGU | 650 |
| AD-392910 | gsasucc(Uhd)GfuUfAfAfacuuccuaca | 651 | usGfsuagg(Agn)aguuuaAfcAfggaucsusc | 652 | GAGAUCCUGUUAAACUUCCUACA | 653 |
| AD-392911 | csusgcu(Uhd)CfaGfAfAfagagcaaaau | 654 | asUfsuuug(Cgn)ucuuucUfgAfagcagscsu | 655 | AGCUGCUUCAGAAAGAGCAAAAC | 656 |
| AD-392912 | csasgaa(Ahd)GfaGfCfAfaaacuauuca | 657 | usGfsaaua(Ggn)uuuugcUfcUfuucugsasa | 658 | UUCAGAAAGAGCAAAACUAUUCA | 659 |
| AD-392913 | usasuga(Ahd)GfuUfCfAfucaucaaaaa | 660 | usUfsuuug(Agn)ugaugaAfcUfucauasusc | 661 | GAUAUGAAGUUCAUCAUCAAAAA | 662 |
| AD-392914 | csasuca(Uhd)CfaAfAfAfauuggugauu | 663 | asAfsacac(Cgn)aauuuuUfgAfugaugsasa | 664 | UUCAUCAUCAAAAAUUGGUGUUC | 665 |
| AD-392915 | uscsaaa(Ahd)AfuUfGfGfuguucuuugu | 666 | asCfsaaag(Agn)acaccaAfuUfuuugasusg | 667 | CAUCAAAAAUUGGUGUUCUUUGC | 668 |
| AD-392916 | asasaau(Chd)CfaAfCfCfcuacaaguucu | 669 | asGfsaacu(Tgn)guagguUfgGfauuuuscsg | 670 | CGAAAAUCCAACCUACAAGUUCU | 671 |
| AD-392917 | cscsaac(Chd)UfaCfAfAfguucuuugau | 672 | asUfscaaa(Ggn)aacuugUfaGfguuggsasu | 673 | AUCCAACCUACAAGUUCUUUGAG | 674 |
| AD-392918 | ascsuca(Uhd)UfaUfCfGfccuuuugaca | 675 | usGfsucaa(Agn)aggcgaUfaAfugagusasa | 676 | UUACUCAUUAUCGCCUUUUGACA | 677 |
| AD-392919 | csuscau(Uhd)AfuCfGfCfcuuuugacau | 678 | asUfsguca(Agn)aaggcgAfuAfaugagsusa | 679 | UACUCAUUAUCGCCUUUUGACAG | 680 |
| AD-392920 | usgsugc(Uhd)GfuAfAfCfacaaguagau | 681 | asUfscuac(Tgn)uguguuAfcAfgcacasgsc | 682 | GCUGUGCUGUUAACACAAGUAGAU | 683 |
| AD-392921 | gsusgcu(Ghd)UfaAfCfAfcaaguagauu | 684 | asAfsucua(Cgn)uuguguUfaCfagcacsasg | 685 | CUGUGCUGUUAACACAAGUAGAUG | 686 |
| AD-392922 | uscsuuu(Ahd)CfaUfUfUfuggucucuau | 687 | asUfsagag(Agn)ccaaaaUfgUfaaagasgsa | 688 | UCUCUUUACAUUUUGGUCUCUAU | 689 |
| AD-392923 | asusggg(Uhd)UfuUfGfUfguacuguaaa | 690 | usUfsuaca(Ggn)uacacaAfaAfcccaususa | 691 | UAAUGGGUUUUGUGUACUGUAAA | 692 |
| AD-392924 | ususgug(Uhd)AfcUfGfUfaaagaauuua | 693 | usAfsaauu(Cgn)uuuacaGfuAfcacaasasa | 694 | UUUUGUGUACUGUAAAGAAUUUA | 695 |
| AD-392925 | gscsugu(Ahd)UfcAfAfAfcuagugcauu | 696 | asAfsugca(Cgn)uaguuuGfaUfacagcsusa | 697 | UAGCUGUAUCAAACUAGUGCAUG | 698 |
| AD-392926 | csusagu(Ghd)CfaUfGfAfauagauucuu | 699 | asAfsgaau(Cgn)uauucaUfgCfacuagsusu | 700 | AACUAGUGCAUGAAUAGAUUCUC | 701 |
| AD-392927 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucu | 702 | asGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 703 | ACUAGUGCAUGAAUAGAUUCUCU | 704 |

[0971]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392928 | csuscuc(Chd)UfgAfUfUfUfauuuaucaca | 705 | usGfsugau(Agn)aauaauCfaGfgagagsasa | 706 | UUCUCUCCUGAUUAUUUAUCACA | 707 |
| AD-392929 | cscsuga(Uhd)UfaUfUfUfUfaucacauagu | 708 | asCfsuaug(Tgn)gauaaaUfaAfucaggsasg | 709 | CUCCUGAUUAUUUAUCACAUAGC | 710 |
| AD-392930 | usasagu(Chd)CfuAfCfUfUfuuacauaugu | 711 | asCfsauau(Ggn)uaaaguAfgGfacuuasasu | 712 | AUUAAGUCCUACUUUACAUAUGC | 713 |
| AD-392931 | asgsucc(Uhd)AfcUfUfUfUfacauaugcuu | 714 | asAfsgcau(Agn)uguaaaGfuAfggacususa | 715 | UAAGUCCUACUUUACAUAUGCUU | 716 |
| AD-392932 | gsusccu(Ahd)CfuUfUfUfAfcauaugcuuu | 717 | asAfsagca(Tgn)auguaaAfgUfaggacsusu | 718 | AAGUCCUACUUUACAUAUGCUUU | 719 |
| AD-392933 | ususcuc(Uhd)UfgCfCfUfUfaaguauuccu | 720 | asGfsgaau(Agn)cuuaggCfaAfgagaasgsc | 721 | GCUUCCUCUGCCUAAGUAUUCCU | 722 |
| AD-392934 | csuscuu(Ghd)CfcUfAfAfAfguauuccuuu | 723 | asAfsagga(Agn)uacuuaGfgCfaagagsasa | 724 | UUCUCUUGCCUAAGUAUUCCUUU | 725 |
| AD-392935 | usasuuc(Chd)UfuUfCfCfUfgaucacuau | 726 | asUfsagug(Agn)ucaggaAfaGfgaauascsu | 727 | AGUAUUCCUUUCCUGAUCACUAU | 728 |
| AD-392936 | ususucc(Uhd)GfaUfCfCfAfcuaugcauuu | 729 | asAfsaugc(Agn)uagugaUfcAfggaaasgsg | 730 | CCUUUCCUGAUCACUAUGCAUUU | 731 |
| AD-392937 | csascua(Uhd)GfcAfUfUfUfuuaaaguuaa | 732 | usUfsaacu(Tgn)uaaaauGfcAfuagugsasu | 733 | AUCACUAUGCAUUUUAAAGUUAA | 734 |
| AD-392938 | csusgca(Uhd)UfuUfAfCfUfguacagauu | 735 | asAfsucug(Tgn)acaguaAfaAfugcagsusc | 736 | GACUGCAUUUUACUGUACAGAUU | 737 |
| AD-392939 | ususcug(Chd)UfaUfAfUfUfuugugauaua | 738 | usAfsuauc(Agn)caaauaUfaGfcagaasgsc | 739 | GCUUCUGCUAUAUUUGUGAUAUA | 740 |
| AD-392940 | uscsugc(Uhd)AfuAfUfUfUfugugauauau | 741 | asUfsauau(Cgn)acaaauAfuAfgcagasasg | 742 | CUUCUGCUAUAUUUGUGAUAUAG | 743 |
| AD-392941 | ascsgua(Uhd)CfuUfUfGfggucuuugau | 744 | asUfscaaa(Ggn)acccaaAfgAfuacgusgsg | 745 | CCACGUAUCUUUGGGUCUUUGAU | 746 |
| AD-392942 | uscsuuu(Ghd)GfgUfCfUfUfuugauaaaga | 747 | usCfsuuua(Tgn)caaagaCfcCfaaagasusa | 748 | UAUCUUUGGGUCUUUGAUAAAGA | 749 |
| AD-392943 | csusuug(Ghd)GfuCfUfUfUfugauaaagaa | 750 | usUfscuuu(Agn)ucaaagAfcCfcaaagsasu | 751 | AUCUUUGGGUCUUUGAUAAAGAA | 752 |
| AD-392944 | ususggg(Uhd)CfuUfUfGfauaaagaaaa | 753 | usUfsuucu(Tgn)uaucaaAfgAfcccaasasg | 754 | CUUUGGGUCUUUGAUAAAGAAAA | 755 |
| AD-392945 | asgsaau(Chd)CfcUfGfUfUfcauuguaaau | 756 | asUfsuaca(Agn)ugaacaGfgGfauucususu | 757 | AAAGAAUCCCUGUUCAUUGUAAG | 758 |
| AD-392946 | gsasauc(Chd)CfuGfUfUfUfcauuguaagu | 759 | asCfsuuac(Agn)augaacAfgGfgauucsusu | 760 | AAGAAUCCCUGUUCAUUGUAAGC | 761 |
| AD-392947 | gsusuca(Uhd)UfgUfAfAfAfgcacuuuuau | 762 | asUfsaaaa(Ggn)ugcuuaCfaAfugaacsasg | 763 | CUGUUCAUUGUAAGCACUUUUAC | 764 |
| AD-392948 | ususaug(Ahd)CfaUfGfAfUfcgcuuucua | 765 | usAfsgaaa(Ggn)cgaucaUfgUfcauaasgsc | 766 | GCUUAUGACAUGAUCGCUUUCUA | 767 |

[0972]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392949 | asusgac(Ahd)UfgAfUfCfgcuuucuaca | 768 | usGfsuaga(Agn)agcgauCfaUfgucausasa | 769 | UUAUGACAUGAUCGCUUUCUACA | 770 |
| AD-392950 | csasuga(Uhd)CfgCfUfUfUfucuacacugu | 771 | asCfsagug(Tgn)agaaagCfgAfucaugsusc | 772 | GACAUGAUCGCUUUCUACACUGU | 773 |
| AD-392951 | csusuuc(Uhd)AfcAfCfUfguauuacaua | 774 | usAfsugua(Agn)uacaguGfuAfgaaagscsg | 775 | CGCUUUCUACACUGUAUUACAUA | 776 |
| AD-392952 | gsasuuc(Ahd)AfuUfUfUfcuuuaaccau | 777 | asUfsgguu(Agn)aagaaaAfuUfgaaucsusg | 778 | CAGAUUCAAUUUUCUUUAACCAG | 779 |
| AD-392953 | ususucu(Uhd)UfaAfCfCfagucugaagu | 780 | asCfsuuca(Ggn)acugguUfaAfagaaasasu | 781 | AUUUUCUUUAACCAGUCUGAAGU | 782 |
| AD-392954 | ususuaa(Ghd)AfuGfUfGfucuucaauuu | 783 | asAfsauug(Agn)agacacAfuCfuuaaasasg | 784 | CUUUUAAGAUGUGUCUUCAAUUU | 785 |
| AD-392955 | ususaag(Ahd)UfgUfGfUfcuucaauuug | 786 | csAfsaauu(Ggn)aagacaCfaUfcuuaasasa | 787 | UUUUAAGAUGUGUCUUCAAUUUG | 788 |
| AD-392956 | asgsaug(Uhd)GfuCfUfUfcaauuuguau | 789 | asUfsacaa(Agn)uugaagAfcAfcaucususa | 790 | UAAGAUGUGUCUUCAAUUUGUAU | 791 |
| AD-392957 | usgsucu(Uhd)CfaAfUfUfuguauaaaau | 792 | asUfsuuua(Tgn)acaaauUfgAfagacascsa | 793 | UGUGUCUUCAAUUUGUAUAAAAU | 794 |
| AD-392958 | csusuca(Ahd)UfuUfGfUfauaaaauggu | 795 | asCfscauu(Tgn)uauacaAfaUfugaagsasc | 796 | GUCUUCAAUUUGUAUAAAAUGGU | 797 |
| AD-392959 | asusggu(Ghd)UfuUfUfCfauguaaauaa | 798 | usUfsauuu(Agn)caugaaAfaCfaccaususu | 799 | AAAUGGUGUUUUCAUGUAAAUAA | 800 |
| AD-392960 | ususceuu(Uhd)UfaAfGfAfugucuuca | 801 | usGfsaaga(Cgn)acaucuUfaAfaagaasgsg | 802 | CCUUCUUUUAAGAUGUCUUCA | 803 |
| AD-392961 | usgsuau(Uhd)CfuAfUfCfucucuuuaca | 804 | usGfsuaaa(Ggn)agagauAfgAfauacasusu | 805 | AAUGUAUUCUAUCUCUCUUUACA | 806 |
| AD-392962 | gsuscuc(Uhd)AfuAfCfUfacauuauuaa | 807 | usUfsaaua(Agn)uguaguAfuAfgagacscsa | 808 | UGGUCUCUAUACUACAUUAUUAA | 809 |
| AD-392963 | uscsucu(Ahd)UfaCfUfAfcauuauuaau | 810 | asUfsuaau(Agn)auguagUfaUfagagascsc | 811 | GGUCUCUAUACUACAUUAUUAAU | 812 |
| AD-392964 | csuscua(Uhd)AfcUfAfCfauuauuaauu | 813 | asAfsuuaa(Tgn)aauguaGfuAfuagagsasc | 814 | GUCUCUAUACUACAUUAUUAAUG | 815 |
| AD-392965 | csusuca(Ahd)UfuAfCfCfaagaauucuu | 816 | asAfsgaau(Tgn)cuugguAfaUfugaagsasc | 817 | GUCUUCAAUUACCAAGAAUUCUC | 818 |
| AD-392966 | cscsaca(Chd)AfuCfAfGfuaauguauuu | 819 | asAfsauac(Agn)uuacugAfuGfuguggsasu | 820 | AUCCACACAUCAGUAAUGUAUUC | 821 |
| AD-392967 | csusauc(Uhd)CfuCfUfUfuacauuuugu | 822 | asCfsaaaa(Tgn)guaaagAfgAfgauagsasa | 823 | UUCUAUCUCUCUUUACAUUUUGG | 824 |
| AD-392968 | gsgsucu(Chd)UfaUfAfCfuacauuauua | 825 | usAfsauaa(Tgn)guaguaUfaGfagaccsasa | 826 | UUGGUCUCUAUACUACAUUAUUA | 827 |
| AD-392969 | uscsuau(Ahd)CfuAfCfAfuauuaaugu | 828 | asCfsauua(Agn)uaauguAfgUfauagasgsa | 829 | UCUCUAUACUACAUUAUUAAUGG | 830 |

[0973]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392970 | gsgsucu(Uhd)CfaAfUfUfaccaagaauu | 831 | asAfsuucu(Tgn)gguaauUfgAfagaccsasg | 832 | CUGGUCUUCAAUUACCAAGAAUU | 833 |
| AD-392971 | csasgga(Uhd)AfuGfAfAfguucaucauu | 834 | asAfsugau(Ggn)aacuucAfuAfuccugsasg | 835 | CUCAGGAUAUGAAGUUCAUCAUC | 836 |
| AD-392972 | ascsaca(Uhd)CfaGfUfAfauguauucua | 837 | usAfsgaau(Agn)cauuacUfgAfuguguscsg | 838 | CCACACAUCAGUAAUGUAUUCUA | 839 |
| AD-392973 | csusaua(Chd)UfaCfAfUfuauuaauggu | 840 | asCfscauu(Agn)auaaugUfaGfuauagsasg | 841 | CUCUAUACUACAUUAUUAAUGGG | 842 |
| AD-392974 | cscscgu(Uhd)UfuAfUfGfauuuacucau | 843 | asUfsgagu(Agn)aaucauAfaAfacgggsusu | 844 | AACCCGUUUUAUGAUUUACUCAU | 845 |
| AD-392975 | ususcca(Uhd)GfaCfUfGfcauuuuacuu | 846 | asAfsguaa(Agn)augcagUfcAfuggaasasa | 847 | UUUUCCAUGACUGCAUUUUACUG | 848 |
| AD-392976 | uscsuuc(Ahd)AfuUfAfCfcaagaauucu | 849 | asGfsaauu(Cgn)uugguaAfuUfgaagascsc | 850 | GGUCUUCAAUUACCAAGAAUUCU | 851 |
| AD-392977 | csusgaa(Ghd)UfuUfCfAfuuuaugauau | 852 | asUfsauca(Tgn)aaaugaAfaCfuucagsasc | 853 | GUCUGAAGUUUCAUUUAUGAUAC | 854 |

表3. APP未经修饰的序列，人类NM_000484标靶

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | Position in NM_000484 | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 在NM_000484中的位置 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392853 | GCGCCAUGUCCCAAAGUUUAU | 855 | 1228-1248 | AUAAACUUUGGGACAUGGCGCUG | 856 | 1226-1248 |
| AD-392857 | CUUGCCCGAGAUCCUGUUAAA | 857 | 1269-1289 | UUUAACAGGAUCUCGGGCAAGAG | 858 | 1267-1289 |
| AD-392851 | UUGCCCGAGAUCCUGUUAAAU | 859 | 1270-1290 | AUUUAACAGGAUCUCGGGCAAGA | 860 | 1268-1290 |
| AD-392811 | UGCCCGAGAUCCUGUUAAACU | 861 | 1271-1291 | AGUUUAACAGGAUCUCGGGCAAG | 862 | 1269-1291 |
| AD-392910 | GAUCCUGUUAAACUCCUACA | 863 | 1278-1298 | UGUAGGAAGUUUAACAGGAUCUC | 864 | 1276-1298 |
| AD-392890 | AUCCUGUUAAACUUCCUACAA | 865 | 1279-1299 | UUGUAGGAAGUUUAACAGGAUCU | 866 | 1277-1299 |
| AD-392911 | CUGCUUCAGAAAGAGCAAAAU | 867 | 1893-1913 | AUUUUGCUCUUUCUGAAGCAGCU | 868 | 1891-1913 |

[0974]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392912 | CAGAAAGAGCAAAACUAUUCA | 869 | 1899-1919 | UGAAUAGUUUUGCUCUUUCUGAA | 870 | 1897-1919 |
| AD-392778 | GAGCAAAACUAUUCAGAUGAU | 871 | 1905-1925 | AUCAUCUGAAUAGUUUUGCUCUU | 872 | 1903-1925 |
| AD-392727 | AAAACUAUUCAGAUGACGUCU | 873 | 1909-1929 | AGACGUCAUCUGAAUAGUUUUGC | 874 | 1907-1929 |
| AD-392728 | AAACUAUUCAGAUGACGUCUU | 875 | 1910-1930 | AAGACGTCAUCUGAAUAGUUUUG | 876 | 1908-1930 |
| AD-392891 | ACUAUUCAGAUGACGUCUUGU | 877 | 1912-1932 | ACAAGACGUCAUCUGAAUAGUUU | 878 | 1910-1932 |
| AD-392822 | UUCAGAUGACGUCUUGGCCAA | 879 | 1916-1936 | UUGGCCAAGACGUCAUCUGAAUA | 880 | 1914-1936 |
| AD-392749 | GGCCAACAUGAUUAGUGAACU | 881 | 1931-1951 | AGUUCACUAAUCAUGUUGGCCAA | 882 | 1929-1951 |
| AD-392794 | CCAACAUGAUUAGUGAACCAA | 883 | 1933-1953 | UUGGUUCACUAAUCAUGUUGGCC | 884 | 1931-1953 |
| AD-392795 | AUGAUUAGUGAACCAAGGAUU | 885 | 1938-1958 | AAUCCUTGGUUCACUAAUCAUGU | 886 | 1936-1958 |
| AD-392812 | AUUAGUGAACCAAGGAUCAGU | 887 | 1941-1961 | ACUGAUCCUUGGUUCACUAAUCA | 888 | 1939-1961 |
| AD-392796 | UUAGUGAACCAAGGAUCAGUU | 889 | 1942-1962 | AACUGATCCUUGGUUCACUAAUC | 890 | 1940-1962 |
| AD-392779 | AGUGAACCAAGGAUCAGUUAU | 891 | 1944-1964 | AUAACUGAUCCUUGGUUCACUAA | 892 | 1942-1964 |
| AD-392780 | UGAACCAAGGAUCAGUUACGU | 893 | 1946-1966 | ACGUAACUGAUCCUUGGUUCACU | 894 | 1944-1966 |
| AD-392813 | GAACCAAGGAUCAGUUACGGA | 895 | 1947-1967 | UCCGUAACUGAUCCUUGGUUCAC | 896 | 1945-1967 |
| AD-392797 | AACCAAGGAUCAGUUACGGAA | 897 | 1948-1968 | UUCCGUAACUGAUCCUUGGUUCA | 898 | 1946-1968 |
| AD-392761 | CAAGGAUCAGUUACGGAAACU | 899 | 1951-1971 | AGUUUCCGUAACUGAUCCUUGGU | 900 | 1949-1971 |
| AD-392814 | AAGGAUCAGUUACGGAAACGA | 901 | 1952-1972 | UCGUUUCCGUAACUGAUCCUUGG | 902 | 1950-1972 |
| AD-392742 | GGAUCAGUUACGGAAACGAUU | 903 | 1954-1974 | AAUCGUTUCCGUAACUGAUCCUU | 904 | 1952-1974 |
| AD-392750 | GAUCAGUUACGGAAACGAUGU | 905 | 1955-1975 | ACAUCGTUUCCGUAACUGAUCCU | 906 | 1953-1975 |
| AD-392823 | AUCAGUUACGGAAACGAUGCU | 907 | 1956-1976 | AGCAUCGUUUCCGUAACUGAUCC | 908 | 1954-1976 |
| AD-392789 | UCAGUUACGGAAACGAUGCUU | 909 | 1957-1977 | AAGCAUCGUUUCCGUAACUGAUC | 910 | 1955-1977 |
| AD-392781 | CAGUUACGGAAACGAUGCUCU | 911 | 1958-1978 | AGAGCATCGUUUCCGUAACUGAU | 912 | 1956-1978 |
| AD-392798 | GUUACGGAAACGAUGCUCUCA | 913 | 1960-1980 | UGAGAGCAUCGUUUCCGUAACUG | 914 | 1958-1980 |

[0975]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392751 | UACGGAAACGAUGCUCUCAUU | 915 | 1962-1982 | AAUGAGAGCAUCGUUUCCGUAAC | 916 | 1960-1982 |
| AD-392858 | CUCAUGCCAUCUUUGACCGAA | 917 | 1977-1997 | UUCGGUCAAAGAUGGCAUGAGAG | 918 | 1975-1997 |
| AD-392844 | UCAUGCCAUCUUUGACCGAAA | 919 | 1978-1998 | UUUCGGUCAAAGAUGGCAUGAGA | 920 | 1976-1998 |
| AD-392842 | CAUGCCAUCUUUGACCGAAAU | 921 | 1979-1999 | AUUUCGGUCAAAGAUGGCAUGAG | 922 | 1977-1999 |
| AD-392848 | AUGCCAUCUUUGACCGAAACU | 923 | 1980-2000 | AGUUUCGGUCAAAGAUGGCAUGA | 924 | 1978-2000 |
| AD-392838 | GCCAUCUUUGACCGAAACGAA | 925 | 1982-2002 | UUCGUUTCGGUCAAAGAUGGCAU | 926 | 1980-2002 |
| AD-392839 | CCAUCUUUGACCGAAACGAAA | 927 | 1983-2003 | UUUCGUTUCGGUCAAAGAUGGCA | 928 | 1981-2003 |
| AD-392734 | UCUUUGACCGAAACGAAAACU | 929 | 1986-2006 | AGUUUUCGUUUCGGUCAAAGAUG | 930 | 1984-2006 |
| AD-392790 | CUUCCCGUGAAUGGAGAGUUU | 931 | 2019-2039 | AAACUCTCCAUUCACGGGAAGGA | 932 | 2017-2039 |
| AD-392815 | CAACACAGAAAACGAAGUUGA | 933 | 2093-2113 | UCAACUTCGUUUUCUGUGUUGGC | 934 | 2091-2113 |
| AD-392762 | AGGUUCUGGGUUGACAAAUAU | 935 | 2162-2182 | AUAUUUGUCAACCCAGAACCUGG | 936 | 2160-2182 |
| AD-392735 | GUUCUGGGUUGACAAAUAUCA | 937 | 2164-2184 | UGAUAUTUGUCAACCCAGAACCU | 938 | 2162-2184 |
| AD-392743 | CUGGGUUGACAAAUAUCAAGA | 939 | 2167-2187 | UCUUGATAUUUGUCAACCCAGAA | 940 | 2165-2187 |
| AD-392736 | UGGGUUGACAAAUAUCAAGAU | 941 | 2168-2188 | AUCUUGAUAUUUGUCAACCCAGA | 942 | 2166-2188 |
| AD-392824 | UGGAUGCAGAAUUCCGACAUU | 943 | 2212-2232 | AAUGUCGGAAUUCUGCAUCCAUC | 944 | 2210-2232 |
| AD-392799 | GAUGCAGAAUUCCGACAUGAU | 945 | 2214-2234 | AUCAUGTCGGAAUUCUGCAUCCA | 946 | 2212-2234 |
| AD-392971 | CAGGAUAUGAAGUUCAUCAUU | 947 | 2236-2256 | AAUGAUGAACUUCAUAUCCUGAG | 948 | 2234-2256 |
| AD-392913 | UAUGAAGUUCAUCAUCAAAAA | 949 | 2241-2261 | UUUUUGAUGAUGAACUUCAUAUC | 950 | 2239-2261 |
| AD-392892 | GUUCAUCAUCAAAAAUUGGUU | 951 | 2247-2267 | AACCAATUUUUGAUGAUGAACUU | 952 | 2245-2267 |
| AD-392914 | CAUCAUCAAAAAUUGGUGUUU | 953 | 2250-2270 | AAACACCAAUUUUUGAUGAUGAA | 954 | 2248-2270 |
| AD-392860 | CAUCAAAAAUUGGUGUUCUUU | 955 | 2253-2273 | AAAGAACACCAAUUUUUGAUGAU | 956 | 2251-2273 |
| AD-392875 | AUCAAAAAUUGGUGUUCUUUG | 957 | 2254-2274 | CAAAGAACACCAAUUUUUGAUGA | 958 | 2252-2274 |
| AD-392915 | UCAAAAAUUGGUGUUCUUUGU | 959 | 2255-2275 | ACAAAGAACACCAAUUUUUGAUG | 960 | 2253-2275 |

[0976]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392782 | AGAAGAUGUGGGUUCAAACAA | 961 | 2276-2296 | UUGUUUGAACCCACAUCUUCUGC | 962 | 2274-2296 |
| AD-392763 | AAGAUGUGGGUUCAAACAAAU | 963 | 2278-2298 | AUUUGUUUGAACCCACAUCUUCU | 964 | 2276-2298 |
| AD-392816 | UGGGUUCAAACAAAGGUGCAA | 965 | 2284-2304 | UUGCACCUUUGUUUGAACCCACA | 966 | 2282-2304 |
| AD-392704 | GGUUCAAACAAAGGUGCAAUU | 967 | 2286-2306 | AAUUGCACCUUUGUUUGAACCCA | 968 | 2284-2306 |
| AD-392854 | GUCAUAGCGACAGUGAUCGUU | 969 | 2331-2351 | AACGAUCACUGUCGCUAUGACAA | 970 | 2329-2351 |
| AD-392856 | AUAGCGACAGUGAUCGUCAUU | 971 | 2334-2354 | AAUGACGAUCACUGUCGCUAUGA | 972 | 2332-2354 |
| AD-392817 | CAGUGAUCGUCAUCACCUUGU | 973 | 2341-2361 | ACAAGGTGAUGACGAUCACUGUC | 974 | 2339-2361 |
| AD-392764 | CUGAAGAAGAAACAGUACACA | 975 | 2367-2387 | UGUGUACUGUUUCUUCUUCAGCA | 976 | 2365-2387 |
| AD-392845 | CAGUACACAUCCAUUCAUCAU | 977 | 2379-2399 | AUGAUGAAUGGAUGUGUACUGUU | 978 | 2377-2399 |
| AD-392825 | GUCCAAGAUGCAGCAGAACGU | 979 | 2447-2467 | ACGUUCTGCUGCAUCUUGGACAG | 980 | 2445-2467 |
| AD-392849 | GAACGGCUACGAAAAUCCAAU | 981 | 2462-2482 | AUUGGATUUUCGUAGCCGUUCUG | 982 | 2460-2482 |
| AD-392846 | AACGGCUACGAAAAUCCAACU | 983 | 2463-2483 | AGUUGGAUUUUCGUAGCCGUUCU | 984 | 2461-2483 |
| AD-392859 | ACGGCUACGAAAAUCCAACCU | 985 | 2464-2484 | AGGUUGGAUUUUCGUAGCCGUUC | 986 | 2462-2484 |
| AD-392843 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAU | 987 | 2466-2486 | AUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 988 | 2464-2486 |
| AD-392855 | GCUACGAAAAUCCAACCUACA | 989 | 2467-2487 | UGUAGGTUGGAUUUUCGUAGCCG | 990 | 2465-2487 |
| AD-392840 | CUACGAAAAUCCAACCUACAA | 991 | 2468-2488 | UUGUAGGUUGGAUUUUCGUAGCC | 992 | 2466-2488 |
| AD-392835 | UACGAAAAUCCAACCUACAAU | 993 | 2469-2489 | AUUGUAGGUUGGAUUUUCGUAGC | 994 | 2467-2489 |
| AD-392729 | ACGAAAAUCCAACCUACAAGU | 995 | 2470-2490 | ACUUGUAGGUUGGAUUUUCGUAG | 996 | 2468-2490 |
| AD-392916 | AAAAUCCAACCUACAAGUUCU | 997 | 2473-2493 | AGAACUTGUAGGUUGGAUUUUCG | 998 | 2471-2493 |
| AD-392876 | AAAUCCAACCUACAAGUUCUU | 999 | 2474-2494 | AAGAACTUGUAGGUUGGAUUUUC | 1000 | 2472-2494 |
| AD-392861 | AUCCAACCUACAAGUUCUUUG | 1001 | 2476-2496 | CAAAGAACUUGUAGGUUGGAUUU | 1002 | 2474-2496 |
| AD-392863 | UCCAACCUACAAGUUCUUUGA | 1003 | 2477-2497 | UCAAAGAACUUGUAGGUUGGAUU | 1004 | 2475-2497 |
| AD-392917 | CCAACCUACAAGUUCUUUGAU | 1005 | 2478-2498 | AUCAAAGAACUUGUAGGUUGGAU | 1006 | 2476-2498 |

[0977]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392783 | CCUCUGAAGUUGGACAGCAAA | 1007 | 2530-2550 | UUUGCUGUCCAACUUCAGAGGCU | 1008 | 2528-2550 |
| AD-392765 | AAGUUGGACAGCAAAACCAUU | 1009 | 2536-2556 | AAUGGUTUUGCUGUCCAACUUCA | 1010 | 2534-2556 |
| AD-392791 | AGUUGGACAGCAAAACCAUUU | 1011 | 2537-2557 | AAAUGGTUUUGCUGUCCAACUUC | 1012 | 2535-2557 |
| AD-392800 | UUGGACAGCAAAACCAUUGCU | 1013 | 2539-2559 | AGCAAUGGUUUUGCUGUCCAACU | 1014 | 2537-2559 |
| AD-392711 | GCAAAACCAUUGCUUCACUAU | 1015 | 2546-2566 | AUAGUGAAGCAAUGGUUUUGCUG | 1016 | 2544-2566 |
| AD-392801 | AAACCAUUGCUUCACUACCCA | 1017 | 2549-2569 | UGGGUAGUGAAGCAAUGGUUUUG | 1018 | 2547-2569 |
| AD-392826 | UACCCAUCGGUGUCCAUUUAU | 1019 | 2564-2584 | AUAAAUGGACACCGAUGGGUAGU | 1020 | 2562-2584 |
| AD-392818 | ACCCAUCGGUGUCCAUUUAUA | 1021 | 2565-2585 | UAUAAATGGACACCGAUGGGUAG | 1022 | 2563-2585 |
| AD-392792 | CCCAUCGGUGUCCAUUUAUAU | 1023 | 2566-2586 | AUAUAAAUGGACACCGAUGGGUA | 1024 | 2564-2586 |
| AD-392802 | CCAUCGGUGUCCAUUUAUAGA | 1025 | 2567-2587 | UCUAUAAAUGGACACCGAUGGGU | 1026 | 2565-2587 |
| AD-392766 | AUCGGUGUCCAUUUAUAGAAU | 1027 | 2569-2589 | AUUCUATAAAUGGACACCGAUGG | 1028 | 2567-2589 |
| AD-392767 | UCGGUGUCCAUUUAUAGAAUA | 1029 | 2570-2590 | UAUUCUAUAAAUGGACACCGAUG | 1030 | 2568-2590 |
| AD-392834 | ACCCGUUUUAUGAUUUACUCA | 1031 | 2607-2627 | UGAGUAAAUCAUAAAACGGGUUU | 1032 | 2605-2627 |
| AD-392974 | CCCGUUUUAUGAUUUACUCAU | 1033 | 2608-2628 | AUGAGUAAAUCAUAAAACGGGUU | 1034 | 2606-2628 |
| AD-392784 | UUAUGAUUUACUCAUUAUCGU | 1035 | 2614-2634 | ACGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAA | 1036 | 2612-2634 |
| AD-392744 | AUGAUUUACUCAUUAUCGCCU | 1037 | 2616-2636 | AGGCGATAAUGAGUAAAUCAUAA | 1038 | 2614-2636 |
| AD-392752 | UGAUUUACUCAUUAUCGCCUU | 1039 | 2617-2637 | AAGGCGAUAAUGAGUAAAUCAUA | 1040 | 2615-2637 |
| AD-392737 | GAUUUACUCAUUAUCGCCUUU | 1041 | 2618-2638 | AAAGGCGAUAAUGAGUAAAUCAU | 1042 | 2616-2638 |
| AD-392712 | AUUUACUCAUUAUCGCCUUUU | 1043 | 2619-2639 | AAAAGGCGAUAAUGAGUAAAUCA | 1044 | 2617-2639 |
| AD-392705 | UUUACUCAUUAUCGCCUUUUG | 1045 | 2620-2640 | CAAAAGGCGAUAAUGAGUAAAUC | 1046 | 2618-2640 |
| AD-392713 | UACUCAUUAUCGCCUUUUGAU | 1047 | 2622-2642 | AUCAAAAGGCGAUAAUGAGUAAA | 1048 | 2620-2642 |
| AD-392918 | ACUCAUUAUCGCCUUUUGACA | 1049 | 2623-2643 | UGUCAAAAGGCGAUAAUGAGUAA | 1050 | 2621-2643 |
| AD-392919 | CUCAUUAUCGCCUUUUGACAU | 1051 | 2624-2644 | AUGUCAAAAGGCGAUAAUGAGUA | 1052 | 2622-2644 |

[0978]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392803 | UUAUCGCCUUUUGACAGCUGU | 1053 | 2628-2648 | ACAGCUGUCAAAAGGCGAUAAUG | 1054 | 2626-2648 |
| AD-392804 | AUCGCCUUUUGACAGCUGUGU | 1055 | 2630-2650 | ACACAGCUGUCAAAAGGCGAUAA | 1056 | 2628-2650 |
| AD-392827 | UUUUGACAGCUGUGCUGUAAU | 1057 | 2636-2656 | AUUACAGCACAGCUGUCAAAAGG | 1058 | 2634-2656 |
| AD-392828 | UUGACAGCUGUGCUGUAACAU | 1059 | 2638-2658 | AUGUUACAGCACAGCUGUCAAAA | 1060 | 2636-2658 |
| AD-392785 | ACAGCUGUGCUGUAACACAAU | 1061 | 2641-2661 | AUUGUGUUACAGCACAGCUGUCA | 1062 | 2639-2661 |
| AD-392829 | AGCUGUGCUGUAACACAAGUA | 1063 | 2643-2663 | UACUUGUGUUACAGCACAGCUGU | 1064 | 2641-2663 |
| AD-392920 | UGUGCUGUAACACAAGUAGAU | 1065 | 2646-2666 | AUCUACUUGUGUUACAGCACAGC | 1066 | 2644-2666 |
| AD-392921 | GUGCUGUAACACAAGUAGAUU | 1067 | 2647-2667 | AAUCUACUUGUGUUACAGCACAG | 1068 | 2645-2667 |
| AD-392768 | GCUGUAACACAAGUAGAUGCU | 1069 | 2649-2669 | AGCAUCTACUUGUGUUACAGCAC | 1070 | 2647-2669 |
| AD-392805 | ACACAAGUAGAUGCCUGAACU | 1071 | 2655-2675 | AGUUCAGGCAUCUACUUGUGUUA | 1072 | 2653-2675 |
| AD-392769 | AAGUAGAUGCCUGAACUUGAA | 1073 | 2659-2679 | UUCAAGTUCAGGCAUCUACUUGU | 1074 | 2657-2679 |
| AD-392753 | GUAGAUGCCUGAACUUGAAUU | 1075 | 2661-2681 | AAUUCAAGUUCAGGCAUCUACUU | 1076 | 2659-2681 |
| AD-392714 | UGCCUGAACUUGAAUUAAUCU | 1077 | 2666-2686 | AGAUUAAUUCAAGUUCAGGCAUC | 1078 | 2664-2686 |
| AD-392703 | CCUGAACUUGAAUUAAUCCAU | 1079 | 2668-2688 | AUGGAUTAAUUCAAGUUCAGGCA | 1080 | 2666-2688 |
| AD-392715 | CUGAACUUGAAUUAAUCCACA | 1081 | 2669-2689 | UGUGGATUAAUUCAAGUUCAGGC | 1082 | 2667-2689 |
| AD-392841 | AUCCACACAUCAGUAAUGUAU | 1083 | 2683-2703 | AUACAUTACUGAUGUGUGGAUUA | 1084 | 2681-2703 |
| AD-392836 | UCCACACAUCAGUAAUGUAUU | 1085 | 2684-2704 | AAUACATUACUGAUGUGUGGAUU | 1086 | 2682-2704 |
| AD-392966 | CCACACAUCAGUAAUGUAUUU | 1087 | 2685-2705 | AAAUACAUUACUGAUGUGUGGAU | 1088 | 2683-2705 |
| AD-392832 | CACACAUCAGUAAUGUAUUCU | 1089 | 2686-2706 | AGAAUACAUUACUGAUGUGUGGA | 1090 | 2684-2706 |
| AD-392972 | ACACAUCAGUAAUGUAUUCUA | 1091 | 2687-2707 | UAGAAUACAUUACUGAUGUGUGG | 1092 | 2685-2707 |
| AD-392961 | UGUAUUCUAUCUCUCUUUACA | 1093 | 2699-2719 | UGUAAAGAGAGAUAGAAUACAUU | 1094 | 2697-2719 |
| AD-392967 | CUAUCUCUCUUUACAUUUUGU | 1095 | 2705-2725 | ACAAAATGUAAAGAGAGAUAGAA | 1096 | 2703-2725 |
| AD-392893 | UAUCUCUCUUUACAUUUUGGU | 1097 | 2706-2726 | ACCAAAAUGUAAAGAGAGAUAGA | 1098 | 2704-2726 |

[0979]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392894 | AUCUCUCUUUACAUUUUGGUU | 1099 | 2707-2727 | AACCAAAAUGUAAAGAGAGAUAG | 1100 | 2705-2727 |
| AD-392864 | UCUCUCUUUACAUUUUGGUCU | 1101 | 2708-2728 | AGACCAAAAUGUAAAGAGAGAUA | 1102 | 2706-2728 |
| AD-392865 | CUCUCUUUACAUUUUGGUCUU | 1103 | 2709-2729 | AAGACCAAAAUGUAAAGAGAGAU | 1104 | 2707-2729 |
| AD-392922 | UCUUUACAUUUUGGUCUCUAU | 1105 | 2712-2732 | AUAGAGACCAAAAUGUAAAGAGA | 1106 | 2710-2732 |
| AD-392833 | UGGUCUCUAUACUACAUUAUU | 1107 | 2723-2743 | AAUAAUGUAGUAUAGAGACCAAA | 1108 | 2721-2743 |
| AD-392968 | GGUCUCUAUACUACAUUAUUA | 1109 | 2724-2744 | UAAUAATGUAGUAUAGAGACCAA | 1110 | 2722-2744 |
| AD-392962 | GUCUCUAUACUACAUUAUUAA | 1111 | 2725-2745 | UUAAUAAUGUAGUAUAGAGACCA | 1112 | 2723-2745 |
| AD-392963 | UCUCUAUACUACAUUAUUAAU | 1113 | 2726-2746 | AUUAAUAAUGUAGUAUAGAGACC | 1114 | 2724-2746 |
| AD-392964 | CUCUAUACUACAUUAUUAAUU | 1115 | 2727-2747 | AAUUAATAAUGUAGUAUAGAGAC | 1116 | 2725-2747 |
| AD-392969 | UCUAUACUACAUUAUUAAUGU | 1117 | 2728-2748 | ACAUUAAUAAUGUAGUAUAGAGA | 1118 | 2726-2748 |
| AD-392973 | CUAUACUACAUUAUUAAUGGU | 1119 | 2729-2749 | ACCAUUAAUAAUGUAGUAUAGAG | 1120 | 2727-2749 |
| AD-392923 | AUGGGUUUUGUGUACUGUAAA | 1121 | 2745-2765 | UUUACAGUACACAAAACCCAUUA | 1122 | 2743-2765 |
| AD-392866 | UUUGUGUACUGUAAAGAAUUU | 1123 | 2751-2771 | AAAUUCTUUACAGUACACAAAAC | 1124 | 2749-2771 |
| AD-392924 | UUGUGUACUGUAAAGAAUUUA | 1125 | 2752-2772 | UAAAUUCUUUACAGUACACAAAA | 1126 | 2750-2772 |
| AD-392895 | UGUGUACUGUAAAGAAUUUAU | 1127 | 2753-2773 | AUAAAUTCUUUACAGUACACAAA | 1128 | 2751-2773 |
| AD-392867 | GUGUACUGUAAAGAAUUUAGU | 1129 | 2754-2774 | ACUAAATUCUUUACAGUACACAA | 1130 | 2752-2774 |
| AD-392877 | GUACUGUAAAGAAUUUAGCUU | 1131 | 2756-2776 | AAGCUAAAUUCUUUACAGUACAC | 1132 | 2754-2776 |
| AD-392707 | AUUUAGCUGUAUCAAACUAGU | 1133 | 2768-2788 | ACUAGUTUGAUACAGCUAAAUUC | 1134 | 2766-2788 |
| AD-392716 | UUUAGCUGUAUCAAACUAGUU | 1135 | 2769-2789 | AACUAGTUUGAUACAGCUAAAUU | 1136 | 2767-2789 |
| AD-392925 | GCUGUAUCAAACUAGUGCAUU | 1137 | 2773-2793 | AAUGCACUAGUUUGAUACAGCUA | 1138 | 2771-2793 |
| AD-392926 | CUAGUGCAUGAAUAGAUUCUU | 1139 | 2784-2804 | AAGAAUCUAUUCAUGCACUAGUU | 1140 | 2782-2804 |
| AD-392927 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCU | 1141 | 2785-2805 | AGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 1142 | 2783-2805 |
| AD-392717 | GAAUAGAUUCUCUCCUGAUUA | 1143 | 2793-2813 | UAAUCAGGAGAGAAUCUAUUCAU | 1144 | 2791-2813 |

[0980]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392928 | CUCUCCUGAUUAUUUAUCACA | 1145 | 2802-2822 | UGUGAUAAAUAAUCAGGAGAGAA | 1146 | 2800-2822 |
| AD-392700 | UCUCCUGAUUAUUUAUCACAU | 1147 | 2803-2823 | AUGUGATAAAUAAUCAGGAGAGA | 1148 | 2801-2823 |
| AD-392878 | CUCCUGAUUAUUUAUCACAUA | 1149 | 2804-2824 | UAUGUGAUAAAUAAUCAGGAGAG | 1150 | 2802-2824 |
| AD-392718 | UCCUGAUUAUUUAUCACAUAU | 1151 | 2805-2825 | AUAUGUGAUAAAUAAUCAGGAGA | 1152 | 2803-2825 |
| AD-392929 | CCUGAUUAUUUAUCACAUAGU | 1153 | 2806-2826 | ACUAUGTGAUAAAUAAUCAGGAG | 1154 | 2804-2826 |
| AD-392879 | GCCAGUUGUAUAUUAUUCUUU | 1155 | 2833-2853 | AAAGAATAAUAUACAACUGGCUA | 1156 | 2831-2853 |
| AD-392754 | UUGUAUAUUAUUCUUGUGGUU | 1157 | 2838-2858 | AACCACAAGAAUAAUAUACAACU | 1158 | 2836-2858 |
| AD-392819 | UCUUGUGGUUUGUGACCCAAU | 1159 | 2849-2869 | AUUGGGTCACAAACCACACAAGAAU | 1160 | 2847-2869 |
| AD-392745 | CUUGUGGUUUGUGACCCAAUU | 1161 | 2850-2870 | AAUUGGGUCACAAACCACACAAGAA | 1162 | 2848-2870 |
| AD-392770 | UUGUGGUUUGUGACCCAAUUA | 1163 | 2851-2871 | UAAUUGGGUCACAAACCACACAAGA | 1164 | 2849-2871 |
| AD-392806 | UGUGGUUUGUGACCCAAUUAA | 1165 | 2852-2872 | UUAAUUGGGUCACAAACCACACAAG | 1166 | 2850-2872 |
| AD-392771 | GUUUGUGACCCAAUUAAGUCU | 1167 | 2856-2876 | AGACUUAAUUGGGUCACAAACCA | 1168 | 2854-2876 |
| AD-392820 | UUUGUGACCCAAUUAAGUCCU | 1169 | 2857-2877 | AGGACUTAAUUGGGUCACAAACC | 1170 | 2855-2877 |
| AD-392821 | UUGUGACCCAAUUAAGUCCUA | 1171 | 2858-2878 | UAGGACTUAAUUGGGUCACAAAC | 1172 | 2856-2878 |
| AD-392786 | UGUGACCCAAUUAAGUCCUAU | 1173 | 2859-2879 | AUAGGACUUAAUUGGGUCACAAA | 1174 | 2857-2879 |
| AD-392772 | GUGACCCAAUUAAGUCCUACU | 1175 | 2860-2880 | AGUAGGACUUAAUUGGGUCACAA | 1176 | 2858-2880 |
| AD-392699 | GACCCAAUUAAGUCCUACUUU | 1177 | 2862-2882 | AAAGUAGGACUUAAUUGGGUCAC | 1178 | 2860-2882 |
| AD-392868 | ACCCAAUUAAGUCCUACUUUA | 1179 | 2863-2883 | UAAAGUAGGACUUAAUUGGGUCA | 1180 | 2861-2883 |
| AD-392719 | CCCAAUUAAGUCCUACUUUAU | 1181 | 2864-2884 | AUAAAGTAGGACUUAAUUGGGUC | 1182 | 2862-2884 |
| AD-392880 | AAUUAAGUCCUACUUUACAUA | 1183 | 2867-2887 | UAUGUAAAGUAGGACUUAAUUGG | 1184 | 2865-2887 |
| AD-392930 | UAAGUCCUACUUUACAUAUGU | 1185 | 2870-2890 | ACAUAUGUAAAGUAGGACUUAAU | 1186 | 2868-2890 |
| AD-392931 | AGUCCUACUUUACAUAUGCUU | 1187 | 2872-2892 | AAGCAUAUGUAAAGUAGGACUUA | 1188 | 2870-2892 |
| AD-392932 | GUCCUACUUUACAUAUGCUUU | 1189 | 2873-2893 | AAAGCATAUGUAAAGUAGGACUU | 1190 | 2871-2893 |

[0981]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392869 | UCCUACUUUACAUAUGCUUUA | 1191 | 2874-2894 | UAAAGCAUAUGUAAAGUAGGACU | 1192 | 2872-2894 |
| AD-392870 | CCUACUUUACAUAUGCUUUAA | 1193 | 2875-2895 | UUAAAGCAUAUGUAAAGUAGGAC | 1194 | 2873-2895 |
| AD-392896 | CUACUUUACAUAUGCUUUAAU | 1195 | 2876-2896 | AUUAAAGCAUAUGUAAAGUAGGA | 1196 | 2874-2896 |
| AD-392787 | UACAUAUGCUUUAAGAAUCGA | 1197 | 2882-2902 | UCGAUUCUUAAAGCAUAUGUAAA | 1198 | 2880-2902 |
| AD-392720 | CAUAUGCUUUAAGAAUCGAUU | 1199 | 2884-2904 | AAUCGAUUCUUAAAGCAUAUGUA | 1200 | 2882-2904 |
| AD-392746 | AUAUGCUUUAAGAAUCGAUGU | 1201 | 2885-2905 | ACAUCGAUUCUUAAAGCAUAUGU | 1202 | 2883-2905 |
| AD-392773 | UAUGCUUUAAGAAUCGAUGGU | 1203 | 2886-2906 | ACCAUCGAUUCUUAAAGCAUAUG | 1204 | 2884-2906 |
| AD-392807 | GGGAUGCUUCAUGUGAACGUU | 1205 | 2906-2926 | AACGUUCACAUGAAGCAUCCCCC | 1206 | 2904-2926 |
| AD-392730 | UGCUUCUCUUGCCUAAGUAUU | 1207 | 2937-2957 | AAUACUUAGGCAAGAAGAAGCAGC | 1208 | 2935-2957 |
| AD-392721 | CUUCUCUUGCCUAAGUAUUCU | 1209 | 2939-2959 | AGAAUACUUAGGCAAGAAGAAGCA | 1210 | 2937-2959 |
| AD-392933 | UUCUCUUGCCUAAGUAUUCCU | 1211 | 2940-2960 | AGGAAUACUUAGGCAAGAAGAAGC | 1212 | 2938-2960 |
| AD-392934 | CUCUUGCCUAAGUAUUCCUUU | 1213 | 2942-2962 | AAAGGAAUACUUAGGCAAGAAGAA | 1214 | 2940-2962 |
| AD-392881 | CUUGCCUAAGUAUUCCUUUCU | 1215 | 2944-2964 | AGAAAGGAAUACUUAGGCAAGAG | 1216 | 2942-2964 |
| AD-392897 | UGCCUAAGUAUUCCUUUCCUU | 1217 | 2946-2966 | AAGGAAAGGAAUACUUAGGCAAG | 1218 | 2944-2966 |
| AD-392898 | AAGUAUUCCUUUCCUGAUCAU | 1219 | 2951-2971 | AUGAUCAGGAAAGGAAUACUUAG | 1220 | 2949-2971 |
| AD-392708 | AGUAUUCCUUUCCUGAUCACU | 1221 | 2952-2972 | AGUGAUCAGGAAAGGAAUACUUA | 1222 | 2950-2972 |
| AD-392899 | GUAUUCCUUUCCUGAUCACUA | 1223 | 2953-2973 | UAGUGATCAGGAAAGGAAUACUU | 1224 | 2951-2973 |
| AD-392935 | UAUUCCUUUCCUGAUCACUAU | 1225 | 2954-2974 | AUAGUGAUCAGGAAAGGAAUACU | 1226 | 2952-2974 |
| AD-392882 | AUUCCUUUCCUGAUCACUAUU | 1227 | 2955-2975 | AAUAGUGAUCAGGAAAGGAAUAC | 1228 | 2953-2975 |
| AD-392738 | UCCUUUCCUGAUCACUAUGCA | 1229 | 2957-2977 | UGCAUAGUGAUCAGGAAAGGAAU | 1230 | 2955-2977 |
| AD-392739 | CUUUCCUGAUCACUAUGCAUU | 1231 | 2959-2979 | AAUGCATAGUGAUCAGGAAAGGA | 1232 | 2957-2979 |
| AD-392936 | UUUCCUGAUCACUAUGCAUUU | 1233 | 2960-2980 | AAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAGG | 1234 | 2958-2980 |
| AD-392900 | UUCCUGAUCACUAUGCAUUUU | 1235 | 2961-2981 | AAAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAG | 1236 | 2959-2981 |

[0982]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392901 | CUGAUCACUAUGCAUUUUAAA | 1237 | 2964-2984 | UUUAAAAUGCAUAGUGAUCAGGA | 1238 | 2962-2984 |
| AD-392937 | CACUAUGCAUUUUAAAGUUAA | 1239 | 2969-2989 | UUAACUUUAAAAUGCAUAGUGAU | 1240 | 2967-2989 |
| AD-392883 | ACUAUGCAUUUUAAAGUUAAA | 1241 | 2970-2990 | UUUAACUUUAAAAUGCAUAGUGA | 1242 | 2968-2990 |
| AD-392975 | UUCCAUGACUGCAUUUUACUU | 1243 | 3029-3049 | AAGUAAAAUGCAGUCAUGGAAAA | 1244 | 3027-3049 |
| AD-392938 | CUGCAUUUUACUGUACAGAUU | 1245 | 3037-3057 | AAUCUGUACAGUAAAAUGCAGUC | 1246 | 3035-3057 |
| AD-392755 | AUUGCUGCUCUGCUAUAUUU | 1247 | 3055-3075 | AAAUAUAGCAGAAGCAGCAAUCU | 1248 | 3053-3075 |
| AD-392939 | UUCUGCUAUAUUUGUGAUAUA | 1249 | 3063-3083 | UAUAUCACAAAUAUAGCAGAAGC | 1250 | 3061-3083 |
| AD-392940 | UCUGCUAUAUUUGUGAUAUAU | 1251 | 3064-3084 | AUAUAUCACAAAUAUAGCAGAAG | 1252 | 3062-3084 |
| AD-392756 | UGCUAUAUUUGUGAUAUAGGA | 1253 | 3066-3086 | UCCUAUAUCACAAAUAUAGCAGA | 1254 | 3064-3086 |
| AD-392774 | UUUGUGAUAUAGGAAUUAAGA | 1255 | 3073-3093 | UCUUAATUCCUAUAUCACAAAUA | 1256 | 3071-3093 |
| AD-392850 | UCUUCGUGCCUGUUUUAUGUU | 1257 | 3111-3131 | AACAUAAAACAGGCACGAAGAAA | 1258 | 3109-3131 |
| AD-392852 | CUUCGUGCCUGUUUUAUGUGU | 1259 | 3112-3132 | ACACAUAAAACAGGCACGAAGAA | 1260 | 3110-3132 |
| AD-392830 | GUUUUAUGUGCACACAUUAGU | 1261 | 3122-3142 | ACUAAUGUGUGCACAUAAAACAG | 1262 | 3120-3142 |
| AD-392808 | UGUGCACACAUUAGGCAUUGA | 1263 | 3128-3148 | UCAAUGCCUAAUGUGUGCACAUA | 1264 | 3126-3148 |
| AD-392793 | UGCACACAUUAGGCAUUGAGA | 1265 | 3130-3150 | UCUCAATGCCUAAUGUGUGCACA | 1266 | 3128-3150 |
| AD-392757 | ACACAUUAGGCAUUGAGACUU | 1267 | 3133-3153 | AAGUCUCAAUGCCUAAUGUGUGC | 1268 | 3131-3153 |
| AD-392747 | UUUGUCCACGUAUCUUUGGGU | 1269 | 3168-3188 | ACCCAAAGAUACGUGGACAAAAA | 1270 | 3166-3188 |
| AD-392902 | CACGUAUCUUUGGGUCUUUGA | 1271 | 3174-3194 | UCAAAGACCCAAAGAUACGUGGA | 1272 | 3172-3194 |
| AD-392941 | ACGUAUCUUUGGGUCUUUGAU | 1273 | 3175-3195 | AUCAAAGACCCAAAGAUACGUGG | 1274 | 3173-3195 |
| AD-392942 | UCUUUGGGUCUUUGAUAAAGA | 1275 | 3180-3200 | UCUUUATCAAAGACCCAAAGAUA | 1276 | 3178-3200 |
| AD-392943 | CUUUGGGUCUUUGAUAAAGAA | 1277 | 3181-3201 | UUCUUUAUCAAAGACCCAAAGAU | 1278 | 3179-3201 |
| AD-392944 | UUGGGUCUUUGAUAAAGAAAA | 1279 | 3183-3203 | UUUUCUTUAUCAAAGACCCAAAG | 1280 | 3181-3203 |
| AD-392903 | UGGGUCUUUGAUAAAGAAAAU | 1281 | 3184-3204 | AUUUUCTUUAUCAAAGACCCAAA | 1282 | 3182-3204 |

[0983]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392775 | AAAGAAUCCCUGUUCAUUGUA | 1283 | 3201-3221 | UACAAUGAACAGGGAUUCUUUUC | 1284 | 3199-3221 |
| AD-392758 | AAGAAUCCCUGUUCAUUGUAA | 1285 | 3202-3222 | UUACAATGAACAGGGAUUCUUUU | 1286 | 3200-3222 |
| AD-392945 | AGAAUCCCUGUUCAUUGUAAU | 1287 | 3203-3223 | AUUACAAUGAACAGGGAUUCUUU | 1288 | 3201-3223 |
| AD-392946 | GAAUCCCUGUUCAUUGUAAGU | 1289 | 3204-3224 | ACUUACAAUGAACAGGGAUUCUU | 1290 | 3202-3224 |
| AD-392884 | UGUUCAUUGUAAGCACUUUUA | 1291 | 3211-3231 | UAAAAGTGCUUACAAUGAACAGG | 1292 | 3209-3231 |
| AD-392947 | GUUCAUUGUAAGCACUUUUAU | 1293 | 3212-3232 | AUAAAAGUGCUUACAAUGAACAG | 1294 | 3210-3232 |
| AD-392748 | UCAUUGUAAGCACUUUUACGU | 1295 | 3214-3234 | ACGUAAAAGUGCUUACAAUGAAC | 1296 | 3212-3234 |
| AD-392759 | CAUUGUAAGCACUUUUACGGU | 1297 | 3215-3235 | ACCGUAAAAGUGCUUACAAUGAA | 1298 | 3213-3235 |
| AD-392837 | CUGGUCUUCAAUUACCAAGAA | 1299 | 3258-3278 | UUCUUGGUAAUUGAAGACCAGCA | 1300 | 3256-3278 |
| AD-392970 | GGUCUUCAAUUACCAAGAAUU | 1301 | 3260-3280 | AAUUCUTGGUAAUUGAAGACCAG | 1302 | 3258-3280 |
| AD-392976 | UCUUCAAUUACCAAGAAUUCU | 1303 | 3262-3282 | AGAAUUCUUGGUAAUUGAAGACC | 1304 | 3260-3282 |
| AD-392965 | CUUCAAUUACCAAGAAUUCUU | 1305 | 3263-3283 | AAGAAUTCUUGGUAAUUGAAGAC | 1306 | 3261-3283 |
| AD-392831 | UUCAAUUACCAAGAAUUCUCU | 1307 | 3264-3284 | AGAGAATUCUUGGUAAUUGAAGA | 1308 | 3262-3284 |
| AD-392904 | UCAAUUACCAAGAAUUCUCCA | 1309 | 3265-3285 | UGGAGAAUUCUUGGUAAUUGAAG | 1310 | 3263-3285 |
| AD-392885 | AAUUACCAAGAAUUCUCCAAA | 1311 | 3267-3287 | UUUGGAGAAUUCUUGGUAAUUGA | 1312 | 3265-3287 |
| AD-392886 | UUACCAAGAAUUCUCCAAAAU | 1313 | 3269-3289 | AUUUUGGAGAAUUCUUGGUAAUU | 1314 | 3267-3289 |
| AD-392776 | UGAUUGUACAGAAUCAUUGCU | 1315 | 3304-3324 | AGCAAUGAUUCUGUACAAUCAUC | 1316 | 3302-3324 |
| AD-392887 | UCAUUGCUUAUGACAUGAUCU | 1317 | 3317-3337 | AGAUCATGUCAUAAGCAAUGAUU | 1318 | 3315-3337 |
| AD-392722 | CAUUGCUUAUGACAUGAUCGU | 1319 | 3318-3338 | ACGAUCAUGUCAUAAGCAAUGAU | 1320 | 3316-3338 |
| AD-392740 | AUUGCUUAUGACAUGAUCGCU | 1321 | 3319-3339 | AGCGAUCAUGUCAUAAGCAAUGA | 1322 | 3317-3339 |
| AD-392760 | UUGCUUAUGACAUGAUCGCUU | 1323 | 3320-3340 | AAGCGATCAUGUCAUAAGCAAUG | 1324 | 3318-3340 |
| AD-392731 | UGCUUAUGACAUGAUCGCUUU | 1325 | 3321-3341 | AAAGCGAUCAUGUCAUAAGCAAU | 1326 | 3319-3341 |
| AD-392709 | GCUUAUGACAUGAUCGCUUUC | 1327 | 3322-3342 | GAAAGCGAUCAUGUCAUAAGCAA | 1328 | 3320-3342 |

[0984]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392723 | CUUAUGACAUGAUCGCUUUCU | 1329 | 3323-3343 | AGAAAGCGAUCAUGUCAUAAGCA | 1330 | 3321-3343 |
| AD-392948 | UUAUGACAUGAUCGCUUUCUA | 1331 | 3324-3344 | UAGAAAGCGAUCAUGUCAUAAGC | 1332 | 3322-3344 |
| AD-392724 | UAUGACAUGAUCGCUUUCUAU | 1333 | 3325-3345 | AUAGAAAGCGAUCAUGUCAUAAG | 1334 | 3323-3345 |
| AD-392949 | AUGACAUGAUCGCUUUCUACA | 1335 | 3326-3346 | UGUAGAAAGCGAUCAUGUCAUAA | 1336 | 3324-3346 |
| AD-392725 | UGACAUGAUCGCUUUCUACAU | 1337 | 3327-3347 | AUGUAGAAAGCGAUCAUGUCAUA | 1338 | 3325-3347 |
| AD-392950 | CAUGAUCGCUUUCUACACUGU | 1339 | 3330-3350 | ACAGUGUAGAAAGCGAUCAUGUC | 1340 | 3328-3350 |
| AD-392732 | UGAUCGCUUUCUACACUGUAU | 1341 | 3332-3352 | AUACAGUGUAGAAAGCGAUCAUG | 1342 | 3330-3352 |
| AD-392726 | GAUCGCUUUCUACACUGUAUU | 1343 | 3333-3353 | AAUACAGUGUAGAAAGCGAUCAU | 1344 | 3331-3353 |
| AD-392733 | AUCGCUUUCUACACUGUAUUA | 1345 | 3334-3354 | UAAUACAGUGUAGAAAGCGAUCA | 1346 | 3332-3354 |
| AD-392906 | UCGCUUUCUACACUGUAUUAU | 1347 | 3335-3355 | AUAAUACAGUGUAGAAAGCGAUC | 1348 | 3333-3355 |
| AD-392862 | CGCUUUCUACACUGUAUUACA | 1349 | 3336-3356 | UGUAAUACAGUGUAGAAAGCGAU | 1350 | 3334-3356 |
| AD-392951 | CUUUCUACACUGUAUUACAUA | 1351 | 3338-3358 | UAUGUAAUACAGUGUAGAAAGCG | 1352 | 3336-3358 |
| AD-392871 | UUCUACACUGUAUUACAUAAA | 1353 | 3340-3360 | UUUAUGUAAUACAGUGUAGAAAG | 1354 | 3338-3360 |
| AD-392872 | UCUACACUGUAUUACAUAAAU | 1355 | 3341-3361 | AUUUAUGUAAUACAGUGUAGAAA | 1356 | 3339-3361 |
| AD-392952 | GAUUCAAUUUUCUUUAACCAU | 1357 | 3456-3476 | AUGGUUAAAGAAAAUUGAAUCUG | 1358 | 3454-3476 |
| AD-392907 | AUUUUCUUUAACCAGUCUGAA | 1359 | 3462-3482 | UUCAGACUGGUUAAAGAAAAUUG | 1360 | 3460-3482 |
| AD-392953 | UUUCUUUAACCAGUCUGAAGU | 1361 | 3464-3484 | ACUUCAGACUGGUUAAAGAAAAU | 1362 | 3462-3484 |
| AD-392741 | UCUUUAACCAGUCUGAAGUUU | 1363 | 3466-3486 | AAACUUCAGACUGGUUAAAGAAA | 1364 | 3464-3486 |
| AD-392908 | CUUUAACCAGUCUGAAGUUUC | 1365 | 3467-3487 | GAAACUTCAGACUGGUUAAAGAA | 1366 | 3465-3487 |
| AD-392977 | CUGAAGUUUCAUUUAUGAUAU | 1367 | 3478-3498 | AUAUCATAAAUGAAACUUCAGAC | 1368 | 3476-3498 |
| AD-392847 | GAAGUUUCAUUUAUGAUACAA | 1369 | 3480-3500 | UUGUAUCAUAAAUGAAACUUCAG | 1370 | 3478-3500 |
| AD-392809 | AAAUGGAAGUGGCAAUAUAAU | 1371 | 3511-3531 | AUUAUATUGCCACUUCCAUUUUC | 1372 | 3509-3531 |
| AD-392810 | AUGGAAGUGGCAAUAUAAGGU | 1373 | 3513-3533 | ACCUUATAUUGCCACUUCCAUUU | 1374 | 3511-3533 |

[0985]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392777 | UGCCUGGACAAACCCUUCUUU | 1375 | 3547-3567 | AAAGAAGGGUUUGUCCAGGCAUG | 1376 | 3545-3567 |
| AD-392960 | UUCUUUUAAGAUGUGUCUUCA | 1377 | 3562-3582 | UGAAGACACAUCUUAAAAGAAGG | 1378 | 3560-3582 |
| AD-392873 | CUUUUAAGAUGUGUCUUCAAU | 1379 | 3564-3584 | AUUGAAGACACAUCUUAAAAGAA | 1380 | 3562-3584 |
| AD-392889 | UUUUAAGAUGUGUCUUCAAUU | 1381 | 3565-3585 | AAUUGAAGACACAUCUUAAAAGA | 1382 | 3563-3585 |
| AD-392954 | UUUAAGAUGUGUCUUCAAUUU | 1383 | 3566-3586 | AAAUUGAAGACACAUCUUAAAAG | 1384 | 3564-3586 |
| AD-392955 | UUAAGAUGUGUCUUCAAUUUG | 1385 | 3567-3587 | CAAAUUGAAGACACAUCUUAAAA | 1386 | 3565-3587 |
| AD-392909 | UAAGAUGUGUCUUCAAUUUGU | 1387 | 3568-3588 | ACAAAUTGAAGACACAUCUUAAA | 1388 | 3566-3588 |
| AD-392710 | AAGAUGUGUCUUCAAUUUGUA | 1389 | 3569-3589 | UACAAATUGAAGACACAUCUUAA | 1390 | 3567-3589 |
| AD-392956 | AGAUGUGUCUUCAAUUUGUAU | 1391 | 3570-3590 | AUACAAAUUGAAGACACAUCUUA | 1392 | 3568-3590 |
| AD-392874 | AUGUGUCUUCAAUUUGUAUAA | 1393 | 3572-3592 | UUAUACAAAUUGAAGACACAUCU | 1394 | 3570-3592 |
| AD-392957 | UGUCUUCAAUUUGUAUAAAAU | 1395 | 3575-3595 | AUUUUATACAAAUUGAAGACACA | 1396 | 3573-3595 |
| AD-392958 | CUUCAAUUUGUAUAAAAUGGU | 1397 | 3578-3598 | ACCAUUTUAUACAAAUUGAAGAC | 1398 | 3576-3598 |
| AD-392959 | AUGGUGUUUUCAUGUAAAUAA | 1399 | 3594-3614 | UUAUUUACAUGAAAACACCAUUU | 1400 | 3592-3614 |
| AD-392788 | GUAAAUAAAUACAUUCUUGGA | 1401 | 3607-3627 | UCCAAGAAUGUAUUUAUUUACAU | 1402 | 3605-3627 |

[0986] 表4.初代食蟹猴肝细胞和Be(2)C细胞系中的APP单剂量筛选

[0987] 资料表示为相对于AD-1955非靶向对照的剩余信息百分比。

[0988]

| | 食蟹猴初代肝细胞 | | | | Be(2)C 细胞系 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 双链体名称 | 10nM 平均值 | 10nM 标准差 | 0.1nM 平均值 | 0.1nM 标准差 | 10nM 平均值 | 10nM 标准差 | 0.1nM 平均值 | 0.1nM 标准差 |
| AD-392853 | 92 | 5 | 89.9 | 1.5 | 97 | 2.5 | 99.3 | 8.8 |
| AD-392857 | 86.7 | 3.3 | 98.9 | 6.1 | 85.1 | 4.4 | 103.8 | 5.9 |
| AD-392851 | 90.5 | 1.5 | 97.9 | 10.1 | 100.1 | 4 | 103.9 | 7.8 |
| AD-392811 | 90.5 | 10.5 | 87.8 | 2.5 | 89.1 | 6.8 | 98 | 5.1 |
| AD-392910 | 52.3 | 3 | 99.2 | 32.4 | 66.1 | 6.1 | 101.3 | 9.7 |
| AD-392890 | 57.4 | 4.8 | 108.5 | 23.1 | 63.9 | 1.5 | 100.3 | 10.6 |
| AD-392911 | 16.4 | 3.4 | 85.7 | 4 | 10.6 | 3.5 | 71.2 | 10.3 |
| AD-392912 | 16.7 | 2.7 | 84.8 | 4.5 | 9.7 | 1.7 | 57.7 | 4.1 |
| AD-392778 | 46.1 | 19.2 | 96 | 23.4 | 7.9 | 0.9 | 82.4 | 7.4 |
| AD-392727 | 52.9 | 5.8 | 98.9 | 11.4 | 48.3 | 4.5 | 94 | 5.7 |
| AD-392728 | 43.8 | 20.3 | 91.5 | 10.2 | 17.6 | 2.2 | 86.2 | 6.5 |
| AD-392891 | 52 | 7 | 142.2 | 35.1 | 34.8 | 1.7 | 93.5 | 5.8 |
| AD-392822 | 53.9 | 3.8 | 75.2 | 2.9 | 30.1 | 3.2 | 83.7 | 5.8 |
| AD-392749 | 46.3 | 11.7 | 97.6 | 2.6 | 14.9 | 1.7 | 95.7 | 5.3 |
| AD-392794 | 108.8 | 17.9 | 86.9 | 2.7 | 92.9 | 7.9 | 87.4 | 6.7 |
| AD-392795 | 39.5 | 13.2 | 78.1 | 11.8 | 15.5 | 1.8 | 79.9 | 7.9 |
| AD-392812 | 87.2 | 4.3 | 90.4 | 2.5 | 79.8 | 3.3 | 78.5 | 13.8 |
| AD-392796 | 48 | 17.6 | 82.6 | 2.8 | 17.1 | 2.5 | 80.2 | 3.5 |
| AD-392779 | 100 | 30.9 | 95.9 | 4.8 | 99.6 | 4 | 98.6 | 3.3 |
| AD-392780 | 80.7 | 29.5 | 93.2 | 4.5 | 47.4 | 4.4 | 101.6 | 5.2 |
| AD-392813 | 91.6 | 2.9 | 85.1 | 4 | 84.8 | 4.7 | 88.9 | 7 |
| AD-392797 | 98 | 6.6 | 88.7 | 11.1 | 79 | 3.3 | 84 | 12 |
| AD-392761 | 73.9 | 18.4 | 94.2 | 4.3 | 77.9 | 4.4 | 101 | 6.4 |
| AD-392814 | 56.9 | 2.9 | 84.4 | 5.4 | 47.5 | 2.6 | 83.8 | 6.6 |
| AD-392742 | 89 | 21.9 | 99.4 | 8.2 | 48.1 | 5.8 | 96.6 | 3.7 |
| AD-392750 | 110.7 | 44.7 | 99.9 | 13.2 | 25.4 | 1.2 | 95 | 4.7 |
| AD-392823 | 65.5 | 3 | 73.7 | 2.9 | 38.8 | 4.1 | 84.9 | 3.8 |
| AD-392789 | 103.7 | 4 | 105 | 3.8 | 88.1 | 7 | 79.5 | 4 |

[0989]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392781 | 81 | 39.1 | 94.9 | 5.8 | 21.2 | 3.1 | 95 | 8.9 |
| AD-392798 | 119.2 | 16.3 | 85.3 | 10.9 | 73.1 | 6.3 | 83.2 | 7.4 |
| AD-392751 | 48.5 | 12.9 | 93.9 | 7.9 | 15.6 | 3 | 87.2 | 2.5 |
| AD-392858 | 90 | 1.5 | 95 | 2.6 | 90.7 | 4.7 | 103 | 7.7 |
| AD-392844 | 21.8 | 0.4 | 93 | 3.6 | 6.2 | 0.6 | 51.8 | 5.3 |
| AD-392842 | 88.9 | 0.5 | 98.2 | 1.6 | 67.7 | 4.1 | 102 | 2.7 |
| AD-392848 | 91.7 | 9.1 | 90.1 | 2.6 | 70.9 | 7.5 | 96.5 | 16.7 |
| AD-392838 | 68 | 3.6 | 90.2 | 3.3 | 20.2 | 2 | 84.3 | 6.2 |
| AD-392839 | 69 | 2.6 | 84.8 | 3.9 | 62.7 | 3.1 | 85.8 | 7.6 |
| AD-392734 | 103 | 32.4 | 112.8 | 23.5 | 86.6 | 6.6 | 98.6 | 3.1 |
| AD-392790 | 34 | 4.8 | 99.2 | 1.2 | 10.9 | 1.4 | 72.6 | 2.5 |
| AD-392815 | 37.4 | 1.7 | 82.5 | 2.9 | 21.5 | 1.9 | 79.8 | 0.9 |
| AD-392762 | 72.2 | 21.3 | 95 | 12.3 | 91.2 | 4.6 | 102.6 | 7.7 |
| AD-392735 | 47 | 9.7 | 101.5 | 9.2 | 29.6 | 4.4 | 94 | 7.4 |
| AD-392743 | 73.6 | 23.4 | 105.5 | 16.6 | 58.5 | 2.6 | 100.1 | 11.3 |
| AD-392736 | 50.5 | 9 | 97.3 | 8.2 | 19.6 | 2.4 | 91.7 | 7 |
| AD-392824 | 22.6 | 6.7 | 65.8 | 4.9 | 6.4 | 1.6 | 54.9 | 5 |
| AD-392799 | 90.1 | 23.6 | 75.8 | 4.5 | 35.7 | 5.4 | 78.2 | 7.5 |
| AD-392971 | 89.2 | 13.4 | 92.1 | 0.3 | 57.1 | 3.6 | 91.8 | 5.8 |
| AD-392913 | 18.4 | 2.7 | 78.1 | 8 | 7.4 | 0.2 | 45.7 | 2.1 |
| AD-392892 | 61 | 12.4 | 113.2 | 8.6 | 57.4 | 5.4 | 89.7 | 13.2 |
| AD-392914 | 80.3 | 6.3 | 103.2 | 5.9 | 86.5 | 3.4 | 111.4 | 19.7 |
| AD-392860 | 91.8 | 4.8 | 89.4 | 6.1 | 106.1 | 6.2 | 98.6 | 5.6 |
| AD-392875 | 96.2 | 4.8 | 107.9 | 2.5 | 66.1 | 2.9 | 83.5 | 8.4 |
| AD-392915 | 48.1 | 1.8 | 101.9 | 4.8 | 38.3 | 3.4 | 103 | 5.4 |
| AD-392782 | 109.4 | 4.8 | 95.4 | 5.3 | 72.2 | 4.3 | 101.6 | 2.7 |
| AD-392763 | 60 | 17.6 | 93 | 6.3 | 26.7 | 2.2 | 91.6 | 3.8 |
| AD-392816 | 40.2 | 1.5 | 74.6 | 2.2 | 15.6 | 1.2 | 78.9 | 2.4 |
| AD-392704 | 28.7 | 12.1 | 94.1 | 6.8 | 15.8 | 1.5 | 65.7 | 9.7 |
| AD-392854 | 89 | 3.5 | 84.9 | 2.9 | 99 | 7 | 97.9 | 5.8 |
| AD-392856 | 93.7 | 2.5 | 88.4 | 2.8 | 101 | 7.8 | 94.2 | 3.5 |
| AD-392817 | 101.6 | 3 | 85 | 5.2 | 77.5 | 11.4 | 98.6 | 11.6 |
| AD-392764 | 69.5 | 12.1 | 87.2 | 5.9 | 10.6 | 1.4 | 79.4 | 5.7 |
| AD-392845 | 89.5 | 2 | 99 | 8.2 | 50.4 | 5 | 90.5 | 2.9 |

[0990]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392825 | 38.1 | 2.5 | 98 | 8.4 | 14.7 | 4.7 | 91.4 | 4 |
| AD-392849 | 89.4 | 4.1 | 92.3 | 11.4 | 30.3 | 2.3 | 103.4 | 7.4 |
| AD-392846 | 83.1 | 1.9 | 99.7 | 6.3 | 17.6 | 3.2 | 77.7 | 4.2 |
| AD-392859 | 82 | 2.5 | 91.4 | 5.5 | 69.7 | 1.5 | 98.6 | 2.1 |
| AD-392843 | 18.8 | 2.1 | 88.9 | 5.4 | 7.4 | 2.5 | 37.2 | 2.2 |
| AD-392855 | 64 | 5.2 | 85.9 | 12.4 | 23.4 | 2.6 | 85.6 | 9.1 |
| AD-392840 | 74.3 | 2.3 | 91.2 | 6.4 | 27.7 | 2.5 | 94.3 | 15.6 |
| AD-392835 | 18.2 | 2.3 | 84.3 | 5.4 | 12.7 | 3.1 | 53.5 | 4.5 |
| AD-392729 | 46.9 | 13.7 | 100.9 | 20.5 | 13.3 | 2.3 | 82.4 | 4.2 |
| AD-392916 | 20 | 1.6 | 63.7 | 3.6 | 7.5 | 2 | 44.4 | 2.1 |
| AD-392876 | 45.8 | 4.6 | 100.8 | 2.6 | 16.4 | 3.6 | 67.4 | 7.2 |
| AD-392861 | 91.9 | 3.9 | 89.3 | 2.6 | 89.9 | 10.9 | 91.5 | 4.3 |
| AD-392863 | 22.8 | 0.6 | 90.1 | 9.3 | 9.9 | 1.9 | 72.2 | 8 |
| AD-392917 | 30.6 | 1.8 | 99.7 | 2.1 | 21.7 | 3.5 | 82.5 | 7.5 |
| AD-392783 | 22.8 | 1.7 | 90.4 | 11.1 | 13.1 | 1.4 | 69.8 | 5.7 |
| AD-392765 | 79 | 22 | 83.3 | 6.4 | 22.4 | 2.8 | 68.1 | 5.7 |
| AD-392791 | 31.9 | 7.6 | 84.1 | 4.8 | 11.2 | 1.2 | 52.3 | 2.4 |
| AD-392800 | 38.2 | 3.6 | 72.3 | 7.6 | 8 | 1.5 | 65.4 | 7.2 |
| AD-392711 | 38.1 | 24.1 | 115.1 | 21 | 18.8 | 0.6 | 67.2 | 2.2 |
| AD-392801 | 18.7 | 0.6 | 87 | 6.3 | 11.7 | 3 | 66.3 | 17.5 |
| AD-392826 | 69 | 4.6 | 95.1 | 10 | 31.9 | 3.3 | 88.4 | 8 |
| AD-392818 | 31.5 | 2.2 | 77.8 | 6.6 | 18.6 | 3 | 80.7 | 6.2 |
| AD-392792 | 35.8 | 6.7 | 87.7 | 4.1 | 10.7 | 1.1 | 58.3 | 4.7 |
| AD-392802 | 43.8 | 4.1 | 81.8 | 7.5 | 26.5 | 3.7 | 90.3 | 2.6 |
| AD-392766 | 32.8 | 11.5 | 75.2 | 4.1 | 8.4 | 2 | 38.1 | 3.5 |
| AD-392767 | 64 | 23.5 | 87.5 | 5.2 | 10.7 | 1.5 | 66.1 | 5.8 |
| AD-392834 | 84.6 | 2.8 | 85.1 | 6.9 | 7.8 | 0.8 | 68.1 | 4.7 |
| AD-392974 | 118.3 | 5.4 | 105.4 | 6.3 | 9.3 | 0.9 | 53.1 | 4.5 |
| AD-392784 | 63.6 | 14.9 | 92.8 | 0.8 | 28.1 | 3.4 | 96.7 | 6.5 |
| AD-392744 | 59.6 | 17.2 | 96.6 | 7.4 | 18.3 | 1 | 92.7 | 7.7 |
| AD-392752 | 38.2 | 11.6 | 92.8 | 4.9 | 7.7 | 1.2 | 57.6 | 2.3 |
| AD-392737 | 44.8 | 38.6 | 103.9 | 27.2 | 9.7 | 0.7 | 57.3 | 3.4 |
| AD-392712 | 73 | 38.4 | 102.8 | 6.1 | 37.2 | 1.9 | 67.4 | 16 |
| AD-392705 | 25.2 | 9.4 | 88.7 | 4.3 | 6.6 | 0.9 | 47.7 | 6.3 |

[0991]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392713 | 81.8 | 33.4 | 101.1 | 7.3 | 61.7 | 5.8 | 92.7 | 9.8 |
| AD-392918 | 25.1 | 1.8 | 93.5 | 5.3 | 18.5 | 1 | 95 | 11.2 |
| AD-392919 | 24.3 | 3.3 | 95 | 8.6 | 13.8 | 4 | 78 | 9.1 |
| AD-392803 | 51.5 | 3.1 | 89.5 | 9.4 | 19.8 | 2 | 72 | 3 |
| AD-392804 | 72 | 3.3 | 97.2 | 11.3 | 22.9 | 1.2 | 83.1 | 3.2 |
| AD-392827 | 24.1 | 1.5 | 87 | 9.2 | 11.7 | 1.7 | 72.7 | 5.9 |
| AD-392828 | 67.5 | 3.7 | 102.4 | 13.8 | 33.7 | 3.2 | 81.9 | 3.9 |
| AD-392785 | 39.5 | 14.4 | 70.2 | 15 | 5.6 | 1.2 | 37.4 | 3.9 |
| AD-392829 | 26.5 | 2.8 | 87.5 | 7.5 | 16.1 | 1.6 | 73 | 7.4 |
| AD-392920 | 35.8 | 3.5 | 108.1 | 4.7 | 19.9 | 4.3 | 94.4 | 6.7 |
| AD-392921 | 30 | 3.8 | 100.7 | 9.1 | 11.9 | 2.8 | 75 | 7.6 |
| AD-392768 | 66.5 | 21.9 | 94.1 | 6.6 | 13.1 | 2.7 | 84.9 | 5.8 |
| AD-392805 | 20.5 | 0.9 | 88.7 | 13.4 | 7.9 | 2.2 | 43.5 | 3.9 |
| AD-392769 | 41.9 | 21.5 | 74.6 | 4.6 | 4.9 | 2.1 | 32.5 | 3.9 |
| AD-392753 | 40.4 | 7.6 | 113.9 | 21.9 | 12.5 | 0.9 | 72.5 | 7.6 |
| AD-392714 | 21.7 | 8.1 | 99.5 | 7.2 | 6.9 | 0.8 | 40.8 | 3.2 |
| AD-392703 | 17.6 | 1.5 | 90.5 | 6.9 | 6.2 | 1.4 | 37.7 | 3.9 |
| AD-392715 | 25.5 | 10.3 | 78.8 | 4.8 | 6.4 | 1.7 | 38.9 | 2.7 |
| AD-392841 | 89.6 | 3.9 | 93.6 | 9 | 36.8 | 4.1 | 96.6 | 6.9 |
| AD-392836 | 88.5 | 1.6 | 97.7 | 8.6 | 7.6 | 2 | 51.5 | 2 |
| AD-392966 | 71.5 | 4.6 | 92.4 | 3.4 | 6.4 | 1 | 47.6 | 4.2 |
| AD-392832 | 94.7 | 7.9 | 85.4 | 14.4 | 23.8 | 3.2 | 76.2 | 2.6 |
| AD-392972 | 84.1 | 10.8 | 89.8 | 7.1 | 8.3 | 2 | 57.1 | 3.5 |
| AD-392961 | 82.6 | 7.5 | 111.3 | 9.9 | 8 | 0.4 | 51.7 | 5.1 |
| AD-392967 | 81.6 | 7.1 | 93.2 | 6.8 | 20.2 | 1.6 | 89.4 | 4.9 |
| AD-392893 | 64.8 | 11.7 | 118.8 | 19.7 | 59.9 | 2.6 | 80.7 | 5.1 |
| AD-392894 | 68.4 | 10.3 | 111.4 | 10.8 | 21.9 | 1.5 | 88.4 | 15.6 |
| AD-392864 | 62.7 | 15.4 | 88.4 | 6.2 | 8.2 | 0.8 | 55.9 | 4.5 |
| AD-392865 | 45.8 | 2.4 | 103.8 | 12.6 | 13.6 | 3.1 | 35.8 | 5.4 |
| AD-392922 | 43.3 | 5 | 106.5 | 2.2 | 11.1 | 5.2 | 53.1 | 4.9 |
| AD-392833 | 95.1 | 5.1 | 93.9 | 4.1 | 21.2 | 0.7 | 86.2 | 0.8 |
| AD-392968 | 54.3 | 3.1 | 94.8 | 9.3 | 8.2 | 0.7 | 51.9 | 2.5 |
| AD-392962 | 82.3 | 10.9 | 103 | 10 | 8.5 | 0.5 | 55 | 3.8 |
| AD-392963 | 63.9 | 8.9 | 99.6 | 10.3 | 19.5 | 0.5 | 71.2 | 1.1 |

[0992]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392964 | 94.4 | 8.6 | 97.5 | 9.2 | 52.4 | 3.7 | 87.1 | 2.8 |
| AD-392969 | 73.3 | 6.6 | 99 | 6.2 | 11.7 | 1.1 | 69.4 | 2.5 |
| AD-392973 | 69 | 12.8 | 87.7 | 8 | 7.6 | 0.7 | 67.3 | 1.7 |
| AD-392923 | 28.6 | 3.3 | 106 | 8.2 | 13.2 | 3.5 | 69.6 | 12.7 |
| AD-392866 | 18 | 4.3 | 86.5 | 14.1 | 9.1 | 0.8 | 29.1 | 8.6 |
| AD-392924 | 79.7 | 3.1 | 108.3 | 5.2 | 89 | 3.1 | 94.8 | 7.7 |
| AD-392895 | 63.4 | 13.8 | 109 | 4.4 | 31.6 | 2.9 | 86.7 | 8.9 |
| AD-392867 | 95.2 | 11.6 | 99.8 | 15.8 | 45.3 | 1.7 | 77.1 | 6.6 |
| AD-392877 | 74.8 | 23.6 | 102.2 | 7.6 | 14.3 | 2 | 54.1 | 1.7 |
| AD-392707 | 27.1 | 7.6 | 87.9 | 5.5 | 6 | 1.4 | 68.8 | 1.9 |
| AD-392716 | 107.6 | 19.9 | 100.9 | 7.9 | 45.4 | 4 | 94.6 | 3.6 |
| AD-392925 | 47 | 5.6 | 106.8 | 5.1 | 23.1 | 2.4 | 80.7 | 9.3 |
| AD-392926 | 22.1 | 2.5 | 93.7 | 8.7 | 7.7 | 0.7 | 67 | 9.8 |
| AD-392927 | 18.2 | 5.4 | 80.1 | 8.7 | 9.7 | 2 | 44.2 | 6.4 |
| AD-392717 | 57.4 | 16 | 84.6 | 9.4 | 8.7 | 0.9 | 52.2 | 3.7 |
| AD-392928 | 71.3 | 4 | 95.4 | 4.1 | 35.3 | 2.7 | 103 | 8.5 |
| AD-392700 | 23 | 7.6 | 88.4 | 4.8 | 6.3 | 0.6 | 45.3 | 10.7 |
| AD-392878 | 29.9 | 18.4 | 89 | 4.4 | 8.4 | 1.6 | 34.5 | 4 |
| AD-392718 | 40.3 | 14.5 | 105.4 | 25.7 | 10.8 | 0.6 | 68.5 | 2.3 |
| AD-392929 | 42.4 | 3.7 | 99.5 | 1.2 | 15 | 4.9 | 88.8 | 14.1 |
| AD-392879 | 102.2 | 14.5 | 97.7 | 3.5 | 59.6 | 3 | 67.3 | 8.1 |
| AD-392754 | 97.1 | 14.7 | 102.1 | 17.6 | 27.3 | 2.5 | 108.6 | 5.7 |
| AD-392819 | 22.3 | 2.2 | 79.6 | 4.9 | 11 | 2.5 | 58.4 | 4.9 |
| AD-392745 | 13.8 | 2.2 | 74 | 13.1 | 7.1 | 1.9 | 28.2 | 4 |
| AD-392770 | 36.9 | 18 | 80.3 | 8.1 | 6.7 | 1 | 34.1 | 4.1 |
| AD-392806 | 44.9 | 3.3 | 84.2 | 3.9 | 17.7 | 2.6 | 54.3 | 1.9 |
| AD-392771 | 49.4 | 18.6 | 89.4 | 1.6 | 9.5 | 0.4 | 60.1 | 2.9 |
| AD-392820 | 54.4 | 3.3 | 88.1 | 3.9 | 19.6 | 1.1 | 78.1 | 6.4 |
| AD-392821 | 61.1 | 2.2 | 79.8 | 3.1 | 15.5 | 1.6 | 80.1 | 5.3 |
| AD-392786 | 72.2 | 9.8 | 109.4 | 4 | 19.8 | 1.9 | 65.3 | 2.2 |
| AD-392772 | 58.9 | 11.7 | 88.9 | 2.6 | 11 | 0.6 | 62.2 | 3.1 |
| AD-392699 | 37.9 | 9.1 | 102.9 | 8.7 | 8.1 | 3.4 | 55.6 | 4.4 |
| AD-392868 | 52.9 | 1.4 | 95.8 | 11.1 | 18 | 1.8 | 61.5 | 4.3 |
| AD-392719 | 37.4 | 20.3 | 94.7 | 12.4 | 7.3 | 1 | 38.9 | 2.4 |

[0993]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392880 | 21.9 | 2 | 83.2 | 3 | 10.9 | 1.5 | 32.7 | 3.3 |
| AD-392930 | 31.4 | 2.5 | 95.8 | 2 | 9.9 | 2.4 | 42.2 | 6 |
| AD-392931 | 75.2 | 7.7 | 98.4 | 4.5 | 44.3 | 4.1 | 108.6 | 12.5 |
| AD-392932 | 34.7 | 5.5 | 99.6 | 4.9 | 12.2 | 0.8 | 54.5 | 5.1 |
| AD-392869 | 21.4 | 1.8 | 92.5 | 12.4 | 6.9 | 1.6 | 29 | 2 |
| AD-392870 | 22.1 | 3.8 | 86 | 13.5 | 9 | 1.2 | 20.7 | 1.6 |
| AD-392896 | 50.7 | 6.7 | 112.8 | 8.3 | 21.9 | 3 | 75.9 | 9.4 |
| AD-392787 | 100.4 | 6.1 | 114.6 | 11.3 | 54.7 | 3.4 | 61.6 | 28.7 |
| AD-392720 | 61.7 | 30 | 87.6 | 4.6 | 6.6 | 0.2 | 34.6 | 4 |
| AD-392746 | 54.4 | 23.1 | 102.1 | 22.9 | 5.7 | 0.7 | 59 | 6.3 |
| AD-392773 | 101.8 | 22 | 97.6 | 6.3 | 30.3 | 1.5 | 97.4 | 6 |
| AD-392807 | 56 | 3.3 | 76 | 4.9 | 11.2 | 1.4 | 64.2 | 4.3 |
| AD-392730 | 53.3 | 8.2 | 102.8 | 22.2 | 28.4 | 1.9 | 91.9 | 5.4 |
| AD-392721 | 43.9 | 21.8 | 93.3 | 6.7 | 7.4 | 0.1 | 58.1 | 1.5 |
| AD-392933 | 51.7 | 6.2 | 88.8 | 3.3 | 22 | 4.4 | 86.3 | 7.8 |
| AD-392934 | 71.4 | 7.1 | 100.9 | 5.6 | 53.7 | 3.7 | 100.1 | 14 |
| AD-392881 | 34.6 | 2 | 104.5 | 1.5 | 11 | 3.9 | 55 | 11 |
| AD-392897 | 47.9 | 5 | 103.3 | 2.7 | 19.2 | 1.9 | 91.7 | 7.3 |
| AD-392898 | 24.7 | 4.3 | 98.9 | 6.7 | 11.6 | 2.4 | 76.1 | 11.5 |
| AD-392708 | 79.7 | 6.2 | 99.5 | 3.8 | 57.8 | 2.5 | 95.7 | 6.3 |
| AD-392899 | 20.7 | 3.4 | 75 | 4.2 | 12.6 | 3 | 57.9 | 5.9 |
| AD-392935 | 25.8 | 2.6 | 85.8 | 2.4 | 9.5 | 1.6 | 44 | 8 |
| AD-392882 | 47.9 | 2 | 101.9 | 4.4 | 15.9 | 2.3 | 77.6 | 9.3 |
| AD-392738 | 43.3 | 10.3 | 98.8 | 7.3 | 9.7 | 1.4 | 88 | 4 |
| AD-392739 | 42.8 | 13.3 | 124.4 | 28 | 16.6 | 0.8 | 82.1 | 4.9 |
| AD-392936 | 26.9 | 3.9 | 91.3 | 2.5 | 11.7 | 0.6 | 45.7 | 11.4 |
| AD-392900 | 36.6 | 1.9 | 96.1 | 5.9 | 11.7 | 1.5 | 64.5 | 4.1 |
| AD-392901 | 49 | 0.9 | 106.8 | 6.4 | 46.2 | 4.3 | 81.8 | 7.1 |
| AD-392937 | 36.7 | 2.7 | 89.6 | 3 | 12.4 | 1.4 | 53 | 7.9 |
| AD-392883 | 30.8 | 2.2 | 96.6 | 4.4 | 8.5 | 1.2 | 55.2 | 3.5 |
| AD-392975 | 112.8 | 2.1 | 106.9 | 2.2 | 27.9 | 1.3 | 95.3 | 5.5 |
| AD-392938 | 33 | 7.9 | 88.1 | 3.2 | 13.2 | 2.9 | 61.6 | 6.9 |
| AD-392755 | 100.8 | 38 | 105.8 | 17.6 | 38.6 | 2.2 | 93.2 | 5.9 |
| AD-392939 | 36.8 | 8 | 96.2 | 4.8 | 9.8 | 3 | 59.1 | 9.1 |

[0994]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392940 | 81.3 | 12.4 | 97 | 3.1 | 84.6 | 8.1 | 93.8 | 7.5 |
| AD-392756 | 101.7 | 14.9 | 94.9 | 5.7 | 43.2 | 4.2 | 98.9 | 11.3 |
| AD-392774 | 99.6 | 34.8 | 97.3 | 2.2 | 87.9 | 3.8 | 98.6 | 7.7 |
| AD-392850 | 89.3 | 3.3 | 95.3 | 4.2 | 37.4 | 3.2 | 102.2 | 11.6 |
| AD-392852 | 91.8 | 4.8 | 88.2 | 5.9 | 59.9 | 5.6 | 103.8 | 8.7 |
| AD-392830 | 89.2 | 1.9 | 83.6 | 9.6 | 68.2 | 2.5 | 89.6 | 3.7 |
| AD-392808 | 44.2 | 17.6 | 76.1 | 6.5 | 9.1 | 1.1 | 67.3 | 3.3 |
| AD-392793 | 72 | 2.1 | 84.9 | 2 | 33 | 3.4 | 68 | 19.8 |
| AD-392757 | 71.3 | 28.8 | 98.5 | 1.7 | 24.4 | 1 | 87.5 | 5.9 |
| AD-392747 | 86.8 | 27.4 | 99.9 | 7.2 | 33.1 | 0.9 | 97.6 | 4.3 |
| AD-392902 | 29.3 | 3.3 | 134.2 | 36.1 | 17.9 | 1.7 | 87 | 6.6 |
| AD-392941 | 36.9 | 13.1 | 82.5 | 5.4 | 13.3 | 1.4 | 70.6 | 13.1 |
| AD-392942 | 22 | 3.6 | 89.2 | 5.2 | 6.5 | 0.8 | 56.2 | 4.4 |
| AD-392943 | 28 | 4.2 | 95.1 | 4.5 | 11.3 | 1.5 | 57 | 6.2 |
| AD-392944 | 27.9 | 3.5 | 85.8 | 4.4 | 12.9 | 0.6 | 53.4 | 4.1 |
| AD-392903 | 16.4 | 1 | 76.8 | 2.7 | 7.9 | 1.1 | 29 | 9.1 |
| AD-392775 | 61.4 | 30.1 | 91.8 | 4.8 | 15 | 0.7 | 85.1 | 5.4 |
| AD-392758 | 53.8 | 35.1 | 83.4 | 8 | 11.1 | 0.9 | 51.6 | 6.6 |
| AD-392945 | 33.3 | 4.7 | 101.9 | 4.9 | 10.6 | 1 | 76.2 | 3.7 |
| AD-392946 | 71 | 6.7 | 99.6 | 3.1 | 39.7 | 2 | 90.3 | 4.5 |
| AD-392884 | 30.2 | 1.9 | 90.5 | 8 | 10.8 | 2.3 | 53.3 | 2.9 |
| AD-392947 | 51.8 | 6 | 95.8 | 1.8 | 12.4 | 0.7 | 68.4 | 3 |
| AD-392748 | 84.5 | 29.8 | 114 | 35.3 | 27.9 | 1.8 | 92.7 | 18.9 |
| AD-392759 | 87.4 | 36.2 | 96.7 | 8.4 | 22.7 | 2.7 | 97 | 7.7 |
| AD-392837 | 37.8 | 0.6 | 91.9 | 4.6 | 7.9 | 2.4 | 36.9 | 1.6 |
| AD-392970 | 84.2 | 7.5 | 93.4 | 4.1 | 7.5 | 1 | 41.3 | 4.2 |
| AD-392976 | 112.8 | 16.8 | 112.7 | 5.3 | 19.8 | 1.4 | 84.1 | 1.7 |
| AD-392965 | 82.2 | 14.1 | 96.1 | 5.9 | 8.2 | 1 | 54.3 | 1.8 |
| AD-392831 | 87.9 | 4.2 | 82 | 12.3 | 12.6 | 2.8 | 55.5 | 5.9 |
| AD-392904 | 74.2 | 2.8 | 105.9 | 7.1 | 26 | 3 | 102.4 | 14.2 |
| AD-392885 | 30.3 | 3.2 | 82.9 | 6 | 5.5 | 1.6 | 29.9 | 3.8 |
| AD-392886 | 26.6 | 3.3 | 87.3 | 2.6 | 9.7 | 2.2 | 40.1 | 4.5 |
| AD-392776 | 60.2 | 17 | 95.7 | 8.6 | 9.4 | 1.5 | 69.4 | 6.5 |
| AD-392887 | 20.8 | 3.3 | 102.3 | 11.9 | 8.1 | 2 | 34.5 | 4.7 |

[0995]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392722 | 68.7 | 26.2 | 95.3 | 4.1 | 12.3 | 2.1 | 73.8 | 2.3 |
| AD-392740 | 93.3 | 22.3 | 94.2 | 5.3 | 50.7 | 2.6 | 100.4 | 8.3 |
| AD-392760 | 68.1 | 23 | 96.7 | 5.6 | 8.5 | 0.5 | 57.3 | 5.9 |
| AD-392731 | 39.8 | 10.9 | 99.6 | 12.7 | 4.5 | 2.5 | 41.1 | 11.1 |
| AD-392709 | 74.4 | 24.7 | 107.4 | 13.6 | 11.8 | 0.7 | 78.2 | 5.3 |
| AD-392723 | 58.8 | 23.6 | 119.7 | 22.1 | 14.2 | 3.1 | 72.1 | 3.9 |
| AD-392948 | 32.8 | 7.4 | 84.3 | 2.3 | 6.5 | 0.5 | 33 | 2.3 |
| AD-392724 | 59.7 | 13.5 | 93.8 | 7.2 | 13 | 1.6 | 58.3 | 5.5 |
| AD-392949 | 49 | 2.8 | 92.9 | 2 | 15.8 | 1.7 | 70.8 | 2.6 |
| AD-392725 | 40.2 | 6.5 | 95.7 | 5.9 | 10 | 2.8 | 54.4 | 2.5 |
| AD-392950 | 25.1 | 4.1 | 83.7 | 5.5 | 8.2 | 0.9 | 50.2 | 3.9 |
| AD-392732 | 27.6 | 5.2 | 92.4 | 16.7 | 7.4 | 1.1 | 30.6 | 1.5 |
| AD-392726 | 57.8 | 9.3 | 96 | 4.8 | 9 | 0.6 | 70 | 5.9 |
| AD-392733 | 79.3 | 18 | 92.3 | 5 | 40.3 | 1.9 | 96.6 | 7.5 |
| AD-392906 | 75.4 | 3.6 | 104.5 | 2.1 | 37.2 | 4 | 107 | 18.3 |
| AD-392862 | 33.1 | 2.3 | 84.5 | 4.2 | 10.7 | 2 | 54 | 5.2 |
| AD-392951 | 41 | 6.5 | 94.1 | 8 | 13.4 | 0.5 | 70.5 | 4.1 |
| AD-392871 | 46.6 | 11.3 | 95.8 | 14.3 | 12.2 | 1.8 | 35.7 | 5.2 |
| AD-392872 | 69.6 | 11 | 92 | 7.4 | 17.5 | 3 | 55.4 | 6.7 |
| AD-392952 | 74.8 | 6.9 | 101.1 | 5.8 | 73 | 4.1 | 94.5 | 4.3 |
| AD-392907 | 74.8 | 4.4 | 99.4 | 4.5 | 71.4 | 6.2 | 102.2 | 16.2 |
| AD-392953 | 79.5 | 5.3 | 101.7 | 4.3 | 72.4 | 3.5 | 90.6 | 3.7 |
| AD-392741 | 85 | 16.2 | 93.1 | 4.3 | 90.3 | 5.6 | 97 | 5.7 |
| AD-392908 | 71.7 | 5 | 105.4 | 2.3 | 72.2 | 1.6 | 95 | 9 |
| AD-392977 | 93.7 | 7.9 | 111.3 | 3.2 | 68 | 2.7 | 80.1 | 2.5 |
| AD-392847 | 92.1 | 1.9 | 97.9 | 1.8 | 82.4 | 5 | 85.7 | 8.1 |
| AD-392809 | 93.5 | 7 | 93.9 | 10 | 81.9 | 7.5 | 83.3 | 5.7 |
| AD-392810 | 93 | 6.1 | 88.8 | 5.9 | 76.9 | 5.4 | 90.6 | 2.9 |
| AD-392777 | 88.2 | 20.1 | 92.7 | 7.2 | 86 | 5 | 101.9 | 13 |
| AD-392960 | 85 | 8.7 | 103.7 | 8.7 | 73 | 3.8 | 87 | 6 |
| AD-392873 | 95.5 | 2.9 | 95.5 | 5.6 | 76.4 | 3.7 | 49.1 | 15.4 |
| AD-392889 | 64.1 | 5.5 | 126.2 | 36.5 | 71.1 | 4.8 | 85.6 | 7.4 |
| AD-392954 | 68.9 | 7.2 | 98.1 | 6 | 66.7 | 3.5 | 75.1 | 4.3 |
| AD-392955 | 83 | 3.1 | 98.6 | 5.7 | 73.6 | 1.3 | 88.6 | 2.9 |

[0996]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-392909 | 61.4 | 4.4 | 101.1 | 5.8 | 67.3 | 4.7 | 85.8 | 10.4 |
| AD-392710 | 110 | 29.8 | 165.2 | 53.6 | 66.7 | 3.8 | 86 | 9.1 |
| AD-392956 | 71.5 | 9.3 | 93.1 | 3.8 | 63.5 | 4.5 | 78.9 | 2.7 |
| AD-392874 | 77.2 | 2.9 | 98.8 | 4.1 | 67.5 | 9.5 | 64.9 | 15.1 |
| AD-392957 | 59.5 | 10.6 | 98.9 | 19 | 60.5 | 4.8 | 72.4 | 2 |
| AD-392958 | 80.4 | 5.5 | 95.9 | 8.2 | 83.3 | 5 | 102.9 | 6.3 |
| AD-392959 | 67.6 | 6.5 | 99 | 6.1 | 75.9 | 3.1 | 89.4 | 3.3 |
| AD-392788 | 106.7 | 6 | 111.9 | 9.1 | 92.1 | 4 | 87.4 | 6.6 |

[0997] 某些药剂组被确定为驻留在特别有效的APP敲除靶向区域中。如以上结果所示，APP转录物的一些区域似乎比其他区域更容易被本申请内容的RNAi剂靶向——例如，靶向NM_000484序列中APP位置2639至2689的剂(即RNAi剂AD-392785、AD-392829、AD-392920、AD-392921、AD-392768、AD-392805、AD-392769、AD-392753、AD-392714、AD-392703和AD-392715)表达出特别稳健敲除导致在Be(2)C细胞系中，表明可能存在一个“热点”，可能与其他重叠RNAi剂的活性相似，靶向APP转录本的这些位置。因此，明确预期任何具有完全位于以下NM_000484位置窗口内的靶序列的RNAi剂都可能表达出强大的APP抑制作用:APP NM_00484位置1891至1919;APP NM_00484位置2282至2306;APP NM_00484位置2464至2494;APP NM_00484位置2475至2638;APP NM_00484位置2621至2689;APP NM_00484位置2682至2725;APP NM_00484位置2705至2746;APP NM_00484位置2726至2771;APP NM_00484位置2754至2788;APP NM_00484位置2782至2813;APP NM_00484位置2801至2826;APP NM_00484位置2847至2890;APP NM_00484位置2871至2896;APP NM_00484位置2882至2960;APP NM_00484位置2942至2971;APP NM_00484位置2951至3057;APP NM_00484位置3172至3223;APP NM_00484位置3209至3235;NM_00484位置3256至3289;NM_00484位置3302至3338;APP NM_00484位置3318至3353;和APP NM_00484位置3334至3361。

[0998]

表 5A. 小鼠 APP 经修饰的序列

| 双链体名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397175 | csasugu(Uhd)CfuGfUfGfguaaacucaaL96 | 1403 | VPusUfsgagUfuUfAfccacAfgAfacaugsgsc | 1404 | GCCAUGUUCUGUGGUAAACUCAA | 1405 |
| AD-397176 | usgsuuc(Uhd)GfuGfGfUfaaacucaacaL96 | 1406 | VPusGfsuugAfgUfUfuaccAfcAfgaacasusg | 1407 | CAUGUUCUGUGGUAAACUCAACA | 1408 |
| AD-397177 | asusguu(Chd)UfgUfGfGfuaaacucaaaL96 | 1409 | VPusUfsugaGfuUfUfaccaCfaGfaacausgsg | 1410 | CCAUGUUCUGUGGUAAACUCAAC | 1411 |
| AD-397178 | csusgug(Ghd)UfaAfAfCfucaacaugcaL96 | 1412 | VPusGfscauGfuUfGfaguuUfaCfcacagsasa | 1413 | UUCUGUGGUAAACUCAACAUGCA | 1414 |
| AD-397179 | gsgsuaa(Ahd)CfuCfAfAfcaugcacauaL96 | 1415 | VPusAfsugUfgcAfUfguugAfgUfuuaccsasc | 1416 | GUGGUAAACUCAACAUGCACAUG | 1417 |
| AD-397180 | usgsugg(Uhd)AfaAfCfUfcaacaugcaaL96 | 1418 | VPusUfsgcaUfgUfUfgaguUfuAfccacasgsa | 1419 | UCUGUGGUAAACUCAACAUGCAC | 1420 |
| AD-397181 | gsasaga(Ghd)CfaCfUfAfacuugcacgaL96 | 1421 | VPusCfsgugCfaAfGfuuagUfgCfucuucsusc | 1422 | GAGAAGAGCACUAACUUGCACGA | 1423 |
| AD-397182 | cscsgcu(Ghd)GfuAfCfUfuugaugucaaL96 | 1424 | VPusUfsgacAfuCfAfaaguAfcCfagcggsgsa | 1425 | UCCCGCUGGUACUUUGAUGUCAC | 1426 |
| AD-397183 | cscsaug(Uhd)UfcUfGfUfgguaaacucaL96 | 1427 | VPusGfsaguUfuAfCfcacaGfaAfcauggcsgg | 1428 | CGCCAUGUUCUGUGGUAAACUCA | 1429 |
| AD-397184 | gsusggu(Ahd)AfaCfUfCfaacaugcacaL96 | 1430 | VPusGfsugcAfuGfUfugagUfuUfaccacsasg | 1431 | CUGUGGUAAACUCAACAUGCACA | 1432 |
| AD-397185 | gsasacu(Ghd)CfaGfAfUfcacaaacguaL96 | 1433 | VPusAfscguUfuGfUfgaucUfgCfaguucsasg | 1434 | CUGAACUGCAGAUCACAAACGUG | 1435 |
| AD-397186 | asasgag(Chd)AfcUfAfAfcuugcacgaaL96 | 1436 | VPusUfscguGfcAfAfguuaGfuGfcucuuscsu | 1437 | AGAAGAGCACUAACUUGCACGAC | 1438 |
| AD-397187 | asgscac(Uhd)AfaCfUfUfgcacgacuaaL96 | 1439 | VPusUfsaguCfgUfGfcaagUfuAfgugcuscsu | 1440 | AGAGCACUAACUUGCACGACUAU | 1441 |
| AD-397188 | gscsacu(Ahd)AfcUfUfGfcacgacuauaL96 | 1442 | VPusAfsuagUfcGfUfgcaaGfuUfagugcsusc | 1443 | GAGCACUAACUUGCACGACUAUG | 1444 |
| AD-397189 | asasagu(Uhd)UfaCfUfCfaagacuaccaL96 | 1445 | VPusGfsguaGfuCfUfugagUfaAfacuuusgsg | 1446 | CCAAAGUUUACUCAAGACUACCA | 1447 |
| AD-397190 | csgscau(Ghd)AfaCfCfAfgucugucaL96 | 1448 | VPusGfsacaGfaGfAfcuggUfuCfaugcgscsu | 1449 | AGCGCAUGAACCAGUCUCUGUCC | 1450 |
| AD-397191 | csascau(Chd)GfuGfAfUfuccuuaccgaL96 | 1451 | VPusCfsgguAfaGfGfaaucAfcGfaugugsgsg | 1452 | CCCACACUCGUGAUUCCUUACCGU | 1453 |
| AD-397192 | asusgcu(Ghd)AfaGfAfAfguacguccgaL96 | 1454 | VPusCfsggaCfgUfAfcuucUfuCfagcausgsu | 1455 | ACAUGCUGAAGAAGUACGUCCGU | 1456 |
| AD-397193 | gsasgcg(Chd)AfuGfAfAfccagucucuaL96 | 1457 | VPusAfsgagAfcUfGfguucAfuGfcgcucsgsu | 1458 | ACGAGCGCAUGAACCAGUCUCUG | 1459 |

[0999]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397194 | gsasgca(Ghd)AfaCfUfAfcuccgacgaaL96 | 1460 | VPusUfscguCfgGfAfguagUfuCfugcucscsu | 1461 | AGGAGCAGAACUACUCCGACGAU | 1462 |
| AD-397195 | csasccc(Ahd)CfaUfCfGfugauuccuuaL96 | 1463 | VPusAfsaggAfaUfCfacgaUfgUfgggugsusg | 1464 | CACACCCACAUCGUGAUUCCUUA | 1465 |
| AD-397196 | asgsagc(Ahd)CfuAfAfCfuugcacgacaL96 | 1466 | VPusGfsucgUfgCfAfaguuAfgUfgcucususc | 1467 | GAAGAGCACUAACUUGCACGACU | 1468 |
| AD-397197 | csascua(Ahd)CfuUfGfCfacgacuaugaL96 | 1469 | VPusCfsauaGfuCfGfugcaAfgUfuagugcscsu | 1470 | AGCACUAACUUGCACGACUAUGG | 1471 |
| AD-397198 | csuscaa(Ghd)AfcUfAfCfcagugaaccaL96 | 1472 | VPusGfsguuCfaCfUfgguaGfuCfuugagsusa | 1473 | UACUCAAGACUACCAGUGAACCU | 1474 |
| AD-397199 | asgscac(Ahd)CfcCfUfAfaagcauuuuaL96 | 1475 | VPusAfsaaaUfgCfUfuuagGfgUfgugcusgsu | 1476 | ACAGCACACCCUAAAGCAUUUUG | 1477 |
| AD-397200 | asasgga(Ghd)CfaGfAfAfcuacuccgaaL96 | 1478 | VPusUfscggAfgUfAfguucUfgCfuccuuscsu | 1479 | AGAAGGAGCAGAACUACUCCGAC | 1480 |
| AD-397201 | gsgsagc(Ahd)GfaAfCfUfacuccgacgaL96 | 1481 | VPusCfsgucGfgAfGfuaguUfcUfgcuccsusu | 1482 | AAGGAGCAGAACUACUCCGACGA | 1483 |
| AD-397202 | gsasaac(Ahd)GfuAfCfAfcauccauccaL96 | 1484 | VPusGfsgauGfgAfUfguguAfcUfguuucsusu | 1485 | AAGAAACAGUACACAUCCAUCCA | 1486 |
| AD-397203 | csusgaa(Chd)UfgCfAfGfaucacaaacaL96 | 1487 | VPusGfsuuuGfuGfAfucugCfaGfuucagsgsg | 1488 | CCCUGAACUGCAGAUCACAAACG | 1489 |
| AD-397204 | cscsaca(Uhd)CfgUfGfAfuuccuuaccaL96 | 1490 | VPusGfsguaAfgGfAfaucaCfgAfuguggsgsu | 1491 | ACCCACAUCGUGAUUCCUUACCG | 1492 |
| AD-397205 | gsusgcc(Chd)GfaCfAfAfgugcaaguuaL96 | 1493 | VPusAfsacuUfgCfAfcuugUfcGfggcacsgsa | 1494 | UCGUGCCCGACAAGUGCAAGUUC | 1495 |
| AD-397206 | gsascua(Chd)CfaGfUfGfaaccucuuucaL96 | 1496 | VPusGfsaagAfgGfUfucacUfgGfuagucsusu | 1497 | AAGACUACCAGUGAACCUCUUCC | 1498 |
| AD-397207 | gsusccg(Chd)CfaUfCfAfaaaacugguaL96 | 1499 | VPusAfsccaGfuUfUfuugaUfgGfcggacsusu | 1500 | AAGUCCGCCAUCAAAAACUGGUG | 1501 |
| AD-397208 | gsgsccc(Uhd)CfgAfGfAfauuacaucaaL96 | 1502 | VPusUfsgauGfuAfAfuucuCfgAfgggccsasg | 1503 | CUGGCCCUCGAGAAUUACAUCAC | 1504 |
| AD-397209 | csasugc(Uhd)GfaAfGfAfaguacguccaL96 | 1505 | VPusGfsgacGfuAfCfuucuUfcAfgcaugsusu | 1506 | AACAUGCUGAAGAAGUACGUCCG | 1507 |
| AD-397210 | usgscug(Ahd)AfgAfAfGfuacguccguaL96 | 1508 | VPusAfscggAfcGfUfacuuCfuUfcagcasusg | 1509 | CAUGCUGAAGAAGUACGUCCGUG | 1510 |
| AD-397211 | uscscgc(Chd)AfuCfAfAfaaacuggugaL96 | 1511 | VPusCfsaccAfgUfUfuuugAfuGfgcggascsu | 1512 | AGUCCGCCAUCAAAAACUGGUGU | 1513 |
| AD-397212 | ususgca(Chd)GfaCfUfAfuggcaugcuaL96 | 1514 | VPusAfsgcaUfgCfCfauagUfcGfugcaasgsu | 1515 | ACUUGCACGACUAUGGCAUGCUG | 1516 |
| AD-397213 | uscscca(Ghd)GfuCfAfUfgagagaaugaL96 | 1517 | VPusCfsauuCfuCfUfcaugAfcCfugggascsa | 1518 | UGUCCCAGGUCAUGAGAGAAUGG | 1519 |

[1000]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397214 | csusgaa(Ghd)AfaGfUfAfcguccgugcaL96 | 1520 | VPusGfscacGfgAfCfguacUfuCfuucagscsa | 1521 | UGCUGAAGAAGUACGUCCGUGCG | 1522 |
| AD-397215 | csgsugu(Ghd)AfuCfUfAfcgagcgcauaL96 | 1523 | VPusAfsugcGfcUfCfguagAfuCfacacgsgsa | 1524 | UCCGUGUGAUCUACGAGCGCAUG | 1525 |
| AD-397216 | usascug(Chd)CfaAfGfAfggucuacccaL96 | 1526 | VPusGfsgguAfgAfCfcucuUfgGfcaguascsu | 1527 | AGUACUGCCAACAGGUCUACCCU | 1528 |
| AD-397217 | csasccg(Ahd)GfaGfAfGfaauguccccaaL96 | 1529 | VPusUfsgggAfcAfUfucucUfcUfcggugscsu | 1530 | AGCACCGAGAGACAAUGUCCCAG | 1531 |
| AD-397218 | csasagg(Chd)CfuCfAfUfUfcauguguucaL96 | 1532 | VPusGfsaacAfcAfUfgaugAfgGfccuugsgsg | 1533 | CCCAAGGCCUCAUCAUGUUCA | 1534 |
| AD-397219 | gscsuga(Ahd)GfaAfGfUfUfacguccgugaL96 | 1535 | VPusCfsacgGfaCfGfuacuUfcUfucagcsasu | 1536 | AUGCUGAAGAACGUACGUCCGUGC | 1537 |
| AD-397220 | asasgca(Uhd)UfuUfGfAfAfcaugugcgaL96 | 1538 | VPusCfsgcaCfaUfGfuucaAfaAfugcuususa | 1539 | UAAAGCAUUUUGAACAUGUGCGC | 1540 |
| AD-397221 | csasccu(Chd)CfgUfGfUfUfgaucuacgaaL96 | 1541 | VPusUfscguAfgAfUfcacaCfgGfaggugsusg | 1542 | CACACCUCCGUGUGAUCUACGAG | 1543 |
| AD-397222 | gsasagg(Ahd)GfcAfGfAfAfacuacuccgaL96 | 1544 | VPusCfsggaGfuAfGfuucuGfcUfccuucsusg | 1545 | CAGAAGGAGCAGAACUACUCCGA | 1546 |
| AD-397223 | gsasaga(Ahd)AfcAfGfUfUfacacauccaaL96 | 1547 | VPusUfsggaUfgUfGfuacuGfuUfucuucsusu | 1548 | AAGAAGAAACAGUACACAUCCAU | 1549 |
| AD-397224 | gsusacu(Ghd)CfcAfAfGfAfggucuaccaL96 | 1550 | VPusGfsguaGfaCfCfcuuGfgCfaguacsusg | 1551 | CAGUACUGCCAAGAGGUCUACCC | 1552 |
| AD-397225 | ascsugc(Chd)AfaGfAfGfGfgucuacccuaL96 | 1553 | VPusAfsgggUfaGfAfccucUfuGfGfcagusasc | 1554 | GUACUGCCAAGAGGUCUACCCUG | 1555 |
| AD-397226 | ascsuaa(Chd)UfuGfCfAfcgacuauggaL96 | 1556 | VPusCfscauAfgUfUfCfgugcAfaGfuuagusgsc | 1557 | GCACUAACUUGCACGACUAUGGC | 1558 |
| AD-397227 | gsusccc(Ahd)UfuCfUfUfuuacggccggaL96 | 1559 | VPusCfscgcCfgUfAfaaagAfaUfgggacsasc | 1560 | GUGUCCCAUUCUUUUACGGCGGA | 1561 |
| AD-397228 | asasgcu(Ghd)AfcAfAfGfGfaaggccguuaL96 | 1562 | VPusAfsacgGfcCfUfucuuGfuCfagcuususg | 1563 | CAAAGCUGACAAGAAGGCCGUUA | 1564 |
| AD-397229 | usgsaca(Ahd)GfaAfGfGfCfcguuauccaaL96 | 1565 | VPusGfsgauAfaCfGfgccuUfcUfugucasgsc | 1566 | GCUGACAAGAAGGCCGUUAUCCA | 1567 |
| AD-397230 | asgscau(Uhd)UfuGfAfAfAfcaugugcgcaL96 | 1568 | VPusGfscgcAfcAfUfguucAfaAfaugcususu | 1569 | AAAGCAUUUUGAACAUGUGCGCA | 1570 |
| AD-397231 | usgsuga(Uhd)CfuAfCfGfGfagcgcaugaaL96 | 1571 | VPusUfscauGfcGfCfucguAfgAfucacascsg | 1572 | CGUGUGAUCUACGAGCGCAUGAA | 1573 |
| AD-397233 | csasgcg(Ahd)GfaAfGfAfgcacuaacuaL96 | 1574 | VPusAfsguuAfgUfGfcucuUfcUfcgcugscsa | 1575 | UGCAGCGAGAAGACGCACUAACUU | 1576 |
| AD-397234 | asgscgu(Ghd)UfcAfAfCfccaaaguuuaL96 | 1577 | VPusAfsaacUfuUfGfgguuGfaCfacgcusgsc | 1578 | GCAGCGUGUCAACCCAAAGUUUA | 1579 |

[1001]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397235 | usgsuca(Ahd)CfcCfAfAfaguuuacucaL96 | 1580 | VPusGfsaguAfaAfCfuuugGfgUfugacascsg | 1581 | CGUGUCAACCCAAAGUUUACUCA | 1582 |
| AD-397236 | usgsucc(Chd)AfuUfCfUfuuuacggcgaL96 | 1583 | VPusCfsgccGfuAfAfaagaAfuGfggacascsa | 1584 | UGUGUCCCAUUCUUUUACGGCGG | 1585 |
| AD-397237 | gsusguc(Ahd)AfcCfCfAfaaguuuacuaL96 | 1586 | VPusAfsguaAfaCfUfuuggGfuUfgacacsgsc | 1587 | GCGUGUCAACCCAAAGUUUACUC | 1588 |
| AD-397238 | asasgau(Chd)CfuGfAfUfaaacuucccaL96 | 1589 | VPusGfsggaAfgUfUfuaucAfgGfaucuusgsg | 1590 | CCAAGAUCCUGAUAAACUUCCCA | 1591 |
| AD-397239 | asgsauc(Chd)UfgAfUfAfaacuucccaaL96 | 1592 | VPusUfsgggAfaGfUfuuauCfaGfgaucususg | 1593 | CAAGAUCCUGAUAAACUUCCCAC | 1594 |
| AD-397240 | csusuac(Chd)GfuUfGfCfcuaguugguaL96 | 1595 | VPusAfsccaAfcUfAfggcaAfcGfguaagsgsa | 1596 | UCCUUACCGUUGCCUAGUUGGUG | 1597 |
| AD-397241 | gsusgug(Uhd)CfcCfAfUfucuuuuacgaL96 | 1598 | VPusCfsguaAfaAfGfaaugGfgAfcacacsusu | 1599 | AAGUGUGUCCCAUUCUUUUACGG | 1600 |
| AD-397242 | gsusguc(Chd)CfaUfUfCfuuuuacggcaL96 | 1601 | VPusGfsccgUfaAfAfagaaUfgGfgacacsasc | 1602 | GUGUGUCCCAUUCUUUUACGGCG | 1603 |
| AD-397243 | csasuag(Chd)AfaCfCfGfugauugucaaL96 | 1604 | VPusUfsgacAfaUfUfCfacggUfuGfcuaugsasc | 1605 | GUCAUAGCAACCGUGAUUGUCAU | 1606 |
| AD-397244 | gsasacg(Ghd)AfuAfUfUfGfagaauccaaaL96 | 1607 | VPusUfsuggAfuUfUfCfucauAfuCfcguucsusg | 1608 | CAGAACGGAUAUGAGAAUCCAAC | 1609 |
| AD-397245 | usgsugu(Chd)CfcAfUfUfcuuuuacggaL96 | 1610 | VPusCfscguAfaAfAfgaauGfgGfgacacascsu | 1611 | AGUGUGUCCCAUUCUUUUACGGC | 1612 |
| AD-397246 | gscsaac(Chd)GfuGfAfUfugucaucacaL96 | 1613 | VPusGfsugaUfgAfCfaaucAfcGfguugcsusa | 1614 | UAGCAACCGUGAUUGUCAUCACC | 1615 |
| AD-397247 | gscsagc(Ghd)AfgAfAfGfagcacuaacaL96 | 1616 | VPusGfsuuaGfuGfCfucuuCfuCfgcugcsasu | 1617 | AUGCAGCGAGAAGAGCACUAACU | 1618 |
| AD-397248 | csasgaa(Uhd)UfcGfGfAfcaugauucaaL96 | 1619 | VPusUfsgaaUfcAfUfguccGfaAfuucugscsa | 1620 | UGCAGAAUUCGGACAUGAUUCAG | 1621 |
| AD-397249 | uscscug(Ahd)UfaAfAfCfuucccacgaaL96 | 1622 | VPusUfscguGfgGfAfaguuUfaUfcaggasusc | 1623 | GAUCCUGAUAAACUUCCCACGAC | 1624 |
| AD-397250 | asgsaac(Ghd)GfaUfAfUfgagaauccaaL96 | 1625 | VPusUfsggaUfuCfUfcauaUfcCfguucusgsc | 1626 | GCAGAACGGAUAUGAGAAUCCAA | 1627 |
| AD-397251 | cscsuua(Chd)CfgUfUfGfccuaguuggaL96 | 1628 | VPusCfscaaCfuAfGfgcaaCfgGfuaaggsasa | 1629 | UUCCUUACCGUUGCCUAGUUGGU | 1630 |
| AD-397252 | asusccu(Ghd)AfuAfAfAfcuucccacgaL96 | 1631 | VPusCfsgugGfgAfAfguuuAfuCfaggauscsu | 1632 | AGAUCCUGAUAAACUUCCCACGA | 1633 |
| AD-397253 | cscsuga(Uhd)AfaAfCfUfucccacgacaL96 | 1634 | VPusGfsucgUfgGfGfaaguUfuAfucaggsasu | 1635 | AUCCUGAUAAACUUCCCACGACA | 1636 |
| AD-397254 | csgsgau(Ghd)GfaUfGfUfuugugagacaL96 | 1637 | VPusGfsucuCfaCfAfaacaUfcCfauccgscsu | 1638 | AGCGGAUGGAUGUUUGUGAGACC | 1639 |

[1002]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397255 | gsascac(Ghd)GfaAfGfAfguacugcauaL96 | 1640 | VPusAfsugcAfgUfAfcucuUfcCfgugucsasa | 1641 | UUGACACGGAAGAGUACUGCAUG | 1642 |
| AD-397256 | gscsagc(Ahd)GfaAfCfGfgauaugagaaL96 | 1643 | VPusUfscucAfuAfUfccguUfcUfgcugcsasu | 1644 | AUGCAGCAGAACGGAUAUGAGAA | 1645 |
| AD-397257 | gscsaga(Ahd)CfgGfAfUfaugagaaucaL96 | 1646 | VPusGfsauuCfuCfAfuaucCfgUfucugcsusg | 1647 | CAGCAGAACGGAUAUGAGAAUCC | 1648 |
| AD-397258 | csasgaa(Chd)GfgAfUfAfugagaauccaL96 | 1649 | VPusGfsgauUfcUfCfauauCfcGfuucugcscsu | 1650 | AGCAGAACGGAUAUGAGAAUCCA | 1651 |
| AD-397259 | ascscgu(Chd)GfcCfAfAfagagacaugaL96 | 1652 | VPusCfsaugUfcUfCfuuugGfcGfacggusgsu | 1653 | ACACCGUCGCCAAAGAGACAUGC | 1654 |
| AD-397260 | gsusucu(Ghd)UfgGfUfAfaacucaacaaL96 | 1655 | VPusUfsguuGfaGfUfuuacCfaCfagaacsasu | 1656 | AUGUUCUGUGGUAAACUCAACAU | 1657 |
| AD-397261 | gsgsuac(Uhd)UfuGfAfUfgucacugaaaL96 | 1658 | VPusUfsucaGfuGfAfcaucAfaAfguaccsasg | 1659 | CUGGUACUUUGAUGUCACUGAAG | 1660 |
| AD-397262 | cscscaa(Ahd)GfuUfUfAfcucaagacuaL96 | 1661 | VPusAfsgucUfuGfAfguaaAfcUfuugggsusu | 1662 | AACCCAAAGUUUACUCAAGACUA | 1663 |
| AD-397263 | cscsaaa(Ghd)UfuUfAfCfucaagacuaaL96 | 1664 | VPusUfsaguCfuUfGfaguaAfaCfuuuggsgsu | 1665 | ACCCAAAGUUUACUCAAGACUAC | 1666 |
| AD-397264 | csasuca(Uhd)GfuGfUfUfcaacaugcuaL96 | 1667 | VPusAfsgcaUfgUfUfgaacAfcAfugaugsasg | 1668 | CUCAUCAUGUGUUCAACAUGCUG | 1669 |
| AD-397265 | asascau(Ghd)CfuGfAfAfgaaguacgaL96 | 1670 | VPusAfscguAfcUfUfcuucAfgCfauguusgsa | 1671 | UCAACAUGCUGAAGAAGUACGUC | 1672 |
| AD-397266 | ususcug(Uhd)GfgUfAfAfacucaacauaL96 | 1673 | VPusAfsuguUfgAfGfuuuaCfcAfcagaascsa | 1674 | UGUUCUGUGGUAAACUCAACAUG | 1675 |
| AD-397267 | uscsugu(Ghd)GfuAfAfAfcucaacaugaL96 | 1676 | VPusCfsaugUfuGfAfguuuAfcCfacagasasc | 1677 | GUUCUGUGGUAAACUCAACAUGC | 1678 |

[1003]

表 5B. 小鼠 APP 经修饰的序列，无“L96”连接子，无乙烯基磷酸酯

| 双链体名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397175 | csasugu(Uhd)CfuGfUfGfguaaacucaa | 1403 | usUfsgagUfuUfAfccacAfgAfacaugsgsc | 1404 | GCCAUGUUCUGUGGUAAACUCAA | 1405 |
| AD-397176 | usgsuuc(Uhd)GfuGfGfUfaaacucaaca | 1406 | usGfsuugAfgUfUfuaccAfcAfgaacasusg | 1407 | CAUGUUCUGUGGUAAACUCAACA | 1408 |
| AD-397177 | asusguu(Chd)UfgUfGfGfuaaacucaaa | 1409 | usUfsugaGfuUfUfaccaCfaGfaacausgsg | 1410 | CCAUGUUCUGUGGUAAACUCAAC | 1411 |
| AD-397178 | csusgug(Ghd)UfaAfAfCfucaacaugca | 1412 | usGfscauGfuUfGfaguuUfaCfcacagsasa | 1413 | UUCUGUGGUAAACUCAACAUGCA | 1414 |
| AD-397179 | gsgsuaa(Ahd)CfuCfAfAfcaugcacaua | 1415 | usAfsuguGfcAfUfguugAfgUfuuaccsasc | 1416 | GUGGUAAACUCAACAUGCACAUG | 1417 |
| AD-397180 | usgsugg(Uhd)AfaAfCfUfcaacaugcaa | 1418 | usUfsgcaUfgUfUfgaguUfuAfccacasgsa | 1419 | UCUGUGGUAAACUCAACAUGCAC | 1420 |
| AD-397181 | gsasaga(Ghd)CfaCfUfAfacuugcacga | 1421 | usCfsgugCfaAfGfuuagUfgCfucuucsusc | 1422 | GAGAAGAGCACUAACUUGCACGA | 1423 |
| AD-397182 | cscsgcu(Ghd)GfuAfCfUfuugaugucaa | 1424 | usUfsgacAfuCfAfaaguAfcCfagcggsgsa | 1425 | UCCCGCUGGUACUUUGAUGUCAC | 1426 |
| AD-397183 | cscsaug(Uhd)UfcUfGfUfgguaaacuca | 1427 | usGfsaguUfuAfCfcacaGfaAfcauggscsg | 1428 | CGCCAUGUUCUGUGGUAAACUCA | 1429 |
| AD-397184 | gsusggu(Ahd)AfaCfUfCfaacaugcaca | 1430 | usGfsugcAfuGfUfugagUfuUfuaccacsasg | 1431 | CUGUGGUAAACUCAACAUGCACA | 1432 |
| AD-397185 | gsasacu(Ghd)CfaGfAfUfcacaaacgua | 1433 | usAfscguUfuGfUfgaucUfgCfaguucsasg | 1434 | CUGAACUGCAGAUCACAAACGUG | 1435 |
| AD-397186 | asasgag(Chd)AfcUfAfAfcuugcacgaa | 1436 | usUfscguGfcAfAfguuaGfuGfcucuucscsu | 1437 | AGAAGAGCACUAACUUGCACGAC | 1438 |
| AD-397187 | asgscac(Uhd)AfaCfUfUfgcacgacuaa | 1439 | usUfsaguCfgUfGfcaagUfuAfgugcuscsu | 1440 | AGAGCACUAACUUGCACGACUAU | 1441 |
| AD-397188 | gscsacu(Ahd)AfcUfUfGfcacgacuaua | 1442 | usAfsuagUfcGfUfgcaaGfuUfagugcsusc | 1443 | GAGCACUAACUUGCACGACUAUG | 1444 |
| AD-397189 | asasagu(Uhd)UfaCfUfCfaagacuacca | 1445 | usGfsguaGfuCfUfugagUfaAfacuuusgsg | 1446 | CCAAAGUUUACUCAAGACUACCA | 1447 |
| AD-397190 | csgscau(Ghd)AfaCfCfCfAfgucucuguca | 1448 | usGfsacaGfaGfAfcuggUfuCfaugcgscsu | 1449 | AGCGCAUGAACCAGUCUCUGUCC | 1450 |
| AD-397191 | csascau(Chd)GfuGfAfUfuccuuaccga | 1451 | usCfsgguAfaGfGfaaucAfcGfaugugsgsg | 1452 | CCCACAUCGUGAUUCCUUACCGU | 1453 |
| AD-397192 | asusgcu(Ghd)AfaGfAfAfguacguccga | 1454 | usCfsggaCfgUfAfcuucUfuCfagcausgsu | 1455 | ACAUGCUGAAGAAGUACGUCCGU | 1456 |
| AD-397193 | gsasgcg(Chd)AfuGfAfAfccagucucua | 1457 | usAfsgagAfcUfGfguucAfuGfcgcucsgsu | 1458 | ACGAGCGCAUGAACCAGUCUCUG | 1459 |

[1004]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397194 | gsasgca(Ghd)AfaCfUfAfcuccgacgaa | 1460 | usUfscguCfgGfAfguagUfuCfugcucscsu | 1461 | AGGAGCAGAACUACUCCGACGAU | 1462 |
| AD-397195 | csasccc(Ahd)CfaUfCfGfugauuccuua | 1463 | usAfsaggAfaUfCfacgaUfgUfgggugsusg | 1464 | CACACCCACAUCGUGAUUCCUUA | 1465 |
| AD-397196 | asgsagc(Ahd)CfuAfAfCfuugcacgaca | 1466 | usGfsucgUfgCfAfaguuAfgUfgcucususc | 1467 | GAAGAGCACUAACUUGCACGACU | 1468 |
| AD-397197 | csascua(Ahd)CfuUfGfCfacgacuauga | 1469 | usCfsauaGfuCfGfugcaAfgUfuagugscsu | 1470 | AGCACUAACUUGCACGACUAUGG | 1471 |
| AD-397198 | csuscaa(Ghd)AfcUfAfCfcagugaacca | 1472 | usGfsguuCfaCfUfgguaGfuCfuugagsusa | 1473 | UACUCAAGACUACCAGUGAACCU | 1474 |
| AD-397199 | asgscac(Ahd)CfcCfUfAfaagcauuuua | 1475 | usAfsaaaUfgCfUfuuagGfgUfgugcusgsu | 1476 | ACAGCACACCCUAAAGCAUUUUG | 1477 |
| AD-397200 | asasgga(Ghd)CfaGfAfAfcuacuccgaa | 1478 | usUfscggAfgUfAfguucUfgCfuccuuscsu | 1479 | AGAAGGAGCAGAACUACUCCGAC | 1480 |
| AD-397201 | gsgsagc(Ahd)GfaAfCfUfacuccgacga | 1481 | usCfsgucGfgAfGfuaguUfcUfgcuccsusu | 1482 | AAGGAGCAGAACUACUCCGACGA | 1483 |
| AD-397202 | gsasaac(Ahd)GfuAfCfAfcauccaucca | 1484 | usGfsgauGfgAfUfguguAfcUfguuucsusu | 1485 | AAGAAACAGUACACAUCCAUCCA | 1486 |
| AD-397203 | csusgaa(Chd)UfgCfAfGfaucacaaaca | 1487 | usGfsuuuGfuGfAfucugCfaGfuucagsgsg | 1488 | CCCUGAACUGCAGAUCACAAACG | 1489 |
| AD-397204 | cscsaca(Uhd)CfgUfGfAfuuccuuacca | 1490 | usGfsguaAfgGfAfaucaCfgAfuguggsgsu | 1491 | ACCCACAUCGUGAUUCCUUACCG | 1492 |
| AD-397205 | gsusgcc(Chd)GfaCfAfAfgugcaaguua | 1493 | usAfsacuUfgCfAfcuugUfcGfggcacsgsa | 1494 | UCGUGCCCGACAAGUGCAAGUUC | 1495 |
| AD-397206 | gsascua(Chd)CfaGfUfGfaaccucuuca | 1496 | usGfsaagAfgGfUfucacUfgGfuagucsusu | 1497 | AAGACUACCAGUGAACCUCUUCC | 1498 |
| AD-397207 | gsusccg(Chd)CfaUfCfAfaaaacuggua | 1499 | usAfsccaGfuUfUfuugaUfgGfcggacsusu | 1500 | AAGUCCGCCAUCAAAAACUGGUG | 1501 |
| AD-397208 | gsgsccc(Uhd)CfgAfGfAfauuacaucaa | 1502 | usUfsgauGfuAfAfuucuCfgAfgggccsasg | 1503 | CUGGCCCUCGAGAAUUACAUCAC | 1504 |
| AD-397209 | csasugc(Uhd)GfaAfGfAfaguacgucca | 1505 | usGfsgacGfuAfCfuucuUfcAfgcaugsusu | 1506 | AACAUGCUGAAGAAGUACGUCCG | 1507 |
| AD-397210 | usgscug(Ahd)AfgAfAfGfuacguccgua | 1508 | usAfscggAfcGfUfacuuCfuUfcagcasusg | 1509 | CAUGCUGAAGAAGUACGUCCGUG | 1510 |
| AD-397211 | uscscgc(Chd)AfuCfAfAfaaacuggugua | 1511 | usCfsaccAfgUfUfuuugAfuGfgcggascsu | 1512 | AGUCCGCCAUCAAAAACUGGUGU | 1513 |
| AD-397212 | ususgca(Chd)GfaCfUfAfuggcaugcua | 1514 | usAfsgcaUfgCfCfauagUfcGfugcaasgsu | 1515 | ACUUGCACGACUAUGGCAUGCUG | 1516 |
| AD-397213 | uscscca(Ghd)GfuCfAfUfgagagaauga | 1517 | usCfsauuCfuCfUfcaugAfcCfugggascsa | 1518 | UGUCCCAGGUCAUGAGAGAAUGG | 1519 |

[1005]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397214 | csusgaa(Ghd)AfaGfUfAfcgucegugca | 1520 | usGfscacGfgAfCfguacUfuCfuucagscsa | 1521 | UGCUGAAGAAGUACGUCCGUGCG | 1522 |
| AD-397215 | csgsugu(Ghd)AfuCfUfAfcgagcgcaua | 1523 | usAfsugcGfcUfCfguagAfuCfacacgsgsa | 1524 | UCCGUGUGAUCUACGAGCGCAUG | 1525 |
| AD-397216 | usascug(Chd)CfaAfGfAfggcuaccca | 1526 | usGfsgguAfgAfCfcucuUfgGfcaguascsu | 1527 | AGUACUGCCAAGAGGUCUACCCU | 1528 |
| AD-397217 | csasccg(Ahd)GfaGfAfGfaaugucccaa | 1529 | usUfsgggAfcAfUfucucUfcUfcggugscsu | 1530 | AGCACCGAGAGAAUGUCCCAG | 1531 |
| AD-397218 | csasagg(Chd)CfuCfAfUfcauguguuca | 1532 | usGfsaacAfcAfUfgaugAfgGfccuugsgsg | 1533 | CCCAAGGCCUCAUCAUGUGUUCA | 1534 |
| AD-397219 | gscsuga(Ahd)GfaAfGfUfacguccguga | 1535 | usCfsacgGfaCfGfuacuUfcUfucagcsasu | 1536 | AUGCUGAAGAAGUACGUCCGUGC | 1537 |
| AD-397220 | asasgca(Uhd)UfuUfGfAfacaugugcga | 1538 | usCfsgcaCfaUfGfuucaAfaAfugcuusasa | 1539 | UAAAGCAUUUUGAACAUGUGCGC | 1540 |
| AD-397221 | csasccu(Chd)CfgUfGfUfgaucuacgaa | 1541 | usUfscguAfgAfUfcacaCfgGfaggugsusg | 1542 | CACACCUCCGUGUGAUCUACGAG | 1543 |
| AD-397222 | gsasagg(Ahd)GfcAfGfAfacuacuccga | 1544 | usCfsggaGfuAfGfuucuGfcUfccuucsusg | 1545 | CAGAAGGAGCAGAACUACUCCGA | 1546 |
| AD-397223 | gsasaga(Ahd)AfcAfGfUfacacauccaa | 1547 | usUfsggaUfgUfGfuacuGfuUfucuucsusu | 1548 | AAGAAGAAACAGUACACAUCCAU | 1549 |
| AD-397224 | gsusacu(Ghd)CfcAfAfGfaggucuacca | 1550 | usGfsguaGfaCfCfucuuGfgCfaguacsusg | 1551 | CAGUACUGCCAAGAGGUCUACCC | 1552 |
| AD-397225 | ascsugc(Chd)AfaGfAfGfgucuacccua | 1553 | usAfsgggUfaGfAfccucUfuGfgcagusasc | 1554 | GUACUGCCAAGAGGUCUACCCUG | 1555 |
| AD-397226 | ascsuaa(Chd)UfuGfCfAfcgacuaugga | 1556 | usCfscauAfgUfCfgugcAfaGfuuaugsgsc | 1557 | GCACUAACUUGCACGACUAUGGC | 1558 |
| AD-397227 | gsusccc(Ahd)UfuCfUfUfuuacggcgga | 1559 | usCfscgcCfgUfAfaaagAfaUfgggacsasc | 1560 | GUGUCCCAUUCUUUUACGGCGGA | 1561 |
| AD-397228 | asasgcu(Ghd)AfcAfAfGfaaggccguua | 1562 | usAfsacgGfcCfUfucuuGfuCfagcuusgsg | 1563 | CAAAGCUGACAAGAAGGCCGUUA | 1564 |
| AD-397229 | usgsaca(Ahd)GfaAfGfGfccguuaucca | 1565 | usGfsgauAfaCfGfgccuUfcUfugucasgsc | 1566 | GCUGACAAGAAGGCCGUUAUCCA | 1567 |
| AD-397230 | asgscau(Uhd)UfuGfAfAfcaugugcgca | 1568 | usGfscgcAfcAfUfguucAfaAfaugcususu | 1569 | AAAGCAUUUUGAACAUGUGCGCA | 1570 |
| AD-397231 | usgsuga(Uhd)CfuAfCfGfagcgcaugaa | 1571 | usUfscauGfcGfCfucguAfgAfucacascsg | 1572 | CGUGUGAUCUACGAGCGCAUGAA | 1573 |
| AD-397233 | csasgcg(Ahd)GfaAfGfAfgcacuaacua | 1574 | usAfsguuAfgUfGfcucuUfcUfcgcugscsa | 1575 | UGCAGCGAGAAGAGCACUAACUU | 1576 |
| AD-397234 | asgscgu(Ghd)UfcAfAfCfccaaaguuua | 1577 | usAfsaacUfuUfGfgguuGfaCfacgcusgsc | 1578 | GCAGCGUGUCAACCCAAAGUUUA | 1579 |

[1006]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397235 | usgsuca(Ahd)CfcCfAfAfaguuuacuca | 1580 | usGfsaguAfaAfCfuuugGfgUfugacascsg | 1581 | CGUGUCAACCCAAAGUUUACUCA | 1582 |
| AD-397236 | usgsucc(Chd)AfuUfCfUfuuuacggcga | 1583 | usCfsgccGfuAfAfaagaAfuGfggacascsa | 1584 | UGUGUCCCAUUCUUUUACGGCGG | 1585 |
| AD-397237 | gsusguc(Ahd)AfcCfCfAfaaguuuacua | 1586 | usAfsguaAfaCfUfuuggGfuUfgacacsgsc | 1587 | GCGUGUCAACCCAAAGUUUACUC | 1588 |
| AD-397238 | asasgau(Chd)CfuGfAfUfaaacuuccca | 1589 | usGfsggaAfgUfUfuaucAfgGfaucuusgsg | 1590 | CCAAGAUCCUGAUAAACUUCCCA | 1591 |
| AD-397239 | asgsauc(Chd)UfgAfUfAfaacuucccaa | 1592 | usUfsgggAfaGfUfuuauCfaGfgaucususg | 1593 | CAAGAUCCUGAUAAACUUCCCAC | 1594 |
| AD-397240 | csusuac(Chd)GfuUfGfCfcuaguuggua | 1595 | usAfsccaAfcUfAfggcaAfcGfguaagsgsa | 1596 | UCCUUACCGUUGCCUAGUUGGUG | 1597 |
| AD-397241 | gsusgug(Uhd)CfcCfAfUfucuuuuacga | 1598 | usCfsguaAfaAfGfaaugGfgAfcacacsusu | 1599 | AAGUGUGUCCCAUUCUUUUACGG | 1600 |
| AD-397242 | gsusguc(Chd)CfaUfUfCfuuuuacggca | 1601 | usGfsccgUfaAfAfagaaUfgGfgacacsasc | 1602 | GUGUGUCCCAUUCUUUUACGGCG | 1603 |
| AD-397243 | csasuag(Chd)AfaCfCfGfugauugucaa | 1604 | usUfsgacAfaUfUfCfacggUfuGfcuaugsasc | 1605 | GUCAUAGCAACCGUGAUUGUCAU | 1606 |
| AD-397244 | gsasacg(Ghd)AfuAfUfGfagaauccaaa | 1607 | usUfsuggAfuUfUfCfucauAfuCfcguucsusg | 1608 | CAGAACGGAUAUGAGAAUCCAAC | 1609 |
| AD-397245 | usgsugu(Chd)CfcAfUfUfcuuuuacgga | 1610 | usCfscguAfaAfAfgaauGfgGfacacascsu | 1611 | AGUGUCCCAUUCUUUUACGGC | 1612 |
| AD-397246 | gscsaac(Chd)GfuGfAfUfugucaucaca | 1613 | usGfsugaUfgAfCfaaucAfcGfguugcsusa | 1614 | UAGCAACCGUGAUUGUCAUCACC | 1615 |
| AD-397247 | gscsagc(Ghd)AfgAfAfGfagcacuaaca | 1616 | usGfsuuaGfuGfCfucuuCfuCfgcugcsasu | 1617 | AUGCAGCGAGAAGAGCACUAACU | 1618 |
| AD-397248 | csasgaa(Uhd)UfcGfGfAfcaugauucaa | 1619 | usUfsgaaUfcAfUfguccGfaAfuucugscsa | 1620 | UGCAGAAUUCGGACAUGAUUCAG | 1621 |
| AD-397249 | uscscug(Ahd)UfaAfAfCfuucccacgaa | 1622 | usUfscguGfgGfAfaguuUfaUfcaggasusc | 1623 | GAUCCUGAUAAACUUCCCACGAC | 1624 |
| AD-397250 | asgsaac(Ghd)GfaUfAfUfgagaauccaa | 1625 | usUfsggaUfuCfUfcauaUfcCfguucusgsc | 1626 | GCAGAACGGAUAUGAGAAUCCAA | 1627 |
| AD-397251 | cscsuua(Chd)CfgUfUfGfccuaguugga | 1628 | usCfscaaCfuAfGfgcaaCfgGfuaaggsasa | 1629 | UUCCUUACCGUUGCCUAGUUGGU | 1630 |
| AD-397252 | asusccu(Ghd)AfuAfAfAfcuucccacga | 1631 | usCfsgugGfgAfAfguuuAfuCfaggauscsu | 1632 | AGAUCCUGAUAAACUUCCCACGA | 1633 |
| AD-397253 | cscsuga(Uhd)AfaAfCfUfucccacgaca | 1634 | usGfsucgUfgGfGfaaguUfuAfucaggsasu | 1635 | AUCCUGAUAAACUUCCCACGACA | 1636 |
| AD-397254 | csgsgau(Ghd)GfaUfGfUfuugugagaca | 1637 | usGfsucuCfaCfAfaacaUfcCfauccgscsu | 1638 | AGCGGAUGGAUGUUUGUGAGACC | 1639 |

[1007]

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397255 | gsascac(Ghd)GfaAfGfAfguacugcaua | 1640 | usAfsugcAfgUfAfcucuUfcCfgugucsasa | 1641 | UUGACACGGAAGAGUACUGCAUG | 1642 |
| AD-397256 | gscsagc(Ahd)GfaAfCfGfgauaugagaa | 1643 | usUfscucAfuAfUfccguUfcUfgcugcsasu | 1644 | AUGCAGCAGAACGGAUAUGAGAA | 1645 |
| AD-397257 | gscsaga(Ahd)CfgGfAfUfaugagaauca | 1646 | usGfsauuCfuCfAfuaucCfgUfucugcsusg | 1647 | CAGCAGAACGGAUAUGAGAAUCC | 1648 |
| AD-397258 | csasgaa(Chd)GfgAfUfAfugagaaucca | 1649 | usGfsgauUfcUfCfauauCfcGfuucugscsu | 1650 | AGCAGAACGGAUAUGAGAAUCCA | 1651 |
| AD-397259 | ascscgu(Chd)GfcCfAfAfagagacauga | 1652 | usCfsaugUfcUfCfuuugGfcGfacggusgsu | 1653 | ACACCGUCGCCAAAGAGACAUGC | 1654 |
| AD-397260 | gsusucu(Ghd)UfgGfUfAfaacucaacaa | 1655 | usUfsguuGfaGfUfuuacCfaCfagaacsasu | 1656 | AUGUUCUGUGGUAAACUCAACAU | 1657 |
| AD-397261 | gsgsuac(Uhd)UfuGfAfUfgucacugaaa | 1658 | usUfsucaGfuGfAfcaucAfaAfguaccsasg | 1659 | CUGGUACUUUGAUGUCACUGAAG | 1660 |
| AD-397262 | cscscaa(Ahd)GfuUfUfAfcucaagacua | 1661 | usAfsgucUfuGfAfguaaAfcUfuugggsusu | 1662 | AACCCAAAGUUUACUCAAGACUA | 1663 |
| AD-397263 | cscsaaa(Ghd)UfuUfAfCfucaagacuaa | 1664 | usUfsaguCfuUfGfaguaAfaCfuuugggsgsu | 1665 | ACCCAAAGUUUACUCAAGACUAC | 1666 |
| AD-397264 | csasuca(Uhd)GfuGfUfUfcaacaugcua | 1667 | usAfsgcaUfgUfUfgaacAfcAfugaugsasg | 1668 | CUCAUCAUGUGUUCAACAUGCUG | 1669 |
| AD-397265 | asascau(Ghd)CfuGfAfAfgaaguacgua | 1670 | usAfscguAfcUfUfcuucAfgCfauguusgsa | 1671 | UCAACAUGCUGAAGAAGUACGUC | 1672 |
| AD-397266 | ususcug(Uhd)GfgUfAfAfacucaacaua | 1673 | usAfsuguUfgAfGfuuuaCfcAfcagaascsa | 1674 | UGUUCUGUGGUAAACUCAACAUG | 1675 |
| AD-397267 | uscsugu(Ghd)GfuAfAfAfcucaacauga | 1676 | usCfsaugUfuGfAfguuuAfcCfacagasasc | 1677 | GUUCUGUGGUAAACUCAACAUGC | 1678 |

[1008]

表 6. APP 未经修饰的序列，小鼠 NM_001198823.1 标靶

| 双链体 名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | NM_001198823.1 中的位置 | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | NM_001198823.1 中的位置 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397183 | CCAUGUUCUGUGGUAAACUCA | 1679 | 253-273 | UGAGUUUACCACAGAACAUGGCG | 1680 | 251-273 |
| AD-397175 | CAUGUUCUGUGGUAAACUCAA | 1681 | 254-274 | UUGAGUUUACCACAGAACAUGGC | 1682 | 252-274 |
| AD-397177 | AUGUUCUGUGGUAAACUCAAA | 1683 | 255-275 | UUUGAGUUUACCACAGAACAUGG | 1684 | 253-275 |
| AD-397176 | UGUUCUGUGGUAAACUCAACA | 1685 | 256-276 | UGUUGAGUUUACCACAGAACAUG | 1686 | 254-276 |
| AD-397260 | GUUCUGUGGUAAACUCAACAA | 1687 | 257-277 | UUGUUGAGUUUACCACAGAACAU | 1688 | 255-277 |
| AD-397266 | UUCUGUGGUAAACUCAACAUA | 1689 | 258-278 | UAUGUUGAGUUUACCACAGAACA | 1690 | 256-278 |
| AD-397267 | UCUGUGGUAAACUCAACAUGA | 1691 | 259-279 | UCAUGUUGAGUUUACCACAGAAC | 1692 | 257-279 |
| AD-397178 | CUGUGGUAAACUCAACAUGCA | 1693 | 260-280 | UGCAUGUUGAGUUUACCACAGAA | 1694 | 258-280 |
| AD-397180 | UGUGGUAAACUCAACAUGCAA | 1695 | 261-281 | UUGCAUGUUGAGUUUACCACAGA | 1696 | 259-281 |
| AD-397184 | GUGGUAAACUCAACAUGCACA | 1697 | 262-282 | UGUGCAUGUUGAGUUUACCACAG | 1698 | 260-282 |
| AD-397179 | GGUAAACUCAACAUGCACAUA | 1699 | 264-284 | UAUGUGCAUGUUGAGUUUACCAC | 1700 | 262-284 |
| AD-397224 | GUACUGCCAAGAGGUCUACCA | 1701 | 362-382 | UGGUAGACCUCUUGGCAGUACUG | 1702 | 360-382 |
| AD-397216 | UACUGCCAAGAGGUCUACCCA | 1703 | 363-383 | UGGGUAGACCUCUUGGCAGUACU | 1704 | 361-383 |
| AD-397225 | ACUGCCAAGAGGUCUACCCUA | 1705 | 364-384 | UAGGGUAGACCUCUUGGCAGUAC | 1706 | 362-384 |
| AD-397203 | CUGAACUGCAGAUCACAAACA | 1707 | 382-402 | UGUUUGUGAUCUGCAGUUCAGGG | 1708 | 380-402 |
| AD-397185 | GAACUGCAGAUCACAAACGUA | 1709 | 384-404 | UACGUUUGUGAUCUGCAGUUCAG | 1710 | 382-404 |
| AD-397195 | CACCCACAUCGUGAUUCCUUA | 1711 | 473-493 | UAAGGAAUCACGAUGUGGGUGUG | 1712 | 471-493 |
| AD-397204 | CCACAUCGUGAUUCCUUACCA | 1713 | 476-496 | UGGUAAGGAAUCACGAUGUGGGU | 1714 | 474-496 |
| AD-397191 | CACAUCGUGAUUCCUUACCGA | 1715 | 477-497 | UCGGUAAGGAAUCACGAUGUGGG | 1716 | 475-497 |
| AD-397251 | CCUUACCGUUGCCUAGUUGGA | 1717 | 489-509 | UCCAACUAGGCAACGGUAAGGAA | 1718 | 487-509 |

[1009]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397240 | CUUACCGUUGCCUAGUUGGUA | 1719 | 490-510 | UACCAACUAGGCAACGGUAAGGA | 1720 | 488-510 |
| AD-397205 | GUGCCCGACAAGUGCAAGUUA | 1721 | 534-554 | UAACUUGCACUUGUCGGGCACGA | 1722 | 532-554 |
| AD-397254 | CGGAUGGAUGUUUGUGAGACA | 1723 | 567-587 | UGUCUCACAAACAUCCAUCCGCU | 1724 | 565-587 |
| AD-397259 | ACCGUCGCCAAAGAGACAUGA | 1725 | 603-623 | UCAUGUCUCUUUGGCGACGGUGU | 1726 | 601-623 |
| AD-397247 | GCAGCGAGAAGAGCACUAACA | 1727 | 622-642 | UGUUAGUGCUCUUCUCGCUGCAU | 1728 | 620-642 |
| AD-397233 | CAGCGAGAAGAGCACUAACUA | 1729 | 623-643 | UAGUUAGUGCUCUUCUCGCUGCA | 1730 | 621-643 |
| AD-397181 | GAAGAGCACUAACUUGCACGA | 1731 | 629-649 | UCGUGCAAGUUAGUGCUCUUCUC | 1732 | 627-649 |
| AD-397186 | AAGAGCACUAACUUGCACGAA | 1733 | 630-650 | UUCGUGCAAGUUAGUGCUCUUCU | 1734 | 628-650 |
| AD-397196 | AGAGCACUAACUUGCACGACA | 1735 | 631-651 | UGUCGUGCAAGUUAGUGCUCUUC | 1736 | 629-651 |
| AD-397187 | AGCACUAACUUGCACGACUAA | 1737 | 633-653 | UUAGUCGUGCAAGUUAGUGCUCU | 1738 | 631-653 |
| AD-397188 | GCACUAACUUGCACGACUAUA | 1739 | 634-654 | UAUAGUCGUGCAAGUUAGUGCUC | 1740 | 632-654 |
| AD-397197 | CACUAACUUGCACGACUAUGA | 1741 | 635-655 | UCAUAGUCGUGCAAGUUAGUGCU | 1742 | 633-655 |
| AD-397226 | ACUAACUUGCACGACUAUGGA | 1743 | 636-656 | UCCAUAGUCGUGCAAGUUAGUGC | 1744 | 634-656 |
| AD-397212 | UUGCACGACUAUGGCAUGCUA | 1745 | 642-662 | UAGCAUGCCAUAGUCGUGCAAGU | 1746 | 640-662 |
| AD-397182 | CCGCUGGUACUUUGAUGUCAA | 1747 | 1064-1084 | UUGACAUCAAAGUACCAGCGGGA | 1748 | 1062-1084 |
| AD-397261 | GGUACUUUGAUGUCACUGAAA | 1749 | 1069-1089 | UUUCAGUGACAUCAAAGUACCAG | 1750 | 1067-1089 |
| AD-397241 | GUGUGUCCCAUUCUUUUACGA | 1751 | 1094-1114 | UCGUAAAAGAAUGGGACACACUU | 1752 | 1092-1114 |
| AD-397245 | UGUGUCCCAUUCUUUUACGGA | 1753 | 1095-1115 | UCCGUAAAAGAAUGGGACACACU | 1754 | 1093-1115 |
| AD-397242 | GUGUCCCAUUCUUUUACGGCA | 1755 | 1096-1116 | UGCCGUAAAAGAAUGGGACACAC | 1756 | 1094-1116 |
| AD-397236 | UGUCCCAUUCUUUUACGGCGA | 1757 | 1097-1117 | UCGCCGUAAAAGAAUGGGACACA | 1758 | 1095-1117 |
| AD-397227 | GUCCCAUUCUUUUACGGCGGA | 1759 | 1098-1118 | UCCGCCGUAAAAGAAUGGGACAC | 1760 | 1096-1118 |
| AD-397255 | GACACGGAAGAGUACUGCAUA | 1761 | 1143-1163 | UAUGCAGUACUCUUCCGUGUCAA | 1762 | 1141-1163 |
| AD-397234 | AGCGUGUCAACCCAAAGUUUA | 1763 | 1176-1196 | UAAACUUUGGGUUGACACGCUGC | 1764 | 1174-1196 |

[1010]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397237 | GUGUCAACCCAAAGUUUACUA | 1765 | 1179-1199 | UAGUAAACUUUGGGUUGACACGC | 1766 | 1177-1199 |
| AD-397235 | UGUCAACCCAAAGUUUACUCA | 1767 | 1180-1200 | UGAGUAAACUUUGGGUUGACACG | 1768 | 1178-1200 |
| AD-397262 | CCCAAAGUUUACUCAAGACUA | 1769 | 1186-1206 | UAGUCUUGAGUAAACUUUGGGUU | 1770 | 1184-1206 |
| AD-397263 | CCAAAGUUUACUCAAGACUAA | 1771 | 1187-1207 | UUAGUCUUGAGUAAACUUUGGGU | 1772 | 1185-1207 |
| AD-397189 | AAAGUUUACUCAAGACUACCA | 1773 | 1189-1209 | UGGUAGUCUUGAGUAAACUUUGG | 1774 | 1187-1209 |
| AD-397198 | CUCAAGACUACCAGUGAACCA | 1775 | 1197-1217 | UGGUUCACUGGUAGUCUUGAGUA | 1776 | 1195-1217 |
| AD-397206 | GACUACCAGUGAACCUCUUCA | 1777 | 1202-1222 | UGAAGAGGUUCACUGGUAGUCUU | 1778 | 1200-1222 |
| AD-397238 | AAGAUCCUGAUAAACUUCCCA | 1779 | 1225-1245 | UGGGAAGUUUAUCAGGAUCUUGG | 1780 | 1223-1245 |
| AD-397239 | AGAUCCUGAUAAACUUCCCAA | 1781 | 1226-1246 | UUGGGAAGUUUAUCAGGAUCUUG | 1782 | 1224-1246 |
| AD-397252 | AUCCUGAUAAACUUCCCACGA | 1783 | 1228-1248 | UCGUGGGAAGUUUAUCAGGAUCU | 1784 | 1226-1248 |
| AD-397249 | UCCUGAUAAACUUCCCACGAA | 1785 | 1229-1249 | UUCGUGGGAAGUUUAUCAGGAUC | 1786 | 1227-1249 |
| AD-397253 | CCUGAUAAACUUCCCACGACA | 1787 | 1230-1250 | UGUCGUGGGAAGUUUAUCAGGAU | 1788 | 1228-1250 |
| AD-397217 | CACCGAGAGAAAUGUCCCAA | 1789 | 1353-1373 | UUGGGACAUUCUCUCUCGGUGCU | 1790 | 1351-1373 |
| AD-397213 | UCCCAGGUCAUGAGAGAAUGA | 1791 | 1368-1388 | UCAUUCUCUCAUGACCUGGGACA | 1792 | 1366-1388 |
| AD-397228 | AAGCUGACAAGAAGGCCGUUA | 1793 | 1423-1443 | UAACGGCCUUCUUGUCAGCUUUG | 1794 | 1421-1443 |
| AD-397229 | UGACAAGAAGGCCGUUAUCCA | 1795 | 1427-1447 | UGGAUAACGGCCUUCUUGUCAGC | 1796 | 1425-1447 |
| AD-397208 | GGCCCUCGAGAAUUACAUCAA | 1797 | 1562-1582 | UUGAUGUAAUUCUCGAGGGCCAG | 1798 | 1560-1582 |
| AD-397218 | CAAGGCCUCAUCAUGUGUUCA | 1799 | 1603-1623 | UGAACACAUGAUGAGGCCUUGGG | 1800 | 1601-1623 |
| AD-397264 | CAUCAUGUGUUCAACAUGCUA | 1801 | 1611-1631 | UAGCAUGUUGAACACAUGAUGAG | 1802 | 1609-1631 |
| AD-397265 | AACAUGCUGAAGAAGUACGUA | 1803 | 1623-1643 | UACGUACUUCUUCAGCAUGUUGA | 1804 | 1621-1643 |
| AD-397209 | CAUGCUGAAGAAGUACGUCCA | 1805 | 1625-1645 | UGGACGUACUUCUUCAGCAUGUU | 1806 | 1623-1645 |
| AD-397192 | AUGCUGAAGAAGUACGUCCGA | 1807 | 1626-1646 | UCGGACGUACUUCUUCAGCAUGU | 1808 | 1624-1646 |
| AD-397210 | UGCUGAAGAAGUACGUCCGUA | 1809 | 1627-1647 | UACGGACGUACUUCUUCAGCAUG | 1810 | 1625-1647 |

[1011]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397219 | GCUGAAGAAGUACGUCCGUGA | 1811 | 1628-1648 | UCACGGACGUACUUCUUCAGCAU | 1812 | 1626-1648 |
| AD-397214 | CUGAAGAAGUACGUCCGUGCA | 1813 | 1629-1649 | UGCACGGACGUACUUCUUCAGCA | 1814 | 1627-1649 |
| AD-397199 | AGCACACCCUAAAGCAUUUUA | 1815 | 1666-1686 | UAAAAUGCUUUAGGGUGUGCUGU | 1816 | 1664-1686 |
| AD-397220 | AAGCAUUUUGAACAUGUGCGA | 1817 | 1677-1697 | UCGCACAUGUUCAAAAUGCUUUA | 1818 | 1675-1697 |
| AD-397230 | AGCAUUUUGAACAUGUGCGCA | 1819 | 1678-1698 | UGCGCACAUGUUCAAAAUGCUUU | 1820 | 1676-1698 |
| AD-397221 | CACCUCCGUGUGAUCUACGAA | 1821 | 1746-1766 | UUCGUAGAUCACACGGAGGUGUG | 1822 | 1744-1766 |
| AD-397215 | CGUGUGAUCUACGAGCGCAUA | 1823 | 1752-1772 | UAUGCGCUCGUAGAUCACACGGA | 1824 | 1750-1772 |
| AD-397231 | UGUGAUCUACGAGCGCAUGAA | 1825 | 1754-1774 | UUCAUGCGCUCGUAGAUCACACG | 1826 | 1752-1774 |
| AD-397193 | GAGCGCAUGAACCAGUCUCUA | 1827 | 1764-1784 | UAGAGACUGGUUCAUGCGCUCGU | 1828 | 1762-1784 |
| AD-397190 | CGCAUGAACCAGUCUCUGUCA | 1829 | 1767-1787 | UGACAGAGACUGGUUCAUGCGCU | 1830 | 1765-1787 |
| AD-397222 | GAAGGAGCAGAACUACUCCGA | 1831 | 1850-1870 | UCGGAGUAGUUCUGCUCCUUCUG | 1832 | 1848-1870 |
| AD-397200 | AAGGAGCAGAACUACUCCGAA | 1833 | 1851-1871 | UUCGGAGUAGUUCUGCUCCUUCU | 1834 | 1849-1871 |
| AD-397201 | GGAGCAGAACUACUCCGACGA | 1835 | 1853-1873 | UCGUCGGAGUAGUUCUGCUCCUU | 1836 | 1851-1873 |
| AD-397194 | GAGCAGAACUACUCCGACGAA | 1837 | 1854-1874 | UUCGUCGGAGUAGUUCUGCUCCU | 1838 | 1852-1874 |
| AD-397248 | CAGAAUUCGGACAUGAUUCAA | 1839 | 2167-2187 | UUGAAUCAUGUCCGAAUUCUGCA | 1840 | 2165-2187 |
| AD-397207 | GUCCGCCAUCAAAAACUGGUA | 1841 | 2196-2216 | UACCAGUUUUUGAUGGCCGGACUU | 1842 | 2194-2216 |
| AD-397211 | UCCGCCAUCAAAAACUGGUGA | 1843 | 2197-2217 | UCACCAGUUUUUGAUGGCCGGACU | 1844 | 2195-2217 |
| AD-397243 | CAUAGCAACCGUGAUUGUCAA | 1845 | 2282-2302 | UUGACAAUCACGGUUGCUAUGAC | 1846 | 2280-2302 |
| AD-397246 | GCAACCGUGAUUGUCAUCACA | 1847 | 2286-2306 | UGUGAUGACAAUCACGGUUGCUA | 1848 | 2284-2306 |
| AD-397223 | GAAGAAACAGUACACAUCCAA | 1849 | 2321-2341 | UUGGAUGUGUACUGUUUCUUCUU | 1850 | 2319-2341 |
| AD-397202 | GAAACAGUACACAUCCAUCCA | 1851 | 2324-2344 | UGGAUGGAUGUGUACUGUUUCUU | 1852 | 2322-2344 |
| AD-397256 | GCAGCAGAACGGAUAUGAGAA | 1853 | 2405-2425 | UUCUCAUAUCCGUUCUGCUGCAU | 1854 | 2403-2425 |
| AD-397257 | GCAGAACGGAUAUGAGAAUCA | 1855 | 2408-2428 | UGAUUCUCAUAUCCGUUCUGCUG | 1856 | 2406-2428 |

[1012]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397258 | CAGAACGGAUAUGAGAAUCCA | 1857 | 2409-2429 | UGGAUUCUCAUAUCCGUUCUGCU | 1858 | 2407-2429 |
| AD-397250 | AGAACGGAUAUGAGAAUCCAA | 1859 | 2410-2430 | UUGGAUUCUCAUAUCCGUUCUGC | 1860 | 2408-2430 |
| AD-397244 | GAACGGAUAUGAGAAUCCAAA | 1861 | 2411-2431 | UUUGGAUUCUCAUAUCCGUUCUG | 1862 | 2409-2431 |

[1013] 表7.在初代小鼠肝细胞和Neuro2A细胞系中进行APP单剂量筛选

[1014] 资料表示为相对于AD-1955非靶向对照的剩余信息百分比。

[1015]

| | 初代小鼠肝细胞 | | | | Neuro2A 细胞系 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 双链体名称 | 10nM 平均值 | 10nM 标准差 | 0.1nM 平均值 | 0.1nM 标准差 | 10nM 平均值 | 10nM 标准差 | 0.1nM 平均值 | 0.1nM 标准差 |
| AD-397183 | 4.2 | 1.4 | 37.3 | 24.3 | 7.94 | 2.86 | 52.66 | 5.87 |
| AD-397175 | 1.6 | 0.7 | 4.7 | 1.3 | 0.75 | 0.32 | 29.72 | 6.47 |
| AD-397177 | 1.3 | 1.1 | 3.9 | 2.6 | 0.4 | 0.13 | 18.06 | 3.73 |
| AD-397176 | 1.5 | 0.5 | 35.1 | 11.3 | 4.7 | 1.45 | 69.36 | 7.89 |
| AD-397260 | 11.2 | 1.5 | 73.4 | 23.1 | 20.53 | 3.62 | 81.33 | 2.21 |
| AD-397266 | 2.8 | 2 | 65.1 | 4.5 | 4.35 | 0.58 | 73.16 | 8.45 |
| AD-397267 | 0.8 | 0.3 | 23.6 | 4.2 | 1.18 | 0.28 | 37.78 | 3.45 |
| AD-397178 | 5.1 | 4.1 | 33.3 | 6.1 | 1.8 | 0.38 | 54.61 | 3.11 |
| AD-397180 | 1.3 | 0.4 | 28 | 13.9 | 0.47 | 0.06 | 37.8 | 3.96 |
| AD-397184 | 15.7 | 8.9 | 67.8 | 13.5 | 8.86 | 2.55 | 87.82 | 5.6 |
| AD-397179 | 5.7 | 1.6 | 45.1 | 26 | 3.12 | 0.86 | 57.24 | 5.19 |
| AD-397224 | 52.9 | 18.5 | 63.8 | 10.6 | 17.15 | 2.47 | 67.99 | 7.6 |
| AD-397216 | 25.6 | 17.9 | 104.2 | 21.6 | 34.91 | 7.44 | 98.89 | 4.08 |
| AD-397225 | 45.1 | 21.9 | 60.8 | 13.7 | 9.72 | 5.52 | 63.44 | 7.19 |
| AD-397203 | 3.3 | 1.6 | 71.9 | 8.2 | 5.1 | 0.98 | 75.87 | 3.29 |
| AD-397185 | 4.9 | 2.1 | 40.3 | 8.1 | 2.7 | 0.35 | 61.49 | 8.12 |
| AD-397195 | 2.5 | 1.3 | 49.8 | 21.8 | 1.64 | 0.08 | 63.95 | 5.83 |
| AD-397204 | 8.3 | 2 | 68 | 10.7 | 4.37 | 0.89 | 50.83 | 7.41 |
| AD-397191 | 1.5 | 0.5 | 39.9 | 14.8 | 1.5 | 1.06 | 55.07 | 10.78 |
| AD-397251 | 7.8 | 1.7 | 91.7 | 5.7 | 3.86 | 2.5 | 84.36 | 6.5 |
| AD-397240 | 4.2 | 1.9 | 61.9 | 6.8 | 2.48 | 0.7 | 62.39 | 1.48 |

[1016]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397205 | 13.5 | 10.5 | 86 | 11.4 | 13.06 | 7.61 | 76.77 | 2.64 |
| AD-397254 | 1.9 | 1.1 | 27.6 | 24.3 | 3.77 | 2.77 | 57.26 | 14.42 |
| AD-397259 | 3.5 | 0.7 | 79 | 22.8 | 9.43 | 1.12 | 82.49 | 3.19 |
| AD-397247 | 5.5 | 1 | 90.4 | 16.9 | 10.95 | 2.85 | 94.95 | 4.55 |
| AD-397233 | 6.7 | 6.2 | 84.4 | 10.3 | 3.4 | 1.14 | 76.36 | 4.66 |
| AD-397181 | 4.7 | 0.9 | 60.5 | 25.2 | 6.28 | 2.17 | 62.62 | 3.59 |
| AD-397186 | 53 | 17 | 82 | 14.7 | 42.07 | 9.63 | 95.63 | 6.67 |
| AD-397196 | 1.9 | 0.4 | 40.9 | 11.3 | 4.66 | 4.19 | 56.2 | 1.82 |
| AD-397187 | 28.4 | 11.2 | 77.5 | 13.3 | 25.64 | 8.56 | 86.64 | 5.99 |
| AD-397188 | 65.1 | 15.9 | 76.2 | 20 | 43.32 | 13.51 | 84.69 | 5.63 |
| AD-397197 | 2 | 1 | 41.9 | 10.7 | 2.11 | 0.41 | 55.63 | 2.15 |
| AD-397226 | 10.3 | 4.3 | 30 | 5 | 0.69 | 0.43 | 47.42 | 5.33 |
| AD-397212 | 1.8 | 0.1 | 65.4 | 9.3 | 1.94 | 0.48 | 63 | 29.9 |
| AD-397182 | 2.1 | 0.6 | 11.3 | 5.3 | 12.2 | 3.42 | 35.13 | 6.78 |
| AD-397261 | 2.3 | 0.6 | 32.6 | 10 | 29.93 | 2.71 | 48.28 | 24.73 |
| AD-397241 | 23 | 3.5 | 102.7 | 13.3 | 41.16 | 4.58 | 92.7 | 5.11 |
| AD-397245 | 60.9 | 8.6 | 60.9 | 14.3 | 55.71 | 4.45 | 68.27 | 6.83 |
| AD-397242 | 5.6 | 1.1 | 90.5 | 16.2 | 30.83 | 2.94 | 85.43 | 4.05 |
| AD-397236 | 16.9 | 6.2 | 71.9 | 5.7 | 32.58 | 2.93 | 67.13 | 3.06 |
| AD-397227 | 48.7 | 29.8 | 50.5 | 19.4 | 19.55 | 9.28 | 59.59 | 3.24 |
| AD-397255 | 6.1 | 0.8 | 73.8 | 33 | 24.01 | 5 | 86.3 | 9.24 |
| AD-397234 | 100.3 | 39.9 | 93.7 | 7.8 | 51.88 | 13.54 | 80.77 | 2.1 |
| AD-397237 | 36.2 | 28.6 | 49.5 | 14 | 32.83 | 17.93 | 51.76 | 10.71 |
| AD-397235 | 58 | 20.9 | 76.2 | 8 | 41.15 | 19.69 | 73.72 | 6 |
| AD-397262 | 22.1 | 6.9 | 51.8 | 16.2 | 61.74 | 5.34 | 65.6 | 14.12 |
| AD-397263 | 19.9 | 8 | 57.9 | 6.1 | 59.09 | 7.38 | 82.09 | 11.31 |
| AD-397189 | 17 | 5.1 | 56.2 | 9.5 | 49.48 | 18.93 | 73.89 | 5.4 |

[1017]

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397198 | 19.8 | 2.4 | 38.8 | 9.1 | 50.52 | 28.37 | 62.16 | 9.56 |
| AD-397206 | 18.8 | 1.7 | 41 | 12.6 | 62.65 | 21.77 | 61.59 | 8.42 |
| AD-397238 | 16.3 | 2 | 61.5 | 27.8 | 71.66 | 9.3 | 86.52 | 7.97 |
| AD-397239 | 34.6 | 11.4 | 101 | 22.8 | 74.11 | 7.37 | 91.24 | 4.34 |
| AD-397252 | 23.1 | 7.5 | 93.8 | 3.1 | 55.54 | 4.89 | 75.74 | 5.31 |
| AD-397249 | 35.6 | 4 | 104.9 | 10.9 | 70.19 | 3.96 | 97.86 | 6.43 |
| AD-397253 | 29.6 | 5.5 | 44.6 | 19.2 | 66.41 | 8.65 | 66.4 | 6.46 |
| AD-397217 | 11.5 | 6.3 | 102.4 | 20.9 | 18.85 | 3.87 | 98.69 | 3.04 |
| AD-397213 | 7.3 | 1.9 | 79.4 | 21.9 | 10.91 | 2.81 | 87.03 | 4.86 |
| AD-397228 | 68.7 | 66.7 | 43.2 | 9.3 | 23.79 | 8.45 | 53.36 | 3.55 |
| AD-397229 | 3.9 | 0.3 | 15.8 | 9.4 | 1.67 | 1.35 | 31.6 | 5.21 |
| AD-397208 | 18.2 | 3.9 | 96.2 | 27.2 | 37.55 | 9.28 | 97.91 | 5.09 |
| AD-397218 | 35 | 14.6 | 106 | 20.7 | 30.88 | 7.34 | 101.82 | 3.13 |
| AD-397264 | 4.2 | 2.2 | 98 | 12.9 | 19.97 | 2.06 | 104.79 | 4.61 |
| AD-397265 | 3 | 2.3 | 81.2 | 7.8 | 5.98 | 4.03 | 84.1 | 8.97 |
| AD-397209 | 10.9 | 9.3 | 90.5 | 22.2 | 17.18 | 3.16 | 81.66 | 5.17 |
| AD-397192 | 4.7 | 1.8 | 80.6 | 13 | 6.51 | 1.99 | 95.04 | 4.22 |
| AD-397210 | 22.6 | 6.4 | 83.6 | 24.7 | 6.55 | 1.38 | 82.6 | 3.83 |
| AD-397219 | 10.2 | 3.6 | 101.8 | 21.8 | 16.76 | 3.62 | 87.34 | 4.87 |
| AD-397214 | 5.8 | 0.9 | 34.4 | 14.3 | 12.78 | 5.24 | 54.95 | 18.66 |
| AD-397199 | 62.2 | 14.3 | 63.4 | 35 | 87.69 | 22.23 | 85.84 | 4.93 |
| AD-397220 | 5.2 | 0.5 | 99.2 | 18.2 | 5.91 | 1.12 | 91.13 | 2.97 |
| AD-397230 | 6.3 | 3.9 | 61.5 | 23.1 | 5.51 | 3.99 | 77.38 | 3.26 |
| AD-397221 | 10.5 | 3.4 | 111.2 | 42.5 | 24.53 | 4.87 | 93.86 | 3.22 |
| AD-397215 | 14.3 | 2.9 | 80.7 | 40 | 44.04 | 14.01 | 91.83 | 10.03 |
| AD-397231 | 17.1 | 3.2 | 108.7 | 19.6 | 21.54 | 1.56 | 79.31 | 4.22 |
| AD-397193 | 3.3 | 0.3 | 93.1 | 21.6 | 12.76 | 1.97 | 93.03 | 6.46 |

[1018]

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-397190 | 2.7 | 0.5 | 27.8 | 13.5 | 3.63 | 2.79 | 45.56 | 7.21 |
| AD-397222 | 62.9 | 9.1 | 57.2 | 17 | 25.04 | 11.48 | 80.41 | 4.04 |
| AD-397200 | 8.6 | 8.2 | 89.6 | 18.6 | 9.63 | 1.79 | 88.31 | 6.27 |
| AD-397201 | 85.2 | 40.7 | 106 | 17.5 | 41.76 | 9.95 | 105.41 | 3.36 |
| AD-397194 | 35.4 | 12.2 | 92 | 8.3 | 51.26 | 11.38 | 107.07 | 3.23 |
| AD-397248 | 7.8 | 1.1 | 97.5 | 17.7 | 17.64 | 1.67 | 103.37 | 4.94 |
| AD-397207 | 6.9 | 4 | 59.5 | 39.1 | 6.28 | 2.65 | 82.18 | 8.76 |
| AD-397211 | 18.2 | 8.6 | 101.1 | 20.6 | 14.71 | 4.06 | 96.99 | 2.56 |
| AD-397243 | 2.2 | 1.5 | 63.1 | 11.2 | 0.6 | 0.32 | 55.57 | 2.17 |
| AD-397246 | 1.5 | 0.6 | 46.6 | 22.5 | 0.86 | 0.64 | 63.09 | 3.39 |
| AD-397223 | 46.8 | 15.8 | 63.3 | 17.2 | 9.73 | 2.48 | 73.44 | 2.51 |
| AD-397202 | 32.5 | 7.6 | 103.4 | 25.9 | 20.68 | 4.37 | 95.57 | 5.11 |
| AD-397256 | 2.1 | 0.7 | 71.4 | 8 | 1.77 | 1.21 | 79.93 | 1.89 |
| AD-397257 | 2.4 | 0.7 | 76.1 | 23.3 | 5.45 | 2.7 | 84.43 | 7.45 |
| AD-397258 | 0.9 | 0.2 | 45.4 | 8.3 | 0.63 | 0.4 | 55.81 | 5.17 |
| AD-397250 | 0.8 | 0.1 | 54.9 | 11.3 | 0.52 | 0.23 | 46.87 | 3.19 |
| AD-397244 | 2.2 | 1.2 | 74.2 | 12 | 1.87 | 1.87 | 67.15 | 3.5 |

[1019] 如上表4所述,明确预期具有完全位于以下NM_001198823.1位置窗口内的靶序列的任何RNAi剂都可能表达出强大的APP抑制作用:APP NM_001198823.1位置251至284;APP NM_001198823.1位置362至404、APP NM_001198823.1位置471至510、APP NM_001198823.1位置532至587、APP NM_001198823.1位置601至649、APP NM_001198823.1位置633至662、APP NM_001198823.1位置1351至1388、APP NM_001198823.1位置1609至1649、APP NM_001198823.1位置1675至1698、APP NM_001198823.1位置1752至1787、APP NM_001198823.1位置2165至2217、APP NM_001198823.1位置2280至2344及APP NM_001198823.1位置2403至2431。

[1020] 实例2:RNAi試劑的体内評估

[1021] 選定的APP靶向RNAi試劑在AAV小鼠中人類APP敲除的概念驗證和先導識別屏幕中評估了体内功效。所選擇的RNAi試劑為這樣的研究包括AD-392911、AD-392912、AD-392911、AD-392912、AD-392913、AD-392843、AD-392844、AD-392824、AD-392704、AD-392790、AD-392703、AD-392866、AD-392927、AD-392916、AD-392714和AD-392926中,具有序列如權利表2A的上方,相應的未經修飾的序列,如上面的表3中,並且如在圖圖形描繪。1A和圖。在圖1B中,本實施例中測試的每種RNAi試劑進一步呈現連接在正義鏈的3'殘基處的三觸角GalNAc部分,目的是當皮下施用給小鼠時幫助此類RNAi試劑的肝臟靶向(對於鞘内施用,缺乏共軛的GalNAc部分也被明確考慮)。

[1022] 在此类研究中,将携带智人APP的AAV载体静脉注射到6至8周大的C57BL/6雌性小

鼠,并在AAV施用后14天,以3mg/kg小鼠(每组n=3),在皮下注射RNAi剂或对照后14天处死小鼠并评估肝脏的APP mRNA水平。与PBS和Naïve(仅AAV)对照相比,在所有测试的RNAi剂中观察到显著水平的体内人类APP mRNA敲除,观察到的敲除水平特别强,例如,对于AD-392911、AD-392912、AD-392911、AD-392912、AD-392913、AD-392843、AD-392844、AD-392824、AD-392866、AD-392927、AD-392916、AD-392714和AD-392926(图2A和图2B)结果用于生成图2A和图2B列于下表8中。

[1023] 表8.hsAPP体内敲除筛选结果(3mg/kg,第14天,肝脏)

| 治疗 | %剩余信息 | 标准偏差 |
|---|---|---|
| PBS | 100.00 | 15.77 |
| naïve(仅AAV) | 104.17 | 1.89 |
| AD-392911 | 53.75 | 8.76 |
| AD-392912 | 46.47 | 14.18 |
| AD-392913 | 42.34 | 7.95 |
| AD-392843 | 27.25 | 0.46 |
| AD-392844 | 44.25 | 9.04 |
| AD-392824 | 42.64 | 0.87 |
| AD-392704 | 72.99 | 8.76 |
| AD-392790 | 72.71 | 11.66 |
| AD-392703 | 69.60 | 4.70 |
| AD-392866 | 35.94 | 23.08 |
| AD-392927 | 38.91 | 10.60 |
| AD-392916 | 43.27 | 7.17 |
| AD-392714 | 58.08 | 9.55 |
| AD-392926 | 50.26 | 10.29 |

[1024]

[1025] 实例3:鉴定针对遗传性脑淀粉样血管病(hCAA)的有效人类APP siRNAs

[1026] 遗传性脑淀粉样血管病(hCAA)是由编码淀粉样前体蛋白(APP)的基因中的常染色体显性突变驱动的(Van Etten等人,2016 Neurology)。在这种疾病中,神经元衍生的β淀粉样蛋白沉积在脉管系统中,导致显著的结构改变和独特的双桶状血管。hCAA似乎是一种相对单纯的血管病,几乎不存在实质斑嵌段或tau缠结(Natte等人,2012 Annals of Neurology)。最终,β淀粉样蛋白的沉积增加会导致微出血、痴呆和中风。hCAA是一种进展迅速的疾病,症状出现后预期寿命为7至10年(Charidimou A等人,J Neurol Neurosurg Psychiatry 2012;83:124-137)。如本文所述,目前没有可用的疾病改善疗法。在本申请内容中,将稳定的siRNA设计与替代结合策略相结合,在单次鞘内施用后,在整个CNS中提供有效、持久的沉默,并观察到长达三个月的95%靶敲除。

[1027] Be(2)C细胞筛选和基于体内肝脏的筛选

[1028] 为了识别有效的hAPP siRNA,首先在Be(2)C细胞中体外筛选siRNA。如图3A和图3B所示,将超过300个siRNA以10nM(图3B)和0.1nM(数据未显示)的浓度转染到Be(2)C细胞中,并通过qPCR测定剩余mRNA的百分比。然后在小鼠中进行基于体内肝脏的AAV-hAPP筛选,以鉴定能够敲除人类APP的化合物。针对hAPP ORF或hAPP 3'UTR设计的GalNAc APP siRNA以3mg/kg皮下施用(分别如图2A和2B所示)。然后将选定的化合物子集转化为CNS结合物,并用于非人类灵长类动物先导发现研究和使用鞘内(IT)施用的囓齿动物疾病模型。如上所述,对于例如AD-392911、AD-392912、AD-392911、AD-392912、AD-392913、AD-392843、AD-392844、AD-392824、AD-392866观察到了特别强的敲除水平、AD-392927、AD-392916、AD-392714和AD-392926(图2A和图2B)。在转染后24和48小时,评估以10nM、1nM和0.1nM转染到Be(2)C神经元细胞中的APP siRNA的APP mRNA敲除以及可溶性AAPα/水平(参见例如图4A、图4B和图4C)。对于感兴趣的两个示例siRNA(例如,图4A-4C中所示的siRNA 1和siRNA 2)观察到APP mRNA的浓度依赖性敲除。此外,细胞APP的减少对应于48小时内Be(2)C神经元细胞中可溶性AAPα/高达99%的敲除。

[1029] 实例4:鞘内(IT)施用传递APP siRNA遍及非人类灵长类动物的脊髓和脑。

[1030] 非人类灵长类动物研究

[1031] 剂量配制和制备

[1032] 测试寡核苷酸和载体信息

[1033] 测试寡核苷酸:AD-454972

[1034] AD-454973

[1035] AD-454842

[1036] AD-454843

[1037] AD-454844

[1038] 本协议中先前引用的科学知识的当前状态和适用的指南并没有提供可接受的替代方案,体外或其他方式,以使用活体动物来完成本研究的目的。提高人类和其他动物的健康和福祉所必需的知识的发展需要对各种动物进行体内实验。整个动物在研究和测试中是必不可少的,因为其最能反映构成人体的各种细胞、组织和器官之间的动态相互作用。比格犬是常用的非囓齿类动物模型,用于评估各种测试物品的毒性,并且有一个大型历史资料库。然而,猴子也是用于评估毒性的动物模型。猴子被专门选择用于本研究,因为其是药理学相关的物种。测试寡核苷酸中的siRNA针对猴子和人类中的淀粉样前体蛋白(APP)mRNA靶序列。

[1039] 研究设计

[1040]

| 组 | 治疗 | 剂量水平(毫克/动物 固定剂量) | 剂量体积(毫升) | 剂量浓度(毫克/毫升) | 动物数量(总数) | 尸检(第 29 天) | 尸检(第 85 天) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | AD-454972 | 72 | 2.4 | 30 | 5 | 3 | 2 |
| 2 | AD-454973 | 72 | 2.4 | 30 | 5 | 3 | 2 |
| 3 | AD-454842 | 72 | 2.4 | 30 | 5 | 3 | 2 |
| 4 | AD-454843 | 72 | 2.4 | 30 | 5 | 3 | 2 |
| 5 | AD-454844 | 72 | 2.4 | 30 | 5 | 3 | 2 |
| 6* | No Treatment | 0 | 0 | 0 | 2 | 2 | 0 |
| *用于组织收集，以提供食蟹猴灵长类动物的正常组织、CSF 和血浆 APP 水平。如果未给予寡核苷酸，则鞘内插管失败的第 1 至第 5 组动物可能已更换为指定的第 6 组动物。在第 29 天或之前对动物进行尸体剖检。 | | | | | | | |

[1041] 下表9更详细地描述上述非人类灵长类动物研究中使用的寡核苷酸的序列和结构。

[1042]

表 9.

| 剂 | 链(标靶) | 寡核苷酸序列 | SEQ ID NO: | 转序列 | SEQ ID NO: |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-454972 | 正义(APP) | usasuga(Ahd)GfuUfCfAfucaucaaasasa | 1863 | UAUGAAGUUCAUCAUCAAAAA | 1864 |
| | 反义(APP) | VPusUfsuuug(Agn)ugaugaAfcUfucauasusc | 1865 | UUUUUGAUGAUGAACUUCAUAUC | 1866 |
| AD-454973 | 正义(APP) | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccusasa | 1867 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 1868 |
| | 反义(APP) | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 1869 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 1870 |
| AD-454842 | 正义(APP) | ususugu(Ghd)UfaCfUfGfuaaagaaususa | 1871 | UUUGUGUACUGUAAAGAAUUA | 1872 |
| | 反义(APP) | VPusAfsauuc(Tgn)uuacagUfaCfacaaasasc | 1873 | UAAUUCTUUACAGUACACAAAAC | 1874 |
| AD-454843 | 正义(APP) | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucuscsa | 1875 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 1876 |
| | 反义(APP) | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 1877 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 1878 |
| AD-454844 | 正义(APP) | asasaau(Chd)CfaAfCfCfCfuacaaguuscsa | 1879 | AAAAUCCAACCUACAAGUUCA | 1880 |
| | 反义(APP) | VPusGfsaacu(Tgn)guagguUfgGfauuuuscsg | 1881 | UGAACUTGUAGGUUGGAUUUUCG | 1882 |

表 9 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷- 3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸5'，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2'-O- 十六烷基-胞苷-3'-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2'-O-十六烷基-鸟苷-3'-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1043] 以下是通过鞘内(IT)注射72mg药物至食蟹猴的CNS组织来敲除CSF生物标志物和组织mRNA的非限制性实例。在食蟹猴的腰池L2/L3或L4/L5之间,通过经皮针刺单次IT注射72mg感兴趣的APP siRNA(参见下面的方法和材料)。如图5A所示,评估了5种化合物,每个实验使用5只动物。收集的组织是脊髓(腰椎、胸椎和颈椎)和大脑(前额叶皮层、颞叶皮层、小脑、脑干、海马和纹状体)。此外,收集的液体包括脑脊液(CSF)和血浆。在施用后第29天评估

药物水平和mRNA敲除。如图5B所示,APPα/以及淀粉样蛋白β38、40和42作为CSF中的循环靶标参与生物标志物,并在施用后第8、15和29天进行评估。早在施用后7天,组织中的击倒对应于CSF中靶标参与生物标志物的沉默。如图5C所示,IT施用导致足够的siRNA传递遍及整个脊柱和大脑,从而导致组织水平的APP mRNA敲除。通过质谱法评估测试的药物水平并显示在图5D中。总之,图5A-5D显示了APP siRNA AD-454972的CSF生物标志物水平、mRNA敲除和CNS药物传递之间的相关性。因此,值得注意的是发现CSF生物标志物水平和组织mRNA敲除表达出对CNS中siRNA结合药物水平的快速、稳健和持续的降低。图6表明,在施用AD-454972后2至3个月,在CSF中观察到靶参与生物标志物的持续药效学效应。

[1044] 图7A示出AD-454842对CSF中sAPPα/的结果,而图7B示出通过质谱法评估的组织中AD-454842的测试药物水平。总之,图7A至7B示出CSF生物标志物水平与AD-454842在CNS中的药物水平相关,并导致具有较高组织药物水平的动物中sAPP的显著降低。

[1045] 图8A示出AD-454843分别对CSF中的sAPPα/和β淀粉样物质的结果。如图8B所示,IT施用导致足够的siRNA传递遍及脊柱、海马体和皮质区域,从而导致组织水平的APP mRNA敲除。通过质谱法评估测试的药物水平并示出在图8C中。因此,图8A至8C示出AD-454843的CSF生物标志物水平、mRNA敲除和CNS药物传递之间的明确相关性。

[1046] 图9A至9B证明了AD-454843施用后2至3个月在CSF中观察到的针对靶标参与生物标志物的持续药效学效应。在食蟹猴施用后第85天,在CNS组织的mRNA水平上观察到高达80%的敲除。

[1047] 图10A至10C示出AD-454844的CSF生物标志物水平、mRNA敲除和CNS药物传递之间的相关性。通过质谱法评估测试的药物水平并示出在图10C中。

[1048] 图11A至11C示出APP先导siRNA的最佳传递表达出强大的活性。例如,高水平药物对mRNA敲除和靶标参与生物标志物沉默的结果表明,组织中高 g/g药物水平与中枢神经系统组织(如皮质和脊柱)中75至90%的敲除相关。令人惊讶的是,最佳传递也示出纹状体中的显著敲除。

[1049] 图12A示出5个双链体的平均值;总之,IT施用导致足够的siRNA传递,使得APP mRNA在第29天在组织水平被敲除60至75%。此外,如图12B所示,可溶性APPα/以及淀粉样蛋白β38,40和42在第29天的CSF中降低了75%。

[1050] 非人类灵长类动物纹状体中APP mRNA在施用后第29天敲除

[1051] 在食蟹猴的腰部L2/L3或L4/L5之间,通过经皮针刺单次鞘内(IT)注射72mg感兴趣的APP siRNA。在本申请中,显著发现siRNA结合物化合物传递导致纹状体内APP mRNA敲除。观察到以下siRNA在施用后第29天敲低非人类灵长类纹状体中的APP mRNA:AD-454972、AD-454973、AD-454842、AD-454843和AD-454844。(如图13A至13E所示)。

[1052] 材料和方法

[1053] 可溶性APPα/可溶性APPβ

[1054] sAPPα和sAPPβ的CSF水平是根据制造商的方案使用夹心免疫分析法MSD®96孔MULTI-SPOT sAPPα/sAPPβ分析法(Catalog no.K15120E;Meso Scale Discovery,Rockville,MD,USA)确定,并进行一些修饰。使用1%Blocker-A/TBST(套组中提供)制备标准品、空白和非人类灵长类CSF样品(8倍稀释)。用150μL/孔的3%Blocker A/TBST溶液在室温下振荡封闭预包被板(在剂盒中提供)1小时。用1xTBST洗涤3次后,将25μL/孔制备的标

准、空白和CSF样品以两次重复添加到板中,并在室温下振荡孵育1小时。在随后的板洗涤之后,加入在1%Blocker A/TBST(50倍稀释)中制备的50μL/孔检测抗体,并在室温下振荡孵育1小时。洗板后,将1X Read Buffer T添加到板中并在室温下孵育10分钟(不摇晃),然后在MSD QuickPlex Imager中成像和分析。

[1055] 使用SoftMax Pro 7.1版(Molecular Devices)分析原始资料。使用具有$1/Y^2$称重函数的5参数逻辑曲线拟合来模拟各个校准曲线并计算样品中分析物的浓度。

[1056] β-淀粉样蛋白组(Aβ40,Aβ38,Aβ42)

[1057] 根据制造商的方案对β-淀粉样蛋白(Aβ40,Aβ38,Aβ42)的脑脊液水平使用夹心免疫分析多重套组MSD® 96孔MULTI-SPOT AB Peptide Panel 1V-Plex(Catalog No.K15200E,Meso Scale Discovery,Rockville,MD,USA),并进行一些修饰。使用Diluent 35(在套组中提供)制备标准品、空白和非人类灵长类CSF(8倍稀释)。检测抗体(以50X提供)在稀释剂100(套组中提供)中以1X的工作浓度与30μL的Aβ40阻断剂混合制备。用稀释剂35以150μL/孔在室温下振荡封闭预包被板(在套件中提供)1小时。用1xPBST洗涤3次后,将25μL/孔制备的检测抗体溶液添加到板中。加入25μL/孔制备的标准品、空白和样品两次重复后,将板在室温下振荡孵育2小时。在随后的板洗涤之后,加入150μL/孔的2X Read buffer T,并立即在MSD QuickPlex Imager中对板进行成像和分析。

[1058] 使用SoftMax Pro 7.1版(Molecular Devices,San Jose,CA,USA)分析原始资料。使用具有$1/Y^2$称重函数的4参数逻辑曲线拟合来模拟各个校准曲线并计算样品中分析物的浓度。

[1059] 质谱法

[1060] 使用合格的LC-MS/MS方法对血浆、CSF和CNS组织样本中的药物浓度进行定量。简而言之,将组织样品在裂解缓冲液中匀浆,然后通过固相萃取从血浆、脑脊液或组织裂解液中提取寡核苷酸,并在负电离模式下使用离子对反相液相色谱与质谱联用进行分析。测量施用双链体的全长反义链的浓度。药物浓度报导为基于反义的双链浓度。血浆和脑脊液样本的校准范围为10-5000ng/mL,CNS组织样本的校准范围为100-50000ng/g。低于LLOQ计算的浓度报导为<LLOQ。具有不同分子量的模拟双链体用作内标。

[1061] 通过qPCR方法进行mRNA敲除

[1062] 根据制造商的说明,使用来自(Qiagen,Catalog No.217004)的miRNeasy Mini Kit从大鼠脑和脊髓组织样品中分离总RNA。分离后,使用SuperScript™ IV VILO™逆转录酶(Thermo Fisher Scientific)逆转录RNA。使用来自Thermo Fisher Scientific of Waltham MA 02451(Catalog No.4453537)的ViiA7实时PCR系统和Taqman Fast Universal PCR Master Mix(应用生物系统公司Catalog No.4352042)进行定量PCR分析,预验证淀粉样β前驱物蛋白(APP)(Mf01552291_m1)和肽基脯氨酰异构酶B(PPIB)(Mf02802985_m1)Taqman基因表达分析(Thermo Fisher Scientific)。

[1063] 使用比较循环阈值(Ct)方法计算APP mRNA的相对减少。在qPCR制程中,仪器在扩增曲线的指数阶段设置基线,并根据基线与扩增曲线的交点分配Ct值。根据以下计算,使用Ct值将APP mRNA减少标准化为实验未处理对照组,作为各组的百分比:

[1064] $\Delta Ct_{App} = Ct_{App} - Ct_{Ppib}$

[1065] $\Delta\Delta Ct_{App} = \Delta Ct_{App} - \Delta Ct_{未处理对照组平均值}$

[1066] 相对mRNA水平＝$2^{-\Delta\Delta Ct}$

[1067] 实例5:在Cos-7、Be(2)-C和Neuro-2a细胞系中进行额外的RNAi剂设计、合成和体外筛选。

[1068] 本实施例描述了在Cos-7(双荧光素酶psiCHECK2载体)、Be(2)-C和Neuro-2a细胞中设计、合成、选择和体外筛选其他APP RNAi剂的方法。

[1069] 剂来源

[1070] 在本文未具体给出剂来源的情况下,此类剂可以从分子生物学剂的任何供应商处以用于分子生物学应用的质量/纯度标准获得。

[1071] 细胞培养和转染:

[1072] 通过添加5μL的1ng/μL转染Cos-7细胞(ATCC),在Opti-MEM、C9orf72内含子1 psiCHECK2载体(Blue Heron Biotechnology)中稀释,每孔4.9μL Opti-MEM加0.1μL的Lipofectamine 2000(Invitrogen,Carlsbad CA.cat#11668-019),每孔μL siRNA双链体,每个siRNA双链体4个重复,放入384孔板中,并在室温下孵育15分钟。然后将35μL含有～$5x10^3$细胞的Dulbecco's Modified Eagle培养基(ThermoFisher)添加到siRNA混合物中。将细胞孵育48小时,然后进行萤火虫(转染对照)和海肾(与靶序列融合)荧光素酶测量。在10nM、1nM和0.1nM下进行了三个剂量实验。

[1073] 通过将4.9μL Opti-MEM加0.1μL RNAiMAX每孔(Invitrogen,Carlsbad CA.cat# 13778-150)添加到每孔5μL siRNA双链体中转染Be(2)-C细胞(ATCC),每个siRNA双链体4个重复,放入384孔板中,并在室温下孵育15分钟。然后将含有～$5x10^3$细胞的40μL 1:1的最低必需培养基和F12培养基(ThermoFisher)的混合物添加到siRNA混合物中。细胞在RNA纯化前孵育48小时。在10nM和0.1nM下进行了两个剂量实验。

[1074] 通过将4.9μL Opti-MEM加0.1μL RNAiMAX每孔(Invitrogen,Carlsbad CA.cat# 13778-150)添加到每孔5μL siRNA双链体中转染Neuro-2a细胞(ATCC),每个siRNA双链体有4个重复,置于384孔板中,并在室温下孵育15分钟。然后将含有～$5x10^3$细胞的40μL最低必需培养基(ThermoFisher)添加到siRNA混合物中。细胞在RNA纯化前孵育48小时。在10nM和0.1nM下进行了两个剂量实验。

[1075] 使用DYNABEADS mRNA分隔套件分离总RNA:

[1076] 使用DYNABEADs(Invitrogen,cat#61012)在BioTek-EL406平台上使用自动化方案分离RNA。简而言之,将70μL裂解/结合缓冲液和10μL含有3μL磁珠的裂解缓冲液添加到带有细胞的平板中。将板在室温下在电磁振荡器上温育10分钟,然后捕获磁珠并去除上清液。珠结合的RNA,然后用150洗涤2次升洗涤缓冲液A和一次用洗涤缓冲液B.珠子然后用150μL洗涤洗脱缓冲液,重新捕获并在上清液中除去。

[1077] 使用ABI高容量cDNA逆转录套组(应用生物系统公司,Foster City,CA,Cat# 4368813)合成cDNA:

[1078] 将10μl预混液添加到每个反应分离的RNA中,其中包含1μl 10X缓冲液、0.4ul 25X dNTP、1μl 10x随机引物、0.5μl逆转录酶、0.5μl RNase抑制剂和6.6μl H2O。将板密封、混合并在室温下在电磁振荡器上孵育10分钟,然后在37℃下孵育2小时。

[1079] 实时PCR:

[1080] 将2μl cDNA和5μl Lightcycler 480探针预混液(Roche Cat#04887301001)添加

到0.5μl人类GAPDH TaqMan探针(4326317E)和0.5μl C9orf72人类探针(Hs003765619或Pro小鼠GAPDH)中4352339E)和0.5μl C9orf72小鼠探针(Mm01216837_m1,Thermo)在384孔板(Roche cat#04887301001)中的每个孔。实时PCR在LightCycler480实时PCR系统(Roche)中进行。每个双链体至少测试两次,并将资料标准化为用非靶向对照siRNA转染的细胞。为了计算相对倍数变化,使用ΔΔCt方法分析实时资料并标准化为用非靶向对照siRNA转染的细胞进行的测定。

[1081] 其他APP寡核苷酸序列:

[1082] 表10至表16B列出了额外的修饰和靶APP序列。

[1083]

表 10. 其他人类 APP 经修饰的序列

| 双链体名称 | 正义序列(5’到 3’) | SEQ ID NO | 反义序列(5’到 3’) | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-506935.2 | asasagagCfaAfAfAfcuauucagaUL96 | 1883 | asUfscugAfaUfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 1884 | AGAAAGAGCAAAACUAUUCAGAU | 1885 |
| AD-507065.2 | ususggccAfaCfAfUfgauuagugaUL96 | 1886 | asUfscacUfaAfUfcaugUfuGfgccaasgsa | 1887 | UCUUGGCCAACAUGAUUAGUGAA | 1888 |
| AD-507159.2 | uscsuggguUfuGfAfCfaaauaucaaUL96 | 1889 | asUfsugaUfaUfUfugucAfaCfccagasasc | 1890 | GUUCUGGGUUGACAAAUAUCAAG | 1891 |
| AD-507538.2 | ususuaugAfuUfUfAfcucauuauccUL96 | 1892 | asGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 1893 | GUUUUAUGAUUUACUCAUUAUCG | 1894 |
| AD-507624.2 | asusgccuGfaAfCfUfugaauuaauuUL96 | 1895 | asAfsuuaAfuUfCfaaguUfcAfggcauscsu | 1896 | AGAUGCCUGAACUUGAAUUAAUC | 1897 |
| AD-507724.2 | asgsaugcCfuGfAfAfcuugaauuaulL96 | 1898 | asUfsaauUfcAfAfguucAfgGfcaucusasc | 1899 | GUAGAUGCCUGAACUUGAAUUAA | 1900 |
| AD-507725.2 | gscscugaAfcUfUfGfaauuaauccuL96 | 1901 | asGfsgauUfaAfUfucaaGfuUfcaggcsasu | 1902 | AUGCCUGAACUUGAAUUAAUCCA | 1903 |
| AD-507789.2 | gsusgguuUfgUfGfAfcccaauuaaulL96 | 1904 | asUfsuaaUfuGfGfGfgucaCfaAfaccacsasa | 1905 | UUGUGGUUUGUGACCCAAUUAAG | 1906 |
| AD-507874.2 | csasgaugCfuUfUfAfgagagauuuuL96 | 1907 | asAfsaauCfuCfUfCfuaaaAfgCfaucugsasa | 1908 | UUCAGAUGCUUUAGAGAGAUUUU | 1909 |
| AD-507928.2 | uscsuugcCfuAfAfGfuauuccuuuuL96 | 1910 | asAfsaagGfaAfUfUfacuuAfgGfcaagasgsa | 1911 | UCUCUUGCCUAAGUAUUCCUUUC | 1912 |
| AD-507949.2 | ususgcugCfuUfCfUfgcuauauuuuL96 | 1913 | asAfsaauAfuAfUfGfcagaAfgCfagcaasusc | 1914 | GAUUGCUGCUUCUGCUAUAUUUG | 1915 |

表 10 符號說明:U=尿苷-3`-磷酸,u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸,us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯,a=2`-O-甲基腺苷-3`-磷酸,A=腺苷-3`-磷酸,as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸,(Ahd)=2’-O-十六烷基-腺苷-3’-磷酸,Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸,Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸,Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸,Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸,cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸,VP=乙烯基磷酸5’,(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA),gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯,(Chd)=2’-O-十六烷基-胞苷-3’-磷酸,(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体,(Ghd)=2’-O-十六烷基-鸟苷-3’-磷酸,和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1084]

表 11. 其他人类 APP 未经修饰的序列；NM_000484.3 和 M_201414.2 标靶

| 双链体名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 来源名称（范围） | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 来源名称（范围） | 跨物种 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-506935.2 | AAAGAGCAAAACUAUCAGAU | 1916 | NM_000484.3_1902-1922_s (1902-1922) | AUCUGAUAGUUUUGCUCUUUC U | 1917 | NM_201414.2_1675-1697_as (1900-1922) | UNK |
| AD-507065.2 | UUGGCCAACAUGAUUAGUGAU | 1918 | NM_201414.2_1704-1724_A21U_s (1704-1724) | AUCACUAAUCAUGUUGGCCAAG A | 1919 | NM_201414.2_1702-1724_U1A_as (1702-1724) | UNK |
| AD-507159.2 | UCUGGGUUGACAAAUAUCAAU | 1920 | NM_000484.3_2166-2186_G21U_s (2166-2186) | AUUGAUAUUUGUCAACCCAGAA C | 1921 | NM_201414.2_1939-1961_C1A_as (2164-2186) | UNK |
| AD-507538.2 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCU | 1922 | NM_000484.3_2613-2633_G21U_s (2613-2633) | AGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAA C | 1923 | NM_201414.2_2386-2408_C1A_as (2611-2633) | UNK |
| AD-507624.2 | AUGCCUGAACUUGAAUUAAUU | 1924 | NM_000484.3_2665-2685_C21U_s (2665-2685) | AAUUAAUUCAAGUUCAGGCAUC U | 1925 | NM_201414.2_2438-2460_G1A_as (2663-2685) | UNK |
| AD-507724.2 | AGAUGCCUGAACUUGAAUUAU | 1926 | NM_201414.2_2438-2458_A21U_s (2438-2458) | AUAAUUCAAGUUCAGGCAUCUA C | 1927 | NM_201414.2_2436-2458_U1A_as (2436-2458) | UNK |
| AD-507725.2 | GCCUGAACUUGAAUUAAUCCU | 1928 | NM_201414.2_2442-2462_A21U_s (2442-2462) | AGGAUUAAUUCAAGUUCAGGCA U | 1929 | NM_201414.2_2440-2462_U1A_as (2440-2462) | UNK |
| AD-507789.2 | GUGGUUGUGACCCAAUUAAU | 1930 | NM_000484.3_2853-2873_G21U_s (2853-2873) | AUUAAUUGGGUCACAAACCACA A | 1931 | NM_201414.2_2626-2648_C1A_as (2851-2873) | UNK |
| AD-507874.2 | CAGAUGCUUUAGAGAGAUUU | 1932 | NM_000484.3_3006-3026_s | AAAAUCUCUCUAAAGCAUCUGA | 1933 | NM_201414.2_2779-2801_as | UNK |

[1085]

| 2 | U | 2 | (3006-3026) | A | 3 | (3004-3026) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-507928.2 | UCUUGCCUAAGUAUUCCUUU | 1934 | NM_201414.2_2718-2738_C21U_s (2718-2738) | AAAAGGAAUACUUAGGCAAGAG | 1935 | NM_201414.2_2716-2738_G1A_as (2716-2738) | UNK |
| AD-507949.2 | UUGCUGCUUCUGCUAUAUUU | 1936 | NM_201414.2_2831-2851_G21U_s (2831-2851) | AAAAUAUAGCAGAAGCAGCAAU | 1937 | NM_201414.2_2829-2851_C1A_as (2829-2851) | UNK |

表 12. 其他人类 APP 经修饰的序列。

| 双链体 名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|
| AD-738012.1 | csgscuu(Uhd)CfuAfCfAfcuguauuacaL96 | 1938 | VPusGfsuaaUfaCfAfguguAfgAfaagcgsasu | 1939 |
| AD-738013.1 | gscsuuu(Chd)UfaCfAfCfuguauuacaaL96 | 1940 | VPusUfsguaAfuAfCfagugUfaGfaaagcsgsa | 1941 |
| AD-738014.1 | ususcua(Chd)AfcUfGfUfauuacauaaaL96 | 1942 | VPusUfsuauGfuAfAfuacaGfuGfuagaasasg | 1943 |
| AD-738015.1 | ususucu(Ahd)CfaCfUfGfuauuacauaaL96 | 1944 | VPusUfsaugUfaAfUfacagUfgUfagaaasgsc | 1945 |
| AD-738016.1 | asususua(Ghd)CfuGfUfAfucaaacuagaL96 | 1946 | VPusCfsuagUfuUfGfauacAfgCfuaaaususc | 1947 |
| AD-738017.1 | ususccu(Ghd)AfuCfAfCfuaugcauuuaL96 | 1948 | VPusAfsaauGfcAfUfagugAfuCfaggaasasg | 1949 |
| AD-738018.1 | gsusgcu(Ghd)UfaAfCfAfcaaguagauaL96 | 1950 | VPusAfsucuAfcUfUfguguUfaCfagcacsasg | 1951 |
| AD-738019.1 | ususuag(Chd)UfgUfAfUfcaaacuaguaL96 | 1952 | VPusAfscuaGfuUfUfgauaCfaGfcuaaasusu | 1953 |
| AD-738020.1 | ususucc(Uhd)GfaUfCfAfcuaugcauuaL96 | 1954 | VPusAfsaugCfaUfAfgugaUfcAfggaaasgsg | 1955 |
| AD-738021.1 | asasugg(Ghd)UfuUfUfGfuguacuguaaL96 | 1956 | VPusUfsacaGfuAfCfacaaAfaCfccauusasa | 1957 |
| AD-738022.1 | asusugu(Ahd)CfaGfAfAfucauugcuuaL96 | 1958 | VPusAfsagcAfaUfGfauucUfgUfacaauscsa | 1959 |
| AD-738023.1 | ususgua(Chd)AfgAfAfUfcauugcuuaaL96 | 1960 | VPusUfsaagCfaAfUfgauuCfuGfuacaasusc | 1961 |
| AD-738024.1 | ususacu(Ghd)UfaCfAfGfauugcugcuaL96 | 1962 | VPusAfsgcaGfcAfAfucugUfaCfaguaasasa | 1963 |

[1086]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738025.1 | asusaug(Chd)UfgAfAfGfaaguacgucaL96 | 1964 | VPusGfsacgUfaCfUfucuuCfaGfcauausUsg | 1965 |
| AD-738026.1 | ascscau(Uhd)GfcUfUfCfacuacccauaL96 | 1966 | VPusAfsuggGfuAfGfugaaGfcAfauggususu | 1967 |
| AD-738027.1 | csusgug(Chd)UfgUfAfAfcacaaguagaL96 | 1968 | VPusCfsuacUfuGfUfguuaCfaGfcacagscsu | 1969 |
| AD-738028.1 | usgscug(Uhd)AfaCfAfCfaaguagaugaL96 | 1970 | VPusCfsaucUfaCfUfugugUfuAfcagcascsa | 1971 |
| AD-738029.1 | ascsagc(Uhd)GfuGfCfUfguaacacaaaL96 | 1972 | VPusUfsuguGfuUfAfcagcAfcAfgcuguscsa | 1973 |
| AD-738030.1 | gscsugu(Ahd)AfcAfCfAfaguagaugcaL96 | 1974 | VPusGfscauCfuAfCfuuguGfuUfacagcsasc | 1975 |
| AD-738031.1 | uscsaaa(Chd)UfaGfUfGfcaugaauagaL96 | 1976 | VPusCfsuauUfcAfUfgcacUfaGfuuugasusa | 1977 |
| AD-738032.1 | csasaac(Uhd)AfgUfGfCfaugaauagaaL96 | 1978 | VPusUfscuaUfuCfAfugcaCfuAfguuugsasu | 1979 |
| AD-738033.1 | usgscag(Ghd)AfuGfAfUfuguacagaaaL96 | 1980 | VPusUfsucuGfuAfCfaaucAfuCfcugcasgsa | 1981 |
| AD-738034.1 | gscsagg(Ahd)UfgAfUfUfguacagaauaL96 | 1982 | VPusAfsuucUfgUfAfcaauCfaUfccugcsasg | 1983 |
| AD-738035.1 | csasgga(Uhd)GfaUfUfGfuacagaaucaL96 | 1984 | VPusGfsauuCfuGfUfacaaUfcAfuccugscsa | 1985 |
| AD-738036.1 | usasuca(Ahd)AfcUfAfGfugcaugaauaL96 | 1986 | VPusAfsuucAfuGfCfacuaGfuUfugauascsa | 1987 |
| AD-738037.1 | ususugu(Ghd)CfcUfGfUfuuaugugcaL96 | 1988 | VPusGfscacAfuAfAfaacaGfgCfacaaasgsa | 1989 |
| AD-738038.1 | ususgug(Chd)CfuGfUfUfuaugugcaaL96 | 1990 | VPusUfsgcaCfaUfAfaaacAfgGfcacaasasg | 1991 |
| AD-738039.1 | csusgca(Ghd)GfaUfGfAfuuguacagaaL96 | 1992 | VPusUfscugUfaCfAfaucaUfcCfugcagsasa | 1993 |
| AD-738040.1 | csasggu(Chd)AfuGfAfGfagaaugggaaL96 | 1994 | VPusUfscccAfuUfCfucucAfuGfaccugsgsg | 1995 |
| AD-738041.1 | usasugu(Ghd)CfaCfAfCfauuaggcauaL96 | 1996 | VPusAfsugcCfuAfAfugugUfgCfacauasasa | 1997 |
| AD-738042.1 | usgsugc(Ahd)CfaCfAfUfuaggcauugaL96 | 1998 | VPusCfsaauGfcCfUfaaugUfgUfgcacasusa | 1999 |
| AD-738043.1 | gsgsaug(Ahd)UfuGfUfAfcagaaucauaL96 | 2000 | VPusAfsugaUfuCfUfguacAfaUfcauccsusg | 2001 |
| AD-738044.1 | ascscau(Chd)CfaGfAfAfcuggugcaaaL96 | 2002 | VPusUfsugcAfcCfAfguucUfgGfaugguscsa | 2003 |
| AD-738045.1 | usasugc(Uhd)GfaAfGfAfaguacguccaL96 | 2004 | VPusGfsgacGfuAfCfuucuUfcAfgcauasusu | 2005 |
| AD-738046.1 | asusgcu(Ghd)AfaGfAfAfguacguccgaL96 | 2006 | VPusCfsggaCfgUfAfcuucUfuCfagcausasu | 2007 |
| AD-738047.1 | asasacc(Ahd)UfuGfCfUfucacuacccaL96 | 2008 | VPusGfsgguAfgUfGfaagcAfaUfgguuususg | 2009 |

[1087]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738048.1 | asascca(Uhd)UfgCfUfUfcacuacccaaL96 | 2010 | VPusUfsgggUfaGfUfgaagCfaAfugguususu | 2011 |
| AD-397217.2 | csasccg(Ahd)GfaGfAfGfaaugucccaaL96 | 2012 | VPusUfsgggAfcAfUfucucUfcUfcggugscsu | 2013 |
| AD-738049.1 | gsusugu(Ahd)UfaUfUfAfuucuuguggaL96 | 2014 | VPusCfscacAfaGfAfauaaUfaUfacaacsusg | 2015 |
| AD-738050.1 | ususaug(Uhd)GfcAfCfAfcauuaggcaaL96 | 2016 | VPusUfsgccUfaAfUfguguGfcAfcauaasasa | 2017 |
| AD-738051.1 | asusgug(Chd)AfcAfCfAfuuaggcauuaL96 | 2018 | VPusAfsaugCfcUfAfauguGfuGfcacausasa | 2019 |
| AD-738052.1 | gsusgca(Chd)AfcAfUfUfaggcauugaaL96 | 2020 | VPusUfscaaUfgCfCfCfuaauGfuGfugcacsasu | 2021 |
| AD-738053.1 | usgsauu(Ghd)UfaCfAfGfaaucauugcaL96 | 2022 | VPusGfscaaUfgAfUfucugUfaCfaaucasusc | 2023 |
| AD-738054.1 | gscsuuc(Ahd)CfuAfCfCfCfcaucgguguaL96 | 2024 | VPusAfscacCfgAfUfggguAfgUfgaagcsasa | 2025 |
| AD-738055.1 | ususuua(Uhd)GfuGfCfAfcacauuaggaL96 | 2026 | VPusCfscuaAfuGfUfgugcAfcAfuaaaascsa | 2027 |
| AD-738056.1 | csgscuu(Uhd)CfuAfCfAfcuguauuacaL96 | 2028 | VPusGfsuaau(Agn)caguguAfgAfaagcgsasu | 2029 |
| AD-738057.1 | gscsuuu(Chd)UfaCfAfCfuguauuacaaL96 | 2030 | VPusUfsguaa(Tgn)acagugUfaGfaaagcsgsa | 2031 |
| AD-738058.1 | ususcua(Chd)AfcUfGfUfauuacauaaaL96 | 2032 | VPusUfsuaug(Tgn)aauacaGfuGfuagaasasg | 2033 |
| AD-738059.1 | ususucu(Ahd)CfaCfUfGfuauuacauaaL96 | 2034 | VPusUfsaugu(Agn)auacagUfgUfagaaasgsc | 2035 |
| AD-738060.1 | asusuua(Ghd)CfuGfUfAfucaaacuagaL96 | 2036 | VPusCfsuagu(Tgn)ugauacAfgCfuaaaususc | 2037 |
| AD-738061.1 | ususccu(Ghd)AfuCfAfCfuaugcauuuaL96 | 2038 | VPusAfsaaug(Cgn)auagugAfuCfaggaasasg | 2039 |
| AD-738062.1 | gsusgcu(Ghd)UfaAfCfAfcaaguagauaL96 | 2040 | VPusAfsucua(Cgn)uuguguUfaCfagcacsasg | 2041 |
| AD-738063.1 | ususuag(Chd)UfgUfAfUfcaaacuaguaL96 | 2042 | VPusAfscuag(Tgn)uugauaCfaGfcuaaasusu | 2043 |
| AD-738064.1 | ususucc(Uhd)GfaUfCfAfcuaugcauuaL96 | 2044 | VPusAfsaugc(Agn)uagugaUfcAfggaaasgsg | 2045 |
| AD-738065.1 | asasugg(Ghd)UfuUfUfGfuguacuguaaL96 | 2046 | VPusUfsacag(Tgn)acacaaAfaCfccauusasa | 2047 |
| AD-738066.1 | ususacu(Ghd)UfaCfAfGfauugcugcuaL96 | 2048 | VPusAfsgcag(Cgn)aaucugUfaCfaguaasasa | 2049 |
| AD-738067.1 | asusugu(Ahd)CfaGfAfAfucauugcuuaL96 | 2050 | VPusAfsagca(Agn)ugauucUfgUfacaauscsa | 2051 |
| AD-738068.1 | ususgua(Chd)AfgAfAfUfcauugcuuaaL96 | 2052 | VPusUfsaagc(Agn)augauuCfuGfuacaasusc | 2053 |
| AD-738069.1 | asusaug(Chd)UfgAfAfGfaaguacgucaL96 | 2054 | VPusGfsacgu(Agn)cuucuuCfaGfcauaususg | 2055 |

[1088]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738070.1 | ascscau(Uhd)GfcUfUfCfacuacccauaL96 | 2056 | VPusAfsuggg(Tgn)agugaaGfcAfaugguususu | 2057 |
| AD-738071.1 | csusgug(Chd)UfgUfAfAfCfacaaguagaL96 | 2058 | VPusCfsuacu(Tgn)guguuaCfaGfcacagscsu | 2059 |
| AD-738072.1 | usgscug(Uhd)AfaCfAfCfaaguagaugaL96 | 2060 | VPusCfsaucu(Agn)cuugugUfuAfcagcascsa | 2061 |
| AD-738073.1 | ascsagc(Uhd)GfuGfCfUfguaacacaaaL96 | 2062 | VPusUfsugug(Tgn)uacagcAfcAfgcuguscsa | 2063 |
| AD-738074.1 | gscsugu(Ahd)AfcAfCfAfaguagaugcaL96 | 2064 | VPusGfscauc(Tgn)acuuguGfuUfacagcsasc | 2065 |
| AD-738075.1 | uscsaaa(Chd)UfaGfUfGfcaugaauagaL96 | 2066 | VPusCfsuauu(Cgn)augcacUfaGfuuugasusa | 2067 |
| AD-738076.1 | csasaac(Uhd)AfgUfGfCfaugaauagaaL96 | 2068 | VPusUfscuau(Tgn)caugcaCfuAfguuugsasu | 2069 |
| AD-738077.1 | usgscag(Ghd)AfuGfAfUfuguacagaaaL96 | 2070 | VPusUfsucug(Tgn)acaaucAfuCfcugcasgsa | 2071 |
| AD-738078.1 | gscsagg(Ahd)UfgAfUfUfguacagaauaL96 | 2072 | VPusAfsuucu(Ggn)uacaauCfaUfccugcsasg | 2073 |
| AD-738079.1 | csasgga(Uhd)GfaUfUfGfuacagaaucaL96 | 2074 | VPusGfsauuc(Tgn)guacaaUfcAfuccugscsa | 2075 |
| AD-738080.1 | usasuca(Ahd)AfcUfAfGfugcaugaauaL96 | 2076 | VPusAfsuuca(Tgn)gcacuaGfuUfugauascsa | 2077 |
| AD-738081.1 | ususugu(Ghd)CfcUfGfUfuuuaugugcaL96 | 2078 | VPusGfscaca(Tgn)aaaacaGfgCfacaaasgsa | 2079 |
| AD-738082.1 | ususgug(Chd)CfuGfUfUfuuaugugcaaL96 | 2080 | VPusUfsgcac(Agn)uaaaacAfgGfcacaasasg | 2081 |
| AD-738083.1 | csusgca(Ghd)GfaUfGfAfuuguacagaaL96 | 2082 | VPusUfscugu(Agn)caaucaUfcCfugcagsasa | 2083 |
| AD-738084.1 | csasggu(Chd)AfuGfAfGfagaaugggaaL96 | 2084 | VPusUfsccca(Tgn)ucucucAfuGfaccugsgsg | 2085 |
| AD-738085.1 | usasugc(Uhd)GfaAfGfAfaguacguccaL96 | 2086 | VPusGfsgacg(Tgn)acuucuUfcAfgcauasusu | 2087 |
| AD-738086.1 | asusgcu(Ghd)AfaGfAfAfguacguccgaL96 | 2088 | VPusCfsggac(Ggn)uacuucUfuCfagcausasu | 2089 |
| AD-738087.1 | asasacc(Ahd)UfuGfCfUfucacuacccaL96 | 2090 | VPusGfsggua(Ggn)ugaagcAfaUfgguuususg | 2091 |
| AD-738088.1 | asascca(Uhd)UfgCfUfUfcacuacccaaL96 | 2092 | VPusUfsgggu(Agn)gugaagCfaAfugguususu | 2093 |
| AD-738089.1 | usasugu(Ghd)CfaCfAfCfauuaggcauaL96 | 2094 | VPusAfsugcc(Tgn)aaugugUfgCfacauasasa | 2095 |
| AD-738090.1 | usgsugc(Ahd)CfaCfAfUfuaggcauugaL96 | 2096 | VPusCfsaaug(Cgn)cuaaugUfgUfgcacasusa | 2097 |
| AD-738091.1 | gsgsaug(Ahd)UfuGfUfAfcagaaucauaL96 | 2098 | VPusAfsugau(Tgn)cuguacAfaUfcauccsusg | 2099 |
| AD-738092.1 | ascscau(Chd)CfaGfAfAfcuggugcaaaL96 | 2100 | VPusUfsugca(Cgn)caguucUfgGfaugguscsa | 2101 |

[1089]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738093.1 | csasccg(Ahd)GfaGfAfGfaaugucccaaL96 | 2102 | VPusUfsggga(Cgn)auucucUfcUfcggugscsu | 2103 |
| AD-738094.1 | gsusugu(Ahd)UfaUfUfAfuucuuguggaL96 | 2104 | VPusCfscaca(Agn)gaauaaUfaUfacaacsusg | 2105 |
| AD-738095.1 | ususaug(Uhd)GfcAfCfAfcauuaggcaaL96 | 2106 | VPusUfsgccu(Agn)auguguGfcAfcauaasasa | 2107 |
| AD-738096.1 | asusgug(Chd)AfcAfCfAfuuaggcauuaL96 | 2108 | VPusAfsaugc(Cgn)uaauguGfuGfcacausasa | 2109 |
| AD-738097.1 | gsusgca(Chd)AfcAfUfUfaggcauugaaL96 | 2110 | VPusUfscaau(Ggn)ccuaauGfuGfugcacsasu | 2111 |
| AD-738098.1 | usgsauu(Ghd)UfaCfAfGfaaucauugcaL96 | 2112 | VPusGfscaau(Ggn)auucugUfaCfaaucasusc | 2113 |
| AD-738099.1 | gscsuuc(Ahd)CfuAfCfCfcaucgguguaL96 | 2114 | VPusAfscacc(Ggn)auggguAfgUfgaagcsasa | 2115 |
| AD-738100.1 | ususuua(Uhd)GfuGfCfAfcacauuaggaL96 | 2116 | VPusCfscuaa(Tgn)gugugcAfcAfuaaaascsa | 2117 |

表 12 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷- 3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O -甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸 5'，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2'-O- 十六烷基-胞苷-3'-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2'-O-十六烷基-鸟苷-3'-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1090]

表 13. 其他人类 APP 未经修饰的序列；XM_005548887.2 和 NM_001198823.1 标靶。

| 双链体 名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 来源名称 |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738012.1 | CGCUUUCUACACUGUAUUACA | 2118 | UGUAAUACAGUGUAGAAAGCGAU | 2119 | XM_005548887.2_3401-3423_as |
| AD-738013.1 | GCUUUCUACACUGUAUUACAA | 2120 | UUGUAAUACAGUGUAGAAAGCGA | 2121 | XM_005548887.2_3402-3424_as |
| AD-738014.1 | UUCUACACUGUAUUACAUAAA | 2122 | UUUAUGUAAUACAGUGUAGAAAG | 2123 | NM_001198823.1_3306-3328_as |
| AD-738015.1 | UUUCUACACUGUAUUACAUAA | 2124 | UUAUGUAAUACAGUGUAGAAAGC | 2125 | NM_001198823.1_3305-3327_as |
| AD-738016.1 | AUUUAGCUGUAUCAAACUAGA | 2126 | UCUAGUUUGAUACAGCUAAAUUC | 2127 | XM_005548887.2_2837-2859_as |
| AD-738017.1 | UUCCUGAUCACUAUGCAUUUA | 2128 | UAAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAG | 2129 | XM_005548887.2_3030-3052_as |
| AD-738018.1 | GUGCUGUAACACAAGUAGAUA | 2130 | UAUCUACUUGUGUUACAGCACAG | 2131 | NM_001198823.1_2602-2624_C1A_as |
| AD-738019.1 | UUUAGCUGUAUCAAACUAGUA | 2132 | UACUAGUUUGAUACAGCUAAAUU | 2133 | XM_005548887.2_2838-2860_as |
| AD-738020.1 | UUUCCUGAUCACUAUGCAUUA | 2134 | UAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAGG | 2135 | XM_005548887.2_3029-3051_as |
| AD-738021.1 | AAUGGGUUUUGUGUACUGUAA | 2136 | UUACAGUACACAAAACCCAUUAA | 2137 | XM_005548887.2_2813-2835_as |
| AD-738022.1 | AUUGUACAGAAUCAUUGCUUA | 2138 | UAAGCAAUGAUUCUGUACAAUCA | 2139 | NM_001198823.1_3272-3 |

[1091]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 294_as |
| AD-738023.1 | UUGUACAGAAUCAUUGCUUAA | 2140 | UUAAGCAAUGAUUCUGUACAAUC | 2141 | | NM_001198823.1_3273-3295_as |
| AD-738024.1 | UUACUGUACAGAUUGCUGCUA | 2142 | UAGCAGCAAUCUGUACAGUAAAA | 2143 | | XM_005548887.2_3113-3135_as |
| AD-738025.1 | AUAUGCCUGAAGAAGUACGUCA | 2144 | UGACGUACUUCUUCAGCAUAUUG | 2145 | | XM_005548887.2_1740-1762_as |
| AD-738026.1 | ACCAUUGCUUCACUACCCAUA | 2146 | UAUGGGUAGUGAAGCAAUGGUUU | 2147 | | NM_001198823.1_2506-2528_G1A_as |
| AD-738027.1 | CUGUGCUGUAACACAAGUAGA | 2148 | UCUACUUGUGUUACAGCACAGCU | 2149 | | NM_001198823.1_2600-2622_as |
| AD-738028.1 | UGCUGUAACACAAGUAGAUGA | 2150 | UCAUCUACUUGUGUUACAGCACA | 2151 | | NM_001198823.1_2603-2625_G1A_as |
| AD-738029.1 | ACAGCUGUGCUGUAACACAAA | 2152 | UUUGUGUUACAGCACAGCUGUCA | 2153 | | NM_001198823.1_2596-2618_C1A_as |
| AD-738030.1 | GCUGUAACACAAGUAGAUGCA | 2154 | UGCAUCUACUUGUGUUACAGCAC | 2155 | | NM_001198823.1_2604-2626_G1A_as |
| AD-738031.1 | UCAAACUAGUGCAUGAAUAGA | 2156 | UCUAUUCAUGCACUAGUUUGAUA | 2157 | | NM_001198823.1_2742-2764_as |
| AD-738032.1 | CAAACUAGUGCAUGAAUAGAA | 2158 | UUCUAUUCAUGCACUAGUUUGAU | 2159 | | NM_001198823.1_2743-2765_as |
| AD-738033.1 | UGCAGGAUGAUUGUACAGAAA | 2160 | UUUCUGUACAAUCAUCCUGCAGA | 2161 | | NM_001198823.1_3263-3285_as |

[1092]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738034.1 | GCAGGAUGAUUGUACAGAAUA | 2162 | UAUUCUGUACAAUCAUCCUGCAG | 2163 | NM_001198823.1_3264-3286_G1A_as |
| AD-738035.1 | CAGGAUGAUUGUACAGAAUCA | 2164 | UGAUUCUGUACAAUCAUCCUGCA | 2165 | NM_001198823.1_3265-3287_as |
| AD-738036.1 | UAUCAAACUAGUGCAUGAAUA | 2166 | UAUUCAUGCACUAGUUUGAUACA | 2167 | NM_001198823.1_2740-2762_as |
| AD-738037.1 | UUUGUGCCUGUUUUAUGUGCA | 2168 | UGCACAUAAAACAGGCACAAAGA | 2169 | NM_001198823.1_3070-3092_as |
| AD-738038.1 | UUGUGCCUGUUUUAUGUGCAA | 2170 | UUGCACAUAAAACAGGCACAAAG | 2171 | NM_001198823.1_3071-3093_G1A_as |
| AD-738039.1 | CUGCAGGAUGAUUGUACAGAA | 2172 | UUCUGUACAAUCAUCCUGCAGAA | 2173 | NM_001198823.1_3262-3284_as |
| AD-738040.1 | CAGGUCAUGAGAGAAUGGGAA | 2174 | UUCCCAUUCUCUCAUGACCUGGG | 2175 | NM_001198823.1_1369-1391_as |
| AD-738041.1 | UAUGUGCACACAUUAGGCAUA | 2176 | UAUGCCUAAUGUGUGCACAUAAA | 2177 | NM_001198823.1_3083-3105_as |
| AD-738042.1 | UGUGCACACAUUAGGCAUUGA | 2178 | UCAAUGCCUAAUGUGUGCACAUA | 2179 | NM_001198823.1_3085-3107_as |
| AD-738043.1 | GGAUGAUUGUACAGAAUCAUA | 2180 | UAUGAUUCUGUACAAUCAUCCUG | 2181 | NM_001198823.1_3267-3289_as |
| AD-738044.1 | ACCAUCCAGAACUGGUGCAAA | 2182 | UUUGCACCAGUUCUGGAUGGUCA | 2183 | NM_001198823.1_424-446_C1A_as |
| AD-738045.1 | UAUGCUGAAGAAGUACGUCCA | 2184 | UGGACGUACUUCUUCAGCAUAUU | 2185 | XM_005548887.2_1741-1 |

[1093]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | 763_as |
| AD-738046.1 | AUGCUGAAGAAGUACGUCCGA | 2186 | UCGGACGUACUUCUUCAGCAUAU | 2187 | XM_005548887.2_1742-1764_as | |
| AD-738047.1 | AAACCAUUGCUUCACUACCCA | 2188 | UGGGUAGUGAAGCAAUGGUUUUG | 2189 | XM_005548887.2_2614-2636_as | |
| AD-738048.1 | AACCAUUGCUUCACUACCCAA | 2190 | UUGGGUAGUGAAGCAAUGGUUUU | 2191 | XM_005548887.2_2615-2637_as | |
| AD-397217.2 | CACCGAGAGAAAUGUCCCAA | 2192 | UUGGGACAUUCUCUCUCGGUGCU | 2193 | NM_001198823.1_1351-1373_C1A_as | |
| AD-738049.1 | GUUGUAUAUUAUUCUUGUGGA | 2194 | UCCACAAGAAUAAUAUACAACUG | 2195 | XM_005548887.2_2906-2928_as | |
| AD-738050.1 | UUAUGUGCACACAUUAGGCAA | 2196 | UUGCCUAAUGUGUGCACAUAAAA | 2197 | NM_001198823.1_3082-3104_as | |
| AD-738051.1 | AUGUGCACACAUUAGGCAUUA | 2198 | UAAUGCCUAAUGUGUGCACAUAA | 2199 | NM_001198823.1_3084-3106_C1A_as | |
| AD-738052.1 | GUGCACACAUUAGGCAUUGAA | 2200 | UUCAAUGCCUAAUGUGUGCACAU | 2201 | NM_001198823.1_3086-3108_C1A_as | |
| AD-738053.1 | UGAUUGUACAGAAUCAUUGCA | 2202 | UGCAAUGAUUCUGUACAAUCAUC | 2203 | NM_001198823.1_3270-3292_as | |
| AD-738054.1 | GCUUCACUACCCAUCGGUGUA | 2204 | UACACCGAUGGGUAGUGAAGCAA | 2205 | NM_001198823.1_2512-2534_as | |
| AD-738055.1 | UUUUAUGUGCACACAUUAGGA | 2206 | UCCUAAUGUGUGCACAUAAAACA | 2207 | NM_001198823.1_3080-3102_G1A_as | |

[1094]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738056.1 | CGCUUUCUACACUGUAUUACA | 2208 | UGUAAUACAGUGUAGAAAGCGAU | 2209 | XM_005548887.2_3401-3423_as |
| AD-738057.1 | GCUUUCUACACUGUAUUACAA | 2210 | UUGUAATACAGUGUAGAAAGCGA | 2211 | XM_005548887.2_3402-3424_as |
| AD-738058.1 | UUCUACACUGUAUUACAUAAA | 2212 | UUUAUGTAAUACAGUGUAGAAAG | 2213 | XM_005548887.2_3405-3427_as |
| AD-738059.1 | UUUCUACACUGUAUUACAUAA | 2214 | UUAUGUAAUACAGUGUAGAAAGC | 2215 | XM_005548887.2_3404-3426_as |
| AD-738060.1 | AUUUAGCUGUAUCAAACUAGA | 2216 | UCUAGUTUGAUACAGCUAAAUUC | 2217 | XM_005548887.2_2837-2859_as |
| AD-738061.1 | UUCCUGAUCACUAUGCAUUUA | 2218 | UAAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAG | 2219 | XM_005548887.2_3030-3052_as |
| AD-738062.1 | GUGCUGUAACACAAGUAGAUA | 2220 | UAUCUACUUGUGUUACAGCACAG | 2221 | XM_005548887.2_2716-2738_as |
| AD-738063.1 | UUUAGCUGUAUCAAACUAGUA | 2222 | UACUAGTUUGAUACAGCUAAAUU | 2223 | XM_005548887.2_2838-2860_as |
| AD-738064.1 | UUUCCUGAUCACUAUGCAUUA | 2224 | UAAUGCAUAGUGAUCAGGAAAGG | 2225 | XM_005548887.2_3029-3051_as |
| AD-738065.1 | AAUGGGUUUUGUGUACUGUAA | 2226 | UUACAGTACACAAAACCCAUUAA | 2227 | XM_005548887.2_2813-2835_as |
| AD-738066.1 | UUACUGUACAGAUUGCUGCUA | 2228 | UAGCAGCAAUCUGUACAGUAAAA | 2229 | XM_005548887.2_3113-3135_as |
| AD-738067.1 | AUUGUACAGAAUCAUUGCUUA | 2230 | UAAGCAAUGAUUCUGUACAAUCA | 2231 | XM_005548887.2_3371-3 |

[1095]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| AD-738068.1 | UGUACAGAAUCAUUGCUUAA | 2232 | UUAAGCAAUGAUUCUGUACAAUC | 2233 | XM_005548887.2_3372-3394_as | 393_as |
| AD-738069.1 | AUAUGCUGAAGAAGUACGUCA | 2234 | UGACGUACUUCUUCAGCAUAUUG | 2235 | XM_005548887.2_1740-1762_as | |
| AD-738070.1 | ACCAUUGCUUCACUACCCAUA | 2236 | UAUGGGUAGUGAAGCAAUGGUUU | 2237 | XM_005548887.2_2616-2638_as | |
| AD-738071.1 | CUGUGCUGUAACACAAGUAGA | 2238 | UCUACUUGUGUUACAGCACAGCU | 2239 | XM_005548887.2_2714-2736_as | |
| AD-738072.1 | UGCUGUAACACAAGUAGAUGA | 2240 | UCAUCUACUUGUGUUACAGCACA | 2241 | XM_005548887.2_2717-2739_as | |
| AD-738073.1 | ACAGCUGUGCUGUAACACAAA | 2242 | UUUGUGUUACAGCACAGCUGUCA | 2243 | XM_005548887.2_2710-2732_as | |
| AD-738074.1 | GCUGUAACACAAGUAGAUGCA | 2244 | UGCAUCUACUUGUGUUACAGCAC | 2245 | XM_005548887.2_2718-2740_as | |
| AD-738075.1 | UCAAACUAGUGCAUGAAUAGA | 2246 | UCUAUUCAUGCACUAGUUUGAUA | 2247 | XM_005548887.2_2848-2870_as | |
| AD-738076.1 | CAAACUAGUGCAUGAAUAGAA | 2248 | UUCUAUUCAUGCACUAGUUUGAU | 2249 | XM_005548887.2_2849-2871_as | |
| AD-738077.1 | UGCAGGAUGAUUGUACAGAAA | 2250 | UUUCUGUACAAUCAUCCUGCAGA | 2251 | XM_005548887.2_3362-3384_as | |
| AD-738078.1 | GCAGGAUGAUUGUACAGAAUA | 2252 | UAUUCUGUACAAUCAUCCUGCAG | 2253 | XM_005548887.2_3363-3385_as | |

[1096]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738079.1 | CAGGAUGAUUGUACAGAAUCA | 2254 | UGAUUCUGUACAAUCAUCCUGCA | 2255 | XM_005548887.2_3364-3386_as |
| AD-738080.1 | UAUCAAACUAGUGCAUGAAUA | 2256 | UAUUCAUGCACUAGUUUGAUACA | 2257 | XM_005548887.2_2846-2868_as |
| AD-738081.1 | UUUGUGCCUGUUUUAUGUGCA | 2258 | UGCACATAAAACAGGCACAAAGA | 2259 | XM_005548887.2_3180-3202_as |
| AD-738082.1 | UUGUGCCUGUUUUAUGUGCAA | 2260 | UUGCACAUAAAACAGGCACAAAG | 2261 | XM_005548887.2_3181-3203_as |
| AD-738083.1 | CUGCAGGAUGAUUGUACAGAA | 2262 | UUCUGUACAAUCAUCCUGCAGAA | 2263 | XM_005548887.2_3361-3383_as |
| AD-738084.1 | CAGGUCAUGAGAGAAUGGGAA | 2264 | UUCCCATUCUCUCAUGACCUGGG | 2265 | XM_005548887.2_1487-1509_as |
| AD-738085.1 | UAUGCUGAAGAAGUACGUCCA | 2266 | UGGACGTACUUCUUCAGCAUAUU | 2267 | XM_005548887.2_1741-1763_as |
| AD-738086.1 | AUGCUGAAGAAGUACGUCCGA | 2268 | UCGGACGUACUUCUUCAGCAUAU | 2269 | XM_005548887.2_1742-1764_as |
| AD-738087.1 | AAACCAUUGCUUCACUACCCA | 2270 | UGGGUAGUGAAGCAAUGGUUUUG | 2271 | XM_005548887.2_2614-2636_as |
| AD-738088.1 | AACCAUUGCUUCACUACCCAA | 2272 | UUGGGUAGUGAAGCAAUGGUUUU | 2273 | XM_005548887.2_2615-2637_as |
| AD-738089.1 | UAUGUGCACACAUUAGGCAUA | 2274 | UAUGCCTAAUGUGUGCACAUAAA | 2275 | XM_005548887.2_3193-3215_as |
| AD-738090.1 | UGUGCACACAUUAGGCAUUGA | 2276 | UCAAUGCCUAAUGUGUGCACAUA | 2277 | XM_005548887.2_3195-3 |

[1097]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-738091.1 | GGAUGAUUGUACAGAAUCAUA | 2278 | UAUGAUTCUGUACAAUCAUCCUG | 2279 | XM_005548887.2_3366-3388_as |
| AD-738092.1 | ACCAUCCAGAACUGGUGCAAA | 2280 | UUUGCACCAGUUCUGGAUGGUCA | 2281 | XM_005548887.2_767-789_as |
| AD-738093.1 | CACCGAGAGAAUGUCCCAA | 2282 | UUGGGACAUUCUCUCUCGGUGCU | 2283 | XM_005548887.2_1469-1491_as |
| AD-738094.1 | GUUGUAUAUUAUUCUUGUGGA | 2284 | UCCACACAAGAAUAAUAUACAACUG | 2285 | XM_005548887.2_2906-2928_as |
| AD-738095.1 | UUAUGUGCACACAUUAGGCAA | 2286 | UUGCCUAAUGUGUGCACAUAAAA | 2287 | XM_005548887.2_3192-3214_as |
| AD-738096.1 | AUGUGCACACAUUAGGCAUUA | 2288 | UAAUGCCUAAUGUGUGCACAUAA | 2289 | XM_005548887.2_3194-3216_as |
| AD-738097.1 | GUGCACACAUUAGGCAUUGAA | 2290 | UUCAAUGCCUAAUGUGUGCACAU | 2291 | XM_005548887.2_3196-3218_as |
| AD-738098.1 | UGAUUGUACAGAAUCAUUGCA | 2292 | UGCAAUGAUUCUGUACAAUCAUC | 2293 | XM_005548887.2_3369-3391_as |
| AD-738099.1 | GCUUCACUACCCAUCGGUGUA | 2294 | UACACCGAUGGGUAGUGAAGCAA | 2295 | XM_005548887.2_2622-2644_as |
| AD-738100.1 | UUUUAUGUGCACACAUUAGGA | 2296 | UCCUAATGUGUGCACAUAAAACA | 2297 | XM_005548887.2_3190-3212_as |

[1098]

表 14. 其他人类 APP 经修饰的序列。

| 靶 | 双链体名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|
| APP | AD-886823.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2298 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2299 |
| APP | AD-886824.1 | usasgug(Chd)AfugAfAfuagauucucaL96 | 2300 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2301 |
| APP | AD-886825.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2302 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2303 |
| APP | AD-886826.1 | usasgug(Chd)AfudGadAuagauucucaL96 | 2304 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauUfcAfuGfcacuasgsu | 2305 |
| APP | AD-886827.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2306 | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2307 |
| APP | AD-886828.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2308 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfugcacuasgsu | 2309 |
| APP | AD-886829.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2310 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2311 |
| APP | AD-886830.1 | usasgug(Chd)AfuGfaAfuagauucucaL96 | 2312 | VPusGfsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2313 |
| APP | AD-886831.1 | usasgug(Chd)AfuGfaAfuagauucucaL96 | 2314 | VPusGfsagaa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2315 |
| APP | AD-886832.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2316 | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2317 |
| APP | AD-886833.1 | usasgug(Chd)AfuGfaAfuagauucucaL96 | 2318 | VPusdGsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2319 |
| APP | AD-886834.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2320 | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2321 |
| APP | AD-886836.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2322 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2323 |
| APP | AD-886837.1 | usasgug(Chd)AfudGaAfuagauucucaL96 | 2324 | VPusGfsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2325 |
| APP | AD-886838.1 | usasgug(Chd)AfudGaAfuagauucucaL96 | 2326 | VPusGfsagaa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2327 |
| APP | AD-886839.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2328 | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2329 |
| APP | AD-886839.2 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2330 | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2331 |
| APP | AD-886840.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2332 | VPusdGsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2333 |
| APP | AD-886841.1 | usasgug(Chd)AfudGaAfuagauucucaL96 | 2334 | VPusdGsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2335 |
| APP | AD-886842.1 | usasgug(Chd)AfudGadAuagauucucaL96 | 2336 | VPusdGsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2337 |
| APP | AD-886843.1 | usasgug(Chd)audGadAuagauucucaL96 | 2338 | VPusdGsagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2339 |
| APP | AD-886844.1 | usasgug(Chd)audGadAuagauucucaL96 | 2340 | VPudGagaa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2341 |
| APP | AD-886845.1 | usasgug(Chd)audGadAuagauucucaL96 | 2342 | VPudGagaa(Tgn)cuauUfcAfudGcacuasgsu | 2343 |
| APP | AD-886846.1 | usasgug(Chd)audGadAuagauucucaL96 | 2344 | VPudGadGadAucuauUfcAfudGcacuasgsu | 2345 |

[1099]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| APP | AD-886847.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2346 | VPudGagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2347 |
| APP | AD-886848.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2348 | VPusdGsagadA(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2349 |
| APP | AD-886849.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2350 | VPusdGsagdAa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2351 |
| APP | AD-886850.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2352 | VPusdGsagadA(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2353 |
| APP | AD-886851.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2354 | VPusdGsagdAa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2355 |
| APP | AD-886852.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2356 | VPusdGsagadA(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2357 |
| APP | AD-886853.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2358 | VPusdGsagdAa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2359 |
| APP | AD-886854.1 | usasgug(Chd)AfudGadAuagauucucaL96 | 2360 | VPusdGsagdAa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2361 |
| APP | AD-886855.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2362 | VPudGagadA(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2363 |
| APP | AD-886856.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2364 | VPudGagdAa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2365 |
| APP | AD-886857.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2366 | VPudGagadA(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2367 |
| APP | AD-886858.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2368 | VPudGagdAa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2369 |
| APP | AD-886859.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2370 | VPudGagadA(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2371 |
| APP | AD-886860.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2372 | VPudGagdAa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2373 |
| APP | AD-886861.1 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2374 | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasusg | 2375 |
| APP | AD-886862.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2376 | VPusdGsagadA(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasusg | 2377 |
| APP | AD-886863.1 | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2378 | VPusdGsagdAa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasusg | 2379 |
| APP | AD-886864.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2380 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 2381 |
| APP | AD-886865.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2382 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 2383 |
| APP | AD-886866.1 | gsgscua(Chd)dGaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2384 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 2385 |
| APP | AD-886867.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2386 | VPuUfaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 2387 |
| APP | AD-886868.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2388 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcguagccsgsu | 2389 |
| APP | AD-886869.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2390 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2391 |
| APP | AD-886870.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2392 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2393 |
| APP | AD-886871.1 | gsgscua(Chd)gaAfaAfuccaaccuaaL96 | 2394 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2395 |
| APP | AD-886872.1 | gsgscua(Chd)gaAfaAfuccaaccuaaL96 | 2396 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauUfuUfcdGuagccsgsu | 2397 |
| APP | AD-886873.1 | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccuaaL96 | 2398 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2399 |
| APP | AD-886874.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2400 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2401 |
| APP | AD-886875.1 | gsgscua(Chd)gaAfaAfuccaaccuaaL96 | 2402 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2403 |

[1100]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| APP | AD-886876.1 | gsgscua(Chd)gaAfaAfuccaaccuaaL96 | 2404 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauUfuUfcguagccsgsu | 2405 |
| APP | AD-886877.1 | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccuaaL96 | 2406 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2407 |
| APP | AD-886878.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2408 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcguagccsgsu | 2409 |
| APP | AD-886879.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2410 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2411 |
| APP | AD-886880.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2412 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2413 |
| APP | AD-886881.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2414 | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2415 |
| APP | AD-886882.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2416 | VPuUfaggdT(Tgn)ggauuuUfcguagccsgsu | 2417 |
| APP | AD-886883.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2418 | VPuUfaggdT(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2419 |
| APP | AD-886884.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2420 | VPuUfaggdT(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2421 |
| APP | AD-886885.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2422 | VPuUfaggdT(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2423 |
| APP | AD-886886.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2424 | VPuUfagdGu(Tgn)ggauuuUfcguagccsgsu | 2425 |
| APP | AD-886887.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2426 | VPuUfagdGu(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2427 |
| APP | AD-886888.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2428 | VPuUfagdGu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2429 |
| APP | AD-886889.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2430 | VPuUfagdGu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2431 |
| APP | AD-886890.1 | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2432 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsusg | 2433 |
| APP | AD-886891.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2434 | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsusg | 2435 |
| APP | AD-886892.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2436 | VPuUfaggdT(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsusg | 2437 |
| APP | AD-886893.1 | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2438 | VPuUfagdGu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsusg | 2439 |
| APP | AD-886894.1 | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2440 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2441 |
| APP | AD-886895.1 | asasag(Ahd)gCfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2442 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2443 |
| APP | AD-886896.1 | asasagag(Chd)aAfAfAfAfcuauucagaaL96 | 2444 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2445 |
| APP | AD-886897.1 | asasagagCfaAfAfAfAfcua(Uhd)ucagaaL96 | 2446 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2447 |
| APP | AD-886898.1 | asasagagCfaAfAfAfAfcuau(Uhd)cagaaL96 | 2448 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2449 |
| APP | AD-886899.1 | asasagagCfaAfAfAfAfcuauu(Chd)agaaL96 | 2450 | VPusUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2451 |
| APP | AD-886900.1 | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2452 | VPusUfscugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2453 |
| APP | AD-886901.1 | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2454 | VPuUfcugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2455 |
| APP | AD-886902.1 | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2456 | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2457 |
| APP | AD-886903.1 | asasag(Ahd)gCfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2458 | VPuUfcugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2459 |
| APP | AD-886904.1 | asasag(Ahd)gCfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2460 | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2461 |

[1101]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| APP | AD-886905.1 | asasagag(Chd)aAfAfAfcuauucagaaL96 | 2462 | VPuUfcugAfaUfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2463 |
| APP | AD-886906.1 | asasagag(Chd)aAfAfAfcuauucagaaL96 | 2464 | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2465 |
| APP | AD-886907.1 | asasagag(Chd)aAfaAfcuauucagaaL96 | 2466 | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2467 |
| APP | AD-886908.1 | asasagag(Chd)adAadAcuauucagaaL96 | 2468 | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2469 |
| APP | AD-886909.1 | asasagag(Chd)adAadAcuauucagaaL96 | 2470 | VPuUfcugdAauagudTuUfgdCucuuuscsu | 2471 |
| APP | AD-886910.1 | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2472 | VPusUfscugAfauaguuuUfgCfucuuususg | 2473 |
| APP | AD-886911.1 | asasagagCfaAfAfAfcua(Uhd)ucagaaL96 | 2474 | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuususg | 2475 |
| APP | AD-886912.1 | asasagag(Chd)aAfAfAfcuauucagaaL96 | 2476 | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuususg | 2477 |
| APP | AD-886913.1 | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2478 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2479 |
| APP | AD-886914.1 | ususua(Uhd)gAfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2480 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2481 |
| APP | AD-886915.1 | ususuaug(Ahd)uUfUfAfcucauuaucaL96 | 2482 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2483 |
| APP | AD-886916.1 | ususuaugAfuUfUfAfcuc(Ahd)uuaucaL96 | 2484 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2485 |
| APP | AD-886917.1 | ususuaugAfuUfUfAfcuca(Uhd)uaucaL96 | 2486 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2487 |
| APP | AD-886918.1 | ususuaugAfuUfUfAfcucau(Uhd)aucaL96 | 2488 | VPusGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2489 |
| APP | AD-886919.1 | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2490 | VPusGfsauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2491 |
| APP | AD-886920.1 | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2492 | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2493 |
| APP | AD-886921.1 | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2494 | VPudGauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2495 |
| APP | AD-886922.1 | ususua(Uhd)gAfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2496 | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2497 |
| APP | AD-886923.1 | ususua(Uhd)gAfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2498 | VPudGauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2499 |
| APP | AD-886924.1 | ususuaug(Ahd)uUfUfAfcucauuaucaL96 | 2500 | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2501 |
| APP | AD-886925.1 | ususuaug(Ahd)uUfUfAfcucauuaucaL96 | 2502 | VPudGauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2503 |
| APP | AD-886926.1 | ususuaug(Ahd)uUfuAfcucauuaucaL96 | 2504 | VPudGauadAugagudAaAfuCfauaaasasc | 2505 |
| APP | AD-886927.1 | ususuaug(Ahd)uUfudAcucauuaucaL96 | 2506 | VPudGauadAugagudAaAfuCfauaaasasc | 2507 |
| APP | AD-886928.1 | ususuaug(Ahd)uUfudAcucauuaucaL96 | 2508 | VPudGauadAugagudAaAfudCauaaasasc | 2509 |
| APP | AD-886929.1 | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2510 | VPusGfsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2511 |
| APP | AD-886930.1 | ususuaugAfuUfUfAfcuc(Ahd)uuaucaL96 | 2512 | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2513 |
| APP | AD-886931.1 | ususuaug(Ahd)uUfUfAfcucauuaucaL96 | 2514 | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2515 |

表 14 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷- 3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，

[1102]

Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸5'，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2'-O- 十六烷基-胞苷-3'-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2'-O-十六烷基-鸟苷-3'-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

**表 15. 其他 APP 未经修饰的序列**

| 双链体 名称 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|
| AD-886823.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2516 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2517 |
| AD-886824.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2518 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2519 |
| AD-886825.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2520 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2521 |
| AD-886826.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2522 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2523 |
| AD-886827.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2524 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2525 |
| AD-886828.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2526 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2527 |
| AD-886829.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2528 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2529 |
| AD-886830.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2530 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2531 |
| AD-886831.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2532 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2533 |
| AD-886832.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2534 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2535 |
| AD-886833.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2536 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2537 |
| AD-886834.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2538 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2539 |
| AD-886836.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2540 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2541 |
| AD-886837.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2542 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2543 |
| AD-886838.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2544 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2545 |

[1103]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-886839.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2546 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2547 |
| AD-886839.2 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2548 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2549 |
| AD-886840.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2550 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2551 |
| AD-886841.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2552 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2553 |
| AD-886842.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2554 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2555 |
| AD-886843.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2556 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2557 |
| AD-886844.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2558 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2559 |
| AD-886845.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2560 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2561 |
| AD-886846.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2562 | UGAGAAUCUAUUCAUGCACUAGU | 2563 |
| AD-886847.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2564 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2565 |
| AD-886848.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2566 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2567 |
| AD-886849.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2568 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2569 |
| AD-886850.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2570 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2571 |
| AD-886851.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2572 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2573 |
| AD-886852.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2574 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2575 |
| AD-886853.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2576 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2577 |
| AD-886854.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2578 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2579 |
| AD-886855.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2580 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2581 |
| AD-886856.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2582 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2583 |
| AD-886857.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2584 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2585 |

[1104]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-886858.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2586 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2587 |
| AD-886859.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2588 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2589 |
| AD-886860.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2590 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2591 |
| AD-886861.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2592 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAUG | 2593 |
| AD-886862.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2594 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAUG | 2595 |
| AD-886863.1 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2596 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAUG | 2597 |
| AD-886864.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2598 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2599 |
| AD-886865.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2600 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2601 |
| AD-886866.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2602 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2603 |
| AD-886867.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2604 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2605 |
| AD-886868.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2606 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2607 |
| AD-886869.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2608 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2609 |
| AD-886870.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2610 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2611 |
| AD-886871.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2612 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2613 |
| AD-886872.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2614 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2615 |
| AD-886873.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2616 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2617 |
| AD-886874.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2618 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2619 |
| AD-886875.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2620 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2621 |
| AD-886876.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2622 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2623 |
| AD-886877.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2624 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2625 |

[1105]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-886878.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2626 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2627 |
| AD-886879.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2628 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2629 |
| AD-886880.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2630 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2631 |
| AD-886881.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2632 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2633 |
| AD-886882.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2634 | UUAGGTTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2635 |
| AD-886883.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2636 | UUAGGTTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2637 |
| AD-886884.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2638 | UUAGGTTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2639 |
| AD-886885.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2640 | UUAGGTTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2641 |
| AD-886886.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2642 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2643 |
| AD-886887.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2644 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2645 |
| AD-886888.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2646 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2647 |
| AD-886889.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2648 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2649 |
| AD-886890.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2650 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCUG | 2651 |
| AD-886891.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2652 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCUG | 2653 |
| AD-886892.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2654 | UUAGGTTGGAUTUUCGUAGCCUG | 2655 |
| AD-886893.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2656 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCUG | 2657 |
| AD-886894.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2658 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2659 |
| AD-886895.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2660 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2661 |
| AD-886896.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2662 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2663 |
| AD-886897.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2664 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2665 |

[1106]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-886898.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2666 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2667 |
| AD-886899.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2668 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2669 |
| AD-886900.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2670 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2671 |
| AD-886901.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2672 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2673 |
| AD-886902.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2674 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2675 |
| AD-886903.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2676 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2677 |
| AD-886904.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2678 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2679 |
| AD-886905.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2680 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2681 |
| AD-886906.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2682 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2683 |
| AD-886907.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2684 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2685 |
| AD-886908.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2686 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2687 |
| AD-886909.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2688 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2689 |
| AD-886910.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2690 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUUG | 2691 |
| AD-886911.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2692 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUUG | 2693 |
| AD-886912.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2694 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUUG | 2695 |
| AD-886913.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2696 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2697 |
| AD-886914.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2698 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2699 |
| AD-886915.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2700 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2701 |
| AD-886916.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2702 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2703 |
| AD-886917.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2704 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2705 |

[1107]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-886918.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2706 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2707 |
| AD-886919.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2708 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2709 |
| AD-886920.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2710 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2711 |
| AD-886921.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2712 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2713 |
| AD-886922.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2714 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2715 |
| AD-886923.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2716 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2717 |
| AD-886924.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2718 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2719 |
| AD-886925.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2720 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2721 |
| AD-886926.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2722 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2723 |
| AD-886927.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2724 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2725 |
| AD-886928.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2726 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2727 |
| AD-886929.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2728 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2729 |
| AD-886930.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2730 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2731 |
| AD-886931.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2732 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2733 |

[1108]

表 16A. 其他人类 APP 经修饰的正义序列和靶。

| 双链体名称 | 靶 | 正义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-961583 | APP | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccusasa | 2734 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2735 |
| AD-961584 | APP | asasagag(Chd)aAfaAfcuauucagsasa | 2736 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2737 |
| AD-961585 | APP | asasagag(Chd)adAadAcuauucagsasa | 2738 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2739 |
| AD-961586 | APP | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuauscsa | 2740 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2741 |

表 16A 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷-3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2’-O-十六烷基-腺苷-3’-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸 5’，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2’-O- 十六烷基-胞苷-3’-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2’-O-十六烷基-鸟苷-3’-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

表 16B. 其他人类 APP 经修饰的反义序列和靶

| 双链体 名称 | 靶 | 反义序列（5’到 3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列 | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-961583 | APP | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2742 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2743 |
| AD-961584 | APP | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2744 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2745 |
| AD-961585 | APP | VPuUfcugdAauagudTuUfgdCucuuuscsu | 2746 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2747 |
| AD-961586 | APP | VPusGfsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2748 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2749 |

表 16B 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷-3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2’-O-十六烷基-腺苷-3’-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸 5’，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2’-O- 十六烷基-胞苷-3’-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2’-O-十六烷基-鸟苷-3’-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1109] 表17总结了在Be(2)细胞中以10nM、1nM或0.1nM进行的多剂量APP筛选的结果。资料表示为相对于AD-1955非靶向对照的剩余信息百分比。

[1110] 表17.Be(2)C细胞系中10nM、1nM和0.1nM的APP剂量筛选研究

[1111]

| 双链体 | 平均剩余信息(%) | 标准差 | 剂量 | 剂量单位 |
|---|---|---|---|---|
| AD-738012.1 | 12.47 | 3.92 | 10 | nM |
| AD-738013.1 | 8.78 | 1.74 | 10 | nM |
| AD-738014.1 | 10.27 | 3.95 | 10 | nM |
| AD-738015.1 | 9.84 | 3.00 | 10 | nM |
| AD-738016.1 | 11.79 | 4.10 | 10 | nM |
| AD-738017.1 | 12.85 | 2.41 | 10 | nM |
| AD-738018.1 | 13.22 | 2.40 | 10 | nM |
| AD-738019.1 | 14.57 | 2.64 | 10 | nM |
| AD-738020.1 | 9.06 | 2.84 | 10 | nM |
| AD-738021.1 | 12.95 | 6.42 | 10 | nM |
| AD-738022.1 | 10.55 | 1.29 | 10 | nM |
| AD-738023.1 | 8.22 | 1.41 | 10 | nM |
| AD-738024.1 | 13.51 | 4.75 | 10 | nM |
| AD-738025.1 | 48.96 | 7.46 | 10 | nM |
| AD-738026.1 | 11.78 | 2.88 | 10 | nM |
| AD-738027.1 | 10.71 | 2.22 | 10 | nM |
| AD-738028.1 | 18.52 | 2.12 | 10 | nM |
| AD-738029.1 | 17.74 | 4.49 | 10 | nM |
| AD-738030.1 | 25.60 | 5.77 | 10 | nM |
| AD-738031.1 | 28.70 | 6.14 | 10 | nM |
| AD-738032.1 | 13.38 | 9.34 | 10 | nM |

[1112]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738033.1 | 10.13 | 1.96 | 10 | nM |
| AD-738034.1 | 15.22 | 6.91 | 10 | nM |
| AD-738035.1 | 14.59 | 5.75 | 10 | nM |
| AD-738036.1 | 19.64 | 12.56 | 10 | nM |
| AD-738037.1 | 21.74 | 10.22 | 10 | nM |
| AD-738038.1 | 27.23 | 3.73 | 10 | nM |
| AD-738039.1 | 28.08 | 5.99 | 10 | nM |
| AD-738040.1 | 60.35 | 0.96 | 10 | nM |
| AD-738041.1 | 38.29 | 15.92 | 10 | nM |
| AD-738042.1 | 25.54 | 7.15 | 10 | nM |
| AD-738043.1 | 12.59 | 4.84 | 10 | nM |
| AD-738044.1 | 44.57 | 13.69 | 10 | nM |
| AD-738045.1 | 218.56 | 104.83 | 10 | nM |
| AD-738046.1 | 263.77 | 29.64 | 10 | nM |
| AD-738047.1 | 35.84 | 3.46 | 10 | nM |
| AD-738048.1 | 34.43 | 4.01 | 10 | nM |
| AD-397217.2 | 70.05 | 6.00 | 10 | nM |
| AD-738049.1 | 13.20 | 6.16 | 10 | nM |
| AD-738050.1 | 11.02 | 0.82 | 10 | nM |
| AD-738051.1 | 40.85 | 6.01 | 10 | nM |
| AD-738052.1 | 37.45 | 14.43 | 10 | nM |
| AD-738053.1 | 30.69 | 7.50 | 10 | nM |
| AD-738054.1 | 62.81 | 13.33 | 10 | nM |
| AD-738055.1 | 28.18 | 9.27 | 10 | nM |
| AD-738056.1 | 28.91 | 4.29 | 10 | nM |
| AD-738057.1 | 24.47 | 7.91 | 10 | nM |
| AD-738058.1 | 49.05 | 8.41 | 10 | nM |

[1113]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738059.1 | 35.32 | 9.27 | 10 | nM |
| AD-738060.1 | 25.40 | 3.87 | 10 | nM |
| AD-738061.1 | 53.19 | 2.95 | 10 | nM |
| AD-738062.1 | 17.28 | 7.65 | 10 | nM |
| AD-738063.1 | 33.40 | 9.94 | 10 | nM |
| AD-738064.1 | 30.75 | 4.43 | 10 | nM |
| AD-738065.1 | 28.34 | 14.64 | 10 | nM |
| AD-738066.1 | 92.51 | 16.17 | 10 | nM |
| AD-738067.1 | 30.74 | 7.71 | 10 | nM |
| AD-738068.1 | 25.12 | 2.84 | 10 | nM |
| AD-738069.1 | 59.72 | 9.34 | 10 | nM |
| AD-738070.1 | 35.03 | 9.43 | 10 | nM |
| AD-738071.1 | 15.79 | 2.79 | 10 | nM |
| AD-738072.1 | 63.54 | 33.06 | 10 | nM |
| AD-738073.1 | 28.05 | 3.62 | 10 | nM |
| AD-738074.1 | 31.74 | 5.88 | 10 | nM |
| AD-738075.1 | 174.04 | 56.95 | 10 | nM |
| AD-738076.1 | 29.35 | 8.89 | 10 | nM |
| AD-738077.1 | 14.69 | 5.00 | 10 | nM |
| AD-738078.1 | 15.15 | 2.61 | 10 | nM |
| AD-738079.1 | 11.40 | 3.42 | 10 | nM |
| AD-738080.1 | 10.80 | 0.91 | 10 | nM |
| AD-738081.1 | 36.37 | 8.31 | 10 | nM |
| AD-738082.1 | 28.65 | 4.80 | 10 | nM |
| AD-738083.1 | 9.98 | 0.75 | 10 | nM |
| AD-738084.1 | 31.76 | 4.26 | 10 | nM |
| AD-738085.1 | 48.74 | 6.11 | 10 | nM |

[1114]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738086.1 | 60.41 | 10.30 | 10 | nM |
| AD-738087.1 | 12.21 | 2.15 | 10 | nM |
| AD-738088.1 | 44.49 | 10.16 | 10 | nM |
| AD-738089.1 | 31.43 | 4.82 | 10 | nM |
| AD-738090.1 | 23.34 | 5.54 | 10 | nM |
| AD-738091.1 | 35.28 | 12.92 | 10 | nM |
| AD-738092.1 | 89.59 | 18.72 | 10 | nM |
| AD-738093.1 | 71.33 | 16.07 | 10 | nM |
| AD-738094.1 | 18.69 | 3.23 | 10 | nM |
| AD-738095.1 | 30.93 | 6.90 | 10 | nM |
| AD-738096.1 | 26.70 | 5.20 | 10 | nM |
| AD-738097.1 | 65.74 | 9.99 | 10 | nM |
| AD-738098.1 | 16.18 | 4.17 | 10 | nM |
| AD-738099.1 | 48.95 | 9.69 | 10 | nM |
| AD-738100.1 | 67.26 | 11.31 | 10 | nM |
| AD-738012.1 | 17.40 | 2.53 | 1 | nM |
| AD-738013.1 | 15.51 | 2.70 | 1 | nM |
| AD-738014.1 | 23.54 | 9.95 | 1 | nM |
| AD-738015.1 | 21.35 | 2.38 | 1 | nM |
| AD-738016.1 | 20.20 | 1.90 | 1 | nM |
| AD-738017.1 | 15.67 | 2.60 | 1 | nM |
| AD-738018.1 | 17.00 | 0.80 | 1 | nM |
| AD-738019.1 | 17.58 | 7.97 | 1 | nM |
| AD-738020.1 | 15.47 | 3.64 | 1 | nM |
| AD-738021.1 | 14.81 | 4.24 | 1 | nM |
| AD-738022.1 | 13.71 | 2.86 | 1 | nM |
| AD-738023.1 | 17.33 | 4.91 | 1 | nM |

[1115]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738024.1 | 20.64 | 7.04 | 1 | nM |
| AD-738025.1 | 95.81 | 28.98 | 1 | nM |
| AD-738026.1 | 28.29 | 10.28 | 1 | nM |
| AD-738027.1 | 15.94 | 3.44 | 1 | nM |
| AD-738028.1 | 25.76 | 10.62 | 1 | nM |
| AD-738029.1 | 18.83 | 6.50 | 1 | nM |
| AD-738030.1 | 30.24 | 7.29 | 1 | nM |
| AD-738031.1 | 30.77 | 6.54 | 1 | nM |
| AD-738032.1 | 25.98 | 6.57 | 1 | nM |
| AD-738033.1 | 31.28 | 8.14 | 1 | nM |
| AD-738034.1 | 25.06 | 6.27 | 1 | nM |
| AD-738035.1 | 21.67 | 1.11 | 1 | nM |
| AD-738036.1 | 32.29 | 11.81 | 1 | nM |
| AD-738037.1 | 30.77 | 5.48 | 1 | nM |
| AD-738038.1 | 19.03 | 1.00 | 1 | nM |
| AD-738039.1 | 20.25 | 5.55 | 1 | nM |
| AD-738040.1 | 51.87 | 7.09 | 1 | nM |
| AD-738041.1 | 35.67 | 8.23 | 1 | nM |
| AD-738042.1 | 33.70 | 9.34 | 1 | nM |
| AD-738043.1 | 19.76 | 3.35 | 1 | nM |
| AD-738044.1 | 43.40 | 9.46 | 1 | nM |
| AD-738045.1 | 97.99 | 13.43 | 1 | nM |
| AD-738046.1 | 112.65 | 25.09 | 1 | nM |
| AD-738047.1 | 37.50 | 4.18 | 1 | nM |
| AD-738048.1 | 23.67 | 0.94 | 1 | nM |
| AD-397217.2 | 60.11 | 7.67 | 1 | nM |
| AD-738049.1 | 20.00 | 1.41 | 1 | nM |

[1116]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738050.1 | 36.49 | 7.06 | 1 | nM |
| AD-738051.1 | 27.03 | 6.08 | 1 | nM |
| AD-738052.1 | 31.82 | 7.17 | 1 | nM |
| AD-738053.1 | 14.96 | 2.91 | 1 | nM |
| AD-738054.1 | 32.00 | 5.62 | 1 | nM |
| AD-738055.1 | 27.57 | 7.73 | 1 | nM |
| AD-738056.1 | 15.16 | 0.70 | 1 | nM |
| AD-738057.1 | 14.83 | 3.32 | 1 | nM |
| AD-738058.1 | 33.09 | 9.91 | 1 | nM |
| AD-738059.1 | 26.76 | 5.77 | 1 | nM |
| AD-738060.1 | 11.79 | 2.64 | 1 | nM |
| AD-738061.1 | 28.49 | 1.35 | 1 | nM |
| AD-738062.1 | 15.89 | 6.49 | 1 | nM |
| AD-738063.1 | 25.01 | 8.31 | 1 | nM |
| AD-738064.1 | 16.91 | 2.56 | 1 | nM |
| AD-738065.1 | 15.45 | 2.85 | 1 | nM |
| AD-738066.1 | 51.85 | 8.48 | 1 | nM |
| AD-738067.1 | 20.90 | 4.96 | 1 | nM |
| AD-738068.1 | 15.82 | 2.70 | 1 | nM |
| AD-738069.1 | 81.26 | 2.84 | 1 | nM |
| AD-738070.1 | 59.48 | 11.42 | 1 | nM |
| AD-738071.1 | 15.12 | 3.89 | 1 | nM |
| AD-738072.1 | 40.16 | 7.78 | 1 | nM |
| AD-738073.1 | 18.46 | 5.20 | 1 | nM |
| AD-738074.1 | 27.74 | 1.97 | 1 | nM |
| AD-738075.1 | 83.53 | 9.94 | 1 | nM |
| AD-738076.1 | 50.62 | 3.51 | 1 | nM |

[1117]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738077.1 | 21.52 | 4.49 | 1 | nM |
| AD-738078.1 | 24.49 | 10.05 | 1 | nM |
| AD-738079.1 | 8.66 | 2.69 | 1 | nM |
| AD-738080.1 | 28.88 | 1.12 | 1 | nM |
| AD-738081.1 | 77.35 | 10.22 | 1 | nM |
| AD-738082.1 | 48.10 | 10.63 | 1 | nM |
| AD-738083.1 | 23.74 | 4.60 | 1 | nM |
| AD-738084.1 | 100.84 | 2.83 | 1 | nM |
| AD-738085.1 | 101.30 | 4.73 | 1 | nM |
| AD-738086.1 | 60.29 | 24.33 | 1 | nM |
| AD-738087.1 | 9.71 | 3.71 | 1 | nM |
| AD-738088.1 | 79.16 | 7.79 | 1 | nM |
| AD-738089.1 | 35.37 | 8.78 | 1 | nM |
| AD-738090.1 | 37.16 | 13.37 | 1 | nM |
| AD-738091.1 | 49.56 | 10.83 | 1 | nM |
| AD-738092.1 | 79.50 | 10.15 | 1 | nM |
| AD-738093.1 | 96.42 | 16.26 | 1 | nM |
| AD-738094.1 | 41.63 | 5.90 | 1 | nM |
| AD-738095.1 | 45.03 | 8.10 | 1 | nM |
| AD-738096.1 | 44.52 | 11.55 | 1 | nM |
| AD-738097.1 | 78.88 | 13.42 | 1 | nM |
| AD-738098.1 | 28.84 | 8.43 | 1 | nM |
| AD-738099.1 | 68.10 | 16.73 | 1 | nM |
| AD-738100.1 | 84.53 | 5.73 | 1 | nM |
| AD-738012.1 | 35.64 | 12.05 | 0.1 | nM |
| AD-738013.1 | 29.76 | 5.05 | 0.1 | nM |
| AD-738014.1 | 47.17 | 13.55 | 0.1 | nM |

[1118]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738015.1 | 35.51 | 13.38 | 0.1 | nM |
| AD-738016.1 | 38.17 | 9.76 | 0.1 | nM |
| AD-738017.1 | 30.03 | 7.04 | 0.1 | nM |
| AD-738018.1 | 20.38 | 4.76 | 0.1 | nM |
| AD-738019.1 | 30.10 | 4.89 | 0.1 | nM |
| AD-738020.1 | 44.67 | 8.48 | 0.1 | nM |
| AD-738021.1 | 30.05 | 5.88 | 0.1 | nM |
| AD-738022.1 | 30.24 | 5.96 | 0.1 | nM |
| AD-738023.1 | 25.74 | 7.75 | 0.1 | nM |
| AD-738024.1 | 31.43 | 10.51 | 0.1 | nM |
| AD-738025.1 | 112.57 | 14.24 | 0.1 | nM |
| AD-738026.1 | 54.28 | 6.70 | 0.1 | nM |
| AD-738027.1 | 26.02 | 4.95 | 0.1 | nM |
| AD-738028.1 | 35.82 | 10.41 | 0.1 | nM |
| AD-738029.1 | 40.29 | 3.76 | 0.1 | nM |
| AD-738030.1 | 51.38 | 24.04 | 0.1 | nM |
| AD-738031.1 | 40.78 | 11.79 | 0.1 | nM |
| AD-738032.1 | 47.97 | 6.74 | 0.1 | nM |
| AD-738033.1 | 38.57 | 7.04 | 0.1 | nM |
| AD-738034.1 | 46.53 | 13.21 | 0.1 | nM |
| AD-738035.1 | 43.04 | 12.39 | 0.1 | nM |
| AD-738036.1 | 43.08 | 3.41 | 0.1 | nM |
| AD-738037.1 | 87.09 | 39.32 | 0.1 | nM |
| AD-738038.1 | 64.97 | 3.06 | 0.1 | nM |
| AD-738039.1 | 74.15 | 30.96 | 0.1 | nM |
| AD-738040.1 | 159.41 | 39.34 | 0.1 | nM |
| AD-738041.1 | 108.29 | 36.98 | 0.1 | nM |

[1119]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738042.1 | 69.15 | 28.46 | 0.1 | nM |
| AD-738043.1 | 45.00 | 17.66 | 0.1 | nM |
| AD-738044.1 | 88.04 | 17.84 | 0.1 | nM |
| AD-738045.1 | 238.11 | 15.24 | 0.1 | nM |
| AD-738046.1 | 259.68 | 3.44 | 0.1 | nM |
| AD-738047.1 | 136.91 | 44.65 | 0.1 | nM |
| AD-738048.1 | 131.72 | 13.39 | 0.1 | nM |
| AD-397217.2 | 222.75 | 51.71 | 0.1 | nM |
| AD-738049.1 | 65.58 | 6.12 | 0.1 | nM |
| AD-738050.1 | 63.97 | 11.64 | 0.1 | nM |
| AD-738051.1 | 89.72 | 27.54 | 0.1 | nM |
| AD-738052.1 | 140.07 | 36.18 | 0.1 | nM |
| AD-738053.1 | 77.09 | 14.75 | 0.1 | nM |
| AD-738054.1 | 205.91 | 46.37 | 0.1 | nM |
| AD-738055.1 | 197.02 | 44.70 | 0.1 | nM |
| AD-738056.1 | 85.09 | 14.19 | 0.1 | nM |
| AD-738057.1 | 87.72 | 18.23 | 0.1 | nM |
| AD-738058.1 | 164.40 | 24.71 | 0.1 | nM |
| AD-738059.1 | 129.01 | 9.61 | 0.1 | nM |
| AD-738060.1 | 63.48 | 35.21 | 0.1 | nM |
| AD-738061.1 | 191.48 | 13.85 | 0.1 | nM |
| AD-738062.1 | 108.14 | 8.70 | 0.1 | nM |
| AD-738063.1 | 100.27 | 16.53 | 0.1 | nM |
| AD-738064.1 | 46.78 | 12.88 | 0.1 | nM |
| AD-738065.1 | 84.72 | 11.97 | 0.1 | nM |
| AD-738066.1 | 218.00 | 48.39 | 0.1 | nM |
| AD-738067.1 | 123.65 | 34.39 | 0.1 | nM |

[1120]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738068.1 | 90.93 | 17.12 | 0.1 | nM |
| AD-738069.1 | 300.08 | 12.73 | 0.1 | nM |
| AD-738070.1 | 238.24 | 7.61 | 0.1 | nM |
| AD-738071.1 | 46.50 | 1.25 | 0.1 | nM |
| AD-738072.1 | 58.01 | 21.95 | 0.1 | nM |
| AD-738073.1 | 68.05 | 19.98 | 0.1 | nM |
| AD-738074.1 | 134.77 | 30.73 | 0.1 | nM |
| AD-738075.1 | 328.84 | 50.48 | 0.1 | nM |
| AD-738076.1 | 237.89 | 30.07 | 0.1 | nM |
| AD-738077.1 | 108.45 | 14.70 | 0.1 | nM |
| AD-738078.1 | 127.49 | 44.03 | 0.1 | nM |
| AD-738079.1 | 46.06 | 9.44 | 0.1 | nM |
| AD-738080.1 | 57.45 | 19.09 | 0.1 | nM |
| AD-738081.1 | 147.89 | 27.56 | 0.1 | nM |
| AD-738082.1 | 169.52 | 28.01 | 0.1 | nM |
| AD-738083.1 | 106.74 | 6.93 | 0.1 | nM |
| AD-738084.1 | 242.62 | 60.78 | 0.1 | nM |
| AD-738085.1 | 295.62 | 32.59 | 0.1 | nM |
| AD-738086.1 | 221.56 | 21.04 | 0.1 | nM |
| AD-738087.1 | 82.58 | 14.78 | 0.1 | nM |
| AD-738088.1 | 88.52 | 10.41 | 0.1 | nM |
| AD-738089.1 | 84.36 | 20.12 | 0.1 | nM |
| AD-738090.1 | 120.67 | 19.87 | 0.1 | nM |
| AD-738091.1 | 180.61 | 14.25 | 0.1 | nM |
| AD-738092.1 | 240.22 | 16.63 | 0.1 | nM |
| AD-738093.1 | 303.63 | 8.82 | 0.1 | nM |
| AD-738094.1 | 146.42 | 25.16 | 0.1 | nM |

[1121]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738095.1 | 124.16 | 57.91 | 0.1 | nM |
| AD-738096.1 | 56.53 | 8.58 | 0.1 | nM |
| AD-738097.1 | 116.46 | 38.97 | 0.1 | nM |
| AD-738098.1 | 59.28 | 19.71 | 0.1 | nM |
| AD-738099.1 | 149.49 | 42.85 | 0.1 | nM |
| AD-738100.1 | 89.06 | 17.49 | 0.1 | nM |

[1122] 表18总结了在Neuro2A细胞中以10nM、1nM或0.1nM进行的多剂量APP筛选的结果。资料表示为相对于AD-1955非靶向控制的剩余信息百分比

[1123] 表18.Neuro2A细胞系中10nM、1nM和0.1nM的APP剂量筛选研究。

[1124]

| 双链体 | 平均值 | 标准差 | 剂量 | 剂量单位 |
|---|---|---|---|---|
| AD-738012.1 | 0.11 | 0.07 | 10 | nM |
| AD-738013.1 | 0.20 | 0.06 | 10 | nM |
| AD-738014.1 | 1.12 | 0.42 | 10 | nM |
| AD-738015.1 | 1.72 | 1.20 | 10 | nM |
| AD-738016.1 | 0.98 | 0.31 | 10 | nM |
| AD-738017.1 | 0.32 | 0.24 | 10 | nM |
| AD-738018.1 | 0.14 | 0.07 | 10 | nM |
| AD-738019.1 | 0.63 | 0.25 | 10 | nM |
| AD-738020.1 | 0.11 | 0.08 | 10 | nM |
| AD-738021.1 | 1.20 | 0.52 | 10 | nM |
| AD-738022.1 | 1.86 | 0.95 | 10 | nM |
| AD-738023.1 | 1.18 | 0.53 | 10 | nM |
| AD-738024.1 | 3.13 | 1.81 | 10 | nM |
| AD-738025.1 | 11.77 | 3.21 | 10 | nM |
| AD-738026.1 | 0.81 | 0.44 | 10 | nM |
| AD-738027.1 | 0.23 | 0.10 | 10 | nM |
| AD-738028.1 | 0.15 | 0.15 | 10 | nM |
| AD-738029.1 | 1.48 | 0.93 | 10 | nM |
| AD-738030.1 | 1.45 | 0.99 | 10 | nM |
| AD-738031.1 | 2.72 | 0.68 | 10 | nM |
| AD-738032.1 | 3.04 | 0.84 | 10 | nM |
| AD-738033.1 | 2.71 | 0.98 | 10 | nM |
| AD-738034.1 | 4.98 | 3.47 | 10 | nM |
| AD-738035.1 | 1.51 | 0.77 | 10 | nM |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | AD-738036.1 | 1.18 | 1.21 | 10 | nM |
| | AD-738037.1 | 2.87 | 1.38 | 10 | nM |
| | AD-738038.1 | 1.52 | 0.43 | 10 | nM |
| | AD-738039.1 | 5.43 | 2.42 | 10 | nM |
| | AD-738040.1 | 12.15 | 3.03 | 10 | nM |
| | AD-738041.1 | 4.14 | 2.38 | 10 | nM |
| | AD-738042.1 | 4.41 | 2.78 | 10 | nM |
| | AD-738043.1 | 0.67 | 0.51 | 10 | nM |
| | AD-738044.1 | 1.21 | 0.74 | 10 | nM |
| | AD-738045.1 | 21.32 | 2.05 | 10 | nM |
| | AD-738046.1 | 8.41 | 3.63 | 10 | nM |
| | AD-738047.1 | 1.92 | 1.96 | 10 | nM |
| | AD-738048.1 | 0.83 | 0.24 | 10 | nM |
| [1125] | AD-397217.2 | 14.29 | 4.68 | 10 | nM |
| | AD-738049.1 | 4.40 | 2.05 | 10 | nM |
| | AD-738050.1 | 1.46 | 0.17 | 10 | nM |
| | AD-738051.1 | 1.48 | 1.43 | 10 | nM |
| | AD-738052.1 | 4.60 | 0.68 | 10 | nM |
| | AD-738053.1 | 3.92 | 1.90 | 10 | nM |
| | AD-738054.1 | 6.95 | 1.84 | 10 | nM |
| | AD-738055.1 | 2.82 | 0.53 | 10 | nM |
| | AD-738056.1 | 4.83 | 3.07 | 10 | nM |
| | AD-738057.1 | 4.79 | 3.01 | 10 | nM |
| | AD-738058.1 | 12.43 | 4.84 | 10 | nM |
| | AD-738059.1 | 5.66 | 1.40 | 10 | nM |
| | AD-738060.1 | 4.24 | 0.94 | 10 | nM |
| | AD-738061.1 | 10.85 | 2.10 | 10 | nM |

[1126]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738062.1 | 1.34 | 0.51 | 10 | nM |
| AD-738063.1 | 31.40 | 6.43 | 10 | nM |
| AD-738064.1 | 0.77 | 0.71 | 10 | nM |
| AD-738065.1 | 6.43 | 1.80 | 10 | nM |
| AD-738066.1 | 30.73 | 12.64 | 10 | nM |
| AD-738067.1 | 3.79 | 0.76 | 10 | nM |
| AD-738068.1 | 4.60 | 1.19 | 10 | nM |
| AD-738069.1 | 36.14 | 12.51 | 10 | nM |
| AD-738070.1 | 34.99 | 13.86 | 10 | nM |
| AD-738071.1 | 1.84 | 1.71 | 10 | nM |
| AD-738072.1 | 1.29 | 1.22 | 10 | nM |
| AD-738073.1 | 0.65 | 0.14 | 10 | nM |
| AD-738074.1 | 1.28 | 0.51 | 10 | nM |
| AD-738075.1 | 75.00 | 22.72 | 10 | nM |
| AD-738076.1 | 19.31 | 2.56 | 10 | nM |
| AD-738077.1 | 5.21 | 1.66 | 10 | nM |
| AD-738078.1 | 7.24 | 5.26 | 10 | nM |
| AD-738079.1 | 1.64 | 0.72 | 10 | nM |
| AD-738080.1 | 2.17 | 1.31 | 10 | nM |
| AD-738081.1 | 13.03 | 2.64 | 10 | nM |
| AD-738082.1 | 3.37 | 1.05 | 10 | nM |
| AD-738083.1 | 5.36 | 2.87 | 10 | nM |
| AD-738084.1 | 22.04 | 7.85 | 10 | nM |
| AD-738085.1 | 6.81 | 1.80 | 10 | nM |
| AD-738086.1 | 35.05 | 12.18 | 10 | nM |
| AD-738087.1 | 0.14 | 0.10 | 10 | nM |
| AD-738088.1 | 34.43 | 18.92 | 10 | nM |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738089.1 | 11.16 | 1.48 | 10 | nM |
| AD-738090.1 | 4.55 | 0.77 | 10 | nM |
| AD-738091.1 | 9.04 | 2.02 | 10 | nM |
| AD-738092.1 | 48.12 | 5.51 | 10 | nM |
| AD-738093.1 | 47.41 | 11.32 | 10 | nM |
| AD-738094.1 | 25.25 | 3.17 | 10 | nM |
| AD-738095.1 | 8.80 | 1.79 | 10 | nM |
| AD-738096.1 | 4.36 | 5.22 | 10 | nM |
| AD-738097.1 | 28.80 | 6.91 | 10 | nM |
| AD-738098.1 | 10.91 | 3.70 | 10 | nM |
| AD-738099.1 | 25.30 | 5.42 | 10 | nM |
| AD-738100.1 | 43.27 | 10.46 | 10 | nM |
| AD-738012.1 | 3.70 | 3.79 | 1 | nM |
| AD-738013.1 | 6.87 | 3.98 | 1 | nM |
| AD-738014.1 | 16.20 | 4.78 | 1 | nM |
| AD-738015.1 | 15.97 | 3.04 | 1 | nM |
| AD-738016.1 | 11.33 | 4.08 | 1 | nM |
| AD-738017.1 | 3.91 | 2.43 | 1 | nM |
| AD-738018.1 | 9.79 | 5.33 | 1 | nM |
| AD-738019.1 | 5.90 | 4.65 | 1 | nM |
| AD-738020.1 | 4.29 | 7.33 | 1 | nM |
| AD-738021.1 | 11.55 | 7.48 | 1 | nM |
| AD-738022.1 | 12.06 | 4.21 | 1 | nM |
| AD-738023.1 | 10.50 | 4.50 | 1 | nM |
| AD-738024.1 | 12.71 | 3.60 | 1 | nM |
| AD-738025.1 | 42.61 | 8.91 | 1 | nM |
| AD-738026.1 | 7.13 | 2.81 | 1 | nM |

[1127]

[1128]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738027.1 | 1.14 | 0.44 | 1 | nM |
| AD-738028.1 | 2.99 | 4.01 | 1 | nM |
| AD-738029.1 | 8.81 | 4.91 | 1 | nM |
| AD-738030.1 | 15.88 | 4.68 | 1 | nM |
| AD-738031.1 | 14.42 | 9.04 | 1 | nM |
| AD-738032.1 | 12.11 | 3.28 | 1 | nM |
| AD-738033.1 | 17.47 | 13.61 | 1 | nM |
| AD-738034.1 | 18.58 | 6.98 | 1 | nM |
| AD-738035.1 | 7.64 | 6.58 | 1 | nM |
| AD-738036.1 | 2.84 | 2.90 | 1 | nM |
| AD-738037.1 | 11.17 | 3.62 | 1 | nM |
| AD-738038.1 | 10.23 | 4.82 | 1 | nM |
| AD-738039.1 | 9.61 | 2.76 | 1 | nM |
| AD-738040.1 | 54.47 | 14.10 | 1 | nM |
| AD-738041.1 | 15.86 | 6.31 | 1 | nM |
| AD-738042.1 | 15.96 | 6.61 | 1 | nM |
| AD-738043.1 | 2.26 | 2.61 | 1 | nM |
| AD-738044.1 | 4.54 | 4.76 | 1 | nM |
| AD-738045.1 | 25.51 | 7.28 | 1 | nM |
| AD-738046.1 | 30.32 | 10.02 | 1 | nM |
| AD-738047.1 | 16.25 | 7.68 | 1 | nM |
| AD-738048.1 | 9.07 | 3.25 | 1 | nM |
| AD-397217.2 | 48.16 | 12.70 | 1 | nM |
| AD-738049.1 | 7.97 | 3.33 | 1 | nM |
| AD-738050.1 | 5.60 | 4.81 | 1 | nM |
| AD-738051.1 | 1.49 | 1.05 | 1 | nM |
| AD-738052.1 | 10.13 | 2.72 | 1 | nM |

[1129]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738053.1 | 10.82 | 4.44 | 1 | nM |
| AD-738054.1 | 21.52 | 8.71 | 1 | nM |
| AD-738055.1 | 12.40 | 3.31 | 1 | nM |
| AD-738056.1 | 5.93 | 4.14 | 1 | nM |
| AD-738057.1 | 7.63 | 2.80 | 1 | nM |
| AD-738058.1 | 18.21 | 4.26 | 1 | nM |
| AD-738059.1 | 14.39 | 6.00 | 1 | nM |
| AD-738060.1 | 6.71 | 2.99 | 1 | nM |
| AD-738061.1 | 13.63 | 3.65 | 1 | nM |
| AD-738062.1 | 6.08 | 3.37 | 1 | nM |
| AD-738063.1 | 9.63 | 8.05 | 1 | nM |
| AD-738064.1 | 6.51 | 4.83 | 1 | nM |
| AD-738065.1 | 9.97 | 1.82 | 1 | nM |
| AD-738066.1 | 50.95 | 5.44 | 1 | nM |
| AD-738067.1 | 9.69 | 2.74 | 1 | nM |
| AD-738068.1 | 9.39 | 1.51 | 1 | nM |
| AD-738069.1 | 43.67 | 8.07 | 1 | nM |
| AD-738070.1 | 37.85 | 4.96 | 1 | nM |
| AD-738071.1 | 2.81 | 2.93 | 1 | nM |
| AD-738072.1 | 10.65 | 9.82 | 1 | nM |
| AD-738073.1 | 5.64 | 2.45 | 1 | nM |
| AD-738074.1 | 10.00 | 4.11 | 1 | nM |
| AD-738075.1 | 78.16 | 11.76 | 1 | nM |
| AD-738076.1 | 44.11 | 8.21 | 1 | nM |
| AD-738077.1 | 11.42 | 0.98 | 1 | nM |
| AD-738078.1 | 7.65 | 1.23 | 1 | nM |
| AD-738079.1 | 1.78 | 2.66 | 1 | nM |

[1130]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738080.1 | 7.03 | 8.36 | 1 | nM |
| AD-738081.1 | 27.43 | 6.11 | 1 | nM |
| AD-738082.1 | 21.57 | 4.04 | 1 | nM |
| AD-738083.1 | 10.77 | 3.72 | 1 | nM |
| AD-738084.1 | 76.60 | 10.91 | 1 | nM |
| AD-738085.1 | 36.65 | 7.82 | 1 | nM |
| AD-738086.1 | 26.34 | 11.70 | 1 | nM |
| AD-738087.1 | 0.56 | 0.52 | 1 | nM |
| AD-738088.1 | 52.50 | 10.17 | 1 | nM |
| AD-738089.1 | 12.77 | 1.25 | 1 | nM |
| AD-738090.1 | 12.92 | 5.28 | 1 | nM |
| AD-738091.1 | 20.70 | 1.73 | 1 | nM |
| AD-738092.1 | 58.85 | 6.24 | 1 | nM |
| AD-738093.1 | 84.82 | 9.95 | 1 | nM |
| AD-738094.1 | 59.17 | 6.38 | 1 | nM |
| AD-738095.1 | 12.86 | 8.99 | 1 | nM |
| AD-738096.1 | 10.61 | 4.77 | 1 | nM |
| AD-738097.1 | 35.98 | 1.81 | 1 | nM |
| AD-738098.1 | 14.76 | 3.12 | 1 | nM |
| AD-738099.1 | 37.99 | 2.57 | 1 | nM |
| AD-738100.1 | 46.62 | 7.08 | 1 | nM |
| AD-738012.1 | 11.95 | 6.41 | 0.1 | nM |
| AD-738013.1 | 11.70 | 2.86 | 0.1 | nM |
| AD-738014.1 | 33.48 | 9.61 | 0.1 | nM |
| AD-738015.1 | 25.02 | 5.00 | 0.1 | nM |
| AD-738016.1 | 22.29 | 4.67 | 0.1 | nM |
| AD-738017.1 | 21.12 | 5.92 | 0.1 | nM |

[1131]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738018.1 | 15.82 | 5.90 | 0.1 | nM |
| AD-738019.1 | 22.54 | 18.17 | 0.1 | nM |
| AD-738020.1 | 12.05 | 9.08 | 0.1 | nM |
| AD-738021.1 | 19.21 | 0.85 | 0.1 | nM |
| AD-738022.1 | 24.55 | 5.38 | 0.1 | nM |
| AD-738023.1 | 17.43 | 5.05 | 0.1 | nM |
| AD-738024.1 | 24.48 | 1.96 | 0.1 | nM |
| AD-738025.1 | 72.34 | 16.04 | 0.1 | nM |
| AD-738026.1 | 44.09 | 2.91 | 0.1 | nM |
| AD-738027.1 | 16.46 | 9.70 | 0.1 | nM |
| AD-738028.1 | 13.92 | 9.68 | 0.1 | nM |
| AD-738029.1 | 25.75 | 5.87 | 0.1 | nM |
| AD-738030.1 | 42.80 | 8.11 | 0.1 | nM |
| AD-738031.1 | 43.85 | 2.58 | 0.1 | nM |
| AD-738032.1 | 29.64 | 6.11 | 0.1 | nM |
| AD-738033.1 | 42.40 | 1.69 | 0.1 | nM |
| AD-738034.1 | 49.71 | 3.53 | 0.1 | nM |
| AD-738035.1 | 30.30 | 20.42 | 0.1 | nM |
| AD-738036.1 | 12.98 | 4.90 | 0.1 | nM |
| AD-738037.1 | 13.01 | 5.34 | 0.1 | nM |
| AD-738038.1 | 15.19 | 8.17 | 0.1 | nM |
| AD-738039.1 | 18.24 | 10.33 | 0.1 | nM |
| AD-738040.1 | 60.24 | 13.10 | 0.1 | nM |
| AD-738041.1 | 26.49 | 7.47 | 0.1 | nM |
| AD-738042.1 | 18.54 | 6.11 | 0.1 | nM |
| AD-738043.1 | 5.91 | 5.08 | 0.1 | nM |
| AD-738044.1 | 14.74 | 6.15 | 0.1 | nM |

[1132]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738045.1 | 55.58 | 16.72 | 0.1 | nM |
| AD-738046.1 | 68.30 | 11.74 | 0.1 | nM |
| AD-738047.1 | 40.80 | 6.70 | 0.1 | nM |
| AD-738048.1 | 32.28 | 7.47 | 0.1 | nM |
| AD-397217.2 | 76.28 | 11.27 | 0.1 | nM |
| AD-738049.1 | 22.10 | 8.60 | 0.1 | nM |
| AD-738050.1 | 8.56 | 5.26 | 0.1 | nM |
| AD-738051.1 | 19.62 | 9.00 | 0.1 | nM |
| AD-738052.1 | 29.60 | 6.17 | 0.1 | nM |
| AD-738053.1 | 19.82 | 6.73 | 0.1 | nM |
| AD-738054.1 | 48.02 | 6.33 | 0.1 | nM |
| AD-738055.1 | 26.00 | 8.90 | 0.1 | nM |
| AD-738056.1 | 34.85 | 7.55 | 0.1 | nM |
| AD-738057.1 | 30.60 | 9.35 | 0.1 | nM |
| AD-738058.1 | 49.45 | 11.76 | 0.1 | nM |
| AD-738059.1 | 40.24 | 4.74 | 0.1 | nM |
| AD-738060.1 | 37.94 | 10.19 | 0.1 | nM |
| AD-738061.1 | 49.79 | 3.08 | 0.1 | nM |
| AD-738062.1 | 28.19 | 1.51 | 0.1 | nM |
| AD-738063.1 | 30.80 | 15.24 | 0.1 | nM |
| AD-738064.1 | 25.32 | 2.67 | 0.1 | nM |
| AD-738065.1 | 34.43 | 9.76 | 0.1 | nM |
| AD-738066.1 | 87.77 | 14.39 | 0.1 | nM |
| AD-738067.1 | 36.47 | 9.15 | 0.1 | nM |
| AD-738068.1 | 28.08 | 4.14 | 0.1 | nM |
| AD-738069.1 | 97.43 | 7.31 | 0.1 | nM |
| AD-738070.1 | 82.37 | 8.24 | 0.1 | nM |

[1133]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738071.1 | 27.61 | 7.94 | 0.1 | nM |
| AD-738072.1 | 37.34 | 2.31 | 0.1 | nM |
| AD-738073.1 | 25.85 | 9.17 | 0.1 | nM |
| AD-738074.1 | 41.19 | 13.50 | 0.1 | nM |
| AD-738075.1 | 93.48 | 11.50 | 0.1 | nM |
| AD-738076.1 | 66.05 | 10.10 | 0.1 | nM |
| AD-738077.1 | 32.71 | 5.69 | 0.1 | nM |
| AD-738078.1 | 35.64 | 5.42 | 0.1 | nM |
| AD-738079.1 | 20.48 | 3.52 | 0.1 | nM |
| AD-738080.1 | 36.41 | 7.72 | 0.1 | nM |
| AD-738081.1 | 65.34 | 19.91 | 0.1 | nM |
| AD-738082.1 | 53.82 | 8.31 | 0.1 | nM |
| AD-738083.1 | 30.04 | 5.11 | 0.1 | nM |
| AD-738084.1 | 88.32 | 9.40 | 0.1 | nM |
| AD-738085.1 | 78.53 | 7.08 | 0.1 | nM |
| AD-738086.1 | 82.59 | 7.90 | 0.1 | nM |
| AD-738087.1 | 13.94 | 6.27 | 0.1 | nM |
| AD-738088.1 | 73.47 | 18.72 | 0.1 | nM |
| AD-738089.1 | 48.21 | 8.12 | 0.1 | nM |
| AD-738090.1 | 43.23 | 12.93 | 0.1 | nM |
| AD-738091.1 | 52.45 | 4.67 | 0.1 | nM |
| AD-738092.1 | 75.75 | 31.47 | 0.1 | nM |
| AD-738093.1 | 88.99 | 10.31 | 0.1 | nM |
| AD-738094.1 | 82.41 | 6.94 | 0.1 | nM |
| AD-738095.1 | 51.05 | 7.29 | 0.1 | nM |
| AD-738096.1 | 31.49 | 12.31 | 0.1 | nM |
| AD-738097.1 | 64.39 | 13.12 | 0.1 | nM |

[1134]

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| AD-738098.1 | 33.73 | 10.09 | 0.1 | nM |
| AD-738099.1 | 69.09 | 9.27 | 0.1 | nM |
| AD-738100.1 | 75.77 | 15.74 | 0.1 | nM |

[1135] 实例6.富含AU种子的序列的体内APP筛选

[1136] 对C57BL/6小鼠进行了体内筛选,以测试具有富含AU种子的寡核苷酸。研究设计的总结在表19中给出。如表20A所示,测试了以下具有富含AU种子的寡核苷酸:AD-506935.2、AD-507065.2、AD-507159.2、AD-507538.2、AD-507624.2、AD-507724.2、AD-507725.2、AD-507789.2、AD-507874.2、AD-507928.2和AD-507949.2。表20A列举了这些富含AU的寡核苷酸中的每一个的正义、反义和靶寡核苷酸序列。来自RLD592的寡核苷酸AD-392927.2(GNA7C16chemistry)用作阳性对照序列。富含AU的寡核苷酸的结构示出在图14A和14B中。此外,测试了每个具有富含AU种子的寡核苷酸在人类(例如,通过NM_000484序列分析)、食蟹猴(通过XM_005548883序列分析)、小鼠(通过NM_001198823序列分析)、大鼠(NM_019288序列分析)和狗(NM_001293279序列分析),所述资料总结在表20B中。

[1137] 表19.研究设计

[1138]

| | | |
|---|---|---|
| **概述** | 体外代表 | 646 APP NM_201414.2 |
| | 靶 | hsAPP |
| | 目的 | In vivo screen of sequences with 富含 AU 种子 s<br>富含 AU 种子序列的体内筛选 |
| **AAV** | 名称 | AAV8.HsAPP-CDS3TRNC |
| | | VCAV－04731 |
| | 剂量 | 2E+11 |
| | 注射方式 | IV(眼窝) |
| **siRNA** | 注射方式 | 皮下 |
| | 剂量 | 3 毫克/公斤 |
| | 样本 | 肝 |
| | 收集天数 | D14 |
| **动物** | 性别 | 雌 |
| | 菌株 | C57BL/6 |
| | 年龄（抵达时） | 6 至 8 周 |
| | 供应商 | 查尔斯河 |
| | 双链体 编号 | 12* |
| | n = | 3 |
| | 动物总数 | 45 |
| **分析** | 分析方法 | RT-qPCR |
| | 塔克曼探针 | APP: Hs00169098_m1(FAM) |
| | | 小鼠 GAPDH 应用生物系统公司 4351309(VIC) |
| **杂项** | 对照组 | *来自 RLD592 的 AD-392927.2 作为阳性对照组 |

[1139]

表 20A. 用于 GNA7 C16 对照组和富含 AU 候选药物的 hsAPP 双链体和靶序列

| 化学(靶) | 双链体 名称 | 正义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | 反义序列（5’到3’） | SEQ ID NO | mRNA 靶序列（5’到3’） | SEQ ID NO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| GNA7 C16 (APP) | AD-392927.2 | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucul96 | 2750 | asGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2751 | n/a | n/a |
| 富含AU种子(APP) | AD-506935.2 | asasagagCfaAfAfAfcuauucagaul96 | 2752 | asUfscugAfaUfAfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2753 | AGAAAGAGCAAAACUAUUCAGAU | 2754 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507065.2 | ususggccAfaCfAfUfgauuagugaul96 | 2755 | asUfscacUfaAfUfcaugUfuGfgccaasgsa | 2756 | UCUUGGCCAACAUGAUUAGUGAA | 2757 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507159.2 | uscsugggUfuGfAfCfaaauaucaaul96 | 2758 | asUfsugaUfaUfUfugucAfaCfccagasasc | 2759 | GUUCUGGGUUGACAAAUAUCAAG | 2760 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507538.2 | ususuaugAfuUfUfAfcucauuaucul96 | 2761 | asGfsauaAfuGfAfguaaAfuCfauaaasasc | 2762 | GUUUUAUGAUUUACUCAUUAUCG | 2763 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507624.2 | asusgccuGfaAfCfUfugaauuaauul96 | 2764 | asAfsuuaAfuUfUfCfaaguUfcAfggcauscsu | 2765 | AGAUGCCUGAACUUGAAUUAAUC | 2766 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507724.2 | asgsaugcCfuGfAfAfcuugaauuaul96 | 2767 | asUfsaauUfcAfAfguucAfgGfcaucusasc | 2768 | GUAGAUGCCUGAACUUGAAUUAA | 2769 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507725.2 | gscscugaAfcUfUfGfaauuaauccul96 | 2770 | asGfsgauUfaAfUfucaaGfuUfcaggcsasu | 2771 | AUGCCUGAACUUGAAUUAAUCCA | 2772 |

[1140]

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 富含AU种子(APP) | AD-507789.2 | gsusggnuUfgUfGfAfccccaauuaauL96 | 2773 | asUfsuaaUfuGfGfGfgucaCfaAfaccacsasa | 2774 | UUGUGGUUUGUGACCCAAUUAAG | 2775 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507874.2 | csasgaugCfuUfUfAfgagagauuuuL96 | 2776 | asAfsaauCfuCfUfcuaaAfgCfaucugsasa | 2777 | UUCAGAUGCUUUAGAGAGAUUUU | 2778 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507928.2 | uscsuugcCfuAfAfGfuauuccuuuuL96 | 2779 | asAfsaagGfaAfUfacuuAfgGfcaagasgsa | 2780 | UCUCUUGCCUAAGUAUUCCUUUC | 2781 |
| 富含AU种子(APP) | AD-507949.2 | ususgcugCfuUfCfUfgcuauauuuuL96 | 2782 | asAfsaauAfuAfGfcagaAfgCfagcaasusc | 2783 | GAUUGCUGCUUCUGCUAUAUUUG | 2784 |

表 20A 符號說明：U=尿苷-3`-磷酸，u=2`-O-甲基尿苷-3`-磷酸，us=2`-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯，a=2`-O-甲基腺苷-3`-磷酸，A=腺苷-3`-磷酸，as=2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸，(Ahd)=2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸，Gf=2` -氟鸟苷-3`-磷酸，Uf=2`-氟尿苷-3`-磷酸，Cf=2`-氟胞苷-3`-磷酸，Af=2`-氟腺苷-3`-磷酸，cs=2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸，VP=乙烯基磷酸5'，(Agn)=腺苷-乙二醇核酸(GNA)，gs=2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯，(Chd)=2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸，(Tgn)=胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体，(Ghd)=2'-O-十六烷基-鸟苷-3'-磷酸，和 cs=2`-O -甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1141] 对选定的富含AU的候选药物在AAV小鼠中人类APP敲除的先导识别筛选中的体内功效进行了评估。简而言之,将携带智人APP(例如,hsAPP-CDS3TRNC)的AAV载体静脉注射到6-8周龄的C57BL/6雌性小鼠中,并在AAV施用后14天皮下注射选定的RNAi剂或对照剂进入

小鼠(每组n＝3,剂量为3mg/kg。筛选组汇总于表21中。

[1142] 表21.AAV小鼠中富含AU候选药物的筛选组。

[1143]

| siRNA 日期 | 组# | 动物# | 治疗 | 剂量 | 时间点 |
|---|---|---|---|---|---|
| 8-Mar-19 | 1 | 1 | PBS | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 1 | 2 | PBS | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 1 | 3 | PBS | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 1 | 4 | PBS | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 1 | 5 | PBS | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 2 | 6 | Naïve | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 2 | 7 | Naïve | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 2 | 8 | Naïve | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 2 | 9 | Naïve | N/A | D14 |
| 8-Mar-19 | 3 | 10 | AD-392927.2(from RLD592) | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 3 | 11 | AD-392927.2(from RLD592) | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 3 | 12 | AD-392927.2(from RLD592) | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 4 | 13 | AD-506935.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 4 | 14 | AD-506935.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 4 | 15 | AD-506935.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 5 | 16 | AD-507065.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 5 | 17 | AD-507065.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 5 | 18 | AD-507065.2 | 3mg/kg | D14 |

[1144]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 8-Mar-19 | 6 | 19 | AD-507159.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 6 | 20 | AD-507159.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 6 | 21 | AD-507159.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 7 | 22 | AD-507538.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 7 | 23 | AD-507538.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 7 | 24 | AD-507538.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 8 | 25 | AD-507624.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 8 | 26 | AD-507624.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 8 | 27 | AD-507624.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 9 | 28 | AD-507724.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 9 | 29 | AD-507724.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 9 | 30 | AD-507724.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 10 | 31 | AD-507725.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 10 | 32 | AD-507725.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 10 | 33 | AD-507725.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 11 | 34 | AD-507789.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 11 | 35 | AD-507789.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 11 | 36 | AD-507789.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 12 | 37 | AD-507874.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 12 | 38 | AD-507874.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 12 | 39 | AD-507874.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 13 | 40 | AD-507928.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 13 | 41 | AD-507928.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 13 | 42 | AD-507928.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 14 | 43 | AD-507949.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 14 | 44 | AD-507949.2 | 3mg/kg | D14 |
| 8-Mar-19 | 14 | 45 | AD-507949.2 | 3mg/kg | D14 |

[1145] 在皮下注射RNAi剂或通过qPCR对照后14天,处死小鼠并评估其肝脏的APP mRNA水平。如表22和图15所示,与PBS和 Naïve (仅AAV)对照组相比,大多数富含AU的RNAi剂在肝脏中观察到显著水平的体内人APP mRNA敲除,尤其是AD-507538.2、AD-507724.2、AD-392927.2(RLD592)、AD-507928.2、AD-506935.2、和AD-507874.2

[1146] 表22.AAV小鼠中富含AU候选药物的筛选结果总结。

[1147]

| hsAPP AU丰富的种子<br>3mg/kg肝脏qPCR D14<br>相对于PBS % hsAPP<br>剩余信息 | | |
|---|---|---|
| 治疗 | 组平均值 | 标准差 |
| PBS | 100.00 | 30.90 |
| Naïve | 91.48 | 6.43 |
| AD-507538.2 | 24.23 | 8.73 |
| AD-507724.2 | 30.90 | 2.95 |
| AD-392927.2(RLD592) | 32.80 | 0.92 |
| AD-507928.2 | 36.31 | 2.61 |
| AD-506935.2 | 36.47 | 5.26 |
| AD-507874.2 | 40.43 | 4.99 |
| AD-507789.2 | 50.24 | 6.06 |
| AD-507624.2 | 57.67 | 4.22 |
| AD-507725.2 | 68.53 | 10.04 |
| AD-507159.2 | 71.49 | 20.82 |
| AD-507949.2 | 84.94 | 2.35 |
| AD-507065.2 | 91.09 | 20.17 |

[1148] 表23显示,与在DL和Be(2)C细胞系中的10nM或0.1nM的相同富含AU的RNAi剂的体外APP敲除相比,上述3mg/kg富含AU的RNAi剂在肝脏中的体内人类hsAPP mRNA敲除的比较线。

[1149]

表 23. 体内与体外 hsAPP 敲除的比较

| hsAPP %剩余 | RLD | 701 | RLD 646 (体外) | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | In vivo 3mg/kg | | DL (dual-Luc) | | | | Be(2)C (人类神经元) | | | | | |
| | | | 剂量— | 单元 | 剂量— | 单元 | 剂量— | 单元 | 剂量— | 单元 | | |
| | | | 10 nM | 10 nM | 0.1 nM | 0.1 nM | 10 nM | 10 nM | 0.1 nM | 0.1 nM | | |
| 双链体 | Avg | SD | Avg | SD | Avg | SD | Avg | SD | Avg | SD | | |
| AD-507538 | 24.2 | 8.7 | 22.5 | 5.5 | 106.2 | 45.3 | 16.6 | 3.8 | 23.3 | 2.5 | | |
| AD-507724 | 30.9 | 2.9 | 38.5 | 9.2 | 119.8 | 24.6 | 21.2 | 1.9 | 43.5 | 9.6 | | |
| AD-507928 | 36.3 | 2.6 | 10.6 | 1.8 | 101.1 | 23.8 | 25.1 | 2.7 | 39.8 | 22.1 | | |
| AD-506935 | 36.5 | 5.3 | 37.4 | 10.1 | 75.9 | 18.4 | 19.7 | 3.9 | 22.3 | 2.2 | | |
| AD-507874 | 40.4 | 5.0 | 13.6 | 10.9 | 105.7 | 29.1 | 21.9 | 2.4 | 31.3 | 13.1 | | |
| AD-507789 | 50.2 | 6.1 | 34.3 | 12.0 | 121.2 | 30.9 | 24.0 | 6.0 | 38.3 | 3.6 | | |
| AD-507624 | 57.7 | 4.2 | 32.7 | 7.0 | 116.5 | 28.6 | 22.1 | 1.0 | 68.0 | 26.2 | | |
| AD-507725 | 68.5 | 10.0 | 68.6 | 13.1 | 107.8 | 43.5 | 31.1 | 5.4 | 34.1 | 9.7 | | |
| AD-507159 | 71.5 | 20.8 | 56.8 | 20.2 | 119.7 | 42.4 | 26.2 | 4.6 | 42.7 | 8.6 | | |
| AD-507949 | 84.9 | 2.3 | 57.1 | 25.6 | 99.7 | 29.8 | 23.3 | 3.1 | 42.9 | 15.2 | | |
| AD-507065 | 91.1 | 20.2 | 52.5 | 11.6 | 106.1 | 19.2 | 25.3 | 7.2 | 39.4 | 5.8 | | |

[1150] 实例7.用于结构活性关系研究的先导序列的体内APP筛选

[1151] 对C57BL/6小鼠进行体内筛选,对先导寡核苷酸进行构效关系研究。研究设计的总

结在表25中给出。如表26所示,测试了以下先导寡核苷酸:AD-886823、AD-886839、AD-886845、AD-886853、AD-886858、AD-886864、AD-886873、AD-886877、AD-886879、AD-886883、AD-886884、AD-886889、AD-886899、AD-886900、AD-886906、AD-886907、AD-8899-8868908、AD-886928、AD-886930、和AD-886931。表26列出了每个先导寡核苷酸的正义和反义序列,以及每个先导寡核苷酸的相关靶序列。先导寡核苷酸的结构示于图16A、图16B、图16C、和图16D。

[1152] 表25.研究设计

[1153]

| | | |
|---|---|---|
| **AAV** | 名称 | AAV8.HsAPP-CDS3TRNC |
| | | VCAV - 04731 |
| | 剂量 | 2E+11 |
| | 注射方式 | IV(眼窝) |
| **siRNA** | 注射方式 | 皮下 |
| | 剂量 | 3mg/kg |
| | 样本 | 肝 |
| | 收集天数 | D14 |
| **动物** | 性别 | 雌 |
| | 菌株 | C57BL/6 |
| | 年龄（抵达时） | 6 至 8 周 |
| | 供应商 | 杰克森实验室 |
| | 双链体 编号 | 16 |
| | n = | 3 |
| | 动物总数 | 72 |
| **分析** | 分析方法 | RT-qPCR |
| | 塔克曼探针 | 小鼠 GAPDH 应用生命系统公司 4351309 |
| | | APP: Hs00169098_m1(FAM) |

[1154] 表26.SAR先导候选药物的hsAPP双链体和靶序列

[1155]

| 双链体 | 链 | 寡核苷酸序列 | SEQ ID NO: | 靶序列 | SEQ ID NO: |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-886823.2 | 正义（5’到3’） | usasgug(Chd)AfuGfAfAfuagauucucaL96 | 2785 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2829 |
| | 反义（5’到3’） | VPusGfsagaa(Tgn)cuauucAfuGfcacuasgsu | 2786 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2830 |
| AD-886839.2 | 正义（5’到3’） | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2787 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2831 |

[1156]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 反义（5’到3’） | VPusdGsagaa(Tgn)cuauucAfudGcacuasgsu | 2788 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2832 |
| AD-8868 45.2 | 正义（5’到3’） | usasgug(Chd)audGadAuagaaucucaL96 | 2789 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2833 |
| | 反义（5’到3’） | VPudGagaa(Tgn)cuauUfcAfudGcacuasgsu | 2790 | UGAGAATCUAUUCAUGCACUAGU | 2834 |
| AD-8868 53.2 | 正义（5’到3’） | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2791 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2835 |
| | 反义（5’到3’） | VPusdGsagdAa(Tgn)cuaudTcAfugcacuasgsu | 2792 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2836 |
| AD-8868 58.2 | 正义（5’到3’） | usasgug(Chd)AfudGAfAfuagauucucaL96 | 2793 | UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCA | 2837 |
| | 反义（5’到3’） | VPudGagdAa(Tgn)cuaudTcAfudGcacuasgsu | 2794 | UGAGAATCUAUTCAUGCACUAGU | 2838 |
| AD-8868 64.2 | 正义（5’到3’） | gsgscua(Chd)GfaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2795 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2839 |
| | 反义（5’到3’） | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcGfuagccsgsu | 2796 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2840 |
| AD-8868 73.2 | 正义（5’到3’） | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccuaaL96 | 2797 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2841 |
| | 反义（5’到3’） | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2798 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2842 |
| AD-8868 77.2 | 正义（5’到3’） | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccuaaL96 | 2799 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2843 |
| | 反义（5’到3’） | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2800 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2844 |

[1157]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-886879.2 | 正义（5’ 到 3’） | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2801 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2845 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPusUfsaggu(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2802 | UUAGGUTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2846 |
| AD-886883.2 | 正义（5’ 到 3’） | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2803 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2847 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPuUfaggdT(Tgn)ggauuuUfcdGuagccsgsu | 2804 | UUAGGTTGGAUUUUCGUAGCCGU | 2848 |
| AD-886884.2 | 正义（5’ 到 3’） | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2805 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2849 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPuUfaggdT(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2806 | UUAGGTTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2850 |
| AD-886889.2 | 正义（5’ 到 3’） | gsgscua(Chd)gaAfAfAfuccaaccuaaL96 | 2807 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2851 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPuUfagdGu(Tgn)ggaudTuUfcguagccsgsu | 2808 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2852 |
| AD-886899.2 | 正义（5’ 到 3’） | asasagagCfaAfAfAfcuauu(Chd)agaaL96 | 2809 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2853 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPusUfscugAfaUfAfguuuUfgCfucuuuscsu | 2810 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2854 |
| AD-886900.2 | 正义（5’ 到 3’） | asasaga(Ghd)CfaAfAfAfcuauucagaaL96 | 2811 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2855 |
| | 反义（5’ 到 3’） | VPusUfscugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2812 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2856 |
| AD-886906.2 | 正义（5’ 到 3’） | asasagag(Chd)aAfAfAfcuaucagaaL96 | 2813 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2857 |

[1158]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 反义(5’到3’) | VPuUfcugAfauaguuuUfgCfucuuuscsu | 2814 | UUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2858 |
| AD-886907.2 | 正义(5’到3’) | asasagag(Chd)aAfaAfcuauucagaaL96 | 2815 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2859 |
| | 反义(5’到3’) | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2816 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2860 |
| AD-886908.2 | 正义(5’到3’) | asasagag(Chd)adAadAcuauucagaaL96 | 2817 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2861 |
| | 反义(5’到3’) | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2818 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2862 |
| AD-886909.2 | 正义(5’到3’) | asasagag(Chd)adAadAcuauucagaaL96 | 2819 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2863 |
| | 反义(5’到3’) | VPuUfcugdAauagudTuUfgdCucuuuscsu | 2820 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2864 |
| AD-886919.2 | 正义(5’到3’) | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuaucaL96 | 2821 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2865 |
| | 反义(5’到3’) | VPusGfsauaAfugaguaaAfuCfauaaasasc | 2822 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2866 |
| AD-886928.2 | 正义(5’到3’) | ususuaug(Ahd)uUfudAcucauuaucaL96 | 2823 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2867 |
| | 反义(5’到3’) | VPudGauadAugagudAaAfudCauaaasasc | 2824 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2868 |
| AD-886930.2 | 正义(5’到3’) | ususuaugAfuUfUfAfcuc(Ahd)uuaucaL96 | 2825 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2869 |
| | 反义(5’到3’) | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2826 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2870 |

[1159]

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-886931.2 | 正义(5’到3’) | ususuaug(Ahd)uUfUfAfcucauuaucaL96 | 2827 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2871 |
| | 反义(5’到3’) | VPusdGsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2828 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2872 |

[1160] 表26符號說明:U＝尿苷-3-磷酸,u＝2-O-甲基尿苷-3-磷酸,us＝2-O-甲基尿苷-3`-硫代磷酸酯,a＝2`-O-甲基腺苷-3`-磷酸,A＝腺苷-3`-磷酸,as＝2`-O-甲基腺苷-3`-硫代磷酸,(Ahd)＝2’-O-十六烷基-腺苷-3’-磷酸,Gf＝2`-氟鸟苷-3`-磷酸,Uf＝2`-氟尿苷-3`-磷酸,Cf＝2`-氟胞苷-3`-磷酸,Af＝2`-氟腺苷-3`-磷酸,cs＝2`-O-甲基胞苷-3`-磷酸,VP＝乙烯基磷酸5’,(Agn)＝腺苷-乙二醇核酸(GNA),gs＝2`-O-甲基鸟苷-3`-硫代磷酸酯,(Chd)＝2’-O-十六烷基-胞苷-3’-磷酸,(Tgn)＝胸苷-乙二醇核酸(GNA)S-异构体,(Ghd)＝2’-O-十六烷基-鸟苷-3’-磷酸,和cs＝2`-O-甲基胞苷-3`-硫代磷酸酯。

[1161] 在AAV小鼠中人类APP敲除的筛选中评估所选候选药物的体内功效。简而言之,将携带智人APP(例如,AAV8.HsAPP-CDS3TRNC)的AAV载体静脉注射到6至8周龄的C57BL/6雌性小鼠中,并在AAV施用后14天,选择的RNAi剂或对照剂是以3mg/kg的剂量皮下注射到小鼠体内(每组n＝3)。在皮下注射RNAi剂或通过qPCR对照后14天,处死小鼠并评估其肝脏的APP mRNA水平。如表28、图17A和图17B中所示,与PBS和Naïve (仅AAV)对照相比,对于大多数测试的先导RNAi剂观察到肝脏中显著水平的体内人类APP mRNA敲除,具有特别强的水平AD-886864(亲本)、AD-886873、AD-886879、AD-886883、AD-886884、AD-886889、AD-886899(亲本)、AD-886900、AD-886906、AD-886-886919(亲本)和AD-886823(亲本)。图18A至18D是分别按亲本分子分类的先导RNAi剂的示意图:AD-886864亲本(图18A)、AD-886899亲本(图18B)、AD-886919亲本(图18C)和AD-886823亲本(图18D)。

[1162] 表28.AAV小鼠中先导候选药物的体内筛选结果总结。

[1163]

| | 3mg/kg SC D14 肝脏 qPCR | |
|---|---|---|
| 治疗 | % 剩余信息 | |
| | 组平均值 | 标准差 |
| PBS | 100.00 | 15.26 |
| naïve(仅 AAV) | 104.01 | 16.49 |
| AD-886864(亲本) | 29.55 | 0.93 |
| AD-886873 | 27.48 | 0.84 |
| AD-886877 | 33.34 | 13.46 |
| AD-886879 | 26.68 | 2.52 |
| AD-886883 | 21.74 | 2.25 |
| AD-886884 | 28.51 | 8.66 |
| AD-886889 | 21.77 | 1.58 |
| AD-886899(亲本) | 27.17 | 7.52 |
| AD-886900 | 20.80 | 5.81 |
| AD-886906 | 19.35 | 5.97 |
| AD-886907 | 19.12 | 3.16 |
| AD-886908 | 30.28 | 6.67 |
| AD-886909 | 34.56 | 5.55 |
| AD-886919(亲本) | 24.16 | 6.71 |
| AD-886928 | 40.47 | 5.03 |
| AD-886930 | 32.87 | 6.63 |
| AD-886931 | 38.82 | 4.51 |
| AD-886823(亲本) | 27.81 | 3.36 |
| AD-886853 | 43.59 | 9.18 |
| AD-886858 | 61.16 | 2.23 |
| AD-886839 | 60.35 | 13.85 |
| AD-886845 | 79.73 | 10.09 |

[1164] 表29示出Be(2)C细胞系中10nM或0.1nM的上述(例如,表26)先导RNAi剂的体外APP敲除。

[1165] 表29.Be(2)C细胞中10nM和0.1nM剂量的先导候选药物的体外筛选结果总结。

[1166]

| 双链体 | 剩余信息%--10nM | 标准差--10nM | 剩余信息%--0.1nM | 标准差--0.1nM |
|---|---|---|---|---|
| AD-886823.1 | 7.0 | 5.4 | 91.0 | 25.7 |
| AD-886845.1 | 13.3 | 3.2 | 67.4 | 7.9 |
| AD-886839.2 | 10.2 | 7.7 | 74.7 | 39.5 |
| AD-886853.1 | 6.5 | 3.9 | 44.9 | 7.4 |
| AD-886858.1 | 11.4 | 2.4 | 61.4 | 12.5 |
| AD-886864.1 | 11.5 | 3.9 | 44.9 | 7.9 |
| AD-886873.1 | 12.7 | 1.9 | 60.2 | 14.3 |
| AD-886877.1 | 11.9 | 3.0 | 67.8 | 5.9 |
| AD-886879.1 | 9.8 | 1.7 | 41.0 | 5.2 |
| AD-886883.1 | 8.5 | 2.1 | 29.5 | 12.8 |
| AD-886884.1 | 8.9 | 2.4 | 31.2 | 11.9 |
| AD-886889.1 | 9.4 | 0.6 | 28.0 | 14.2 |
| AD-886899.1 | 9.2 | 2.6 | 40.5 | 12.7 |
| AD-886900.1 | 6.7 | 2.1 | 39.7 | 21.5 |
| AD-886906.1 | 10.2 | 3.0 | 39.7 | 9.9 |
| AD-886907.1 | 9.8 | 2.7 | 30.3 | 1.9 |
| AD-886908.1 | 10.7 | 2.6 | 32.8 | 10.6 |
| AD-886909.1 | 7.4 | 1.4 | 77.9 | 16.2 |
| AD-886919.1 | 5.7 | 1.4 | 31.2 | 4.3 |
| AD-886928.1 | 9.2 | 2.4 | 67.6 | 7.1 |
| AD-886930.1 | 6.9 | 1.7 | 45.7 | 10.1 |
| AD-886931.1 | 3.2 | 1.2 | 42.0 | 16.0 |

[1167] 实例8.在非人类灵长类动物中通过C-16 siRNA结合物体内敲除APP

[1168] 由于siRNA结合物AD-454844的功效,对AD-454844进行了构效关系研究,然后基于食蟹猴体内可溶性APP筛选鉴定出5个新的C16化合物作为先导化合物。在L2/L3或L2/L3或L4/L5通过经皮针刺入腰池(图20A至20G)。从施用后D8、D15和D29收集的CSF评估可溶性APPα和β靶标参与生物标志物。IT施用导致在整个脊柱和大脑中有足够的siRNA传递,正如在施用后1周内靶标参与生物标志物的沉默所证明的那样,并且在D29期间持续活动。值得注意的是,在体内敲除活性的5'末端C16共轭物(AD-994379)是相似的内部C16共轭物(AD-454844)的。(反义序列在测试的两种分子中是相同的)。

[1169] 此外,C16 siRNA结合物表达出显著的持久敲除效果。在单剂量60mg AD-454844后观察到持续的药效学作用,其中可溶性APP在4个月内保持远低于50%(图19和20A)。

[1170] 表30.C16 siRNA结合物经鉴定可在体内NHP研究中敲除APP

[1171]

| 双链体 | 链 | 寡核苷酸序列 | SEQ ID NO: | 靶序列 | SEQ ID NO: |
|---|---|---|---|---|---|
| AD-994379 | 正义 (5’到3’) | Q363sasaaaucCfaAfCfCfuacaaguuscsa | 2873 | CGAAAAUCCAACCUACAAGUUCU | 2883 |
| | 反义 (5’到3’) | VPusGfsaacu(Tgn)guagguUfgGfauuuuscsg | 2874 | AGAACUUGUAGGUUGGAUUUUCG | 2884 |
| AD-961583 | 正义 (5’到3’) | gsgscua(Chd)gadAadAuccaaccusasa | 2875 | ACGGCUACGAAAAUCCAACCUAC | 2885 |
| | 反义 (5’到3’) | VPusUfsaggu(Tgn)ggaudTuUfcdGuagccsgsu | 2876 | GUAGGUUGGAUUUUCGUAGCCGU | 2886 |
| AD-961584 | 正义 (5’到3’) | asasagag(Chd)aAfaAfcuauucagsasa | 2877 | AGAAAGAGCAAAACUAUUCAGAU | 2887 |
| | 反义 (5’到3’) | VPuUfcugAfauagudTuUfgCfucuuuscsu | 2878 | AUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2888 |
| AD-961585 | 正义 (5’到3’) | asasagag(Chd)adAadAcuauucagsasa | 2879 | AGAAAGAGCAAAACUAUUCAGAU | 2889 |
| | 反义 (5’到3’) | VPuUfcugdAauagudTuUfgdCucuuuscsu | 2880 | AUCUGAAUAGUUUUGCUCUUUCU | 2890 |
| AD-961586 | 正义 (5’到3’) | ususuau(Ghd)AfuUfUfAfcucauuauscsa | 2881 | GUUUUAUGAUUUACUCAUUAUCG | 2891 |
| | 反义 (5’到3’) | VPusGfsauaAfugaguaaAfuCfauaaasusg | 2882 | CGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAAC | 2892 |

[1172] 表31.表30的C16结合物中使用的未经修饰的碱基转录物

[1173]

| 双链体 | 链 | 寡核苷酸名称 | 转录本序列 | SEQ ID NO: |
|---|---|---|---|---|
| AD-994379 | 正义 (5’ 到 3’) | A-1701871.1 | AAAAUCCAACCUACAAGUUCA | 2893 |
| | 反义 (5’ 到 3’) | A-882382.1 | UGAACUTGUAGGUUGGAUUUUCG | 2894 |
| AD-961583 | 正义 (5’ 到 3’) | A-1770584.1 | GGCUACGAAAAUCCAACCUAA | 2895 |
| | 反义 (5’ 到 3’) | A-1683088.1 | UUAGGUTGGAUTUUCGUAGCCGU | 2896 |
| AD-961584 | 正义 (5’ 到 3’) | A-1770585.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2897 |
| | 反义 (5’ 到 3’) | A-1683116.1 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2898 |
| AD-961585 | 正义 (5’ 到 3’) | A-1770586.1 | AAAGAGCAAAACUAUUCAGAA | 2899 |
| | 反义 (5’ 到 3’) | A-1683118.1 | UUCUGAAUAGUTUUGCUCUUUCU | 2900 |
| AD-961586 | 正义 (5’ 到 3’) | A-1770587.1 | UUUAUGAUUUACUCAUUAUCA | 2901 |
| | 反义 (5’ 到 3’) | A-1683134.1 | UGAUAAUGAGUAAAUCAUAAAUG | 2902 |

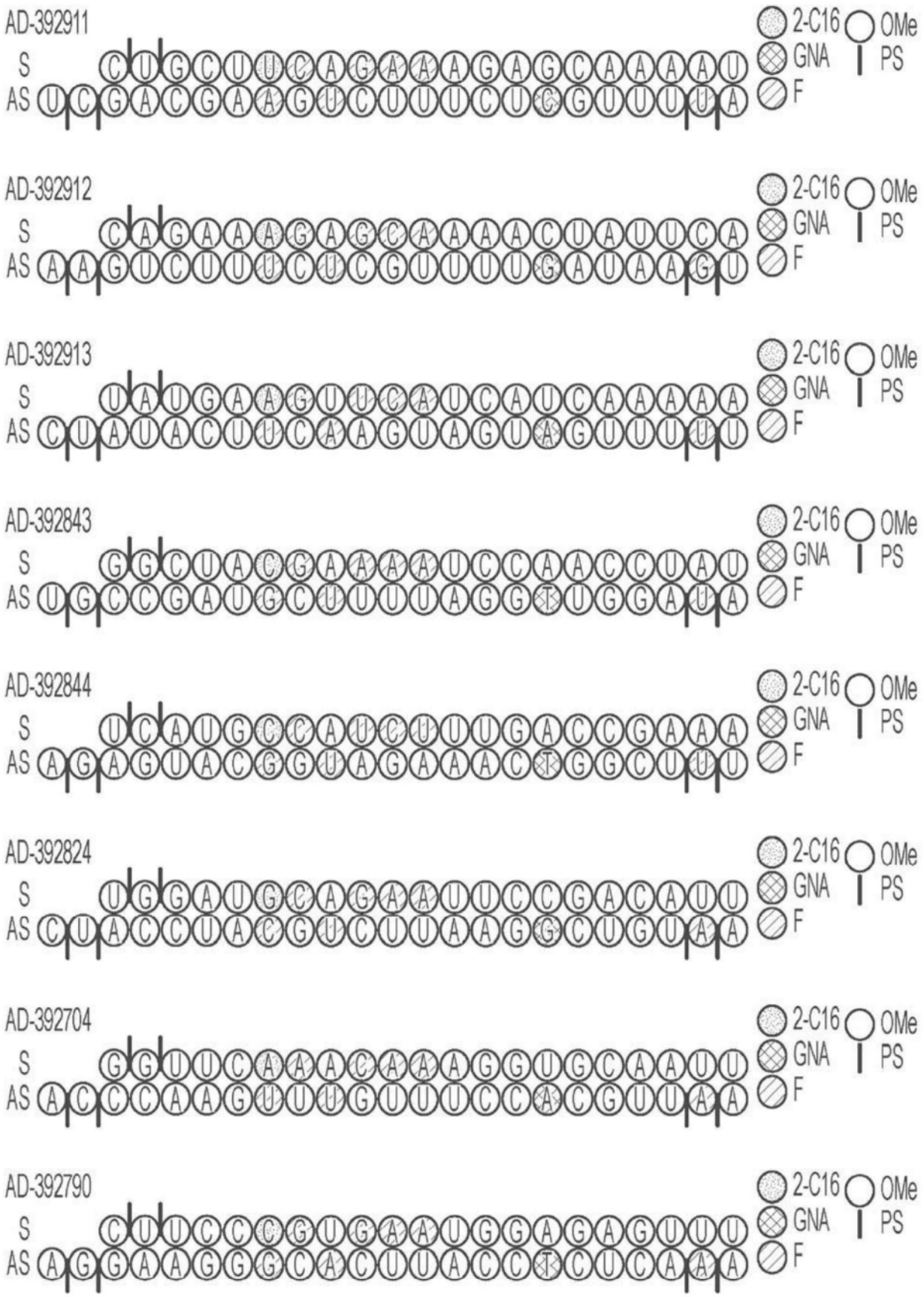

AD-392911
S CUGCUUCAGAAAGAGCAAAAAU
AS UCGACGAAGUCUUUCUCGUUUUA
AD-392912
S CAGAAAGAGCAAAACUAUUCA
AS AAGUCUUUCUCGUUUUGAUAAGU
AD-392913
S UAUGAAGUUCAUCAUCAAAAA
AS CUAUACUUCAAGUAGUAGUUUUU
AD-392843
S GGCUACGAAAAUCCAACCUAU
AS UGCCGAUGCUUUUAGGUUGGAUA
AD-392844
S UCAUGCCAUCUUUGACCGAAA
AS AGAGUACGGUAGAAACUGGCUUU
AD-392824
S UGGAUGCAGAAUUCCGACAUU
AS CUACCUACGUCUUAAGGCUGUAA
AD-392704
S GGUUCAAACAAAGGUGCAAUU
AS ACCCAAGUUUGUUUCCACGUUAA
AD-392790
S CUUCCCGUGAAUGGAGAGUUU
AS AGGAAGGGCACUUACCUCUCAAA
2-C16
GNA
F
OMe
PS

图1A

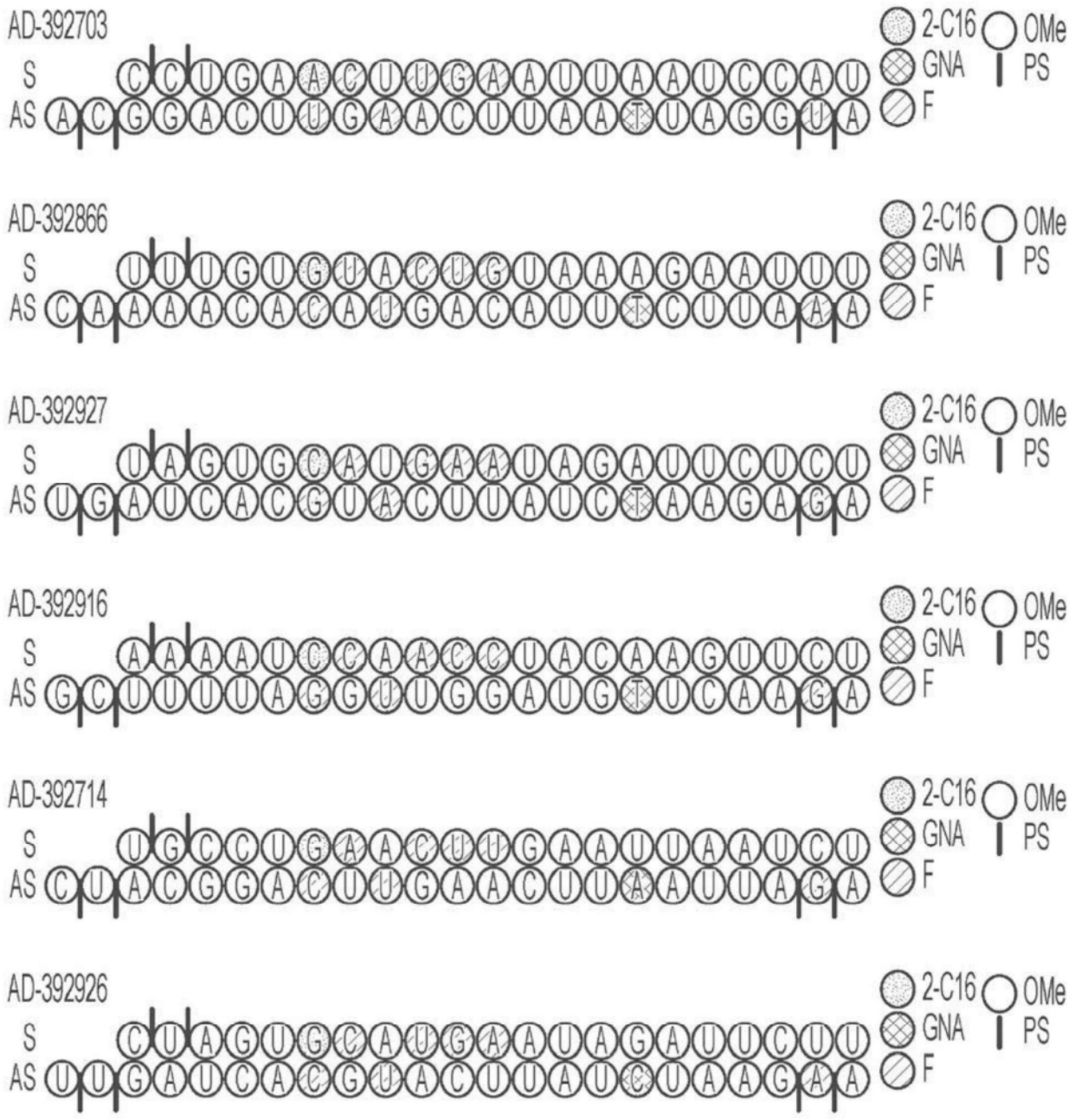

AD-392703
S CCUGAACUUGAAUUAAUCCAU
AS ACGGACUUGAACUUAATUAGGUA
AD-392866
S UUUGUGUACUGUAAAGAAUUU
AS CAAAACACAUGACAUUTCUUAAA
AD-392927
S UAGUGCAUGAAUAGAUUCUCU
AS UGAUCACGUACUUAUCTAAGAGA
AD-392916
S AAAAUCCAACCUACAAGUUCU
AS GCUUUUAGGUUGGAUGTUCAAGA
AD-392714
S UGCCUGAACUUGAAUUAAUCU
AS CUACGGACUUGAACUUAAUUAGA
AD-392926
S CUAGUGCAUGAAUAGAUUCUU
AS UUGAUCACGUACUUAUCUAAGAA
2-C16
GNA
F
OMe
PS

图1B

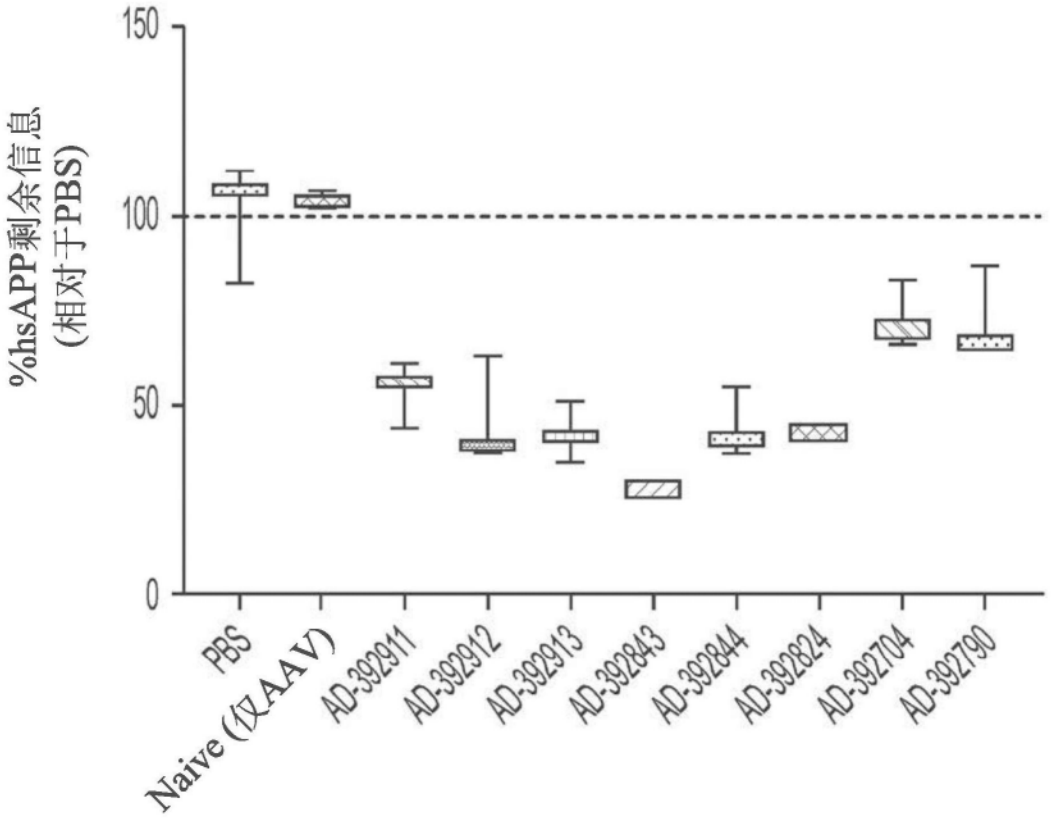

%hsAPP剩余信息
(相对于PBS)
150
100
50
0
PBS
Naive (仅AAV)
AD-392911
AD-392912
AD-392913
AD-392843
AD-392844
AD-392824
AD-392704
AD-392790

图2A

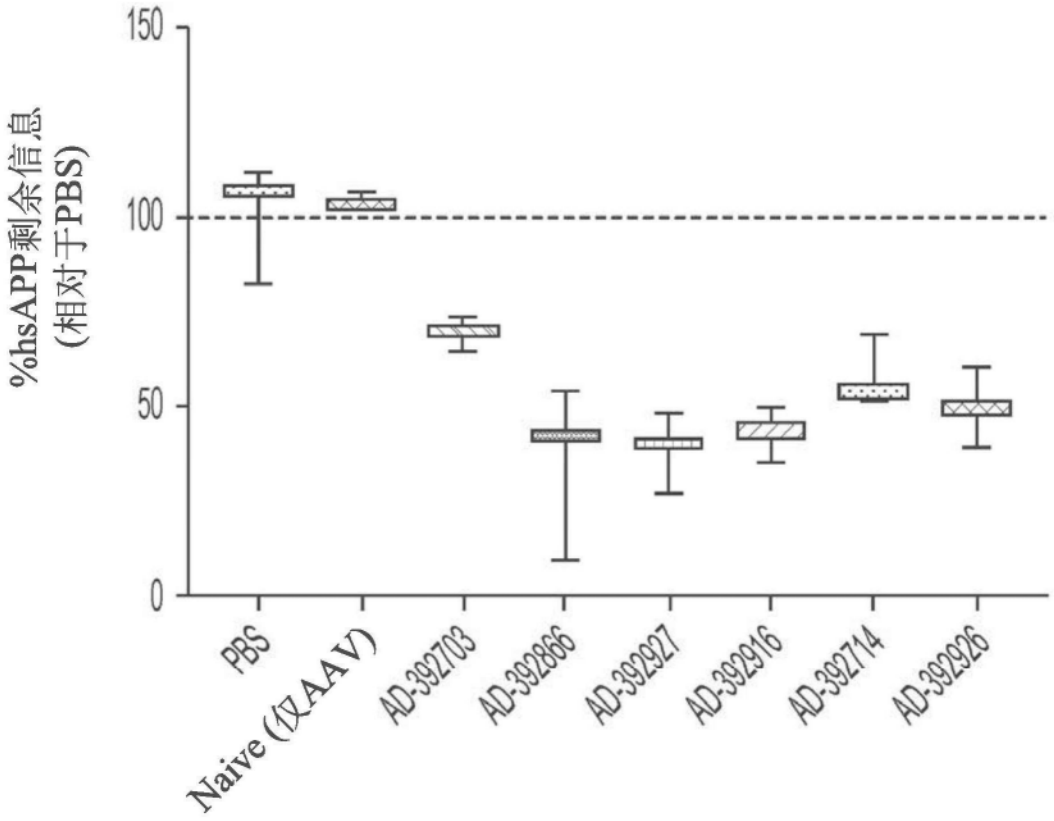

%hsAPP剩余信息
(相对于PBS)
150
100
50
0
PBS
Naive (仅AAV)
AD-392703
AD-392866
AD-392927
AD-392916
AD-392714
AD-392926

图2B

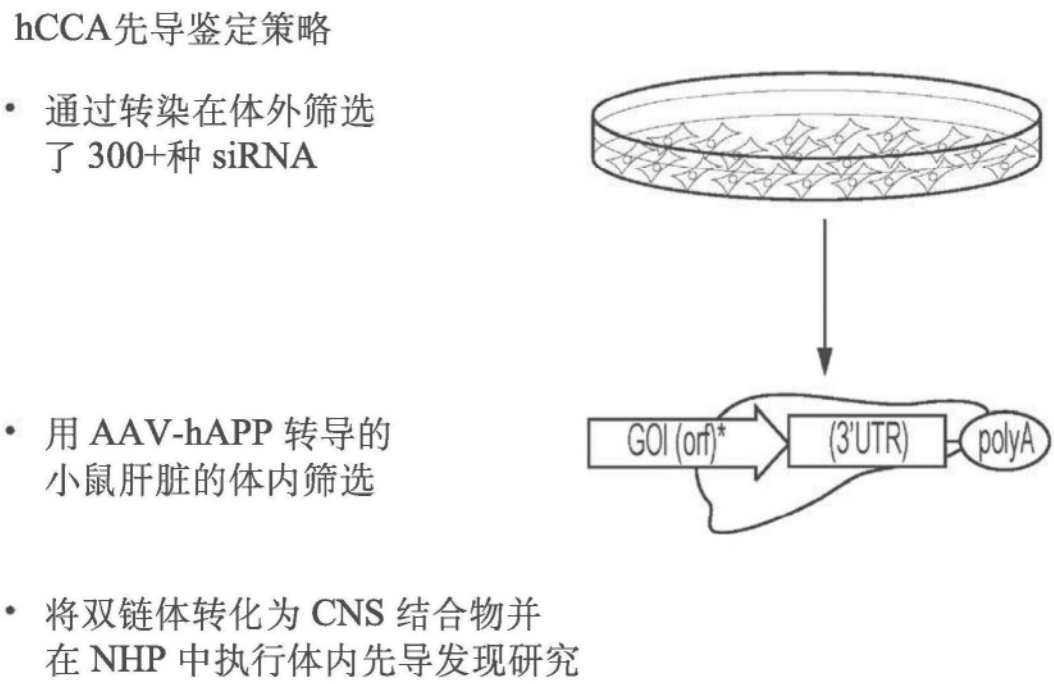

hCCA先导鉴定策略
• 通过转染在体外筛选了 300+种 siRNA
• 用 AAV-hAPP 转导的小鼠肝脏的体内筛选
• 将双链体转化为 CNS 结合物并在 NHP 中执行体内先导发现研究
GOI (orf)*
(3'UTR)
polyA

图3A

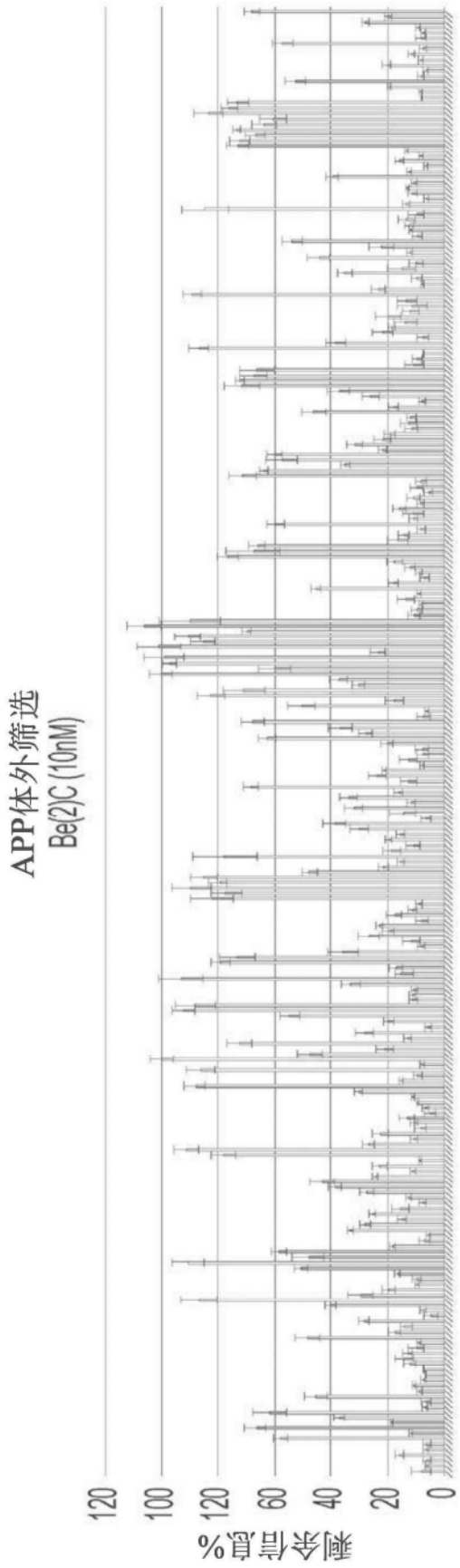



图3B

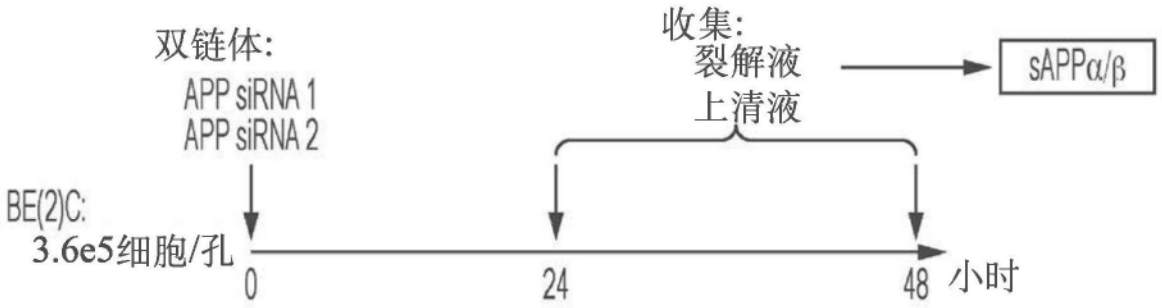

双链体:
APP siRNA 1
APP siRNA 2
BE(2)C:
3.6e5细胞/孔
0
24
48
小时
收集:
裂解液
上清液
sAPPα/β

图4A

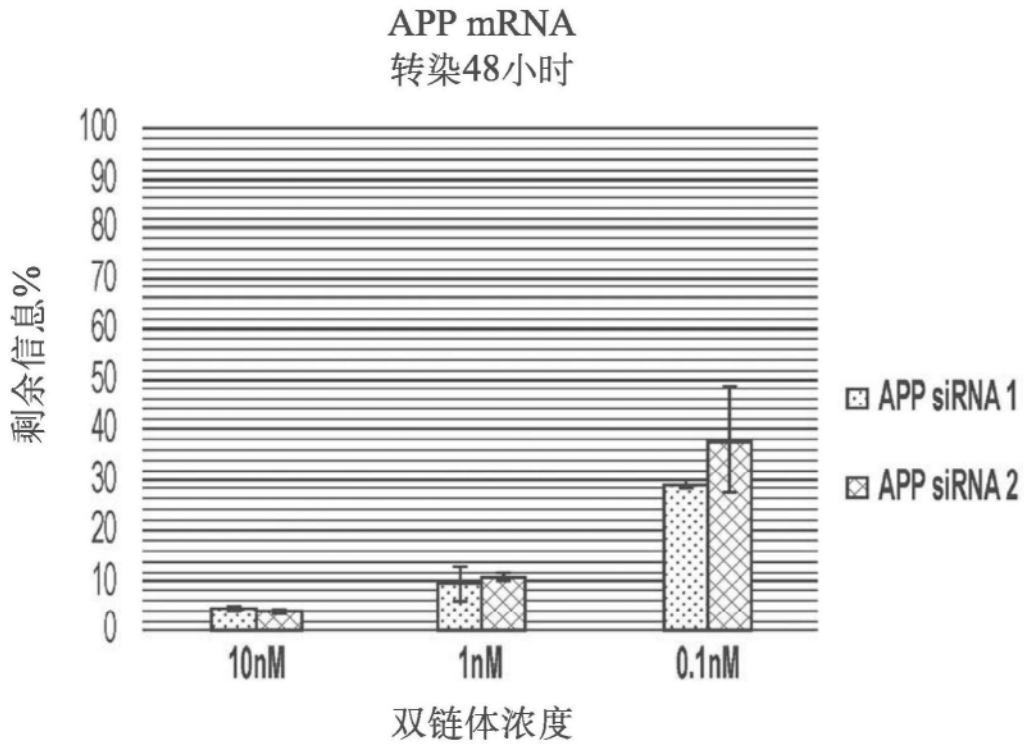

APP mRNA
转染48小时
剩余信息%
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
10nM
1nM
0.1nM
双链体浓度
APP siRNA 1
APP siRNA 2

图4B

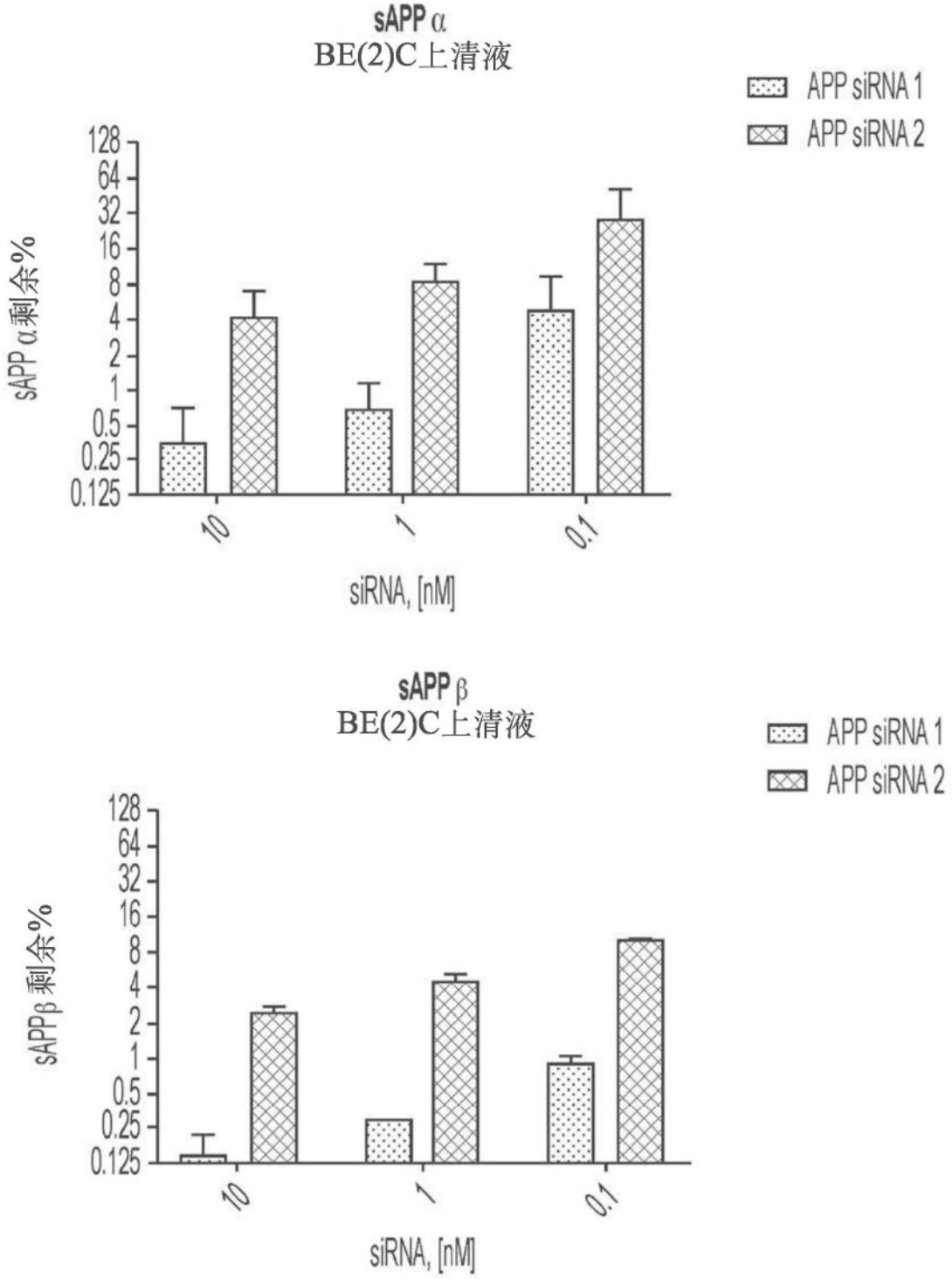

sAPP α
BE(2)C上清液
APP siRNA 1
APP siRNA 2
sAPP α剩余%
128
64
32
16
8
4
2
1
0.5
0.25
0.125
10
1
0.1
siRNA, [nM]
sAPP β
BE(2)C上清液
APP siRNA 1
APP siRNA 2
sAPPβ 剩余%
128
64
32
16
8
4
2
1
0.5
0.25
0.125
10
1
0.1
siRNA, [nM]

图4C

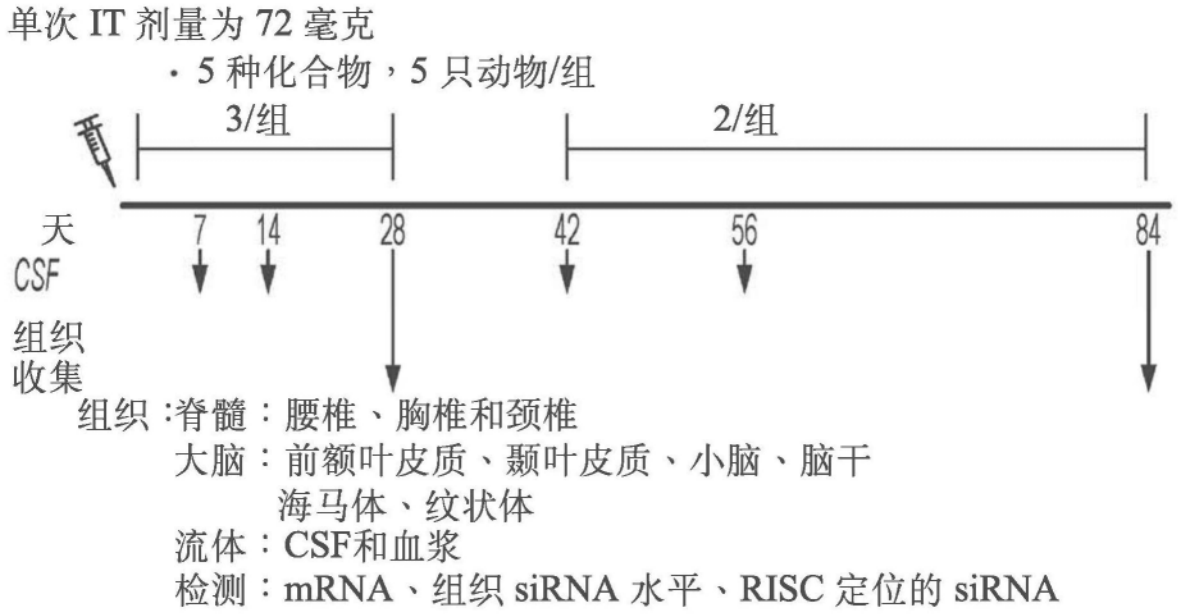
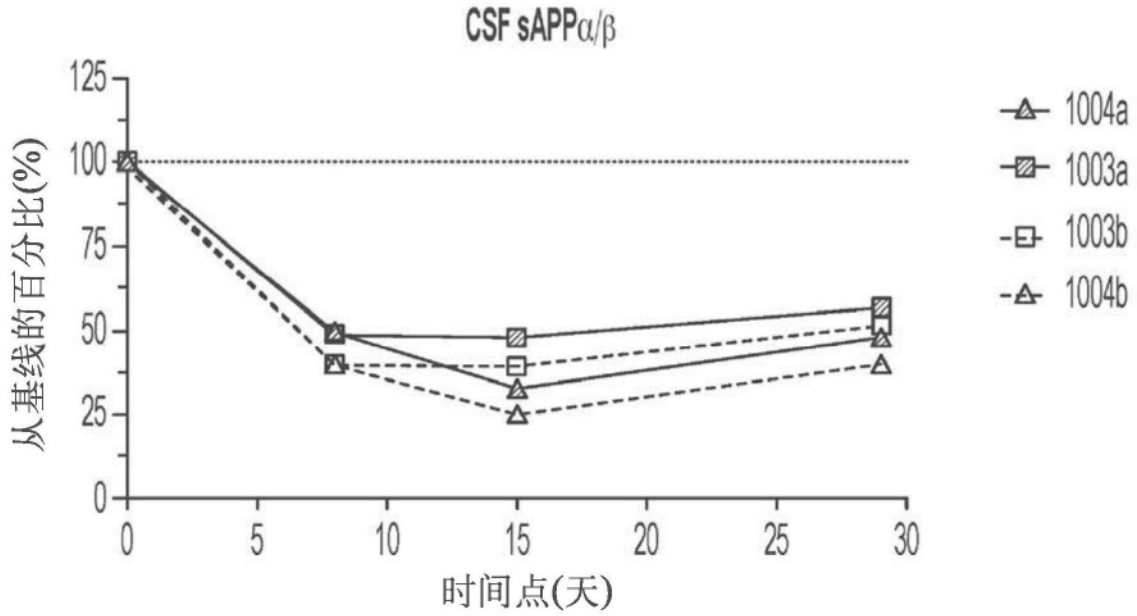

单次 IT 剂量为 72 毫克
· 5 种化合物，5 只动物/组
3/组
2/组
天
7
14
28
42
56
84
CSF
组织
收集
组织：脊髓：腰椎、胸椎和颈椎
大脑：前额叶皮质、颞叶皮质、小脑、脑干
海马体、纹状体
流体：CSF和血浆
检测：mRNA、组织 siRNA 水平、RISC 定位的 siRNA

图5A


CSF sAPPα/β
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
1004a
1003a
1003b
1004b

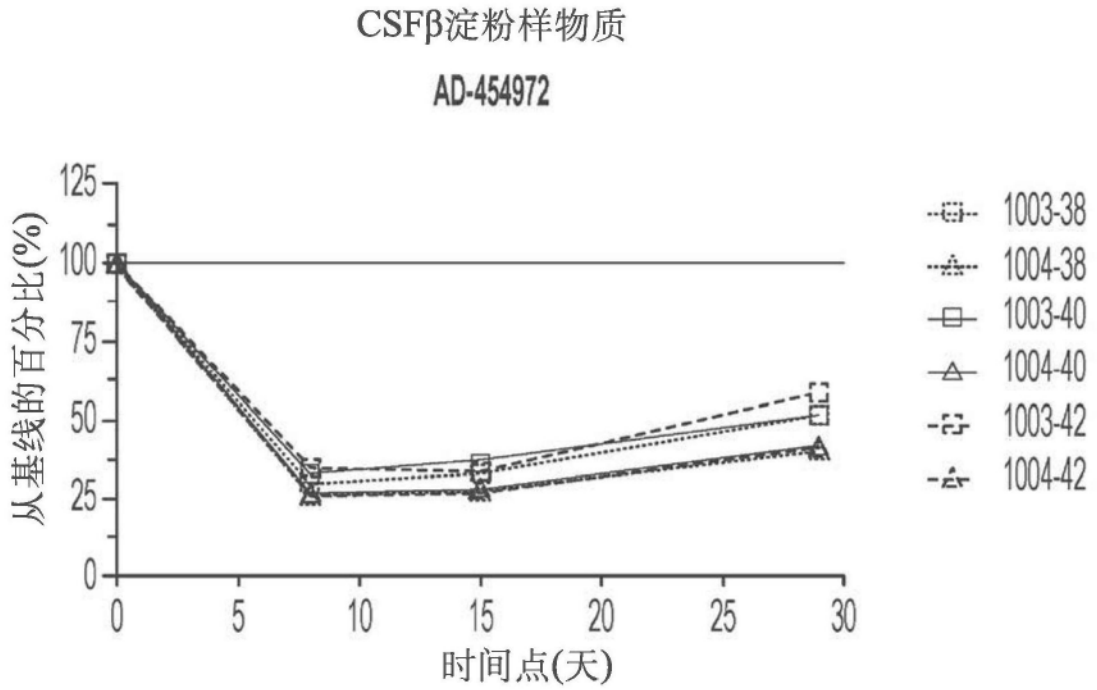

CSFβ淀粉样物质
AD-454972
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
1003-38
1004-38
1003-40
1004-40
1003-42
1004-42

图5B

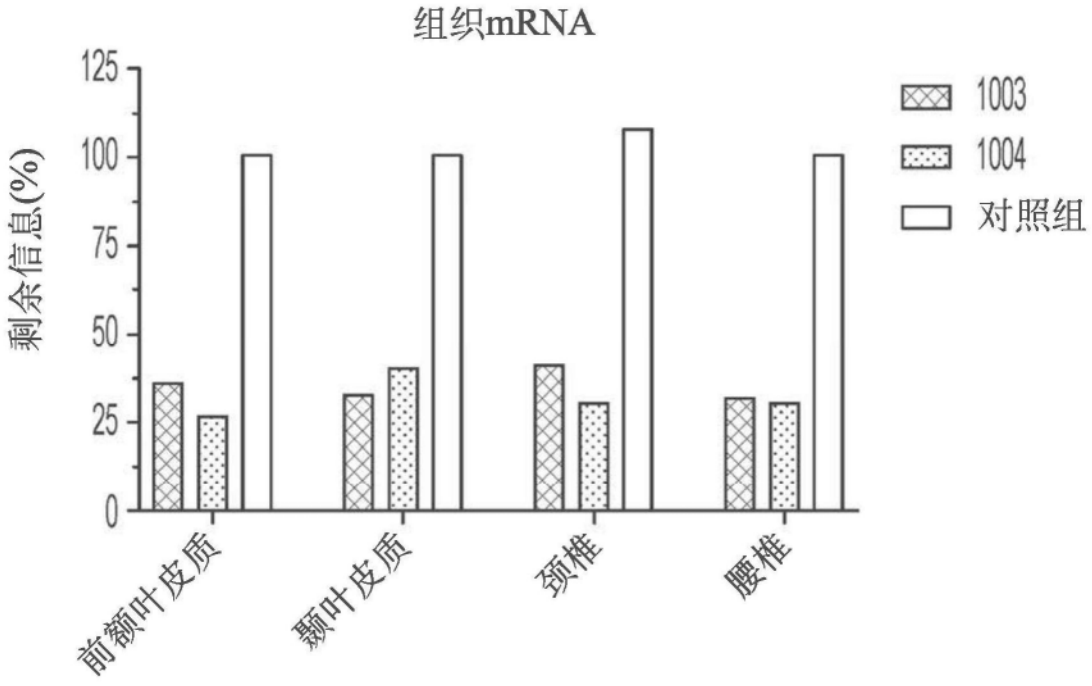


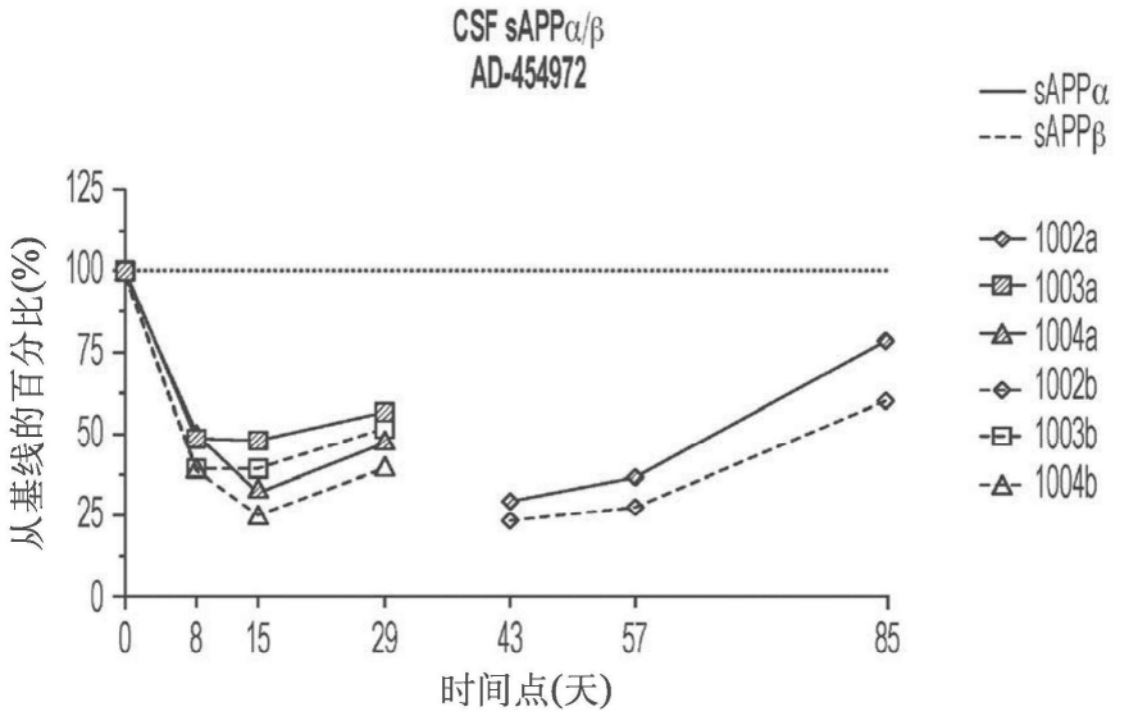

图5C




组织siRNA

| 动物ID | 基质 | 最终的双链体 (ng/g) |
|---|---|---|
| 1003 | 腰髓 | 13695 |
| 1004 | | 12096 |
| 1003 | 颈髓 | 7154 |
| 1004 | | 7826 |
| 1003 | 前额叶皮质 | 6413 |
| 1004 | | 5163 |
| 1003 | 颞叶皮质 | 5115 |
| 1004 | | 2660 |

图5D


CSF sAPPα/β
AD-454972
sAPPα
sAPPβ
1002a
1003a
1004a
1002b
1003b
1004b
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
8
15
29
43
57
85
时间点(天)

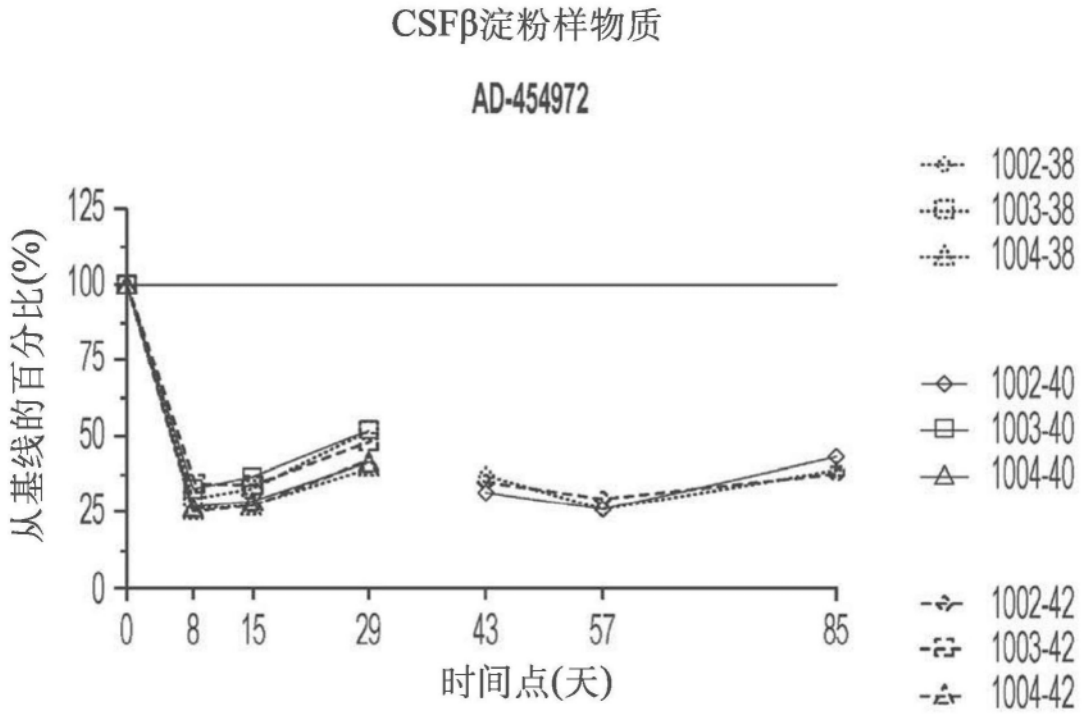

CSFβ淀粉样物质
AD-454972
1002-38
1003-38
1004-38
1002-40
1003-40
1004-40
1002-42
1003-42
1004-42
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
8
15
29
43
57
85
时间点(天)

图6

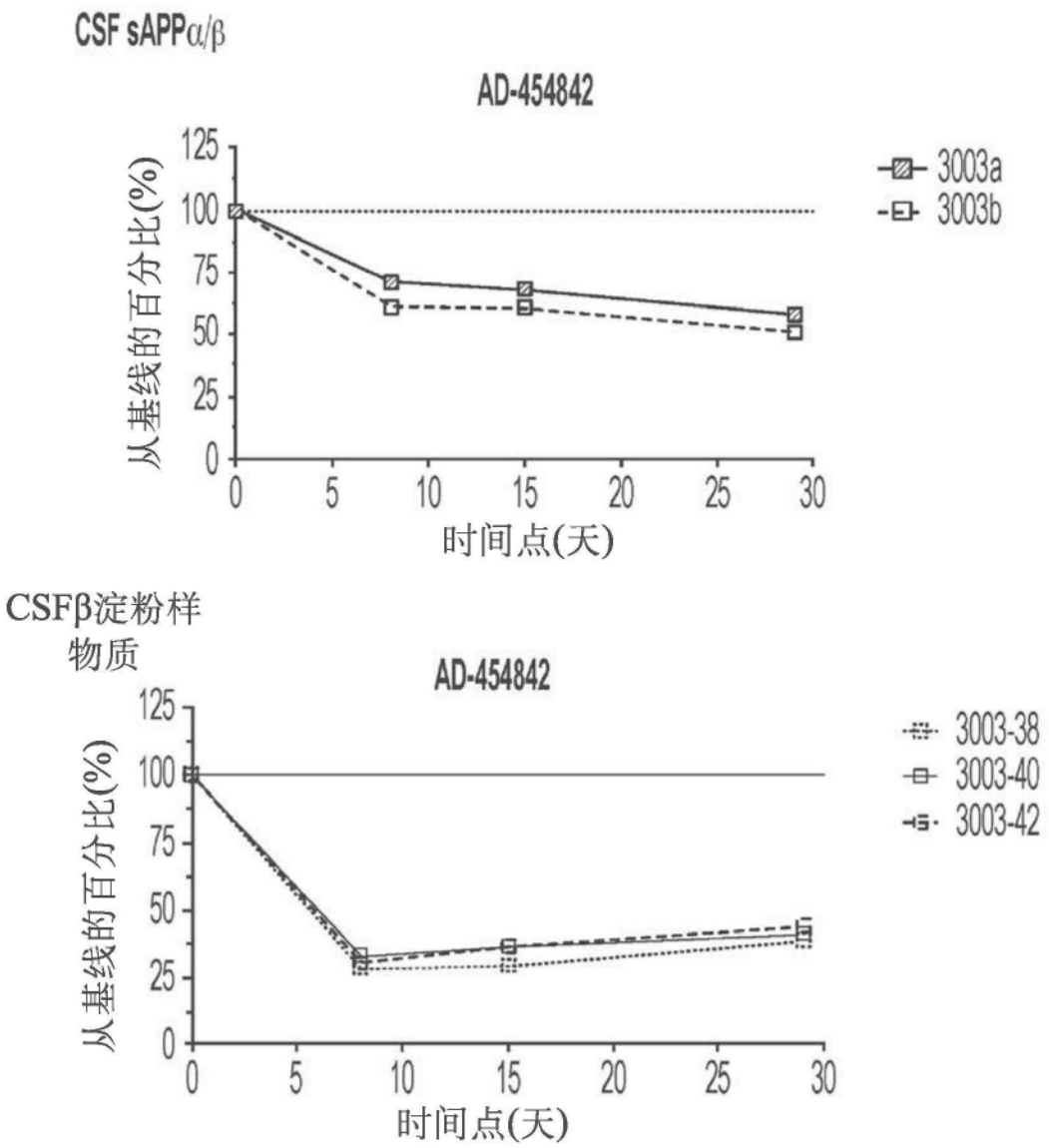
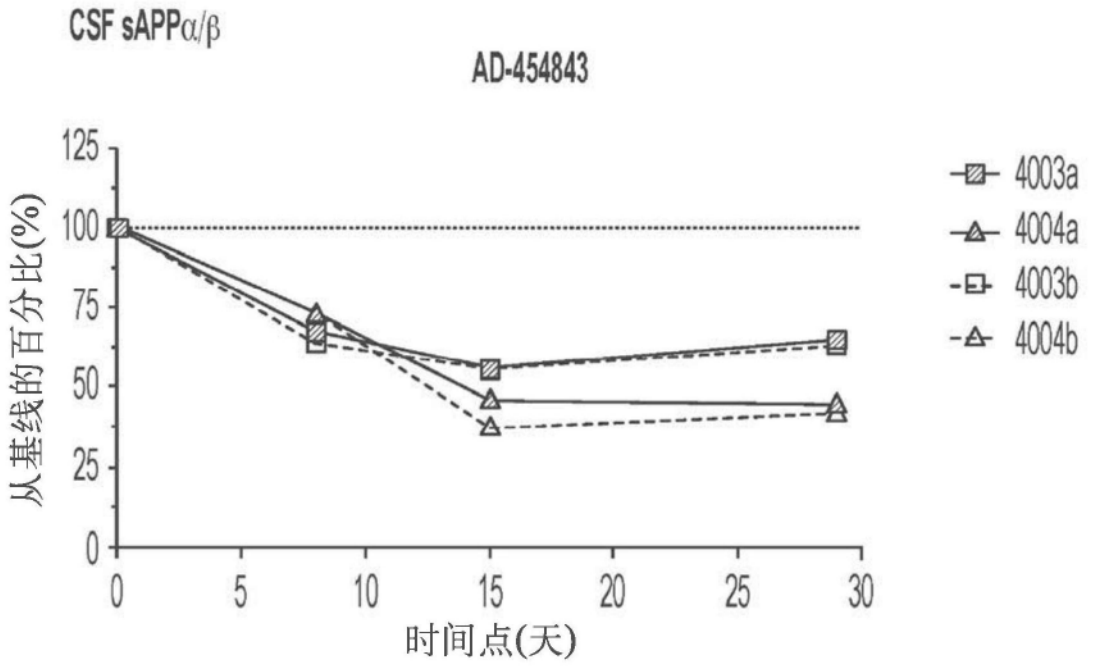

CSF sAPPα/β
AD-454842
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
3003a
3003b
CSFβ淀粉样物质
AD-454842
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
3003-38
3003-40
3003-42

图7A

组织siRNA

| 动物ID | 基质 | 最终的双链体(ng/g) |
|---|---|---|
| 3003 | 腰髓 | 30410 |
| 3003 | 颈髓 | 7839 |
| 3003 | 前额叶皮质 | 14631 |
| 3003 | 颞叶皮质 | 10408 |

图7B


CSF sAPPα/β
AD-454843
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
4003a
4004a
4003b
4004b

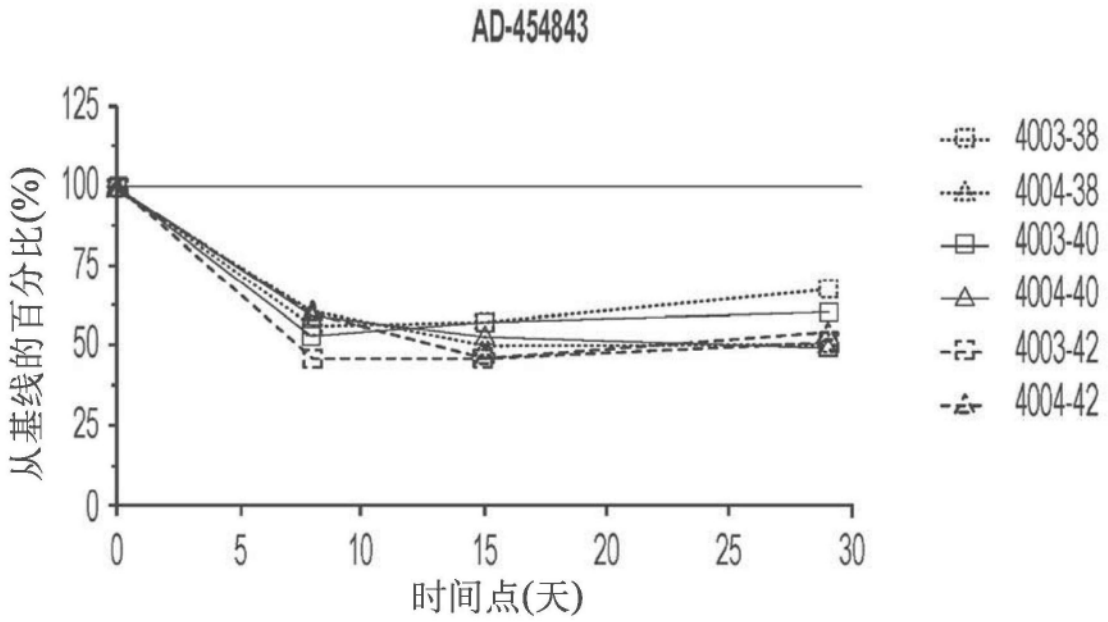

CSFβ淀粉样物质
AD-454843
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
4003-38
4004-38
4003-40
4004-40
4003-42
4004-42

图8A

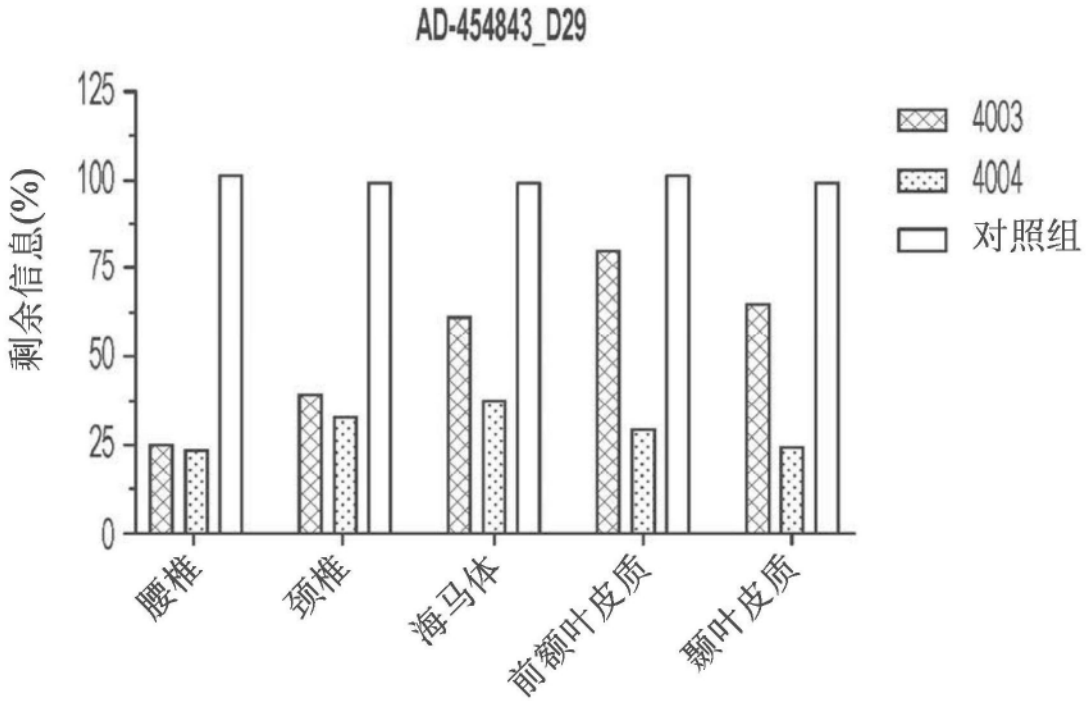



图8B

组织siRNA

| 动物ID | 基质 | 最终的双链体 (ng/g) |
|---|---|---|
| 4003 | 腰髓 | 8278 |
| 4004 | | 9686 |
| 4003 | 颈髓 | 4906 |
| 4004 | | 3408 |
| 4003 | 前额叶皮质 | 1910 |
| 4004 | | 6233 |
| 4003 | 颞叶皮质 | 950 |
| 4004 | | 6384 |

图8C

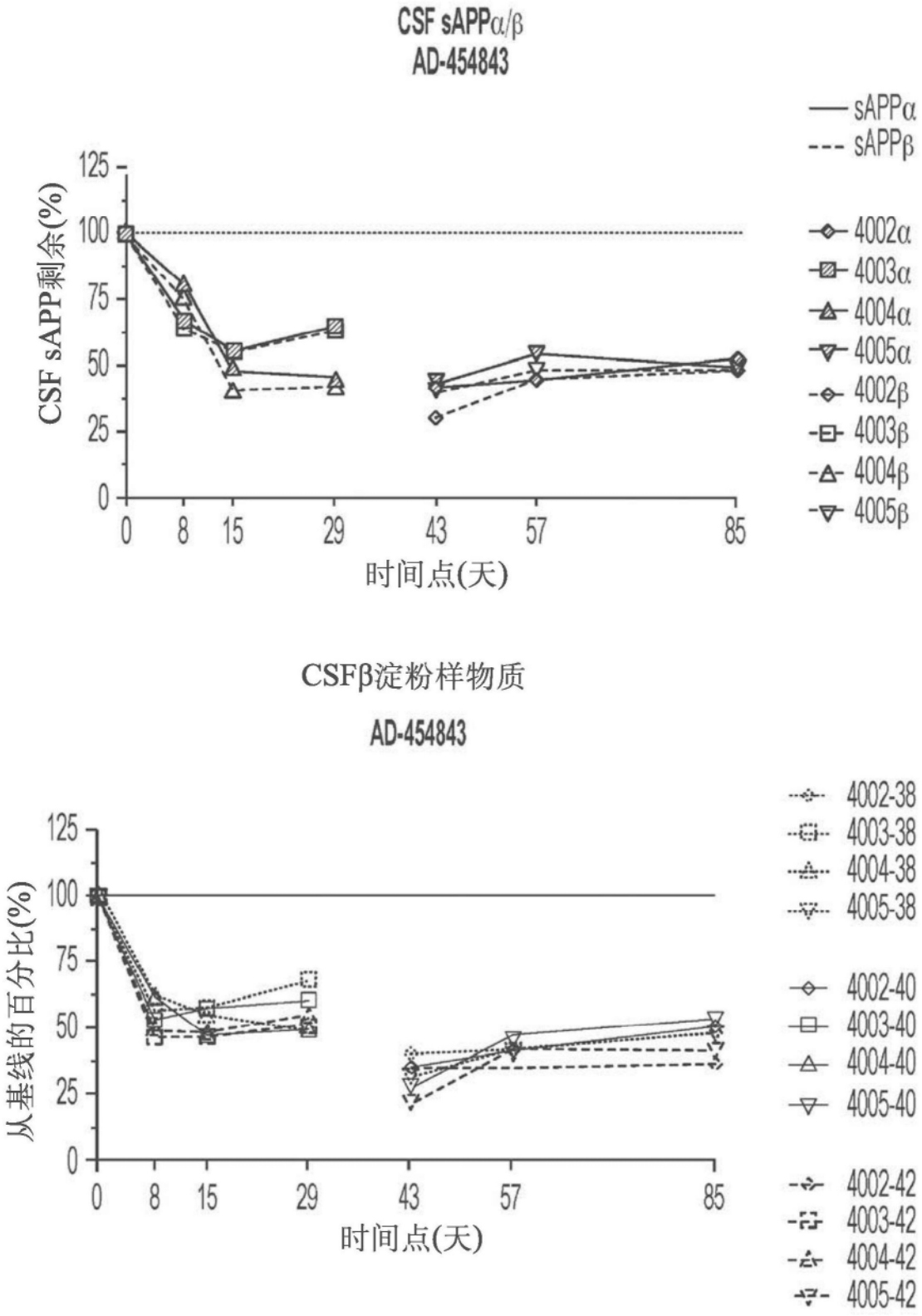

CSF sAPPα/β
AD-454843
sAPPα
sAPPβ
4002α
4003α
4004α
4005α
4002β
4003β
4004β
4005β
CSF sAPP剩余(%)
125
100
75
50
25
0
0
8
15
29
43
57
85
时间点(天)
CSFβ淀粉样物质
AD-454843
4002-38
4003-38
4004-38
4005-38
4002-40
4003-40
4004-40
4005-40
4002-42
4003-42
4004-42
4005-42
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
8
15
29
43
57
85
时间点(天)

图9A

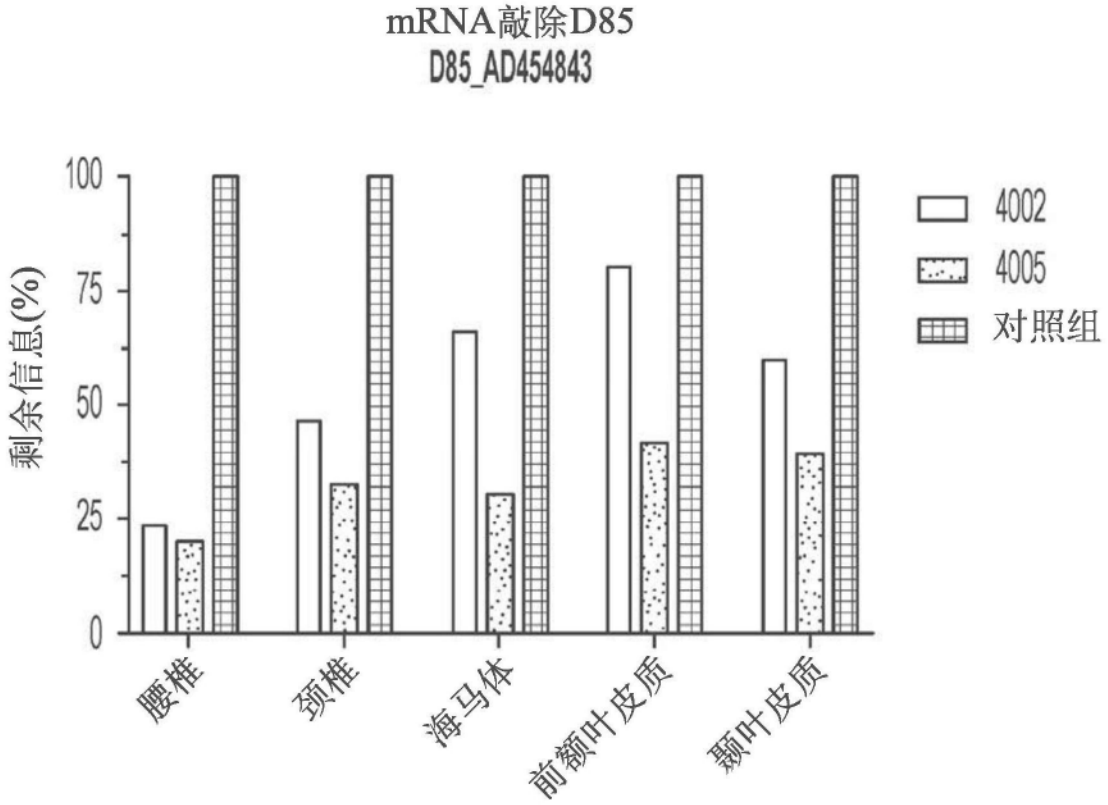

mRNA敲除D85
D85_AD454843
剩余信息(%)
100
75
50
25
0
腰椎
颈椎
海马体
前额叶皮质
颞叶皮质
4002
4005
对照组

图9B

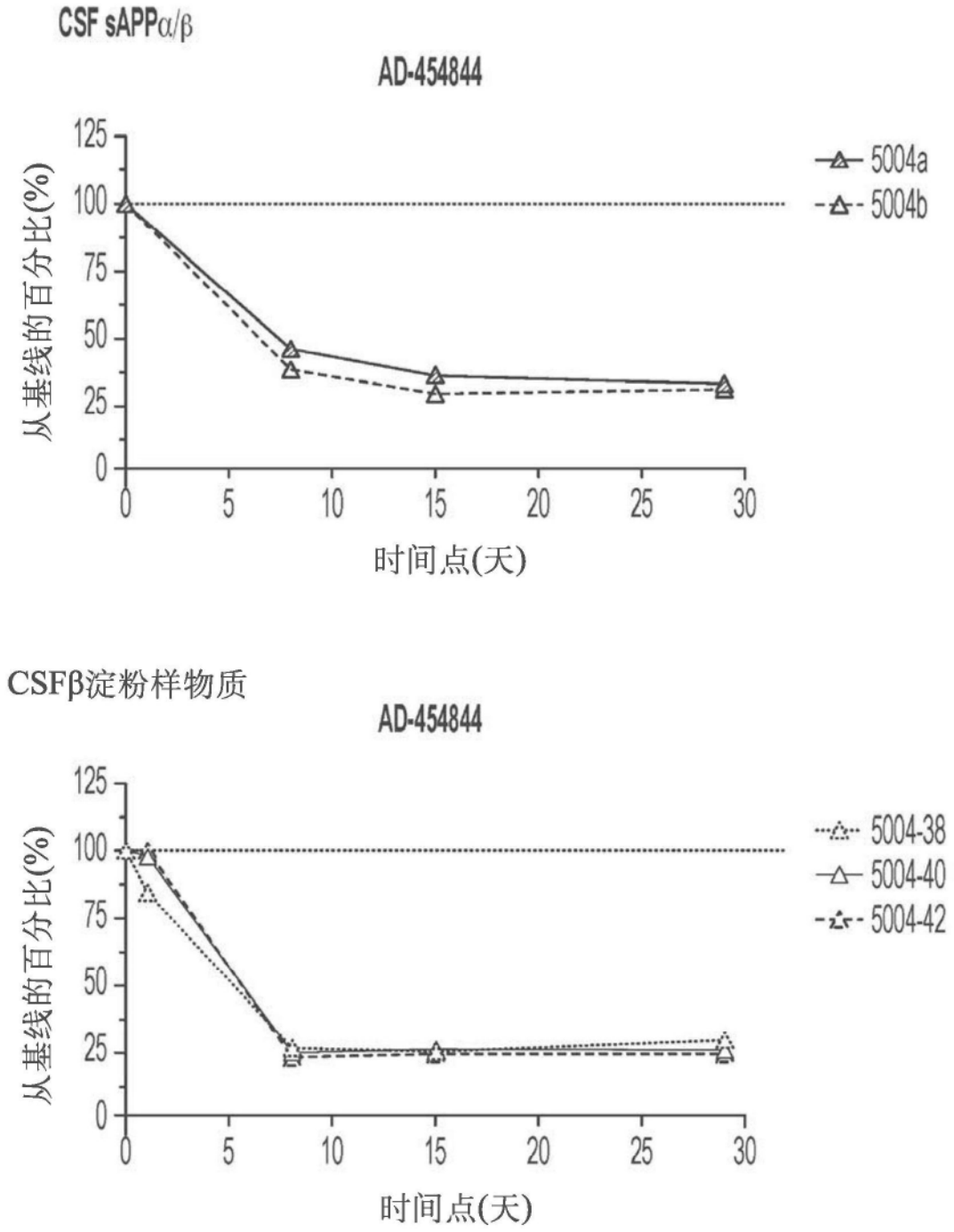

CSF sAPPα/β
AD-454844
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
5004a
5004b
CSFβ淀粉样物质
AD-454844
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
5004-38
5004-40
5004-42

图10A

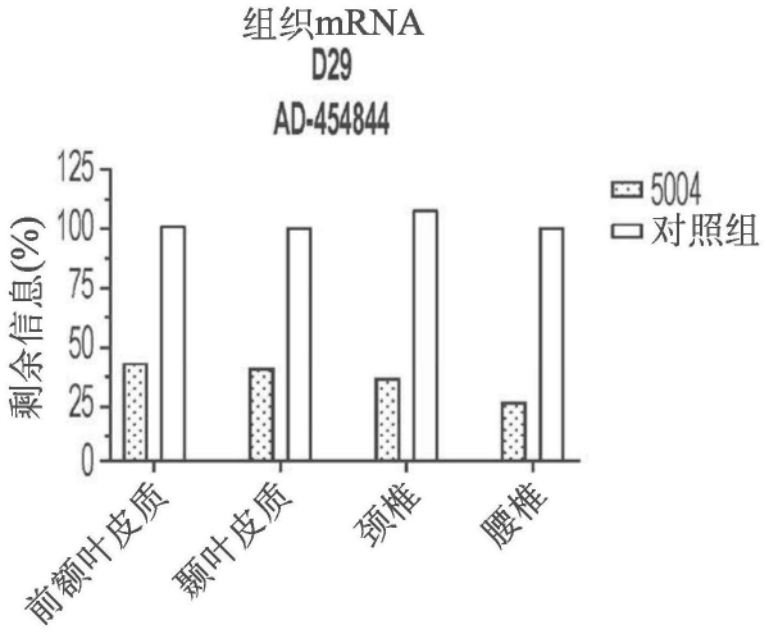
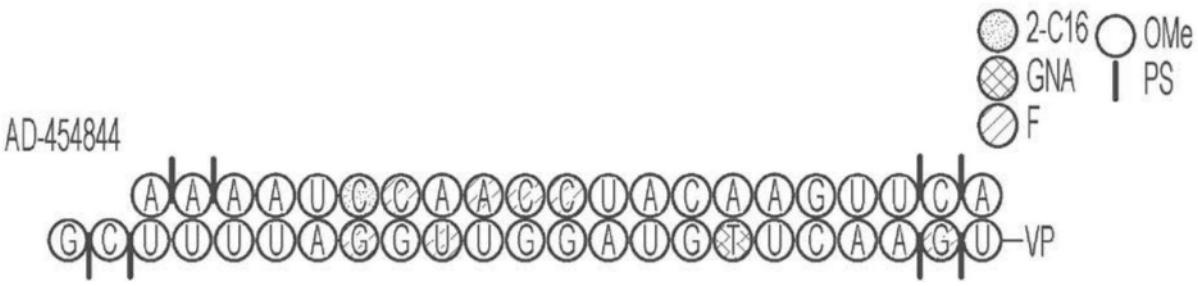



图10B




组织mRNA

| 动物ID | 基质 | 最终的双链体 (ng/g) |
|---|---|---|
| 5004 | 腰髓 | 10138 |
| 5004 | 颈髓 | 4672 |
| 5004 | 前额叶皮质 | 2779 |
| 5004 | 颞叶皮质 | 2662 |

图10C

| 基质 | 最终的双链体（μg/g） |
|---|---|
| 腰髓 | 25.6 |
| 颈髓 | 14.9 |
| 前额叶皮质 | 36.7 |
| 颞叶皮质 | 29.5 |

图11A

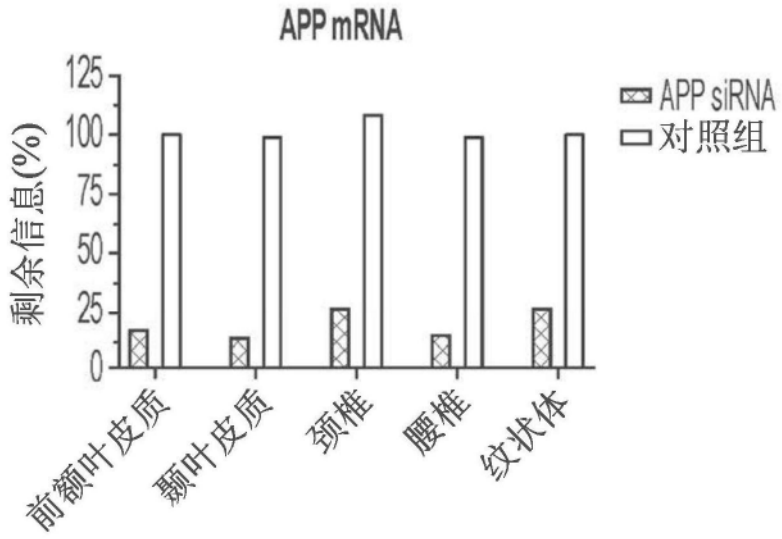



图11B

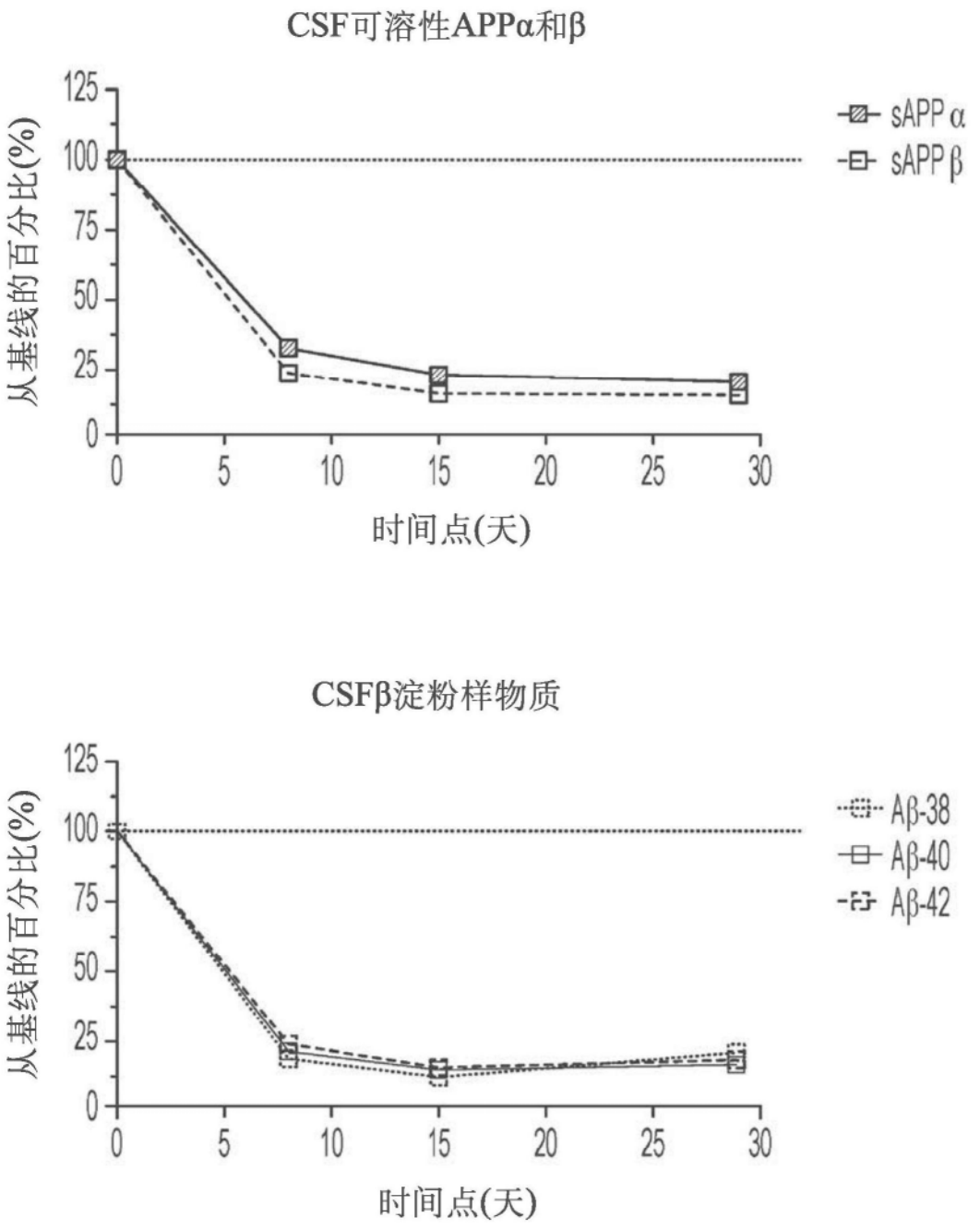

CSF可溶性APPα和β
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
sAPPα
sAPPβ
CSFβ淀粉样物质
从基线的百分比(%)
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
时间点(天)
Aβ-38
Aβ-40
Aβ-42

图11C

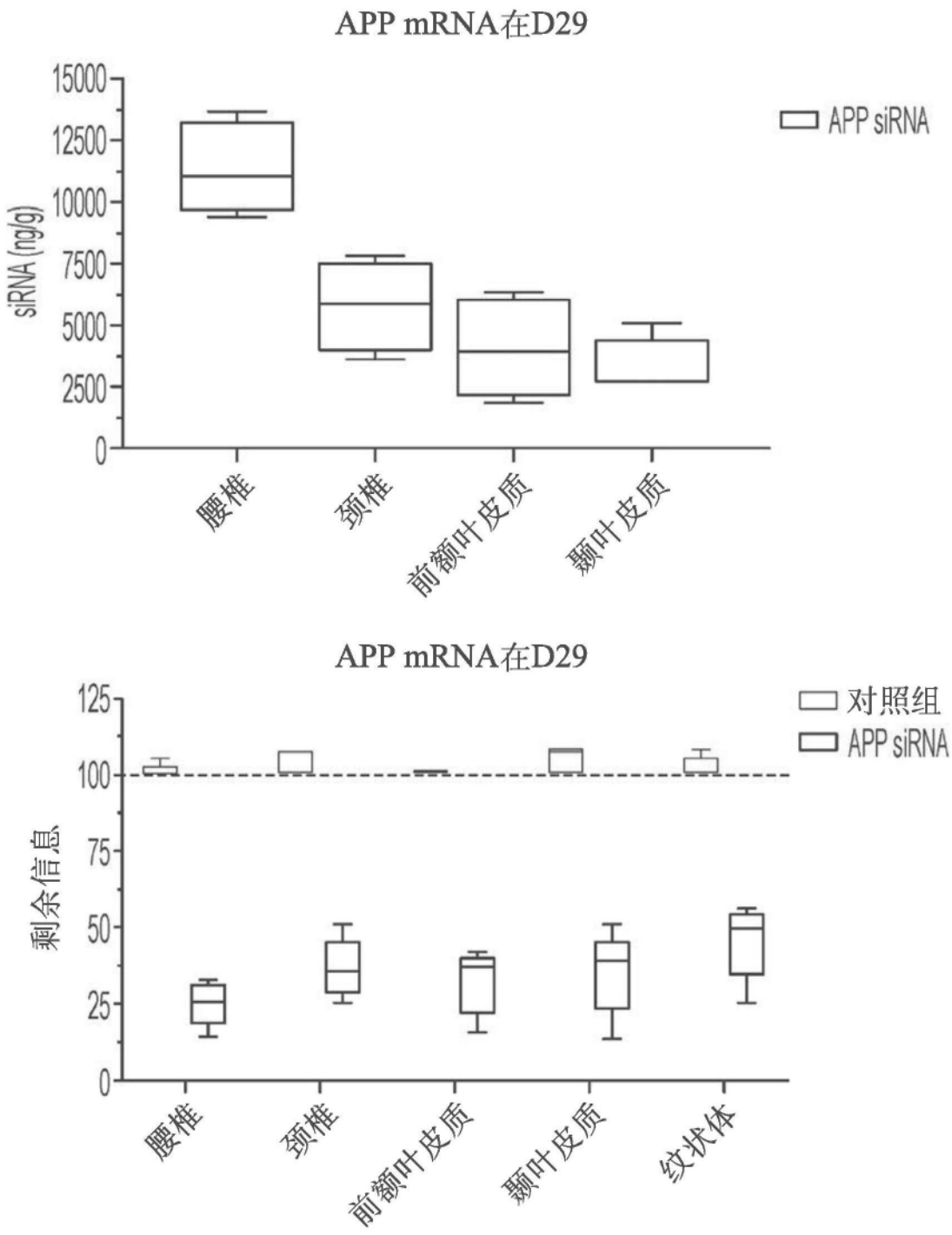

APP mRNA在D29
15000
12500
10000
7500
5000
2500
0
siRNA (ng/g)
APP siRNA
腰椎
颈椎
前额叶皮质
颞叶皮质
APP mRNA在D29
125
100
75
50
25
0
剩余信息
对照组
APP siRNA
腰椎
颈椎
前额叶皮质
颞叶皮质
纹状体

图12A

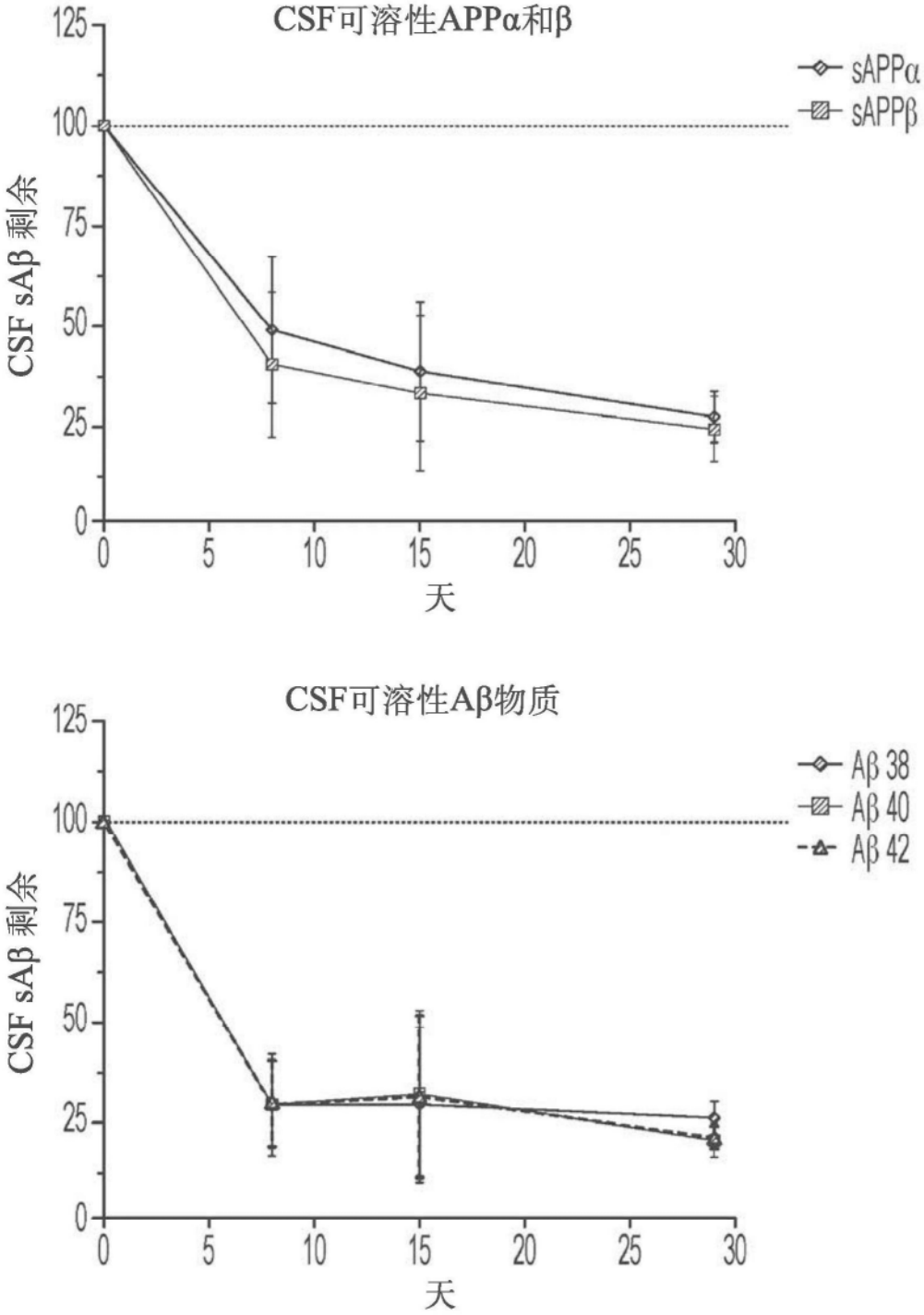

CSF可溶性APPα和β
sAPPα
sAPPβ
CSF sAβ 剩余
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
天
CSF可溶性Aβ物质
Aβ 38
Aβ 40
Aβ 42
CSF sAβ 剩余
125
100
75
50
25
0
0
5
10
15
20
25
30
天

图12B

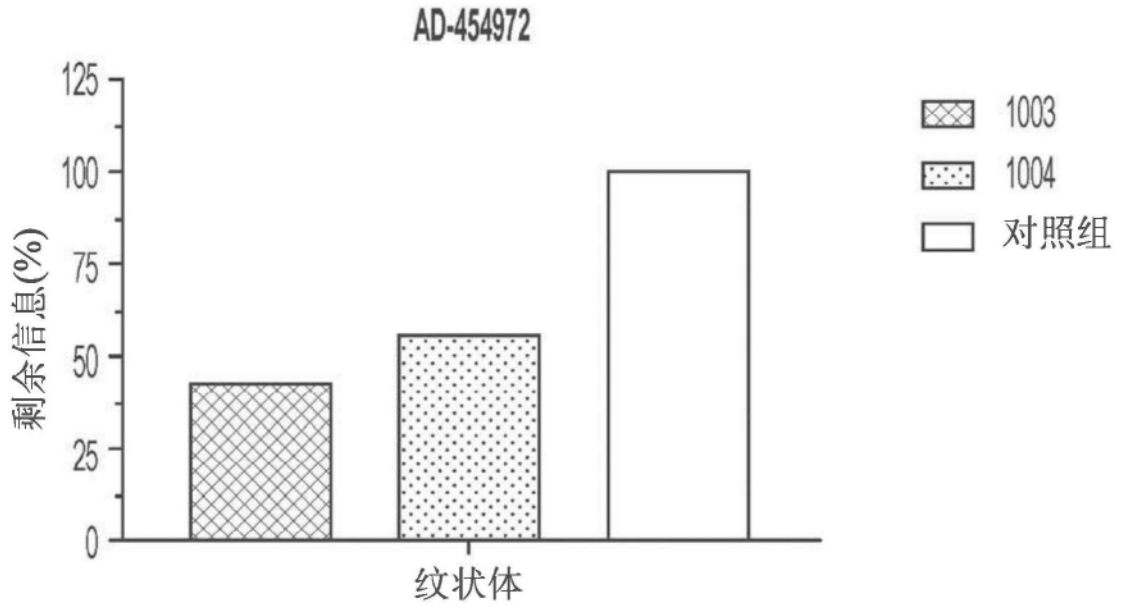

AD-454972
125
100
75
50
25
0
剩余信息(%)
纹状体
1003
1004
对照组

图13A

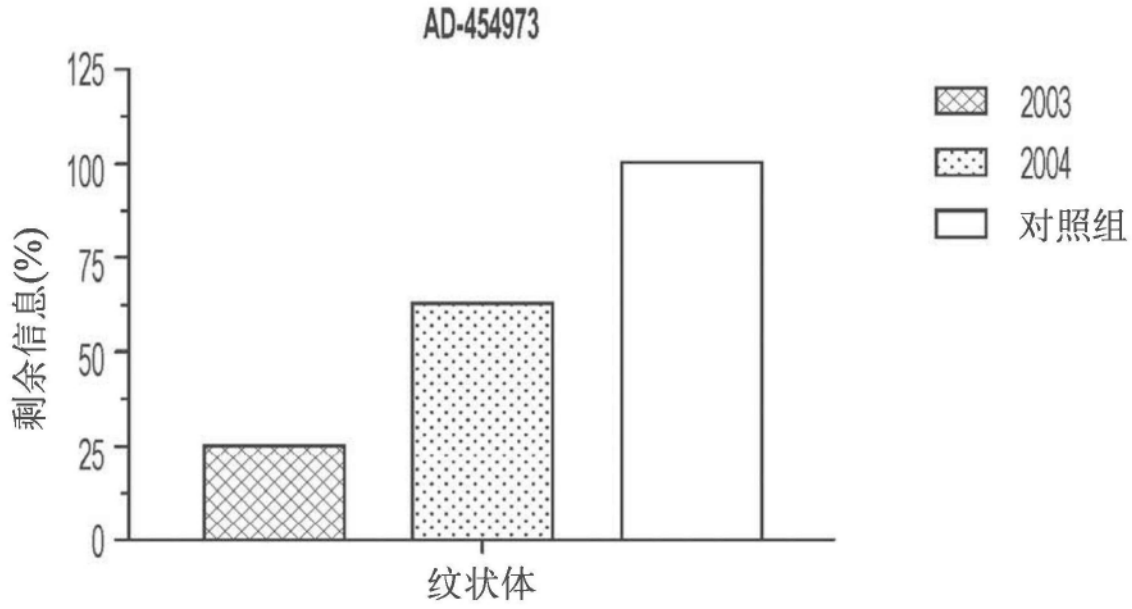

AD-454973
125
100
75
50
25
0
剩余信息(%)
纹状体
2003
2004
对照组

图13B

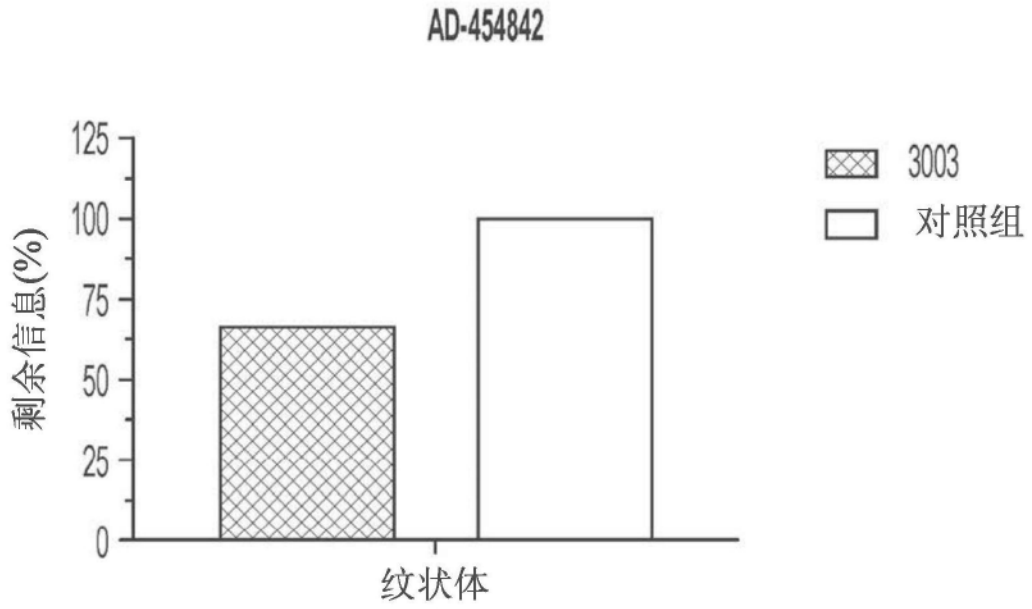

AD-454842
125
100
75
50
25
0
剩余信息(%)
纹状体
3003
对照组

图13C

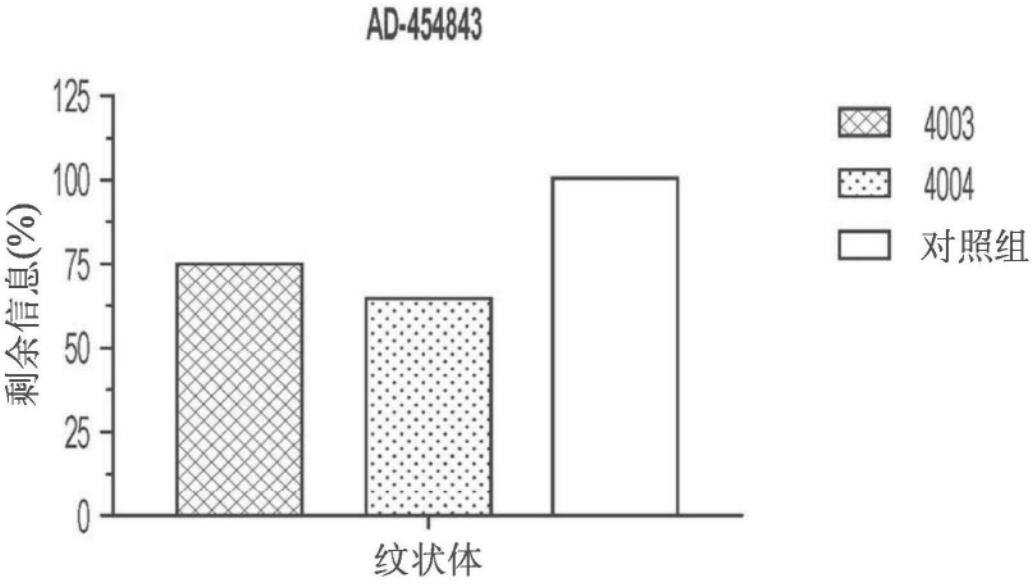

AD-454843
125
100
75
50
25
0
剩余信息(%)
纹状体
4003
4004
对照组

图13D

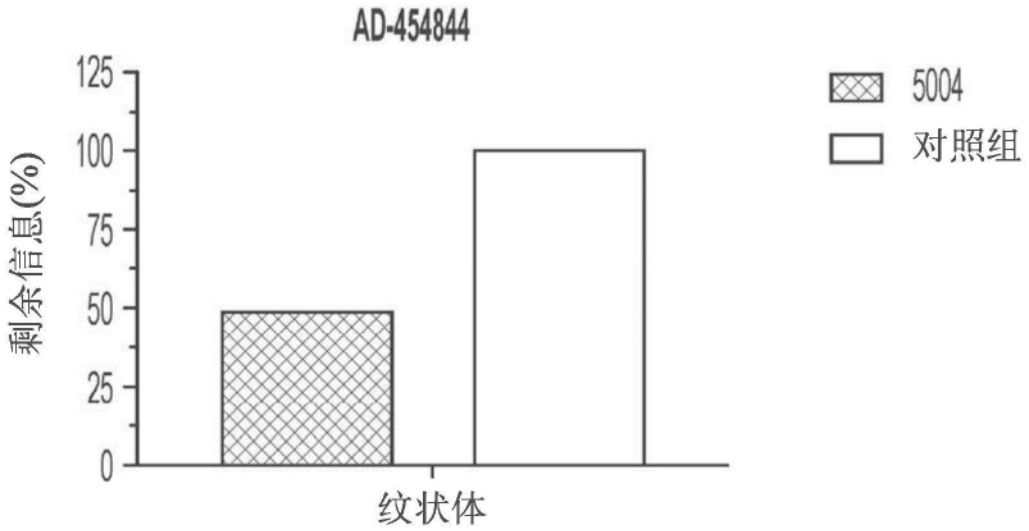



图13E

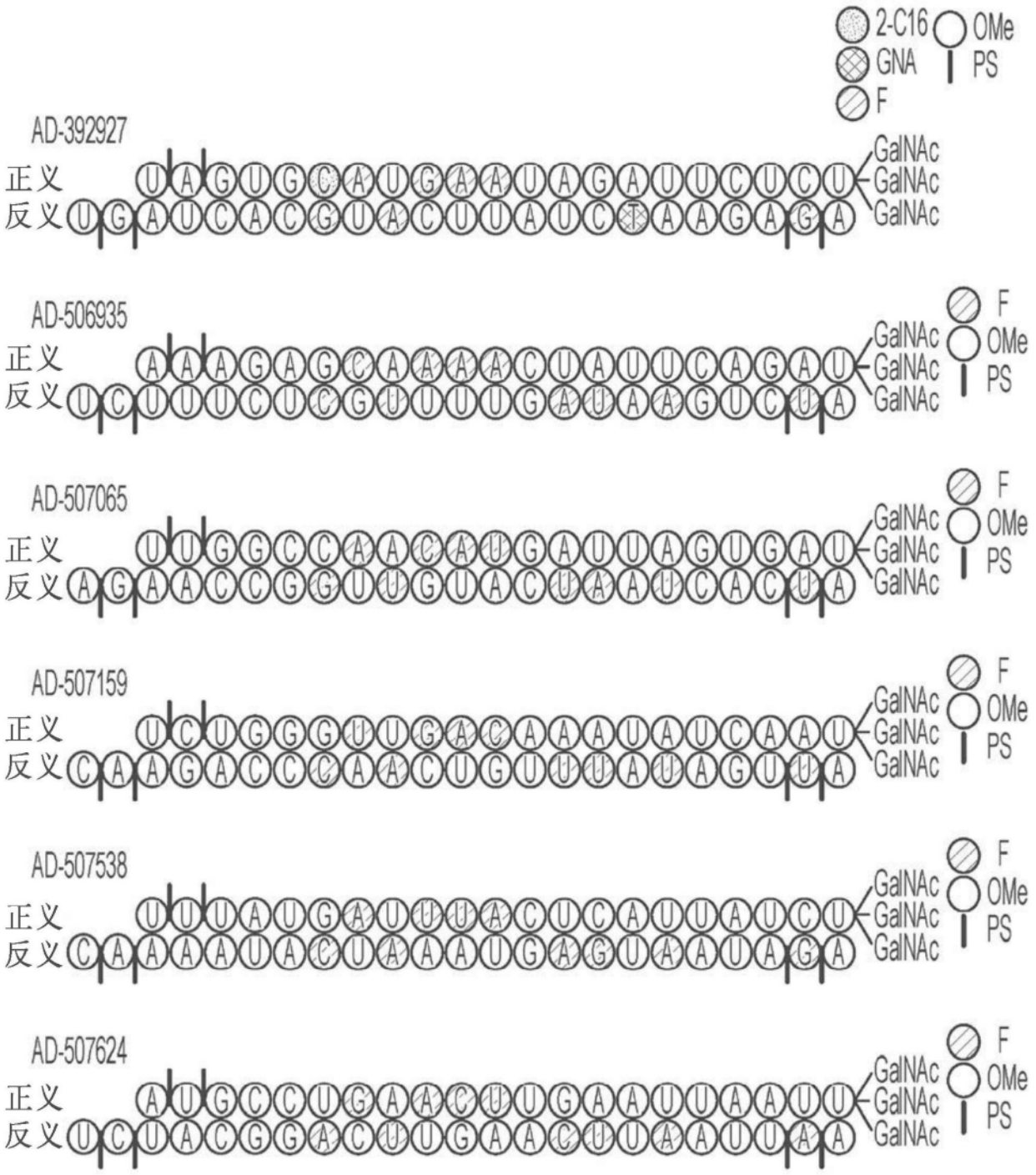

2-C16
OMe
GNA
PS
F
AD-392927
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
AD-506935
AD-507065
AD-507159
AD-507538
AD-507624

图14A

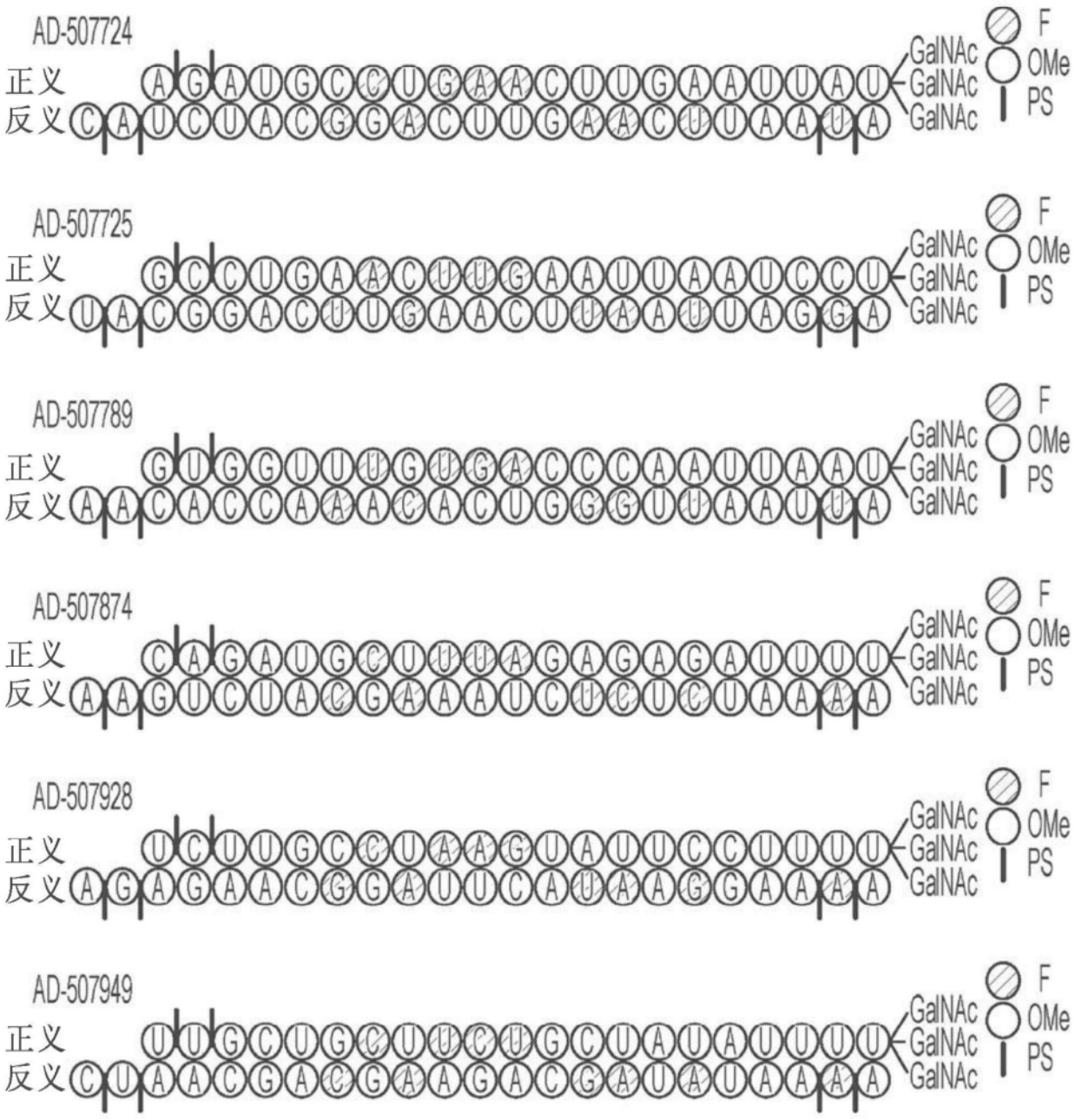

AD-507724
正义
反义
AGAUGCCUGAACUUGAAUUAU
CAUCUACGGACUUGAACUUAAUA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS
AD-507725
正义
反义
GCCUGAACUUGAAUUAAUCCU
UACGGACUUGAACUUAAUUAGGA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS
AD-507789
正义
反义
GUGGUUUGUGACCCAAUUAAU
AACACCAAACACUGGGUUAAUUA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS
AD-507874
正义
反义
CAGAUGCUUUAGAGAGAUUUU
AAGUCUACGAAAUCUCCUCUAAAA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS
AD-507928
正义
反义
UCUUGCCUAAGUAUUCCUUUU
AGAGAACGGAUUCAUAAGGAAAA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS
AD-507949
正义
反义
UUGCUGCUUCCUGCUAUAUUUU
CUAACGACGAAGACGAUAUAAAA
GalNAc
GalNAc
GalNAc
F
OMe
PS

图14B

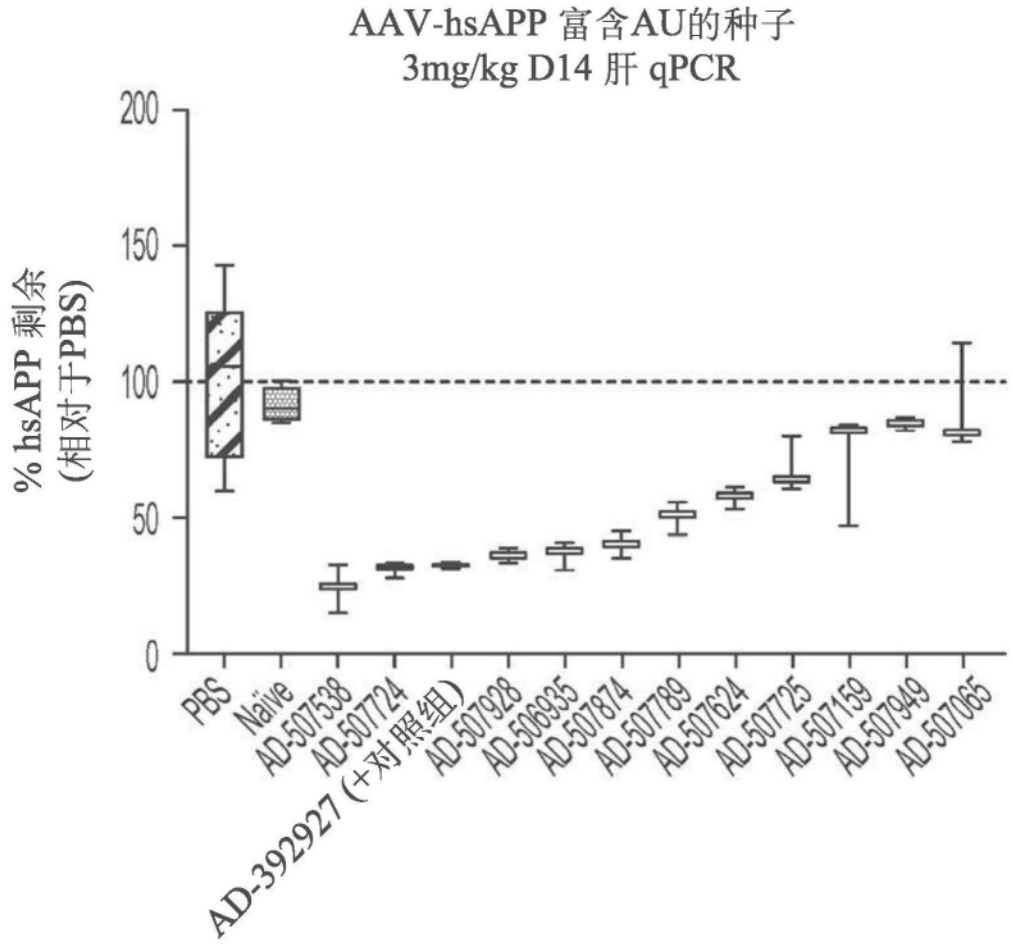

AAV-hsAPP 富含AU的种子
3mg/kg D14 肝 qPCR
% hsAPP 剩余
(相对于PBS)
200
150
100
50
0
PBS
Naïve
AD-507538
AD-507724
AD-392927 (+对照组)
AD-507928
AD-506935
AD-507874
AD-507789
AD-507624
AD-507725
AD-507159
AD-507949
AD-507065

图15

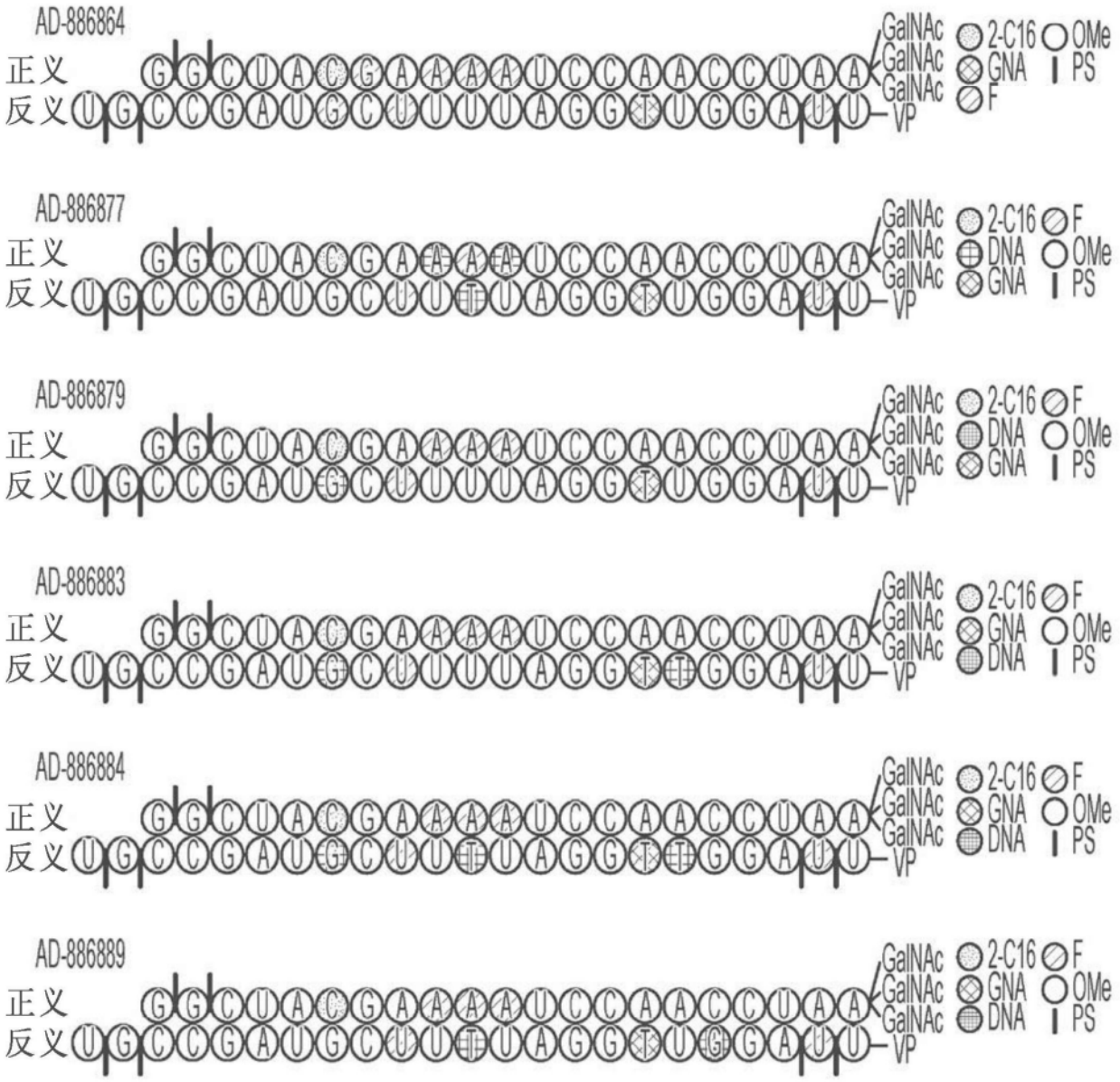

AD-886864
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
OMe
GNA
PS
F
AD-886877
AD-886879
AD-886883
AD-886884
AD-886889
DNA

图16A

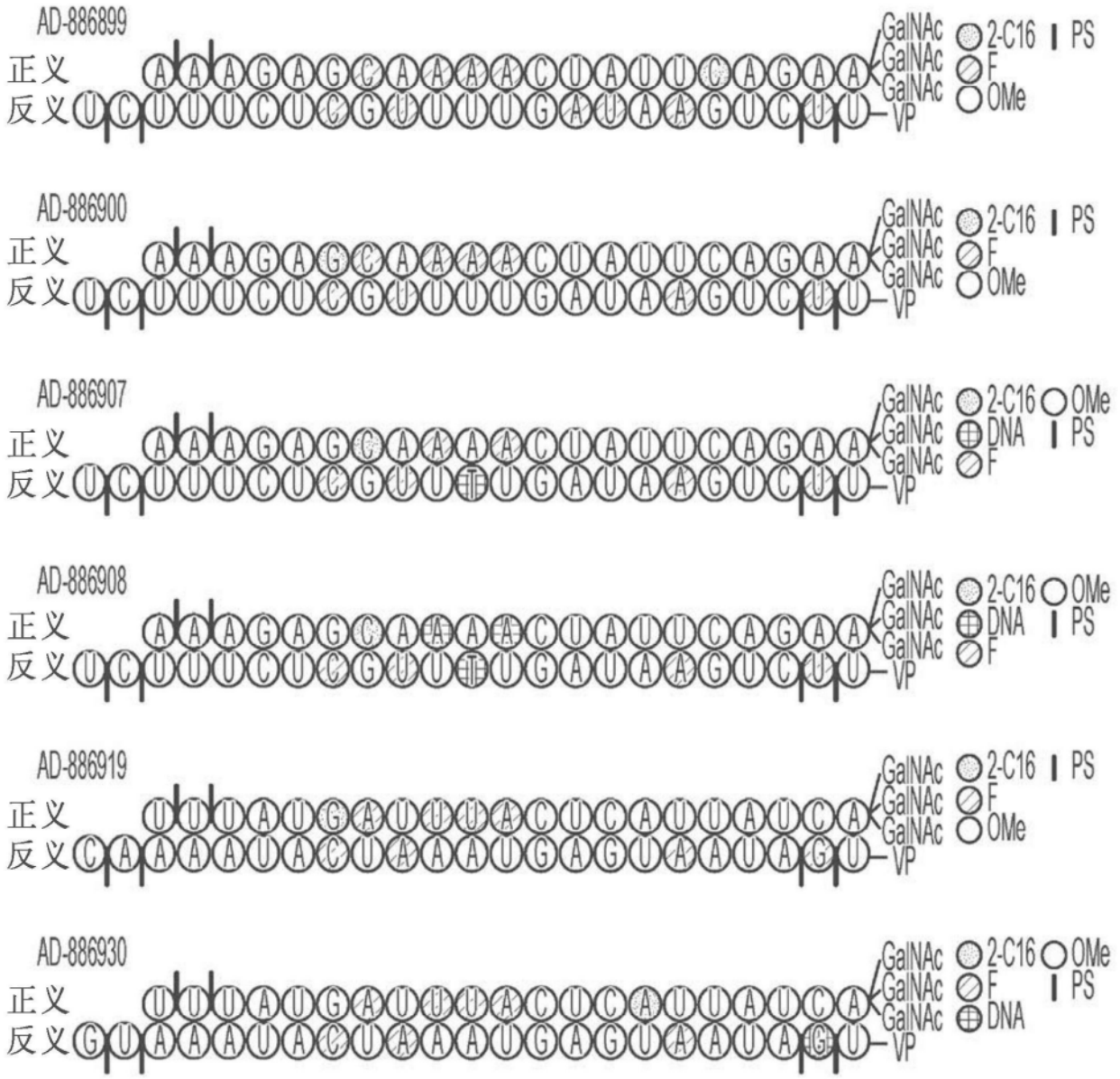

AD-886899
正义
反义
AD-886900
正义
反义
AD-886907
正义
反义
AD-886908
正义
反义
AD-886919
正义
反义
AD-886930
正义
反义
GalNAc
2-C16
PS
F
OMe
DNA
VP

图16B

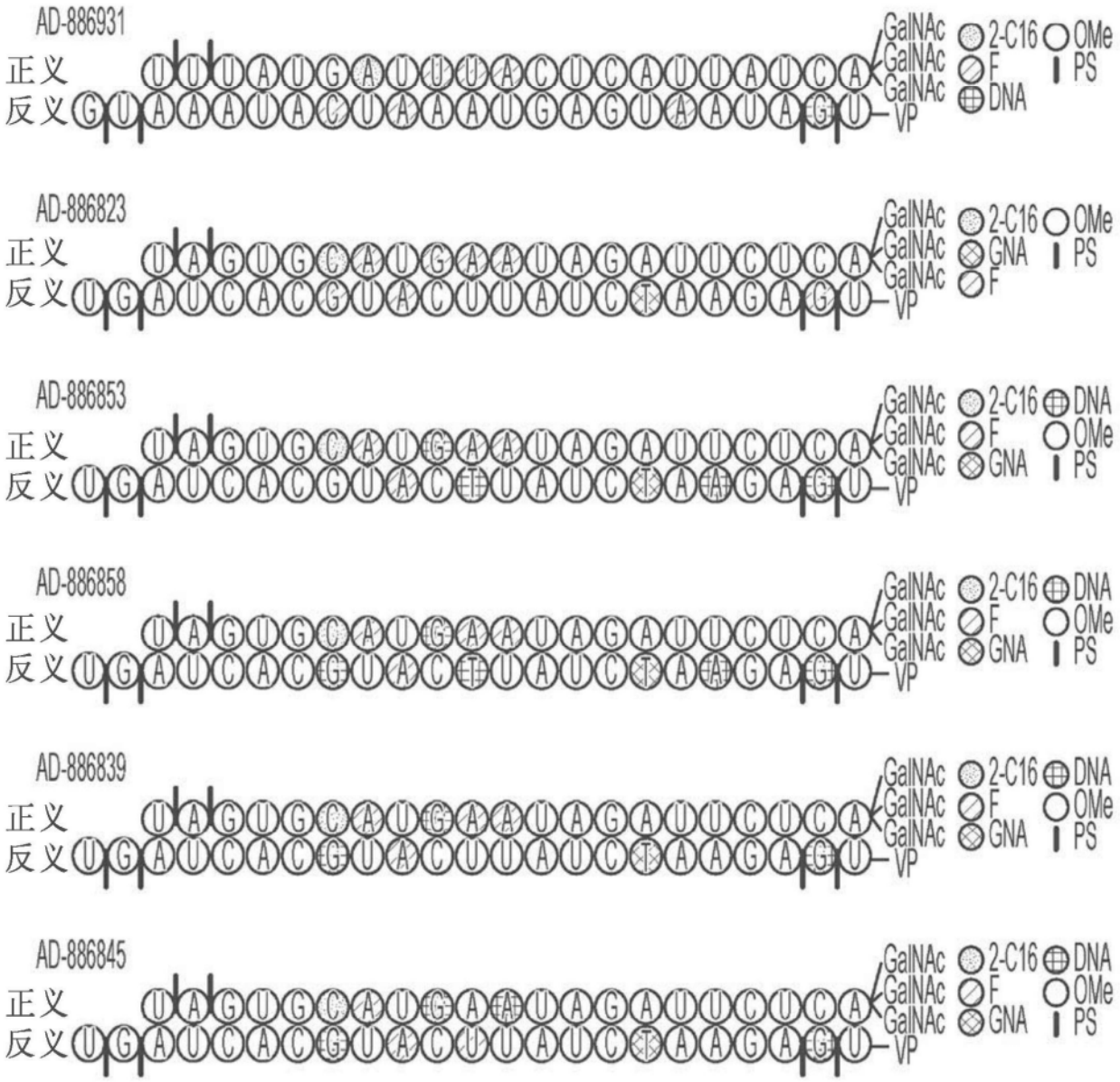

AD-886931
正义
反义
AD-886823
正义
反义
AD-886853
正义
反义
AD-886858
正义
反义
AD-886839
正义
反义
AD-886845
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
GNA
DNA
OMe
PS

图16C

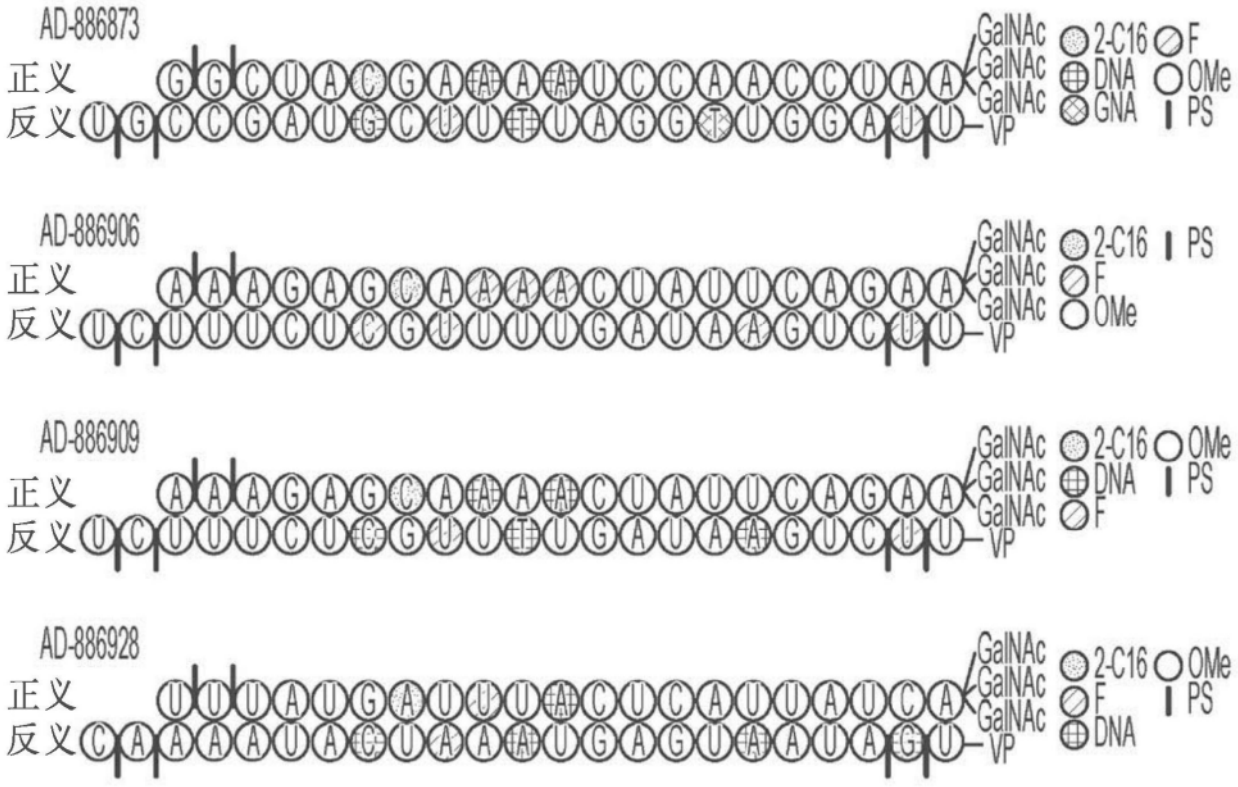

AD-886873
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
DNA
GNA
F
OMe
PS
AD-886906
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
OMe
PS
AD-886909
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
DNA
F
OMe
PS
AD-886928
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
DNA
OMe
PS

图16D

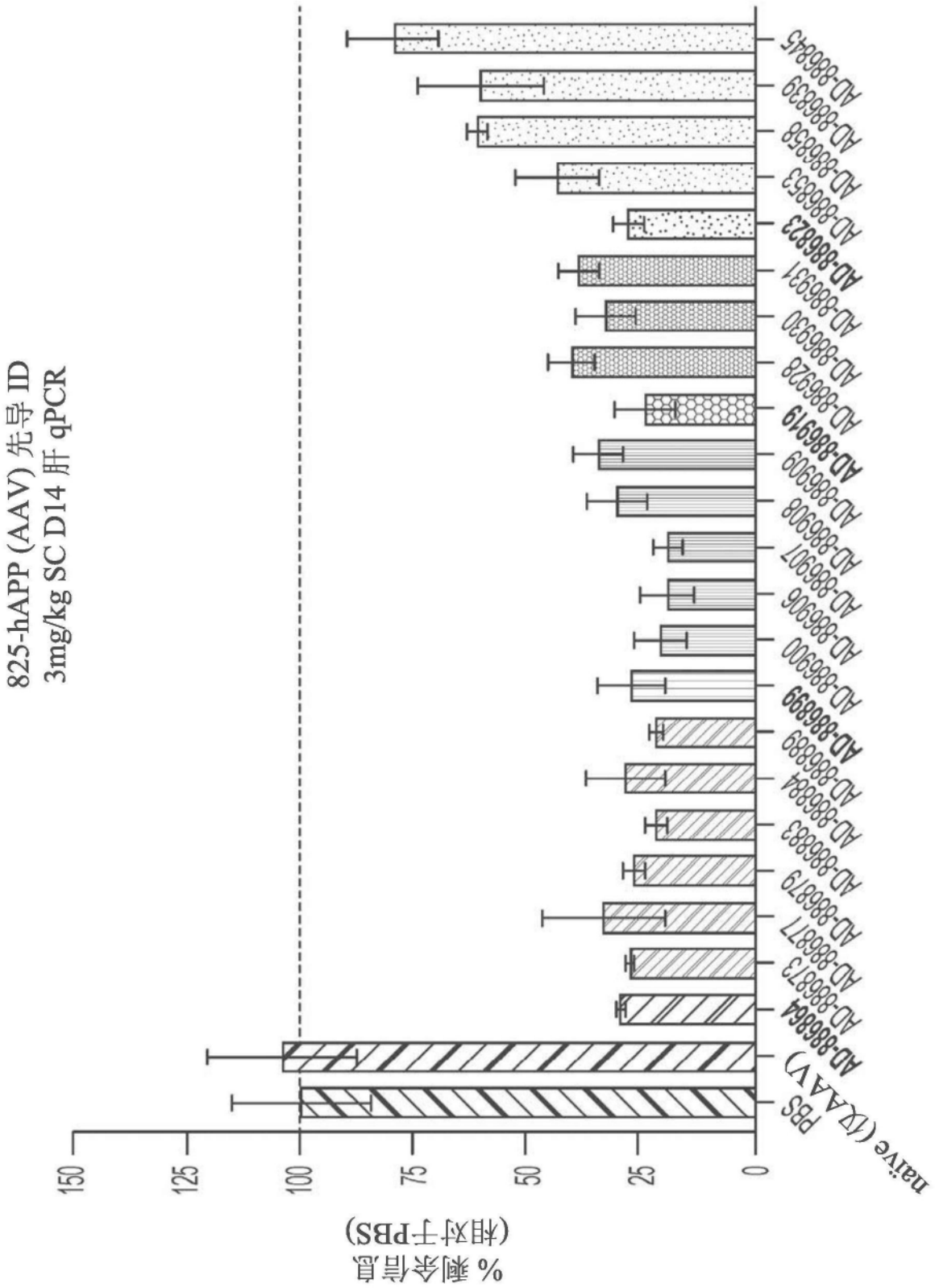

825-hAPP (AAV) 先导 ID
3mg/kg SC D14 肝 qPCR
% 剩余信息
(相对于PBS)
150
125
100
75
50
25
0
naive (仅AAV)
PBS
AD-886864
AD-886873
AD-886877
AD-886879
AD-886883
AD-886884
AD-886889
AD-886899
AD-886900
AD-886906
AD-886907
AD-886908
AD-886909
AD-886919
AD-886928
AD-886930
AD-886931
AD-886823
AD-886853
AD-886858
AD-886859
AD-886845

图17A

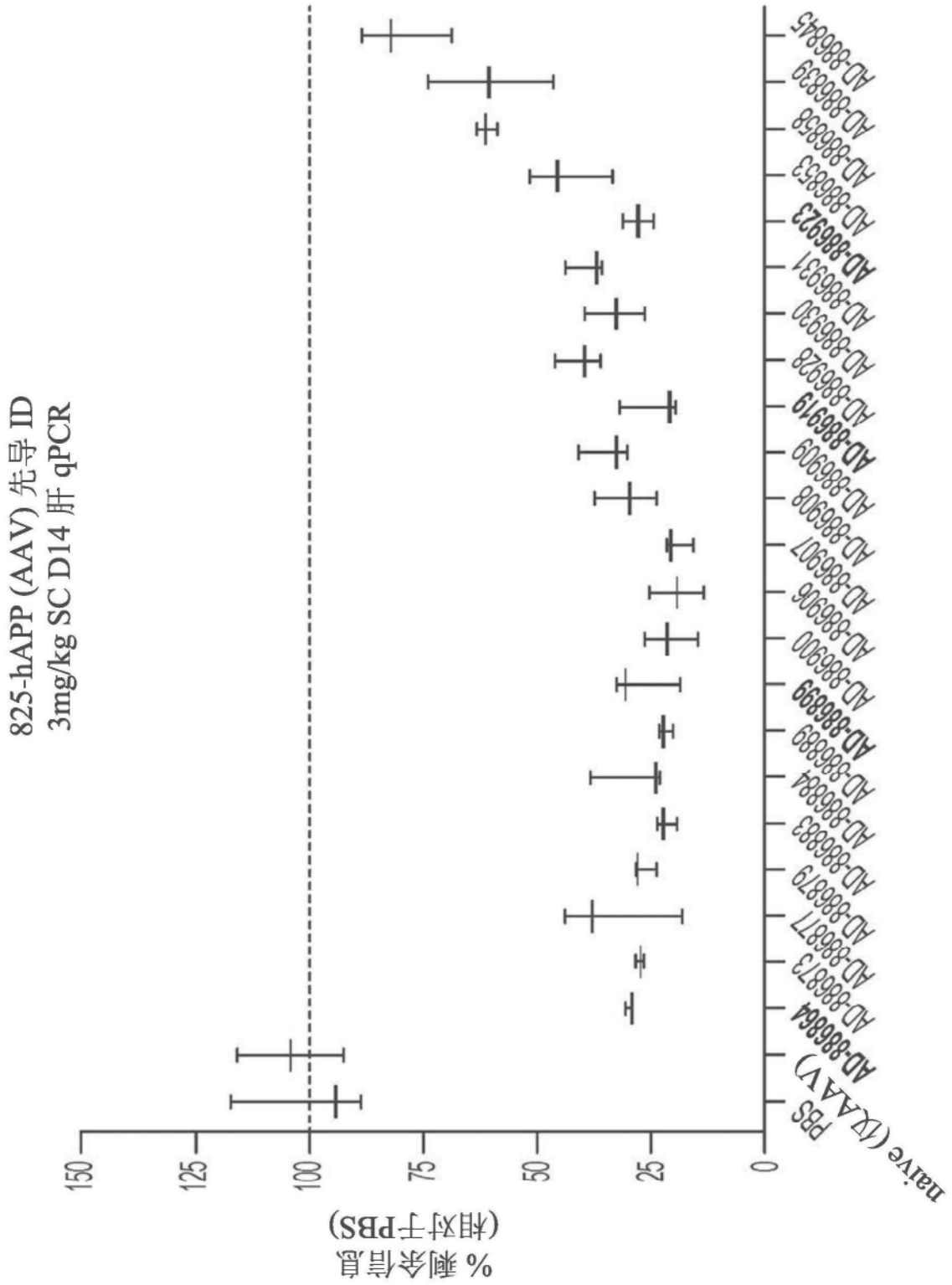

825-hAPP (AAV) 先导 ID
3mg/kg SC D14 肝 qPCR
% 剩余信息
(相对于PBS)
150
125
100
75
50
25
0
naive (仅AAV)
PBS
AD-886864
AD-886873
AD-886877
AD-886879
AD-886883
AD-886884
AD-886889
AD-886899
AD-886900
AD-886906
AD-886907
AD-886908
AD-886909
AD-886919
AD-886928
AD-886930
AD-886931
AD-886923
AD-886953
AD-886958
AD-886839
AD-886845

图17B

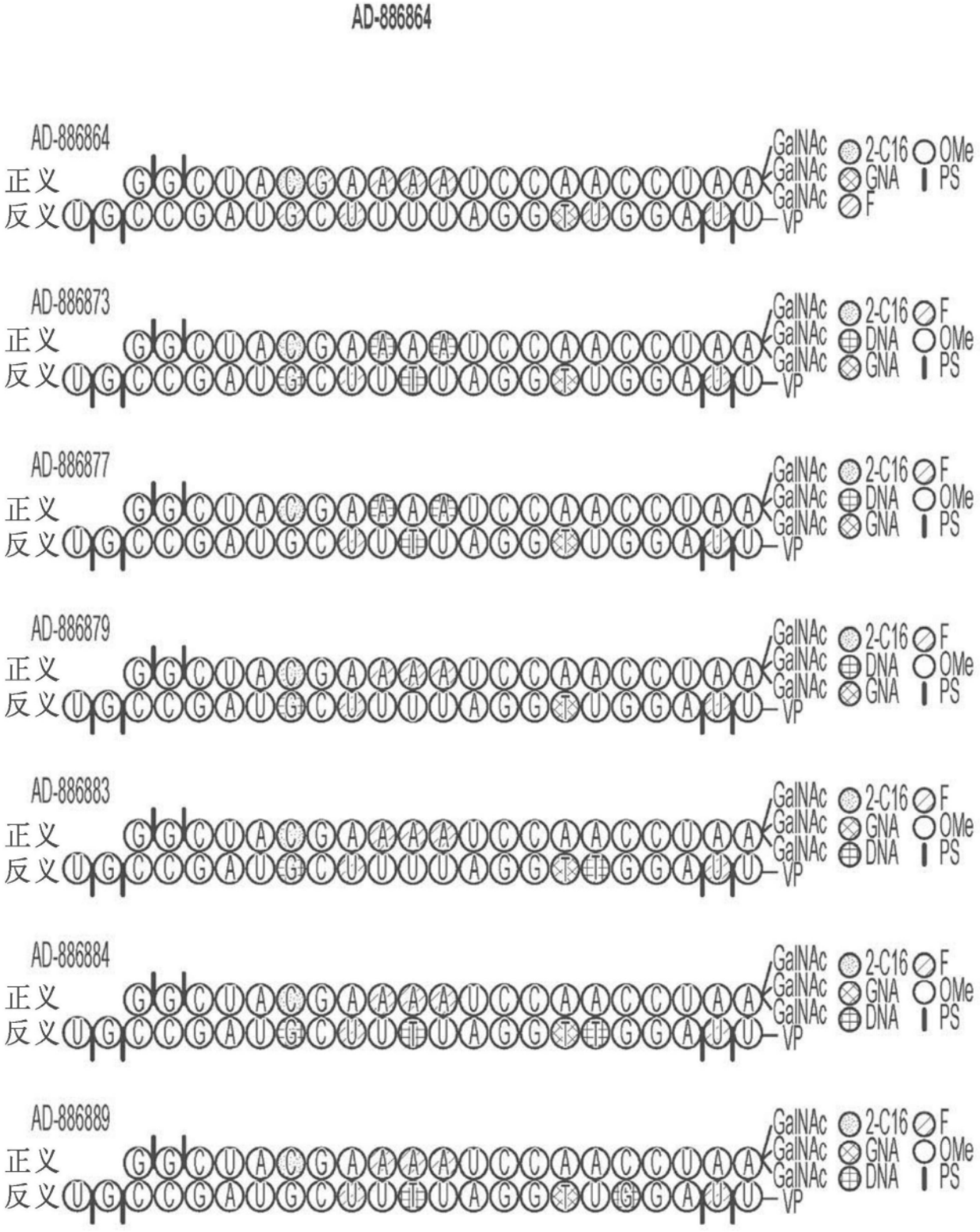

AD-886864
AD-886864
正义
反义
GaINAc
GaINAc
GaINAc
VP
2-C16
GNA
F
OMe
PS
AD-886873
AD-886877
AD-886879
AD-886883
AD-886884
AD-886889
DNA

图18A

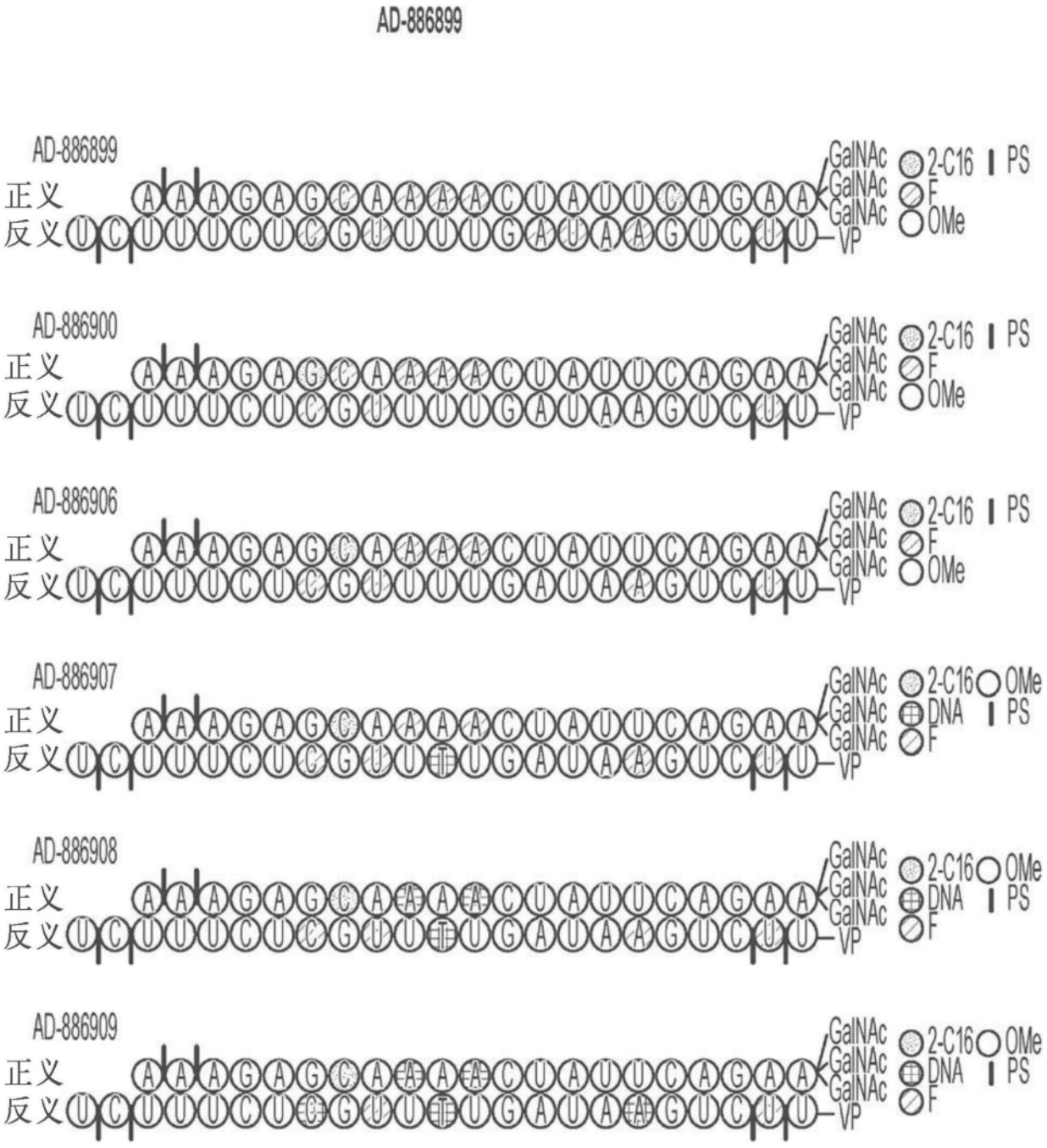

AD-886899
AD-886899
正义
反义
AD-886900
AD-886906
AD-886907
AD-886908
AD-886909
GalNAc
2-C16
PS
F
OMe
DNA
VP

图18B

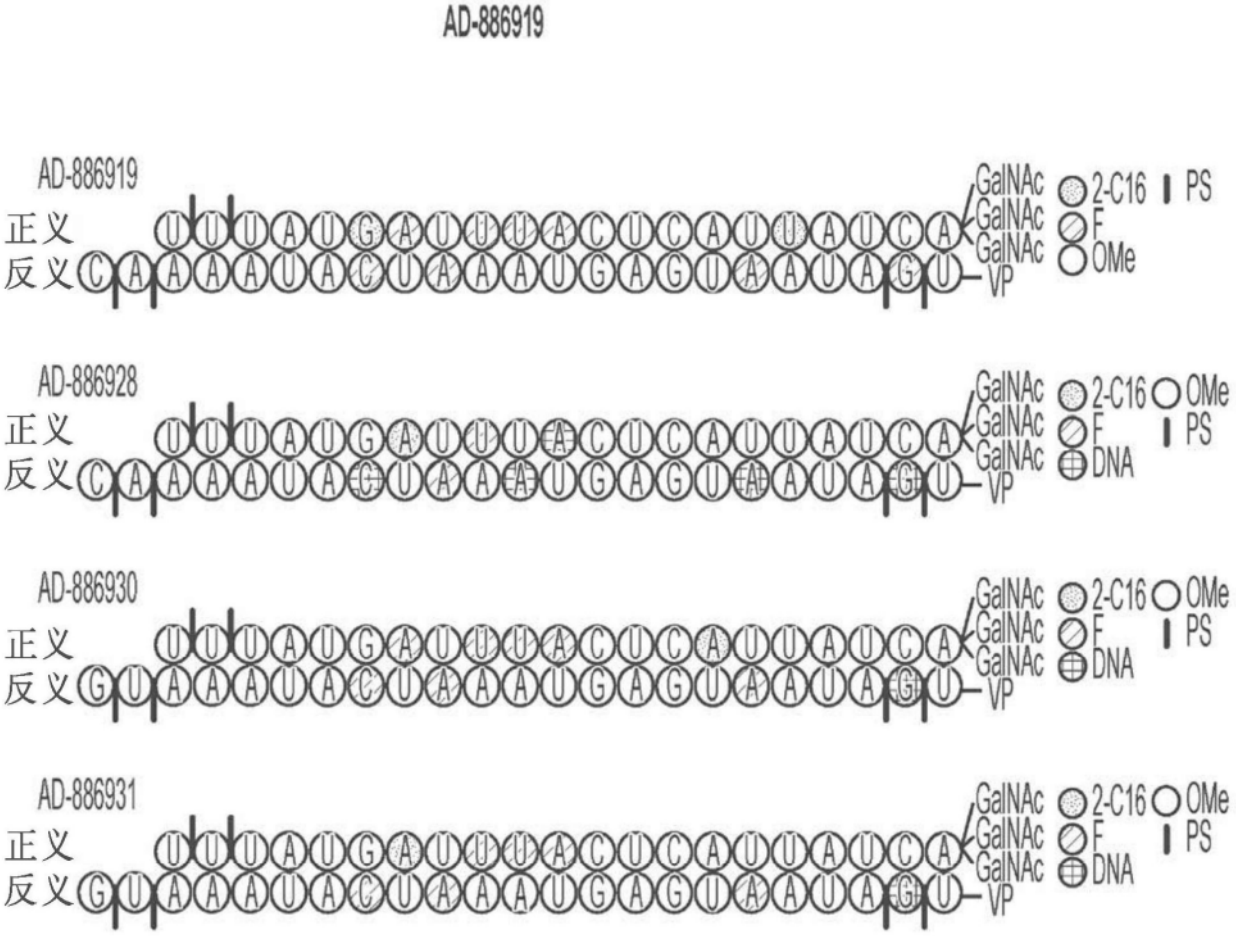

AD-886919
AD-886919
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
OMe
PS
AD-886928
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
DNA
OMe
PS
AD-886930
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
DNA
OMe
PS
AD-886931
正义
反义
GalNAc
GalNAc
GalNAc
VP
2-C16
F
DNA
OMe
PS

图18C

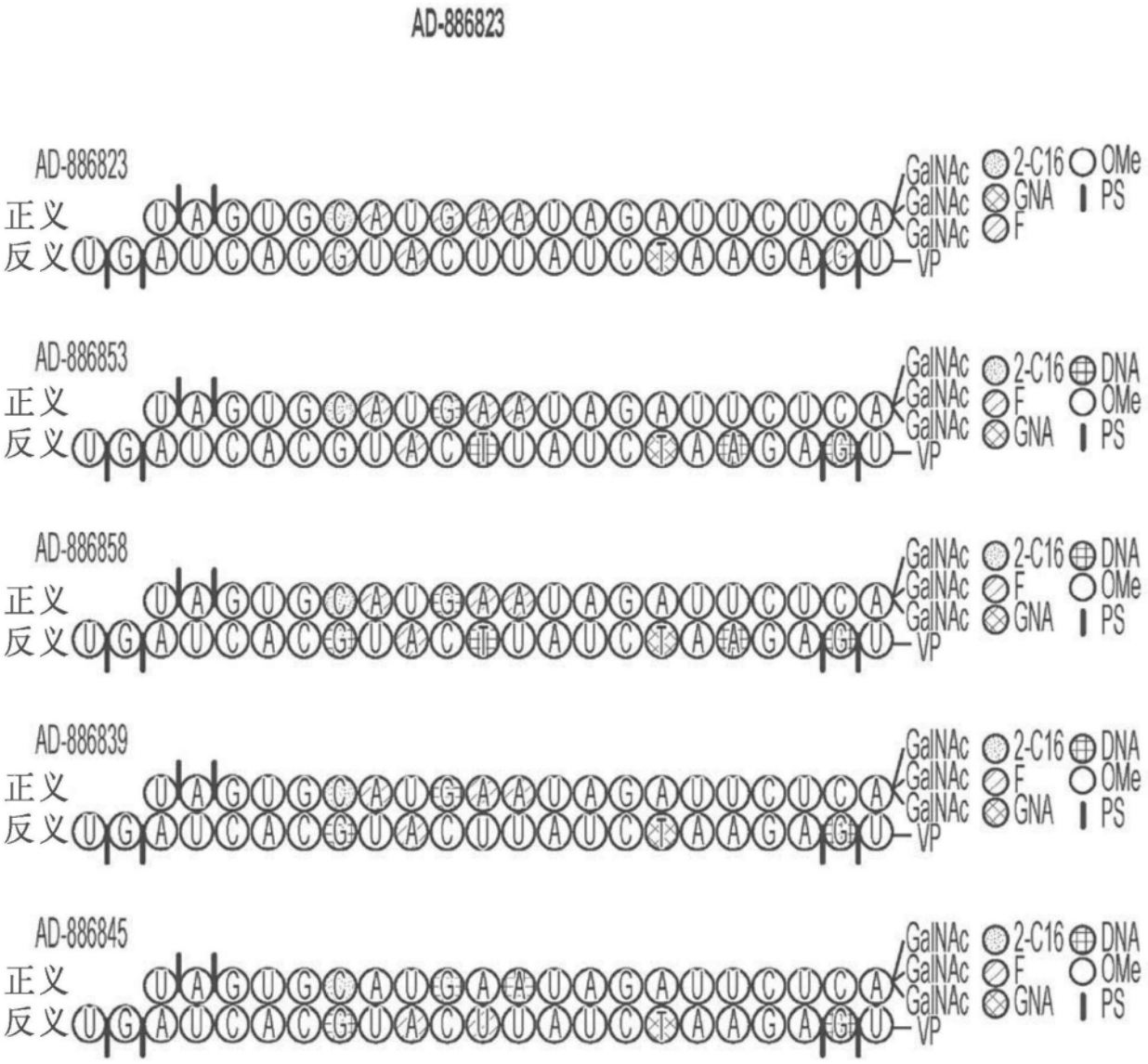

AD-886823
AD-886823
正义
反义
AD-886853
AD-886858
AD-886839
AD-886845
GalNAc
2-C16
OMe
GNA
PS
F
DNA
VP

图18D

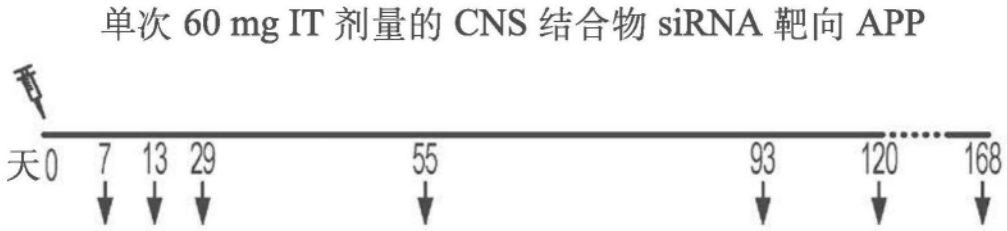

单次 60 mg IT 剂量的 CNS 结合物 siRNA 靶向 APP
天0
7
13
29
55
93
120
168

图19

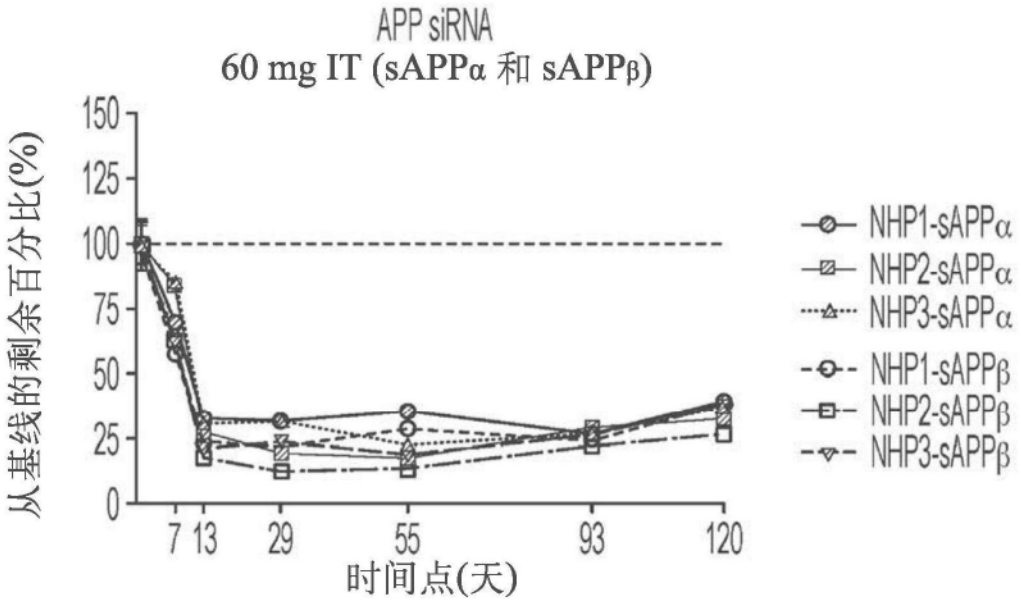

APP siRNA
60 mg IT (sAPPα 和 sAPPβ)
从基线的剩余百分比(%)
150
125
100
75
50
25
0
7 13 29 55 93 120
时间点(天)
NHP1-sAPPα
NHP2-sAPPα
NHP3-sAPPα
NHP1-sAPPβ
NHP2-sAPPβ
NHP3-sAPPβ

图20A

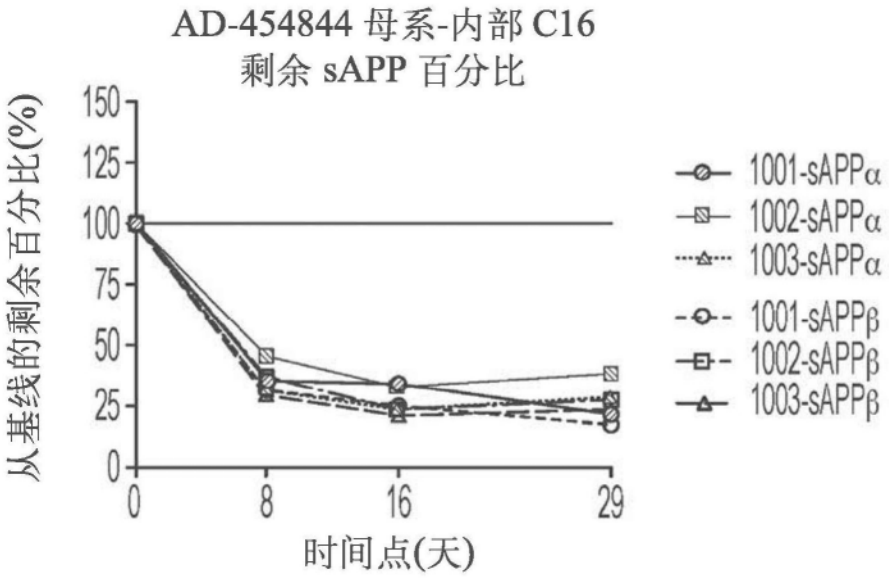

AD-454844 母系-内部 C16
剩余 sAPP 百分比
从基线的剩余百分比(%)
150
125
100
75
50
25
0
0 8 16 29
时间点(天)
1001-sAPPα
1002-sAPPα
1003-sAPPα
1001-sAPPβ
1002-sAPPβ
1003-sAPPβ

图20B

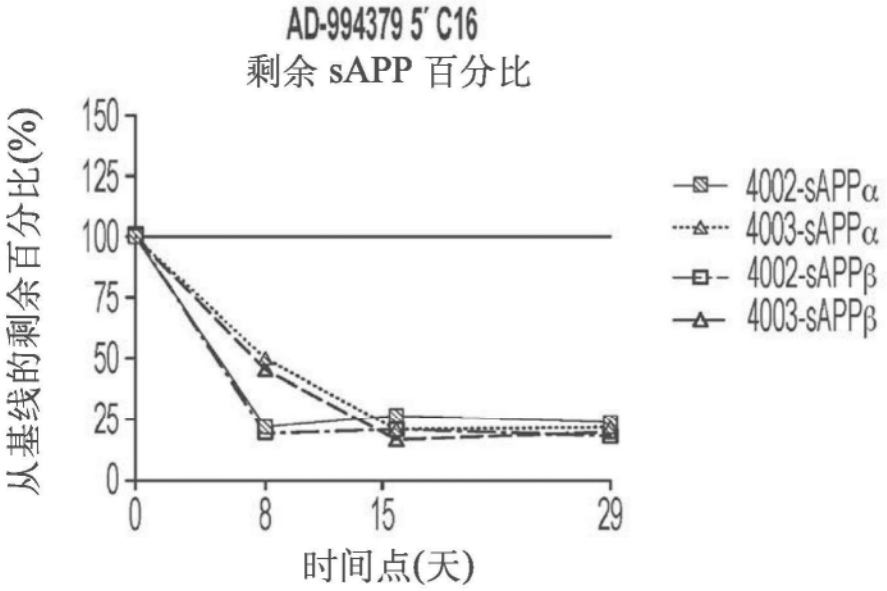

AD-994379 5′ C16
剩余 sAPP 百分比
从基线的剩余百分比(%)
150
125
100
75
50
25
0
0
8
15
29
时间点(天)
4002-sAPPα
4003-sAPPα
4002-sAPPβ
4003-sAPPβ

图20C

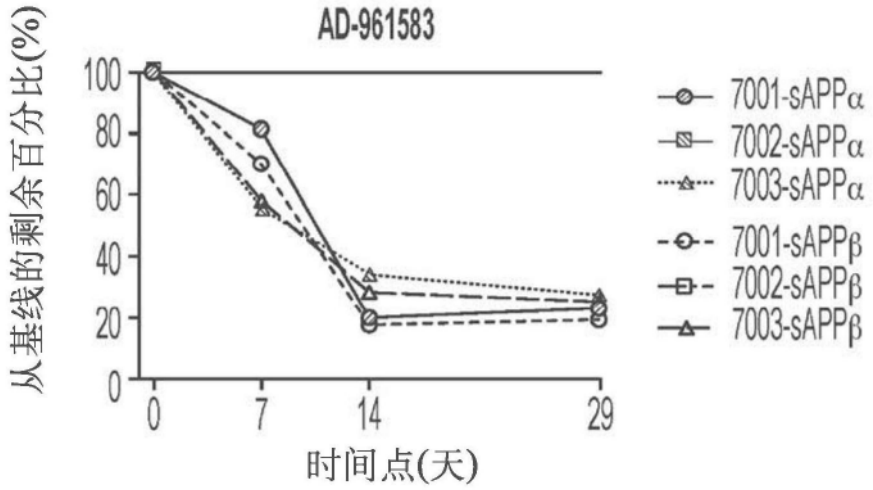

AD-961583
从基线的剩余百分比(%)
100
80
60
40
20
0
0
7
14
29
时间点(天)
7001-sAPPα
7002-sAPPα
7003-sAPPα
7001-sAPPβ
7002-sAPPβ
7003-sAPPβ

图20D

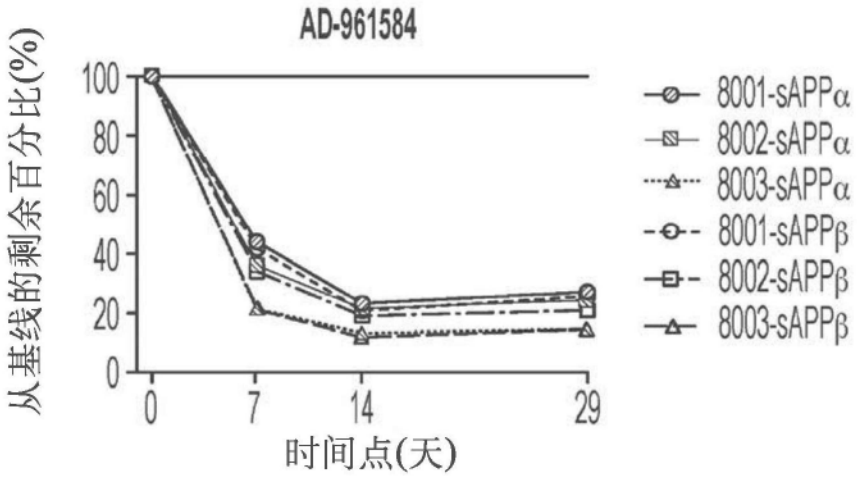



图20E

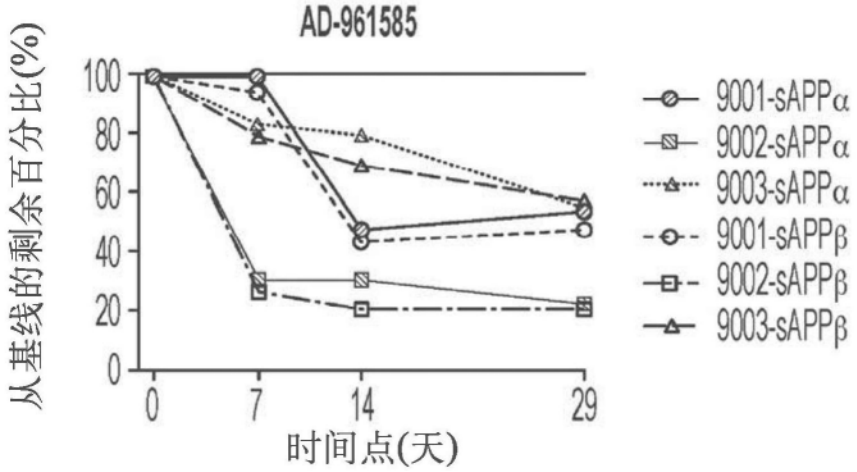



图20F

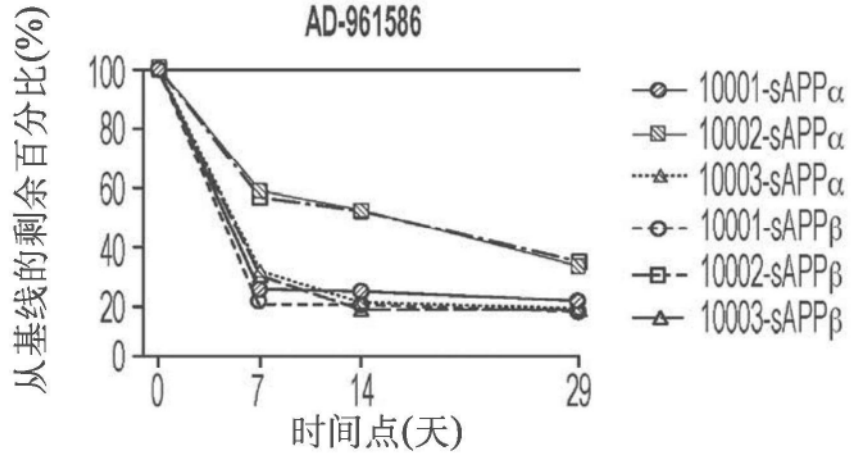



图20G

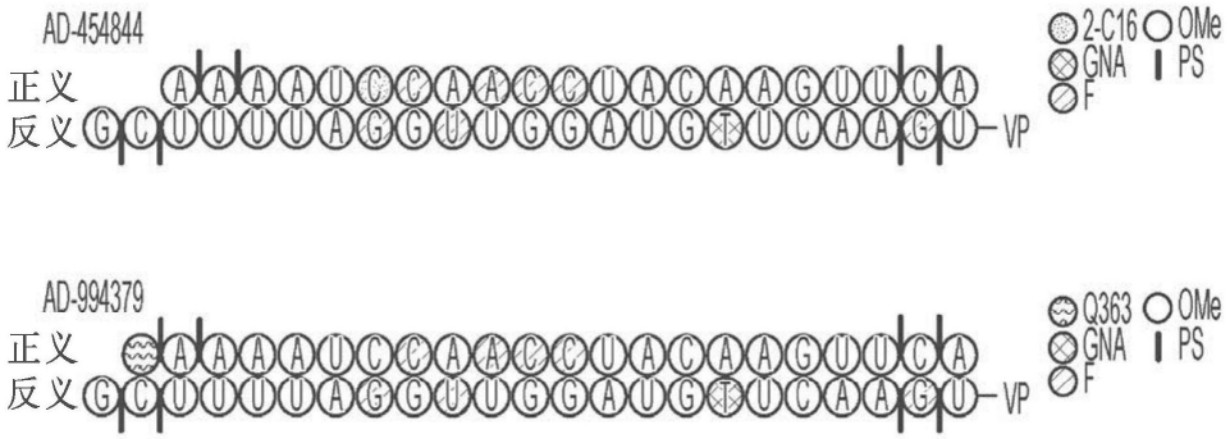

AD-454844
正义
反义
VP
2-C16
OMe
GNA
PS
F
AD-994379
正义
反义
VP
Q363
OMe
GNA
PS
F

图21A

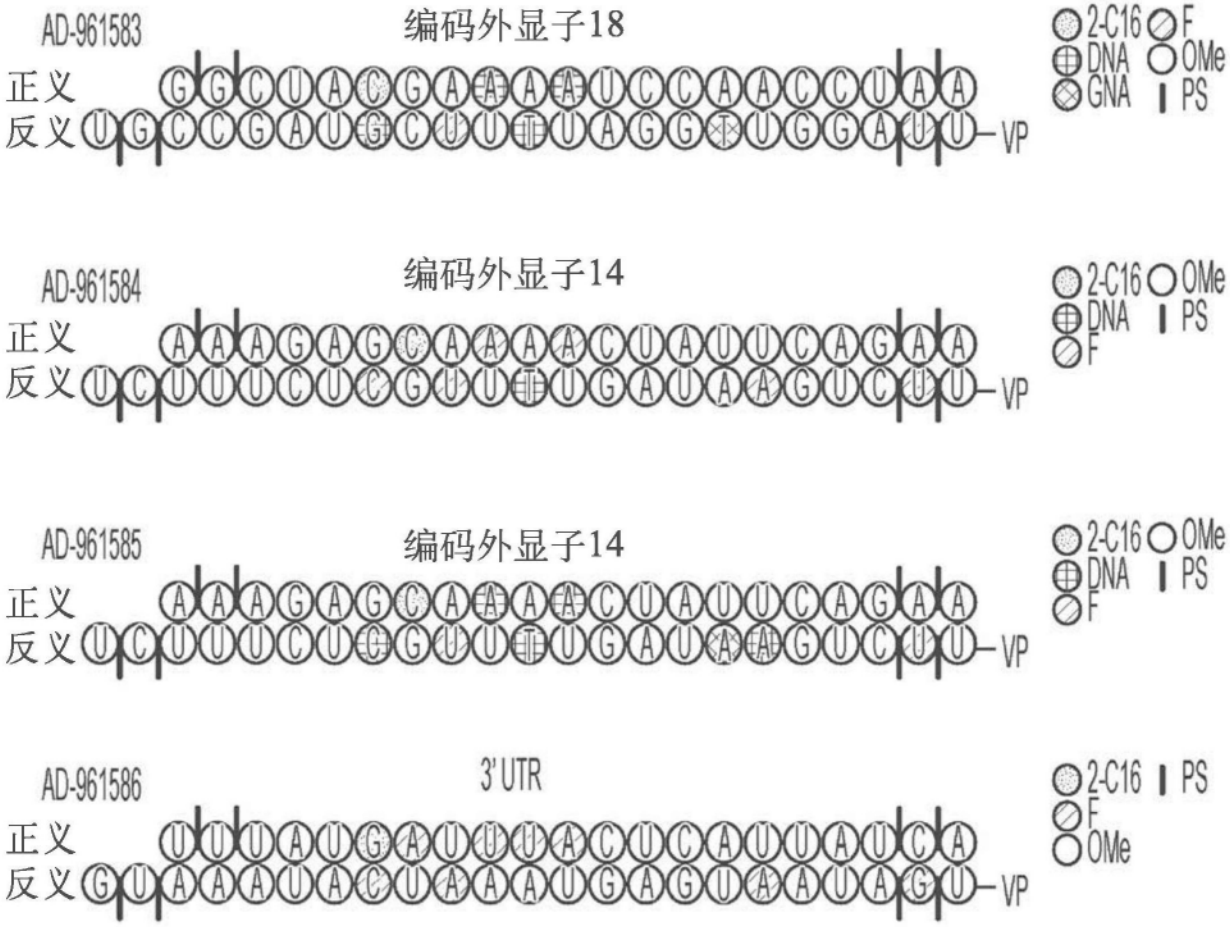

AD-961583
编码外显子18
正义
反义
VP
2-C16
F
DNA
OMe
GNA
PS
AD-961584
编码外显子14
正义
反义
VP
2-C16
OMe
DNA
PS
F
AD-961585
编码外显子14
正义
反义
VP
2-C16
OMe
DNA
PS
F
AD-961586
3'UTR
正义
反义
VP
2-C16
PS
F
OMe

图21B