



(19) 中華民國智慧財產局

(12) 發明說明書公開本

(11) 公開編號：TW 202229552 A

(43) 公開日：中華民國 111 (2022) 年 08 月 01 日

(21) 申請案號：110136883

(22) 申請日：中華民國 110 (2021) 年 10 月 04 日

(51) Int. Cl. : C12N15/113 (2010.01)

A61K31/713 (2006.01)

A61P3/06 (2006.01)

(30) 優先權：2020/10/05 美國

63/087,342

2021/06/30 美國

63/216,629

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

(US)

美國

美商雷傑納榮製藥公司 (美國) REGNERON PHARMACEUTICALS, INC. (US)

美國

(72) 發明人：麥金尼奇 詹姆斯 D MCININCH, JAMES D. (US) ; 博斯特威克 布雷特 李

BOSTWICK, BRET LEE (US) ; 卡斯特瑞諾 艾登 CASTORENO, ADAM (US)

(74) 代理人：洪武雄；陳昭誠

申請實體審查：無 申請專利範圍項數：93 項 圖式數：0 共 300 頁

(54) 名稱

G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75) iRNA 組成物及其使用方法

(57) 摘要

本發明係關於靶向 G 蛋白-偶合受體 75(GPR75) 基因之 RNAi 劑，例如，dsRNA 劑。本發明亦關於使用此類 RNAi 劑抑制 GPR75 基因之表現的方法以及治療或預防受試者之 GPR75 相關疾病 (諸如體重性病徵，例如，肥胖) 的方法。

The present invention relates to RNAi agents, e.g., dsRNA agents, targeting the G-protein coupled receptor 75 (GPR75) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of a GPR75 gene and to methods of treating or preventing a GPR75-associated disease, such as a body weight disorder, e.g., obesity, in a subject.

【發明摘要】

【中文發明名稱】 G 蛋白-偶合受體 75(GPR75) iRNA 組成物及其使用方法

【英文發明名稱】 G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR 75 (GPR75)
IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE
THEREOF

【中文】

本發明係關於靶向 G 蛋白-偶合受體 75(GPR75)基因之 RNAi 劑，例如，dsRNA 劑。本發明亦關於使用此類 RNAi 劑抑制 GPR75 基因之表現的方法以及治療或預防受試者之 GPR75 相關疾病(諸如體重性病徵，例如，肥胖)的方法。

【英文】

The present invention relates to RNAi agents, *e.g.*, dsRNA agents, targeting the G-protein coupled receptor 75 (GPR75) gene. The invention also relates to methods of using such RNAi agents to inhibit expression of a GPR75 gene and to methods of treating or preventing a GPR75-associated disease, such as a body weight disorder, *e.g.*, obesity, in a subject.

【指定代表圖】 本案無圖式。

【代表圖之符號簡單說明】 無。

【特徵化學式】 無。

【發明說明書】

【中文發明名稱】 G 蛋白-偶合受體 75(GPR75) iRNA 組成物及其使用方法

【英文發明名稱】 G PROTEIN-COUPLED RECEPTOR 75 (GPR75)
IRNA COMPOSITIONS AND METHODS OF USE
THEREOF

【技術領域】

相關申請

【0001】本申請案主張於 2020 年 10 月 5 日提交之美國臨時專利申請案第 63/087,342 號及於 2021 年 6 月 30 日提交之第 63/216,629 號美國臨時專利申請案之優先權。前述申請案之整體內容係藉由引用而併入本文中。

序列表

【0002】本申請案係含有序列表，該序列表經以 ASCII 格式經由電子版形式提交，且藉由引用而一起整體併入本文。於 2021 年 9 月 28 日創建之所述 ASCII 副本係命名為 121301_13620_SL.txt，其大小為 488,697 位元組。

【先前技術】

【0003】G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)係 G 蛋白-偶合受體家族之成員。其含有 GPCR 之大多數獨有特徵，亦即七個跨膜域、N 端中之 N-醯化位點及 C 端中之大量絲胺酸及蘇胺酸磷酸化位點。胺基酸序列分析業經顯

示，GPR75 與推定之秀丽隱線蟲(*Caenorhabditis elegans*)神經肽 Y 受體(24%同源性)、大鼠甘丙胺素受體第 3 型(25%同源性)及豬生長激素促分泌受體第 1b 型(25%同源性)最為相關(Tarttelin *et al.* (1999) *Biochem Biophys Res Commun.* 260:174–180)。GPR75 係歸類為 Gq-偶合 A 類孤兒受體，其活化係與細胞內鈣至增加及 IP-1 蓄積相關聯。GPR75 係表現於很多組織中，在腦內，其表現於新皮質、內嗅皮質、海馬迴、視丘及下視丘中。

【0004】源自細胞色素 P450 之類花生酸 20-羥基花生四烯酸(20-HETE)業經顯示結合至並活化 GPR75 受體。20-HETE 係花生四烯酸之 ω -羥基化代謝物，由細胞色素 P450 (CYP) 4A 及 4F 家族之酶產生。臨床研究業經表明，肥胖及糖尿病之個體的 20-HETE 之尿液及/或血漿水平升高，且 20-HETE 刺激脂肪生成，有助於糖尿病之發病，誘導高血糖症以及阻礙胰島素之細胞作用。此外，當以高脂肪飲食餵養時，過表現 Cyp4a12-20-HETE 合成酶之小鼠迅速發展出肥胖、高血糖症、高胰島素血症及葡萄糖耐受性受損。此等動物亦在骨骼肌、肝及脂肪組織中發展出胰島素抗性，以胰島素受體及胰島素受體受質之酪胺酸磷酸化受損為證。此外，業經證明，20-HETE 以 GPR75 依賴性方式干擾胰島素信號傳遞(Gilani, *et al.* (2019) *FASEB J.* 33(S1) : 514.8 ; Gilani, *et al.* (2018) *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 315 : R934–R944)。

【0005】體重性病症，例如肥胖，在很多國家為日益增加的健康問題。體重性病症，諸如肥胖，增加了健康問題之風險，諸如胰島素抗性、第 2 型糖尿病、心臟病、骨關節炎、睡眠呼吸終止及一些形式之癌症。減輕過量

之體重可顯著減輕此等健康問題之風險。對於體重性病徵諸如肥胖的主要治療係飲食及體育鍛煉，然後為藥物減肥及手術。市場上存在一些 FDA 批准之減肥藥物，諸如奧利司他(Orlistat(Alli®))及西佈曲明(Sibutramine (Meridia®))，惟，無一達成由 FDA 設定之減肥目標。此外，由於其嚴重的副作用，若干減肥藥候選者(亦稱為食慾抑制劑)業經在不同發展階段被暫停或取消。再者，儘管存在很多減輕初始體重的方法，但難以長期維持該減輕的體重。很多成功達成初始減重的人後來恢復了體重。此外，在成功進行減肥手術之後，病態肥胖患者可能需要用藥來長期維持健康體重。惟，目前市面上沒有減肥維持藥物。

【0006】 據此，亟需針對肥胖的有效治療，諸如可選擇性且有效地使用細胞自身之 RNAi 機制緘默 GPR75 基因的藥劑，該藥劑具有高生物活性及體內安定性兩者，且該藥劑可有效地抑制標靶 GPR75 基因之表現。

【發明內容】

【0007】 本發明係提供 RNAi 劑組成物，其係影響編碼 G 蛋白-偶合受體 75(GPR75)之基因之 RNA 轉錄本的 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)媒介之裂解。GPR75 基因可係處於細胞內，如受試者如人體內之細胞內。本發明亦提供使用本發明之 RNAi 劑來抑制 GPR75 基因之表現或治療受試者之方法，該受試者將會受益於抑制或降低 GPR75 基因之表現，例如，患有 GPR75 相關病症之受試者，例如，患有體重性病徵例如肥胖之受試者，例如，處於發展出體重性病徵之風險下的受試者。

【0008】據此，一方面，本發明提供一種雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)於細胞之表現，其中，該 dsRNA 劑包含形成雙股區域之一正義股及一反義股，其中，該正義股包含：包含與 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者之核苷酸序列的一部分具有 0、1、2 或 3 個誤配之至少 15 個接續核苷酸的核苷酸序列，或與 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者之序列的一部分具有至少 90%核苷酸序列同一性的核苷酸序列；以及，該反義股包含：包含與 SEQ ID NO：5 至 SEQ ID NO：8 中任一者之序列的相應部分具有 0、1、2 或 3 個誤配之至少 15 個接續核苷酸的核苷酸序列，或與 SEQ ID NO：5 至 SEQ ID NO：8 中任一者之核苷酸序列的一部分具有至少 90%核苷酸序列同一性的核苷酸序列；並且，其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【0009】一方面，本發明提供一種雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其係用於抑制 GPR75 基因於細胞內之表現，其包含形成雙股區域之一正義股及一反義股，其中，該反義股包含與編碼 GPR75 基因之 mRNA(SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者)的一部分互補的區域，其中，每一股獨立地為 14 至 30 個核苷酸之長度；並且，其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【0010】又一方面，本發明提供一種雙股 RNAi 劑，其係用於抑制 GPR75 基因於細胞內之表現，其包含形成雙股區域之一正義股及一反義股，其中，該反義股包含與表 2 至 5 中任一者中之任一反義核苷酸序列相異不超過 3 個核苷酸的至少 15 個接續核苷酸，其中，每一股獨立地為 14

至 30 個核苷酸之長度；並且，其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【0011】於一個態樣中，該正義股或該反義股係選自由表 2 至 5 中任一者中之任一正義股及反義股所組成之群組。

【0012】另一方面，本發明提供一種雙股 RNAi 劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75) 基因於細胞之表現，其包含形成雙股區域之一正義股及一反義股，其中該正義股包含與 SEQ ID NO: 1 之核苷酸 38-60、50-72、148-181、153-181、153-175、159-181、228-250、240-262、341-363、341-368、346-368、369-396、369-391、374-396、388-410、414-436、424-461、424-446、424-451、434-456、439-461、429-451、457-504、462-504、462-491、482-504、469-491、457-479、462-584、475-497、469-491、509-537、509-531、515-537、544-576、544-566、549-571、580-607、580-602、585-607、595-617、615-647、615-637、620-642、620-647、625-647、773-806、773-795、773-795、778-800、784-806、837-872、837-859、843-872、843-865、850-872、860-882、889-911、900-936、900-922、908-936、908-930、914-936、938-990、938-960、943-965、968-990、1060-1101、1060-1082、1066-1088、1073-1095、1079-1101、1097-1119、1238-1260、1268-1290、1284-1393、1284-1306、1292-1393、1292-1314、1292-1383、1292-1314、1301-1323、1307-1383、1307-1342、1307-1329、1313-1335、1371-1393、1351-1373、1320-1342、1336-1358、1345-1367、1351-1373、1361-1383、1366-1388、1393-1415、1422-1463、1422-1444、1441-1463、1487-1526、1487-1509、1493-1526、1493-1515、1498-1520、1504-1526、

1515-1571、1515-1557、1515-1543、1515-1537、1521-1543、1530-1552、
1535-1557、1540-1562、1549-1571、1559-1586、1559-1581、1564-1586、
1583-1629、1583-1605、1588-1610、1595-1617、1600-1629、1600-1622、
1607-1629、1624-1646、1635-1657、1672-1721、1672-1710、1677-1699、
1699-1721、1672-1699、1688-1710、1672-1694、1683-1705、1693-1714、
1732-1754、1744-1798、1751-1773、1758-1780、1767-1789、1776-1798、
1790-1818、1790-1812、1796-1818、1808-1856、1808-1848、1808-1836、
1808-1830、1826-1848、1814-1836、1819-1841、1834-1856、1877-2082、
1877-1899、1882-2082、1882-1925、1882-1963、1882-1904、1887-1693、
1887-1909、1898-1920、1903-1925、1908-1930、1913-1935、1913-1950、
1921-1950、1921-1943、1928-1950、1933-1955、1941-1963、1946-1968、
1953-1985、1953-2082、1953-1975、1938-1985、1958-1980、1963-1985、
1968-1990、1974-1996、1974-2065、1974-2082、1974-2002、1980-2002、
1985-2007、1990-2012、1990-2033、1999-2021、2005-2033、2005-2027、
2011-2033、2017-2039、2025-2055、2025-2047、2033-2055、2038-2060、
2043-2065、2033-2055、2048-2070、2054-2082、2054-2076 及 2060-2082
中之任一核苷酸序列相異不超過 3 個核苷酸的至少 15 個接續核苷酸，其中
該反義股包含來自 SEQ ID NO：2 之相應核苷酸序列的至少 15 個接續核
苷酸，以及，其中該正義股或該反義股係接合至一個或多個親脂性部分。

【0013】 於一個態樣中，該正義股及該反義股兩者接合至一個或多個
親脂性部分。

【0014】於一個態樣中，藉由 $\log K_{ow}$ 量測，該親脂性部分之親脂性係超過 0。

【0015】於一個態樣中，藉由該雙股 RNAi 劑之血漿蛋白結合檢定中之未結合級分量測，該雙股 RNAi 劑之疏水性係超過 0.2。

【0016】於一個態樣中，該血漿蛋白結合檢定係使用人血清白蛋白蛋白質之電泳遷移位移檢定。

【0017】於一個個態樣中，該 dsRNA 劑係包含至少一個經修飾之核苷酸。

【0018】於一些態樣中，反義股之實質上全部核苷酸係經修飾之核苷酸。

【0019】於另一態樣中，該正義股之全部核苷酸及該反義股之全部核苷酸係包含修飾。

【0020】於一個態樣中，該經修飾之核苷酸之至少一者係選自由下列所組成之群組：去氧核苷酸、3'-端去氧胸腺嘧啶(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、鎖定之核苷酸、未鎖定之核苷酸、構形限定之核苷酸、約束之乙基核苷酸、無鹼基之核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-O-烯丙基修飾之核苷酸、2'-C-烷基修飾之核苷酸、2'-羥基修飾之核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾之核苷酸、2'-O-烷基修飾之核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫呋喃修飾之核苷酸、1,5-失水己糖醇修飾之核苷酸、環己烯基修飾之核苷酸、包含 5'-硫代磷酸酯基團之核苷酸、包含 5'-甲基膦酸酯基團之核苷酸、包含 5'-磷酸酯或 5'-磷酸酯模擬物之核苷酸、包含乙烯基膦酸酯之核

苷酸、包含腺苷-二醇核酸(GNA)之核苷酸、包含胸苷二醇核酸(GNA) S 異構物之核苷酸、包含 2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸酯之核苷酸、包含 2'-去氧胸苷-3'磷酸酯之核苷酸、包含 2'-去氧鳥苷-3'磷酸酯之核苷酸、2'-O-十六烷基核苷酸、包含 2'-磷酸酯之核苷酸、胞苷-2'-磷酸酯核苷酸、鳥苷-2'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-尿苷-3'-磷酸酯核苷酸、5'-乙烯基磷酸酯(VP)、2'-去氧腺苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧胞苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧尿苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧胸苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧尿苷核苷酸、以及鏈結至膽固醇基衍生物及十二酸雙癸基醯胺基團之末端核苷酸；及其組合。

【0021】於另一態樣中，該經修飾之核苷酸選自由下列所組成之群組：2'-去氧-2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、3'-末端去氧-胸苷核苷酸(dT)、鎖定之核苷酸、無鹼基之核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-烷基修飾之核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、包含二醇核酸(GNA)之核苷酸、N-嗎啉基修飾之核苷酸、磷醯胺化物、以及包含非天然鹼基之核苷酸。

【0022】於另一態樣中，該經修飾之核苷酸包含 3'-末端去氧-胸苷核苷酸(dT)之短序列。

【0023】於又一態樣中，該核苷酸上之修飾為 2'-O-甲基修飾、2'-去氧-修飾、2'-氟修飾、5'-乙烯基磷酸酯(VP)修飾及 2'-O 十六烷基核苷酸修飾。

【0024】於某些態樣中，該雙股 RNAi 劑不包括反向之無鹼基核苷酸。

【0025】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含至少一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。

【0026】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含 6 至 8 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。

【0027】於一個態樣中，每一股係不超過 30 個核苷酸之長度。

【0028】於一個態樣中，至少一股包含至少 1 個核苷酸的 3' 突出。

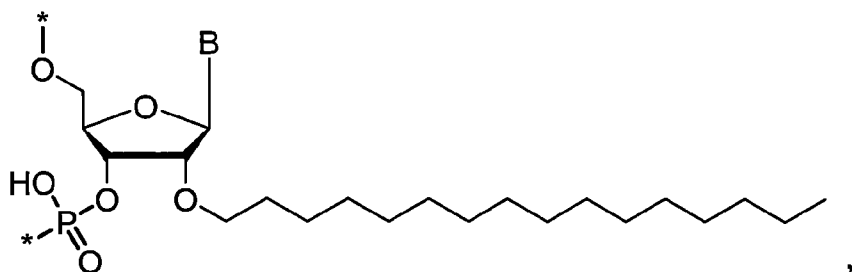
【0029】於另一態樣中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3' 突出。

【0030】雙股區域可係 15 至 30 個核苷酸對之長度；17 至 23 個核苷酸對之長度；17 至 25 個核苷酸對之長度；23 至 27 個核苷酸對之長度；19 至 21 個核苷酸對之長度；或 21 至 23 個核苷酸對之長度。

【0031】dsRNA 劑之每一股可係 15 至 30、17 至 20、19 至 30 個核苷酸之長度；19 至 23 個核苷酸之長度；或 21 至 23 個核苷酸之長度，例如，15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29 或 30 個核苷酸之長度。

【0032】於某些態樣中，該雙股 RNAi 劑復包括親脂性配體，例如，C16 配體，其透過單價或支鏈二價或三價鏈結子接合至正義股之 3' 末端。

【0033】於一個態樣中，該配體係接合在該正義或反義股之核苷酸或經修飾之核苷酸的 2'-位置。例如，C16 配體可如下列結構所示者接合：



其中，*表示鍵合至相鄰之核苷酸，且 B 係核鹼基或核鹼基類似物，視需要其中 B 係腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

【0034】於其他態樣中，該劑復包含靶向肝組織之靶向配體，例如，一個或多個 GalNAc 衍生物，其經由鏈結子或載劑接合至該雙股 RNAi 劑。

【0035】於又其他態樣中，該劑復包含親脂性配體，例如，C16 配體，其透過單價或支鏈二價或三價鏈結子結合至該正義股之 3' 末端，以及靶向肝組織之靶向配體，例如，一個或多個 GalNAc 衍生物，其透過單價或支鏈二價或三價鏈結子接合至該正義股之 3' 末端。

【0036】於一個態樣中，該一個或多個親脂性部分經由接合至至少一股之一個或多個內部位置。

【0037】於一個態樣中，該一個或多個親脂性部分經由鏈結子或載劑接合至至少一股之一個或多個內部位置。

【0038】於某些態樣中，該親脂性部分不是膽固醇部分。

【0039】於某些態樣中，該劑復包含靶向肝組織之靶向配體，例如，一個或多個 GalNAc 衍生物，其視需要經由鏈結子或載劑接合至該雙股 RNAi 劑。

【0040】於又其他態樣中，該劑復包含一個或多個親脂性配體，其視需要經由鏈結子或載劑接合至一個或多個內部核苷酸位置，以及靶向肝組織之靶向配體，例如，一個或多個 GalNAc 衍生物，其視需要經由鏈結子或載劑接合至該雙股 RNAi 劑。

【0041】於一個態樣中，該內部位置包括除來自至少一股之每一端之末端兩個位置以外的所有位置。

【0042】於另一態樣中，該內部位置包括除來自至少一股之每一端之末端三個位置以外的所有位置。

【0043】於另一態樣中，該等內部位置不包括正義股之裂解位點區域。

【0044】於又一態樣中，該內部位置包括除從該正義股之 5' 末端起計數之位置 9 至 12 以外的所有位置。於某些態樣中，正義股係 21 個核苷酸之長度。

【0045】於一個態樣中，該內部位置包括除從該正義股之 3' 末端起計數之位置 11 至 13 以外的所有位置。視需要，該等內部位置不包括反義股之裂解位點區域。於某些態樣中，正義股係 21 個核苷酸之長度。

【0046】於一個態樣中，該等內部位置不包括反義股之裂解位點區域。

【0047】於一個態樣中，該內部位置包括除從該反義股之 5'-端起計數之位置 12 至 14 以外的所有位置。於某些態樣中，反義股係 23 個核苷酸之長度。

【0048】於一個態樣中，該內部位置包括除該正義股從 3'-端起計數之位置 11 至 13 以及該反義股從 5'-端起計數之位置 12 至 14 以外的所有位置。於某些態樣中，正義股係 21 個核苷酸之長度，以及反義股係 23 個核苷酸之長度。

【0049】於一個態樣中，該一個或多個親脂性部分接合至一個或多個選自由下列所組成之群組的內部位置：該正義股之位置 4 至 8 及 13 至 18，以及該反義股之位置 6 至 10 及 15 至 18，每一股皆自 5' 端起計數。

【0050】於一個態樣中，該一個或多個親脂性部分接合至一個或多個選自由下列所組成之群組的內部位置：該正義股之位置 5、6、7、15 及 17，以及該反義股之位置 15 及 17，每一股皆自 5' 端起計數。於某些態樣中，正義股係 21 個核苷酸之長度，以及反義股係 23 個核苷酸之長度。

【0051】於一個態樣中，該雙股區域中之位置不包括該正義股之裂解位點區域。

【0052】於一個態樣中，該正義股係 21 個核苷酸之長度，該反義股係 23 個核苷酸之長度，以及，該親脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20、位置 15、位置 1、位置 7、位置 6 或位置 2 或該反義股之位置 16。

【0053】於一個態樣中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20、位置 15、位置 1 或位置 7。

【0054】於一個態樣中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20 或位置 15。

【0055】於一個態樣中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 20 或位置 15。

【0056】於一個態樣中，該親脂性部分接合至該反義股之位置 16。

【0057】於一個態樣中，親脂性部分係脂族、脂環族或多脂環族化合物。

【0058】於一個態樣中，該親脂性部分選自由下列所組成之群組：脂質、膽固醇、視網酸、膽酸、金剛烷乙酸、1-芘丁酸、二氫鞣固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉基氧己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基基團、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基或啡啶。於某些態樣中，該親脂性部分不是膽固醇。

【0059】於一個態樣中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C4-C30 烴鏈，以及視需要之選自由羥基、胺、羧酸、磺酸酯、磷酸酯、硫醇、疊氮化物及炔所組成之群組的官能基。

【0060】於一個態樣中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C6-C18 烴鏈。

【0061】於一個態樣中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C16 烴鏈。

【0062】於一個態樣中，該飽和或不飽和之 C16 烴鏈結合至自該股之 5'-端起計數之位置 6。

【0063】於一個態樣中，該親脂性部分經由載劑接合，該載劑替換該內部位置或該雙股區域中之一個或多個核苷酸。

【0064】於一個態樣中，該載劑係選自由下列所組成之群組的環狀基團：吡咯啉基、吡唑啉基、吡啶基、咪唑啉基、咪唑啉基、哌啶基、哌啶基、[1,3]二氧雜環戊基、嘮啶基、異嘮啶基、嗎啉基、噻啶基、異噻啶基、喹啶基、嗒吡啶基、四氫呋喃基及十氫萘基；或係基於絲胺醇骨幹或二乙醇胺骨幹之非環狀部分。

【0065】於一個態樣中，該親脂性部分經由鏈結子接合至該雙股 iRNA 劑，該鏈結子含有醚、硫醚、脲、碳酸酯、胺、醯胺、馬來醯亞胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺醯胺鏈結、鏈擊化學反應之產物或胺基甲酸酯。

【0066】於一個態樣中，親脂性部分接合至核酸鹼基、糖部分或核苷酸間鏈結。

【0067】於一個態樣中，該雙股 RNAi 劑包括位於該反義股之 5'末端的磷酸酯或磷酸酯模擬物。視需要，該磷酸酯模擬物係 5'-乙基膦酸酯 (VP)。

【0068】於某些態樣中，該 RNAi 劑不包括反向之無鹼基核苷酸。

【0069】於某些態樣中，該雙股 RNAi 劑不包括靶向配體。

【0070】於某些態樣中，該雙股 RNAi 劑復包括靶向媒介至肝組織之遞送之受體的靶向配體，例如，親脂性配體。於某些態樣中，該靶向配體係 C16 配體。於某些態樣中，該親脂性配體不是膽固醇部分。

【0071】於一個態樣中，該親脂性部分或靶向配體經由生物可裂解之鏈結子接合，該鏈結子係選自由下列所組成之群組：DNA，RNA，二硫化物，醯胺，半乳胺糖、葡萄糖胺糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖的官能化之單醣或寡醣，及其組合。

【0072】於一個態樣中，該正義股之 3'端經由端帽保護，該端帽具有胺之環狀基團，所述環狀基團選自由下列所組成之群組：吡咯啉基、吡啶基、吡啶基、咪啶基、咪啶基、哌啶基、哌啶基、[1,3]二氧雜環戊基、嘔啶基、異嘔啶基、嗎啉基、噻啶基、異噻啶基、喹啶基、嗒啶基、四氫呋喃基及十氫萘基。

【0073】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含靶向肝組織之靶向配體。

【0074】於一個態樣中，該靶向配體係 GalNAc 接合物。

【0075】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組

態之鏈結磷原子；以及末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【0076】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【0077】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一、第二及第三個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

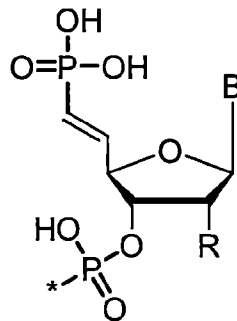
【0078】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第三個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【0079】於一個態樣中，該 dsRNA 劑復包含末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一及第二個核苷酸間鏈結

處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及末端手性修飾，其出現於該正義股 5' 端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【0080】於一個態樣中，該 dsRNA 劑包含位於該反義股之 5' 末端的磷酸酯或磷酸酯模擬物。

【0081】於一個態樣中，該磷酸酯模擬物係 5'-乙基基磷酸酯(VP)。當該磷酸酯模擬物為 5'-乙基基磷酸酯(VP)時，該 5' 端核苷酸可具有下列結構，



其中，*表示鍵合至相鄰核苷酸之 5'-位置的定位；

R 係氫、羥基、甲氧基、氟或本文所揭示之另一 2'-修飾(例如，羥基或甲氧基)；以及

B 係核鹼基或經修飾之核鹼基，視需要，其中 B 係腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

【0082】於一個態樣中，位於該雙鏈至反義股之 5'-末端第 1 位置處的鹼基對係 AU 鹼基對。

【0083】於一個個態樣中，該正義股具有總計 21 個核苷酸，且該反義股具有總計 23 個核苷酸。

【0084】本發明復提供細胞、用於抑制 GPR75 基因表現之醫藥組成物、以及包含具有本發明之 dsRNA 劑之脂質製劑的醫藥組成物。

【0085】於一方面，本發明提供抑制 GPR75 基因在細胞內之表現的方法。該方法包括令細胞與本發明之 dsRNA 劑或本發明之醫藥組成物接觸；以及將步驟(a)中產生之細胞維持足以獲得 GPR75 基因之 mRNA 轉錄本降解之時間，從而抑制 GPR75 基因於細胞內之表現。

【0086】於一個態樣中，細胞係處於受試者體內。

【0087】於一個態樣中，受試者係人。

【0088】於一個態樣中，GPR75 基因之表現被抑制至少 50%。

【0089】一方面，本發明係提供治療受試者的方法，該受試者為患有 GPR75 相關病症(例如體重性病徵，諸如肥胖)之受試者，或處於發展出體重性病徵之風險下之受試者，諸如處於變得肥胖之風險下的受試者，例如，當下超重之受試者或曾經超重或肥胖、減重但未能成功維持減輕之體重的受試者。該方法包括投予該受試者治療有效量的本發明之 dsRNA 劑或本發明之醫藥組成物，從而治療該受試者。

【0090】於一個態樣中，受試者係人。

【0091】於一個態樣中，治療包括減輕該疾病之至少一種症狀或症候。於一些態樣中，dsRNA 劑之投予係導致受試者之 BMI 減小。於一些態樣中，dsRNA 劑之投予係導致受試者之血糖水平降低。於其他態樣中，dsRNA 劑之投予係導致受試者之血脂水平降低。

【0092】於一個態樣中，該 dsRNA 劑係以約 0.01 mg/kg 至約 50 mg/kg 之劑量投予該受試者。

【0093】於一些態樣中，該雙股 RNAi 劑係經鞘內腔投予該受試者。

【0094】於一些態樣中，該雙股 RNAi 劑係皮下投予該受試者。

【0095】於一態樣中，該方法復包括將適用於治療或預防 GPR75 相關病症之附加劑或療法投予受試者。

【0096】於一個態樣中，該另外之治療劑係選自由下列所組成之群組：糖尿病治療劑、糖尿病併發症治療劑、心血管疾病治療劑、抗高血脂症劑、降壓劑或抗高血壓劑、抗肥胖劑、非酒精性脂肪肝炎(NASH)治療劑、化療劑、免疫治療劑、免疫抑制劑、抗炎劑、抗脂肪變性劑、免疫調節劑、酪胺酸激酶抑制劑、抗纖維化劑及前述者之任意組合。

【0097】藉由下列具體實施方式進一步示例性說明本發明。

【實施方式】

【0098】本發明係提供 iRNA 組成物，其係影響 GPR75 基因之 RNA 轉錄本的 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)媒介之裂解。GPR75 基因可係處於細胞內，如受試者如人體內之細胞內。此等 iRNA 之使用使得哺乳動物體內相對應基因(GPR75 基因)之 mRNA 的靶向降解成為可能。本發明亦提供使用本發明之 RNAi 組成物抑制 GPR75 基因之表現，以用於治療患有將會受益於抑制或降低 GPR75 基因之表現的病症(例如，GPR75 相關病症，諸如體重性病變，例如肥胖)之受試者，或處於發展出體重性病變諸如肥胖的受試者，例如，為超重之受試者或曾經超過或肥胖、減重但未能成功維持減輕之重量的受試者。

【0099】本發明之 iRNA 包括 RNA 股(反義股)，該股係具有多至約 30 個核苷酸或更短之長度的區域，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 個核苷酸之長度，該區域實質上與 GPR75 基因之 mRNA 轉錄本的至少一部分互補。於某些態樣中，本發明之 RNAi 劑包括具有約 21 至 23 個核苷酸之長度之區域的 RNA 股(反義股)，該區域與 GPR75 基因之 mRNA 轉錄本的至少一部分實質上互補。

【0100】於某些態樣中，本發明之雙股 RNAi 劑之一股或兩股係多至 66 個核苷酸之長度，例如，36 至 66、26 至 36、25 至 36、31 至 60、22 至 43、27 至 53 個核苷酸之長度，具有一個實質上與 GPR75 基因之 mRNA 之至少一部分互補的至少 19 個接續核苷酸之區域。於一些態樣中，此類具有長度較長之反義股的 iRNA 劑可以，例如，包括一長度為 20 至 60 個核苷酸之第二 RNA 股(正義股)，其中該正義股與該反義股係形成 18 至 30 個接續核苷酸之雙螺旋。

【0101】本發明之 iRNA 的使用使得哺乳動物體內 GPR75 mRNA 的靶向降解成為可能。因此，包括此等 iRNA 之方法及組成物係有用於治療受試者，該受試者為患有 GPR75 相關病症(諸如體重性病徵，例如肥胖)之受試者，或處於發展出體重性病徵諸如肥胖之風險下的受試者，例如，當

下超重之受試者或曾經超重或肥胖、減重但未能成功維持減輕之體重的受試者。

【0102】 下文之詳細說明書係發明如何製造並使用含有 iRNA 之組成物以抑制 GPR75 基因表現，以及用於治療將會受益於 GPR75 基因表現之抑制及/或減低之受試者的組成物、用途及方法，該受試者係例如易患或被診斷患有 GPR75 相關病症之受試者。

I. 定義

【0103】 為了更容易地理解本發明，首先定義某些術語。此外，應注意，無論何時，當應用參數之數值或數值範圍，該等數值及處於該等所引用之數值中間的範圍亦作為本發明之一部分。

【0104】 本文中使用的冠詞「一」指代該冠詞之語法賓語的一者或超過一者(亦即，至少一者)。舉例而言，「一元件」意指一個元件或超過一個元件如複數個元件。

【0105】 本文中使用的術語「包括」意指「包括但不限於」，且與後者可互換地使用。

【0106】 除非語境中明確排除，否則本文中使用的術語「或」意指「及/或」，且與後者可互換地使用。

【0107】 本文中使用的術語「約」意指處於該技藝中之公差範圍內。例如，「約」可理解為與均值偏離 2 標準偏差。於某些態樣中，約意指 $\pm 10\%$ 。於某些態樣中，約意指 $\pm 5\%$ 。當「約」存在於一系列數字或範圍之前時，理解為「約」可修飾該一系列數字或範圍中之每一個。

【0108】處於數字或一系列數字之前的術語「至少」、「不低於」或「或更多」理解為包括與該術語「至少」相鄰之數字，以及後面之全部數字或邏輯上可包括之整數，如從語境中明顯可知者。例如，核酸分子中之核苷酸的數目必需為整數。例如，「21 個核苷酸之核酸分子的至少 18 個核苷酸」意指 18、19、20 或 21 個核苷酸具有所指示之特性。當「至少」存在於一系列數字或範圍之前時，理解為「至少」可修飾該一系列數字或範圍中之每一個。

【0109】如本文所用，「不超過」或「或更低」理解為與短語相鄰之數值以及邏輯上更低之數值或整數，如從語境中邏輯上推知者，到零為止。例如，具有「不超過 2 個核苷酸」之突出的雙螺旋具有 2、1 或 0 個核苷酸之突出。當「不超過」存在於一系列數字或範圍之前時，理解為「不超過」可修飾該一系列數字或範圍中之每一個。如本文中所示，範圍包括上限及下限兩者。

【0110】如本文所用，偵檢方法可包括確定所存在之分析質的量低於該方法之偵檢水平。

【0111】在所指示之標靶位點與正義或反義股之核苷酸序列之間存在矛盾的情況下，以所指示之序列為準。

【0112】在序列與其在轉錄本或其他序列所指示之位點之間存在矛盾的情況下，以本說明書中敘述之核苷酸序列為準。

【0113】如本文所用，術語「G 蛋白偶合受體 75」（「GPR75」）指代習知之基因及多肽，本領域中亦稱為「推定 G 蛋偶合受體 75 白」、「WI-

31133」、「GPRchr2」及「WI31133」。GPR75 結合至 20-HETE 並干擾胰島素信號傳遞，導致肥胖。

【0114】術語「GPR75」包括人 APOC3，其胺基酸及完全編碼序列可見於例如 GenBank 登錄號 NM_006794.4 (SEQ ID NO: 1)；小鼠 GPR75，其胺基酸及完全編碼序列可見於例如 GenBank 登錄號 NM_175490.4 (SEQ ID NO: 2)；以及大鼠 GPR75，其胺基酸及完全編碼序列可見於例如 GenBank 登錄號 NM_001109096.1 (SEQ ID NO: 3)。

【0115】術語「GPR75」亦包括恆河獼猴 GPR75，其胺基酸及核苷酸序列可見於例如 GenBank 登錄號 NM_001204509.2 (SEQ ID NO:4)。

【0116】GPR75 mRNA 序列之其他實例可使用例如 GenBank、UniProt、OMIM 以及獼猴基因組項目網站輕易獲得。

【0117】示例性 GPR75 核苷酸序列亦可見於 SEQ ID NO: 1 至 SEQ ID NO: 4 中。SEQ ID NO: 5 至 SEQ ID NO: 8 分別係 SEQ ID NO: 1 至 SEQ ID NO: 4 之反向互補序列。

【0118】關於 GPR75 之進一步訊息提供於例如 www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10936 之 NCBI 基因資料庫中。

【0119】自遞交本申請案之日起，前述 GenBank 登錄號及 Gene 資料庫號之各者的整體內容藉由引用併入本文。

【0120】如本文所用，術語「G 蛋白偶合受體 75」及「GPR75」亦指代 GPR75 基因的天然出現之 DNA 序列變異。GPR75 基因中之大量序列變異業經鑑定並可見於，例如，NCBI dbSNP 及 UniProt(參見，例如，

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=GPR75>)，自本申請案遞交之日起，其整體內容藉由引用併入本文。

【0121】如本文中所示，「標靶序列」指代於 GPR75 基因之轉錄過程中形成之 mRNA 分子之核苷酸序列的接續部分，包括作為初級轉錄產物之 RNA 加工產物的 mRNA。於一態樣中，該序列之標靶部分將至少長至足以用作 RNAi 引導之裂解的受質，該裂解位於在 GPR75 基因之轉錄過程中形成之 mRNA 分子的核苷酸序列的部分處或鄰近該處。於一個態樣中，標靶序列位於 GPR75 基因之蛋白質編碼區域內。於另一態樣中，標靶序列位於 GPR75 基因之 3' UTR 內。

【0122】標靶序列可係約 9 至 36 個核苷酸之長度，例如，約 15-30 個核苷酸之長度。例如，標靶序列可約 15 至 30 個核苷酸之長度，如 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、18 至 25、18 至 24、18 至 23、18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23、或 21 至 22 個核苷酸之長度。於一些態樣中，標靶序列為約 19 至約 30 個核苷酸之長度。於其他態樣中，標靶序列為約 19 至約 25 個核苷酸之長度。於再其他態樣中，標靶序列為約 19 至約 23 個核苷酸之長度。於一些態樣中，標靶序列為約 21 至約 23 個核苷

酸之長度。上文引述之範圍及長度之間的範圍及長度亦視為本發明之一部分。

【0123】如本文中所使用，術語「包含序列之股」指代包含核苷酸之鏈的寡核苷酸，其中該核苷酸藉由使用標準核苷酸命名法指代之序列而揭示。

【0124】「G」、「C」、「A」、「T」及「U」各自通常分別表示含有鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤、胸腺嘧啶及尿嘧啶作為鹼基之核苷酸。惟，應理解，術語「核糖核苷酸」或「核苷酸」亦可指代經修飾之核苷酸，如下文進一步揭示者，或替換部分(參見，例如，表 1)。熟練之人士熟知，鳥嘌呤、胞嘧啶、腺嘌呤及尿嘧啶可經由其他部分替換而實質上不改變包含承載此替換部分之核苷酸之寡核苷酸的鹼基配對特性。應理解，當提供 cDNA 序列時，相對應之 mRNA 或 RNAi 劑將包括 U 替代 T。例如而不限於，包含肌苷作為其鹼基之核苷酸可與含有腺嘌呤、胞嘧啶或鳥嘌呤之核苷酸進行鹼基配對。因此，於本發明提出之 dsRNA 之核苷酸序列中，含有尿嘧啶、鳥嘌呤或腺嘌呤之核苷酸可替換為含有例如肌苷之核苷酸。於另一實例中，寡核苷酸中任意位置之腺嘌呤及胞嘧啶可分別替換為鳥嘌呤及尿嘧啶，以與標靶 mRNA 形成 G-U Wobble 鹼基配對。含有此類替換部分之序列適用於本發明提出之組成物及方法。再者，本領域熟練人士知悉，在本發明之 RNAi 劑中，標靶基因序列或其反向補體中之 T 將經常會被 U 替代。

【0125】如本文中可互換使用，術語「iRNA」、「RNAi 劑」、「iRNA 劑」、「RNA 干擾劑」指代含有如本文中定義之術語的 RNA，且其經由

RNA 誘導之靜默複合物(RISC)途徑而媒介 RNA 轉錄本的靶向裂解。RNA 干擾(RNAi)係引導 mRNA 之序列特異性降解的製程。RNAi 調整例如抑制細胞如受試者如哺乳動物受試者體內之細胞中 GPR75 基因的表現。

【0126】於一個態樣中，本揭露之 RNAi 劑包括單股 RNAi，其與標靶 RNA 序列例如 GPR75 mRNA 相互作用，以引導該標靶 RNA 之裂解。不欲受縛於理論，威信被引入細胞內之長雙股 RNA 藉由被稱為切丁酶(Dicer)之第 III 型核酸內切酶而破碎為包含正義股及反義股之雙股端干擾 RNA (siRNA)(Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485)。切丁酶，核酸酶 III 樣酶，將此等 dsRNA 加工為 19 至 23 個鹼基對之短干擾 RNA，該短干擾 RNA 之特徵係具有兩個鹼基之 3'突出(Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363)。隨後，此等 siRNA 被併入 RNA 誘導之靜默複合體(RISC)內，於該處，一種或多種解旋酶令該 siRNA 雙螺旋解捲曲，使得補體反義股能夠引導標靶識別(Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363)。當結合至適宜之標靶 mRNA 時，RISC 內之一種或多種核酸內切酶裂解標靶以誘導靜默(Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188)。因此，於一方面，本揭露係關於單股 RNA (ssRNA)(siRNA 雙螺旋之反義股)，其係於細胞內生成且促進 RISC 複合體之形成以有效緘默化標靶基因。據此，本文中，術語「siRNA」亦用以指代上揭之 RNAi。

【0127】於另一態樣中，該 RNAi 劑可係單股 RNA，其係引入細胞或有機體內以抑制標靶 mRNA。單股 RNAi 劑結合至 RISC 核酸內切酶 Argonaute 2，其隨後裂解標靶 mRNA。該單股 siRNA 通常係 15-30 個核苷酸且經化學修飾。單股 RNA 之設計及測試揭示於美國專利第 8,101,348

號及 Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894 中，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。本文中揭示之任意反義核苷酸序列可用作本文中揭示之單股 siRNA 或用作藉由 Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894 中揭示之方法化學修飾者。

【0128】於另一態樣中，用於本揭露之組成物及方法中之「RNAi 劑」係雙股 RNA，且於本文中指代為「雙股 RNAi 劑」、「雙股 RNA (dsRNA) 分子」、「dsRNA 分子」或「dsRNA」。術語「dsRNA」指代核糖核酸分子之複合體，其係具有包含兩個反平行且實質上互補之核酸股的雙螺旋結構，該兩個核酸股指代為具有相對於標靶 RNA 亦即 GPR75 mRNA 序列之「正義」取向及「反義」取向。於本揭露之一些態樣中，雙股 RNA (dsRNA) 透過轉錄後基因緘默化機制而觸發標靶 RNA 如 mRNA 之降解，本文中，該機制指代為 RNA 干擾或 RNAi。

【0129】通常，dsRNA 分子可包括核糖核苷酸，但如本文中所詳述，一股或兩股亦可包括一個或多個非核糖核苷酸，例如去氧核糖核苷酸、經修飾之核苷酸。此外，如本說明書中所用，「RNAi 劑」可包括具有化學修飾之核糖核苷酸；RNAi 劑可包括位於多個核苷酸處之實質性修飾。

【0130】如本文中所用，術語「經修飾之核苷酸」指代獨立具有經修飾之糖部分、經修飾之核苷酸間鏈結、或經修飾之核酸鹼基的核苷酸。因此，術語「經修飾之核苷酸」涵蓋例如官能基或原子到核苷酸間鏈結、糖部分或核酸鹼基之置換、加成或移除。適用於本揭露之劑中的修飾包括本文中所揭露或該領域中已知之全部類型的修飾。對於本說明書及申請專利

範圍之目的，任何此類修飾，如在 siRNA 類型分子中所用者，為「RNAi 劑」所涵蓋。

【0131】於本揭露之某些態樣中，將去氧核苷酸(其係作為填充出現形式之核苷酸而為人所知，若存在)包含於 RNAi 劑中可被視為構建經修飾之核苷酸。

【0132】該雙螺旋區域可係允許所欲之標靶 RNA 透過 RISC 途徑而特异性降解的任意長度，且可係約 9 至 36 個鹼基對之長度範圍，如約 15 至 30 個鹼基對之長度，例如，約 9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、或 36 個鹼基對之長度，諸如約 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 個鹼基對之長度。上文引述之範圍及長度之間的範圍及長度亦視為本發明之一部分。

【0133】形成該雙螺旋結構之兩股可係一個較大 RNA 分子之不同部分，或它們可係獨立之 RNA 分子。若該兩股係一個較大分子之部分，且因此藉由界於一股之 3' 末端與形成該雙螺旋結構之相對另一股之 5' 末端之間

的未中斷核苷酸鏈而連結，則該連結 RNA 鏈指代為「髮夾環圈」。髮夾環圈可包含至少一個未配對之核苷酸。於一些態樣中，該髮夾環圈可包含至少 4、至少 5、至少 6、至少 7、至少 8、至少 9、至少 10、至少 20、至少 23 或更多個未配對之核苷酸或未被引導至 dsRNA 標靶位點之核苷酸。於一些態樣中，髮夾環圈可係 10 個或更少核苷酸。於一些態樣中，髮夾環圈可係 8 個或更少未配對之核苷酸。於一些態樣中，髮夾環圈可係 4 至 10 個未配對之核苷酸。於一些態樣中，髮夾環圈可係 4 至 8 個核苷酸。

【0134】於某些態樣中，雙股寡聚化合物之兩股可鏈結在一起。兩股可在兩個末端或僅在一個末端鏈結至彼此。在一個末端鏈結意指第一股之 5' 末端鏈結至第二股之 3' 末端，或者第一股之 3' 末端鏈結至第二股之 5' 末端。當兩股在兩個末端鏈結至彼此時，第一股之 5' 末端鏈結至第二股之 3' 末端，並且第一股之 3' 末端鏈結至第二股之 5' 末端。兩股可藉由寡核苷酸鏈結子鏈結在一起，該鏈結子包括但不限於， $(N)_n$ ；其中，N 係獨立為經修飾或未修飾之核苷酸，並且 n 係 3 至 23。於一些態樣中，n 係 3 至 10，例如，3、4、5、6、7、8、9 或 10。於一些態樣中，該寡核苷酸鏈結子係選自由 GNRA、 $(G)_4$ 、 $(U)_4$ 及 $(dT)_4$ 所組成之群組，其中，N 係經修飾或未修飾之核苷酸，並且 R 係經修飾或未修飾之嘌呤核苷酸。該鏈結子中的一些核苷酸可牽涉入與該鏈結基中其他核苷酸之鹼基配對交互作用中。兩股亦可藉由非核苷鏈結子例如本文所揭示之鏈結子鏈結在一起。本領域技術人員將知悉，本文所揭示之任意寡核苷酸化學修飾或變異可用於寡核苷酸鏈結子中。

【0135】 髮夾或啞鈴型寡聚化合物將具有等於或至少 14、15、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24 或 25 個核苷酸對的雙螺旋區。雙螺旋區可等於或少於 200、100 或 50 之長度。於一些態樣中，雙螺旋區之範圍係 15 至 30、17 至 23、19 至 23 以及 19 至 21 個核苷酸對之長度。

【0136】 髮夾寡聚化合物可具有單股突出或末端未配對區，於一些態樣中，位於 3'，並且於一些態樣中位於髮夾之反義側。於一些態樣中，突出係 1 至 4 個且通常 2 至 3 個核苷酸之長度。本文中，可誘導 RNA 干擾之髮夾寡聚化合物亦指代為「shRNA」。

【0137】 若 dsRNA 之兩個實質上互補之股由獨立之 RNA 分子構成，則那些分子不必但可以共價連結。若兩股藉由除界於一股之 3' 末端與形成雙螺旋結構之相對另一股之 5' 末端之間的未中斷核苷酸鏈以外之手段共價連結，則該連結結構指代為「鏈結子」。RNA 股可具有相同或相異數目之核苷酸。鹼基對之最大數目係 dsRNA 之最短鏈中之核苷酸數減去雙螺旋中存在之任意突出。RNAi 除了包含雙螺旋結構外，亦可包含一個或多個核苷酸突出。

【0138】 於一個態樣中，本發明之 RNAi 劑係 dsRNA，其每一股係 24 至 30 個核苷酸之長度，其與標靶 RNA 序列例如 GPR75 mRNA 序列相互作用以引導該標靶 RNA 之裂解。不欲受縛於理論，被引入細胞內之長雙股 RNA 藉由被稱為切丁酶(Dicer)之第 III 型核酸內切酶而破碎為 siRNA (Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485)。切丁酶，亦稱核酸酶 III 樣酶，將 dsRNA 加工為 19-23 個鹼基對之短干擾 RNA，該短干擾 RNA 之特徵為具有兩個鹼基之 3' 突出(Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363)。隨後，

siRNA 被併入 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)內，於該處，一種或多種解旋酶令 siRNA 雙螺旋解捲曲，使得補體反義股能夠引導標靶識別(Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309)。當結合至適宜之標靶 mRNA 時，該 RISC 內之一種或多種核酸內切酶裂解該標靶以誘導緘默化(Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.*15:188)。

【0139】於一個態樣中，本發明之 RNAi 劑係 dsRNA 劑，其每一股係包含 19 至 23 個核苷酸，其係與 GPR75 mRNA 序列相互作用以引導該標靶 RNA 之裂解。不欲受縛於理論，被引入細胞內之長雙股 RNA 藉由被稱為切丁酶(Dicer)之第 III 型核酸內切酶之作用而破碎為 siRNA (Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485)。切丁酶，亦稱核酸酶 III 樣酶，將 dsRNA 加工為 19 至 23 個鹼基對之短干擾 RNA，該短干擾 RNA 之特徵係具有兩個鹼基之 3' 突出(Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363)。隨後，siRNA 被併入 RNA 誘導型緘默化複合體(RISC)內，於該處，一種或多種解旋酶令 siRNA 雙螺旋解捲曲，使得補體反義股能夠引導標靶識別(Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309)。當結合至適宜之標靶 mRNA 時，該 RISC 內之一種或多種核酸內切酶裂解該標靶以誘導緘默化(Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.*15:188)。於一個態樣中，本發明之 RNAi 劑係 24 至 30 個核苷酸之 dsRNA，其與 GPR75 mRNA 序列相互作用以引導標靶 RNA 之裂解。

【0140】如本文中所用，術語「核苷酸突出」指代從 RNAi 劑例如 dsRNA 之雙螺旋結構凸出之至少一個未配對之核苷酸。舉例而言，當 dsRNA 之一股的 3' 末端延伸超過另一股之 5' 末端，或與之相反，則存在核苷酸突出。dsRNA 可包含具有至少一個核苷酸之突出；或者突出可包含至

少兩個核苷酸、至少三個核苷酸、至少四個核苷酸、至少五個核苷酸或更多個。核苷酸突出可包含核苷酸/核苷類似物或由其組成，其中該核苷酸/核苷類似物包括去氧核苷酸/核苷。該(等)突出可位於正義股、反義股或其任意組合。此外，突出之核苷酸可存在於 dsRNA 之反義股或正義股之 5' 末端、3' 末端或兩端。

【0141】於 dsRNA 劑之一個態樣中，至少一股包含一具有至少 1 個核苷酸的 3' 突出。於另一態樣中，至少一股包含一具有至少 2 個核苷酸，例如 2、3、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸之 3' 突出。於其他態樣中，RNAi 劑之至少一股包含一具有至少 1 個核苷酸之 5' 突出。於某些態樣中，至少一股包含具有至少 2 個核苷酸，例如 2、5、4、5、6、7、9、10、11、12、13、14 或 15 個核苷酸之 3' 突出。於又其他態樣中，RNAi 劑之一股的 3' 及 5' 端包含一具有至少 1 個核苷酸之突出。

【0142】於一個態樣中，該 dsRNA 之反義股具有突出在 3' 末端或 5' 末端之 1 至 10 個核苷酸，例如 0 至 3、1 至 3、2 至 4、2 至 5、4 至 10、5 至 10 個，例如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個核苷酸。於一個態樣中，dsRNA 之正義股具有突出在 3' 末端或 5' 末端之 1 至 10 個核苷酸，如 1、2、3、4、5、6、7、8、9、或 10 個核苷酸。於另一態樣中，該突出中之一個或多個核苷酸被替換為核苷硫代磷酸酯。

【0143】於某些態樣中，位於正義股或反義股或兩者之該突出可包括長於 10 個核苷酸之延伸長度，如，1 至 30 個核苷酸、2 至 30 個核苷酸、10 至 30 個核苷酸或 10 至 15 個核苷酸之長度。於某些態樣中，延伸之突出位於雙螺旋之正義股。於某些態樣中，延伸之突出存在於雙螺旋之正義

股的 3' 末端。於某些態樣中，延伸之突出存在於雙螺旋之正義股的 5' 末端。於某些態樣中，延伸之突出位於雙螺旋之反義股。於某些態樣中，延伸之突出存在於雙螺旋之反義股的 3' 末端。於某些態樣中，延伸之突出存在於雙螺旋之反義股的 5' 末端。於某些態樣中，突出中之一個或多個核苷酸被替換為核苷硫代磷酸酯。於某些態樣中，突出包括自身互補之部分，使得該突出能夠形成在生理學條件下安定之髮夾結構。

【0144】如本文中所用，關於 dsRNA 之術語「鈍」或「鈍端」意指，在 dsRNA 之給定端無未配對之核苷酸或核苷酸類似物，亦即，無核苷酸突出。dsRNA 之一端或兩端可係鈍者。若 dsRNA 之兩端皆係鈍者，該 dsRNA 稱為鈍端者。明瞭起見，「鈍端之」dsRNA 係兩端皆係鈍者之 dsRNA，亦即，於分子之任一端皆無核苷酸突出。最常見之此類分子將於其整個長度上係雙股。

【0145】術語「反義股」或「導引股」指代 iRNA，例如 dsRNA 之股，其包括與標靶序列，如 GPR75 mRNA 序列實質上互補之區域。

【0146】如本文中所用，術語「互補之區域」指代反義股之與本文中定義之序列，例如標靶序列，例如 GPR75 核苷酸序列實質上互補的區域。若互補之區域與標靶序列不完全互補，則誤配可存在於分子之中間區域或末端區域。通常，最能被容忍之誤配存在於末端區域內，例如，RNAi 劑之 5' 末端或 3' 末端之 5、4、3 或 2 個核苷酸內。

【0147】於一些態樣中，本發明之雙股 RNA 劑包括位於反義股中之核苷酸誤配。於一些態樣中，本發明之雙股 RNA 劑之反義股包括不超過 4 個與標靶 mRNA 之誤配，例如，反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與標靶 mRNA

之誤配。於一些態樣中，本發明之雙股 RNA 劑之反義股包括不超過 4 個與正義股之誤配，例如，反義股包括 4、3、2、1 或 0 個與正義股之誤配。於一些態樣中，本發明之雙股 RNA 劑包括位於正義股中之核苷酸誤配。於一些態樣中，本發明之雙股 RNA 劑之正義股包括不超過 4 個與反義股之誤配，例如，正義股包括 4、3、2、1 或 0 個與反義股之誤配。於一些態樣中，核苷酸誤配位於例如自 iRNA 之 3' 端計數之 5、4、3 個核苷酸內。於另一態樣中，核苷酸誤配，例如，位於 iRNA 劑之 3'-末端核苷酸中。於一些態樣中，誤配不處於種子區域中。

【0148】因此，本文中所揭示之 RNAi 劑可含有一個或多個與標靶序列之誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 3 個誤配(亦即，3、2、1 或 0 個誤配)。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 2 個誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 1 個誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有 0 個誤配。於某些態樣中，如果 RNAi 劑之反義股含有與標靶序列之誤配，則該誤配較佳可被限定在從互補區域之 5' 末端或 3' 末端計數之最末 5 個核苷酸內。例如，於此類態樣中，對於 23 個核苷酸之 RNAi 劑，與 GPR75 基因互補區域之股通常不含位於中心 13 個核苷酸處之任意誤配。本文中揭示之方法或該領域中已知之方法可用以確定，含有與標靶序列之誤配的 RNAi 劑在抑制 GPR75 基因之表現中是否有效。慮及具有誤配之 RNAi 劑在抑制 GPR75 基因之表現中的效力係重要者，尤其若 GPR75 基因中之特定互補區域係已知突變者。

【0149】如本文中所用，術語「正義股」或「過客股」指代 RNAi 劑之股，其包括與如本文中定義之術語之反義股之區域實質上互補的區域。

【0150】如本文中所用，「實質上全部核苷酸係經修飾者」大多數並非全部經修飾，且可包括不超過 5、4、3、2 或 1 個未經修飾之核苷酸。

【0151】如本文中所用，術語「裂解區域」指代位於緊鄰裂解位點處之區域。裂解位點係標靶之裂解出現處之位點。於一些態樣中，裂解區域包含位於裂解位點任一端且緊鄰該裂解位點的三個鹼基。於一些態樣中，裂解區域包含位於裂解位點任一端且緊鄰該裂解位點的兩個鹼基。於一些態樣中，裂解位點特異性地出現於反義股之藉由核苷酸 10 及 11 鍵結之位點，且裂解區域包含核苷酸 11、12 及 13。

【0152】如本文中所用且除非明確排除，否則當術語「互補」用來揭示關於第二核苷酸序列之第一核苷酸序列時，指代包含該第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸在某些條件下與包含該第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸雜交且形成雙螺旋結構的能力，如具熟練技術之人士所理解者。舉例而言，此等條件可係嚴苛條件，其中嚴苛條件可包括：400 mM NaCl、40 mM PIPES pH 6.4、1 mM EDTA、50°C 或 70°C、12 至 16 小時，之後洗滌(參見，例如，《分子選殖：實驗室手冊》(“Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Sambrook, et al. (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press))。可施加其他條件，諸如生理學相關條件如可在有機體內部遭遇者。具熟練技術之人士將能夠根據所雜交之核苷酸的最終應用而確定最適用於兩個序列之互補性測試的條件集。

【0153】如本文中所述之 RNAi 劑，例如，dsRNA 內之互補序列，包括包含第一核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸與包含第二核苷酸序列之寡核苷酸或多核苷酸在一個或兩個核苷酸序列之整體長度上的鹼基配對。此類序列可指代為彼此「完全互補」。惟，本文中，若第一序列指代為與第二序列「實質上互補」，則當雜交形成多達 30 個鹼基對之雙螺旋時，兩個序列可係完全互補，或它們可形成一個或多個但通常不超過 5、4、3 或 2 個誤配鹼基對，同時保留在最適於其最終應用之條件下雜交的能力，如對基因表現的體外或體內抑制。惟，若兩個寡核苷酸設計為當雜交時形成一個或多個單股突出，則此類突出不應視為關於確定互補性之誤配。舉例而言，包含一個長度為 21 個核苷酸之寡核苷酸及另一個長度為 23 個核苷酸之寡核苷酸的 dsRNA，其中該較長之核苷酸包含一個與該較短之核苷酸完全互補的 21 個核苷酸之序列，對於本文所揭示之目的，仍可指代為「完全互補」。

【0154】如本文中所用，「互補之」序列亦可包括非 Watson-Crick 鹼基對或從非天然核苷酸及經修飾之核苷酸形成的鹼基對，或完全由其形成，只要對其雜交能力之上述需求得以滿足即可。此類非 Watson-Crick 鹼基對包括但不限於，G : U Wobble 鹼基配對或 Hoogsteen 鹼基配對。

【0155】本文中，術語「互補」、「完全互補」及「實質上互補」可關於 dsRNA 之正義股與反義股之間或兩個寡核苷酸或多核苷酸諸如 RNAi 劑之反義股與標靶序列之間的鹼基配對而使用，如可從其用途之語境中理解者。

【0156】如本文中所用，與信使 RNA(mRNA)或標靶序列之「至少一部分實質上互補」之多核苷酸指代與感興趣之 mRNA 或標靶序列(例如，編碼 GPR75 之 mRNA)之接續部分實質上互補之多核苷酸。舉例而言，如果多核苷酸與編碼 GPR75 之 mRNA 之非中斷部分實質上互補，則該序列與 GPR75 RNA 之至少一部分互補。

【0157】據此，於一些態樣中，本文中揭露之反義股多核苷酸係與標靶 GPR75 序列完全互補。

【0158】於其他態樣中，本發明之反義股多核苷酸與標靶 GPR75 序列實質上互補，且包含一接續核苷酸序列，就 GPR75 而言，該接續核苷酸序列在其整個長度上與 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 或 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 之片段之等效核苷酸序列區域為至少約 80%互補，諸如約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或約 99%互補。

【0159】於其他態樣中，本文揭露之反義多核苷酸與標靶 GPR75 序列實質上互補，並且包含一接續核苷酸序列，該接續核苷酸序列係在其整個長度上與表 2 至 5 中任一者中之任一正義股核苷酸序列或表 2 至 5 中任一者中之任一正義股核苷酸序列的片段為至少約 80%互補，諸如約 85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%或約 99%互補。

【0160】於一個態樣中，本揭露之 RNAi 劑包括一正義股，該正義股與反義多核苷酸實質上互補，該反義多核苷酸反而與標靶 GPR75 序列相同，其中該正義股多核苷酸係包含一接續核苷酸序列，該接續核苷酸序列

係在其整個長度上與 SEQ ID NO : 5 至 SEQ ID NO : 8 或 SEQ ID NO : 5 至 SEQ ID NO : 8 中任一者片段之等效核苷酸序列區域為至少約 80% 互補，諸如約 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或約 99% 互補。

【0161】 於一些態樣中，本發明之 iRNA 包含正義股，該正義股與反義多核苷酸實質上互補，該反義多核苷酸反而與標靶 GPR75 序列相同，其中該正義股多核苷酸包含一接續核苷酸序列，該接續核苷酸序列係在其整個長度上與表 2 至 5 之任一者中任一反義股核苷酸序列或表 2 至 5 之任一者中任一反義股核苷酸序列的片段為至少約 80% 互補，諸如約 86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98% 或約 99% 互補。

【0162】 於一些態樣中，本文所揭露之反義多核苷酸與標靶 GPR75 序列之片段實質上互補，並且包含接續核苷酸序列，該接續核苷酸序列於其整個長度上與選自由下列核苷酸所組成之群組的 SEQ ID NO : 1 之片段至少 80% 互補：SEQ ID NO : 1 之核苷酸 38-60、50-72、148-181、153-181、153-175、159-181、228-250、240-262、341-363、341-368、346-368、369-396、369-391、374-396、388-410、414-436、424-461、424-446、424-451、434-456、439-461、429-451、457-504、462-504、462-491、482-504、469-491、457-479、462-584、475-497、469-491、509-537、509-531、515-537、544-576、544-566、549-571、580-607、580-602、585-607、595-617、615-647、615-637、620-642、620-647、625-647、773-806、773-795、773-795、778-800、784-806、837-872、837-859、843-872、843-865、850-872、860-

882、889-911、900-936、900-922、908-936、908-930、914-936、938-990、
938-960、943-965、968-990、1060-1101、1060-1082、1066-1088、1073-
1095、1079-1101、1097-1119、1238-1260、1268-1290、1284-1393、1284-
1306、1292-1393、1292-1314、1292-1383、1292-1314、1301-1323、1307-
1383、1307-1342、1307-1329、1313-1335、1371-1393、1351-1373、1320-
1342、1336-1358、1345-1367、1351-1373、1361-1383、1366-1388、1393-
1415、1422-1463、1422-1444、1441-1463、1487-1526、1487-1509、1493-
1526、1493-1515、1498-1520、1504-1526、1515-1571、1515-1557、1515-
1543、1515-1537、1521-1543、1530-1552、1535-1557、1540-1562、1549-
1571、1559-1586、1559-1581、1564-1586、1583-1629、1583-1605、1588-
1610、1595-1617、1600-1629、1600-1622、1607-1629、1624-1646、1635-
1657、1672-1721、1672-1710、1677-1699、1699-1721、1672-1699、1688-
1710、1672-1694、1683-1705、1693-1714、1732-1754、1744-1798、1751-
1773、1758-1780、1767-1789、1776-1798、1790-1818、1790-1812、1796-
1818、1808-1856、1808-1848、1808-1836、1808-1830、1826-1848、1814-
1836、1819-1841、1834-1856、1877-2082、1877-1899、1882-2082、1882-
1925、1882-1963、1882-1904、1887-1693、1887-1909、1898-1920、1903-
1925、1908-1930、1913-1935、1913-1950、1921-1950、1921-1943、1928-
1950、1933-1955、1941-1963、1946-1968、1953-1985、1953-2082、1953-
1975、1938-1985、1958-1980、1963-1985、1968-1990、1974-1996、1974-
2065、1974-2082、1974-2002、1980-2002、1985-2007、1990-2012、1990-
2033、1999-2021、2005-2033、2005-2027、2011-2033、2017-2039、2025-

2055、2025-2047、2033-2055、2038-2060、2043-2065、2033-2055、2048-2070、2054-2082、2054-2076 及 2060-2082，諸如約 85%、約 90%、約 91%、約 92%、約 93%、約 94%、約 95%、約 96%、約 97%、約 98% 或約 99% 互補。

【0163】於一些態樣中，雙股 iRNA 劑之雙股區係等於或至少 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29、30 或更多個核苷酸對之長度。

【0164】於一些態樣中，雙股 iRNA 劑之反義股係等於或至少 14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29 或 30 個核苷酸之長度。

【0165】於一些態樣中，雙股 iRNA 劑之正義股係等於或至少 10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、23、24、25、26、27、28、29 或 30 個核苷酸之長度。

【0166】於一個態樣中，雙股 iRNA 劑之正義股及反義股係各自獨立為 15 至 30 個核苷酸之長度。

【0167】於一個態樣中，雙股 iRNA 劑之正義股及反義股係各自獨立為 19 至 25 個核苷酸之長度。

【0168】於一個態樣中，雙股 iRNA 劑之正義股及反義股係各自獨立為 21 至 23 個核苷酸之長度。

【0169】於一個態樣中，iRNA 劑之正義股係 21 個核苷酸之長度，並且反義股係 23 個核苷酸之長度，其中兩股形成 21 個接續鹼基對之雙股區，其具有位於 3' 末端之 2 個核苷酸長的單股突出。

【0170】於本發明之一方面，用於本發明之方法及組成物中之劑係單股反義核酸分子，其經由反義抑制機制抑制標靶 mRNA。單股反義 RNA 分子與標靶 mRNA 內之序列互補。單股反義寡核苷酸可藉由與 mRNA 進行鹼基配對並且物理地阻礙轉譯機制而以化學計量學方式抑制翻譯，參見，Dias, N. *et al.*, (2002) *Mol Cancer Ther* 1:347-355。單股反義 RNA 分子可係約 15 至約 30 個核苷酸之長度，並且具有與標靶序列互補之序列。舉例而言，單股反義 RNA 分子可包含序列，該序列係來自本文所揭示之反義序列中任一者之至少約 15、16、17、18、19、20 或更多個接續核苷酸。

【0171】於一個態樣中，對 GPR75 基因之至少部分之阻抑係藉由 GPR75 mRNA 量之減少而評估，該 GPR75 mRNA 係從第一細胞或細胞之群組中分離或檢測，於該細胞或細胞之群組中，GPR75 被轉錄，且該細胞或細胞之群組業經治療，使得與實質上與該第一細胞或細胞之群組相同但尚未經如是治療之第二細胞或細胞之群組(對照細胞)相比，GPR75 基因之表現得以抑制。抑制之程度可藉由下述術語表現：

$$\frac{(\text{對照細胞中之 mRNA}) - (\text{經處理之細胞中的 mRNA})}{(\text{對照細胞中之 mRNA})} \bullet 100\%$$

【0172】於一個態樣中，藉由雙重螢光素酶方法測定對表現之抑制，其中 RNAi 劑係以 10 nM 存在。

【0173】如本文中所用，短語「令細胞與 RNAi 劑接觸」包括藉由任意可能之手段接觸細胞。令細胞與 RNAi 劑接觸包括在體外令細胞與 RNAi 劑接觸或在體內令細胞與 RNAi 劑接觸。接觸可直接或間接進行。因此，

舉例而言，RNAi 劑可藉由單獨執行該方法而令其與細胞物理接觸，或作為另一種選擇，可將 RNAi 劑置於將允許或造成其後續與該細胞接觸之境地。

【0174】舉例而言，可藉由使用 RNAi 劑溫育細胞而令該細胞在體外接觸該 RNAi 劑。舉例而言，可藉由將 RNAi 劑注射至細胞所處之組織內或鄰近該組織處，或藉由將 RNAi 劑注射至另一區域例如中樞神經系統 (CNS)，視需要經由鞘內腔注射、玻璃體腔內注射或其他注射，或注射至血流或皮下空間內，使得該劑將後續到達待接觸之細胞所處之組織，從而令該細胞在體內與該 RNAi 劑接觸。例如，RNAi 劑可含有配體或與其偶聯，該配體係例如下文揭示之一個或多個親脂性部分並進一步詳述於例如 PCT/US2019/031170 中，該專利藉由引用併入本文，該配體引導或以其他方式安定化位於感興趣之位點例如 CNS 處之 RNAi 劑。於一些態樣中，RNAi 劑可包含或偶聯至配體，例如，一個或多個如下所揭示之 GalNAc 衍生物，其引導或以其他方式安定化 RNAi 劑至感興趣之位點例如肝臟。於其他態樣中，RNAi 劑可包含或偶聯至一個或多個親脂性部分以及一個或多個 GalNAc 衍生物。體外接觸方法與體內接觸方法之組合以係可能者。舉例而言，細胞可在體外與 RNAi 劑接觸，且隨後移植入受試者體內。

【0175】於一個態樣中，令細胞與 RNAi 劑接觸包括，藉由促進或影響至該細胞內之攝取或吸收而「將 RNAi 劑引入或遞送至細胞內」。RNAi 劑之吸收或攝取可透過無輔助之擴散或活性細胞進程而進行，或藉由輔助劑或裝置而進行。將 RNAi 劑引入細胞內可係體外或體內進程。舉例而言，對於體內進行之引入，可將 RNAi 劑注射至組織部位或系統性投予。在體

外進行之引入細胞內包括該領域中已知之方法，如電穿孔及脂質轉染。其他途徑揭示於下文中或係該領域中已知者。

【0176】術語「親脂體」或「親脂性部分」廣泛地指代具有對於脂質之親和性的任何化合物或化學部分。一種表徵親脂性部分之親脂性的方法係藉由辛醇-水分配係數 $\log K_{ow}$ 進行，其中 K_{ow} 係兩相系統處於平衡狀態時，辛醇相中之化學品濃度與其在水相中之濃度的比率。辛醇-水分配係數係物質之實驗室量測之特性。惟，其亦可使用歸因於化學品之結構組分的係數進行預測，該等係數係使用第一原理或經驗方法計算(參見，例如，Tetko *et al.*, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* 41:1407-21 (2001)，其藉由引用以其整體併入本文)。其提供物質傾向於非水性或油性介質而非水(亦即，其親水/親脂平衡)的熱力學量測。原則上，當化學物質之 $\log K_{ow}$ 超過 0 時，其符合親脂性之特徵。典型地，親脂性部分具備超過 1，超過 1.5，超過 2，長 3，超過 4，超過 5 或超過 10 之 $\log K_{ow}$ 。例如，6-胺基己醇之 $\log K_{ow}$ 係例如預測為大約 0.7。使用同一方法，膽固醇基 N-(己-6-醇)胺基甲酸酯之 $\log K_{ow}$ 係預測為 10.7。

【0177】分子之親脂性可隨其攜帶之官能基而改變。例如，將羥基或胺基團加至親脂性部分之末端，可增加或降低該親脂性部分之分配係數(例如， $\log K_{ow}$)值。

【0178】另選地，與一個或多個親脂性部分接合至雙股 RNAi 劑的疏水性可藉由其蛋白質結合特徵而量測。例如，於某些態樣中，雙股 RNAi 劑之血漿蛋白結合檢定中之未結合部分可確定為與該雙股 RNAi 劑之相對疏水性正相關，而相對疏水性可與該雙股 RNAi 劑之靜默活性正相關。

【0179】於一個態樣中，血漿蛋白結合檢定係使用人血清白蛋白蛋白質之電泳遷移位移檢定測定。這一結合檢定之示例性方案係於例如 PCT 公開號 WO 2019/217459 中詳細例證。藉由該結合檢定中之未結合 siRNA 分量測的雙股 RNAi 劑之疏水性超過 0.15，超過 0.2，超過 0.25，超過 0.3，超過 0.35，超過 0.4，超過 0.45 或超過 0.5，以增強 siRNA 之體內遞送。

【0180】據此，將親脂性部分接合至雙股 RNAi 劑之內部位置，提供優化之疏水性，以增強 siRNA 之體內遞送。

【0181】術語「脂質奈米顆粒」或「LNP」係媒介，其包含脂質層，該脂質層封裝藥學活性分子如核酸分子例如 RNAi 劑或 RNAi 劑自其轉錄之質體。LNP 揭示於，舉例而言，美國專利第 6,858,225 號、第 6,815,432 號、第 8,158,601 號及第 8,058,069 號，該等專利之整體內容藉由引用而併入本文。

【0182】如本文中所用，「受試者」係動物如哺乳動物，包括靈長類(諸如人、非人靈長類例如猴及黑猩猩)、或非靈長類(諸如牛、豬、馬、山羊、兔、綿羊、倉鼠、豚鼠、貓、狗、大鼠、或小鼠)或鳥類，其內源地或異源地表現標靶基因。於一個態樣中，受試者係人，如正在進行對將會受益於 GPR75 表現減少之疾病、病症或病況之治療或評估的人；處於將會受益於 GPR75 表現減少之疾病、病症或病況之風險下的人；罹患將會受益於 GPR75 表現減少之疾病、病症或病況的人；或正在進行對將會受益於 GPR75 表現減少之疾病、病症或病況之治療的人，如本文中所述。於一些態樣中，受試者係女人。於一些態樣中，受試者係男人。於一個態樣中，受試者係成年受試者。於其他態樣中，受試者係小兒受試者。

【0183】如本文所用，術語「治療中」或「治療」(treating 或 treatment) 指代有益或所欲之結果，包括但不限於與 GPR75 表現或 GPR75 蛋白質產生相關之一種或多種徵象或症候(例如，GPR75 相關疾病，例如肥胖)或與不希望之 GPR75 表現相關之症候的減輕或改善；不希望之 GPR75 活化或安定化之程度的降低；不希望之 GPR75 活化或安定化之改善或緩和。「治療」亦可意指相對於在治療缺失情況下預期之生存期而延長生存期。

【0184】在受試者之 GPR75 或疾病標記物或症候水平之情境中，術語「降低」指代此水平之統計學顯著之下降。該下降可係，舉例而言，至少 10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95% 或更多。於某些態樣中，下降係至少 20%。於某些態樣中，下降係疾病標記物，例如蛋白質或基因表現水平之至少 50%。於受試者體內之 GPR75 水平的情境中，「減少」為降低至如同不具此病症之個體正常範圍內所接受的水平。於某些態樣中，標靶之表現被正常化，亦即，朝向可接受之水平降低或降低至可接受之水平，該水平係處於無此類病症之個體的正常範圍內，例如，BMI、血糖水平、血脂水平、血氧水平、白血球計數、腎功能、脾功能、肝功能。如本文所用，受試者中之「減少」可指代受試者體內細胞中之基因表現或蛋白質產生的減少不需要減少受試者全部細胞或組織中之表現。舉例而言，如本文所用，受試者體內之減少可包括受試者體內基因表現或蛋白質產生的減少。

【0185】術語「減少」也可與將疾病或病況之症候正常化關聯使用，亦即，將罹患 GPR75 相關疾病之受試者體內的水平朝向未罹患 GPR75 相關疾病之正常受試者體內的水平降低或降低至後者。如本文所用，如果疾

病與升高之症候值相關聯，「正常」係視為正常之上限。如果疾病與降低之症候值相關聯，「正常」係視為正常之下限。

【0186】如本文所用，當關於將會受益於 GPR75 基因表現或 GPR75 蛋白產生之減低的疾病、病症或其病況而使用「預防」或「阻止」時，該術語指代減低受試者將發展出與此疾病、病症或病況相關之症候例如 GPR75 相關疾病(例如，體重性病症，諸如肥胖，例如糖尿病，或脂質代謝病症)之症候的可能性。沒有發展出疾病、病症或病況，或減小與此疾病、病症或病況相關之症候的發展(例如，將該疾病或病症之臨床可接受規格上減小至少約 10%)，或顯現症候之延遲(例如，延遲幾天、幾週、幾個月或幾年)，係視為有效之預防。

【0187】如本文所用，術語「GPR75 相關疾病」係將會受益於 GPR75 之表現或活性減低的疾病或病症。術語「GPR75 相關疾病」係由 GPR75 基因表現或 GPR75 蛋白質產生造成或與其相關的疾病或病症。術語「GPR75 相關疾病」包括將會從 GPR75 基因表現或 GPR75 蛋白質活性的減少受益之疾病、病症或病況。GPR75 相關疾病之非限制性實例包括，例如，體重性病症，諸如肥胖。

【0188】如本文所用，「體重性病症」係與不正常或過度之脂肪蓄積及體重相關之病症。此類病症可包括肥胖、代謝性症候包括代謝症候群之非依賴性組成部分(例如，中心性肥胖、FBG/前驅糖尿病/糖尿病、高膽固醇血症、高三酸甘油酯血症及高需要)、低代謝狀態、甲狀腺功能低下、尿毒症以及其他與體重增加(包括快速體重增加)、維持體重減輕或在體重減輕後體重恢復風險相關的其他病況。

【0189】 體重可以藉由身體質量指數(BMI)評估，該至少為人之體重(以公斤計)除以他或她的身高(以公尺計)之平方。BMI 低於約 18.5 指示受試者為體重過輕，BMI 為約 18.5 至約 <25 指示受試者為正常體重；BMI 為約 25.0 至約 <30 至少受試者為超重，而 BMI 為約 30.0 或更高指示受試者為肥胖。

【0190】 其他疾病或病況涉及為熟練技術人士將顯而易見且處於本揭露之範疇內的體重性病症。

【0191】 GPR75 相關疾病(例如，體重性病症，諸如肥胖)之症候包括，例如，過量之脂肪質量、約 25 或更高之 BMI、身體質量指數之增加、較低之代謝速率、中心性肥胖、FBG/前驅糖尿病/糖尿病、高膽固醇血症、高三酸甘油酯血症及高血壓、胰島素抗性、調節血糖之能力的缺失、高血糖水平、糖尿病及/或過度增重。關於各種疾病或病況之徵象及症候的進一步細節提供於本文中並且係本領域中習知者。

【0192】 如本文中所用，「治療有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述之量，當將該 RNAi 劑投予患有 GPR75 相關疾病之受試者時，其量足以有效治療該疾病(例如，藉由削弱、緩解或維持現有疾病或疾病之一種或多種症狀)。「治療有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投予、疾病及其嚴重性及待治療之受試者的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

【0193】 如本文中所用，「預防有效量」旨在包括 RNAi 劑之下述之量，當將該 RNAi 劑投予患有 GPR75 相關病症(例如，體重性病症，例如肥胖)之受試者時，其量足以預防或改善該疾病或該疾病之一種或多種症

候。緩解該疾病包括減緩該疾病之進程或減輕後來發展之疾病的嚴重性。

「預防有效量」可依據 RNAi 劑、該劑如何投予、疾病風險程度及待治療之患者的病史、年齡、體重、家族病史、基因組成、先前治療或並行治療之類型(若存在)、以及其他個體特徵而變。

【0194】「治療有效量」或「預防有效量」亦包括以可用於任意治療之合理效益/風險比率產生一些所欲之局部或系統性效果之 RNAi 劑的量。本揭露之方法中採用之 RNAi 劑可以足以產生可用於此治療之合理效益/風險比率的量投予。

【0195】本文中，短語「藥學上可接受」用以指代彼等化合物、材料、組成物或劑型，其處於適用於與人類受試者及動物受試者之組織接觸而無過度毒性、刺激、過敏反應或其他問題或併發症之所謂醫療判斷之範疇內，與合理效益/風險比率相稱。

【0196】如本文中所用，短語「藥學上可接受之載劑」意指藥學上可接受之材料、組成物或媒介，如液體或固體填料、稀釋劑、賦形劑、製造助劑(例如，潤滑劑、滑石、硬脂酸鎂、硬脂酸鈣、硬脂酸鋅、或硬脂酸)、或溶劑封裝材料，其牽涉入將受試化合物從一個器官或身體部分攜帶或運送至另一器官或身體部分。就與製劑之其他成分相容且不損害被治療之受試者而言，每一載劑必須係「可接受」者。可用作藥學上可接受之載劑之材料的一些實例包括：(1) 糖類，如乳糖、葡萄糖及蔗糖；(2) 澱粉類，如玉米澱粉及馬鈴薯澱粉；(3) 纖維素及其衍生物，如羧甲基纖維素鈉、乙基纖維素及醋酸纖維素；(4) 黃耆膠粉末；(5) 麥芽；(6) 明膠；(7) 潤滑劑，如硬脂酸鎂、十二烷基硫酸鈉及滑石；(8) 賦形劑，如可可脂及栓蠟；(9)

油類，如花生油、棉籽油、葵花籽油、芝麻油、橄欖油及大豆油；(10) 二醇類，如丙二醇；(11) 多元醇類，如甘油、山梨醇、甘露醇及聚乙二醇；(12) 酯類，如油酸乙酯及月桂酸乙酯；(13) 瓊脂；(14) 緩衝劑，如氫氧化鎂及氫氧化鋁；(15) 海藻酸；(16) 無熱原水；(17) 等張鹽水；(18) 林格氏溶液；(19) 乙醇；(20) pH 緩衝溶液；(21) 聚酯類、聚碳酸酯類或聚酞類；(22) 增積劑，如多肽及胺基酸類；(23) 血清組分，如血清白蛋白、HDL 及 LDL；以及(22) 藥學製劑中採用之其他非毒性相容物質。用於肺部遞送的藥學上可接受之載劑係本領域中已知者且將依據該劑之所欲沉積部位(例如，上呼吸道系統或下呼吸道系統)及待用於遞送之裝置的類型(例如，噴霧器、霧化器、乾粉吸入器)。

【0197】如本文中所用，術語「樣本」包括從受試者單離之相似體液、細胞或組織的集合，以及受試者體內存在之體液、細胞或組織。生物體液之實例包括血液、血清及漿膜液、血漿、支氣管液、痰、腦脊液、眼液、淋巴液、尿液、唾液、精液等。組織樣本可包括來自組織、器官或局部區域之樣本。舉例而言，樣本可源自特定之器官、器官之部分、或彼等器官內之體液或細胞。於某些態樣中，樣本可源自腦(例如，全腦或腦之某些節段，例如，紋狀體，或腦內之某些類型之細胞，諸如神經元或膠質細胞(星狀細胞、寡樹突細胞、微膠質細胞))。於其他態樣中，「源自受試者之樣本」指代源自受試者之肝組織(或其亞組分)。於一些態樣中，「源自受試者之樣本」指代從該受試者抽取之血液或自其衍生之血漿或血清。於進一步之態樣中，「源自受試者之樣本」指代源自受試者之腦組織(或其亞組分)或視網膜組織(或其亞組分)。

II. 本揭露之 RNAi 劑

【0198】 本文所揭示者係抑制 GPR75 基因之表現的 RNAi 劑。於一個態樣中，RNAi 劑包括用於抑制細胞中 GPR75 基因表現之雙股核糖核酸 (dsRNA) 分子，該細胞諸如處於受試者例如哺乳動物諸如患有 GPR75 相關病症(例如，體重性病，例如肥胖)之受試者或處於 GPR75 相關疾病風險下之受試者的體內。

【0199】 該 dsRNA 包括具有互補區域之反義股，該互補區域與在 GPR75 基因表現中所形成之標靶 RNA 例如 mRNA 的至少一部分互補。互補區域為約 15 至 30 個核苷酸之長度或更短。當與表現 GPR75 基因之細胞接觸時，RNAi 劑將該 GPR75 基因(例如，人類基因、靈長動物基因、非靈長動物基因)之表現抑制至少 50%，如藉由例如 PCR 或基於分支鏈 DNA (bdNA) 之方法所分析，或藉由基於蛋白質之方法所分析，例如藉由使用例如西方印漬術之免疫螢光分子或流式細胞術所分析。於某些態樣中，表現被抑制至少 50%，如藉由 Dual-Glo 螢光素酶檢定法於實施例 1 中檢定者，其中，siRNA 係 10 nM 濃度。

【0200】 dsRNA 包括兩個 RNA 股，其在 dsRNA 所採用之條件下，該兩股互補並雜交以形成雙螺旋結構。dsRNA 之一股(反義股)包括互補區域，該互補區域與標靶序列實質上互補且通常完全互補。舉例而言，標靶序列可源自在 GPR75 基因表現過程中形成之 mRNA 序列。另一股(正義股)包括一區域，該區域與該反義股互補，使得當在適宜條件下組合時，這兩股雜交並形成雙螺旋結構。如本文中他處所述且相關技藝上已知，亦可包括

dsRNA 之互補序列亦可作為單個核酸分子之自互補區域而保護，與作為獨立之寡核苷酸相反。

【0201】通常，該雙螺旋結構係 15 至 30 個鹼基對之長度，例如 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、18 至 25、18 至 24、18 至 23、18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23、或 21 至 22 個鹼基對之長度。於某些態樣中，雙螺旋結構係 18 至 25 個鹼基對之長度，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 個鹼基對之長度，例如，19 至 21 個鹼基對之長度。上文引述之範圍及長度之間的範圍及長度亦視為本揭露之一部分。

【0202】同樣，與標靶序列互補之區域係 15 至 30 個核苷酸之長度，如 15 至 29、15 至 28、15 至 27、15 至 26、15 至 25、15 至 24、15 至 23、15 至 22、15 至 21、15 至 20、15 至 19、15 至 18、15 至 17、18 至 30、18 至 29、18 至 28、18 至 27、18 至 26、18 至 25、18 至 24、18 至 23、

18 至 22、18 至 21、18 至 20、19 至 30、19 至 29、19 至 28、19 至 27、19 至 26、19 至 25、19 至 24、19 至 23、19 至 22、19 至 21、19 至 20、20 至 30、20 至 29、20 至 28、20 至 27、20 至 26、20 至 25、20 至 24、20 至 23、20 至 22、20 至 21、21 至 30、21 至 29、21 至 28、21 至 27、21 至 26、21 至 25、21 至 24、21 至 23、或 21 至 22 個核苷酸之長度，例如，19 至 23 個核苷酸之長度或 21 至 23 個核苷酸之長度。上文引述之範圍及長度之間的範圍及長度亦視為本揭露之一部分。

【0203】於一些態樣中，dsRNA 係 15 至 23 個核苷酸之長度或 25 至 30 個核苷酸之長度。通常，該 dsRNA 足夠長，以用作切丁酶之受質。舉例而言，該領域中係習知，長度超過約 21 至 23 個核苷酸之 dsRNA 可用作切丁酶之受質。具有該領域通常知識者亦應認知，作為裂解標靶之 RNA 區域最通常係較大 RNA 分子之一部分，一般為 mRNA 分子。若相關，則 mRNA 標靶之「一部分」係 mRNA 標靶之接續序列，其長度足以令其作為 RNAi 引導之裂解(亦即，經由 RISC 途徑裂解)的受質。

【0204】該領域之熟練人士亦應認知，雙螺旋區域係 daRNA 之主要官能部分，例如，雙螺旋區域係約 15 至 36 個鹼基對，例如，15 至 36、15 至 35、15 至 34、15 至 33、15 至 32、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 個鹼基對，例如，19 至 21 個鹼基對。因此，於一態樣中，就其被加工為例如 15 至 30 個鹼基對之以用於裂解之所欲 RNA 為靶向之官能性雙螺旋的程度而言，具有超過 30 個鹼基對之 RNA 分子或 RNA 分子之複合體係 dsRNA。因此，具有通常知識之技術人員將認知，於一個態樣中，miRNA 係 dsRNA。於另一態樣中，dsRNA 不是天然出現之 miRNA。於另一態樣中，可用於靶向 GPR75 表現之 RNAi 劑並非藉由較大 dsRNA 之裂解而在標靶細胞內生成。

【0205】本文中所述之 dsRNA 可復包括一個或多個具有例如 1、2、3 或 4 個核苷酸之單股核苷酸突出。核苷酸突出可包含核苷酸/核苷類似物或由其組成，其中該核苷酸/核苷類似物包括去氧核苷酸/核苷。該(等)突出可位於正義股、反義股或其任意組合。此外，突出之核苷酸可存在於 dsRNA 之反義股或正義股之 5' 末端、3' 末端或兩端。於某些態樣中，更長、延伸之突出係可能者。

【0206】 dsRNA 可藉由如下文進一步檢討之該領域中已知之標準方法合成，例如：使用自動化 DNA 合成儀，例如，自 Biosearch、Applied Biosystems, Inc. 商購者。

【0207】本發明之 iRNA 化合物可使用兩個步驟製程製備。首先，分開製備雙股 RNA 分子之個體股。隨後，將該等組分股低溫黏合。該 siRNA 化合物之個體股可使用溶液相有機合成、固相有機合成或兩者製備。有機

合成提供優點在於容易製備包含非天然或經修飾之核苷酸的寡核苷酸股。本發明之單股寡核苷酸可使用溶液相有機合成、固相有機合成或兩者製備。

【0208】 siRNA 可藉由各種方法產生，例如，大體積產生。示例性方法包括：有機合成及 RNA 裂解，例如，體外裂解。

【0209】 siRNA 可藉由下述者作成獨立地合成單股 RNA 分子或雙股 RNA 分子之每一相應股，之後可將組分股低溫黏合。

【0210】 大的生物反應器，例如，來自 Pharmacia Biotec AB (Uppsala Sweden)之 OligoPilot II，可用來產生大量的給定 siRNA 之特定 RNA 股。OligoPilot II 反應器可使用僅 1.5 莫耳過量之亞磷醯胺核苷酸有效地偶聯核苷酸。為了作成 RNA 股，使用了核糖核苷酸醯亞胺化物。單體加成之標準循環可用來合成用於 siRNA 的 21 至 23 個核苷酸之股。典型地，分開製備兩個互補之股，隨後低溫黏合，例如，在從固體支撐物釋放並去保護之後。

【0211】 有機合成可用來產生離散之 siRNA 碎片。碎片與 GPR75 基因之互補性可精確地具化。舉例而言，碎片可與包括多形性例如單一核苷酸多形性之區域互補。再者，多形性之位置可精確界定。於一些態樣中，多形性係位於內部區域中，例如，從一個或兩個末端其至少 4、5、7 或 9 個核苷酸處。

【0212】 於一個態樣中，所生成之 RNA 經小心地純化以去除末端，例如，使用切丁酶或可比之 RNase III 系活性，在體外將 iRNA 裂解為 siRNA。舉例而言，dsiRNA 可於來自果蠅之抽出物中進行體外溫育，或使用經純化之組分例如經純化之 RNase 或 RISC 複合體(RNA 誘導型緘默化複合體)

進行。參見，例如，Ketting *et al. Genes Dev* 2001 Oct 15 ; 15(20):2654-9 和 Hammond *Science* 2001 Aug 10 ; 293(5532):1146-50。

【0213】 dsiRNA 裂解通常產生複數個 siRNA 碎片，每個碎片具體為源 dsiRNA 分子的 21 至 23 個核苷酸之片段。舉例而言，可存在 siRNA，其係包括與源 dsiRNA 分子之重疊區域及相鄰區域互補的序列。

【0214】 無論合成方法如何，siRNA 製劑可於適用於配製之溶液(例如，水溶液或有機溶液)中製備。舉例而言，siRNA 製劑可經沉澱並且再溶解於純雙蒸餾水中並凍乾。隨後，將乾燥之 siRNA 重新懸浮於適用於預期配製過程之溶液中。

【0215】 一方面，本揭露之 dsRNA 包括至少兩個核苷酸序列：正義序列及反義序列。GPR75 之正義股序列係選自表 2 至 5 之任一者中提供之序列所組成之群組，而該正義股之反義股之相應核苷酸序列可選自表 2 至 5 中任一者之序列所組成之群組。於此方面，該兩個序列之一者與該兩個序列之另一者互補，且該等序列之一者與在 GPR75 基因之表現中生成之 mRNA 序列實質上互補。如是，於此方面，針對 GPR75，dsRNA 將包括兩個寡核苷酸，其中一個寡核苷酸揭示為表 2 至 5 中任一者之正義股(過客股)，而第二個寡核苷酸揭示為表 2 至 5 中任一者之正義股的對應反義股(導引股)。

【0216】 於一個態樣中，該 dsRNA 之實質上互補序列包含在獨立之寡核苷酸。於另一態樣中，該 dsRNA 之實質上互補序列包含在單個寡核苷酸。

【0217】應理解，儘管本文提供之序列係揭示為經修飾或經複合之序列，但本揭露之 RNAi 劑之 RNA 例如本揭露之 dsRNA 可包含表 2 至 5 中任一者中詳述之任一序列，其係未經修飾、未經複合、或經不同於表中所述者之修飾或經不同於表中所述者之複合者。一個或多個親脂性配體或者一個或多個 GalNAc 配體可包括於本申請所提供之 RNAi 劑的任意位置中。

【0218】熟練之人士應知悉，具有約 20 至 23 個鹼基對如 21 個鹼基對之雙螺旋結構的 dsRNA 業經被稱為在誘導 RNA 干擾中尤其有效 (Elbashir *et al.*, (2001) *EMBO J.*, 20:6877-6888)。惟，其他人業經發現，更短或更長之 RNA 雙螺旋結構亦可係有效者 (Chu and Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719; Kimet *al.* (2005) *Nat Biotech* 23:222-226)。於上文揭示之態樣中，憑藉本文中提供之寡核苷酸序列之天性，本文所揭示之 dsRNA 可包括至少一個長度為最少 21 個核苷酸之股。可合理地預期，僅在一端或兩端減去幾個核苷酸之較短雙螺旋可能具備與上述 dsRNA 類似之效果。因此，具有源自本文所提供之一個序列之至少 15、16、17、18、19、20 或更多個接續核苷酸之序列，且使用以 Cos7 及 10 nM 濃度之 RNA 劑進行之體外檢定以及如本文實施例中提供之 PCR 檢定所測的其抑制 GPR75 基因表現之能力與包含全序列 dsRNA 相異不超過約 5%、10%、15%、20%、25% 或 30% 的 dsRNA，係預期處於本揭露之範疇內。

【0219】此外，本文所揭示之 RNA 鑑定 GPR75 轉錄本中易受 RISC 媒介之裂解影響的位點。如是，本揭露復提出位於此位點內之 RNAi 劑。如本文中所用，如果 RNAi 劑促進該特定位點內任意處之轉錄本的裂解，則稱該 RNAi 劑為以 RNA 轉錄本之特定位點內為靶向。此 RNAi 劑通常將

包括來自本文所提供之一個序列的至少約 15 個接續核苷酸，諸如至少 19 個核苷酸，該接續核苷酸與取自 GPR75 基因中所選擇序列之接續區域的另一核苷酸序列偶聯。

【0220】本文中所揭示之 RNAi 劑可含有一個或多個與標靶序列之誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 3 個誤配(亦即，3、2、1 或 0 個誤配)。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 2 個誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有不超過 1 個誤配。於一個態樣中，本文中所揭示之 RNAi 劑含有 0 個誤配。於某些態樣中，如果 RNAi 劑之反義股含有與標靶序列之誤配，則該誤配較佳可被限定在從互補區域之 5' 末端或 3' 末端計數之最末 5 個核苷酸內。例如，於此類態樣中，對於 23 個核苷酸之 RNAi 劑，與 GPR75 基因互補區域之股通常不含位於中心 13 個核苷酸處之任意誤配。本文中揭示之方法或該領域中已知之方法可用以確定，含有與標靶序列之誤配的 RNAi 劑在抑制 GPR75 基因之表現中是否有效。慮及具有誤配之 RNAi 劑在抑制 GPR75 基因之表現中的效力係重要者，尤其若 GPR75 基因中之特定互補區域係已知突變者。

III. 本揭露的經修飾之 RNAi 劑

【0221】於一態樣中，本揭露之 RNAi 劑之 RNA 如 dsRNA 係未修飾者，且不包含例如該領域中已知及本文所述之化學修飾或接合。於一些態樣中，本揭露之 RNAi 劑之 RNA 如 dsRNA 經化學修飾以增強安定性或其他有益特徵。於本揭露之某些態樣中，本揭露之 RNAi 劑之實質上全部核苷酸係經修飾。於本揭露之其他態樣中，本揭露之 RNAi 劑之全部核苷酸

係經修飾。本揭露之其「實質上全部核苷酸係經修飾者」的 RNAi 劑大多數並非全部經修飾，且可包括不超過 5、4、3、2 或 1 個未經修飾之核苷酸。於本揭露之又其他態樣中，本揭露之 RNAi 劑可包括不超過 5、4、3、2 或 1 個經修飾之核苷酸。

【0222】本揭露提出之核酸可藉由該領域中良好構建之方法合成或修飾，該方法係例如彼等於《現代核酸化學技術》(“Current protocols in nucleic acid chemistry,” Beaucage, S.L.*et al.*(Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA)中揭示者，該文獻藉由引用而併入本文。修飾包括，舉例而言，末端修飾，例如，5’末端修飾(磷醯化、接合、反向鏈結)或 3’末端修飾(接合、DNA 核苷酸、反向鏈結等)；鹼基修飾，例如，替換為安定化鹼基、去安定化鹼基、或與同伴之拓展物進行鹼基配對之鹼基，移除鹼基(無鹼基之核苷酸)，或接合鹼基；糖修飾(例如，在 2’-位置或 4’-位置)或糖之取代；或骨幹修飾，包括磷酸二酯類鏈結之修飾或取代。可用於本文所述態樣中之 RNAi 劑之具體實例包括，但不限於，含有經修飾之骨幹或不合天然核苷酸間鏈結之 RNA。具有經修飾之骨幹的 RNA 除此之外亦包括彼等在骨幹中不具有磷原子者。對於本說明書之目的，且如該領域中有時參照者，在其核苷酸間骨幹中不具有磷原子的經修飾之 RNA 亦可視為寡核苷酸。於一些態樣中，經修飾之 RNAi 劑將在其核苷酸間骨幹中具有磷原子。

【0223】經修飾之 RNA 骨幹包括，舉例而言，具有正常 3’-5’鏈結之硫代磷酸酯類、手性硫代磷酸酯類、二硫代磷酸酯類、磷酸三酯類、胺基烷基磷酸三酯類、包括 3’-伸烷基磷酸酯類及手性磷酸酯類之甲基及其他烷

基磷酸酯類、磷酸酯類、包括 3'-胺基磷醯胺化物及胺基烷基磷醯胺化物之磷醯胺化物、硫羰基磷醯胺化物類、硫羰基烷基磷酸酯類、硫羰基烷基磷酸三酯類、以及硼磷酸酯類；此等之 2'-5'鏈結類似物；以及彼等具有反向極性者，其中相鄰至核苷單元對係將 3'-5'鏈結至 5'-3'或將 2'-5'鏈結至 5'-2'。亦可包括多種鹽類例如鈉鹽、混合鹽類及游離酸形式。

【0224】 教示上述含磷鏈結之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 3,687,808 號、第 4,469,863 號、第 4,476,301 號、第 5,023,243 號、第 5,177,195 號、第 5,188,897 號、第 5,264,423 號、第 5,276,019 號、第 5,278,302 號、第 5,286,717 號、第 5,321,131 號、第 5,399,676 號、第 5,405,939 號、第 5,453,496 號、第 5,455,233 號、第 5,466,677 號、第 5,476,925 號、第 5,519,126 號、第 5,536,821 號、第 5,541,316 號、第 5,550,111 號、第 5,563,253 號、第 5,571,799 號、第 5,587,361 號、第 5,625,050 號、第 6,028,188 號、第 6,124,445 號、第 6,160,109 號、第 6,169,170 號、第 6,172,209 號、第 6,239,265 號、第 6,277,603 號、第 6,326,199 號、第 6,346,614 號、第 6,444,423 號、第 6,531,590 號、第 6,534,639 號、第 6,608,035 號、第 6,683,167 號、第 6,858,715 號、第 6,867,294 號、第 6,878,805 號、第 7,015,315 號、第 7,041,816 號、第 7,273,933 號、第 7,321,029 號、及美國專利案 RE39464 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0225】 其中不包括磷原子之經修飾之 RNA 骨幹具有藉由短鏈烷基或環烷基類核苷酸間鏈結、混合雜原子、及烷基或環烷基類核苷酸間鏈結、或一個或多個短鏈雜原子或雜環類核苷酸間鏈結形成的骨幹。此等係包括

彼等具有 N-嗎啉基鏈結(部分地由核苷至糖部分形成);矽氧烷骨幹;硫醚、亞砷及砷骨幹;甲醯基及硫代甲醯基骨幹;亞甲基甲醯基及硫代甲醯基骨幹;含有伸烷基之骨幹;胺基磺酸酯骨幹;亞甲基亞胺基及亞甲基胍基骨幹;磺酸酯及磺醯胺骨幹;醯胺骨幹;以及其它具有混合之 N、O、S 及 CH₂ 組分部分者。

【0226】 教示上述寡核苷酸之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,034,506 號、第 5,166,315 號、第 5,185,444 號、第 5,214,134 號、第 5,216,141 號、第 5,235,033 號、第 5,64,562 號、第 5,264,564 號、第 5,405,938 號、第 5,434,257 號、第 5,466,677 號、第 5,470,967 號、第 5,489,677 號、第 5,541,307 號、第 5,561,225 號、第 5,596,086 號、第 5,602,240 號、第 5,608,046 號、第 5,610,289 號、第 5,618,704 號、第 5,623,070 號、第 5,663,312 號、第 5,633,360 號、第 5,677,437 號、及第 5,677,439 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0227】 於其他態樣中，適宜之 RNA 模擬物預期用於 RNAi 劑中，其中該核苷酸單元之糖及核苷酸間鏈結兩者亦即骨幹係置換為新穎基團。鹼基單元維持與適宜之核酸標靶化合物雜交。一種此類寡聚化合物，業經顯示具有優異雜交特性之 RNA 模擬物，係指代為胜肽核酸 (PNA)。於 PNA 化合物中，RNA 之糖骨幹替換為含有醯胺之骨幹，尤其是胺基乙基甘油骨幹。核酸鹼基得以保留，且直接或間接地鏈結至骨幹之醯胺部分的氮雜氮原子。教示 PNA 化合物之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 5,539,082 號、第 5,714,331 號、及第 5,719,262 號，其各自之整體內容

藉由引用而併入本文。適用於本揭露之 RNAi 劑中之額外之 PNA 化合物揭示於，舉例而言，Nielsen et al., *Science*, 1991, 254, 1497-1500 中。

【0228】本揭露提出之一些態樣包括具有硫代磷酸酯骨幹之 RNA 以及具有雜原子管之寡核苷酸，尤其是上文引用之美國專利第 5,489,677 號的 $--CH_2--NH--CH_2-$ 、 $--CH_2--N(CH_3)--O--CH_2--$ [稱為亞甲基(甲基亞胺基)或 MMI 骨幹]、 $--CH_2--O--N(CH_3)--CH_2--$ 、 $--CH_2--N(CH_3)--N(CH_3)--CH_2-$ 及 $--N(CH_3)--CH_2--CH_2--$ ，以及上文引用之美國專利第 5,602,240 號的醯胺骨幹。於一些態樣中，本文提出之 RNA 具有上文引用之美國專利第 5,034,506 號的 N-嗎啉基骨幹結構。天然磷酸二酯骨幹可以表示為 $O-P(O)(OH)-OCH_2-$ 。

【0229】經修飾之 RNA 亦可含有一個或多個經取代之糖部分。本文提出之 RNAi 劑例如 dsRNA 可包括位於 2' 位置之下述之一者：OH；F；O-、S-或 N-烷基；O-、S-或 N-烯基；O-、S-或 N-炔基；或 O-烷基-O-烷基，其中該烷基、烯基及炔基可係經取代或未經取代之 C_1 至 C_{10} 烷基或 C_2 至 C_{10} 烯基及炔基。例示性之適宜修飾包括 $O[(CH_2)_nO]_mCH_3$ 、 $O(CH_2)_nOCH_3$ 、 $O(CH_2)_nNH_2$ 、 $O(CH_2)_nCH_3$ 、 $O(CH_2)_nONH_2$ 、及 $O(CH_2)_nON[(CH_2)_nCH_3]_2$ ，其中 n 及 m 係從 1 至約 10。於其他態樣中，dsRNA 包括位於 2' 位置之下述之一者： C_1 至 C_{10} 低級烷基、經取代之低級烷基、烷芳基、芳烷基、O-烷芳基或 O-芳烷基、SH、SCH₃、OCN、Cl、Br、CN、CF₃、OCF₃、SOCH₃、SO₂CH₃、ONO₂、NO₂、N₃、NH₂、雜環烷基、雜環烷基芳基、胺基烷基胺基、聚烷基胺基、經取代之矽烷基、RNA 裂解基團、保護基團、嵌入劑、用於改善 RNAi 劑之藥物動力學特性之基團、或用於改善 RNAi

劑之藥效動力學特性之基團、以及其它具有類似特性之取代基。於一些態樣中，該修飾係包括 2'-甲氧基乙氧基(2'-O--CH₂CH₂OCH₃，亦稱為 2'-O-(2-甲氧基乙基)或 2'-MOE) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504)，亦即，烷氧基-烷氧基。另一例示性修飾係 2'-二甲基胺基氧乙氧基，亦即，O(CH₂)₂ON(CH₃)₂ 基團，亦稱為 2'-DMAOE，如下文實施例中所述；以及 2'-二甲基胺基乙氧基乙氧基(該領域中亦稱為 2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基或 2'-DMAEOE)，亦即，2'-O--CH₂--O--CH₂--N(CH₃)₂。其他示例性修飾包括：5'-Me-2'-F 核苷酸、5'-Me-2'-OMe 核苷酸、5'-Me-2'-去氧核苷酸(於此三組中，皆係 R 異構物與 S 異構物兩者)；2'-烷氧基烷基；以及 2'-NMA(N-甲基乙醯胺)。

【0230】 其它修飾包括 2'-甲氧基(2'-OCH₃)、2'-胺基丙氧基(2'-OCH₂CH₂CH₂NH₂)、2'-O-十六烷基及 2'-氟(2'-F)。類似之修飾亦可在 RNAi 劑之 RNA 上之其他位置作成，特定言之在 3'端核苷酸之糖的 3' 位置或 2'-5'鏈結之 dsRNA 中以及 5'端核苷酸之 5'位置。iRNA 亦可具有替代呋喃戊糖基糖的糖模擬物如環丁基部分。教示此類經修飾之糖結構之製備的代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 4,981,957 號、第 5,118,800 號、第 5,319,080 號、第 5,359,044 號、第 5,393,878 號、第 5,446,137 號、第 5,466,786 號、第 5,514,785 號、第 5,519,134 號、第 5,567,811 號、第 5,576,427 號、第 5,591,722 號、第 5,597,909 號、第 5,610,300 號、第 5,627,053 號、第 5,639,873 號、第 5,646,265 號、第 5,658,873 號、第 5,670,633 號、及第 5,700,920 號，此等中之某些為本申請所共有。前述者各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0231】本揭露之 RNAi 劑亦可包括核酸鹼基(該領域中一般簡稱為「鹼基」)修飾或取代。如本文中所用，「未經修飾」或「天然」核酸鹼基包括嘌呤鹼基腺嘌呤(A)及鳥嘌呤(G)，以及嘧啶鹼基胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)及尿嘧啶(U)。經修飾之核酸鹼基包括其他合成及天然核酸鹼基，如 5-甲基胞嘧啶(5-me-C)；5-羥甲基胞嘧啶；黃嘌呤；次黃嘌呤；2-胺基腺嘌呤；腺嘌呤及鳥嘌呤之 6-甲基及其他烷基衍生物；腺嘌呤及鳥嘌呤之 2-丙基及其他烷基衍生物；2-硫尿嘧啶、2-硫胸腺嘧啶、2-硫胞嘧啶；5-鹵尿嘧啶、5-鹵胞嘧啶；5-丙炔基尿嘧啶、5-丙炔基胞嘧啶；6-偶氮尿嘧啶、6-偶氮胞嘧啶、6-偶氮胸腺嘧啶；5-尿嘧啶(假尿嘧啶)；4-硫尿嘧啶；8-鹵、8-胺基、8-巰基、8-硫烷基、8-羥基及其他 8-取代之腺嘌呤及鳥嘌呤；5-鹵尤其是 5-溴、5-三氟甲基及其他 5-取代之尿嘧啶及胞嘧啶；7-甲基鳥嘌呤及 7-甲基腺嘌呤；8-氮雜鳥嘌呤及 8-氮雜腺嘌呤；7-去氮鳥嘌呤及 7-去氮腺嘌呤；以及 3-去氮鳥嘌呤及 3-去氮腺嘌呤。其他核酸鹼基包括彼等揭露於美國專利第 3,687,808 號中者；彼等揭露於《生物化學、生物技術及醫藥中之經修飾之核苷酸》(Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008)中者；彼等揭露於《聚合物科學及工程之簡明百科》(The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering, pages 858-859, Kroschwitz, J. L, ed. John Wiley & Sons, 1990)中者；此等由 Englisch *et al.*, (1991) *Angewandte Chemie, International Edition*, 30:613 揭露者；以及彼等由《dsRNA 研究及應用》第 15 章第 289 至 302 頁(Sanghvi, Y S., Chapter 15, dsRNA Research and Applications, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC

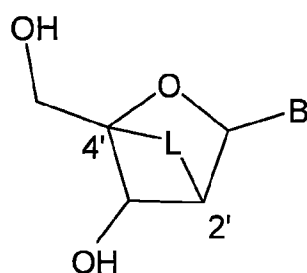
Press, 1993)揭露者。此等核酸鹼基中之某些尤其可用於增加本揭露提出之寡聚化合物的結合親和性。此等包括 5-取代之嘧啶、6-氮雜嘧啶及 N-2、N-6 及 O-6 取代之嘌呤，包括 2-胺基丙基腺嘌呤、5-丙基尿嘧啶及 5-丙基胞嘧啶。5-甲基胞嘧啶取代業經顯示將核酸雙螺旋安定性增加 0.6 至 1.2°C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., dsRNA Research and Applications, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278)且係示例性之鹼基取代，尤其是當與 2'-O-甲氧基乙基糖修飾合用時。

【0232】 教示某些上述經修飾之核酸鹼基以及其他經修飾之核酸鹼基的代表性美國專利包括但不限於，上述之美國專利第 3,687,808 號、第 4,845,205 號、第 5,130,30 號、第 5,134,066 號、第 5,175,273 號、第 5,367,066 號、第 5,432,272 號、第 5,457,187 號、第 5,459,255 號、第 5,484,908 號、第 5,502,177 號、第 5,525,711 號、第 5,552,540 號、第 5,587,469 號、第 5,594,121 號、第 5,596,091 號、第 5,614,617 號、第 5,681,941 號、第 5,750,692 號、第 6,015,886 號、第 6,147,200 號、第 6,166,197 號、第 6,222,025 號、第 6,235,887 號、第 6,380,368 號、第 6,528,640 號、第 6,639,062 號、第 6,617,438 號、第 7,045,610 號、第 7,427,672 號、及第 7,495,088 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0233】 本揭露之 RNAi 劑亦可經修飾，以包括一個或多個雙環糖部分。「雙環糖」係以藉由將兩個作為或相鄰或非相鄰原子之碳橋接所形成之環修飾的呋喃糖基環。「雙環核苷」(「BNA」)係核苷，其具有包含藉由將糖環之兩個或相鄰或非相鄰之碳橋聯所形成之環的糖部分(包含連結兩個碳原子之橋)，從而形成雙環系統。於某些態樣中，橋視需要經由 2'非環

氧原子連結糖環之 4' 碳與 2' 碳。因此，於一些態樣中，本揭露之劑可包括一個或多個鎖定之核酸(LNA)。鎖定之核酸係具有經修飾之核糖部分的核苷酸，其中該核糖部分包含連結 2' 碳與 4' 碳之外接橋。換言之，LNA 係包含雙環糖部分之核苷酸，其中該雙環糖部分包含 4'-CH₂-O-2' 橋。這一結構有效地將該核糖「鎖定」為 3'-環內結構之構形。將鎖定之核酸加至 siRNA 中業經顯示增加血清中 siRNA 安定性，且降低脫靶效應(Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193)。用於本揭露之多核苷酸之雙環核苷的實例包括而不限於，包含位於 4' 核糖基環原子與 2' 核糖基環原子間之橋的核苷。於某些態樣中，本揭露之反義多核苷酸劑包括一個或多個包含 4' 至 2' 橋之雙環核苷。

【0234】 鎖定之核苷酸可以藉由以下結構表示(忽略立體化學)，



其中 B 係核鹼基或經修飾之核鹼基，並且 L 係將核糖環之 2'-碳與 4'-碳鏈接的鏈結基團。

【0235】 此類 4' 至 2' 橋接至雙環核苷的實例包括但不限於，4'-(CH₂)—O-2'(LNA); 4'-(CH₂)—S-2'; 4'-(CH₂)₂—O-2'(ENA); 4'-CH(CH₃)—O-2'(亦指代為「受約束之乙基」或「cEt」)及 4'-CH(CH₂OCH₃)—O-2'(及

其類似物；參見，例如，美國專利第 7,399,845 號)；4'-C(CH₃)(CH₃)—O-2'(及其類似物；參見，例如，美國專利第 8,278,283 號)；4'-CH₂—N(OCH₃)-2'(及其類似物；參見，例如，美國專利第 8,278,425 號)；4'-CH₂—O—N(CH₃)-2' (參見，例如，美國專利申請第 2004/0171570 號)；4'-CH₂—N(R)—O-2'，其中 R 係 H、C₁-C₁₂ 烷基、或氮保護基團(參見，例如，美國專利第 7,427,672 號)；4'-CH₂—C(H)(CH₃)-2'(參見，例如，*Chattopadhyaya et al., J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134)；亦即 4'-CH₂—C(=CH₂)-2'(及其類似物；參見，例如，美國專利第 8,278,426 號)。前述者各自之整體內容藉由引用併入本文。

【0236】 教示鎖定之核酸核苷酸之製備的其他代表性美國專利及美國專利公開包括但不限於下列者：美國專利第 6,268,490 號、第 6,525,191 號、第 6,670,461 號、第 6,770,748 號、第 6,794,499 號、第 6,998,484 號、第 7,053,207 號、第 7,034,133 號、第 7,084,125 號、第 7,399,845 號、第 7,427,672 號、第 7,569,686 號、第 7,741,457 號、第 8,022,193 號、第 8,030,467 號、第 8,278,425 號、第 8,278,426 號、第 8,278,283 號、第 2008/0039618 號、及第 2009/0012281 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0237】 前述雙環核苷之任意者可製備為具有一種或多種立體化學糖組態，包括，舉例而言， α -L-呋喃核糖及 β -D-呋喃核糖(參見，WO 99/14226)。

【0238】 本揭露之 RNAi 劑亦可經修飾，以包括一個或多個約束之乙基核苷酸。如本文中所示，「約束之乙基核苷酸」或「cEt」包含雙環糖部

分之鎖定之核酸，其中該雙環糖部分包含 4'-CH(CH₃)-O-2' 橋(亦即，前述結構中之 L)。於一個態樣中，約束之乙基核苷酸係 S 構形，本文中指代為「S-cEt」。

【0239】本揭露之 RNAi 劑亦可經修飾，以包括一個或多個「構形上受限之核苷酸」(「CRN」)。CRN 係具有連結核糖之 C2' 碳與 C4' 碳或核糖之 C3' 碳與 C5' 碳之鏈結子的核苷酸類似物。CRN 將該核糖鎖定為適宜之構形，且增加其與 mRNA 之雜交親和性。該鏈接基足夠長，以將氧置於對於安定性及親和性為最優之位置，從而令核糖不易起皺。

【0240】教示上述 CRN 之製備的代表性專利公開包括但不限於，US 2013/0190383 及 WO 2013/036868，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0241】於一些態樣中，本揭露之 RNAi 劑包含一個或多個作為 UNA(未鎖定之核酸)核苷酸之單體。UNA 係未鎖定之非環狀核酸，其中該糖之任意鍵業經移除，形成未鎖定之「糖」殘基。於一實例中，UNA 亦涵蓋其 C1'-C4' 鍵(亦即，位於 C1' 碳與 C4' 碳間之碳-氧-碳共價鍵)業經移除之單體。於另一實例中，糖之 C2'-C3' 鍵(亦即，界於 C2' 碳與 C3' 碳之間的碳-碳共價鍵)業經移除(參見，*Nuc.Acids Symp.Series*, 52, 133-134 (2008) 及 Fluiters et al., *Mol.Biosyst.*, 2009, 10, 1039，藉由引用併入本文)。

【0242】教示 UNA 之製備的代表性美國專利公開包括但不限於，US 8,314,227 及美國專利公開第 2013/0096289 號、第 2013/0011922 號、及第 2011/03130200 號，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0243】對 RNA 分子之末端的潛在安定化修飾可包括 N-(乙醯基胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6-NHAc)、N-(己醯基-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6)、N-(乙醯基-4-羥基脯胺醇(Hyp-NHAc)、胸腺嘧啶-2'-O-去氧胸腺嘧啶(醜)、N-(胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6-胺基)、2-二十二醯基-尿苷-3'-磷酸酯、反向鹼基 dT(idT)等。這一修飾之揭露可見於 WO 2011/005861 中。

【0244】本揭露之 RNAi 劑之其他修飾包括 5'磷酸酯或 5'磷酸酯模擬物，例如位於 RNAi 劑之反義股上的 5'端磷酸酯或磷酸酯模擬物。合適之磷酸酯模擬物揭露於，舉例而言，美國專利公開第 2012/0157511 號中，其整體內容藉由引用而併入本文。

A. 本揭露之包含模體的經修飾之 RNAi 劑

【0245】於本揭露之某些方面，本揭露之雙股 RNAi 劑包括具有如例如 WO 2013/075035 中所揭露之化學修飾的劑，該申請之整體內容藉由引用而併入本文。如本文及 WO 2013/075035 中所示，可以將一個或多個位於三個接續核苷酸之三個相同修飾的模體引入 RNAi 劑之正義股或反義股中，尤其在裂解位點處或鄰近裂解位點處。於一些態樣中，RNAi 劑之正義股及反義股可以其他方式完全修飾。此等模體之引入中斷正義股或反義股之修飾模式(若存在)。RNAi 劑可視需要與親脂性配體例如 C16 配體例如於正義股接合。RNAi 劑可視需要經(S)-二醇核酸(GNA)修飾例如於反義股之一個或多個殘基修飾。

【0246】據此，本揭露提供能在體內抑制標靶基因組或基因(亦即，GPR75 基因)之表現的雙股 RNAi 劑。RNAi 劑包含正義股及反義股。RNAi

劑之每一股可 15 至 30 個核苷酸之長度。舉例而言，每一股可係 16 至 30 個核苷酸之長度、17 至 30 個核苷酸之長度、25 至 30 個核苷酸之長度、27 至 30 個核苷酸之長度、17 至 23 個核苷酸之長度、17 至 21 個核苷酸之長度、17 至 19 個核苷酸之長度、19 至 25 個核苷酸之長度、19 至 23 個核苷酸之長度、19 至 21 個核苷酸之長度、21 至 25 個核苷酸之長度、或 21 至 23 個核苷酸之長度。於某些態樣中，每一股係 19 至 23 個核苷酸之長度。

【0247】該正義股及反義股典型形成雙螺旋雙股 RNA(「dsRNA」)，本文中亦指代為「RNAi 劑」。RNAi 劑之雙螺旋區域可係 15 至 30 個核苷酸對之長度。舉例而言，該雙螺旋區域可係 16 至 30 個核苷酸對之長度、17 至 30 個核苷酸對之長度、27 至 30 個核苷酸對之長度、17 至 23 個核苷酸對之長度、17 至 21 個核苷酸對之長度、17 至 19 個核苷酸對之長度、19 至 25 個核苷酸對之長度、19 至 23 個核苷酸對之長度、19 至 21 個核苷酸對之長度、21 至 25 個核苷酸對之長度、或 21 至 23 個核苷酸對之長度。於另一實例中，該雙螺旋區域係選自 15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26 及 27 個核苷酸之長度。於一些態樣中，該雙螺旋區域係 19 至 21 個核苷酸之長度。

【0248】於一個態樣中，該 RNAi 劑可含有位於一股或兩股之 3' 末端、5' 末端或兩端的一個或多個突出區域或封端基團。該突出可係 1 至 6 個核苷酸之長度，例如，2 至 6 個核苷酸之長度、1 至 5 個核苷酸之長度、2 至 5 個核苷酸之長度、1 至 4 個核苷酸之長度、2 至 4 個核苷酸之長度、1 至 3 個核苷酸之長度、2 至 3 個核苷酸之長度、或 1 至 2 個核苷酸之長度。於一些態樣中，該核苷酸突出區域係 2 個核苷酸之長度。突出可係一股比另

一股長之結果，或係相同長度之兩股交錯之結果。突出可形成與標靶 mRNA 之誤配，或其可與待作為標靶之基因序列互補或可係另一序列。該第一股與第二股亦可藉由例如額外之鹼基接合以形成髮夾，或藉由其他非鹼基鏈結子接合。

【0249】於一個態樣中，該 RNAi 劑之突出區域中之核苷酸可各自獨立為經修飾或未經修飾之核苷酸，包括但不限於，2'-糖修飾，諸如，2-F、2'-O-甲基胸苷(T)及其任意組合。

【0250】舉例而言，TT 可係任一股之任一端之突出序列。突出可形成與標靶 mRNA 之誤配，或其可與待作為標靶之基因序列互補或可係另一序列。

【0251】位於該 RNAi 劑之正義股、反義股或兩個之 5'突出或 3'突出可經磷酸化。於一些態樣中，突出區域含有兩個核苷酸且在該兩個核苷酸之間具有硫代磷酸酯，其中，兩個核苷酸可係相同或相異。於一個態樣中，該突出係存在於正義股、反義股或兩股之 3'末端。於一個態樣中，這一 3'突出存在於反義股。於一個態樣中，這一 3'突出存在於正義股。

【0252】該 RNAi 劑可僅含有單個突出，該突出可強化該 RNAi 劑之干擾活性而不影響其整體安定性。舉例而言，該單股突出可位於正義股之 3'末端，或者位於反義股之 3'末端。該 RNAi 劑亦可具有鈍端，位於反義股之 5'末端(亦即，正義股之 3'末端)，反之亦然。通常，該 RNAi 之反義股具有位於 3'末端之核苷酸突出，且 5'端係鈍端。儘管不欲受縛於理論，但位於反義股 5'末端之不對稱鈍端以及反義股之 3'末端突出有助於將導引股加載至 RISC 製程中。

【0253】於一個態樣中，RNAi 劑係 19 個核苷酸長度之雙鈍端者，其中，正義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 7、8 及 9 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-F 修飾的模體。反義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 11、12 及 13 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾的模體。

【0254】於另一態樣中，RNAi 劑係 20 個核苷酸長度之雙鈍端者，其中，正義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 8、9 及 10 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-F 修飾的模體。反義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 11、12 及 13 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾的模體。

【0255】於又一態樣中，RNAi 劑係 21 個核苷酸長度之雙鈍端者，其中，正義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 9、10 及 11 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-F 修飾的模體。反義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 11、12 及 13 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾的模體。

【0256】於一個態樣中，RNAi 劑包含 21 個核苷酸之正義股及 23 個核苷酸之反義股，其中，正義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 9、10 及 11 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-F 修飾的模體；反義股含有至少一個位於從 5' 末端計數第 11、12 及 13 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾的模體，其中，RNAi 劑之一端係鈍端而另一端包含具有 2 個核苷酸之突出。於一個態樣中，具有兩個核苷酸之突出位於反義股之 3' 末端。當具有兩個核苷酸之突出位於反義股之 3' 末端時，在末端三個核苷酸之間可能存在兩個硫代硫酸酯類核苷酸間鏈結，其中，該三個核苷酸中之兩者係突出核苷酸，且第三個核苷酸與緊鄰該突出核苷酸之下一個核苷酸配對。於一個態樣中，RNAi 劑在正義股之 5' 末端及反義股之 5' 末端兩處

額外具有位於末端三個核苷酸之間的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。於一個態樣中，該 RNAi 劑之正義股及反義股中之每一個核苷酸，包括作為該等模體之一部分的核苷酸，皆係經修飾之核苷酸。於一個態樣中，每一殘基獨立經 2'-O-甲基或 2'-氟以例如交替模體方式修飾。視需要，RNAi 劑復包含配體(例如，親脂性配體，視需要 C16 配體)。

【0257】於一個態樣中，RNAi 劑包含正義股及反義股，其中，該正義股係 25 至 30 個核苷酸殘基之長度，其中第一股之從 5'端核苷酸(位置 1)開始計數之位置 1 至 23 包含至少 8 個核糖核苷酸；該反義股係 36 至 66 個核苷酸殘基之長度，且從 3'端核苷酸開始計數，在與正義股之位置 1 至 23 配對以形成雙螺旋之位置中包含至少 8 個核糖核苷酸；其中至少反義股之 3'端核苷酸未與正義股配對，且至多 6 個接續之 3'端核苷酸未與正義股配對，從而形成具有 1 至 6 個核苷酸之 3'單股突出；其中反義股之 5'端包含 10 至 30 個為與正義股配對之接續核苷酸，從而形成具有 10 至 30 個核苷酸之單股 5'突出；其中，當將該正義股與反義股對準以進行最大互補時，至少該正義股之 5'端核苷酸及 3'端核苷酸與反義股之核苷酸進行鹼基配對，從而在該正義股與反義股之間形成實質上雙螺旋之區域；以及，反義股在沿著反義股長度之至少 19 個核苷酸上與標靶 RNA 充分互補，以在當將該雙股核酸引入哺乳動物細胞內時降低標靶基因之表現；以及，其中，該正義股含有至少一個位於三個接續核苷酸之三個 2'-F 修飾的模體，其中，該等模體之至少一者出現在裂解位點或鄰近該裂解位點處。反義股含有至少一個位於裂解位點或鄰近該裂解位點處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾的模體。

【0258】於一個態樣中，RNAi 劑包含正義股及反義股，其中，該 RNAi 劑包含具有至少 25 個且至多 29 個核苷酸之長度的第一股，以及具有至多 30 個核苷酸之長度且具有至少一個位於從 5' 末端計數第 11、12 及 13 位置處之三個接續核苷酸之三個 2'-O-甲基修飾之模體的第二股；其中，該第一股之 3' 末端及該第二股之 5' 末端形成鈍端，且該第二股於其 3' 末端比該第一股長 1 至 4 個核苷酸，其中，該雙螺旋區域之長度係至少 25 個核苷酸，且該第二股在沿著該第二股長度之至少 19 個核苷酸上與標靶 RNA 充分互補，以在當將該 RNAi 劑引入哺乳動物細胞內時降低標靶基因之表現，以及，其中，該 RNAi 劑之切丁酶裂解得到包含該第二股之 3' 末端的 siRNA，從而降低該哺乳動物體內之標靶基因的表現。視需要，RNAi 劑復包含配體。

【0259】於一個態樣中，該 RNAi 劑之正義股含有至少一個位於三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體，其中該等模體之一者出現在正義股之裂解位點處。

【0260】於一個態樣中，RNAi 劑之反義股亦可含有至少一個位於三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體，其中該等模體之一者出現在反義股之裂解位點或鄰近該裂解位點處。

【0261】對於具有 17 至 23 個核苷酸之長度之雙螺旋區域的 RNAi 劑，該反義股之裂解位點典型位於從 5' 末端計數之位置 10、11、12 附近。因此，三個一致修飾之模體可出現在反義股之位置 9、10 及 11，位置 10、11 及 12，位置 11、12 及 13，位置 12、13 及 14，或位置 13、14 及 15，從反義股之 5' 末端的第一個核苷酸開始計數，或在雙螺旋區域內從反義股之

5'末端的第一個配對核苷酸開始計數。反義股之裂解位點亦可根據該 RNAi 之雙螺旋區域從 5'末端計數的長度而改變。

【0262】 RNAi 劑之正義股可含有至少一個位於該股之裂解位點處之三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體；且反義股可具有至少一個位於該股之裂解位點或鄰近該裂解位點處之三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體。當正義股及反義股形成 dsRNA 雙螺旋時，正義股及反義股可經對準，使得位於正義股之一個三核苷酸模體與位於反義股之一個三核苷酸模體具有至少一個核苷酸重疊，亦即，正義股之模體之三個核苷酸之至少一者與反義股之模體之三個核苷酸之至少一者鹼基配對。另選地，至少兩個核苷酸可重疊，或全部三個核苷酸可重疊。

【0263】 於一個態樣中，RNAi 劑之正義股可含有超過一個位於三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體。第一模體可出現在該股之裂解位點或鄰近該裂解位點處，且其他模體可係側翼修飾。本文中，術語「側翼修飾」指代出現在該股之另一部位的與位於相同股之裂解位點或鄰近該裂解位點處之模體分隔開來的模體。側翼修飾或與第一模體相鄰或藉由至少一個或多個核苷酸與第一模體分隔開來。當該等模體彼此緊鄰時，則該等模體之化學性彼此截然不同；而當該等模體藉由一個或多個核苷酸分隔開來時，則該等化學性可相同或相異。可存在兩個或多個側翼修飾。例如，當存在兩個側翼修飾時，每一側翼修飾可出現在位於裂解位點或鄰近該裂解位點處之第一模體的一段，或出現在該前導模體之任一側。

【0264】 與正義股相似，RNAi 劑之反義股可含有超過一個位於三個接續核苷酸之三個一致修飾的模體，且該等模體之至少一者出現在該股之裂

解位點或鄰近該裂解位點處。這一反義股亦可含有一個或多個側翼修飾，該側翼修飾之排列類似於可能存在於該正義股之側翼修飾。

【0265】於一個態樣中，RNAi 劑之正義股或反義股之側翼修飾典型不包括位於該股之 3' 末端、5' 末端或兩端之最開始的一個或兩個末端核苷酸。

【0266】於另一態樣中，RNAi 劑之正義股或反義股之側翼修飾典型不包括位於該雙螺旋區域內該股之 3' 末端、5' 末端或兩端之最開始的一個或兩個配對核苷酸。

【0267】當 RNAi 劑之正義股及反義股各自含有至少一個側翼修飾時，該側翼修飾可落入該雙螺旋區域之相同末端，且具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊。

【0268】當 RNAi 劑之正義股及反義股各自含有至少兩個側翼修飾時，該正義股與該反義股可經對準而使得來自一股之兩個修飾之每一者落入該雙螺旋區域之一端且具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊；來自一股之兩個修飾之每一者落入該雙螺旋區域之另一端且具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊；一股之兩個修飾分別落入該前導模體之兩端且在該雙螺旋區域內具有一個、兩個或三個核苷酸之重疊。

【0269】於一個態樣中，RNAi 劑包含與標靶之誤配、雙螺旋中之誤配、或其組合。誤配可出現在突出區域內或雙螺旋區域內。基於鹼基對促進解離或熔融之傾向性(例如，基於特定配對之關聯或解離之自由能，自由能係基於個體配對檢查配對的最簡單之途徑，但亦可使用次近鄰分析及類似分析)，可將鹼基對排名。就促進解離而言：A : U 優於 G : C ; G : U 優於 G : C ; 且 I : C 優於 G : C (I 係肌苷)。誤配例如非規範配對或除規範配

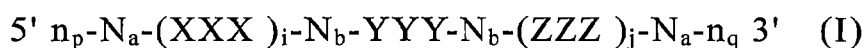
對之外者(如本文中他處所揭示)優於規範(A:T、A:U、G:C)配對；且包括萬用鹼基之配對優於規範配對。

【0270】於一個態樣中，RNAi 劑包含，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數最前列之第 1、2、3、4 或 5 個鹼基對的至少一者係選自下列所組成之群組：A:U、G:U、I:C、以及誤配例如非規範配對或除規範配對之外者或包括萬用鹼基之配對，以促進反義股於該雙螺旋之 5' 末端的解離。

【0271】於一個態樣中，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數之第 1 個位置處的核苷酸係選自由 A、dA、dU、U 及 dT 所組成之群組。另選地，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數最前列之第 1、2 或 3 個鹼基對的至少一者係 AU 鹼基對。例如，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數之第一個鹼基對係 AU 鹼基對。

【0272】於另一態樣中，位於該正義股之 3' 末端的核苷酸係去氧胸苷(dT)。於另一態樣中，位於該反義股之 3' 末端的核苷酸係去氧胸苷(dT)。於一個態樣中，在正義股或反義股之 3' 末端上存在去氧胸腺嘧啶核苷酸之短序列，例如，兩個 dT 核苷酸。

【0273】於一個態樣中，正義股序列可藉由式(I)表示：



其中：

i 及 j 各自獨立為 0 或 1；

p 及 q 各自獨立為 0 至 6；

各 N_a 獨立表示包含 0 至 25 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列，各序列包含至少兩個經不同修飾之核苷酸；

各 N_b 獨立表示包含 0 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列；

各 n_p 與 n_q 獨立表示突出核苷酸；

其中， N_b 與 Y 不具有相同之修飾；及

各 XXX 、 YYY 與 ZZZ 各自獨立表示一個位於三個接續核苷酸之三個相同修飾的模體。於一個態樣中， YYY 全部為 2'-F 修飾之核苷酸。

【0274】 於一個態樣中， N_a 或 N_b 包含交替模式之修飾。

【0275】 於一個態樣中， YYY 模體出現於該正義股之裂解位點。例如，當該 RNAi 劑係具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙螺旋區域時，該 YYY 模體係出現於該正義股之裂解位或其左近(如，可出現於位置 6、7、8；7、8、9；9、10、11；10、11、12；或 11、12、13)，其係從 5' 末端之第 1 個核苷酸開始計數；或視需要從 5' 末端之雙螺旋區域內第一個配對核苷酸開始計數。

【0276】 於一個態樣中， i 係 1 且 j 係 0，或 i 係 0 且 j 係 1，或 i 及 j 兩者均係 1。正義股可因此藉由下列式表示：

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

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

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

【0277】 當該正義股係藉由式(Ib)表示時， N_b 係表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

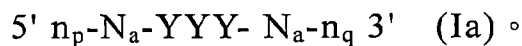
【0278】各 N_a 可獨立表示包含 2-20、2-15 或 2-10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0279】當該正義股係藉由式(Ic)表示時， N_b 係表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 可獨立表示包含 2-20、2-15 或 2-10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0280】當該正義股係藉由式(Id)表示時，各 N_b 係獨立表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。於一些態樣中， N_b 係 0、1、2、3、4、5 或 6。各 N_a 可獨立表示包含 2-20、2-15 或 2-10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

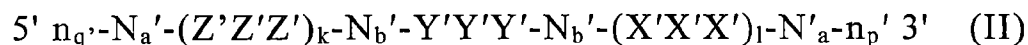
【0281】X、Y 及 Z 各自可係彼此相同或相異。

【0282】於其他態樣中，i 係 0 且 j 係 0，且正義股可藉由下式表示：



【0283】當正義股藉由式(Ia)表示時，各 N_a 獨立表示包含 2-20、2-15 或 2-10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0284】於一個態樣中，RNAi 之反正義股序列可藉由式(II)表示：



其中：

k 及 l 各自獨立為 0 或 1；

p' 及 q' 各自獨立為 0-6；

各 $N_{a'}$ 獨立表示包含 0-25 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列，每一序列包含至少兩個經不同修飾之核苷酸；

各 N_b ' 獨立表示包含 0-10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列；

各 n_p ' 與 n_q ' 獨立表示突出核苷酸；

其中， N_b ' 及 Y ' 不具有相同之修飾；以及

$X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 及 $Z'Z'Z'$ 各自獨立表示一個位於三個接續核苷酸之三個相同修飾的模體。

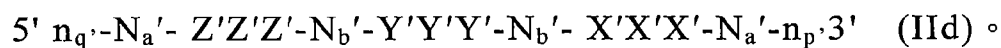
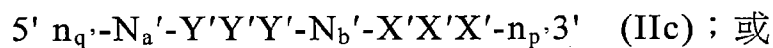
【0285】 於一個態樣中， N_a ' 或 N_b ' 包含交替模式之修飾。

【0286】 於一個態樣中， $Y'Y'Y'$ 模體出現於反義股之裂解位點處。例如，當該 RNAi 劑係具有長度為 17 至 23 個核苷酸之雙螺旋區域時，該 $Y'Y'Y'$ 模體係出現於該反義股之位置 9、10、11；10、11、12；11、12、13；12、13、14；或 13、14、15，從 5' 末端之第 1 個核苷酸開始計數；或視需要，從 5' 末端之雙螺旋區域內第一個配對核苷酸開始計數。於一些態樣中， $Y'Y'Y'$ 模體出現於位置 11、12、13 處。

【0287】 於一個態樣中， $Y'Y'Y'$ 模體全部為 2'-OMe 修飾之核苷酸。

【0288】 於一個態樣中， k 係 1 且 l 係 0，或 k 係 0 且 l 係 1，或 k 及 l 兩者均係 1。

【0289】 反義股可因此藉由下列式表示：



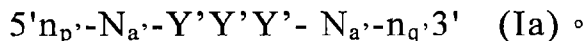
【0290】 當該反義股係藉由式(IIb)表示時， N_b 係表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡

核苷酸序列。各 N_a ' 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0291】當該反義股係表示為式(IIc)時， N_b ' 係表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a ' 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0292】當該反義股係表示為式(IIId)時，各 N_b ' 獨立表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a ' 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。於一些態樣中， N_b 係 0、1、2、3、4、5 或 6。

【0293】於其他態樣中， k 係 0 且 l 係 0，且反義股可藉由下式表示：



【0294】當反義股表示為式(Ia)時，各 N_a ' 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0295】 X' 、 Y' 及 Z' 各自可係彼此相同或相異。

【0296】正義股及反義股之每一核苷酸獨立經 LNA、二醇核酸(GNA)、己醣醇核酸(HNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-羥基或 2'-氟修飾。例如，正義股及反義股之每一核苷酸獨立經 2'-O-甲基或 2'-氟修飾。特別地，各 X 、 Y 、 Z 、 X' 、 Y' 及 Z' 可表示 2'-O-甲基修飾或 2'-F 修飾。

【0297】於一個態樣中，當雙螺旋區域係 21 nt 時，該 RNAi 劑之正義股可含有出現在該股之 9、10 及 11 位置之 YYY 模體，從 5' 末端之第一個

核苷酸開始計數，或視需要，在雙螺旋區域內從 5' 末端之第一個配對核苷酸開始計數；以及，Y 係表示 2'-F 修飾。正義股可額外含有 XXX 模體或 ZZZ 模體作為位於雙螺旋區域之相反末端的側翼修飾；以及，XXX 與 ZZZ 各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0298】於一個態樣中，反義股可含有出現在該股之 11、12 及 13 位置之 Y'Y'Y' 模體，從 5' 末端之第一個核苷酸開始計數，或視需要，在雙螺旋區域內從 5' 末端之第一個配對核苷酸開始計數；以及，Y' 係表示 2'-O-甲基修飾。反義股可額外含有 X'X'X' 模體或 Z'Z'Z' 模體作為位於雙螺旋區域之相反末端的側翼修飾；以及，X'X'X' 與 Z'Z'Z' 各自獨立表示 2'-OMe 修飾或 2'-F 修飾。

【0299】由上述式(Ia)、(Ib)、(Ic)及(Id)中任一者表示之正義股分別與由式(IIa)、(IIb)、(IIc)及(IIId)中任一者表示之反義股形成雙螺旋。

【0300】據此，用於本揭露之方法中的 RNAi 劑可包含正義股及反義股，每一股具有 14 至 30 個核苷酸，該 RNAi 雙螺旋由式(III)表示：

正義：5' n_p -N_a-(XXX)_i-N_b-YYY-N_b-(ZZZ)_j-N_a-n_q3'

反義：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)

其中：

i、j、k 及 l 各自獨立為 0 或 1；

p、p'、q 及 q' 各自獨立為 0-6；

各 N_a 及 N_{a'} 獨立表示包含 0 至 25 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列，每一序列包含至少兩個經不同修飾之核苷酸；

各 N_b 與 N_b' 獨立表示包含 0 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列；

其中

各 n_p' 、 n_p 、 n_q' 及 n_q 其分別可能存在或不存在，且獨立表示突出核苷酸；及

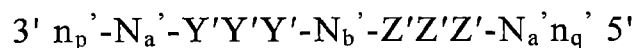
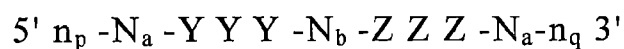
XXX 、 YYY 、 ZZZ 、 $X'X'X'$ 、 $Y'Y'Y'$ 及 $Z'Z'Z'$ 各自獨立表示一個位於三個接續核苷酸上之三個相同修飾的模體。

【0301】於一個態樣中， i 係 0 且 j 係 0；或 i 係 1 且 j 係 0；或 i 係 0 且 j 係 1；或 i 及 j 兩者均係 0；或 i 及 j 兩者均係 1。於另一態樣中， k 係 0 且 l 係 0；或 k 係 1 且 l 係 0；或 k 係 0 且 l 係 1；或 k 及 l 兩者均係 0；或 k 及 l 兩者均係 1。

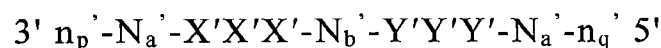
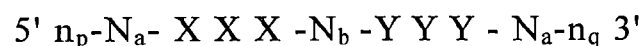
【0302】形成 RNAi 雙螺旋之正義股與反義股之例示性組合係包括下述各式：



(IIIa)



(IIIb)



(IIIc)



(IIIId)

【0303】當 RNAi 劑係藉由式(IIIa)表示時，各 N_a 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0304】當 RNAi 劑係藉由式(IIIb)表示時，各 N_b 獨立表示包含 1 至 10、1 至 7、1 至 5 或 1 至 4 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0305】當 RNAi 劑表示為式(IIIc)時，各 N_b 、 N_b' 獨立表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。

【0306】當 RNAi 劑表示為式(IIIId)時，各 N_b 、 N_b' 獨立表示包含 0 至 10、0 至 7、0 至 10、0 至 7、0 至 5、0 至 4、0 至 2 或 0 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。各 N_a 及 N_a' 獨立表示包含 2 至 20、2 至 15 或 2 至 10 個經修飾之核苷酸的寡核苷酸序列。 N_a 、 N_a' 、 N_b 及 N_b' 各者獨立包含交替模式之修飾。

【0307】於一個態樣中，當 RNAi 劑由式(IIIId)表示時， N_a 修飾係 2'-O-甲基修飾或 2'-氟修飾。於另一態樣中，當 RNAi 劑由式(IIIId)表示時， N_a 修飾係 2'-O-甲基修飾或 2'-氟修飾，且 $n_p' > 0$ ，以及，至少一個 n_p' 經由硫代磷酸酯鏈結而鏈結至相鄰核苷酸。於又一態樣中，當 RNAi 劑由式(IIIId)表示時， N_a 修飾係 2'-O-甲基修飾或 2'-氟修飾， $n_p' > 0$ ，且至少一個 n_p' 經由硫代磷酸酯鏈結而鏈結至相鄰核苷酸，以及，正義股透過二價或三

價分支鏈之鏈結子(下文揭示) 接合至一個多個 GalNAc 衍生物。於另一態樣中，當 RNAi 劑由式 (III d) 表示時， N_a 修飾係 2'-O-甲基修飾或 2'氟修飾， $n_p' > 0$ ，且至少一個 n_p' 經由硫代磷酸酯鏈結而鏈結至相鄰核苷酸，正義股包含至少一個硫代磷酸酯鏈結，以及，正義股視需要地透過二價或三價分支鏈之鏈結子(下文揭示) 附接而接合至一個多個親脂性例如 C16(或相關)部分。

【0308】於一態樣中，當 RNAi 劑由式(IIIa)表示時， N_a 修飾係 2'-O-甲基修飾或 2'氟修飾， $n_p' > 0$ ，且至少一個 n_p' 經由硫代磷酸酯鏈結而鏈結至相鄰核苷酸，正義股包含至少一個硫代磷酸酯鏈結，以及，正義股透過二價或三價分支鏈之鏈結子(下文揭示) 附接而接合至一個多個親脂性例如 C16(或相關)部分。

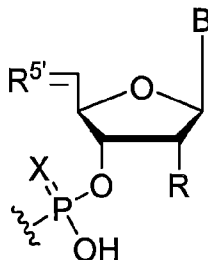
【0309】於一態樣中，RNAi 劑含有至少兩個由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(III d)表示之雙螺旋的多聚物，其中該等雙螺旋藉由鏈結子連結。鏈結子可係可裂解者或不可裂解者。視需要，多聚物復包含配體。雙螺旋可各自靶向相同基因或兩個相異基因；或雙螺旋可各自靶向相同基因之兩個相異標靶位點。

【0310】於一態樣中，RNAi 劑含有 3、4、5、6 或更多個由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(III d)表示之雙螺旋的多聚物，其中該等雙螺旋藉由鏈結子連結。鏈結子可係可裂解者或不可裂解者。視需要，多聚物復包含配體。雙螺旋可各自靶向相同基因或兩個相異基因；或雙螺旋可各自靶向相同基因之兩個相異標靶位點。

【0311】於一態樣中，兩個由式 (III)、(IIIa)、(IIIb)、(IIIc)及(IIIId)表示之 RNAi 劑在 5' 末端及一個或兩個 3' 末端彼此鏈結，且視需要接合至配體。該等劑可各自靶向相同基因或兩個相異基因；或該等劑可各自靶向相同基因之兩個相異標靶位點。

【0312】多個出版物揭示可用於本揭露之方法中的多聚 RNAi 劑。此類出版物包括 WO2007/091269、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887、WO2011/031520 及 US 7858769，其各自之整體內容係藉由引用而併入本文。

【0313】於某些態樣中，本揭露之組成物及方法包括本文所揭示之 RNAi 劑的乙烯基膦酸酯(VP)修飾。於示例性態樣中，本揭露之經 5'-乙烯基膦酸酯修飾之核苷酸具有結構：



其中 X 係 O 或 S；

R 係氫、羥基、氟或 C₁₋₂₀ 烷氧基(例如，甲氧基或正十六烷氧基)；

R^{5'} 係=C(H)-P(O)(OH)₂，並且位於 C5' 碳與 R^{5'} 之間的雙鍵為 *E* 或 *Z* 取向(例如，*E* 取向)；並且

B 係核鹼基或經修飾之核鹼基，視需要，其中 B 係腺嘌呤、鳥嘌呤、胞嘧啶、胸腺嘧啶或尿嘧啶。

【0314】本揭露之乙烯基磷酸酯可附接至本揭露之 dsRNA 之反義股或正義股。於某些態樣中，本揭露之乙烯基磷酸酯附接至 dsRNA 之反義股，視需要附接在 dsRNA 之反義股的 5' 末端。

【0315】 乙烯基磷酸酯修飾亦預期用於本揭露之組成物及方法中。一種示例性乙烯基磷酸酯結構包括牽涉結構，其中 R5' 係=C(H)-OP(O)(OH)₂，並且位於 C5' 碳與 R5' 之間的雙鍵為 E 或 Z 取向(例如，E 取向)。

E. 熱去安定化修飾

【0316】於某些態樣中，可以藉由將熱去安定化修飾併入反義股之種子區域內而優化 dsRNA 分子，以進行 RNA 干擾。如本文所用，「種子區域」意指位於所指股之 5' 末端的位置 2 至 9 處。例如，可以將熱去安定化修飾併入反義股之種子區域中以減低或抑制脫靶基因緘默化。

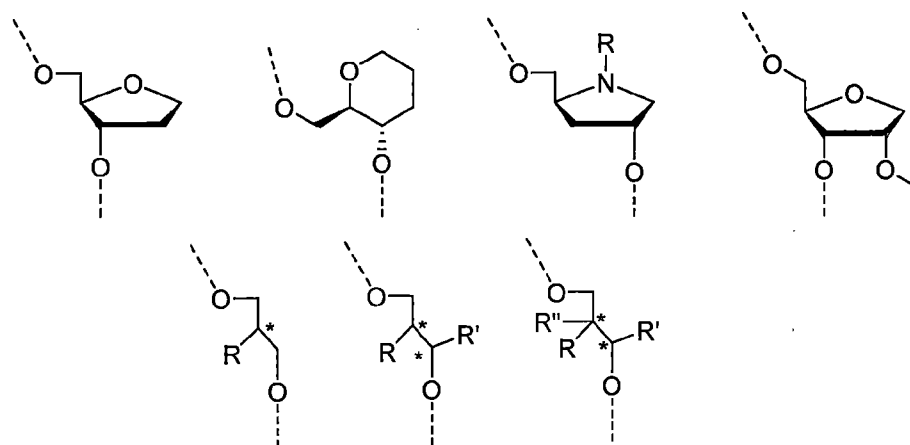
【0317】術語「熱去安定化修飾」包括將導致 dsRNA 具有比不具有此類修飾之 dsRNA 之 T_m 低的總體熔融溫度(T_m)的修飾。例如，熱去安定化修飾可以將 dsRNA 之 T_m 降低 1-4°C，諸如，1°C、2°C、3°C 或 4°C。並且，術語「熱去安定化核苷酸」指代含有一個或多個熱去安定化修飾之核苷酸。

【0318】已經發現，具有包含位於從反義股 5' 末端計數最先 9 個核苷酸內之雙螺旋之至少一個熱去安定化修飾之反義股的 dsRNA，具有減低之脫靶基因緘默化活性。據此，於一些態樣中，反義股包含位於從反義股 5' 末端計數最先 9 個核苷酸內之雙螺旋的至少一個(例如，一個、兩個、三個、四個、五個或更多個)熱去安定化修飾。於一些態樣中，雙螺旋之一個或多個熱去安定化修飾係位於從反義股 5' 末端計數之位置 2 至 9 處，諸如位置

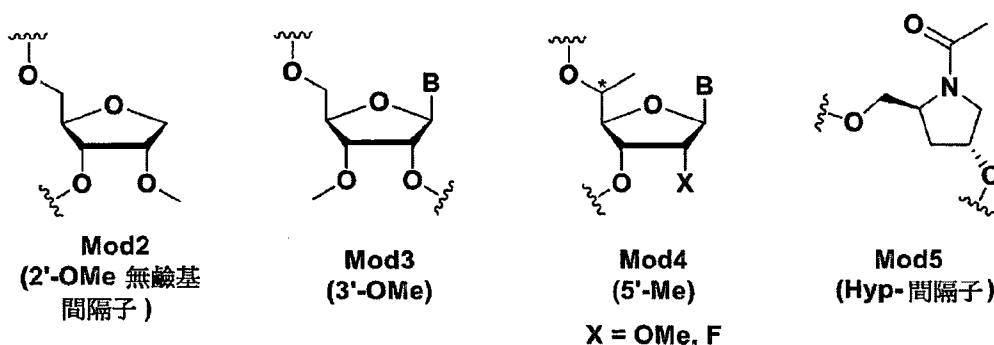
4 至 8 處。於又一些態樣中，雙螺旋之熱去安定化修飾係位於從反義股 5' 末端計數之位置 6、7 或 8 處。於再一些態樣中，雙螺旋之熱去安定化修飾係位於從反義股 5' 末端計數之位置 7 處。於一些態樣中，雙螺旋之熱去安定化修飾係位於從反義股 5' 末端計數之位置 2、3、4、5 或 9 處。

【0319】熱去安定化修飾可包括但不限於，無鹼基之修飾；與相反股中相反核苷酸之誤配；以及糖修飾諸如 2'-去氧修飾或非環狀核苷酸，例如未鎖定之核酸(UNA)或二醇核酸(GNA)。

【0320】示例性之無鹼基之修飾包括但不限於下列：

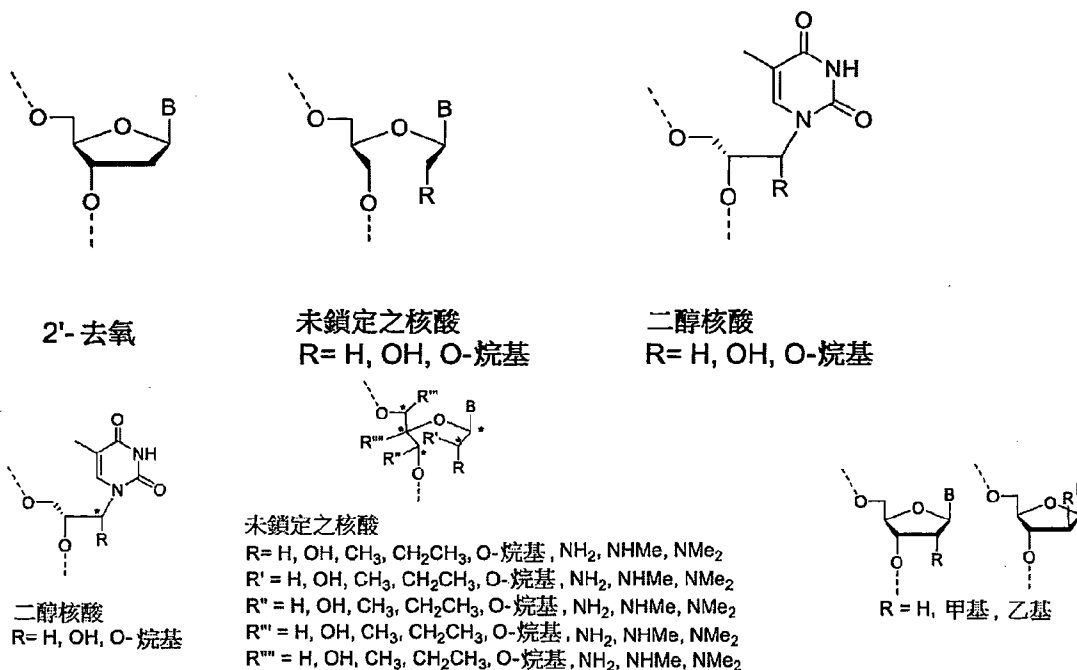


【0321】其中 R = H、Me、Et 或 OMe；R' = H、Me、Et 或 OMe；R'' = H、Me、Et 或 OMe



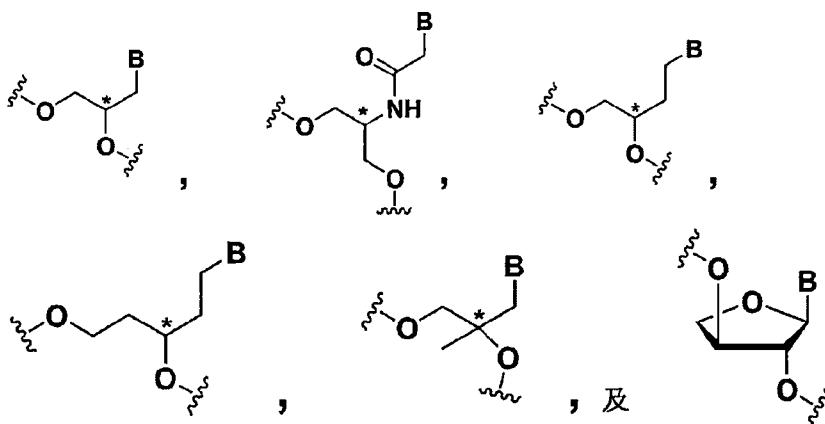
其中 B 係經修飾或未修飾之核酸鹼基。

【0322】示例性之糖修飾包括但不限於下列：



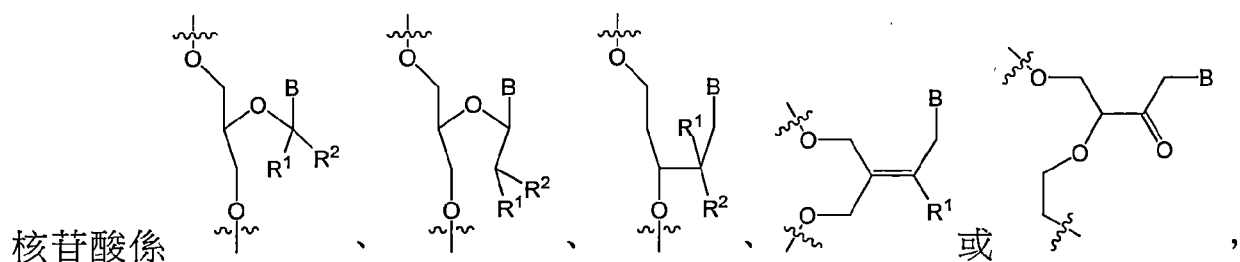
其中 B 係經修飾或未修飾之核酸鹼基。

【0323】於一些態樣中，雙螺旋之熱去安定化修飾係選自由下列所組成之群組：



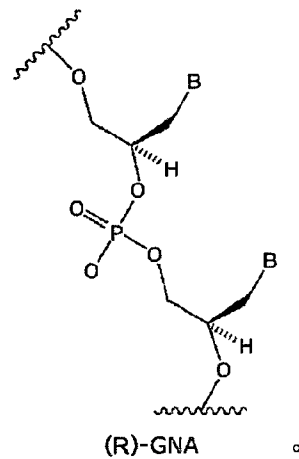
其中 B 係經修飾或未修飾之核酸鹼基，並且每個結構上之星號表示 R、S 或外消旋。

【0324】術語「非環狀核苷酸」指代具有非環狀核糖之任意核苷酸，例如，其中核糖碳之間的任意鍵(例如，C1'-C2'、C2'-C3'、C3'-C4'、C4'-O4'或 C1'-O4')係不存在或核糖碳或氧之至少一者(例如，C1'、C2'、C3'、C4'或 O4')獨立地或組合地不存在於該核苷酸中。於一些態樣中，非環狀



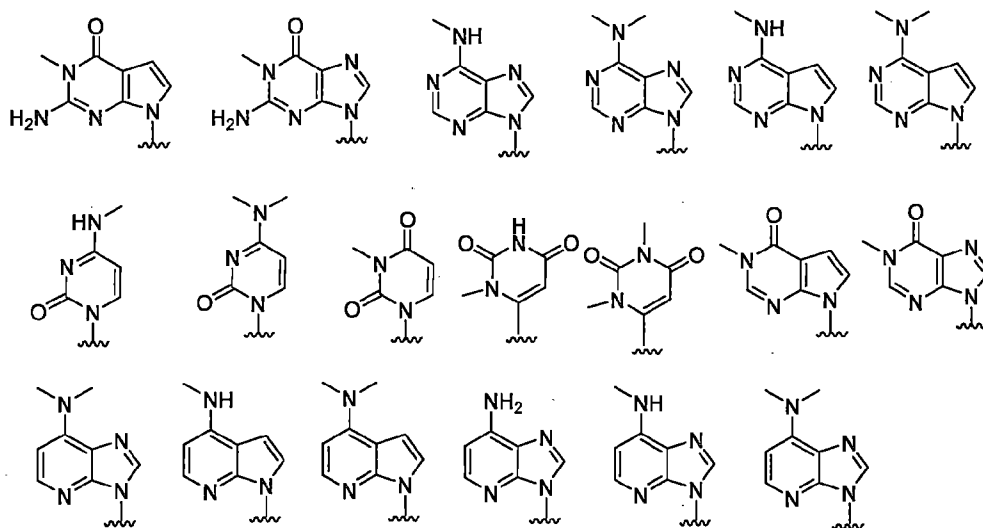
其中，B 係經修飾或未修飾之核酸鹼基， R^1 及 R^2 獨立地為 H、鹵素、 OR_3 或烷基；以及， R_3 係 H、烷基、環烷基、芳基、芳烷基、雜芳基或糖)。術語「UNA」指代未鎖定之非環狀核酸，其中該糖之任意鍵業經移除，形成未鎖定之「糖」殘基。於一實例中，UNA 亦涵蓋其 C1'-C4' 鍵(亦即，位於 C1' 碳與 C4' 碳間之碳-氧-碳共價鍵)被移除之單體。於另一實例中，糖之 C2'-C3' 鍵(亦即，界於 C2' 碳與 C3' 碳之間的碳-碳共價鍵)業經移除(參見，Mikhailov et. al., *Tetrahedron Letters*, 26 (17) : 2059 (1985)；以及 Fluiter et al., *Mol. Biosyst.*, 10 : 1039 (2009)，其皆藉由引用而整體併入本文)。非環狀衍生物提供更大之骨幹柔性而不影響 Watson-Crick 配對。非環狀核苷酸可經由 2'-5' 或 3'-5' 鏈結而鏈結。

【0325】術語「GNA」指代二醇核酸，其係類似於 DNA 或 RNA 但其「骨幹」組成(由藉由磷酸二酯鍵鏈結之重複甘油單元構成)上與 DNA 或 RNA 有所區別之聚合物：



【0326】雙螺旋之熱去安定化修飾可係熱去安定化核苷酸與 dsRNA 雙螺旋內相反股之相反核苷酸之間的誤配(亦即，非互補性鹼基對)。示例性誤配鹼基對包括 G : G、G : A、G : U、G : T、A : A、A : C、C : C、C : U、C : T、U : U、T : T、U : T、或其組合。該領域中已知之其他誤配鹼基配對亦適用於本發明。誤配可出現於天然出現之核苷酸之間或經修飾之核苷酸之間，亦即，誤配鹼基配對可出現於來自核苷酸中核糖之獨立修飾之相應核苷酸的核酸鹼基之間。於某些態樣中，dsRNA 分子含有至少一個誤配對中之核酸鹼基，其係 2'-去氧核酸鹼基；例如，該 2'-去氧核酸鹼基位於正義股中。

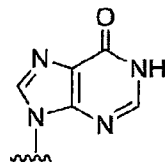
【0327】於一些態樣中，反義股之種子區域內的雙螺旋之熱去安定化修飾包括其與標靶 mRNA 上之互補鹼基的 Watson-Crick 氫鍵鍵結 W-C H 鍵鍵結受損的核苷酸，諸如經修飾之核鹼基：



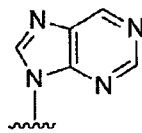
【0328】無鹼基之核苷酸、非環狀核苷酸修飾(包括 UNA 及 GNA)及誤配修飾的更多實例業經詳細揭示於 WO 2011/133876 中，該專利藉由引用而以其整體併入本文。

【0329】熱去安定化修飾亦可包括通用鹼基及磷酸酯修飾，該通用鹼基與相反鹼基形成氫鍵之能力被減低或廢除。

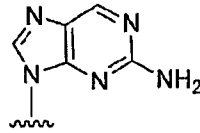
【0330】於一些態樣中，雙螺旋之熱去安定化修飾包括具有非規範鹼基之核苷酸，諸如但不限於，其與相反股中之鹼基形成氫鍵的能力受損或被完全廢除的核苷酸修飾。此等核酸鹼基修飾業經評估其對於 daRNA 雙螺旋之中心區域的去安定化，如 WO 2010/0011895 中所揭示，該專利藉由引用而以其整體併入本文。示例性核酸鹼基修飾係：



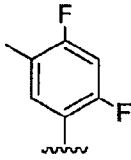
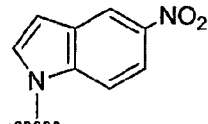
肌昔



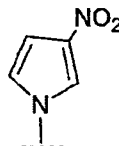
星雲鹼



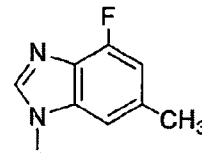
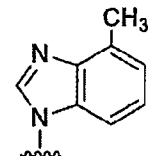
2-胺基嘔呤

2,4-
二氟甲基

5-硝基嘔啉

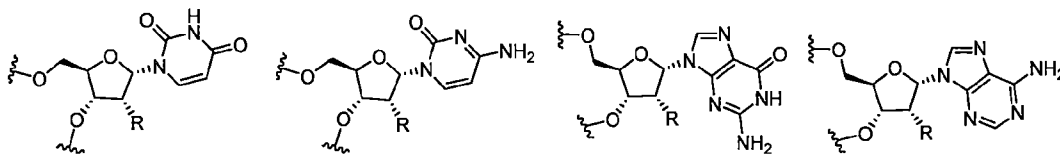


3-硝基嘔啉

4-氟-6-
甲基苯并咪唑

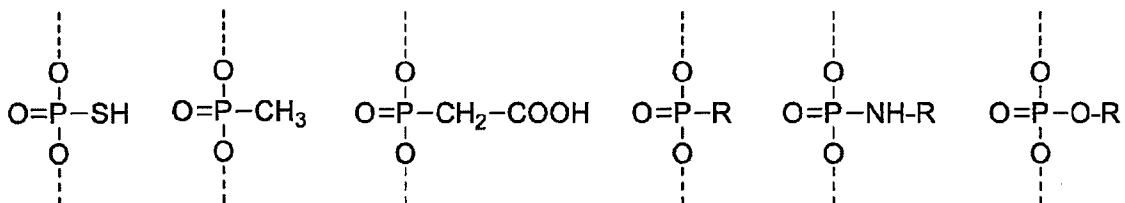
4-甲基苯并咪唑

【0331】於一些態樣中，反義股之種子區域內的雙螺旋之熱去安定化修飾包括與標靶 mRNA 之互補的一個或多個 α -核苷酸，諸如：



其中 R 係 H、OH、OCH₃、F、NH₂、NHMe、NMe₂ 或 O-烷基。

【0332】已知相對於天然磷酸二酯鏈結降低 dsRNA 雙螺旋之熱安定性的示例性磷酸酯修飾係：



R = 烷基

【0333】R 基團之烷基可係 C₁-C₆ 烷基。用於 R 基團之具體烷基包括但不限於甲基、乙基、丙基、異丙基、丁基、戊基及己基。

【0334】熟練技術人士應認知，鑒於核酸鹼基之功能角色係定義本揭露之 RNAi 劑之特異性，而核酸鹼基修飾可以如本文所揭示之各種方式執行例如以將去安定化修飾引入本揭露之 RNAi 劑中而例如用於相對於脫靶

效應而增強上靶效應的目的，可用並且通常於本揭露之 RNAi 劑上的修飾之範圍傾向於比非核酸鹼基修飾例如對多核糖核苷酸之糖基團或磷酸酯骨幹之修飾大得多。此類修飾更詳細地揭示於本揭露之其他章節中，並且明確為本揭露之 RNAi 劑所考量，或具備天然核酸鹼基或具備上揭或本文中他處所揭示之修飾核酸鹼基。

【0335】除了包含熱去安定化修飾之反義股之外，dsRNA 亦可包含一個或多個安定化修飾。舉例而言，dsRNA 可包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)安定化修飾。無限制地，安定化修飾全部可存在於一股中。於一些態樣中，正義股及反義股兩者皆包含至少兩個安定化修飾。安定化修飾可出現於正義股或反義股之任意核苷酸。例如，安定化修飾可出現在正義股及/或反義股之每一個核苷酸；每一安定化修飾可以交替模式出現在正義股或反義股；或正義股或反義股包含交替模式之兩種安定化修飾。正義股上之交替模式之安定化修飾可與反義股相同或相異，其正義股之交替模式之安定化修飾可具有相對於反義股之交替模式之安定化修飾的位移。

【0336】於一些態樣中，反義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)安定化修飾。無限制地，反義股中之安定化修飾可存在於任意點處。於一些態樣中，反義股包含位於自 5' 末端計數之位置 2、6、8、9、14 及 16 處的安定化修飾。於一些其他態樣中，反義股包含位於自 5' 末端計數之位置 2、6、14 及 16 處的安定化修飾。於再一些其他態樣中，反義股包含位於自 5' 末端計數之位置 2、14 及 16 處的安定化修飾。

【0337】於一些態樣中，反義股包含與去安定化修飾相鄰之至少一個安定化修飾。舉例而言，安定化修飾可位於去安定化修飾之 5' 末端或 3' 末端之核苷酸，亦即，位於自該去安定化修飾位置起 -1 或 +1 位置處。於一些態樣中，反義股包含安定化修飾，該安定化修飾位於去安定化修飾之 5' 末端及 3' 末端中之每一處，亦即，位於自該去安定化修飾位置起 -1 及 +1 位置處。

【0338】於一些態樣中，反義股包含至少兩個安定化修飾，該安定化修飾位於去安定化修飾之 3' 末端，亦即，位於自該去安定化修飾位置起 +1 及 +2 位置處。

【0339】於一些態樣中，正義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)安定化修飾。無限制地，正義股中之安定化修飾可存在於任意點處。於一些態樣中，正義股包含位於自 5' 末端計數之位置 7、10 及 11 處的安定化修飾。於一些其他態樣中，正義股包含位於自 5' 末端計數之位置 7、9、10 及 11 處的安定化修飾。於一些態樣中，正義股包含安定化修飾，該安定化修飾位於與反義股之自該反義股 5' 末端計數之位置 11、12 及 15 相反或互補的位置處。於一些其他態樣中，正義股包含安定化修飾，該安定化修飾位於與反義股之自該反義股 5' 末端計數之位置 11、12、13 及 15 相反或互補的位置處。於一些態樣中，正義股包含兩個、三個或四個安定化修飾之嵌段。

【0340】於一些態樣中，正義股不包含位於與反義股中該雙螺旋之熱去安定化修飾相反或互補之位置處的安定化修飾。

【0341】 示例性之熱安定化修飾包括但不限於，2'-氟修飾。其他熱安定化修飾包括但不限於，LNA。

【0342】 於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 包含至少四個(例如，四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)2'-氟核苷酸。無限制地，2'-氟核苷酸全部可存在於一股中。於一些態樣中，正義股及反義股兩者皆包含至少兩個 2'-氟核苷酸。2'-氟修飾可出現於正義股或反義股之任意核苷酸。例如，2'-氟修飾可出現在正義股及/或反義股之每一個核苷酸；每一 2'-氟修飾可以交替模式出現在正義股或反義股；或正義股或反義股包含交替模式之兩種 2'-氟修飾。正義股之交替模式之 2'-氟修飾可與反義股相同或相異，其正義股之交替模式之 2'-氟修飾可具有相對於反義股之交替模式之 2'-氟修飾的位移。

【0343】 於一些態樣中，反義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)2'-氟核苷酸。無限制地，反義股中之 2'-氟修飾可存在於任意點處。於一些態樣中，反義股包含位於自 5'末端計數之位置 2、6、8、9、14 及 16 處的 2'-氟核苷酸。於一些其他態樣中，反義股包含位於自 5'末端計數之位置 2、6、14 及 16 處的 2'-氟核苷酸。於再一些其他態樣中，反義股包含位於自 5'末端計數之位置 2、14 及 16 處的 2'-氟核苷酸。

【0344】 於一些態樣中，反義股包含與去安定化修飾相鄰之至少一個 2'-氟核苷酸。舉例而言，2'-氟核苷酸可位於去安定化修飾之 5'末端或 3'末端之核苷酸，亦即，位於自該去安定化修飾位置起-1 或+1 位置處。於一些態樣中，反義股包含 2'-氟核苷酸，該 2'-氟核苷酸位於去安定化修飾之

5'末端及 3'末端中之每一處，亦即，位於自該去安定化修飾位置起-1 及+1 位置處。

【0345】於一些態樣中，反義股包含至少兩個 2'-氟核苷酸，該 2'-氟核苷酸位於去安定化修飾之 3'末端，亦即，位於自該去安定化修飾位置起 +1 及+2 位置處。

【0346】於一些態樣中，正義股包含至少兩個(例如，兩個、三個、四個、五個、六個、七個、八個、九個、十個或更多個)2'-氟核苷酸。無限制地，正義股中之 2'-氟修飾可存在於任意點處。於一些態樣中，正義股包含位於自 5'末端計數之位置 7、10 及 11 處的 2'-氟核苷酸。於一些其他態樣中，正義股包含位於自 5'末端計數之位置 7、9、10 及 11 處的 2'-氟核苷酸。於一些態樣中，正義股包含 2'-氟核苷酸，該 2'-氟核苷酸位於與反義股之自該反義股 5'末端計數之位置 11、12 及 15 相反或互補的位置處。於一些其他態樣中，正義股包含 2'-氟核苷酸，該 2'-氟核苷酸位於與反義股之自該反義股 5'末端計數之位置 11、12、13 及 15 相反或互補的位置處。於一些態樣中，正義股包含兩個、三個或四個 2'-氟核苷酸之嵌段。

【0347】於一些態樣中，正義股不包含位於與反義股中該雙螺旋之熱去安定化修飾相反或互補之位置處的 2'-氟核苷酸。

【0348】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含 21 個核苷酸之正義股及 23 個核苷酸之反義股，其中該反義股含有至少一個熱去安定化核苷酸，其中該至少一個熱去安定化核苷酸出現於反義股之種子區域中(亦即，位於反義股 5'末端之位置 2 至 9 處)，其中 dsRNA 之一端係鈍端，而另一端包含兩個核苷酸之突出，亦即，其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至

少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者或全部七者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 反義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(iii) 正義股與配體接合；(iv) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(v) 正義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(vi) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；以及(vii) dsRNA 包含位於反義股 5'末端之鈍端。於一個態樣中，具有兩個核苷酸之突出位於反義股之 3'末端。

【0349】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含正義股及反義股，其中：該正義股係 25 至 30 個核苷酸殘基之長度，其中該股之從 5'端核苷酸(位置 1)開始計數之位置 1 至 23 包含至少 8 個核糖核苷酸；該反義股係 36 至 66 個核苷酸殘基之長度，且從 3'端核苷酸開始計數，在與正義股之位置 1 至 23 配對以形成雙螺旋之位置中包含至少 8 個核糖核苷酸；其中至少反義股之 3'端核苷酸未與正義股配對，且至多 6 個接續之 3'端核苷酸未與正義股配對，從而形成具有 1 至 6 個核苷酸之 3'單股突出；其中反義股之 5'端包含 10 至 30 個為與正義股配對之接續核苷酸，從而形成具有 10 至 30 個核苷酸之單股 5'突出；其中，當將該正義股與反義股對準以進行最大互補時，至少該正義股之 5'端核苷酸及 3'端核苷酸與反義股之核苷酸進行鹼基配對，從而在該正義股與反義股之間形成實質上雙螺旋之區域；以及，反義股在沿著反義股長度之至少 19 個核苷酸上與標靶 RNA 充分互補，以在當將所述雙股核酸引入哺乳動物細胞內時降低標靶基因之表現；以及，其中該反義股含有至少一個熱去安定化核苷酸，其中至少一個熱去安定化核苷酸位於反義股之種子區域內(亦即，位於反義股 5'末端之位置 2

至 9 處)。舉例而言，熱去安定化核苷酸出現於與正義股之 5' 末端之位置 14 至 17 相反或互補的位置之間，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者或全部七者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 反義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(iii) 正義股與配體接合；(iv) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(v) 正義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(vi) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；以及(vii) dsRNA 包含長度為 12 至 30 個核苷酸對之雙螺旋區域。

【0350】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含正義股及反義股，其中該 dsRNA 分子包含長度為至少 25 個核苷酸並且最多為 29 個核苷酸之正義股以及長度至多為 30 個核苷酸之反義股，且正義股包含位於自 5' 末端起位置 11 處的對於酶降解敏感之修飾核苷酸，其中該正義股之 3' 末端及所述反義股之 5' 末端形成鈍端，並且所述反義股於其 3' 末端比正義股長 1 至 4 個核苷酸，其中雙螺旋區域之長度為至少 25 個核苷酸，並且當將所述 dsRNA 分子引入哺乳動物細胞內時，該反義股沿著所述反義股之至少 19 nt 與標靶 mRNA 充分互補以減低標靶基因表現，並且其中該 dsRNA 之切丁酶裂解導致包含該反義股之該 3' 末端的 siRNA，從而減低哺乳動物體內標靶基因之表現，其中該反義股含有至少一個熱去安定化核苷酸，其中該至少一個熱去安定化核苷酸位於反義股之種子區域中(亦即，位於反義股 5' 末端之位置 2 至 9 處)，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者或全部七者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 反義股包含 1、2、3、4 或 5

個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(iii) 正義股與配體接合；(iv) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(v) 正義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(vi) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；以及(vii) dsRNA 具有長度為 12 至 29 個核苷酸對之雙螺旋區域。

【0351】於一些態樣中，dsRNA 分子之正義股及反義股中的每個核苷酸可經修飾。每一核苷酸可藉由相同或相異之修飾而經修飾，該等修飾可包括非鏈結性磷酸酯氧之一者或兩者或鏈結性磷酸酯氧之一者或多者的一個或多個變更；核糖之構建的變更，如核糖 2' 羥基之變更；以「去磷」鏈結子進行之磷酸酯部分的整體置換；天然出現之鹼基的修飾或置換；以及核糖-磷酸酯骨幹的置換或修飾。

【0352】由於核酸係子單元之聚合物，該等修飾之多數出現在核酸內重複之位置，如，鹼基、磷酸酯部分、或磷酸酯部分之非鏈結性 O 的修飾。於一些情形中，修飾將出現在該核酸之所有受試位置，但在多數情形中並非如此。舉例而言，修飾可僅出現在 3' 或 5' 端位置，可僅出現在末端區域，例如，出現在末端核苷酸之位置或出現在一股之最末 2、3、4、5 或 10 個核苷酸內。修飾可出現在雙股區域內、單股區域內、或兩者內。修飾可僅出現在 RNA 之雙股區域內，或僅出現在 RNA 之單股區域內。例如，位於非鏈結性 O 位置之硫代磷酸酯修飾可僅出現在一端或兩端；可僅出現在末端區域，例如出現在末端核苷酸之位置或出現在一股之最末 2、3、4、5 或 10 個核苷酸內；或可出現在雙股區域及單股區域內，尤其是在末端。一個或多個 5' 末端可經磷酸化。

【0353】 下述係可能者，例如，提升安定性，在突出中包括特定之鹼基，或在單股突出如 5'突出或 3'突出或兩者中包括經修飾之核苷酸或核苷酸替代品。例如，可能所欲者係在突出中包括嘌呤核苷酸。於一些態樣中，3'或 5'突出中之全部或一些鹼基可經修飾，如具有本文所述之修飾。修飾可包括，例如，使用在核糖之 2'位置具有該領域中已知之修飾者，如使用去氧核糖核苷酸，使用 2'-去氧-2'-氟(2'-F)或 2'-O-甲基修飾者替代核酸鹼基之核糖，以及使用磷酸酯基團中之修飾如硫代磷酸酯修飾。突出無需與標靶序列同源。

【0354】 於一些態樣中，正義股及反義股之每個殘基係獨立地經 LNA、二醇核酸(GNA)、己醣醇核酸(HNA)、2'-甲氧基乙基、2'-O-甲基、2'-O-烯丙基、2'-C-烯丙基、2'-去氧或 2'-氟修飾。該股可含有超過一個修飾。於一些態樣中，該正義股及反義股之每一殘基獨立經 2'-O-甲基或 2'-氟修飾。應理解，此等修飾係除存在於反義股中之雙螺旋的至少一個熱去安定化修飾之外者。

【0355】 至少兩個相異之修飾典型存在於正義股及反義股。彼等兩個修飾可係 2'-去氧、2'-O-甲基或 2'-氟修飾、非環狀核苷酸等。於一些態樣中，正義股及反義股各自包含選自 2'-O-甲基或 2'-去氧之兩個不同的修飾核苷酸。於一些態樣中，正義股及反義股之每個殘基獨立地經 2'-O-甲基核苷酸、2'-去氧核苷酸、2'-去氧-2'-氟核苷酸、2'-O-N-甲基乙醯胺基(2'-O-NMA)核苷酸、2'-O-二甲基胺基乙氧基乙基(2'-O-NMA, 2'-O-CH₂C(O)N(Me)H)核苷酸、2'-O-胺基丙基(2'-O-AP)核苷酸或 2'-ara-F 核苷酸。再

次應理解，此等修飾係除存在於反義股中之雙螺旋的至少一個熱去安定化修飾之外者。

【0356】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含交替模式之修飾。如本文中所用，術語「交替模體」或「交替模式」指代具有一個或多個修飾之模體，每一修飾出現在一股之交替核苷酸。交替核苷酸可指代每兩個核苷酸一個或每三個核苷酸一個或類似模式。例如，如果 A、B 及 C 各自表示一種類型之對核苷酸之修飾，則交替模體可係

「ABABABABABAB...」、
 「AABBAABBAABB...」、
 「AABAABAABAAB...」、
 「AAABAAABAAAB...」、
 「AAABBBAAABBB...」或「ABCABCABCABC...」等。

【0357】交替模體中含有之修飾的類型可係相同或相異。例如，如果 A、B、C、D 各自表示一種類型之對核苷酸之修飾，則交替模體亦即每兩個核苷酸之修飾可係相同，但正義股或反義股可各自選自交替模體如「ABABAB...」、「ACACAC...」、「BDBDBD...」或「CDCDCD...」等中修飾之若干可能性。

【0358】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含，正義股之交替模體的修飾模式相對於該反義股之交替模體的修飾模式位移。該位移可使得正義股之核苷酸的修飾基團與反義股之核苷酸的不同修飾基團相對應，反之亦然。例如，當正義股與反義股在 dsRNA 雙螺旋中鹼基配對時，在該雙螺旋區域內，正義股中之交替模體可始於該股之 5'-3'之「ABABAB」，且反義股中之交替模體可始於該股之 3'-3'之「BABABA」。作為另一實例，在雙螺旋區域內，正義股中之交替模體可始於該股之 5'-3'之

「AABBAABB」，且反義股中之交替模體可始於該股之 3'-3'之「BBAABBAA」，因此正義股與反義股之間存在修飾模式之完全或部分位移。

【0359】本揭露之 dsRNA 分子可復包含至少一個硫代磷酸酯類或甲基硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。硫代磷酸酯或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾可出現在正義股或反義股或兩者之位於該股任意位置之任意核苷酸。例如，核苷酸間鏈結修飾可出現在正義股及/或反義股之每一個核苷酸；每一核苷酸間鏈結修飾可以交替模式出現在正義股或反義股；或正義股或反義股包含交替模式之兩種核苷酸間鏈結修飾。正義股之交替模式之核苷酸間鏈結修飾可與反義股相同或相異，其正義股之交替模式之核苷酸間鏈結修飾可具有相對於反義股之交替模式之核苷酸間鏈結修飾的位移。

【0360】於一些態樣中，dsRNA 分子包含位於突出區域內之硫代磷酸酯或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。例如，突出區域包含兩個核苷酸且在該兩個核苷酸間具有硫代磷酸酯或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結。核苷酸間鏈結修飾亦可作成以將該突出核苷酸與雙螺旋區域內之末端配對核苷酸鏈結。例如，至少 2、3、4 或全部突出核苷酸可透過硫代磷酸酯或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結而鏈結，且視需要，可存在將突出核苷酸與作為該突出核苷酸之下一個成對核苷酸鏈結的額外之硫代磷酸酯或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結。例如，在末端三個核苷酸之間可能存在至少兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，其中該三個核苷酸中之兩者係突出核苷酸，且第三個核苷酸係緊鄰該突出核苷酸之下一個配對核苷酸。於一個態樣中，此等末端三個核苷酸可位於反義股之 3' 末端。

【0361】於一些態樣中，dsRNA 分子之正義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有兩個至十個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的 1 至 10 個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該正義股與包含硫代磷酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的反義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的反義股配對。

【0362】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17 或 18 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有兩個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代磷酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0363】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15 或 16 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有三個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代磷酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0364】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13 或 14 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有四個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代硫酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0365】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11 或 12 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有五個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代硫酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0366】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有六個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代硫酸酯類、甲基膦酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0367】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5、6、7 或 8 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有七個硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代磷酸酯類、甲基磷酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0368】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3、4、5 或 6 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有八個硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代磷酸酯類、甲基磷酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0369】於一些態樣中，dsRNA 分子之反義股包含藉由 1、2、3 或 4 個磷酸酯類核苷酸間鏈結分隔之具有九個硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸鏈結的兩個嵌段，其中該硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結之一被置於該寡核苷酸序列中之任意位置，並且該反義股與包含硫代磷酸酯類、甲基磷酸酯類及磷酸酯類核苷酸間鏈結之任意組合的正義股或包含硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類或磷酸酯類鏈結的正義股配對。

【0370】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股或反義股之端位置 1 至 10 個核苷酸內的一個或多個硫代磷酸酯類或甲基磷酸酯類核苷酸間鏈結。舉例而言，至少 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核

苷酸可透過硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結而鏈結於正義股或反義股之一端或兩端。

【0371】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股或反義股各自之雙螺旋內部區域 1 至 10 個核苷酸內的一個或多個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結。舉例而言，至少 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 個核苷酸可透過硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結而鏈結於自正義股之 5' 末端計數之雙螺旋區域的位置 8 至 16 處；dsRNA 分子可視需要復包含位於端位置 1 至 10 內的一個或多個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0372】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的一至五個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一至五個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5' 末端計數)之位置 1 及 2 處的一至兩個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一至五個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0373】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5' 末端計數)之位置 1 或 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類或甲基膦酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0374】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0375】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0376】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0377】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0378】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位

於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0379】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0380】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0381】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0382】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義

股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0383】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 至 5 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 18 至 23 內的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0384】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 20 及 21 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0385】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 20 及 21 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0386】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 及 22 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0387】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 及 22 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0388】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 22 及 23 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0389】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子復包含位於正義股(自 5'-末端計數)之位置 1 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 21 處的一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾，以及位於反義股(自 5'末端計數)之位置 1 及 2 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾及位於位置 23 及 23 處的兩個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結修飾。

【0390】於一些態樣中，本揭露之化合物包含骨幹手性中心之模式。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 5 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 6 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 7 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 8 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 9 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有

模式包含至少 10 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 11 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 12 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 13 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 14 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 15 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 16 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 17 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 18 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 19 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 8 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 7 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 6 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 5 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 4 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 3 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 2 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 1 個 Rp 組態之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 8 個非手性者之核苷酸間鏈結 (作為非限制性實例，磷酸二酯)。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式

包含不超過 7 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 6 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 5 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 4 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 3 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 2 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含不超過 1 個非手性者之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 10 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 8 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 11 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 7 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 12 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 6 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 13 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 6 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 14 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 5 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中，骨幹手性中心之共有模式包含至少 15 個 Sp 組態之核苷酸間鏈結，以及不超過 4 個非手性之核苷酸間鏈結。於一些態樣中， Sp 組態之核苷酸間鏈結視需要係接續者或非接續者。於一些態樣中， Rp 組態之核苷酸間鏈結視需要係接續者或非接續者。於一些態樣中，非手性之核苷酸間鏈結視需要係接續者或非接續者。

【0391】於一些態樣中，本揭露之化合物包含嵌段，該嵌段係立體化學嵌段。於一些態樣中，嵌段係 R_p 嵌段，其中該嵌段之每個核苷酸間鏈結係 R_p 。於一些態樣中，5'-嵌段係 R_p 嵌段。於一些態樣中，3'-嵌段係 R_p 嵌段。於一些態樣中，嵌段係 S_p 嵌段，其中該嵌段之每個核苷酸間鏈結係 S_p 。於一些態樣中，5'-嵌段係 S_p 嵌段。於一些態樣中，3'-嵌段係 S_p 嵌段。於一些態樣中，所提供之寡核苷酸包含 R_p 嵌段及 S_p 嵌段兩者。於一些態樣中，所提供之寡核苷酸包含一個或多個 R_p 嵌段但不包含 S_p 嵌段。於一些態樣中，所提供之寡核苷酸包含一個或多個 S_p 嵌段但不包含 R_p 嵌段。於一些態樣中，所提供之寡核苷酸包含一個或多個 PO 嵌段，其中每個核苷酸間鏈結係天然磷酸酯鏈結。

【0392】於一些態樣中，本揭露之化合物包含 5'-嵌段，該嵌段係 S_p 嵌段，其中每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，5'-嵌段係 S_p 嵌段，其中每個核苷酸間鏈結係經修飾之核苷酸間鏈結，並且每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，5'-嵌段係 S_p 嵌段，其中每個核苷酸間鏈結係經硫代磷酸酯類鏈結，並且每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，5'-嵌段包含 4 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，5'-嵌段包含 5 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，5'-嵌段包含 6 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，5'-嵌段包含 7 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，3'-嵌段係 S_p 嵌段，其中每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，3'-嵌段係 S_p 嵌段，其中每個核苷酸間鏈結係經修飾之核苷酸間鏈結，並且每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，3'-嵌段係 S_p 嵌段，其中每個核苷酸間鏈結係經硫代磷酸酯類鏈結，並且每個糖部分包含 2'-F 修飾。於一些態樣中，

3'-嵌段包含 4 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，3'-嵌段包含 5 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，3'-嵌段包含 6 個或更多個核苷酸單元。於一些態樣中，3'-嵌段包含 7 個或更多個核苷酸單元。

【0393】於一些態樣中，本揭露之化合物包含位於一區域中之一種類型的核苷酸或寡核苷酸，其後為特定類型之核苷酸間鏈結，例如，天然磷酸酯鏈結、經修飾之核苷酸間鏈結、Rp 手性核苷酸間鏈結、Sp 手性核苷酸間鏈結等。於一些態樣中，A 之後係 Sp。於一些態樣中，A 之後係 Rp。於一些態樣中，A 之後係天然磷酸酯鏈結(PO)。於一些態樣中，U 之後係 Sp。於一些態樣中，U 之後係 Rp。於一些態樣中，U 之後係天然磷酸酯鏈結(PO)。於一些態樣中，C 之後係 Sp。於一些態樣中，C 之後係 Rp。於一些態樣中，C 之後係天然磷酸酯鏈結(PO)。於一些態樣中，G 之後係 Sp。於一些態樣中，G 之後係 Rp。於一些態樣中，G 之後係天然磷酸酯鏈結(PO)。於一些態樣中，C 及 U 之後係 Sp。於一些態樣中，C 及 U 之後係 Rp。於一些態樣中，C 及 U 之後係天然磷酸酯鏈結(PO)。於一些態樣中，A 及 G 之後係 Sp。於一些態樣中，A 及 G 之後係 Rp。

【0394】於一些態樣中，反義股包含位於核苷酸位置 21 與 22 之間以及核苷酸位置 22 與 23 之間的硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，其中反義股含有定位在反義股之種子區域內(亦即，位於反義股之 5'末端的位置 2 至 9 處)的雙螺旋之至少一個熱去安定化修飾，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或全部八者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 反義股包含 3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(iii) 正義股與配體接合；(iv)

正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(v) 正義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(vi) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；(vii) dsRNA 包含長度為 12 至 40 個核苷酸對之雙螺旋區域；以及(viii) dsRNA 具有位於反義股 5'末端之鈍端。

【0395】於一些態樣中，反義股包含位於核苷酸位置 1 與 2 之間、核苷酸位置 2 與 3 之間、核苷酸位置 21 與 22 之間以及核苷酸位置 22 與 23 之間的硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，其中反義股含有定位在反義股之種子區域內(亦即，位於反義股之 5'末端的位置 2 至 9 處)的雙螺旋之至少一個熱去安定化修飾，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或全部八者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 正義股與配體接合；(iii) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(iv) 正義股包含 1、2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(v) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；(vi) dsRNA 包含長度為 12 至 40 個核苷酸對之雙螺旋區域；(vii) dsRNA 包含長度為 12 至 40 個核苷酸對之雙螺旋區域；以及(viii) dsRNA 具有位於反義股 5'末端之鈍端。

【0396】於一些態樣中，正義股包含位於核苷酸位置 1 與 2 之間以及核苷酸位置 2 與 3 之間的硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，其中反義股含有定位在反義股之種子區域內(亦即，位於反義股之 5'末端的位置 2 至 9 處)的雙螺旋之至少一個熱去安定化修飾，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者、七者或全部八者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 反義股包含 1、

2、3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(iii) 正義股與配體接合；(iv) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(v) 正義股包含 3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(vi) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；(vii) dsRNA 包含長度為 12 至 40 個核苷酸對之雙螺旋區域；以及(viii) dsRNA 具有位於反義股 5'末端之鈍端。

【0397】於一些態樣中，正義股包含位於核苷酸位置 1 與 2 之間以及核苷酸位置 2 與 3 之間的硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，反義股包含位於核苷酸位置 1 與 2 之間、核苷酸位置 2 與 3 之間、核苷酸位置 21 與 22 之間以及核苷酸位置 22 與 23 之間的硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結，其中反義股含有定位在反義股之種子區域內(亦即，位於反義股之 5'末端的位置 2 至 9 處)的雙螺旋之至少一個熱去安定化修飾，並且其中 dsRNA 視需要復具有下述特徵之至少一者(例如，一者、兩者、三者、四者、五者、六者或全部七者)：(i) 反義股包含 2、3、4、5 或 6 個 2'-氟修飾；(ii) 正義股與配體接合；(iii) 正義股包含 2、3、4 或 5 個 2'-氟修飾；(iv) 正義股包含 3、4 或 5 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結；(v) dsRNA 包含至少四個 2'-氟修飾；(vi) dsRNA 包含長度為 12 至 40 個核苷酸對之雙螺旋區域；以及；(vii) dsRNA 具有位於反義股 5'末端之鈍端。

【0398】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含與標靶之誤配、雙螺旋中之誤配、或其組合。誤配可出現在突出區域內或雙螺旋區域內。基於鹼基對促進解離或熔融之傾向性(例如，基於特定配對之關聯或解離之自由能，自由能係基於個體配對檢查配對的最簡單之途徑，但亦可使用次近鄰分析及類似分析)，可將鹼基對排名。就促進解離而言：A:U 優於 G:C；

G:U 優於 G:C；且 I:C 優於 G:C(I 係肌苷)。誤配例如非規範配對或除規範配對之外者(如本文中他處所揭示)優於規範(A:T、A:U、G:C)配對；且包括萬用鹼基之配對優於規範配對。

【0399】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子包含，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數最前列之第 1、2、3、4 或 5 個鹼基對的至少一者可獨立選自下列所組成之群組：A:U、G:U、I:C、以及誤配例如非規範配對或除規範配對之外者或包括萬用鹼基之配對，以促進反義股於該雙螺旋之 5' 末端的解離。

【0400】於一些態樣中，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數之第 1 個位置處的核苷酸係選自由 A、dA、dU、U 及 dT 所組成之群組。另選地，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數最前列之第 1、2 或 3 個鹼基對的至少一者係 AU 鹼基對。例如，位於該雙螺旋區域內之反義股中從 5' 末端計數之第一個鹼基對係 AU 鹼基對。

【0401】發現將 4'-修飾或 5'-修飾之核苷酸引入位於單股或雙股寡核苷酸任意位置處之核苷酸的磷酸二酯類(PO)、硫代磷酸酯類(PS)或二硫代磷酸酯類(PS2)鏈結的 3'-末端，可對該核苷酸間鏈結發揮立體效應，並依次保護或安定化該鏈結以對抗核酸酶。

【0402】於一些態樣中，將 5'-修飾之核苷酸引入位於單股或雙股 siRNA 任意位置處之二核苷酸的 3' 末端。例如，可將 5'-烷基化之核苷酸引入位於單股或雙股 siRNA 任意位置處之二核苷酸的 3' 末端。位於核糖之 5' 位置處的烷基基團可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 5'-烷基

化之核苷酸係 5'-甲基核苷酸。5'-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。

【0403】於一些態樣中，將 4'-修飾之核苷酸引入位於單股或雙股 siRNA 任意位置處之二核苷酸的 3' 末端。例如，可將 4'-烷基化之核苷酸引入位於單股或雙股 siRNA 任意位置處之二核苷酸的 3' 末端。位於核糖之 4' 位置處的烷基基團可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 4'-烷基化之核苷酸係 4'-甲基核苷酸。4'-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。另選地，可將 4'-*O*-烷基化之核苷酸引入位於單股或雙股 siRNA 任意位置處之二核苷酸的 3' 末端。核糖之 4'-*O* 烷基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 4'-*O*-烷基化之核苷酸係 4'-*O*-甲基核苷酸。4'-*O*-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。

【0404】於一些態樣中，將 5'-烷基化之核苷酸引入 dsRNA 之正義股或反義股的任意位置處，並且此類修飾維持或改進 dsRNA 之效力。5'-烷基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 5'-烷基化之核苷酸係 5'-甲基核苷酸。5'-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。

【0405】於一些態樣中，將 4'-烷基化之核苷酸引入 dsRNA 之正義股或反義股的任意位置處，並且此類修飾維持或改進 dsRNA 之效力。4'-烷基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 4'-烷基化之核苷酸係 4'-甲基核苷酸。4'-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。

【0406】於一些態樣中，將 4'-*O*-烷基化之核苷酸引入 dsRNA 之正義股或反義股的任意位置處，並且此類修飾維持或改進 dsRNA 之效力。5'-

烷基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。示例性 4'-*O*-烷基化之核苷酸係 4'-*O*-甲基核苷酸。4'-*O*-甲基可係外消旋物或手性純 *R* 或 *S* 異構物。

【0407】於一些態樣中，本揭露之 dsRNA 分子可包含 2'-5' 鏈結(與 2'-H、2'-OH 及 2'-OMe 鏈結以及與 P=O 或 P=S 鏈結)。舉例而言，2'-5' 鏈結修飾可用來促進核酸酶抗性或用來抑制正義股與反義股之結合，或可用於正義股之 5' 末端以避免正義股被 RISC 激活。

【0408】於另一態樣中，本揭露之 dsRNA 分子可包含 L-糖(例如，L-核糖、L-阿拉伯糖，其具有 2'-H、2'-OH 及 2'-OMe)。舉例而言，此等 L-糖可用來促進核酸酶抗性或用來抑制正義股與反義股之結合，或可用於正義股之 5' 末端以避免正義股被 RISC 激活。

【0409】多個出版物揭示可用於本揭露之 dsRNA 中的多聚 siRNA。此類出版物係包括 WO2007/091269、US 7858769、WO2010/141511、WO2007/117686、WO2009/014887 及 WO2011/031520，其各自藉由引用而以其整體併入本文。

【0410】如下文中更詳細揭示，含有一個或多個碳水化合物部分至 RNAi 劑之接合的 RNAi 劑可優化該 RNAi 劑之一種或多種特性。於多種情形中，碳水化合物部分將附接至該 RNAi 劑之經修飾之子單元。例如，dsRNA 劑之一個或多個核糖核苷酸子單元的核糖可替換為另一部分，如其上附接有碳水化合物配體之非碳水化合物(諸如環狀)載劑。本文中，其子單元之核糖業經如是替換的核糖核苷酸子單元指代為核糖替換修飾子單元 (RRMS)。環狀載劑可係碳環系統，亦即，所有環原子皆係碳原子；或係雜環系統，亦即，一個或多個環原子可係雜環如氮、氧、硫。環狀載劑可係

單環系統，或可含有兩個或多個環如稠環。環狀載劑可係完全飽和之環系統，或其可含有一個或多個雙鍵。

【0411】配體可經由載劑附接至多核苷酸。載劑包括(i)至少一個「骨幹附接點」，諸如兩個「骨幹附接點」，以及(ii)至少一個「繫帶附接點」。如本文中所用，「骨幹附接點」指代官能基如羥基，或通常係鍵，其可用於且適用於將載劑併入核糖核酸之骨幹如磷酸酯或經修飾之磷酸酯如含硫之骨幹中。於一些態樣中，「繫帶附接點」(TAP)指代環狀載劑之構建環原子，例如，碳原子或雜原子(與提供骨幹附接點之原子截然不同)，其連結所選擇之部分。該部分可係例如碳水化合物，如單糖、二醣、三醣、四醣、寡醣及多醣。視需要，所選擇之部分藉由中介繫帶連結至所選擇之載劑。因此，環狀載劑一般將包括官能基例如胺基，或通常提供適用於將另一化學實體如配體併入或繫帶至構建環的鍵。

【0412】RNAi 劑可以經由載劑接合至配體，其中，該載劑可以為環狀基團或非環狀基團。於一些態樣中，該環狀基團可以選自吡咯啶基、吡啶基、吡啶啞基、咪啶基、咪啶啞基、哌啶基、哌啶基、[1,3]二氧雜環戊基、嘧啶啞基、異嘧啶啞基、嗎啶基、噻啶啞基、異噻啶啞基、喹啶基、嗒啶基、四氫呋喃基及十氫萘。於一些態樣中，該非環狀基團係選自絲胺醇骨幹或二乙醇胺骨幹。

【0413】於某些具體態樣中，用於本揭露之方法中的 RNAi 劑係選自由表 2 至 5 中任一者中所列之劑所組成之群組。此等劑可復包含配體，諸如一個或多個親脂性部分、一個或多個 GalNAc 衍生物、或一個或多個親脂性部分及一個或多個 GalNAc 衍生物兩者。

IV. 接合至配體之 iRNA

【0414】本發明之 iRNA 之 RNA 的另一修飾牽涉將一個或多個增強該 iRNA 之活性、細胞分佈或到細胞內之細胞攝取之配體、部分或接合物化學鍵結至該 iRNA。此等部分包括但不限於脂質部分如膽固醇部分 (Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86 : 6553-6556)、膽酸 (Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇 (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309 ; Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770)、硫代膽固醇 (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538、脂肪鏈例如十二烷二醇或十一烷基殘基 (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118 ; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330 ; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54)、磷脂質例如二-十六烷基-rac-甘油或 1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸三乙銨 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654 ; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783)、聚胺或聚乙二醇鏈 (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973)、或金剛烷乙酸 (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654)、棕櫚醯基部分 (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229-237)、或十八烷基胺或己基胺-羧基膽固醇部分 (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937)。

【0415】於某些態樣中，配體改變其所併入之 iRNA 劑的分佈、靶向或壽命。於一些態樣中，配體提供比缺失此配體者增強的對於所選標靶如

分子、細胞或細胞類型、腔室如細胞或器官之腔室、組織、器官或身體區域之親和性。典型之配體將不會參與雙螺旋核酸中之雙螺旋配對。

【0416】配體可包括天然出現之物質，例如蛋白質(例如，人血清白蛋白(HSA)、低密度脂蛋白(LDL)、或球蛋白)；碳水化合物(例如，聚葡萄糖、聚散葡萄糖、幾丁質、幾丁聚醣、菊糖、環糊精或玻尿酸)；或脂質。配體亦可係重組分子或合成分子，諸如合成聚合物，例如，合成聚胺基酸。聚胺基酸之實例包括聚離胺酸(PLL)、聚 L-天冬胺酸、聚 L-麩胺酸、苯乙烯-馬來酸酐共聚物、聚(L-乳酸交酯-共-乙交酯)共聚物、二乙基基醯-馬來酸酐共聚物、N-(2-羥基丙基)甲基丙烯酸醯胺共聚物(HMPA)、聚乙二醇(PEG)、聚乙基醇(PVA)、聚胺酯、聚(2-乙基丙烯酸)、N-異丙基丙烯酸醯胺聚合物、或聚磷嗪(polyphosphazine)。聚胺之實例包括：聚伸乙二胺、聚離胺酸(PLL)、精胺、精三胺、聚胺、假肽-聚胺、胜肽模擬性聚胺、樹枝狀聚胺、精胺酸、脘、魚精蛋白、陽離子脂質、陽離子卟啉、聚胺之四級鹽、或 α -螺旋胜肽。

【0417】配體亦可包括靶向基團，如細胞或組織靶向劑，如凝集素、醣蛋白、脂質或蛋白質，如抗體，其係結合至特定之細胞類型如腎細胞。靶向基團可係促甲狀腺素、促黑素、凝集素、醣蛋白、界面活性劑蛋白 A、粘蛋白碳水化合物、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯基-半乳胺糖、N-乙醯基葡萄糖胺糖、多價甘露糖、多價果糖、糖基化聚胺基酸、多價半乳糖、運鐵蛋白、雙磷酸酯、聚麩胺酸鹽、聚天冬胺酸鹽、脂質、膽固醇、類固醇、膽汁酸、葉酸、維生素 B12、生物素、或 RGD 胜肽或 RGD 胜肽模擬物。於某些態樣中，配體係多價半乳糖，例如，N-乙醯基-半乳胺糖。

【0418】配體之其他實例包括染料；嵌入劑(例如，吡啶類)；交聯劑(例如，補骨脂素、絲裂黴素 C)；卟啉類(TPPC4、texaphyrin、Sapphyrin)；多環芳烴(例如，啡咾、二氫啡咾)；人工核酸內切酶(例如，EDTA)；親脂性分子(例如，膽固醇、膽酸、金剛烷乙酸、1-萘丁酸、二氫鞣固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉基氧己基、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十六烷基、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基、或啡啶)；以及肽接合物(例如，觸角足突變肽、Tat 肽)、烷基化劑、磷酸鹽、胺基、巰基、PEG(例如，PEG-40K)、MPEG、[MPEG]2、聚胺基、烷基、經取代之烷基、放射標記至標記物、酵素、半抗原(如，生物素)、轉運/吸收促進劑(例如，阿司匹林、維生素 E、葉酸)、合成核糖核酸酶(例如，咪唑、雙咪唑、組胺、咪唑簇、吡啶-咪唑接合物、四氫雜大環之 Eu^{3+} 錯合物)、二硝基苯基、HRP、或 AP。

【0419】配體可係蛋白質，如醣蛋白、或胜肽如具有對於共配體之特異親和性的分子、或抗體如結合至特定細胞類型諸如癌細胞、內皮細胞或骨細胞之抗體。配體亦可包括激素及激素受體。它們亦可包括非肽類物質，例如脂質、凝集素、碳水化合物、維生素、輔助因子、多價乳糖、多價半乳糖、N-乙醯基半乳胺糖、N-乙醯基葡萄糖胺糖、多價甘露糖、或多價果糖。配體可係，舉例而言，脂質多醣、p38 MAP 激酶之活化劑、或 NF- κ B 之活化劑。

【0420】配體可係例如藥物之物質，其可藉由例如擾亂細胞之細胞骨幹如藉由擾亂細胞之微管、微絲或中間體絲而增加細胞對 iRNA 劑之攝取。該藥物可係，舉例而言，泰素(taxon)、長春新鹼、長春鹼、細胞鬆弛素、

諾考達啞、海綿毒素(japlakinolide)、紅海海綿蛋白 A、鬼筆環肽(phalloidin)、海洋苔蘚素(swinholide) A、吲達諾欣(indanocine)、或邁爾素(myoservin)。

【0421】於一些態樣中，附接至本文中所述之 iRNA 的配體用作藥物動力學調節子(PK 調節子)。PK 調節劑係包括親脂質類、膽汁酸、類固醇、磷脂質類似物、胜肽、蛋白質結合劑、PEG、維生素等。例示性 PK 調節劑係包括但不限於，膽固醇、脂肪酸、膽酸、石膽酸、二烷基甘油酯、二鹵基甘油酯、磷脂質、神經脂質、萘普生(naproxen)、布洛芬(ibuprofen)、微生物 E、生物素等。包含大量硫代硫酸酯類鏈結之寡核苷酸亦已知結合至血清蛋白，因此在骨幹中包含多個硫代磷酸酯類鏈結之短寡核苷酸如約 5 個鹼基、10 個鹼基、15 個鹼基或 20 個鹼基之寡核苷酸亦可作為配體(例如，作為 PK 調節配體)而遵循本發明。此外，於本文所揭示之態樣中，結合血清組分(例如，血清蛋白)之適配體亦適用於作為 PK 調節性配體而使用。

【0422】本發明之接合有配體之 iRNA 可藉由使用承載側鏈反應性官能度之寡核苷酸如衍生自將鏈結分子附接在寡核苷酸(揭示於下)上者而合成。這一反應性寡核苷酸可直接與可商購之配體、合成為承載多種保護基團之任一者的配體、或具有附接於其上之鏈結部分的配體反應。

【0423】於本發明之接合物中使用之寡核苷酸可透過習知之固相合成技術便利且常規性地合成。用於此合成之設備可由多個供應商販售，包括，舉例而言，Applied Biosystems® (Foster City, Calif.)。可額外地或作為另

一種選擇地採用該領域中已知之用於此合成之任何其他手段。使用類似技術來製備其他寡核苷酸如硫代磷酸酯及烷基化衍生物亦係已知者。

【0424】於本發明之接合有配體之寡核苷酸及承載序列特異性鏈結之核苷的配體分子中，該寡核苷酸及寡核苷可在合適 DNA 合成器上使用標準核苷酸或核苷前驅物、或已經承載鏈結部分之核苷酸或核苷接合前驅物、已經承載配體分子之配體-核苷酸或核苷接合前驅物、或承載配體之非核苷酸構建模塊而組裝。

【0425】當使用已經承載鏈結部分之核苷酸接合前驅物時，典型係完成序列特異性鏈結之核苷的合成，隨後將該配體分子與該鏈結部分反應以形成接合有配體之寡核苷酸。於一些態樣中，本發明之寡核苷酸或經鏈結之核苷係藉由自動合成器使用衍生自配體-核苷接合物之除標準亞磷醯胺之外的亞磷醯胺及可商購且常規用於寡核苷酸合成中之非標準亞磷醯胺來合成。

A. 脂質接合物

【0426】於某些態樣中，配體或接合物係脂質或基於脂質之分子。此類脂質或基於脂質之分子典型可結合血清蛋白諸如人血清白蛋白(HSA)。HSA 結合配體允許接合物分佈於標靶組織，如身體之非腎臟標靶組織。舉例而言，標靶組織可係肝臟，包括肝臟之實質細胞。可結合 HSA 之其他分子亦可用作配體。舉例而言，可使用萘普生或阿司匹林。脂質或基於脂質之配體可(a) 增加對於接合物降解之抗性，(b) 增加對標靶細胞或細胞膜之靶向或遞送，或(c) 可用以調節與血清蛋白例如 HSA 之結合。

【0427】基於脂質之配體可用以調節例如控制(例如，抑制)接合物結合至標靶組織。舉例而言，與 HSA 之結合更強的脂質或基於脂質之配體將更不可能靶向腎臟，並因此更不可能被從身體清除。與 HSA 之結合強度較低的脂質或基於脂質之配體可用來令接合物靶向腎臟。

【0428】於某些態樣中，基於脂質之配體結合 HSA。例如，配體可以足夠之親和性結合 HSA，使得接合物至非腎臟組織之分佈得以增強。惟，親和性之強度典型係不足以導致該 HSA-配體之結合稱為不可逆者。

【0429】於某些態樣中，基於脂質之配體與 HSA 之結合弱或根本不結合，使得接合物至腎臟之分佈得以增強。靶向腎細胞之其他部分亦可用於替換該基於脂質之配體或與該基於脂質之配體同時使用。

【0430】於另一方面，該配體係被標靶細胞例如增殖細胞攝取之部分例如維生素。此等尤其可用於治療以例如惡性或非惡性細胞例如癌細胞的非預期之細胞增殖為特徵的病症。示例性維生素包括維生素 A、維生素 E 及維生素 K。其他示例性維生素包括 B 族維生素，如葉酸、維生素 B12、核黃素、生物素、吡哆醛、或其他被癌細胞攝取之維生素或營養物質。亦包括者係 HSA 及低密度脂蛋白 (LDL)。

B. 細胞滲透劑

【0431】於另一方面，該配體係細胞滲透劑，諸如螺旋細胞滲透劑。於某些態樣中，該劑係雙性劑。示例性劑係肽，例如 tat 或觸角足突變肽。如果該劑係肽，其可經修飾，包括肽基模擬物、嵌入體、非肽或假肽類鏈結、以及 D-胺基酸之使用。螺旋劑典型係 α -螺旋劑，並且可具有親脂相及疏脂相。

【0432】該配體可係肽或肽模擬物。肽模擬物(本文中亦指代為寡肽模擬物)係能折疊為所定義之類似於天然肽之三維結構的分子。肽及肽模擬物至 iRNA 劑之附接可影響 iRNA 之藥物動力學分佈，例如藉由提升細胞識別及吸收而影響。肽或肽模擬物部分可係 5 至 50 個胺基酸之長度，例如，約 5、10、15、20、25、30、35、40、45 或 50 個胺基酸之長度。

【0433】胜肽或胜肽模擬物可係，舉例而言，細胞滲透胜肽、陽離子胜肽、兩親性胜肽、或疏水性胜肽(例如，主要由 Tyr、Trp 或 Phe 構成)。肽部分可係樹枝狀肽、受約束之肽或交聯之肽。於另一選擇中，肽部分可包括疏水性膜易位序列(MTS)。示例性之含有 MTS 的疏水性胜肽係具有下述胺基酸序列的 RFGF：AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO：9)。含有疏水性 MTS 之 RFGF 類似物(例如，胺基酸序列 AALLPVLLAAP (SEQ ID NO：10))亦可係靶向部分。肽部分可係「遞送性」肽，其可攜帶包括肽、寡核苷酸、及蛋白質在內之極性大分子跨越細胞膜。舉例而言，業經發現，來自 HIV Tat 蛋白質之序列(GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO：11))及來自果蠅觸角足突變肽蛋白之序列(RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO：12))能起到遞送肽之功能。胜肽或胜肽模擬物可由 DNA 之隨機序列編碼，例如從噬菌體呈現庫或一珠一物(OBOC)組合庫鑑定之胜肽(Lam *et al.*, *Nature*, 354:82-84, 1991)。典型地，經由合併之單體單元繫帶至 dsRNA 劑之胜肽或胜肽模擬物係細胞靶向胜肽諸如精胺酸-甘胺酸-天冬胺酸(RGD)胜肽或 RGD 模擬物。肽部分之長度範圍可係約 5 個胺基酸至約 40 個胺基酸。該等肽部分可具有結構性修飾，例如以增加安定性或引導構形特性。可使用下文所述之任意結構性修飾。

【0434】用於本發明之組成物及方法的 RGD 肽可係線性或環狀，且可經修飾例如經糖基化或甲基化以促進對特定組織之靶向。含有 RGD 之肽及肽模擬物可包括 D-胺基酸，以及合成 RGD 模擬物。除了 RGD 之外，亦可使用其他以整合素配體(諸如 M-1 或 VEGF)為標靶之部分。

【0435】 RGD 胜肽部分可用來靶向具體細胞類型，例如腫瘤細胞，諸如內皮瘤細胞或乳癌腫瘤細胞(Zitzmann *et al.*, *Cancer Res.*, 62:5139-43, 2002)。RGD 胜肽可促成 dsRNA 劑靶向各種其他組織(包括肺、腎、脾或肝)之腫瘤(Aoki *et al.*, *Cancer Gene Therapy* 8:783-787, 2001)。典型地，RGD 胜肽將促成 iRNA 劑靶向腎臟。RGD 胜肽可係線性或環狀，並且可經修飾例如糖基化或甲基化以促成靶向特定組織。舉例而言，經糖基化之 RGD 胜肽可將 iRNA 劑遞送至表現 $\alpha_v\beta_3$ 之腫瘤細胞(Haubner *et al.*, *Jour. Nucl. Med.*, 42:326-336, 2001)。

【0436】「細胞滲透肽」能滲透細胞例如微生物細胞諸如細菌或真菌細胞，或哺乳動物細胞諸如人類細胞。微生物細胞滲透肽可係，舉例而言， α -螺旋線性肽(例如，LL-37 或 Ceropin P1)、含二硫鍵之肽(例如， α -防禦素、 β -防禦素或 bactenecin)、或僅含有一個或兩個支配性胺基酸之肽(例如，PR-39 或 indolicidin)。細胞滲透肽亦可包括線性定位訊號(NLS)。舉例而言，細胞滲透胜肽可係雙向兩親性胜肽如 MPG，其係衍生自 HIV-1 gp41 之融合胜肽結構域及 SV40 的 T 抗原之 NLS (Simeoni *et al.*, *Nucl.Acids Res.* 31:2717-2724, 2003)。

C. 碳水化合物接合物

【0437】於本發明之組成物及方法的一些態樣中，iRNA 復包含碳水化合物。接合有碳水化合物之 iRNA 對於核酸之體內輸送具有優勢，且組成物係適用於體內治療性用途，如本文中所揭示。如本文中所用，「碳水化合物」指代碳水化合物自身，其由一個或多個具有至少 6 個碳原子之單醣單元(其可係線性、分支鏈或環狀)與鍵結至每一碳原子之氧、氮或硫原子所組成；或係具有碳水化合物部分作為其一部分的化合物，該碳水化合物部分由一個或多個具有至少 6 個碳原子之單醣單元(其可係線性、分支鏈或環狀)與鍵結至每一碳原子之氧、氮或硫原子所組成。代表性碳水化合物包括糖類(單糖、二醣、三醣及含有約 4、5、6、7、8、或 9 個單醣單元之寡醣)，以及多醣如澱粉、糖原、纖維素及多醣膠。具體之單醣包括 C5 糖類及上述(例如，C5、C6、C7 或 C8)糖類；二醣及三醣，其包括具有兩個或三個單醣單元(例如，C5、C6、C7 或 C8)之糖類。

【0438】於某些態樣中，碳水化合物接合物包含單糖。

【0439】於某些態樣中，單醣係 N-乙醯基半乳糖(GalNAc)。GalNAc 接合物，其包含一種或多種 N-乙醯基半乳糖(GalNAc)衍生物，係揭示於例如 US 8,106,022 中，該專利之整體內容藉由引用而併入本文。於一些態樣中，GalNAc 接合物用作配體，其令 iRNA 靶向具體細胞。於一些態樣中，GalNAc 接合物令 iRNA 靶向肝臟細胞，例如，藉由用作肝臟細胞(例如，肝細胞)之去唾液酸糖蛋白受體配體。

【0440】於一些態樣中，碳水化合物接合物包含一個或多個 GalNAc 衍生物。GalNAc 衍生物可經由鏈結子例如二價或三價分支鏈結子附接。於一些態樣中，GalNAc 接合物接合至正義股之 3' 末端。於一些態樣中，

GalNAc 接合物經由鏈結子例如本文所揭示之鏈結子接合至 iRNA 劑(例如，接合至正義股之 3' 末端)。於一些態樣中，GalNAc 接合物係接合至正義股之 5' 末端。於一些態樣中，GalNAc 接合物經由鏈結子例如本文所揭示之鏈結子接合至 iRNA 劑(例如，接合至正義股之 5' 末端)。

【0441】於本發明之某些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由單價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於一些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由二價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於本發明之又一些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由三價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於本發明之其他態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由四價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。

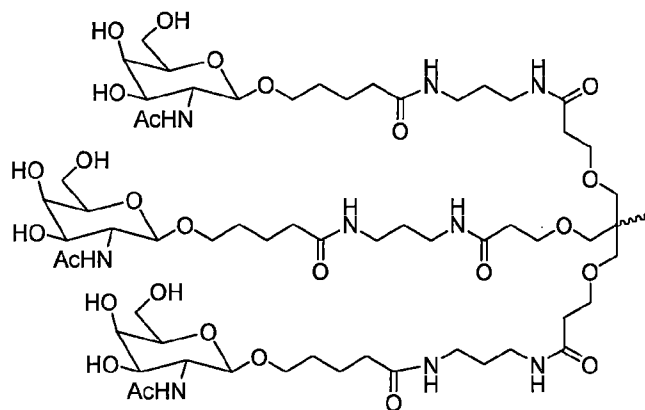
【0442】於某些態樣中，本發明之雙股 RNAi 劑包含一個附接至該 iRNA 劑之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。於某些態樣中，本發明之雙股 RNAi 劑含複數(例如，2、3、4、5 或 6)個 GalNAc 或 GalNAc 衍生物，其透過複數個單價鏈結子而各自獨立附接至該雙股 RNAi 劑之複數個核苷酸。

【0443】於一些態樣中，舉例而言，當本發明之 iRNA 劑之兩股皆係一個更大分子之一部分且藉由位於一股之 3' 末端與另一股之 5' 末端之間的不間斷核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結子附接之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾環圈亦可藉由雙螺旋之一股的延伸突出形成。

【0444】於一些態樣中，舉例而言，當本發明之 iRNA 劑之兩股皆係一個更大分子之一部分且藉由位於一股之 3' 末端與另一股之 5' 末端之間的

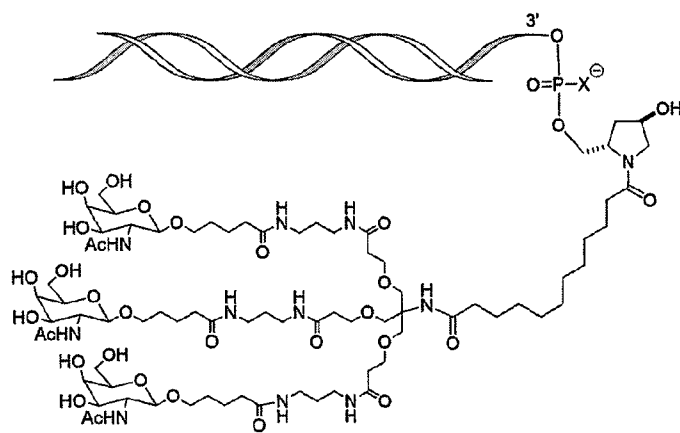
不間斷核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結子附接之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。髮夾環圈亦可藉由雙螺旋之一股的延伸突出形成。

【0445】於一些態樣中，GalNAc 接合物係



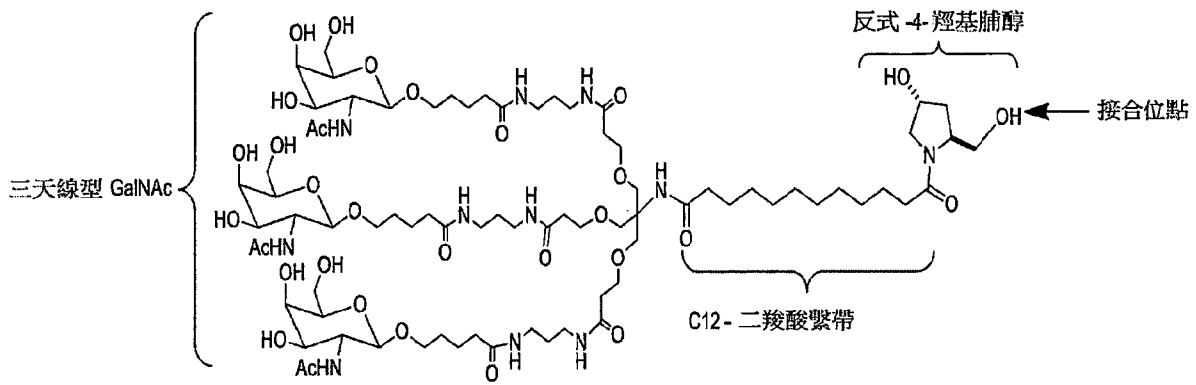
式 II。

【0446】於一些態樣中，RNAi 劑經由下式所示之鏈結子附接至碳水化合物接合物，其中，X 係 O 或 S

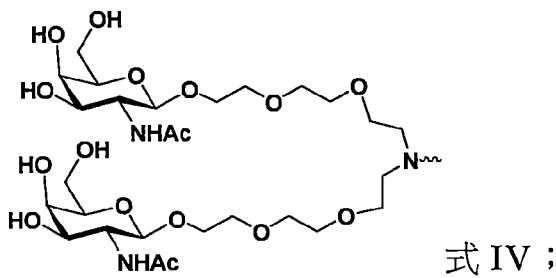
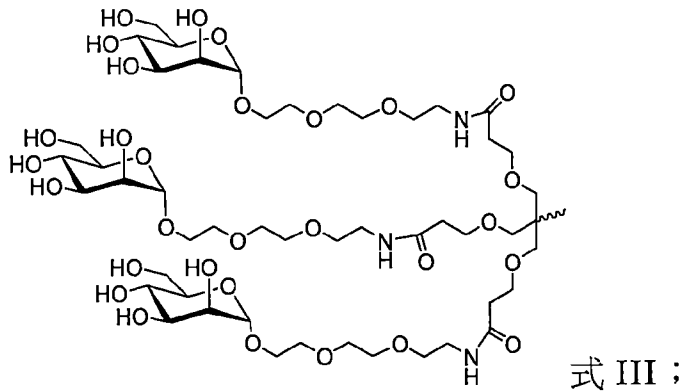
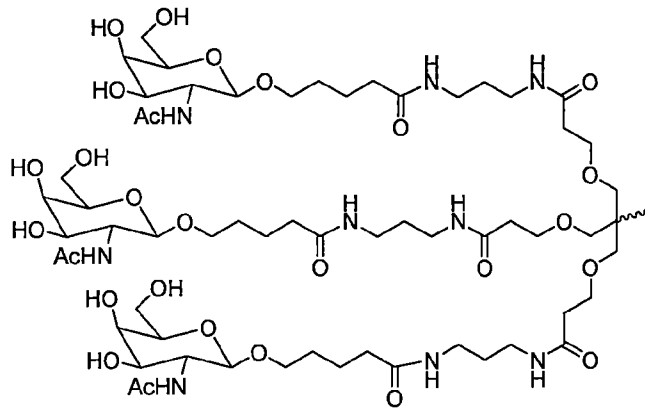


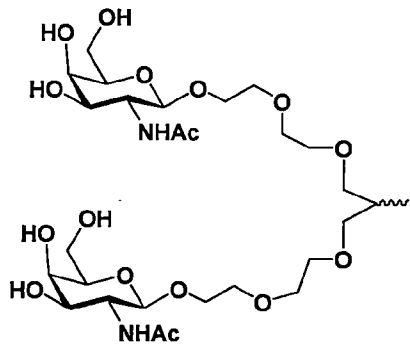
【0447】於一些態樣中，RNAi 劑附接至如表 1 中定義且如下所示之

L96：

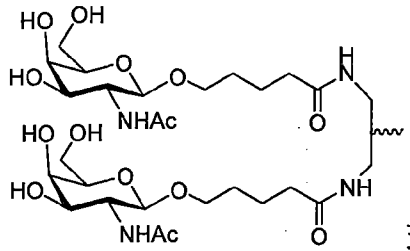


【0448】於某些態樣中，用於本發明之組成物及方法中之碳水化合物接合物係選自下列所組成之群組：

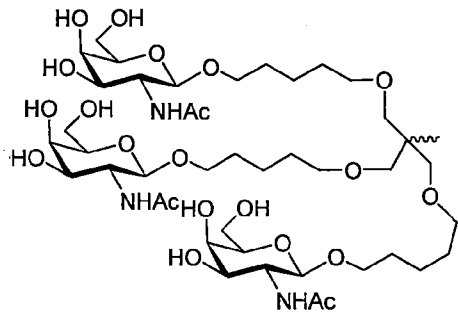




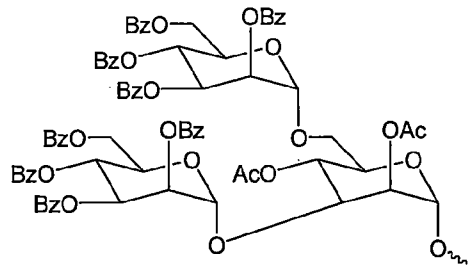
式 V ;



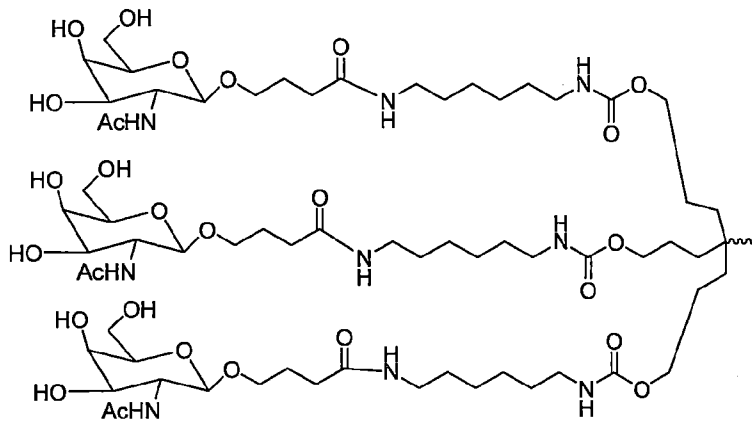
式 VI ;



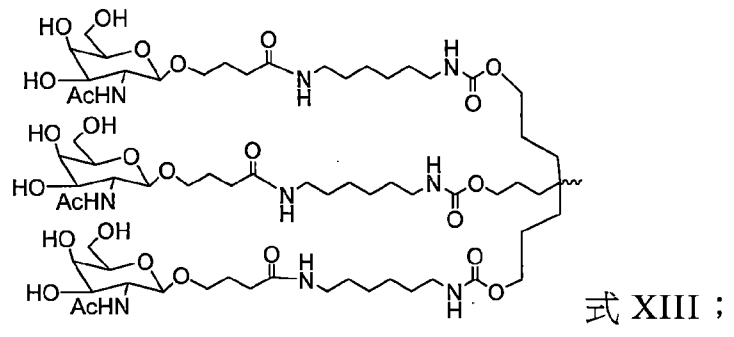
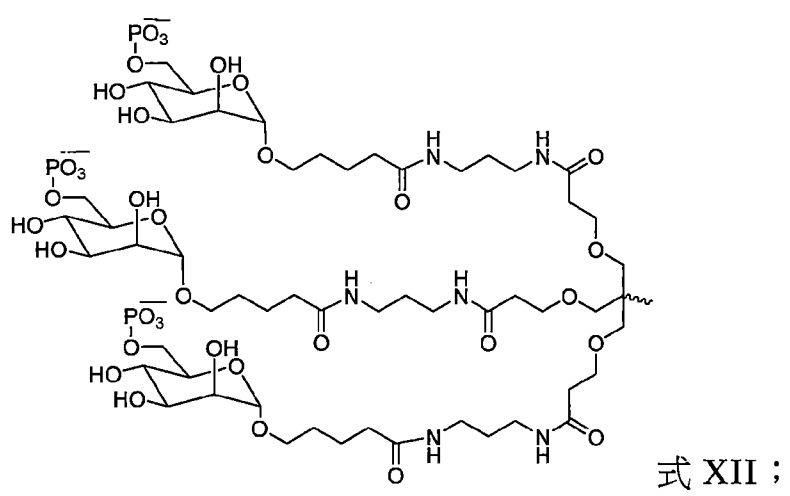
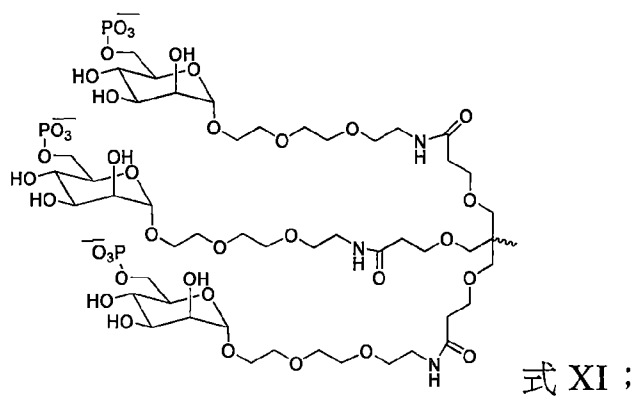
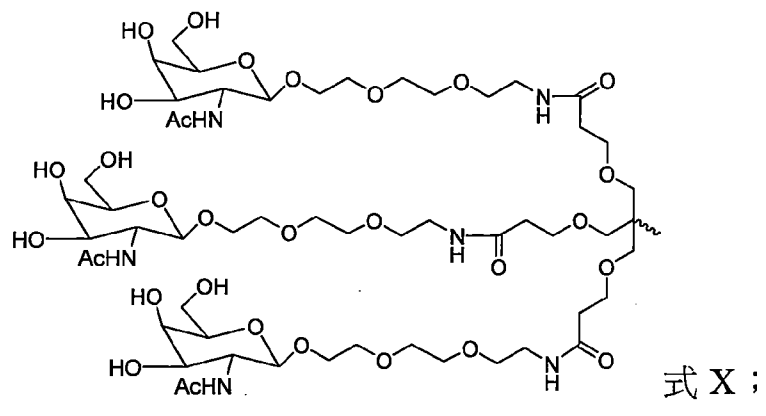
式 VII ;

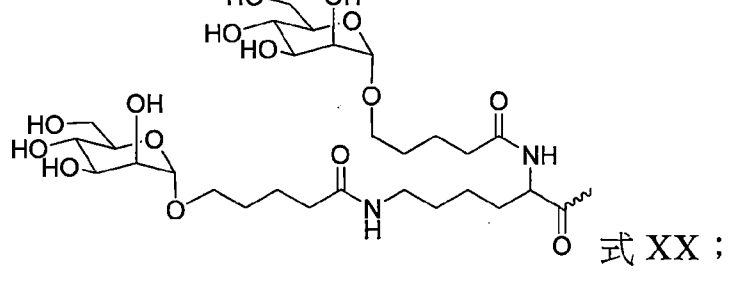
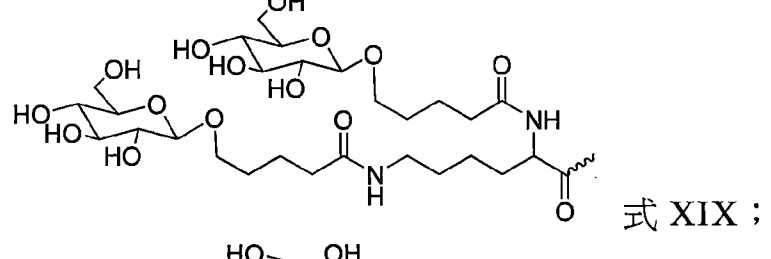
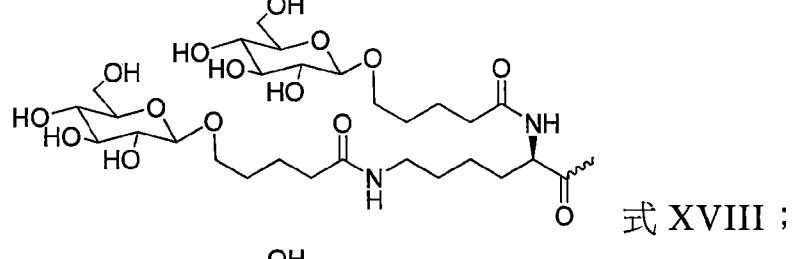
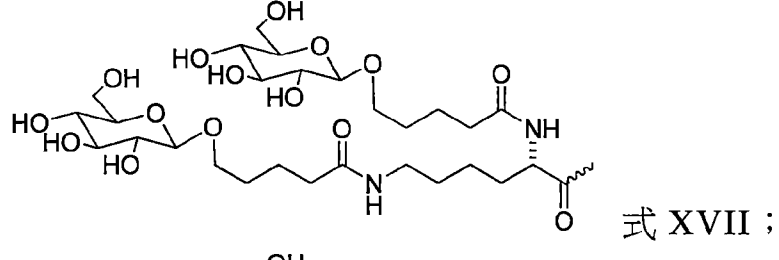
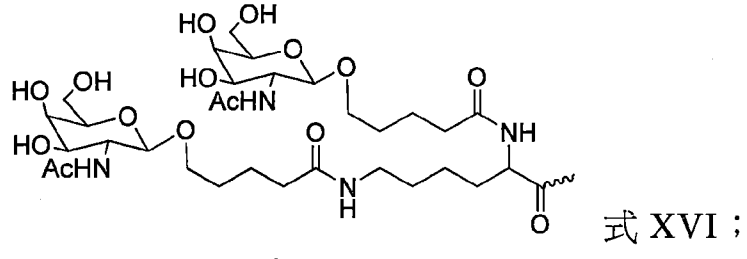
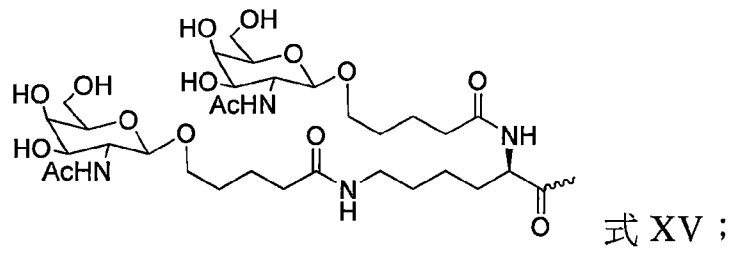
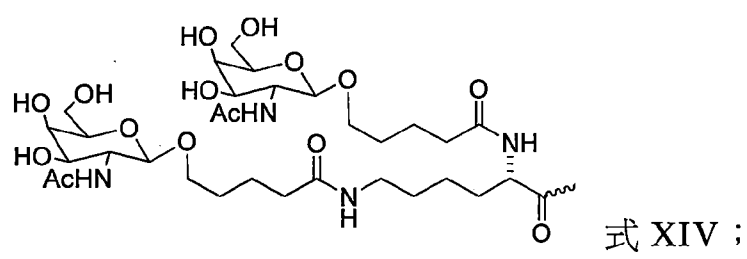


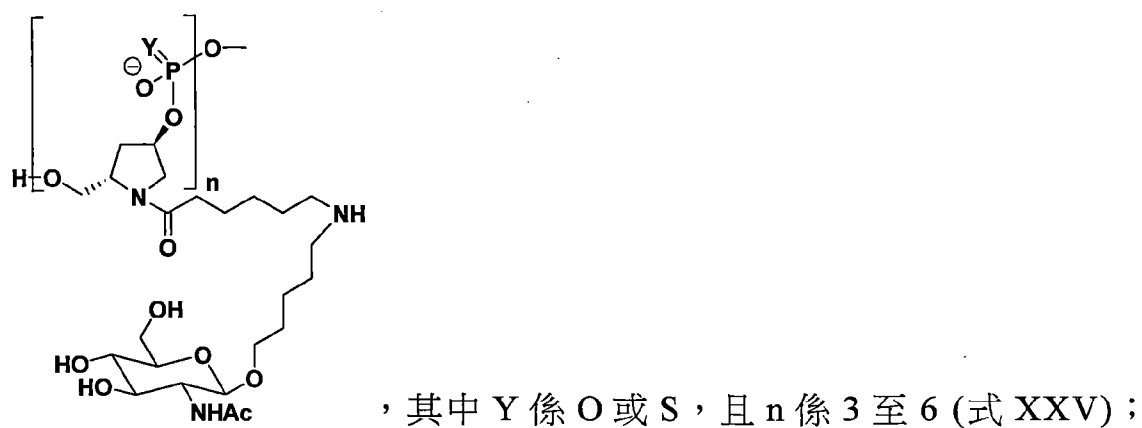
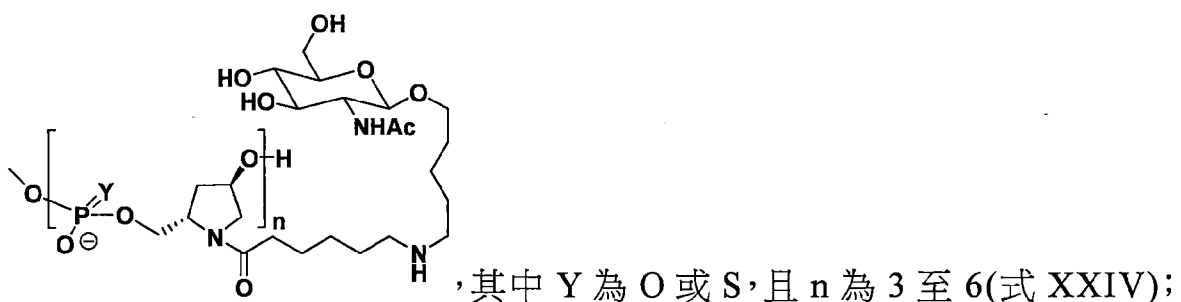
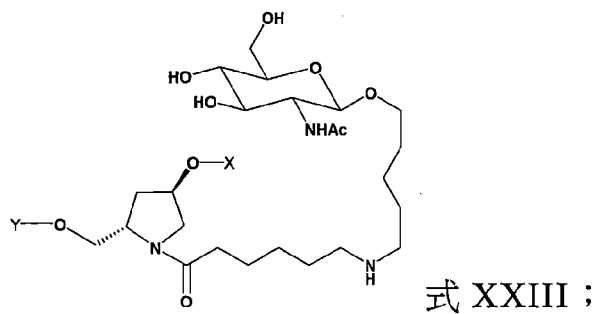
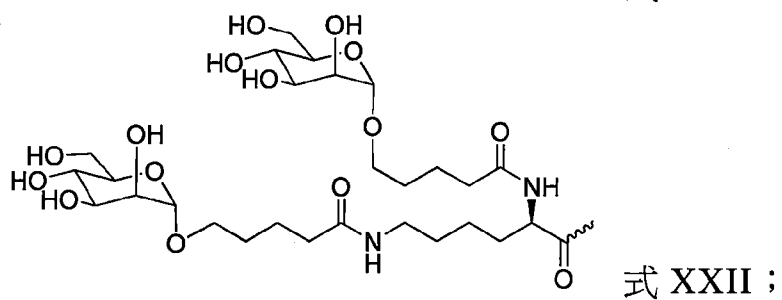
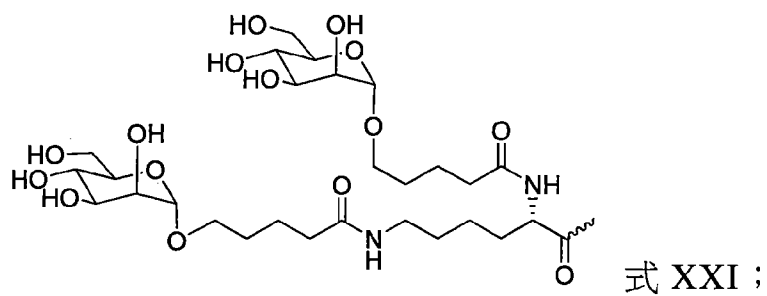
式 VIII ;

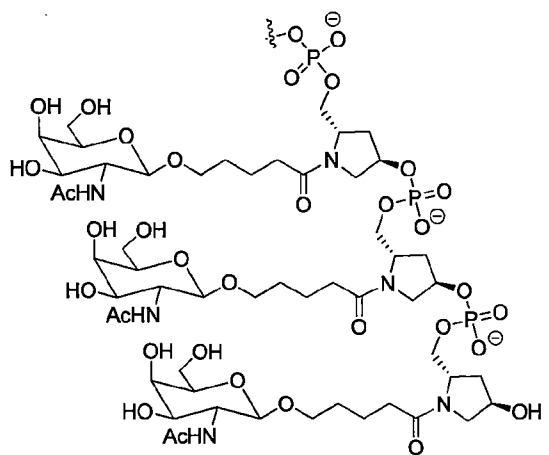
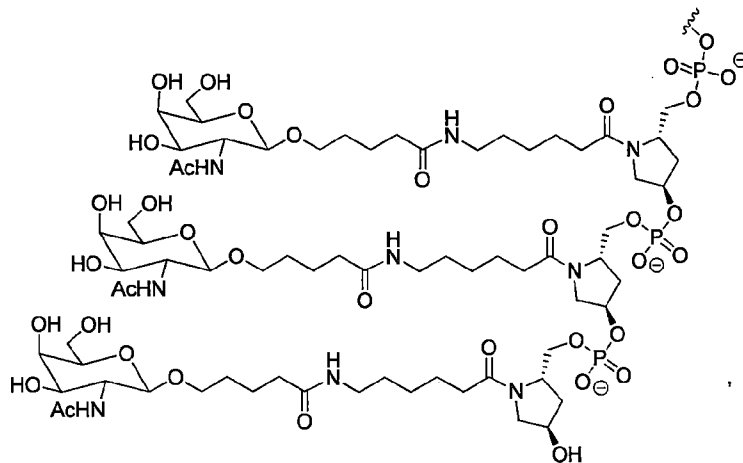
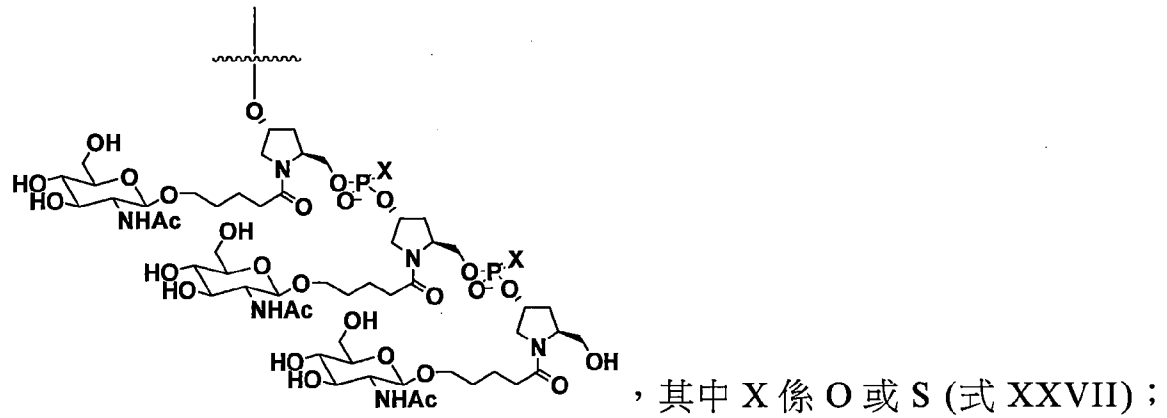
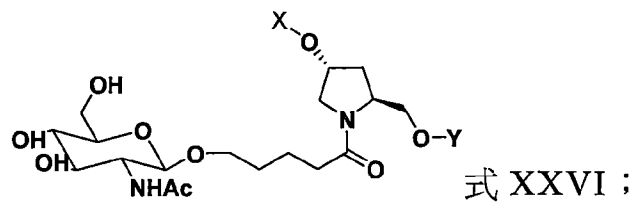


式 IX ;

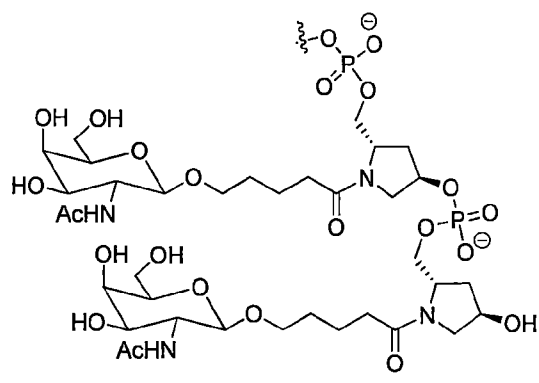
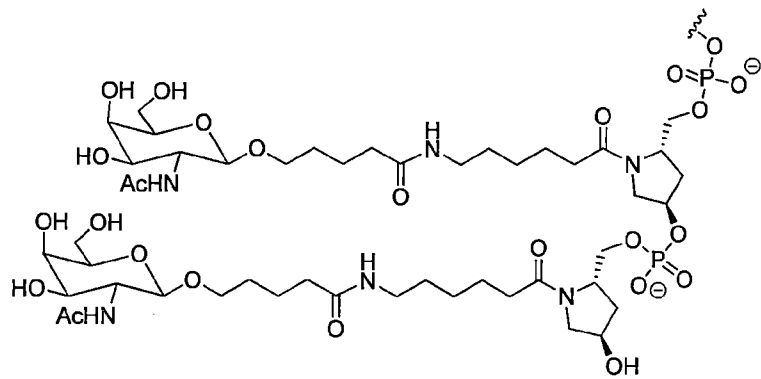






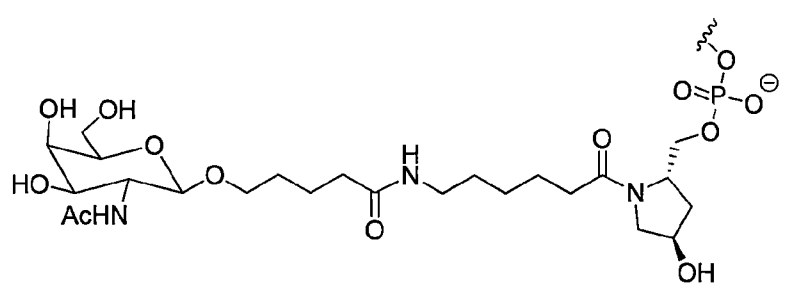


式 XXVII ; 式 XXIX ;



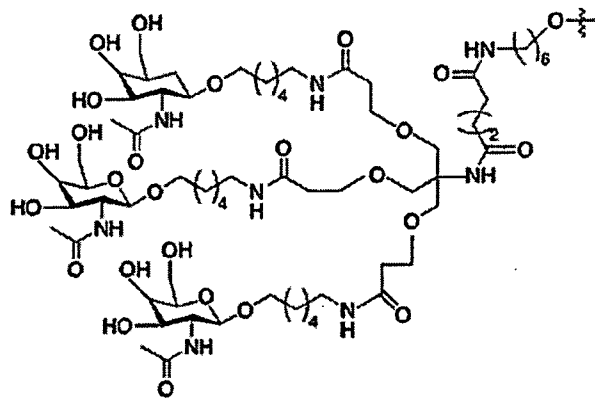
式 XXX ;

式 XXXI ;



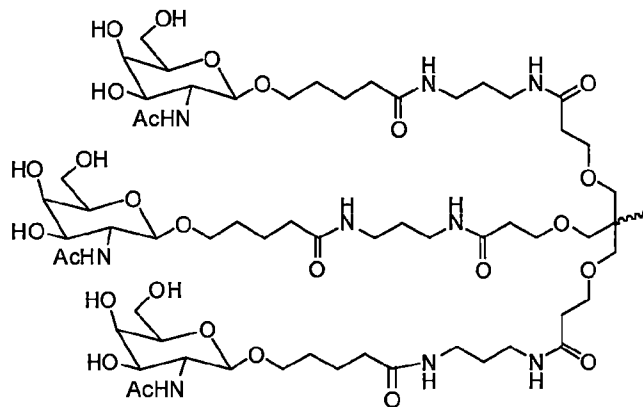
式 XXXII ;

式 XXXIII ;



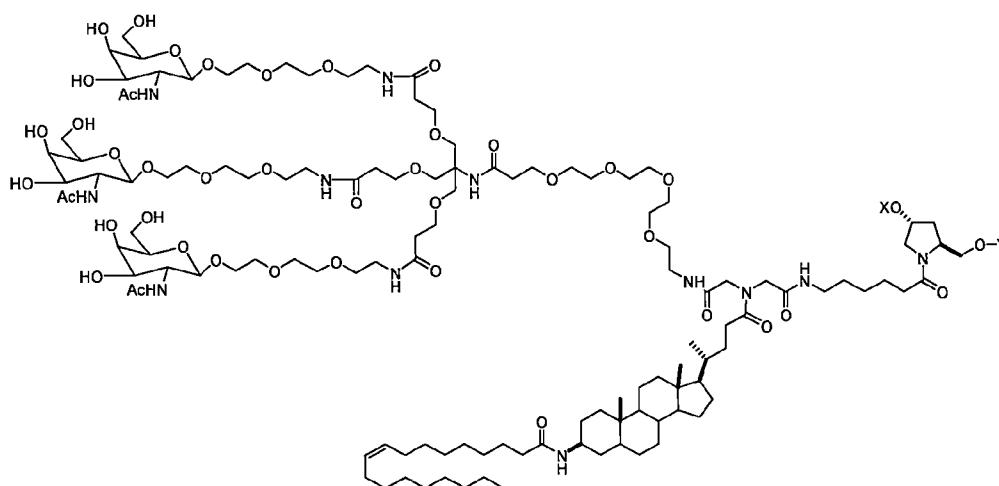
式 XXXIV。

【0449】於某些態樣中，用於本發明之組成物及方法中之碳水化合物接合物係單糖。於某些態樣中，該單糖係 N-乙醯基半乳糖，諸如



式 II。

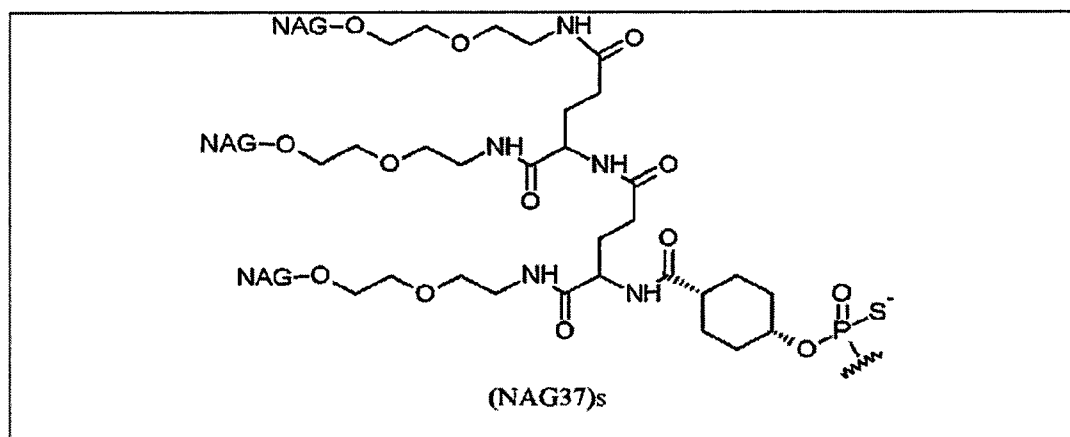
【0450】用於本文所述之態樣中的另一代表性碳水化合物接合物包括但不限於，



(式 XXXVI)，

當 X 或 Y 之一者係寡核苷酸時，另一者係氫。

【0451】於一些態樣中，合適之配體係 WO 2019/055633 中揭露之配體，該專利之整體內容係藉由引用而併入本文。於一態樣中，配體包含以下結構：



【0452】於某些態樣中，本揭露之 RNAi 劑可包括 GalNAc 配體，即便此類 GalNAc 配體當下被預測為對於本揭露之鞘內/CNS 遞送途徑的價值有限。

【0453】於本發明之某些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由單價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於一些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由二價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於本發明之又一些態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由三價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。於本發明之其他態樣中，GalNAc 或 GalNAc 衍生物經由四價鏈結子附接至本發明之 iRNA 劑。

【0454】於某些態樣中，本發明之雙股 RNAi 劑包含附接至該 iRNA 劑之一個 GalNAc 或 GalNAc 衍生物，例如，附接至 dsRNA 劑之正義股的 5' 末端或如本文所揭示之雙靶向 RNAi 劑之一個或兩個正義股之 5' 末端。於某些態樣中，本發明之雙股 RNAi 劑含複數(例如，2、3、4、5 或 6)個

GalNAc 或 GalNAc 衍生物，其透過複數個單價鏈結子而各自獨立附接至該雙股 RNAi 劑之複數個核苷酸。

【0455】於一些態樣中，舉例而言，當本發明之 iRNA 劑之兩股皆係一個更大分子之一部分且係藉由位於一股之 3' 末端與另一股之 5' 末端之間的不間斷核苷酸鏈連結而形成包含複數個未配對核苷酸的髮夾環圈時，該髮夾環圈內之每一個未配對核苷酸可獨立包含經由單價鏈結子附接之 GalNAc 或 GalNAc 衍生物。

【0456】於一些態樣中，碳水化合物接合物復包含如上文所述的一個或多個另外配體，例如但不限於，PK 調節子或細胞滲透肽。

【0457】適用於本發明之額外之碳水化合物複合物(及鏈結子)包括彼等於 WO 2014/179620 及 WO 2014/179627 中所揭示者，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

D. 鏈結子

【0458】於一些態樣中，本文中揭示之接合物或配體可使用多種鏈結子附接至 iRNA 寡核苷酸，該鏈接基可係可裂解者或不可裂解者。

【0459】術語「鏈結子」或「鏈結基團」意指將化合物之兩個部分連結在一起如將化合物之兩個部分共價附接的有機部分。鏈結基典型係包含直接鏈結或原子如氧或硫，單元如 NR₈、C(O)、C(O)NH、SO、SO₂、SO₂NH 或原子之鏈，例如但不限於，經取代或未經取代之烷基、經取代或未經取代之烯基、經取代或未經取代之炔基、芳基烷基、芳基烯基、芳基炔基、雜芳基烷基、雜芳基烯基、雜芳基炔基、雜環基烷基、雜環基烯基、雜環基炔基、芳基、雜芳基、雜環基、環烷基、環烯基、烷基芳基烷基、烷基芳

基烯基、烷基芳基炔基、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、烷基雜芳基烷基、烷基雜芳基烯基、烷基雜芳基炔基、烷基雜芳基烷基、烷基雜芳基烯基、烷基雜芳基炔基、烯基雜芳基烷基、烯基雜芳基烯基、烯基雜芳基炔基、炔基雜芳基烷基、炔基雜芳基烯基、炔基雜芳基炔基、烷基雜環基烷基、烷基雜環基烯基、烷基雜環基炔基、烯基雜環基烷基、烯基雜環基烯基、烯基雜環基炔基、炔基雜環基烷基、炔基雜環基烯基、炔基雜環基炔基、烷基芳基、烯基芳基、炔基芳基、烷基雜芳基、烯基雜芳基、炔基雜芳基，其一個或多個亞甲基可由 O、S、S(O)、SO₂、N(R8)、C(O)、經取代或未經取代之芳基、經取代或未經取代之雜芳基、經取代或未經取代之雜環基中繼或終止；其中 R8 係氫、鹼基、脂族或經取代之脂族。於某些態樣中，鏈結子係約 1 至 24 個原子、2 至 24 個原子、3 至 24 個原子、4 至 24 個原子、5 至 24 個原子、6 至 24 個原子、6 至 18 個原子、7 至 18 個原子、8 至 18 個原子、7 至 17 個原子、8 至 17 個原子、6 至 16 個原子、7 至 16 個原子、或 8 至 16 個原子。

【0460】可裂解之鏈結基團在細胞外足夠安定，但當進入標靶細胞時裂解以釋放被該鏈結子保持在一起之兩個部分。於一個態樣中，可裂解之鏈結基團在標靶細胞內或在第一參考條件(其可係例如經選擇以模擬或呈現細胞內之條件)下之裂解比在受試者血液內或在第二參考條件(其可係例如經選擇以模擬或呈現見於血液或血清中之條件)下之裂解快至少約 10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或更高、或至少約 100 倍。

【0461】可裂解之鏈接基團係對於裂解劑例如 pH、氧化還原電位或可降解分子之存在為敏感者。通常，與在血清或血液中相比，裂解劑在細胞內更為普遍或以更高水平或活性被發現。此類降解劑之實例包括：氧化還原劑，其係選擇用於特定之受質或其不具有受質特異性，包括例如細胞內存在之可降解氧化還原可藉由還原可裂解之鏈結基團的氧化酶、還原酶或還原劑如硫醇；酯酶；內切酶，或可創建酸性環境之劑如導致 pH 為 5 或更低之彼等；可藉由作為通用酸、肽酶(其可係受質特異性者)及磷酸酶作動而水解或降解酸可裂解之鏈結基團的酶。

【0462】可裂解之鏈結基團如二硫鍵可能對於 pH 敏感。人血清之 pH 為 7.4，而細胞內平均 pH 略低，為 7.1-7.3 之範圍。胞內體具有酸性更強之 pH，為 5.5 至 6.0 之範圍；而溶酶體甚至具有酸性更強之 pH，約為 5.0。一些鏈結子將具有可裂解之鏈結基團，該鏈結基團在選定之 pH 裂解，從而在細胞內將陽離子脂質從該配體釋放出來或將該陽離子脂質釋放如所欲之細胞腔室內。

【0463】鏈結子可包括可藉由特定酶裂解之可裂解之鏈結基團。併入鏈結子的可裂解之鏈結基團的類型可取決於待作為標靶之細胞。舉例而言，肝臟靶向配體可透過包括酯基之鏈結子而鏈結至鏈結子。肝細胞富含酯酶，因此鏈結子在肝細胞中將比在不富含酯酶之細胞類型內更有效地被裂解。其他富含酯酶之細胞類型包括肺、腎皮質及睪丸之細胞。

【0464】當靶向細胞類型係富含肽酶者如肝細胞及滑膜細胞時，可使用含有肽鍵之鏈結子。

【0465】通常，可藉由測試降解劑(或條件)裂解備選鏈結基團之能力而評估該備選之可裂解鏈結基團的適用性。亦所欲者係亦測試該備選可裂解鏈結基團在血液中或當與其他非標靶組織接觸時之抵抗裂解的能力。因此，可測定第一條件與第二條件間之裂解相對敏感性，其中該第一條件係選擇為標靶細胞內之裂解標記物，且該第二條件係選擇為其他組織或生物流體例如血液或血清中之裂解標記物。該等評估可在無細胞之系統內、細胞內、細胞培養物內、器官或組織培養物內、或在整個動物體內進行。可能有用者係，在無細胞或培養條件下作成初始評估，並藉由在整體動物體內之進一步評估而證實之。於某些態樣中，可用之備選化合物在細胞內(或在選擇以模擬細胞內條件之體外條件下)之裂解比在血液或血清中(或在選擇以模擬細胞外條件之體外條件下)快至少約 2 倍、4 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或約 100 倍。

i. 氧化還原可裂解之鏈結基團

【0466】於某些態樣中，可裂解之鏈結基團係氧化還原可裂解之鏈結基團，其當還原或氧化時被裂解。可經還原裂解之鏈結基團的實例係二硫鏈結基團(-S-S-)。為了確定備選可裂解鏈結基團是否係合適之「可還原裂解之鏈結基團」或例如是否適用於與特定 iRNA 部分及特定靶向劑合用，可查看本文中揭示之方法。舉例而言，可藉由以二硫蘇糖醇(DTT)或使用該領域中已知試劑之還原劑溫育來評估備選者，該溫育模擬在細胞例如標靶細胞內將會觀察到之裂解速率。該等備選物亦可在經選擇以模擬血液或血清條件之條件下評估之。於一個態樣中，備選化合物在血液中被裂解至多約 10%。於其他態樣中，可用之備選化合物在細胞內(或在選擇以模擬細胞

內條件之體外條件下)之降解比在血液或血清中(或在選擇以模擬細胞外條件之體外條件下)快至少約 2 倍、4 倍、10 倍、20 倍、30 倍、40 倍、50 倍、60 倍、70 倍、80 倍、90 倍或約 100 倍。備選化合物之裂解速率可使用標準酶動力學分析在經選擇以模擬細胞內介質之條件下測定，並將其與在經選擇以模擬細胞外介質之條件下所測者比較。

ii. 基於磷酸酯之可裂解鏈結基團

【0467】於某些態樣中，可裂解之鏈結子包含基於磷酸酯之可裂解鏈結基團。基於磷酸酯之可裂解鏈結基團藉由降解或水解該磷酸酯基團之劑而裂解。在細胞內裂解磷酸酯基團之劑的實例係酶如細胞內之磷酸酶。磷酸酯系鏈結基團之實例係-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-，其中，Rk 於每次出現時可獨立為 C1-C20 烷基、C1-C20 鹵烷基、C6-C10 芳基或 C7-C12。示例性態樣包括-O-P(O)(OH)-O-、-O-P(S)(OH)-O-、-O-P(S)(SH)-O-、-S-P(O)(OH)-O-、-O-P(O)(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-及-O-P(S)(H)-S-。於一個態樣中，磷酸酯系鏈結基團係-O-P(O)(OH)-O-。此等備選者可使用與上述之彼等類似之方法評估。

iii. 酸可裂解之鏈結基團

【0468】於某些態樣中，可裂解之鏈結子包含酸可裂解之鏈結基團。酸可裂解之鏈結基團係在酸性條件下被裂解之鏈結基團。於一些態樣中，酸可裂解之鏈結基團係在 pH 為約 6.5 或更低(例如，約 6.0、5.75、5.5、5.25、5.0 或更低)之酸性環境中被裂解，或被劑諸如可用作通用酸之酶裂解。於細胞內，特異性低 pH 胞器如胞內體及溶酶體，可提供用於酸可裂解之鏈結基團的裂解環境。酸可裂解之鏈結基團之實例包括但不限於脙類、酯類、及胺基酸之酯類。酸可裂解之鏈結基團可具有通式 $-C=NN-$ 、 $C(O)O-$ 或 $-OC(O)$ 。示例性態樣係，當附接至酯之氧(烷氧基)的碳係芳基時，經取代之烷基、或四級烷基如二甲基戊基或第三丁基。此等備選者可使用與上述之彼等類似之方法評估。

iv. 基於酯之可裂解鏈結基團

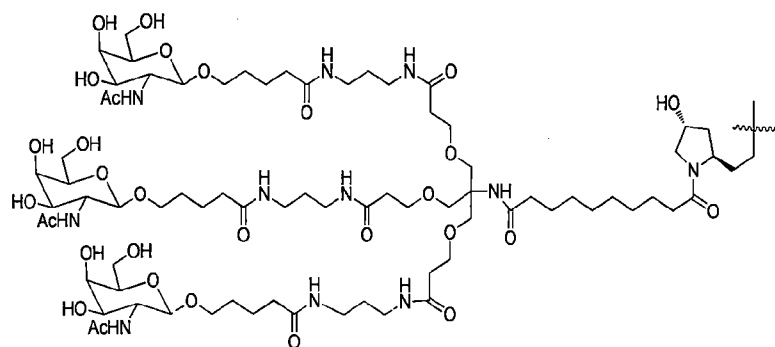
【0469】於某些態樣中，可裂解之鏈結子包含基於酯之可裂解鏈結基團。基於酯之可裂解鏈結基團由酶諸如酯酶或醯胺酶在細胞內裂解。基於酯之可裂解鏈結基團的實例包括但不限於伸烷基、伸烯基及伸炔基之酯類。酯可裂解之鏈結基團可具有通式 $-C(O)O-$ 或 $-OC(O)-$ 。此等備選者可使用與上述之彼等類似之方法評估。

v. 基於胜肽之可裂解鏈結基團

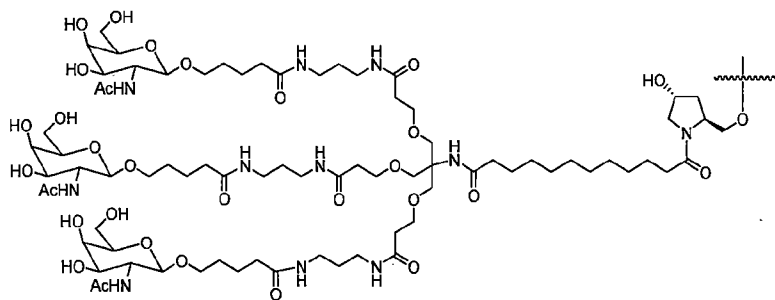
【0470】於又一態樣中，可裂解之鏈結子包含基於胜肽之可裂解鏈結基團。基於肽之可裂解鏈結基團由酶諸如肽酶及蛋白酶在細胞內裂解。基於肽之可裂解基團在胺基酸間形成以獲得寡肽(例如，二肽、三肽等)及多肽之肽鍵。基於肽之可裂解基團不包括醯胺基團 $(-C(O)NH-)$ 。醯胺基團可在任意伸烷基、伸烯基或伸炔基之間形成。肽鍵在胺基酸間形成以獲得肽及

蛋白質之特異類型的醯胺鍵。基於肽之裂解基團通常限定為在胺基酸間形成而獲得肽及蛋白質的肽鍵(亦即，醯胺鍵)，且不包括該完整醯胺官能基。基於肽之可裂解鏈結基團具有通式 $-NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-$ ，其中 RA 與 RB 係兩個相鄰胺基酸之 R 基團。此等備選者可使用與上述之彼等類似之方法評估。

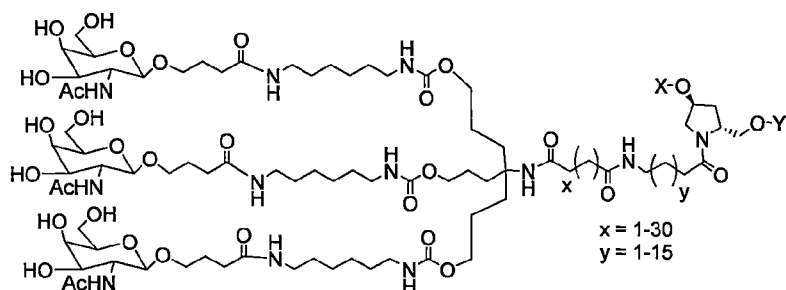
【0471】於一些態樣中，本發明之 iRNA 透過鏈結子接合至碳水化合物。本發明之組成物及方法之具有鏈結子之 iRNA 碳水化合物接合體的非限制性實例包括，但不限於，



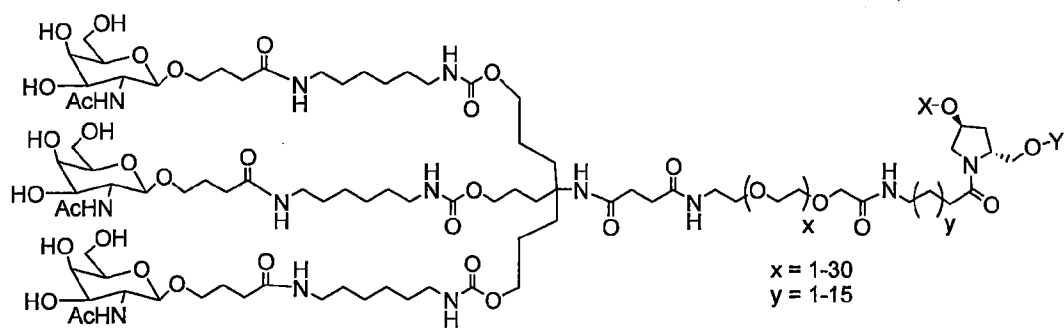
(式 XXXVII)、



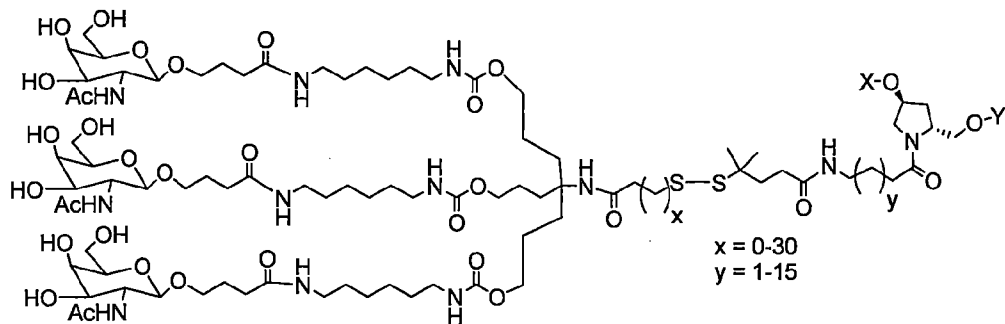
(式 XXXVIII)、



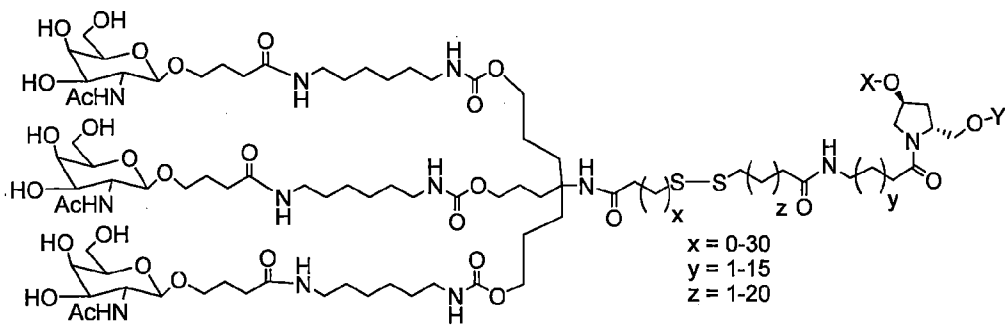
(式 XXXIX)、



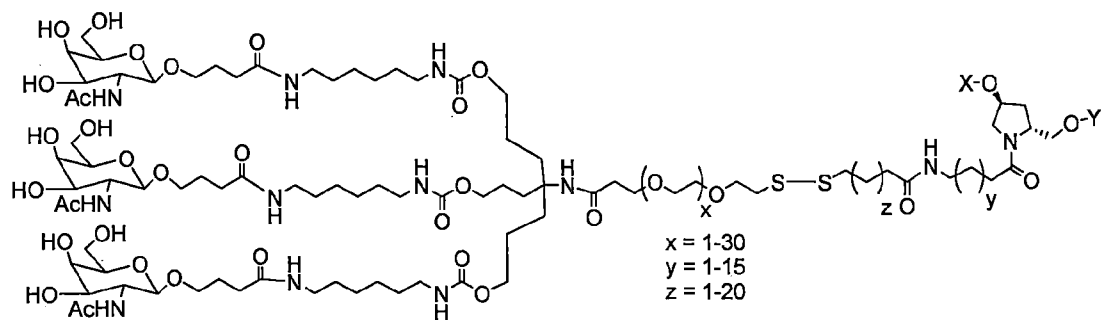
(式 XL) 、



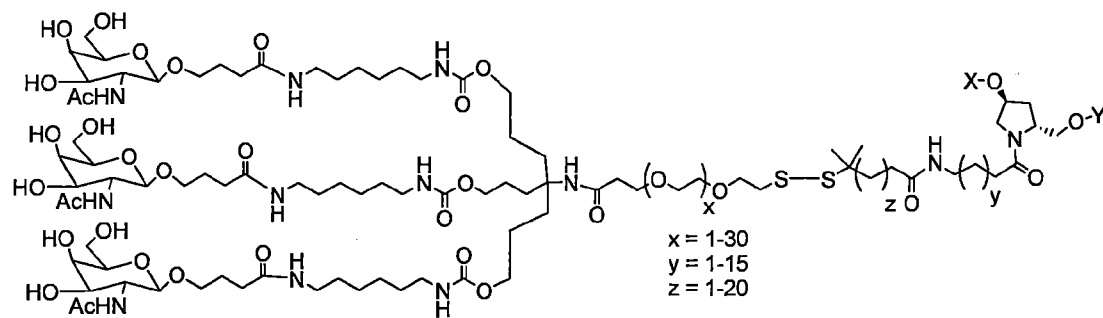
(式 XLI) 、



(式 XLII) 、



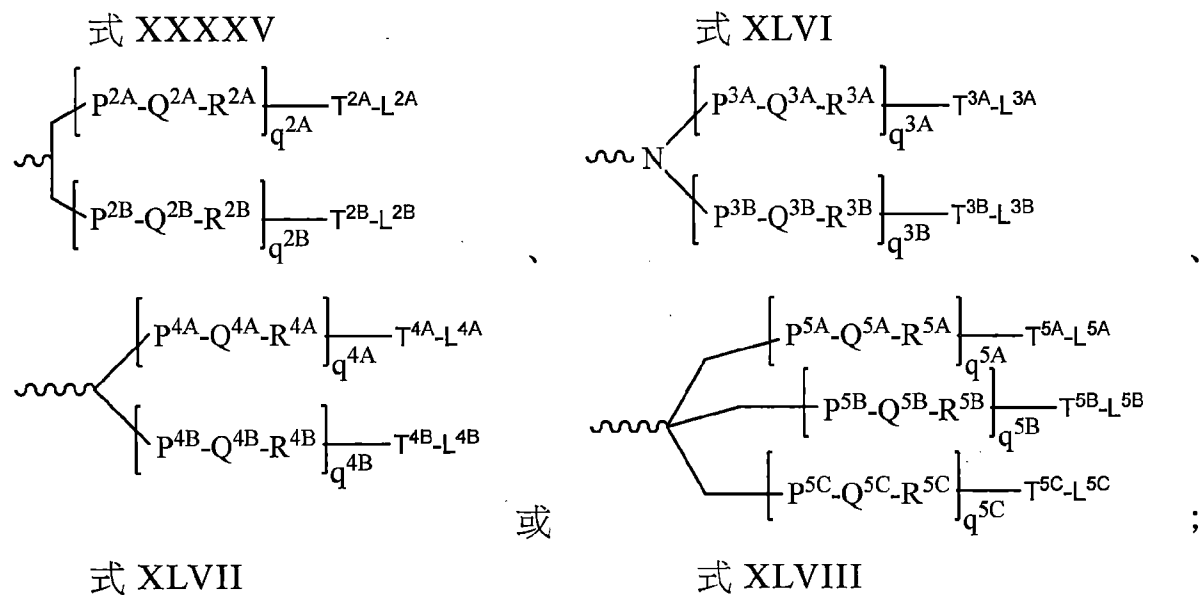
(式 XLIII) 、 及



(式 XLIV)，其中 X 或 Y 之一者係寡核苷酸，且另一者係氫。

【0472】於本發明之組成物及方法之某些態樣中，配體係一種或多種透過二價或三價分支鏈之鏈結子附接的 GalNAc(N-乙醯基半乳糖)衍生物。

【0473】於某些態樣中，本發明之 dsRNA 接合至選自式(XLV)至(XLVIII)中任一者所示結構組成之群組的二價或三價分支鏈之鏈結子：



其中：

q^{2A} 、 q^{2B} 、 q^{3A} 、 q^{3B} 、 q^{4A} 、 q^{4B} 、 q^{5A} 、 q^{5B} 及 q^{5C} 於每次出現時獨立表示 0 至 20，其中，該重複單元可係相同或相異；

【0474】合適之接合 GalNAc 衍生物之二價及三價分支鏈之鏈結子的實例包括但不限於，上文作為式 II、VII、XI、X、及 XIII 而引用之結構。

【0475】教示 RNA 接合物之製備之代表性美國專利包括但不限於，美國專利第 4,828,979 號、第 4,948,882 號、第 5,218,105 號、第 5,525,465 號、第 5,541,313 號、第 5,545,730 號、第 5,552,538 號、第 5,578,717 號、第 5,580,731 號、第 5,591,584 號、第 5,109,124 號、第 5,118,802 號、第 5,138,045 號、第 5,414,077 號、第 5,486,603 號、第 5,512,439 號、第 5,578,718 號、第 5,608,046 號、第 4,587,044 號、第 4,605,735 號、第 4,667,025 號、第 4,762,779 號、第 4,789,737 號、第 4,824,941 號、第 4,835,263 號、第 4,876,335 號、第 4,904,582 號、第 4,958,013 號、第 5,082,830 號、第 5,112,963 號、第 5,214,136 號、第 5,082,830 號、第 5,112,963 號、第 5,214,136 號、第 5,245,022 號、第 5,254,469 號、第 5,258,506 號、第 5,262,536 號、第 5,272,250 號、第 5,292,873 號、第 5,317,098 號、第 5,371,241 號、第 5,391,723 號、第 5,416,203 號、第 5,451,463 號、第 5,510,475 號、第 5,512,667 號、第 5,514,785 號、第 5,565,552 號、第 5,567,810 號、第 5,574,142 號、第 5,585,481 號、第 5,587,371 號、第 5,595,726 號、第 5,597,696 號、第 5,599,923 號、第 5,599,928 號、第 5,688,941 號、第 6,294,664 號、第 6,320,017 號、第 6,576,752 號、第 6,783,931 號、第 6,900,297 號、第 7,037,646 號、第 8,106,022，其各自之整體內容藉由引用而併入本文。

【0476】 給定化合物之所有位置經均勻修飾係不必要者，且事實上，超過一種前述修飾可併入單個化合物中或甚至併入 iRNA 之單個核苷處。本發明亦包括作為嵌合化合物之 iRNA 化合物。

【0477】 於本發明之語境中，「嵌合」iRNA 化合物或「嵌合體」係 iRNA 化合物，諸如 dsRNA 劑，其含有兩個或更多個化學上截然不同之區域，各自由至少一個單體單元構成，亦即，在 dsRNA 化合物之情形中，該單體單元係核苷酸。此等 iRNA 典型含有至少一個區域，其中，該 RNA 經修飾以賦予該 iRNA 以增加之對核酸酶降解之抗性、增加之細胞攝取、或增加之與標靶核酸之結合親和性。iRNA 之附加區域可用作能裂解 RNA:DNA 雜交體或 RNA:RNA 雜交體之酶的受質。舉例而言，RNase H 係細胞之核酸內切酶，其裂解 RNA:DNA 雙螺旋之 RNA 股。因此，RNase H 之激活導致 RNA 標靶之裂解，從而極大地提升對基因表現之 iRNA 抑制的效率。因此，當使用嵌合 dsRNA 時，使用較短之 iRNA 往往可獲得與使用雜交至相同標靶區域之硫代磷酸酯去氧 dsRNA 相當的結果。RNA 標靶之裂解可藉由凝膠電泳常規偵檢之，且若需要，可將凝膠電泳與該領域中已知之相關核酸雜交技術合用。

【0478】 於某些例子中，iRNA 之 RNA 可藉由非配體基團予以修飾。大量非配體分子業經接合至 iRNA 以提升 iRNA 之活性、細胞分佈或細胞攝取，且執行此類接合之過程可在科技文獻中獲得。此類非配體部分業經包括脂質部分，如膽固醇(Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:65533)、膽酸(Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994,

4:1053)、硫醚例如己基-S-三苯甲基硫醇(Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306 ; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765)、硫代膽固醇(Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533)、脂肪鏈例如十二烷二醇或十一烷基殘基(Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111 ; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327 ; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49)、磷脂質例如二-十六烷基-rac-甘油或 1,2-二-O-十六烷基-rac-甘油-3-磷酸三乙銨(Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651 ; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777)、聚胺或聚乙二醇鏈(Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969)、或金剛烷乙酸(Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651)、棕櫚醯基部分(Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229)、或十八烷基胺或己基胺-羰氧基膽固醇部分(Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923)。教示此類 RNA 接合物之製備的代表性美國專利列述於上文中。典型之接合策略牽涉在該序列之一個或多個位置承載胺基鏈結子之 RNA 的合成。胺基隨後與使用合適之偶聯劑或活化劑接合之分子反應。接合反應可使用仍鍵結至固體支撐物之 RNA 執行，或在 RNA 於溶液相中裂解后執行。藉由 HPLC 進行之 RNA 接合物之純化典型提供純接合物。

V. 本揭露之 RNAi 劑的遞送

【0479】本揭露之 RNAi 劑至細胞例如受試者例如人類受試者(例如，有此需要之受試者，諸如患有 GPR75 相關病症例如體重性病例如肥胖之受試者，例如患有體重性病例如肥胖之受試者或處於發展出該病症風險

下或處於該病症風險下之受試者)體內之細胞的遞送可藉由大量不同路徑達成。舉例而言，可藉由將細胞與本揭露之 RNAi 劑在體外或體內接觸而執行遞送。體內遞送亦可藉由將包含 RNAi 基例如 dsRNA 之組成物投予受試者而直接執行。或者，體內遞送可藉由將編碼並引導該 RNAi 劑之表現的一種或多種載體投予而間接執行。此等選擇於下文中進一步檢討。

【0480】通常，遞送核酸分子之任意方法(體外或體內)可適用於與本揭露之 RNAi 劑合用(參見，例如，Akhtar S. and Julian RL., (1992)*Trends Cell.Biol.*2(5):139-144 及 WO94/02595，其藉由引用而以其整體併入本文)。對於體內遞送，為了遞送 RNAi 劑而慮及之因素包括，舉例而言，所遞送之劑的生物學安定性、非特異性效果之預防、及所遞送之劑於標靶組織內之蓄積。RNAi 劑之非特異性效果可藉由局部投予而最小化，舉例而言，藉由直接注射或移植入組織內或外用投予該製劑。局部投予治療位點將該劑之局部濃度最大化，限制該劑與可能受該劑傷害或可降解該劑之系統性組織接觸，且允許以較低之劑量投予 RNAi 劑。若干研究業經顯示，當局部投予 RNAi 劑時，得到基因成功敲低之產物。舉例而言，dsRNA(例如，SOD1)之肺遞送(例如，吸入)業經顯示有效敲低肺組織中之基因及蛋白質表現，並且存在肺之小支氣管及肺泡對 dsRNA 之優異攝取。於食蟹獼猴體內藉由玻璃體內注射(Tolentino, MJ.*et al.*, (2004) *Retina* 24:132-138)及小鼠體內藉由視網膜下注射(Reich, SJ.*et al.*(2003)*Mol. Vis.* 9:210-216)進行之 VEGF dsRNA 的眼內輸送，兩者亦皆顯示防止老年性黃斑點退化實驗模型中的新血管生成。此外，在小鼠體內進行 dsRNA 之直接腫瘤內注射係減小腫瘤體積(Pille, J.*et al.*(2005) *Mol. Ther.* 11:267-274)且可延長荷瘤

小鼠之生存期(Kim, WJ.*et al.*, (2006)*Mol. Ther.*14:343-350 ; Li, S. *et al.*, (2007) *Mol. Ther.* 15:515-523)。RNA 干擾亦業經顯示藉由直接注射進行之局部輸送的成功(Dorn, G. *et al.*, (2004) *Nucleic Acids* 32:e49 ; Tan, PH.*et al.*(2005)*Gene Ther.*12:59-66 ; Makimura, H. *et a.l* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18 ; Shishkina, GT., *et al.*(2004) *Neuroscience* 129:521-528 ; Thakker, ER.,*et al.* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*101:17270-17275 ; Akaneya, Y., *et al.*(2005)*J. Neurophysiol.*93:594-602)以及藉由鼻內投予而成功遞送至肺部(Howard, KA.*et al.*, (2006) *Mol. Ther.* 14:476-484 ; Zhang, X. *et al.*, (2004)*J. Biol. Chem.* 279:10677-10684 ; Bitko, V. *et al.*, (2005) *Nat. Med.* 11:50-55)。對於系統性投予 RNAi 劑用於治療疾病，該 RNA 可經修飾或者使用藥物遞送系統遞送；兩種方法皆作動以防止 dsRNA 被內核酶及外核酶在體內快速降解。RNA 之修飾或藥物載劑亦可容許 RNAi 劑靶向組織並避免非所欲之脫靶效應(例如，不欲受縛於理論，如本文所揭示之 GNA 的用途業經被鑑定為去安定化 dsRNA 之種子區域，導致此類 dsRNA 相對於脫靶效應對上靶有效性之偏好增強，因為此類脫靶效應被該種子區域去安定化作用顯著弱化)。RNAi 劑可藉由化學接合至親脂性基團諸如膽固醇而修飾，以增強細胞攝取並且防止降解。舉例而言，將被接合至親脂性膽固醇部分之對抗 ApoB 的 RNAi 劑系統性注射至小鼠體內，導致肝臟及空腸兩處之 apoB mRNA 的減弱(Soutschek, J. *et al.*, (2004) *Nature* 432:173-178)。業經顯示，將 RNAi 劑接合至適配體抑制前列腺癌模型小鼠體內之腫瘤生長並媒介腫瘤衰退(McNamara, JO. *et al.*, (2006) *Nat. Biotechnol.* 24:1005-1015)。於作為另一種選擇之態樣中，RNAi 劑可

使用藥物遞送系統如奈米顆粒、樹枝狀聚合物、聚合物、脂質體、或陽離子遞送系統進行遞送。荷正電之陽離子遞送系統促成分子 RNAi 劑(荷負電)之結合，亦增強在荷負電之細胞膜處的相互作用，以允許該細胞對 RNAi 劑之有效攝取。陽離子脂質、樹枝狀聚合物或聚合物可鍵結至 RNAi 劑，或經引入以形成封裝 iRNA 之媒介物或微胞(參見，例如，Kim SH. *et al.*, (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116)。泡囊或微胞之形成進一步防止當系統性投予時 RNAi 劑之降解。製作及投予陽離子-RNAi 劑錯合物之方法完全處於該領域熟練人士之能力範圍內(參見，例如，Sorensen, DR., *et al.* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766；Verma, UN.*et al.*, (2003) *Clin. Cancer Res.*9:1291-1300；Arnold, ASet *al.*(2007) *J. Hypertens.* 25:197-205，其皆藉由引用而整體併入本文)。可用於 RNAi 劑之全身遞送之藥物遞送系統的一些非限制性實例包括 DOTAP (Sorensen, DR., *et al* (2003), 如上；Verma, UN.*et al.*, (2003), 如上)、Oligofectamine “固體核酸脂質顆粒”(Zimmermann, TS.*et al.*, (2006) *Nature* 441:111-114)、心磷脂(Chien, PY.*et al.*, (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328；Pal, A. *et al.*, (2005) *Int J. Oncol.*26:1087-1091)、聚伸乙基亞胺(Bonnet ME.*et al.*, (2008) *Pharm.Res.*Aug 16 Epub ahead of print；Aigner, A. (2006) *J. Biomed.Biotechnol.*71659)、Arg-Gly-Asp (RGD)胜肽(Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.*3:472-487)、及聚醯胺基胺(Tomalia, DA. *et al.*, (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67；Yoo, H. *et al.*, (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804)。於一些態樣中，RNAi 劑與環糊精形成用於系統性投予之

錯合物。投予之方法及 RNAi 劑與環糊精之醫藥組成物可見於美國專利第 7, 427, 605 號，其藉由引用而以其整體併入本文。

【0481】本揭露之某些方面係關於減低細胞中 GPR75 基因之表現的方法，包括令所述細胞與本揭露之雙股 RNAi 劑接觸。於一態樣中，細胞係肝臟細胞，視需要係肝細胞。於一個態樣中，細胞係神經元細胞。

【0482】於某些態樣中，RNAi 劑被攝取到器官例如肝臟、腎臟中存在之一種或多種組織或細胞類型。

【0483】本揭露之另一方面係關於減低受試者體內 GPR75 標靶基因之表現及/或活性的方法，包括投予該受試者本揭露之雙股 RNAi 劑。

【0484】本揭露之另一方面係關於治療患有 GPR75 相關病症或處於患有該病症風險下或處於發展出 GPR75 相關病症風險下的受試者，包括投予該受試者治療有效量的本揭露之雙股 RNAi 劑，從而治療受試者。於一些態樣中，GPR75 相關病症包含體重性病症，例如，肥胖症。

【0485】於一個態樣中，雙股 RNAi 劑係經皮下投予。

【0486】於一態樣中，雙股 RNAi 劑係經鞘內投予。藉由雙股 RNAi 劑之鞘內投予，該方法減低腦(例如，紋狀體)或脊柱組織例如皮質、小腦、頸椎、腰椎及胸椎中之 GPR75 標靶基因表現。

【0487】於一個態樣中，雙股 RNAi 劑係經靜脈內投予。

【0488】為了便於闡述，本章節中之製劑、組成物及方法主要關於經修飾之 siRNA 化合物而檢討。惟，可以理解，此等製劑、組成物及方法可使用其他 siRNA 化合物例如未修飾之 siRNA 化合物實踐，並且此實踐處於本揭露範圍內。咸信，藉由多種途徑將包括 RNAi 劑之組成物遞送至受

試者。示例性途徑包括：鞘內腔投予、肺系、靜脈內、皮下、心室內、口服、外用、直腸內、經肛門、陰道內、鼻內及眼內。

【0489】本揭露之 RNAi 劑可併入適用於投予之醫藥組成物中。此類組成物典型包括一種或多種 RNAi 劑及藥學可接受之載劑。如本文所用，短語「藥學可接受之載劑」旨在包括與藥物投予相容之任意及全部溶劑、分散介質、塗層、抗細菌劑及抗真菌劑、等張劑及吸收延遲劑等。此類用於藥學活性物質之介質及劑的使用係該領域中習知者。除非任意傳統介質或劑與活性化合物不相容，否則預期其在組成物中之使用。補充活性化合物亦可併入組成物中。

【0490】本揭露之醫藥組成物可經由大量路徑投予，取決於局部治療或系統性治療是否為所欲者，且取決於待治療之面積。投予可係氣管內、鼻內、外用(包括眼用、陰道、直腸、鼻內、透皮投予)、口服、腸胃外或肺部投予(例如，藉由粉末或氣霧劑之吸入或吹入，包括藉由霧化器)。腸胃外投予包括靜脈點滴、皮下注射、腹膜內注射或肌肉內注射，或者鞘內投予或腦室內投予。

【0491】可選擇投予之途徑及位點以增強靶向性。舉例而言，為了靶向肌肉細胞，肌肉內注射至感興趣之肌肉中將係合乎邏輯之選擇。藉由投予粉末或噴霧劑形式之 RNAi 劑，可靶向肺細胞。藉由以 RNAi 劑塗覆球囊導管以及機械地引入 RNA，可靶向血管內皮細胞。

【0492】用於肺系遞送之組成物可包括水溶液(例如，用於鼻內或經口吸入投予)，由例如脂質(脂質體、囊泡、微乳液、脂質微胞、固體脂質奈米顆粒)或聚合物(聚合物微胞、樹枝狀聚合物、聚合物奈米顆粒、奈米凝膠、

奈米膠囊)構成之載劑，佐劑(例如，用於經口吸入投予)。水性組成物可係無菌者，並且可視需要包含緩衝劑、稀釋劑、吸收增強劑及其他合適添加劑。此類投予容許本發明之雙股 RANi 劑之全身性及局部遞送。

【0493】鼻內投予可包括用注射器或滴液器藉由一次性施加多滴或經由噴霧將雙股 RANi 劑注入或灌入鼻腔中。適用於鼻內投予之劑型包括滴液、粉末、霧化劑及噴霧劑。鼻遞送裝置包括但不限於，蒸汽吸入器、滴鼻器、噴霧瓶、計量噴霧泵、氣體驅動噴霧器、霧化器、機械粉末噴灑器、呼吸致動吸入器及吹入器。用於遞送至呼吸系統更深處例如肺內之裝置包括霧化器、加壓計量吸入器、乾粉吸入器及熱汽化氣霧裝置。用於藉由吸入遞送之裝置可自供應商獲得。裝置可係固定或可變劑量、單劑量或多劑量、一次性或可重複使用者，取決於例如待預防或治療之疾病或病症、待遞送之劑的體積、藥劑之遞送頻次及本領域中之其他考慮。

【0494】經口吸入投予可包括使用裝置諸如被動呼吸驅動或主動動力驅動之單/多劑乾粉吸入器(DPI)將雙股 RNAi 劑遞送之肺系。適用於經口吸入投予之劑型包括粉末及溶液。適用於經口吸入投予之裝置包括霧化器、計量投予吸入器及乾粉吸入器。乾粉吸入器係用來將藥物尤其是蛋白質遞送至肺部的最常用裝置。示例性可商購之乾粉吸入器包括 Spinhaler (Fisons Pharmaceuticals, Rochester, NY)及 Rotahaler (GSK, RTP, NC)。可使用幾種類型之霧化器，亦即，噴射霧化器、超音霧化器、振動網霧化器。噴射霧化器係藉由壓縮空氣驅動。超音霧化器使用壓電轉換器創建來自開放液體儲器之液滴。振動網霧化器使用藉由環狀壓電元件操縱之多孔膜以共振彎曲模式振動。膜中之孔在液體供應側具有大的橫截面尺寸，而

在液滴自其浮現之側具有窄的橫截面尺寸。取決於治療性應用，孔尺寸及孔數量可調節。合適裝置之選擇取決於諸如下列之參數：藥物及其製劑之天然屬性、作動位點及肺部病理生理學。水性懸浮液及溶液係經有效霧化。基於機械生成之振動網技術的氣霧劑亦業經成功用來將蛋白質遞送至肺部。

【0495】對於肺系統投予，RNAi 劑的量可變，並且必須施加之適宜量可能必須關於每種標靶基因單獨確定。典型地，這一量係 10 μg 至 2 mg，50 μg 至 1500 μg ，或 100 μg 至 1000 μg 之範圍。

【0496】用於外用投予之製劑可包括透皮貼劑、軟膏劑、洗劑、乳霜劑、凝膠劑、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及粉末劑。傳統醫藥載劑、水性基質、粉末基質、油狀基質、增稠劑等可係必要者或所欲者。經塗覆之保險套、手套等亦可係有用者。

【0497】用於口服投予之組成物包括粉末劑或顆粒劑、水中之懸浮劑或溶液劑、糖漿劑、酏劑或非水性介質、片劑、膠囊劑、菱錠劑或錠劑。於片劑之情況下，可使用之載劑包括乳糖、檸檬酸鈉及磷酸之鹽。各種崩解劑諸如澱粉及潤滑劑諸如硬脂酸鎂、月桂基硫酸鈉及滑石常用於片劑中。對於膠囊形式之口服投予，可用之稀釋劑係乳糖及高分子量聚乙二醇。當需要使用水性懸浮劑進行口服使用時，可將核酸組成物與乳化劑及懸浮劑組合。若需要，可添加某些甜味劑或芳香劑。適用於本發明之劑之口服投予的組成物進一步揭示於 PCT 申請第 PCT/US20/33156 號中，其整體內容藉由引用併入本文。

【0498】用於鞘內或腦室內投予之組成物可包括無菌水溶液，該無菌水溶液亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他合適之添加劑。

【0499】用於腸胃外投予之製劑可包括無菌水溶液，該無菌水溶液亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他合適之添加劑。腦室內注射可藉由例如附接至儲器之腦室內導管得以促成。對於靜脈內用途，可控制溶質之總濃度以使得製備物等張。

【0500】於一個態樣中，siRNA 化合物例如雙股 siRNA 化合物的投予係腸胃外投予例如靜脈內投予(例如，作為推注或作為擴散性輸注)、皮內投予、腹膜內投予、肌肉內投予、鞘內投予、腦室內投予、顱內投予、皮下投予、跨粘膜投予、口含投予、舌下投予、內窺鏡投予、直腸投予、口服投予、陰道投予、外用投予、肺系統投予、鼻腔內投予、尿道投予或眼部投予。投予可由實施者提供或由另一個人例如醫療從業人員提供。藥品可以可量測之劑量提供或提供在遞送定量劑量之分配器中。下文更詳細地檢討所選擇之遞送模式。

鞘內投予

【0501】於一態樣中，藉由鞘內注射(亦即，注射至腦及脊髓組織浸沒於其中的脊髓液中)遞送雙股 RNAi 劑。將 RNAi 劑鞘內注射至脊髓液中，可作為推注或經由迷你泵執行，該迷你泵可植入皮膚下，提供規則且恆定的 siRNA 至脊髓液中之遞送。脊髓液自脈絡叢(其在該處產生)環繞脊髓及背根神經節下行，然後上行經過小腦及皮質到達蛛膜粒，在該處可離開 CNS，從而完成循環，依據所注射化合物之尺寸、安定性及溶解度，經鞘內遞送至分子可擊中整個 CNS 範圍內之標靶。

【0502】於一些態樣中，鞘內投予係經由泵進行。泵可係經外科手術植入之滲透泵。於一態樣中，將滲透泵植入脊髓管之蛛膜下腔內以促成鞘內投予。

【0503】於一些態樣中，鞘內投予係經由藥用之鞘內遞送系統進行，該系統包括含有一定體積藥劑之儲器，以及配置為遞送該儲器中所含藥劑之一部分的泵。關於這一鞘內遞送系統之更多細節可見於 WO 2015/116658 中，該專利藉由引用以其整體併入本文。

【0504】對於不同之標靶基因，經鞘內注射之 RNAi 劑的量可變，並且必須施加之適宜量可能必須關於每種標靶基因單獨確定。典型地，這一量係 10 μg 至 2 mg，50 μg 至 1500 μg ，或 100 μg 至 1000 μg 之範圍。

編碼本揭露之 RNAi 劑的載體

【0505】靶向 Gpr75 基因之 RNAi 劑可從插入 DNA 或 RNA 載體內之轉錄單元表現(參見，例如，Couture, A, *et al.*, *TIG.*(1996), 12:5-10；WO 00/22113、WO 00/22114 及 US 6,054,299)。表現可持續(數月或更久)，取決於所使用之特定構造及標靶組織或細胞類型。此等基因轉殖可作為線性構造、環狀質體、或病毒載體而引入，其可係整合載體或非整合載體。基因轉殖亦可構造為允許其被作為粒線體外質體而被繼承(Gassmann, *et al.*, (1995) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92:1292)。

【0506】RNAi 劑之個體股或多股可從表現載體上之啟動子轉錄。若兩個分離之股待表現以生成例如 dsRNA，則可將兩個分隔之表現載體共同引入(例如，藉由轉染或感染)標靶細胞內。或者，dsRNA 之每一個體股可藉由位於相同表現質體上之兩種啟動子轉錄。於一個態樣中，dsRNA 表現為

反向重複聚核苷酸，其藉由鏈結子聚核苷酸序列接合，使得該 dsRNA 具有莖環結構。

【0507】 RNAi 劑表現載體通常係 DNA 質體或病毒載體。與真核細胞相容之表現載體，諸如彼等與脊椎動物細胞相容者，可用來生產用於表現本文所揭示之 RNAi 劑的重組構造。RNAi 劑表現載體之遞送可係系統性者，如藉由靜脈內或肌肉內投予；藉由投予從該患者外植之標靶細胞，之後重新引入患者體內；或藉由任何其他容許引入所欲之標靶細胞內的手段。

【0508】 可與本文所述方法及組成物合用之病毒載體系統係包括但不限於，(a) 腺病毒載體；(b) 逆轉錄病毒載體，包括但不限於慢病毒載體、莫洛尼鼠白血病毒等；(c) 腺相關病毒載體；(d) 單純疱疹病毒載體；(e) Sv40 載體；(f) 多瘤病毒載體；(g) 乳頭狀瘤病毒載體；(h) 小核糖核酸病毒載體；(i) 痘病毒載體，如天花如牛痘病毒載體，或禽痘如金絲雀痘或雞痘病毒載體；以及(j) 幫手依賴性或裸線病毒載體。複製缺陷病毒亦可係優勢者。不同之載體將變為或不變為併入該細胞之基因組內。若必要，該等構造可包括用於轉染之病毒序列。或者，該構造可併入能進行附加型複製 (episomal replication) 之載體如 EPV 載體及 EBV 載體內。用於 RNAi 劑之重組表現之構造通常將會需要調整性元件例如啟動子、增強子等，以確保該 RNAi 劑在標靶細胞內之表現。對於載體及構造所慮及之其他方面係該領域中已知者。

VI. 本發明之醫藥組成物

【0509】 本揭露亦包括，包括本揭露之 RNAi 劑的醫藥組成物及製劑。於一態樣中，本文提供含有如本文所揭示之 RNAi 劑以及藥學可接受之載

劑的醫藥組成物。含有該 RNAi 劑之醫藥組成物可用於治療將會受益於抑制或減低 GPR75 基因表現之受試者，例如，患有 GPR75 相關病症之受試者，例如，患有體重性病例如肥胖或處於患有該病症風險下或處於發展出該病症風險下之受試者。

【0510】此等醫藥組成物係基於遞送模式而配製。一個實例係將組成物配製為用於經由腸胃外遞送之系統性投予，例如，藉由靜脈內(IV)遞送、肌肉內(IM)遞送或用於皮下(subQ)遞送。另一實例係配製為用於直接遞送至 CNS 中的組成物，例如，藉由鞘內或玻璃體內注射途徑，視需要藉由輸注入腦(例如，紋狀體)內，諸如藉由連續泵輸注。

【0511】於一些態樣中，本發明之醫藥組成物係無熱原者或非熱原性者。

【0512】本揭露之醫藥組成物可以足以抑制 GPR75 基因表現之劑量投予。通常，本揭露之 RNAi 劑的合適劑量將係約 0.001 至約 200.0 mg 範圍內之恆定劑量，約每個月一次至約每年一次，典型約每個季度一次(亦即，約每三個月一次)至約每年一次；通常係約 1 至 50 mg 範圍內之恆定劑量，約每個月一次至約每年一次，典型約每個季度一次至每年一次。於某些態樣中，劑量將係固定劑量，例如，約 25 μ g 至約 5 mg 之固定劑量。

【0513】重複劑量方案可包括規則地投予治療量之 RNAi 劑，如每個月一次至每六個月一次。於某些態樣中，RNAi 劑係約每個季度投予一次(亦即，約每三個月投予一次)至約每年投予兩次，尤其是用於治療慢性疾病。

【0514】於初始之每天一次、每週兩次、每週一次之治療方案(例如，加載劑量)後，治療之實施頻次可降低。

【0515】於其他態樣中，單一加量之醫藥組成物可係長期持續者，使得後續劑量係以不超過 1、2、3 或 4 個月或更久之間隔投予。於本揭露之一些態樣中，單一劑量之本揭露之醫藥組成物係每個月投予一次。於本揭露之其他態樣中，單一劑量之本揭露之醫藥組成物係每個季度投予一次至每年投予兩次。

【0516】熟練技術人員應知悉，某些因素可影響有效治療受試者所需之劑量及時機，該等因素包括但不限於疾病或病症之嚴重性、先前之治療、受試者之一般健康情況/或年齡、以及存在之其他疾病。此外，使用治療有效量之組成物治療受試者可包括單一治療或一系列治療。

【0517】在小鼠基因學中之進展業經生成大量用於研究多種將會從 GPR75 表現之減低中受益的 GPR75 相關疾病之小鼠模型。此類模型可用於 RNAi 劑之體內測試，以及用於確定治療有效劑量。合適之小鼠模型係本領域中已知者，並且包括例如本文中他處揭示之小鼠模型。

【0518】本揭露之醫藥組成物可經由大量路徑投予，取決於局部治療或系統性治療是否為所欲者，且取決於待治療之面積。投予可係外用(例如，藉由透皮貼劑)；藉由鼻內投予或經口吸入投予之肺系統投予，例如藉由粉末或氣溶膠之吸入或吹入，包括藉由噴霧器；氣管內投予、表皮投予及透皮投予；口服或腸道外投予。腸胃外投予包括靜脈內、動脈內、皮下、腹膜內或肌肉內注射或輸注；真皮下投予，例如經由植入裝置；或顱內投予，例如藉由腦實質內投予、鞘內投予或腦室內投予。

【0519】RNAi 劑可以靶向特定組織諸如肝、CNS(例如，腦之神經元、膠質細胞或脈管組織)或肝臟及 CNS 兩者的模式遞送。

【0520】用於外用投予之醫藥組成物及製劑可包括透皮貼劑、軟膏劑、洗劑、乳霜劑、凝膠劑、滴劑、栓劑、噴霧劑、液體及粉末劑。傳統醫藥載劑、水性基質、粉末基質、油狀基質、增稠劑等可係必要者或所欲者。經塗覆之保險套、手套等亦可係有用者。適宜之外用製劑包括下述之彼等，其中本揭露所提出之 RNAi 劑與外用遞送劑如脂質、脂質體、脂肪酸、脂肪酸酯、類固醇、螯合劑及界面活性劑混合。適宜之脂質及脂質體係包括中性(如，二油醯基磷脂 DOPE 乙醇胺、二肉豆蔻醯基卵磷脂 DMPC、二硬脂醯基卵磷脂)、陰性(如，二肉豆蔻醯基磷脂甘油 DMPG)及陽離子性(如，二油醯基四甲基胺基丙基 DOTAP 及二油醯基磷脂乙醇胺 DOTMA)。本揭露提出之 RNAi 劑可封裝在脂質體內，或可與脂質體尤其是陽離子脂質體形成錯合物。另選地，RNAi 劑可與脂質尤其是陽離子脂質錯合。適宜之脂肪酸及酯類係包括但不限於花生四烯酸、油酸、花生酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、蘇子油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、甘油 1-單癸酸酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、或其 C₁₋₂₀ 烷基酯(如，肉豆蔻酸異丙酯 IPM)、單甘油酯、二甘油酯或藥學可接受之鹽。外用製劑詳細揭示於 US 6,747,014 中，其藉由引用而併入本文。

A. 含膜分子組件之 RNAi 劑製劑

【0521】用於本公開之組成物及方法中之 RNAi 劑可配製為用於在膜分子組件如脂質體或微胞中遞送。如本文中所示，術語「脂質體」指代由

排列為至少一個雙層例如一個雙層或複數個雙側之兩親性脂質構成的泡囊。脂質體包括單層或多層泡囊，其具有從親脂性材料形成之膜及水性內腔。水性部分含有 RNAi 劑組成物。親脂性材料將水性內腔與水性外部分離，而該水性外部並不包括 RNAi 劑組成物，但在一些實例中，可包括 RNAi 劑組成物。脂質體係有用於將活性成分轉移並遞送至作用位點。因為脂質體膜在結構上類似於生物膜，當將脂質體投予組織時，脂質體雙層與細胞膜之雙層融合。隨著脂質體與細胞之融匯的進行，包括 RNAi 劑之內部水性內容物被遞送至細胞內，在該處，RNAi 劑可特異性地結合標靶 RNA 並可媒介 RNAi。於一些情況下，脂質體亦特異性地靶向例如以將 RNAi 劑引導至特定細胞類型。

【0522】 含有 RNAi 劑之脂質體可藉由多種方法製備之。於一個實例中，將脂質體之脂質成分溶解在洗滌劑中，使得以該脂質成分形成微胞。舉例而言，該脂質成分可係兩親性陽離子脂質或脂質複合物。該洗滌劑可具有高臨界微胞濃度且可係非離子性。示例性之洗滌劑包括膽酸鹽、CHAPS、辛基葡萄糖苷、去氧膽酸鹽、及月桂醯肌胺酸。隨後將 RNAi 劑製劑加入包括該脂質成分之微胞中。該脂質上之陽離子性基團與 RNAi 劑相互作用，並縮合在 RNAi 劑周圍以形成脂質體。縮合之後，例如藉由透析移除該洗滌劑，以得到 RNAi 劑之脂質體性製劑。

【0523】 若必要，可在縮合反應過程中，例如藉由受控添加而加入有助於縮合之載劑化合物。舉例而言，該載劑化合物可係除核酸之外的聚合物(如，精胺或精三胺)。亦可調節 pH 以輔助縮合。

【0524】 生產安定之聚核苷酸輸送媒介物之方法，該方法將聚核苷酸/陽離子脂質錯合物作為遞送媒介物之結構性成分而併入，進一步揭示於例如 WO 96/37194 中，其整體內容藉由引用而併入本文。脂質體製劑亦可包括下列中揭示之示例性方法的一個或多個方面：Felgner, P. L. *et al.*, (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:7413-7417；美國專利第 4,897,355 號；美國專利第 5,171,678 號；Bangham *et al.*, (1965) *M. Mol. Biol.* 23:238；Olson *et al.*, (1979) *Biochim. Biophys. Acta* 557:9；Szoka *et al.*, (1978) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 75：4194；Mayhew *et al.*, (1984) *Biochim. Biophys. Acta* 775:169；Kim *et al.*, (1983) *Biochim. Biophys. Acta* 728:339；及 Fukunaga *et al.*, (1984) *Endocrinol.* 115:757。常用之製備其尺寸適合用作遞送媒介物之脂質聚集體的技術包括超音波處理及凍融加押出(參見，例如，Mayer *et al.*, (1986) *Biochim. Biophys. Acta* 858:161)。當一致性地小(50 至 200 nm)且相對均勻之聚集體係所欲者時，可使用微流體化(Mayhew *et al.*, (1984) *Biochim. Biophys. Acta* 775:169)。此等方法可容易地適用於將 RNAi 劑製劑封裝入脂質體中。

【0525】 脂質體落入兩個大類中。陽離子脂質體係荷正電之脂質體，其與荷負電之核酸分子相互作用以形成安定之錯合物。荷正電之核酸/脂質體錯合物係結合至荷負電之細胞表面，且在胞內體中被內化。由於胞內體中之酸性 pH，該脂質體被破裂，將其內容物釋放到細胞質中(Wang *et al.* (1987) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 147:980-985)。

【0526】 pH 敏感或荷負電之脂質體係入陷核酸而非與核酸錯合。由於核酸及脂質兩者皆荷相似之電荷，係出現排斥而非形成錯合物。儘管如此，

一些核酸仍被入陷至此等脂質體之水性內腔中。pH 敏感之脂質體業經用來將編碼胸苷激酶基因之核酸遞送至培養物中之細胞單層。外源基因之表現係於標靶細胞中偵檢出(Zhou *et al.* (1992) *Journal of Controlled Release*, 19:269-274)。

【0527】一種主要類型之脂質體性組成物包括除天然衍生之卵磷脂外之磷脂質。舉例而言，中性脂質體組成物可由二肉豆蔻醯基卵磷脂(DMPC)或二棕櫚醯基卵磷脂(DPPC)形成。陰離子性脂質體組成物通常由二肉豆蔻醯基磷脂醯甘油形成，而陰離子性促融合脂質體主要由二油醯基磷脂醯乙醇胺(DOPE)形成。另一類型之脂質體性組成物由卵磷脂(PC)諸如，舉例而言，大豆 PC 及蛋 PC 形成。另一類型由磷脂質或卵磷脂或膽固醇之混合物形成。

【0528】在體外及體內將脂質體引入細胞內之其它方法的實例係包括美國專利第 5,283,185 號；美國專利第 5,171,678 號；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。

【0529】亦業經檢查非離子性脂質體系統，尤其是包含非離子性界面活性劑及膽固醇之系統，以確定它們在將藥物遞送至皮膚中之用途。包含 Novasome™ I (甘油二月桂酸酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚)及 Novasome™ II (甘油二硬脂酸酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚)之非離子性脂質體製劑係用來將環孢素-A 輸送至小鼠皮膚之真皮內。結果表明，此

類非離子性脂質體系統係有效促進環孢素-A 沈積在皮膚之不同層內(Hu *et al.*, (1994) *S.T.P.Pharma. Sci.*, 4(6):466)。

【0530】脂質體亦包括「立體安定化之」脂質體，如本文中使用的術語指代包含一種或多種空間化脂質的脂質體，當該空間化脂質被併入脂質體中時，其導致循環壽命比缺失此類空間化脂質之脂質體提升。立體安定化之脂質體的實例係下述之彼等：其中，脂質體之形成媒介物之脂質部分中的一部分(A) 係包含一種或多種糖脂質，如單唾液酸神經節苷脂 G_{M1} ，或(B) 係使用一種或多種親水性聚合物如聚乙二醇(PEG)部分予以衍生。儘管不欲受縛於任何特定理論，於該領域中咸信，至少對於含有神經節苷脂、鞘磷脂、或 PEG 衍生之脂質的立體安定化之脂質體，此等立體安定化之脂質體的提升之循環半衰期係源於網狀內皮系統(RES)之細胞對其之攝取減低(Allen *et al.*, (1987) *FEBS Letters*, 223:42；Wu *et al.*, (1993) *Cancer Research*, 53:3765)。

【0531】多種包含一種或多種磷脂質之脂質體係該領域中已知者。Papahadjopoulos *et al.*(*Ann.N.Y.Acad.Sci.*, (1987), 507:64)係報導單唾液酸神經節苷脂 G_{M1} 、硫酸半乳糖腦苷脂及磷脂醯肌醇改善脂質體之血液半衰期的能力。此等發現係藉由下列闡述：Gabizon *et al.* (*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, (1988), 85,:6949)。美國專利第 4,837,028 號及 WO 88/04924，兩者皆授予 Allen 等人，其揭露包含(1) 鞘磷脂及(2) 神經節苷脂 G_{M1} 或硫酸半乳糖腦苷脂之脂質體。美國專利第 5,543,152 號(Webb 等人)係揭露包含鞘磷脂之脂質體。包含 1,2-sn-二肉豆蔻醯基卵磷脂之脂質體係揭露於 WO 97/13499(Lim 等人)中。

【0532】於一個態樣中，使用陽離子性脂質體。陽離子脂質體具備能融合至細胞膜之優點。儘管非陽離子脂質體不能有效地與漿膜融合，但其可在體內被巨噬細胞攝取，且可用以將 RNAi 劑遞送至巨噬細胞。

【0533】脂質體之進一步之優點包括：從天然磷脂質獲得之脂質體係生物相容且生物可降解者；脂質體可合併多種水及脂溶性藥物；脂質體可保護封裝在其內部腔室中之 RNAi 劑不被代謝及降解(Rosoff, in "Pharmaceutical Dosage Forms", Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, volume 1, p. 245)。在脂質體製劑之製備中的重要考量係脂質表面電荷、泡囊尺寸、及脂質體之水性體積。

【0534】荷正電之合成陽離子脂質，氯化 N-[1-(2,3-二油醯基氧基)丙基]-N,N,N-三甲基銨(DOTMA)，可用以形成小脂質體，該小脂質體自發與核酸反應以形成脂質-核酸錯合物，該錯合物能與組織培養細胞之細胞膜的荷負電之脂質融合，從而完成 RNAi 劑之遞送(參見，例如，Felgner, P. L. *et al.*, (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 8:7413-7417 以及美國專利第 4,897,355 號關於 DOTMA 及其與 DNA 合用之描述)。

【0535】一種 DOTMA 類似物，1,2-雙(油醯基氧)-3-(三甲基氮)丙烷(DOTAP)，可與磷脂質合用以形成錯合有 DNA 之泡囊。Lipofectin™ (Bethesda Research Laboratories, Gaithersburg, Md.)係用於將高度陰離子性核酸遞送至活體組織培養細胞內的有效之劑，該細胞包含荷正電之 DOTMA 脂質體，而該脂質體自發與荷負電之聚核苷酸相互作用以形成錯合物。當使用荷足夠正電之脂質體時，所得錯合物上之靜電荷亦為正。以此途徑製備之荷正電之錯合物自發地附接至荷負電之細胞表面，與漿膜融

合，且有效地將官能性核酸遞送至例如組織培養細胞內。另一可商購之陽離子脂質，1,2-雙(油醯基氧)-3,3-(三甲基氮)丙烷(「DOTAP」)(Boehringer Mannheim, Indianapolis, Indiana)與 DOTMA 之不同之處在於其油醯基部分係藉由酯而非醚鍵結者。

【0536】其他經報導之陽離子脂質化合物包括彼等業經接合至多種部分者，包括，舉例而言，業經接合至兩種類型之脂質之一的羧基精胺，且包括化合物如 5-羧基精胺基甘胺酸十八油醯基醯胺(「DOGS」)(Transfectam™, Promega, Madison, Wisconsin)及二棕櫚醯基磷脂醯乙醇胺 5-羧基精胺基-醯胺(「DPPE」)(參見，例如，美國專利第 5,171,678 號)。

【0537】另一陽離子脂質接合物包括具膽固醇之脂質衍生物(「DC-Chol」)，其業經與 DOPE 組合而配製在脂質體內(參見，Gao, X. and Huang, L., (1991)*Biochim. Biophys. Res. Commun.* 179:280)。脂質聚離胺酸，由接合聚離胺酸至 DOPE 而作成者，業經被報導其係在血型之存在下的轉染中有效(Zhou, X. *et al.*, (1991) *Biochim. Biophys. Acta* 1065:8)。對於某些細胞系，據稱此等含有經接合之陽離子脂質的脂質體顯現較低之毒性且提供比含 DOTMA 之組成物更有效之轉染。其他可商購之陽離子脂質產物包括 DMR1E 及 DMR1E-HP(Vical, La Jolla, California)及 Lipofectamine (DOSPA)(Life Technology, Inc., Gaithersburg, Maryland)。其他適用於遞送寡核苷酸之陽離子脂質揭示於 WO 98/39359 及 WO 96/37194 中。

【0538】脂質體製劑尤其適用於外用投予，脂質體呈現比其他製劑優越之若干優點。此類優點包括，相對於對所投予之藥物的高度系統性吸收，副作用減低；所投予之藥物在所欲之標靶處的蓄積增加；以及，將 RNAi 劑

投予皮膚內的能力。於一些實作中，脂質體用於將 RNAi 劑遞送至表皮細胞，且亦用以提升 RNAi 劑至真皮組織內如皮膚內之滲透。舉例而言，該脂質體可外用施加。業經有文獻報導典型之配製為脂質體的藥物至皮膚之遞送(參見，例如，Weiner *et al.*, (1992) *Journal of Drug Targeting*, vol. 2,405-410 及 du Plessis *et al.*, (1992) *Antiviral Research*, 18:259-265 ; Mannino, R. J. and Fould-Fogerite, S., (1998) *Biotechniques* 6:682-690 ; Itani, T. *et al.*, (1987) *Gene* 56:267-276 ; Nicolau, C. *et al.* (1987) *Meth. Enzymol.* 149:157-176 ; Straubinger, R. M. and Papahadjopoulos, D. (1983) *Meth. Enzymol.* 101:512-527 ; Wang, C. Y. and Huang, L., (1987) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84:7851-7855)。

【0539】亦業經檢查非離子性脂質體系統，尤其是包含非離子性界面活性劑及膽固醇之系統，以確定它們在將藥物遞送至皮膚中之用途。包含 Novasome I(甘油二月桂酸酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚)及 Novasome II(甘油二硬脂酸酯/膽固醇/聚氧乙烯-10-硬脂基醚)之非離子性脂質體製劑用來將藥物遞送至小鼠皮膚之真皮內。此類具有 RNAi 劑之製劑可用於治療皮膚病症。

【0540】包括 RNAi 劑之脂質體可作成可高度變形者。該變形性令脂質體能夠滲透穿過小於該脂質體之平均半徑的孔。舉例而言，傳遞體係一種類型之可變形脂質體。傳遞體可藉由將表面邊緣活化劑，一般為界面活性劑，加入標準脂質體性組成物而作成。包括 RNAi 劑之傳遞體可藉由例如注射而在皮下遞送，以將 RNAi 劑遞送至皮膚之角質細胞。為了橫跨哺乳動物之總皮層，脂質泡囊必需在合適之透皮梯度的影響下穿透一系列微

孔，每一微孔具有小於 50 nm 之直徑。此外，由於脂質之特性，此等傳遞體可係自優化(調適至孔如皮膚內之孔的形狀)、自修復，且可頻繁到達其標靶而不片段化，且一般為自載荷。

【0541】適用於本揭露之其他製劑揭示於下列美國臨時專利申請案中：2008 年 1 月 2 日遞交之第 61/018,616 號、2008 年 1 月 2 日遞交之第 61/018,611 號、2008 年 3 月 26 日遞交之第 61/039,748 號、2008 年 4 月 22 日遞交之第 61/047,087 號及 2008 年 5 月 8 日遞交之第 61/051,528 號。2007 年 10 月 3 日遞交之 PCT 申請案第 PCT/US2007/080331 號亦揭示適用於本揭露之製劑。

【0542】傳遞體係又一類型之脂質體，其係可高度變形之脂質聚集體，對於藥物遞送媒介物而言，其係有吸引力之備選。傳遞體可揭示為脂質液滴，其可變形性如此之高以至於它們能輕易地滲透穿過小於該液滴之孔。傳遞體可適應其所使用之環境，例如，它們係自優化(調適至孔如皮膚內之孔的形狀)、自修復，且可頻繁到達其標靶而不片段化，且一般係自載荷。為了製作傳遞體，可將表面邊緣活化劑，一般為界面活性劑，加入標準脂質體性組成物。傳遞體業經用以將血清白蛋白遞送至皮膚。業經顯示，傳遞體媒介之血清白蛋白的遞送與將含有血清白蛋白之溶液進行皮下注射同樣有效。

【0543】界面活性劑可廣泛用於製劑諸如本文揭示之彼等，尤其是乳液(包括微乳液)及脂質體中。對包括天然及合成者在內之多種不同類型的界面活性劑之特性進行分類及排序的最常見途徑，係藉由使用親水/親脂平衡(HLB)進行。親水性基團(亦稱為「頭部」)之天性係提供將製劑中所用之

不同界面活性劑歸類的最有用手段(Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285)。

【0544】 如果界面活性劑分子未經離子化，則其分類為非離子性界面活性劑。非離子性界面活性劑可廣泛應用於醫藥及化妝產品中，且可在寬範圍之 pH 下使用。通常，它們的 HLB 值係 2 至約 18 之範圍，取決於它們的結構。非離子性界面活性劑包括非離子性酯類如乙二醇酯類、丙二醇酯類、甘油酯類、聚甘油酯類、失水山梨醇酯類、蔗糖酯類、及經乙氧基化之酯類。非離子性烷醇醯胺類及醚類如脂肪醇乙氧基化物、經丙氧基化之醇類、及經乙氧基化/丙氧基化之嵌段聚合物亦包括於這一類中。聚氧乙烯界面活性劑係非離子性界面活性劑類別中最常見之成員。

【0545】 如果當將界面活性劑分子溶解或分散於水中時其攜帶負電荷，則該界面活性劑係分類為陰離子性。陰離子性界面活性劑包括羧酸酯類如皂類、醯基乳酸酯類、胺基酸之醯基醯胺類、硫酸之酯類如硫酸烷基酯及經乙氧基化之硫酸烷基酯、磺酸鹽類如烷基苯磺酸鹽類、醯基羥乙基磺酸鹽類、醯基酒石酸鹽類及磺基琥珀酸鹽類、及磷酸鹽類。陰離子性界面活性劑類別之最重要之成員係烷基硫酸鹽類及皂類。

【0546】 如果當將界面活性劑分子溶解或分散於水中時其攜帶正電荷，則該界面活性劑係分類為陽離子性。陽離子界面活性劑包括四級銨鹽類及經乙氧基化之胺類。四級銨鹽類係本類別中最常用之成員。

【0547】 如果界面活性劑具有攜帶正電荷或負電荷之能力，則該界面活性劑係分類為兩性。兩性界面活性劑包括丙烯酸衍生物、經取代之烷基醯胺類、N-烷基甜菜鹼類及磷脂類。

【0548】界面活性劑在藥物產品、製劑及乳液中之使用業經得以回顧 (Rieger, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, p. 285)。

【0549】用於本揭露之方法中的 RNAi 劑亦可提供為微胞製劑。本文中，「微胞」定義為特定類型之分子組件，其中，兩性分子排列為球狀結構，使得該等分子之疏水性部分全部朝向內側，留下親水性部分與周圍之水相接觸。如果環境係疏水性，則存在逆向排列。

【0550】適用於透過跨真皮膜遞送之混合微胞製劑可藉由將 siRNA 組成物之水性溶液、鹼金屬之 C₈ 至 C₂₂ 烷基硫酸鹽、及形成微胞之化合物混合而製備。示例性之形成微胞之化合物包括卵磷脂；玻尿酸；玻尿酸、乙醇酸、乳酸的藥學可接受之鹽類；洋甘菊提取物；黃瓜提取物；亞麻油酸；次亞麻油酸；單油酸甘油酯；單油酸酯類；單月桂酸酯類；玻璃苣油；月見草油；薄荷油；三羥基側氧基膽烷基甘油及其藥學可接受之鹽類；甘油；聚甘油；離胺酸；聚離胺酸；三油酸甘油酯；聚氧乙烯醚類及其類似物；聚多卡醇烷基醚類及其類似物；鵝去氧膽酸鹽類；去氧膽酸鹽類；及其混合物。形成微胞之化合物可在加入鹼金屬之烷基硫酸鹽的同時或之後加入。為了提供較小尺寸之微胞，可使用除劇烈混合外之實質上任何種類的混合形成混合微胞。

【0551】於一種方法中，製備含有 siRNA 組成物及至少一種鹼金屬之烷基硫酸鹽的第一微胞組成物。隨後將該第一微胞組成物與至少三種形成微胞之化合物混合以形成混合微胞組成物。於另一方法中，藉由將 siRNA

組成物、鹼金屬之烷基硫酸鹽、及至少一種形成微胞之化合物混合，之後在劇烈混合下加入剩餘的形成微胞之化合物而製備。

【0552】可將苯酚或間甲酚加至該混合微胞組成物中，以安定化製劑並防止細菌生長。或者，可將苯酚或間甲酚與形成微胞之成分一起加入。在形成該混合微胞組成物之後，亦可加入等張劑如甘油。

【0553】對於將微胞製劑作為噴霧劑遞送，可將該製劑置於氣溶膠分散器內，且該分散器填充有推進劑。該推進劑處於壓力之下，在該分散器中為液體形式。調節各成分之比率，使得水性相與推進劑相成為一體，亦即，僅存在一相。如果存在兩相，則在例如透過計量閥分散該等成分之一部分之前搖動該分散器。所分散劑量之藥劑係由該計量閥推進為細小噴霧。

【0554】推進劑可包括含氫之氯氟碳化合物、含氫之氟碳化合物、甲醚及乙醚。於某些態樣中，可使用 HFA 134a(1,1,1,2-四氟乙烷)。

【0555】主要成分之具體濃度可藉由相對簡單之實驗確定。對於透過口腔進行之吸收，一般所欲者係增加劑量，例如，增加為透過注射投予或透過胃腸道投予之劑量的至少兩倍或三倍。

脂質顆粒

【0556】本揭露之 RNAi 劑例如 dsRNA 可完全封裝在脂質製劑，如 LNP 中，或封裝在其他核酸-脂質顆粒內。

【0557】如本文中所使用，術語「LNP」指代安定之核酸-脂質顆粒。LNP 典型含有陽離子脂質、非陽離子之、及預防該顆粒聚集之脂質(例如，PEG-脂質接合物)。LNP 極其有用於系統性應用，蓋因它們在靜脈內(i.v.)注射後顯現延長之循環壽命且在遠端位點(例如，物理上與投予位點分隔之

位點)蓄積。LNP 包括「pSPLP」，其包括經封裝之縮合劑-核酸錯合物，如 PCT 公佈第 WO 00/03683 號中所詳述。本揭露之顆粒典型具有約 50 nm 至約 150 nm、更典型約 60 nm 至約 130 nm、更典型約 70 nm 至約 110 nm、最典型約 70 nm 至約 90 nm 之平均直徑，且實質上無毒。此外，當本揭露之核酸-脂質顆粒中存在核酸時，該核酸在水性溶液中對抗核酸酶之降解。核酸-脂質顆粒及它們的製備方法揭露於例如美國專利第 5,976,567 號、第 5,981,501 號、第 6,534,484 號、第 6,586,410 號、第 6,815,432 號及美國專利公佈第 2010/0324120 號以及 WO 96/40964 中。

【0558】 於一態樣中，脂質與藥物之比率(質量/質量比率)(例如，脂質與 dsRNA 之比率)將在約 1 : 1 至約 50 : 1、約 1 : 1 至約 25 : 1、約 3 : 1 至約 15 : 1、約 4 : 1 至約 10 : 1、約 5 : 1 至約 9 : 1、或約 6 : 1 至約 9 : 1 之範圍內。上文引述之範圍之間的範圍亦視為本揭露之一部分。

【0559】 某些用於遞送 RNAi 之特定 LNP 製劑業經揭示於該領域中，包括，例如，揭示於例如 WO 2008/042973 中之「LNP01」製劑，該專利藉由引用併入本文。

【0560】 其他示例性脂質-dsRNA 製劑鑑定於下表中。

	可離子化/陽離子脂質	陽離子脂質/非陽離子脂質/ 膽固醇/PEG-脂質接合物 脂質：siRNA 比率
SNALP-1	1,2-二亞麻油醯基氧-N,N-二甲基 胺基丙烷(DLinDMA)	DLinDMA/DPPC/膽固醇/ PEG-cDMA (57.1/7.1/34.4/1.4) 脂質：siRNA ~ 7 : 1
2-XTC	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊二羧酸 (XTC)	XTC/DPPC/膽固醇/PEG- cDMA 57.1/7.1/34.4/1.4 脂質：siRNA ~ 7 : 1
LNP05	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質：siRNA ~ 6 : 1
LNP06	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 57.5/7.5/31.5/3.5 脂質：siRNA ~ 11 : 1
LNP07	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5 脂質：siRNA ~ 6 : 1
LNP08	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 60/7.5/31/1.5 脂質：siRNA ~ 11 : 1
LNP09	2,2-二亞麻油醯基-4-二甲基胺基 乙基-[1,3]-二氧雜環戊(XTC)	XTC/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA ~ 10 : 1
LNP10	(3aR,5s,6aS)-N,N-二甲基-2,2-二 ((9Z,12Z)-十八碳-9,12-二烯基) 四氫-3aH-環庚[d][1,3]二氧雜環 戊-5-胺(ALN100)	ALN100/DSPC/膽固醇/PEG- DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA ~ 10 : 1

LNP11	4-(二甲基胺基)丁酸(6Z,9Z,28Z,31Z)-三十七碳-6,9,28,31-四烯-19-酯(MC3)	MC-3/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA ~ 10 : 1
LNP12	1,1'-(2-(4-(2-((2-(雙(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)(2-羥基十二烷基)胺基)乙基)哌嗪-1-基)乙基氮烷二基)二十二碳-2-醇(Tech G1)	Tech G1/DSPC/膽固醇/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA ~ 10 : 1
LNP13	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA : 33 : 1
LNP14	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 40/15/40/5 脂質：siRNA : 11 : 1
LNP15	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG/ GalNAc-PEG-DSG 50/10/35/4.5/0.5 脂質：siRNA : 11 : 1
LNP16	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA : 7 : 1
LNP17	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA : 10 : 1
LNP18	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA : 12 : 1
LNP19	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DMG 50/10/35/5 脂質：siRNA : 8 : 1

LNP20	MC3	MC3/DSPC/Chol/PEG-DPG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA：10：1
LNP21	C12-200	C12-200/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA：7：1
LNP22	XTC	XTC/DSPC/Chol/PEG-DSG 50/10/38.5/1.5 脂質：siRNA：10：1

DSPC：二硬脂醯基卵磷脂

DPPC：二棕櫚醯基卵磷脂

PEG-DMG：PEG-二肉桂醯基甘油(C14-PEG，或 PEG-C14)(PEG，平均分子量為 2000)

PEG-DSG：PEG-二桂皮基甘油(C18-PEG，或 PEG-C14)(PEG，平均分子量為 2000)

PEG-cDMA：PEG-胺基甲醯基-1,2-二肉癸醯基氧基丙胺(PEG，平均分子量為 2000)

【0561】包含 SNALP (1,2-二亞麻油基氧基-N,N-二甲基胺基丙烷(DLinDMA))之製劑，揭示 WO 2009/127060 中，該專利藉由引用而併入本文。

【0562】包含 XTC 之製劑，揭示於 WO 2010/088537 中，該專利之整體內容藉由引用而併入本文。

【0563】 包含 MC3 之製劑，揭示於例如美國專利公佈第 2010/0324120 號中，該專利之整體內容藉由引用而併入本文。

【0564】 包含 ALNY-100 之製劑，揭示於 WO 2010/054406 中，該專利之整體內容藉由引用而併入本文。

【0565】 包含 C12-200 之製劑，揭示於 WO 2010/129709 中，該專利之整體內容藉由引用而併入本文。

【0566】 用於口服投予之組成物及製劑包括粉末劑或顆粒劑、微粒劑、奈米顆粒劑、水中或非水性介質中之懸浮液或溶液、膠囊劑、軟膠囊劑、袋劑、片劑、或小片劑。增稠劑、芳香劑、稀釋劑、乳化劑、分散助劑或黏合劑可係所欲者。於一些態樣中，口服製劑係下述之彼等，其中本揭露提出之 dsRNA 與一種或多種滲透增強劑界面活性劑及螯合劑協同投予。合適之界面活性劑包括脂肪酸類或其酯類或鹽類、膽汁酸類或其鹽類。合適之膽汁酸類/膽汁酸鹽類包括鵝去氧膽酸(CDCA)及烏索去氧鵝去氧膽酸(UDCA)、膽酸、去氫膽酸、去氧膽酸、糖膽酸、甘膽酸、甘胺去氧膽酸、牛磺膽酸、牛磺去氧膽酸、牛磺-24,25-二氫-褐黴酸鈉及甘胺二氫褐黴酸鈉。合適之脂肪酸類包括花生四烯酸、十一碳酸、油酸、月桂酸、辛酸、癸酸、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、蘇子油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、單油酸甘油酯、二月桂酸甘油酯、甘油 1-單癸酸酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、或其單甘油酯、二甘油酯或藥學可接受之鹽(例如，鈉鹽)。於一些態樣中，使用滲透增強劑之組合，舉例而言，脂肪酸類/脂肪酸鹽類與膽汁酸/膽汁酸鹽類之組合。一種例示性之組合係月桂酸之鈉鹽、癸酸及 UDCA。其他滲透增強劑包括聚氧乙烯-9-月桂基醚、聚氧

乙烯-20-鯨蠟基醚。本揭露提出之 dsRNA 可作為包括噴霧乾燥顆粒在內之顆粒劑形式或錯合形成微粒或奈米顆粒而經口遞送。dsRNA 錯合劑包括聚胺基酸；聚亞胺；聚丙烯酸酯；聚丙烯酸烷基酯、聚氧雜環丁烷、聚氰基丙烯酸烷基酯；陽離子化之明膠、白蛋白、澱粉、丙烯酸酯、聚乙烯醇(PEG)及澱粉；聚氰基丙烯酸烷基酯；DEAE 衍生之聚亞胺、支鏈澱粉、纖維素及澱粉。合適之錯合劑包括幾丁聚醣、N-三甲基幾丁聚醣、聚-L-離胺酸、聚組胺酸、聚鳥胺酸、聚精胺酸、魚精蛋白、聚乙烯基吡啶、聚硫代二乙基胺基甲基乙烯 P(TDAE)、聚胺基苯乙烯(例如，對-胺基)、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(氰基丙烯酸異丁酯)、聚(氰基丙烯酸異己酯)、DEAE-丙烯酸甲酯、DEAE-丙烯酸己酯、DEAE-丙烯醯胺、DEAE-白蛋白及 DEAE-聚葡萄糖、聚丙烯酸甲酯、聚丙烯酸己酯、聚(D,L-乳酸)、聚(DL-乳酸-共-乙醇酸(PLGA)、藻酸鹽、及聚乙二醇(PEG)。dsRNA 之口服製劑及其製備詳細揭示於美國專利第 6,887,906 號、U.S. 2003/0027780 及美國專利第 6,747,014 號中，其各自藉由引用併入本文。

【0567】 用於腸胃外、腦實質內(至腦內)、鞘膜內、心室內或肝內投予之組成物及製劑可包括無菌水溶液，其亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其它適宜之添加劑，例如但不限於，滲透增強劑、載劑化合物及其它藥學可接受之載劑或賦形劑。

【0568】 本揭露之醫藥組成物包括但不限於，溶液、乳液、及含脂質體之製劑。此等組成物可從多種組分生成，該等組分包括但不限於，預成

形之液體、自乳化之固體及自乳化之半固體。特佳者係當治療 GPR-75 相關疾病或病症時靶向腦之製劑。

【0569】可便利地以單位劑型存在的本揭露之醫藥製劑，可根據醫藥工業中習知之傳統技術製備之。此類技術包括將活性成分與醫藥載劑或賦形劑帶至聯合之步驟。通常，該等製劑係藉由將活性成分與液體載劑或精細分切之固體載劑或兩者均勻且緊密地帶至聯合而製備，隨後，若必要，令產物成形。

【0570】本揭露之組成物可配製為多種可能劑型之任一者，例如但不限於，片劑、膠囊劑、軟膠囊劑、液體糖漿劑、軟膠劑、栓劑、及灌腸劑。本揭露之組成物亦可配製為處於水性、非水性或混合介質中的懸浮液。水性懸浮液可復含有增加懸浮液黏度之物質，該物質包括，舉例而言，羧甲基纖維素鈉、山梨醇或葡聚糖。懸浮液亦可含有安定劑。

其他製劑

i. 乳液

【0571】本揭露之組成物可製備且配製為乳液。乳液係一種液體以直徑通常超過 $0.1\mu\text{m}$ 之液滴形式分散於另一種液體中之典型非均質系統(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel

Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245 ; Block in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335 ; Higuchi *et al.*, in *Remington's Pharmaceutical Sciences*, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301) 。乳液通常包含彼此緊密混合及分散之兩個不互混液體相之雙相系統。通常，乳液可係油包水 (w/o) 類或水包油(o/w)類。當水性相經精細切分為小液滴並分散於整塊油性相中時，所得組成物稱為油包水(w/o)乳液。或者，當油性相經精細切分為小液滴並分散於整塊水性相中時，所得組成物稱為水包油(o/w)乳液。乳液除了含有分散相及可作為水性相、油性相存在於溶液中或本身作為單獨一相的活性藥物之外，亦可含有額外之組分。如需要，醫藥賦形劑如乳化劑、安定劑、染料及抗氧化劑亦可存在於乳液中。醫藥乳液亦可係由超過兩相構成之多乳液，舉例而言，油包水包油(o/w/o)乳液及水包油包水(w/o/w)乳液。此類復配製劑往往提供簡單雙相乳液所不具有之某些優點。其中 o/w 乳液之個體油滴將小水滴容納在內之多乳液係構建 w/o/w 乳液。同樣，油滴被容納於安定存在於油性連續相中之水球內的系統，提供 o/w/o 乳液。

【0572】乳液之特徵在於少或無熱力學安定性。一般情況下，乳液之分散相或不連續相良好地分散在外部相或連續相中，且透過乳化劑手段或形成黏度之手段維持其形式。乳液之任一相可係半固體或固體，如在乳液型軟膏基質及乳霜劑之情形中者。其他安定化乳液之手段需要使用可併入乳液之任一相中的乳化劑。廣義上，乳化劑可歸為四類：合成界面活性劑、天然界面活性劑、吸收基質、及精細分散之固體(參見，例如，Ansel's

Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY ; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199)。

【0573】 合成界面活性劑，亦稱為表面活性劑，業經廣泛用於乳液製劑中且業經在文獻中回顧(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY ; Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285 ; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199)。

界面活性劑典型係兩性者且包含親水性部分及疏水性部分。界面活性劑之親水性與疏水性之比率業經定義為親水/親脂平衡(HLB)，且係在製劑之製備中歸類及選擇界面活性劑之有價值的工具。基於其親水性基團之天性，界面活性劑可歸為不同之類別：非離子性、陰離子性、陽離子性及兩性(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY ; Rieger, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285)。

【0574】 乳液製劑中使用之天然乳化劑包括羊毛脂、蜂蠟、磷脂質、卵磷脂及阿拉伯膠。吸收基質具備親水特性，使得它們可吸收水以形成 w/o 乳液，而仍保持其半固體一致性，吸收基質係例如無水羊毛脂及親水石油脂。精細切分之固體亦業經用作良好之乳化劑，尤其是與界面活性劑合用或用於黏性製劑中。此等包括極性無機固體，如重金屬氫氧化物、非溶脹黏土如皂土、鎂鋁海泡石、水輝石、高嶺土、蒙脫石、膠體矽酸鋁及膠體矽酸鎂鋁、顏料及非極性固體如碳或甘油三硬脂酸酯。

【0575】 大量非乳化材料亦包括於乳液製劑中，且對乳液之特性有所貢獻。此等包括脂肪、油類、蠟、脂肪酸、脂肪醇、脂肪酯、保濕劑親水性膠體、防腐劑及抗氧化劑(Block, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第 1 卷, 第 335 頁; Idson, in *Pharmaceutical Dosage Forms*, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 第 1 卷, 第 199 頁)。

【0576】 親水性膠體或水膠體包括天然膠及合成化合物，如多醣(舉例而言，阿拉伯膠、瓊脂、藻酸、角叉菜膠、瓜爾膠、刺梧桐膠及黃芪膠)、纖維素衍生物(舉例而言，羧甲基纖維素及羧丙基纖維素)、及合成聚合物(舉例而言，卡波姆、纖維素醚、及羧基乙烯基聚合物)。此等在水中分散或溶脹以形成膠體溶液，其藉由形成環繞分散相液滴之強界面膜且藉由增加外部相之黏度而安定化乳液。

【0577】 由於乳液一般含有可輕易地支持微生物生長的大量成分如碳水化合物、蛋白質、固醇及磷脂質，此等製劑一般係併入防腐劑。乳液製

劑包括的常用之防腐劑包括對羥基苯甲酸甲酯、對羥基苯甲酸丙酯、四級銨鹽、氯化苄烷基羥銨、對羥基苯甲酸之酯、及硼酸。抗氧化劑亦常常加入乳液製劑中以防止該製劑的變質。所使用之抗氧化劑可係自由基捕捉劑如生育酚、沒食子酸烷基酯、丁基化之羥基茴香醚、丁基化之羥基甲苯、或還原劑如抗壞血酸及偏亞硫酸氫鈉、及抗氧化劑增效劑如枸橼酸、酒石酸及卵磷脂。

【0578】乳液製劑經由護膚途徑、口服途徑及腸胃外途徑之應用及其製造方法業經在文獻中回顧(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199)。用於口服遞送之乳液製劑因為其容易配製以及在吸收及生物利用性觀點之效能而業經廣泛使用(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245; Idson, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199)。礦物油基質輕瀉劑、油溶性維生素及高脂肪營養製劑屬於業經作為 o/w 乳液而常常口服投予的材料。

ii. 微乳液

【0579】於本揭露之一個態樣中，RNAi 劑及核酸之組成物係配製為微乳液。微乳液可定義為水、油及兩性之系統，其係單一光學各向同性且熱力學安定之溶液(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245)。典型地，微乳液係藉由下述製備之系統，首先，將油分散於界面活性劑水溶液中，隨後加入足量之第四成分，通常係中等鏈長之醇，以形成透明之系統。因此，微乳液亦業經揭示為兩種不互混液體的熱力學安定、各向同性之澄清分散液，該兩種液體藉由表面活性分子之界面膜予以安定化(Leung and Shah, 在：Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, 第 185-215 頁)。微乳液通常經由將三至五種組分組合而製備，該等組分包括油、水、界面活性劑、助界面活性劑及電解質。微乳液是否為油包水(w/o)類型或水包油(o/w)類型取決於所使用之油及界面活性劑之特性，亦取決於界面活性劑分子之極性頭部及烴類尾部至結構及幾何封裝(Schott, in Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 271)。

【0580】使用相圖之現象學途徑業經廣泛研究，且業經令該領域熟練人士獲得如何配製微乳液之全面知識(參見，例如，Ansel's Pharmaceutical

Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY ; Rosoff, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245 ; Block, in Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335)。與傳統乳液相比，微乳液具備將製劑中水不溶性藥物溶解為自發形成之熱力學安定之液滴的優點。

【0581】於微乳劑之製備中使用的界面活性劑包括但不限於，離子性界面活性劑、非離子性界面活性劑、Brij 96、聚氧乙烯油基醚、聚甘油脂肪酸酯、四甘油單月桂酸酯(ML310)、四甘油單油酸酯(MO310)、六甘油單油酸酯(PO310)、六甘油五油酸酯(PO500)、十甘油單癸酸酯(MCA750)、十甘油單油酸酯(MO750)、十甘油倍半油酸酯(SO750)、十甘油十油酸酯(DAO750)，單獨使用或與助界面活性劑合用。助界面活性劑，一般係短鏈醇如乙醇、1-丙醇及1-丁醇，用來藉由因為在界面活性劑分子間生成之空洞空間而滲透入界面活性劑膜並隨後創建失序膜，從而增加界面流動性。惟，微乳劑可不使用助界面活性劑而製備，且不含醇之自乳化微乳液系統係該領域中已知者。水性相典型可係但不限於，水、藥物之水溶液、甘油、PEG300、PEG400、聚甘油、丙二醇、及乙二醇之衍生物。油性相可包括但不限於，材料諸如 Captex 300、Captex 355、Capmul MCM、脂肪酸酯、重鏈(C8-C12)單、二及三甘油酯、聚氧乙基化之甘油基脂肪酸酯、脂肪醇、聚二醇化之甘油酯、飽和聚二醇化之 C8-C10 甘油酯、植物油及矽油。

【0582】自藥物溶解性之觀點及增強之藥物吸收來看，微乳液係尤其感興趣者。業經提出，基於脂質之微乳液(o/w 及 w/o 兩者)係增強藥物之口服生物利用性，該藥物係包括胜肽(參見，例如，美國專利第 6,191,105 號、第 7,063,860 號、第 7,070,802 號、第 7,157,099 號；Constantinides *et al.*, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385-1390；Ritschel, *Meth. Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 1993, 13, 205)。微乳液係提供下列優點：改善之藥物溶解性、保護藥物不被酶水解、由於引入界面活性劑導致之膜流動性及可透過性之改變造成的可能提升之藥物吸收、容易製備、比固體劑型更易口服投予、改善之臨床潛能、以及降低之毒性(參見，例如，美國專利第 6,191,105 號、第 7,063,860 號、第 7,070,802 號、第 7,157,099 號；Constantinides *et al.*, *Pharmaceutical Research*, 1994, 11, 1385；Ho *et al.*, *J. Pharm.Sci.*, 1996, 85, 138-143)。當在環境溫度下將微乳液之組分帶至一起時，一般可自發形成微乳液。這在配製熱安定藥物、胜肽或 RNAi 劑時尤其具有優勢。亦業經發現，微乳液在化妝品及醫藥兩種應用中活性組分之透皮遞送中有效。預期本揭露之微乳液組成物及製劑將促進胃腸道對 RNAi 劑及核酸之系統性吸收，以及改善對 RNAi 劑及核酸之局部細胞攝取。

【0583】本揭露之微乳液亦可含有額外之組分及添加劑如失水山梨醇單硬脂酸酯(Grill 3)、Labrasol、以及滲透增強劑，以改善製劑之特性並增強對本發明之 RNAi 劑及核酸之吸收。本揭露之微乳液中使用之滲透增強劑可歸類為屬於下述五大類之一：界面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑、

及非螯合非界面活性劑(Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p. 92)。此等類型各自業經於上文討論。

iii. 微粒

【0584】本揭露之 RNAi 劑可併入顆粒例如微粒中。微粒可藉由噴霧乾燥生產，但亦可藉由其他方法生產，該等其他方法包括凍乾、蒸發、流動床乾燥、真空乾燥、或此等技術之組合。

iv. 滲透增強劑

【0585】於一個態樣中，本揭露採用多種滲透增強劑以實現核酸尤其是 RNAi 劑至動物皮膚之有效遞送。大多數藥物以經離子化及未經離子化兩種形式存在於溶液中。惟，一般僅脂溶性或親脂性藥物輕易地跨越細胞膜。業經發現，如果待被跨越之細胞膜經滲透增強劑處理，則即便是非親脂性藥物仍能夠跨越該細胞膜。滲透增強劑除了有助於非親脂性藥物跨越細胞膜之擴散之外，亦提升親水性藥物之滲透能力。

【0586】滲透增強劑可分類為屬於下述五大類之一：亦即，界面活性劑、脂肪酸、膽汁鹽、螯合劑、及非螯合非界面活性劑(參見，例如，Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92)。上述各類別之滲透增強劑更詳細揭示於下。

【0587】界面活性劑(或「表面活性劑」)係化學實體，當其溶解在水性溶液中時，降低該溶液之表面張力或該水性溶液與另一液體間之界面張力，結果為 RNAi 劑透過黏膜至吸收得以提升。此等滲透增強劑除了膽酸鹽及脂肪酸外亦包括，舉例而言，月桂基硫酸鈉、聚氧乙烯-9-月桂基醚及聚氧

乙烯-20-鯨蠟基醚(參見，例如，Malmsten, M. Surfactants and polymers in drug delivery, Informa Health Care, New York, NY, 2002 ; Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92) ; 以及全氟化學乳液如 FC-43 。Takahashi *et al.*, J. Pharm.Pharmacol., 1988, 40, 252) 。

【0588】 作為滲透增強劑而作動之多種脂肪酸及其衍生物係包括，舉例而言，油酸、月桂酸、癸酸(正癸酸)、肉豆蔻酸、棕櫚酸、硬脂酸、亞麻油酸、次亞麻油酸、二癸酸酯、三癸酸酯、甘油單油酸酯(1-單油醯基-rac-甘油)、甘油二月桂酸酯、辛酸、花生油酸、甘油-1-單癸酸酯、1-十二烷基氮雜環庚-2-酮、醯基肉鹼、醯基膽鹼、其 C₁₋₂₀ 烷基酯(例如，甲酯、異丙酯及第三丁酯)、及其單甘油酯及二甘油酯(亦即，油酸酯、月桂酸酯、癸酸酯、肉豆蔻酸酯、棕櫚酸酯、硬脂酸酯、亞麻油酸酯等)(參見，例如，Touitou, E.,*et al.* Enhancement in Drug Delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006 ; Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, p.92 ; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33 ; El Hariri *et al.*, J. Pharm.Pharmacol., 1992, 44, 651-654) 。

【0589】 膽汁之生理學角色包括促進對脂質及脂溶性微生物之分散及吸收(參見，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 *et al.*Eds., McGraw-Hill, New York, 1996, pp. 934-935) 。

多種天然膽汁鹽及其合成衍生物作為滲透增強劑而作動。因此，術語「膽汁鹽」

包括膽汁之任意天然組分以及它們的任意合成衍生物。適宜之膽汁鹽係包括，舉例而言，膽酸(或其藥學可接受之鈉鹽，膽酸鈉)、脫氫膽酸(脫氫膽酸鈉)、去氧膽酸(去氧膽酸鈉)、甘膽酸(甘膽酸鈉)、糖膽酸(糖膽酸鈉)、糖去氧膽酸(糖去氧膽酸鈉)、牛磺膽酸(牛磺膽酸鈉)、牛磺去氧膽酸(牛磺去氧膽酸鈉)、鵝去氧膽酸(鵝去氧膽酸鈉)、烏索去氧膽酸(UDCA)、牛磺-24,25-二氫-褐黴素鈉(STDHF)、糖基二氫褐黴素鈉及聚氧乙烯-9-月桂基醚(POE)(參見，例如，Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, New York, NY, 2002；Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, 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 *et al.*, *J. Pharm.Exp.Ther.*, 1992, 263, 25；Yamashita *et al.*, *J. Pharm.Sci.*, 1990, 79, 579-583)。

【0590】與本揭露關聯使用之螯合劑可定義為，藉由與金屬離子形成錯合物而將該金屬離子從溶液中移除的化合物，結果為透過黏膜進行之 RNAi 劑吸收得以提升。關於它們作為滲透增強劑於本揭露中之用途，螯合劑具有亦作為 DNase 抑制劑而作動之附加優點，蓋因大多數特徵化 DNA 核酸酶需要用於淬火之二價金屬離子並因此被螯合劑所抑制(Jarrett, *J. Chromatogr.*, 1993, 618, 315-339)。適宜之螯合劑包括但不限於，伸乙二胺四乙酸二鈉(EDTA)、枸橼酸、柳酸鹽(例如，柳酸鈉、5-甲氧基柳酸鹽及高香草酸鈉)、膠原之 N-醯基衍生物、laureth-9 及 beta-二酮之 N-胺基醯

基衍生物(烯胺類)(參見，例如，Katdare, A. *et al.*, Excipient development for pharmaceutical, biotechnology, and drug delivery, CRC Press, Danvers, MA, 2006 ; Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92 ; Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33 ; Buur *et al.*, J. Control Rel., 1990, 14, 43-51)。

【0591】如本文中所用，非螯合非界面活性劑滲透增強劑化合物可定義為，證明其作為螯合劑或作為界面活性劑之活性不顯著但仍然增強透過消化道黏膜進行之 RNAi 劑吸收的化合物(參見，例如，Muranishi, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1990, 7, 1-33)。這一類滲透增強劑係包括，舉例而言，不飽和環狀脲、1-烷基-及 1-烯基氮雜環烷酮衍生物(Lee *et al.*, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 1991, page 92)；以及非類固醇抗炎劑如雙氯芬酸鈉、吲哚美辛(indomethacin)及丁二苯吡啶二酮(Yamashita *et al.*, J. Pharm.Pharmacol., 1987, 39, 621-626)。

【0592】於細胞水平增強 RNAi 劑攝入之劑亦可加入本揭露之醫藥組成物及其他組成物中。舉例而言，陽離子脂質如 lipofectin (Junichi 等人，美國專利第 5,705,188 號)、陽離子性甘油衍生物、及聚陽離子性分子諸如聚離胺酸(WO 97/30731)，亦已知提升 dsRNA 之細胞攝入。

【0593】其他劑可用以增強所投予之核酸的滲透，包括二醇類如乙二醇及丙二醇、吡咯類如 2-吡咯、氮酮類、及萜類如檸檬烯及薄荷酮。

vi. 賦形劑

【0594】與載劑化合物相比，「藥物載劑」或「賦形劑」係藥學可接受之溶劑、懸浮劑或其他用於將一種或多種核酸遞送至動物之藥學惰性媒介物。該賦形劑可係液體或固體，且當與核酸及給定醫藥組成物之其它組分合併時，係基於所考慮之計劃投予模式而選擇，以提供所欲之體積、一致性等。典型之醫藥載劑係包括但不限於，結合劑(例如，預膠凝之玉米澱粉、聚乙炔基吡咯烷酮或羥丙基甲基纖維素等)；填料(例如，乳糖及其它糖類、未經纖維素、果膠、明膠、硫酸鈣、乙基纖維素、聚丙烯酸酯或磷酸氫鈣等)；潤滑劑(例如，硬脂酸鎂、雲母、氧化矽、膠體二氧化矽、硬脂酸、金屬硬脂酸鹽、氫化植物油、玉米澱粉、聚乙二醇、苯甲酸鈉、醋酸鈉等)；崩解劑(例如，澱粉、澱粉乙醇酸鈉等)；以及潤濕劑(例如，月桂基硫酸鈉等)。

【0595】不與核酸進行有害反應的適用於非腸胃外投予之藥學可接受的有機或無機賦形劑亦可用以配製本揭露之組成物。適宜之藥學可接受的載劑包括但不限於，水、鹽溶液、醇類、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏性石蠟、羥甲基纖維素、聚乙炔基吡咯烷酮等。

【0596】用於核酸之外用投予的製劑可包括無菌及非無菌水性溶液、在常用溶劑如醇類中之非水性溶液、或核酸在液體或固體油基質中之溶液。該等溶液亦可含有緩衝劑、稀釋劑及其他適宜之添加劑。可使用不與核酸進行有害反應的適用於非腸胃外投予之藥學可接受的有機或無機賦形劑。

【0597】 適宜之藥學可接受的賦形劑包括但不限於，水、鹽溶液、醇、聚乙二醇、明膠、乳糖、直鏈澱粉、硬脂酸鎂、滑石、矽酸、黏性石蠟、羥甲基纖維素、聚乙烷基吡咯烷酮等。

vii. 其他組分

【0598】 本揭露之組成物可額外地含有常見於醫藥組成物中之其他輔助組分，用量為它們在該領域中常用的水平。因此，舉例而言，該等組成物可含有額外、可相容、藥學活性之材料諸如，舉例而言，止癢劑、收斂劑、局部麻醉劑或抗炎劑，或可含有可用於物理上配製多種類型之本揭露之組成物的材料諸如染料、芳香劑、防腐劑、抗氧化劑、遮光劑、增稠劑及安定劑。惟，當加入此類材料時，此類材料應不過度干擾本揭露之組成物之組分的生物活性。該製劑可經無菌化，且(若需要)與不與該製劑之核酸進行有害反應的佐劑如潤滑劑、防腐劑、安定劑、潤濕劑、乳化劑、用於影響滲透壓之鹽類、緩衝劑、著色劑、香味劑或芳香物質等混合。

【0599】 水性懸浮液可含有增加懸浮液黏度之物質，該物質包括，舉例而言，羧甲基纖維素鈉、山梨醇或葡聚糖。懸浮液亦可含有安定劑。

【0600】 於一些態樣中，本揭露提出之醫藥組成物包括(a) 一種或多種 RNAi 劑化合物及(b) 一種或多種劑，其藉由非 RNAi 機制而發揮功能且有用於治療 GPR75 相關病症。此類劑之實例包括但不限於，抗病毒劑、免疫刺激劑、治療性疫苗、病毒進入抑制劑及前述任意者之組合。

【0601】 此類化合物之毒性及治療功效可藉由標準藥學過程在細胞培養物或實驗動物中測定，如測定 LD₅₀ (將群體之 50%致死之劑量)及 ED₅₀

(對群體之 50%治療有效之劑量)。毒性與治療功效間之劑量比率係治療係數，且其可表現為 LD_{50}/ED_{50} 之比率。顯現高治療係數之化合物係較佳者。

【0602】 從細胞培養檢定及動物研究中獲得之資料可用於配製在人體內使用之劑量範圍。本揭露提出之組成物的劑量通常處於包括 ED_{50} 在內之具低毒性或無毒性之循環濃度範圍。劑量可依據所採用之劑型及所使用之投予途徑而在此範圍內變動。對於在本揭露提出之方法中使用的任意化合物，最初可從細胞培養物檢定中構建治療有效之劑量。劑量可在動物模型中配製為達成該化合物或(當適宜時)標靶序列之多肽產物的循環血漿濃度範圍(例如，達成多肽之降低之濃度)，該範圍包括如在細胞培養物中測定之 IC_{50} (亦即，達成對症候之半最大抑制時該測試化合物之濃度)。此訊息可用來更準確地確定可用於人體之劑量。舉例而言，可藉由高效液相色層分析術量測血漿中之水平。

【0603】 除了如上文檢討之投予之外，本揭露提出之 RNAi 劑亦可與其他已知之在治療由核苷酸重複序列表現媒介之病理進程中有效的劑合用。在任何情況下，主治醫生皆可基於該領域中已知或本文所述之標準功效測量方法觀察之結果而確定 RNAi 劑投予的量及時機。

VII. 套組

【0604】 於某些方面，本揭露提供包括合適容器之套組，該容器含有 siRNA 化合物例如雙股 siRNA 化合物或 siRNA 化合物(例如，前驅物，例如，可加工為 siRNA 化合物之較大 siRNA 化合物，或編碼 siRNA 化合物之 DNA，例如，雙股 siRNA 化合物、或 siRNA 化合物或其前驅物)。於某些態樣中，藥物製劑之個體組分可提供於一個容器內。另選地，可能所欲

者係將藥物製劑之組分單獨提供於兩個或更多個容器中，例如，一個用於 siRNA 化合物製備的容器以及至少另一個用於載劑化合物的容器。套組可包裝成多種不同組態，諸如一個盒子中之一個或多個容器。不同組分可組合，例如，根據套組提供之使用說明書組合。組分可根據本文所揭示之方法組合，例如以製備並投予一種醫藥組成物。套組亦可包括遞送裝置，諸如適用於肺系投予之裝置，例如，適用於經口吸入投予之裝置，包括霧化器、計量投予吸入器及乾粉吸入器。

VIII. 抑制 GPR75 表現之方法

【0605】本揭露亦提供抑制 GPR75 基因在細胞內之表現的方法。該方法包括令細胞與其量足以抑制該細胞內 GPR75 基因之表現的 RNAi 劑例如雙股 RNAi 劑接觸，從而抑制該細胞內 GPR75 之表現。於本揭露之某些態樣中，GPR75 於肝臟細胞(例如，肝細胞)中之表現被抑制。

【0606】細胞與 RNAi 劑例如雙股 RNAi 劑之接觸可於體外或體內進行。令細胞與 RNAi 劑於體內接觸包括令受試者例如人類受試者體內之細胞或細胞群組與 RNAi 劑接觸。體外接觸細胞之方法與體內接觸細胞之方法的組合亦係可能者。

【0607】與細胞揭示可係直接或間接者，如上文檢討。此外，與細胞之接觸可經由靶向配體施行，該配體包括本文所揭示或該領域中已知之任意配體。於一些態樣中，靶向配體係親脂性部分，例如，C16 及/或碳水化合物部分，例如 GalNAc 配體，或將 RNAi 劑引導至感興趣之位點的任意其他配體。於某些態樣中，該配體不是膽固醇部分。於某些態樣中，該 RNAi 劑不包括靶向配體。

【0608】如本文中所用，術語「抑制」與「減輕」、「緘默化」、「下調」、「阻抑」及其他類似術語可互換使用，且包括任意水平之抑制。於某些態樣中，抑制之水平，例如，針對本揭露之 RNAi 劑，可於細胞培養條件下評估，例如，其中，細胞培養物中之細胞經由 Lipofectamine™ 媒介之轉染以接近 10 nM 或更低、1 nM 或更低者等之細胞濃度轉染。給定 RNAi 劑之減弱可經由將細胞培養物中處理前之水平與細胞培養物中處理後之水平比較，視需要亦與經混雜或其他形式之對照 RNAi 劑平行處理之細胞進行比較而確定。細胞培養物中例如 50% 或更多之敲低，可因此被鑑定為「抑制」、「減輕」、「下調」或「阻抑」業經出現之標誌。明確預期，在如該領域所揭示者的適宜控制之條件下，亦可於體內系統中評估本揭露之 RNAi 劑所靶向之 mRNA 或所編碼之蛋白質水平(並因此評估由本揭露之 RNAi 劑造成之「抑制」等的程度)。

【0609】如本文中所用，短語「抑制 GPR75 基因之表現」或「抑制 GPR75 之表現」包括抑制任意 GPR75 基因(例如，小鼠 GPR75 基因、大鼠 GPR75 基因、猴 GPR75 基因、或人 GPR75 基因)以及編碼 GPR75 蛋白質的 GPR75 基因之變體或突變體的表現。因此，於經基因操縱之細胞、細胞群組或生物體之語境中，GPR75 基因可係野生型 GPR75 基因、突變 GPR75 基因或基因轉殖 GPR75 基因。

【0610】「抑制 GPR75 基因之表現」包括對 GPR75 之任意水平之抑制，如對 GPR75 基因之表現的至少部分的阻抑，例如至少 20% 之抑制。於某些態樣中，抑制程度係至少 30%、至少 40%、至少 50%、至少約 60%、至少 70%、至少約 80%、至少 85%、至少 90%、至少 95%、至少 96%、

至少 97%、至少 98%或至少 99%；或至低於檢定方法之偵檢水平。於一種方法中，抑制係使用實施例 1 中提供之熒光素酶檢定法以 10 nM 濃度之 siRNA 量測者。

【0611】 GPR75 基因之表現可基於與 GPR75 基因表現相關之任意變量之水平如 GPR75 mRNA 水平或 GPR75 蛋白質水平而評估。

【0612】 抑制可藉由此等變量之一者或多者之絕對水平或與對照水平相比之相對水平的下降而評估。對照水平可係該領域中使用之任意類型之對照水平，如投藥前之基線水平，或自未治療或經對照物(例如，僅含緩衝劑之對照物或非活性劑之對照物)治療之類似受試者、細胞或樣本測得之水平。

【0613】 於本揭露之方法的一些態樣中，GPR75 基因之表現被抑制至少 20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、85%、90%或 95%，或被抑制到低於該檢定之偵檢水平。於某些態樣中，該方法包括對 GPR75 基因表現之臨床相關抑制，例如，藉由在使用劑治療受試者以減低 GPR75 表現之後的臨床相關結局證明者。

【0614】 GPR75 基因表現之抑制可藉由第一細胞或細胞群組(此類細胞可存在於來如來源於受試者之樣本中)所表現之 mRNA 量相對於實質上與第一細胞或細胞群組相同但未經如是處理之第二細胞或細胞群組(未經 RNAi 劑處理或未經靶向感興趣基因之 RNAi 劑處理的對照細胞)減低而體現，於該細胞或細胞群組中，GPR75 基因被抄錄並且業經處理(例如，藉由令該一個或多個細胞與本揭露之 RNAi 劑接觸，或藉由將本揭露之 RNAi

劑投予其體內存在或曾經存在該細胞之受試者)，使得 GPR75 基因被抑制。

抑制之程度可藉由下述術語表現：

$$\frac{(\text{對照細胞中之 mRNA}) - (\text{經處理之細胞中的 mRNA})}{(\text{對照細胞中之 mRNA})} \bullet 100\%$$

【0615】於其他態樣中，GPR75 基因表現之抑制可從功能上與 GPR75 基因表現例如 GPR75 蛋白表現、S 蛋白引發、病毒進入之有效性、病毒負載關聯之參數的減低角度進行評估。GPR75 基因緘默化可於與表現構造物同源或異源的表現 GPR75 基因之任意細胞內測定，並且藉由該技藝中已知之任意檢定測定。

【0616】GPR75 蛋白表現之抑制可藉由細胞或細胞群組所表現之 GPR75 蛋白水平(例如，於源自受試者之樣本中表現的蛋白質水平)之減低而體現。如上所述，對於基因組阻抑之評估，經處理之細胞或細胞群組中蛋白質表現水平之抑制可類似地表現為相對於對照細胞或細胞群組中蛋白質水平的百分比。

【0617】可用來評估 GPR75 基因表現之抑制的對照細胞或細胞群組包括尚未與本揭露之 RNAi 劑接觸之細胞或細胞群組。舉例而言，對照細胞或細胞群組可源自使用 RNAi 劑治療受試者之前的個體受試者(例如，人類或動物受試者)。

【0618】細胞或細胞群體所表現之 GPR75 mRNA 水平可使用該領域中已知用於評估 RNA 表現之任意方法測定。於一個態樣中，樣本中之 GPR75 表現水平可藉由偵檢經轉錄之多核苷酸或其蛋白質例如 GPR75 基

因之 mRNA 而測定。可使用 RNA 抽取技術，包括例如使用酸酚/異硫氰酸胍抽取(RNAzol B ; Biogenesis)、RNeasy™ RNA 製備套組(Qiagen®)或 PAXgene(PreAnalytix, Switzerland)，從細胞中抽取 RNA。採用核糖核酸雜交之典型檢定型式包括核連綴檢定、RT-PCR、RNase 保護檢定、北方印漬術、原位雜交及微陣列分析。循環 GPR75 mRNA 可使用 WO2012/177906 中揭示之方法偵檢，該專利之整體內容藉由引用併入本文。

【0619】於一些態樣中，使用核酸探針確定 GPR75 之表現水平。如本文所用，術語「探針」指代能夠選擇性地結合至特異性 GPR75 核酸或蛋白質或其片段的任意分子。探針可由該領域熟練人士合成，或來源於適宜之生物學製劑。探針可特異性地設計為被標記。可用作探針之分子的實例包括但不限於 RNA、DNA、蛋白質、抗體及有機分子。

【0620】單離之 mRNA 可用於雜交或擴增檢定中，該檢定包括但不限於，南方或北方印漬分析、聚合酶連鎖反應(PCR)分析及探針陣列。一種用於測定 RNA 水平之方法包括令單離之 RNA 與可雜交至 GPR75 RNA 之核酸分子(探針)接觸。於一態樣中，例如，藉由令單離之 RNA 於瓊脂糖凝膠上電泳並將 RNA 從該凝膠轉移至膜諸如硝基纖維素膜上，從而將 RNA 固定於固體表面上並令其與探針接觸。於備選之態樣中，例如，於 Affymetrix® 基因晶片陣列中，將探針固定於固體表面上並令 RNA 與該探針接觸。熟練人士可輕易地調整已知之 RNA 偵檢方法以用於測定 GPR75 mRNA 之水平。

【0621】用於測定樣本中 GPR75 表現水平之方法包括例如樣本中之 mRNA 的核酸擴增或逆轉錄(以製備 cDNA)之製程，該製程係例如藉由 RT-

PCR(Mullis 於 1987 年於美國專利 4,683,202 中詳述之實驗性態樣)、連接酶連鎖反應(Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193)、自我持續之序列複製(Guatelli *et al.* (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878)、轉錄擴增系統(Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177)、Q- β 複製酶(Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197)、滾環式複製(Lizardi *et al.*, US Patent No. 5,854,033)或任意其他核酸擴增方法進行,之後使用該領域彼等熟練人士習知之技術偵檢所擴增之分子。如果核酸分子以非常低之數量存在,則此等偵檢方法尤其有用於偵檢此類分子。於本揭露之具體方面,藉由定量螢光 RT-PCR(亦即, TaqManTM 系統)、藉由 Dual-Glo[®]螢光素酶檢定、或藉由其他該領域認可之用於量測 GPR75 表現或 mRNA 水平之方法測定 GPR75 表現水平。

【0622】可使用膜印漬(諸如雜交分析中所用者,諸如北方印漬、南方印漬、點等)或微孔、樣本管、凝膠、珠或纖維(或包含經結合之核酸的任意固體支撐物)監控 GPR75 mRNA 之表現水平。參見,美國專利第 5,770,722 號、第 5,874,219 號、第 5,744,305 號、第 5,677,195 號及第 5,445,934 號,該等專利藉由引用併入本文。GPR75 表現水平之測定亦可包含處於溶液中之核酸探針。

【0623】於一些態樣中,使用分支 DNA (bDNA) 檢定或實時 PCR (qPCR)評估 RNA 表現之水平。這一 PCR 方法之用途揭示且例示於本文之實施例中。此類方法亦可用於偵檢 GPR75 核酸。

【0624】GPR75 蛋白表現之水平可使用該領域中已知用於量測蛋白質水平之任意方法測定。此類方法包括,例如,電泳、毛細管電泳、高效

液相層析術(HPLC)、薄層層析術(TLC)、超擴散層析術、流體或凝膠沈澱素反應、吸收光譜、比色檢定、分光光度檢定、流式細胞術、免疫擴散(單或雙)、免疫電泳、西方印漬術、放射免疫檢定(RIA)、酶聯免疫吸附檢定(ELISA)、免疫螢光檢定、電化學發光檢定等。此類檢定可用於偵檢 GPR75 蛋白質之存在或複製的蛋白質標記物。

【0625】於一些態樣中，本揭露之方法於治療 GPR75 相關疾病中之功效藉由 GPR75 mRNA 水平之降低(例如，藉由評估血液 GPR75 水平或其他方式)而評估。

【0626】於一些態樣中，本揭露之方法於治療 GPR75 相關疾病中之功效藉由 GPR75 mRNA 水平之降低(例如，藉由評估例如肝臟樣本之 GPR75 水平，藉由生物活檢或其他方式)而評估。

【0627】於本揭露之方法的一些態樣中，將 RNAi 劑投予受試者，使得 RNAi 劑被遞送至該受試者體內之具體位點。GPR75 表現之抑制可使用來源於該受試者之具體位點的樣本例如肝臟細胞中 GPR75 mRNA 或 GPR75 蛋白質之水平或水平改變的量測值進行評估。於某些態樣中，該方法包括對 GPR75 表現之臨床相關抑制，例如，藉由在使用劑治療受試者以減 GPR75 表現之後的臨床相關結局證明者。

【0628】如本文中所用，術語偵檢或確定分析質之水平係理解為意指執行該等步驟以確定材料例如蛋白質、RNA 是否存在。如本文中所用，偵檢或確定方法包括偵檢或確定低於所使用方法之偵檢水平的分析質水平。

IX. 治療或預防 GPR75 相關疾病之方法

【0629】本揭露亦提供使用本揭露之 RNAi 劑或含有本揭露之 RNAi 劑的組成物來減低或抑制細胞內 GPR75 表現的方法。該方法包括令細胞與本揭露之 dsRNA 接觸，並將細胞維持足以獲得 GPR75 基因之 mRNA 轉錄本降解的時間，從而抑制該 GPR75 基因在細胞中之表現。基因表現之減低可藉由該領域中已知之任意方法評估。舉例而言，GPR75 表現之減低可藉由使用對於具有該領域通常技術之人士為常規之方法如北方印漬術、qRT-PCR 來測定 GPR75 基因之 RNA 表現水平而測定；或藉由使用對於具有該領域通常技術之人士為常規之方法如西方印漬術、免疫學技術來測定 GPR75 蛋白質之蛋白質水平而測定。

【0630】於本揭露之方法中，細胞可在體內或體外接觸，亦即，細胞可處於受試者體內。

【0631】適用於使用本揭露之方法治療的細胞可係表現 GPR75 基因之任意細胞。適用於在本揭露之方法中使用之細胞可係哺乳動物細胞，例如靈長動物細胞(諸如人類細胞或非人靈長動物細胞，例如猴細胞或黑猩猩細胞)、非靈長動物細胞(諸如大鼠細胞或小鼠細胞)。於一個態樣中，該細胞係人類細胞，如人類肝細胞。

【0632】細胞中之 GPR75 表現被抑制至少約 30%、40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100%，亦即，抑制到低於偵檢水平。於某些態樣中，GPR75 表現被抑制至少 50%。

【0633】本揭露之體內方法可包括投予受試者含有 RNAi 劑之組成物，其中該 RNAi 劑包括與待治療之哺乳動物之 GPR75 基因之 RNA 轉錄

本之至少一部分互補的核苷酸序列。當待治療之有機體係哺乳動物例如人時，該組成物可藉由該領域中已知之任意手段投予，該手段包括但不限於，口服、腹膜內或腸胃外途徑，包括顱內(例如，腦室內、腦實質內及鞘內)、靜脈內、肌肉內、皮下、透皮、氣管(氣溶膠)、鼻內、直腸內及外用(包括口含及舌下)投予。於某些態樣中，該組成物係藉由靜脈內輸液或注射而投予。於某些態樣中，該組成物係藉由皮下注射而投予。於某些態樣中，該組成物係藉由鞘內注射而投予。

【0634】於一些態樣中，該投予係經由積存注射(depot injection)進行。積存注射可在延長之時間段內以一致之途徑釋放 RNAi 劑。因此，積存注射可減低獲得所欲效果如所欲之 GPR75 抑制或治療性或預防性效果所需之投予頻次。積存注射亦可提供更為一致之血清濃度。積存注射可包括皮下注射或肌肉注射。於某些態樣中，積存注射係皮下注射。

【0635】於一個態樣中，雙股 RNAi 劑係藉由肺系投予而投予，例如，鼻腔內投予或經口吸入投予。肺系投予可經由注射器、滴液器、霧化或使用裝置(例如，被動呼吸驅動或主動功率驅動之注射器/或多劑量乾粉吸入器(DPI)裝置)。

【0636】可基於局部治療或系統性治療是否係所欲者並基於待治療之面積而選擇投予模式。可選擇投予之途徑及位點以增強靶向性。

【0637】一方面，本揭露亦提供抑制 GPR75 基因在哺乳動物體內之表現的方法。該方法包括向哺乳動物投予包含靶向哺乳動物細胞內 GPR75 基因之 dsRNA 的組成物，並將該哺乳動物維持足以獲得 GPR75 基因之 RNA 轉錄本降解的時間，從而抑制該 GPR75 基因在細胞中的表現。基因組表現

之減低可藉由該領域中已知之任意方法及藉由本文中揭示之方法如 qRT-PCR 評估。蛋白質生產之減低可藉由該領域中已知之任意方法及藉由本文中揭示之方法例如，ELISA 評估。

【0638】本揭露復提供治療有此需要之受試者的方法。本揭露之治療方法包括將本揭露之 RNAi 劑投予受試者例如將會受益於抑制 GPR75 表現的受試者，投予量為靶向 GPR75 基因之 RNAi 劑或包含靶向 GPR75 基因之 RNAi 劑之醫藥組成物的治療有效量。

【0639】此外，本揭露提供預防、治療或抑制受試者之 GPR75 相關疾病或病症(例如，體重性病變，例如肥胖)進展的方法。

【0640】該方法包括投予受試者治療有效量之本文提供之任意 RNAi 劑例如 dsRNA 劑或醫藥組成物，從而預防、治療或抑制該受試者之 GPR75 相關疾病或病症的進展。

【0641】本揭露之 RNAi 劑可作為「游離 RNAi 劑」投予。游離 RNAi 劑係於藥物組成物之不存在下投予。裸 RNAi 劑可處於合適之緩衝溶液中。緩衝溶液可包含醋酸鹽、枸橼酸鹽、醇溶穀蛋白、碳酸鹽、或磷酸鹽、或其任意組合。於一個態樣中，緩衝溶液係磷酸鹽緩衝鹽水(PBS)。含有 RNAi 劑之緩衝溶液之 pH 及滲透壓可經調節，使得其適用於投予受試者。於某些態樣中，游離 RNAi 劑可配製在水或生理鹽水中。

【0642】或者，本揭露之 RNAi 劑可作為醫藥組成物投予，例如作為 dsRNA 脂質體製劑投予。

【0643】將會受益於 GPR75 基因表現之減低或抑制的受試者係彼等患有 GPR75 相關疾病者，處於發展出 GPR75 相關疾病風險下之受試者。

【0644】本揭露復提供使用 RNAi 劑或其醫藥組成物的方法，例如，用於治療將會受益於 GPR75 表現之減低或抑制的受試者，例如，患有 GPR75 相關病症之受試者，該方法與其他藥物或其他治療方法合用，例如，與已知之藥物或已知之治療方法如彼等當下用於治療此等病症者合用。例如，於某些態樣中，靶向 GPR75 之 RNAi 劑與(例如)如本文中他處所揭示或如該領域中以其他方式已知的可用於治療 GPR75 相關病症之劑合用。例如，適用於治療將會受益於 GPR75 表現減低之受試者例如患有 GPR75 相關病症之受試者的附加劑及治療可包括當下用於治療 GPR75 相關病症之症候之劑。

【0645】可與本發明之 RNAi 劑合用的其他治療劑之實例包括但不限於，糖尿病治療劑、糖尿病併發症治療劑、心血管疾病治療劑、抗高脂血症藥物、降壓劑或抗高血壓藥物、抗肥胖藥物、非酒精性脂肪肝病(NASH)治療劑、化療劑、免疫治療劑、免疫抑制劑等。此類組合療法可有利地利用低劑量之所投予之治療劑，從而避免與各種單一療法相關之可能的毒性或併發症。

【0646】用於治療糖尿病之劑的實例包括胰島素製劑(例如，從牛或豬之胰臟提取之動物胰島素製劑；藉由基因工程改造技術使用微生物或方法合成之人胰島素製劑)、胰島素敏感性增強劑、其藥學可接受之鹽、水合物或溶劑合物(例如，皮利酮、曲格列酮(troglitazone)、羅格列酮(rosiglitazone)、萘格列酮(netoglitazone)、巴格列酮(balaglitazone)、來格列酮(rivoglitazone)、替格他啞(tesaglitazar)、法格列酮(farglitazar)、CLX-0921、R-483、NIP-221、NIP-223、DRF-2189、GW-7282TAK-559、T-131、

RG-12525、LY-510929、LY-519818、BMS-298585、DRF-2725、GW-1536、GI-262570、KRP-297、TZD18 (Merck)、DRF-2655 等)、 α -醣苷酶抑制劑(例如，伏格列波糖(voglibose)、阿卡波糖(acarbose)、米格列醇(miglitol)、乙格列酯(emigliate)等)、雙胍類(例如，苯乙雙胍、二甲雙胍(metformin)、丁雙胍(buformin)等)或磺醯脲類(例如，甲苯磺丁脲、格列本脲(glibenclamide)、格列齊特(gliclazide)、氯苯磺丙脲、妥拉磺脲(tolazamide)、乙醯苯磺醯環己脲、格列吡脲(glyclopamide)、格列美脲等)以及其他胰島素分泌促進劑(例如，瑞格列奈(repaglinide)、森格列奈(senaglinide)、那格列奈(nateglinide)、米格列奈(mitiglinide)、GLP-1 等)、香樹精(amyrin)促效劑(例如，普蘭林肽(pramlintide)等)、磷酸胺酸磷酸酯酶抑制劑(例如，鈣酸等)等。

【0647】用於治療糖尿病併發症之劑的實例包括但不限於，醯醯還原酶抑制劑(例如，托瑞司他(tolrestat)、依帕司他(epalrestat)、折那司他(zenarestat)、啞泊司他(zopolrestat)、米那司他(minalrestat)、非達司他(fidarestat)、SK-860、CT-112 等)、神經滋養因子(例如，NGF、NT-3、BDNF 等)、PKC 抑制劑(例如，LY-333531 等)、晚期醣基化終末產物(AGE)抑制劑(例如，ALT946、匹馬吉丁(pimagedine)、吡哆胺(pyridoxamine)、苯乙醯基噻唑陽離子溴化物(phenacylthiazolium bromide)(ALT766)等)、活性氧淬滅劑(例如，硫辛酸或其衍生物，生物類黃酮包括黃酮、異黃酮、二氫黃酮類(flavonones)、原花青素類(procyanidins)、花青素類、碧蘿芷(pycnogenol)、黃體素、番茄紅素、維生素 E、輔酶 Q 等)、腦血管擴張劑(例如，硫必利(tiapride)、美西律(mexiletene)等)。

【0648】抗高脂血症藥物包括，例如，斯他汀系化合物，其係膽固醇合成抑制劑(例如，普伐他汀(pravastatin)、辛伐他汀(simvastatin)、洛伐他汀(lovastatin)、阿托伐他汀、氟伐他汀(fluvastatin)、瑞舒伐他汀(rosuvastatin)等)、鯊烯合成酶抑制劑或具有三酸甘油酯降低效應之貝特(fibrate)類化合物(例如，非諾貝特(fenofibrate)、吉非羅齊(gemfibrozil)、苯扎貝特(bezafibrate)、克氯吩貝、雙貝特(sinfibrate)、克利貝特(clinofibrate)等)、菸鹼酸、PCSK9 抑制劑、三酸甘油酯降低劑或膽固醇銜合劑。

【0649】降壓藥包括，例如，血管緊張素轉化酶抑制劑(例如，硫甲丙脯酸、伊那拉普利(enalapril)、地拉普利(delapril)、苯那普利(benazepril)、西拉普利(cilazapril)、伊那拉普利(enalapril)、伊那普利拉(enalaprilat)、福辛普利(fosinopril)、賴諾普利(lisinopril)、莫西普利(moexipril)、培哚普利(perindopril)、喹那普利(quinapril)、雷米普利(ramipril)、群多普利(trandolapril)等)或血管緊張素 II 拮抗劑(例如，洛沙坦、坎地沙坦酯(candesartan cilexetil)、奧美沙坦酯(olmesartan medoxomil)、依普沙坦(epsosartan)、巹沙坦(valsartan)、替米沙坦(telmisartan)、厄貝沙坦(irbesartan)、他索沙坦(tasosartan)、泊米沙坦(pomisartan)、利匹沙坦(ripisartan)、福拉沙坦(forasartan)等)或鈣離子通道阻斷劑(例如，氨氯地平(amlodipine)或阿司匹靈)。

【0650】非酒精性脂肪肝病(NASH)治療劑包括，例如，熊去氧膽酸(ursodiol)、皮利酮、奧利司他(orlistat)、甜菜鹼、羅格列酮(rosiglitazone)。

【0651】 抗肥胖藥物包括，例如，抗中心性肥胖藥物(例如，右旋芬氟拉明(dexfenfluramine)、芬氟拉明(fenfluramine)、芬特明(phentermine)、西佈曲明(sibutramine)、安非拉酮(amfepramone)、右旋安非他明(dexamphetamine)、馬吲哚(mazindol)、苯丙醇胺、氯苄雷司(clobenzorex)等)、胃腸道脂肪酶抑制劑(例如，奧利司他等)、 β 3-腎上腺素受體促效劑(例如，CL-316243、SR-58611-A、UL-TG-307、SB-226552、AJ-9677、BMS-196085 等)、肽系食慾抑制劑(例如，瘦素、CNTF 等)、膽囊收縮素促效劑(例如，林替曲特(lintitript)、FPL-15849 等)等。

【0652】 化療劑包括，例如，烷基化劑(例如，環磷醯胺、異環磷酰胺等)、代謝拮抗劑(例如，胺甲喋呤、5-氟尿嘧啶等)、抗癌抗生素(例如，絲裂黴素、阿德力黴素等)、植物來源之抗癌藥物(例如，長春新鹼、長春地辛(vindesine)、紫杉醇等)、順鉑、卡鉑、依托泊苷(etoposide)等。此等物質中，以 5-氟尿嘧啶衍生物諸如去氧氟尿苷(furtulon)及新去氧氟尿苷(neofurtulon)為佳。

【0653】 免疫治療劑包括，例如，微生物或細菌組成部分(例如，胞壁醯二肽衍生物、匹西巴尼(picibanil)等)、具有免疫增效活性之多醣(例如，蘑菇多糖、裂桐多醣(sizofilan)、雲芝多醣(krestin)等)、藉由基因工程改造技術獲得之細胞激素(例如，干擾素、介白素(IL)等)、群落刺激因子(例如，顆粒性白血球群落刺激因子、促紅血球生長素(erythropoetin)等)等。於一個態樣中，免疫治療劑係 IL-1、IL-2、IL-12 等。

【0654】 免疫抑制劑包括，例如，鈣調神經蛋白(calcineurin)抑制劑/親免疫素(immunophilin)調節劑諸如環孢素(山地明(Sandimmune)、環孢黴素

(Gengraf)、新山地明(Neoral)、他克莫司(tacrolimus)(Prograf, FK506)、ASM 981、西羅莫司(sirolimus)(RAPA, 雷帕黴素, Rapamune)或其衍生物 SDZ-RAD、糖皮質素(強體松、培尼強體松、甲基培尼強體松、地塞米松等)、嘌呤合成抑制劑(嗎替麥考酚酯(mycophenolate mofetil)、MMF、CellCept(R)、硫唑嘌呤、環磷醯胺)、介白素拮抗劑(巴利昔單抗(basiliximab)、達克珠單抗(daclizumab)、去氧精胍菌素(deoxyspergualin))、淋巴球消耗劑諸如抗胸腺細胞球蛋白(Thymoglobulin、Lymphoglobuline)、抗 CD3 抗體(OKT3)等。

【0655】 RNAi 劑及附加治療劑可同時投予及/或在同一組合中投予，例如鞘內投予，或附加治療劑可作為獨立組成物之一部分或在獨立之時間或藉由該領域中已知或本文中揭示之另一方法投予。

【0656】 於一態樣中，該方法包括投予本文中提出之組成物，使得標靶 GPR75 基因之表現降低，該降低持續至少一個月。於一些態樣中，表現降低持續至少 2 個月、3 個月或 6 個月。

【0657】 於某些態樣中，投予包括加載以較高頻次(例如，每天一次、每週兩次、每週一次)投予之劑量，持續初始給藥期，例如，2 至 4 個劑量。

【0658】 於一些態樣中，可用於本文中提出之方法及組成物之 RNAi 劑特異性地靶向標靶 GPR75 基因的 RNA(原代或經處理者)。使用 RNAi 劑抑制此等基因之表現的組成物及方法可如本文中所揭示者製備及實施。

【0659】 根據本揭露之方法投予 dsRNA 可導致患有 GPR75 相關病症之患者體內此等疾病或病症之嚴重性、徵象、症候或標記物之減低。於一些態樣中，dsRNA 之投予係導致患有 GPR75 相關病症之受試者之血糖水

平降低。於其他態樣中，dsRNA 劑之投予係導致患有 GPR75 相關病症之受試者之血脂水平降低。這一語境中，「減低」意指此水平之統計學顯著或臨床顯著的下降。減低可係，舉例而言，至少 5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、或約 100%。

【0660】疾病之治療或預防的效力可藉由下述評估，舉例而言，量測疾病進展、疾病緩解、症候嚴重性、疼痛之減低、生命品質、持續治療效果所需之藥物劑量、疾病標記物或任何適用於給定之待治療疾病或預防之靶向的其他可量測之參數。藉由量測此類參數之任一者或參數之任意組合而監控治療或預防之效率，完全處於熟悉該領域之人士的能力範圍內。藉由量測此類參數之任一者或參數之任意組合而監控治療或預防之效率，完全處於熟悉該領域之人士的能力範圍內。與靶向 GPR75 之 RNAi 劑或其醫藥組成物之投予相關聯，「有效對抗」GPR75 相關病症指示，以臨床上適宜之模式投予在至少統計學顯著分數之患者中導致有益效果，例如症候之改善、治愈、疾病之減低、生命延長、生命品質之改善、或其他通常被熟悉治療 GPR75 相關病症及相關肇因之醫生認為積極的效果。

【0661】當疾病狀態之一個或多個參數存在統計學顯著之改善時，或預期會惡化或發展出症候者沒有惡化或發展出症候時，證明治療性或預防性效果。作為示例，可量測之疾病參數之至少 10%且諸如至少 20%、30%、40%、50%或更高的有利改變，可係有效治療之指示。給定 RNAi 劑藥物或該藥物之製劑的效力亦可使用該領域中已知之用於給定疾病之實驗動物模

型來判斷。當使用試驗動物模型時，當觀察到標記物或症候之統計學顯著的減低時，則證明治療之功效。

【0662】另選地，可藉由診斷領域之熟練人士基於臨床上接受之疾病嚴重程度分級量表確定之疾病嚴重程度的減低，量測該功效。任意導致例如使用適宜量表量測之疾病嚴重程度變小的正向改變，代表使用本文所揭示之 RNAi 劑或 RNAi 製劑進行了足夠之治療。

【0663】受試者可經投予治療量之 dsRNA，諸如約 0.01 mg/kg 至約 200 mg/kg。

【0664】RNAi 劑可經鞘內投予，經靜脈內注射投予，或藉由在一段時間內定期靜脈輸注投予。於某些態樣中，於初始之治療方案後，該治療之實施頻次可降低。RNAi 劑之投予可將例如細胞、組織、血液、CSF 樣本或患者之其他腔室內的 GPR75 水平減低至少 20%、30%、40%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、或至少約 99% 或更多。於一個態樣中，RNAi 劑之投予可減低 GPR75 水平，例如，於該患者之細胞、組織、血液、CSF 樣本或其他腔室內，GPR75 水平減低至少 50%。

【0665】於投予全劑量之 RNAi 劑之前，可投予患者較小之劑量諸如 5% 輸液反應，並監控副作用諸如過敏反應。於另一示例中，可監控患者之非所欲之免疫刺激效應如增加之細胞因子(例如，TNF- α 或 INF- α)水平。

【0666】或者，RNAi 可藉由口服投予、肺系投予、靜脈內亦即藉由靜脈注射、或皮下亦即藉由皮下注射投予。一次或多次注射可用來將所欲之例如月劑量的 RNAi 劑遞送至受試者。該注射可在一段時間內重複實施。

該投予可定期重複實施。於某些態樣中，於初始之治療方案後，該治療之實施頻次可降低。重複劑量方案可包括規則地投予治療量之 RNAi 劑，諸如每個月一次或延長至每個季度一次、每年兩次、每年一次。於某些態樣中，RNAi 劑係大約每個月投予一次至大約每個季度投予一次(亦即，大約每三個月投予一次)。

【0667】 除非另做定義，否則本文中所有科技術語具有與具有本發明所屬領域通常知識之人士所一般理解者相同之意。儘管在本發明提出之 RNAi 劑及方法之實踐或測試中可使用與本文中揭示之方法及材料類似或等效者，但適宜之方法及材料揭示於下。本文中述及之所有出版物、專利申請案及其它參考文獻藉由引用而以其整體併入本文。若有矛盾之處，則以包括定義在內之本說明書為準。此外，材料、方法及實施例僅做例示性說明之用而非意圖限制。

【0668】 非正式序列表與本文一起遞交形成所遞交之說明書的一部分。

【0669】 本發明藉由下述實施例進一步示例性說明，該等實施例不應視為限制性。本說明書通篇所引用之全部參考文獻、專利及公佈專利申請之整體內容以及圖示及序列表藉由引用而併入本文。

實施例

實施例 1：iRNA 合成

試劑之來源

【0670】 若本文中未具體給出試劑之來源，則測量試劑可從任何分子生物學用試劑供應商以用於分子生物學應用之品質/純度標準獲得。

siRNA 設計

【0671】 使用 `custo R` 及 `Python` 腳本設計靶向人類 G 蛋白偶合受體 (GPR75) 基因(人 : NCBI refseqID NM_006794.4 ; NCBI GeneID:1) 的 siRNA 之設計選擇。人 NM_006794.4 REFSEQ mRNA 之長度為 2094 個鹼基。

【0672】 一組靶向 GPR75 的未修飾之 siRNA 正義股及反義股核苷酸序列的詳細列述顯示於表 2 及 4 中。

【0673】 一組靶向 GPR75 的經修飾之 siRNA 正義股及反義股核苷酸序列的詳細列述顯示於表 3 及 5 中。

【0674】 應理解，本申請通篇中，不具小數之雙螺旋名稱等同於具有小數之雙螺旋名稱，其僅引用雙螺旋之批號。例如，AD-1230521 等同於 AD-1230521。

siRNA 合成

【0675】 使用本領域中已知之常規方法合成 siRNA 並退火。簡而言，使用 Mermade 192 合成儀(BioAutomation)，於固體支撐物上使用亞磷醯胺化學作用，以 1 μmol 規格合成 siRNA 序列。固體支撐物係負載有定制 GalNAc 配位子(3'-GalNAc 接合物)的受控之多孔玻璃(500-1000 Å)、通用固體支撐物(AM Chemicals)或感興趣之第一核苷酸。輔助合成試劑及標準 2-氰基乙基亞磷醯胺單體(2'-去氧-2'-氟、2'-O-甲基、RNA、DNA)係獲自 Thermo-Fisher(Milwaukee, WI)、Hongene(China)或 Chemgenes(Wilmington, MA, USA)。另外之亞磷醯胺單體係自供應商處購得、於現場製備、或使用來自各種 CMO 之定制合成獲得。亞磷醯胺以

100 mM 之濃度於乙腈或 9 : 1 乙腈 : DMF 中製備，並使用 5-乙硫基-1H-四唑(ETT，於乙腈中之 0.25 M 溶液)偶聯，反應時間為 400 秒。亞磷醯胺鏈結使用 3-((二甲胺基-亞甲基)胺基)-3H-1,2,4-二噻唑-3-硫酮(DDTT，獲自 Chemgenes (Wilmington, MA, USA))之 100 mM 溶液於無水乙腈/吡啶(9 : 1 v/v)中生成。氧化時間係 5 分鐘。全部序列皆合成為最終去除 DMT(「DMT-off」)。

【0676】一旦固相合成完成，即將固體支撐之寡核苷酸以 300 μ L 之甲胺(40%水溶液)於室溫在 96 孔板中處理大約 2 小時，以造成從固體支撐物裂解以及後續之全部另外之鹼不穩定保護基團的去除。對於含有經第三丁基二甲基矽烷基(TBDMS)基團保護之任意天然核糖核苷酸鏈結(2'-OH)的序列，係使用 TEA.3HF(三乙胺三氫氟酸鹽)執行去保護步驟。向每一種於甲胺水溶液中之寡核苷酸溶液中加入 200 μ L 之二甲基亞砷(DMSO)及 300 μ L TEA.3HF，並將該溶液於 60°C 溫育大約 30 分鐘。溫育之後，令板來至室溫，藉由加入 1 mL 之 9:1 乙腈 : 乙醇或 1:1 乙醇 : 異丙醇而將粗製寡核苷酸沉澱。然後將板於 4°C 離心 45 分鐘，在多通道滴管之輔助下小心地傾倒上清液。將寡核苷酸球丸重新懸浮於 20 mM NaOAc 中，接著，於配備自動採樣器、UV 偵檢器、電導計及級分收集齊之 Agilent LC 系統上，使用 HiTrap 尺寸排阻管柱(5 mL，GE Healthcare)脫鹽。經脫鹽之樣本係收集於 96 孔板中，然後藉由 LC-MS 及 UV 分光光度計分析以分別證實材料之身份並定量。

【0677】於 Tecan 液體操作機器人上執行單一股之雙螺旋化。於 96 孔板中，將正義及反義單一股以等莫耳比率於 1x PBS 中合併至 10 μ M 之最

終濃度，將板密封，於 100°C 溫育 10 分鐘，之後令其在 2 至 3 小時之時間段內緩慢回至室溫。證實了每種雙螺旋之濃度及身份，然後將其用於體外篩查檢定中。

實施例 2：siRNA 雙螺旋之體外篩查

細胞培養及轉染

【0678】細胞係根據標準方法培養，並以感興趣之 siRNA 複合體轉染。例如，藉由下述者轉染原代人類肝細胞(PHH)：於 384 孔板之每一孔中，將每孔 7.5 μ l 之 Opti-MEM 加上 0.1 μ l 之至 RNAiMax(Invitrogen, Carlsbad CA 目錄# 13778-150)加入 2.5 μ l 之各 siRNA 雙螺旋中。然後將細胞於室溫下溫育 15 分鐘。隨後，將含有 $\sim 1.5 \times 10^4$ 個細胞之 40 μ l 的培養基加至 siRNA 混合物中。在 RNA 純化之前，將細胞溫育 24 小時。執行單劑量實驗，分別為 10nM、1nM 及 0.1nM。

使用 DYNABEADS mRNA 單離套組進行之總 RNA 單離

【0679】總 RNA 單離使用 DYNABEAD 執行。簡而言，於每一孔中，將細胞於含有 3 μ L 珠的 10 μ l 之裂解/結合緩衝液中裂解，並於靜電振蕩器上混合 10 分鐘。使用磁性板支撐物，於 Biotek EL406 上自動執行洗滌步驟。珠於緩衝液 A 中洗滌(在 3 μ L 中)一次，在緩衝液 B 中洗滌一次，並且在緩衝液 E 中洗滌兩次，每兩次洗滌之間執行抽吸步驟。最後一次抽吸之後，將完整的 12 μ L RT 混合物添加到每一孔中，如下所揭示。

cDNA 合成

【0680】對於 cDNA 合成，於每一反應中，將 1.5 μ l 10X 緩衝液、0.6 μ l 10X dNTP、1.5 μ l 隨機引子、0.75 μ l 逆轉錄酶、0.75 μ l RNase 抑制劑

及 9.9 μl 之 H_2O 的預混液添加到每孔中。將板密封，於靜電振蕩器上攪動 10 分鐘，隨後於 37°C 溫育 2 小時。此後，將板於 80°C 攪動 8 分鐘。

實時 PCR

【0681】於 384 孔板(Roche 目錄號 04887301001)之每孔中，將 2 微升(μl)之 cDNA 加入含有 0.5 μl 人 GAPDH TaqMan 探針(4326317E)、0.5 μl 人 GPR75、2 μl 無核酸酶水及 5 μl Lightcycler 480 探針預混液(Roche 目錄號 04887301001)的預混液中。實時 PCR 係於 LightCycler480 實時 PCR 系統(Roche)中進行。

【0682】為了計算相對倍數改變，使用 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 方法分析資料並將該資料標準化至使用以 10nM AD-1955 轉染或模擬轉染之細胞實施的檢定。使用以 XLFit 進行之 4 參數擬合模型計算 IC_{50} ，並標準化至以 AD-1955 轉染或模擬轉染之細胞 AD-1955 之正義及反義序列為：正義 cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT(SEQ ID NO: 13)及反義 UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO: 14)。

體外雙重螢光素酶及內源性篩查檢定

【0683】藉由下述者轉染 Hepa1-6 細胞：添加每孔 50 μL 之 siRNA 雙螺旋及 75 ng 之人 GPR75 質體連同每孔 100 μL 之 Opti-MEM 加上 0.5 μL 之 Lipofectamine 2000(Invitrogen, Carlsbad CA. cat # 13778-150)，然後於室溫下溫育 15 分鐘。將混合物加入至細胞中，該細胞係重新懸浮於 35 μl 之新鮮完全培養基中。將轉染之細胞在 5% CO_2 氣氛中於 37°C 溫育。單劑量實驗係以 10 nM 實施。

【0684】 將 siRNA 及 psiCHECK2 質體轉染 24 小時後，量測螢火蟲螢光素酶(轉染對照)及海腎螢光素酶(融合至 GPR75 標靶序列)。首先，自細胞去除培養基。隨後，藉由向每個孔加入與培養基體積相等的 75 μ l 之 Dual-Glo® 螢光素酶試劑並混合，量測螢火蟲螢光素酶活性。將混合物於室溫溫育 30 分鐘，之後於 Spectramax (Molecular Devices) 上量測發光(500 nm)以偵檢螢火蟲螢光素酶訊號。藉由下述者量測海腎螢光素酶活性：向每個孔中加入 75 μ l 之室溫的 Dual-Glo® Stop & Glo® 試劑，並將板溫育 10-15 分鐘，之後再次兩次發光以測定海腎螢光素酶訊號。Dual-Glo® Stop & Glo® 試劑淬滅螢火蟲螢光素酶訊號但維持海腎螢光素酶反應之發光。藉由將每個孔內之海腎(GPR75)訊號標準化至螢火蟲(對照)訊號而測定 siRNA 活性。隨後，相對於用相同載體轉染但未經 siRNA 處理或經非靶向 siRNA 處理的細胞來評估 siRNA 活性之幅度。全部轉染皆以 $n = 4$ 進行。

使用 DYNABEADS mRNA 單離套組進行之總 RNA 單離

【0685】 使用自動方法在 BioTek-EL406 平台上使用 DYNABEADS (Invitrogen, cat#61012) 單離 RNA。簡而言，將 70 μ L 之裂解液/結合緩衝液及 10 μ L 之含有 3 μ L 磁性微珠的裂解緩衝液加至具有細胞之板中。將板於電磁培養箱中於室溫溫育 10 分鐘，隨後捕獲磁性微珠並移除上清液。隨後，將微珠結合之 RNA 以 150 μ L 洗滌緩衝液 A 洗滌 2 次，以洗滌緩衝液 B 洗滌一次。將微珠以 150 μ L 洗脫緩衝液洗滌，再次捕獲並移除上清液。

使用高能 cDNA 逆轉錄套組(Applied Biosystems, Foster City, CA, Cat #4368813)之 cDNA 合成

【0686】 將 10 μL 之含有 11 10X 緩衝液、0.4 μL 25X dNTPs、1 μL 10x 隨機引子、0.5 μL 逆轉錄酶、0.5 μL Rnase 抑制劑及 6.6 μL H_2O 每反應之預混液加至上述單離之 RNA 中。將板密封、混合、並在電磁培養箱中於室溫溫育 10 分鐘，之後於 37°C 溫育 2 小時。

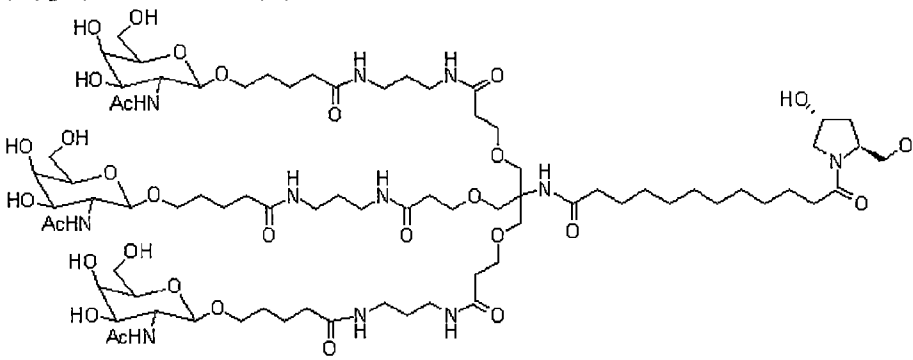
實時 PCR

【0687】 於 384 孔板(Roche cat # 04887301001)之每孔中，將 2 μL 之 cDNA 加至含有 0.5 μL 之人或鼠 GAPDH TaqMan 探針(ThermoFisher cat 4352934E 或 4351309)及 0.5 μL 之適宜 GPR75 探針(可例如自 Thermo Fisher 商購)的預混液及 5 μL Lightcycler 480 探針預混液(Roche Cat # 04887301001)中。實時 PCR 係於 LightCycler480 實時 PCR 系統(Roche)中進行。每一雙螺旋係測試 N=4，且將資料標準化至使用非靶向對照 siRNA 轉染之細胞。為了計算相對倍數改變，使用 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 方法分析資料並將該資料標準化至使用以非靶向對照 siRNA 轉染之細胞實施的檢定。

【0688】 於 Hepa1-6 細胞中進行之表 2 及表 3 所列 dsRNA 劑的體外篩查結果顯示於表 6 中。

【0689】 **表 1.**核苷酸序列呈現中使用之核苷酸單體的縮寫。應理解，當此等單體存在於寡核苷酸中，其係藉由 5'-3'-磷酸二酯鍵而相互鏈結；並且應理解，當核苷酸含有 2'-氟修飾時，則該氟替換位於其母體核苷酸中該位置處之羥基(亦即，其係 2'-去氧-2'-氟核苷酸)。

縮寫	核苷酸
A	腺苷-3'-磷酸酯
Ab	beta-L-腺苷-3'-磷酸酯
Abs	beta-L-腺苷-3'-硫代磷酸酯
Af	2'-氟腺苷-3'-磷酸酯
Afs	2'-氟腺苷-3'-硫代磷酸酯
As	腺苷-3'-硫代磷酸酯
C	胞苷-3'-磷酸酯
Cb	beta-L-胞苷-3'-磷酸酯
Cbs	beta-L-胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cf	2'-氟胞苷-3'-磷酸酯
Cfs	2'-氟胞苷-3'-硫代磷酸酯
Cs	胞苷-3'-硫代磷酸酯
G	鳥苷-3'-磷酸酯
Gb	beta-L-鳥苷-3'-磷酸酯
Gbs	beta-L-鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gf	2'-氟鳥苷-3'-磷酸酯
Gfs	2'-氟鳥苷-3'-硫代磷酸酯
Gs	鳥苷-3'-硫代磷酸酯
T	5'-甲基尿苷-3'-磷酸酯
Tf	2'-氟-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
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'-磷酸酯
Uf	2'-氟尿苷-3'-磷酸酯
Ufs	2'-氟尿苷-3'-硫代磷酸酯
Us	尿苷-3'-硫代磷酸酯

縮寫	核苷酸
N	任意核苷酸，經修飾或未修飾
a	2'-O-甲基腺苷-3'-磷酸酯
as	2'-O-甲基腺苷-3'-硫代磷酸酯
c	2'-O-甲基胞苷-3'-磷酸酯
cs	2'-O-甲基胞苷-3'-硫代磷酸酯
g	2'-O-甲基鳥苷-3'-磷酸酯
gs	2'-O-甲基鳥苷-3'-硫代磷酸酯
t	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-磷酸酯
ts	2'-O-甲基-5-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
u	2'-O-甲基尿苷-3'-磷酸酯
us	2'-O-甲基尿苷-3'-硫代磷酸酯
s	硫代磷酸酯類鏈結
L10	N-(膽固醇基甲醯胺基己醯基)-4-羥基脯胺醇(Hyp-C6-Chol)
L96	N-[參(GalNAc-烷基)-醯胺基癸醯基]-4-羥基脯胺醇 (Hyp-(GalNAc-烷基) ₃) 
Y34	2-羥基甲基-四氫呋喃-4-甲氧基-3-磷酸酯(無鹼基之 2'-OMe 呋喃糖)
Y44	反向之無鹼基 DNA (2-羥基甲基-四氫呋喃-5-磷酸酯)
(Agn)	腺苷-二醇核酸(GNA)
(Cgn)	胞苷-二醇核酸(GNA)
(Ggn)	鳥苷-二醇核酸(GNA)
(Tgn)	胸苷-二醇核酸(GNA) S-異構物

縮寫	核苷酸
P	磷酸酯
VP	乙烯基-磷酸酯
dA	2'-去氧腺苷-3'-磷酸酯
dAs	2'-去氧腺苷-3'-硫代磷酸酯
dC	2'-去氧胞苷-3'-磷酸酯
dCs	2'-去氧胞苷-3'-硫代磷酸酯
dG	2'-去氧鳥苷-3'-磷酸酯
dGs	2'-去氧鳥苷-3'-硫代磷酸酯
dT	2'-去氧胸苷-3'-磷酸酯
dTs	2'-去氧胸苷-3'-硫代磷酸酯
dU	2'-去氧尿苷
dUs	2'-去氧尿苷-3'-硫代磷酸酯
(C2p)	胞苷-2'-磷酸酯
(G2p)	鳥苷-2'-磷酸酯
(U2p)	尿苷-2'-磷酸酯
(A2p)	腺苷-2'-磷酸酯
(Chd)	2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸酯
(Ahd)	2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸酯
(Ghd)	2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸酯
(Uhd)	2'-O-十六烷基-尿苷-3'-磷酸酯

表 2. 未修飾之正義及反義股 GPR75 dsRNA 序列

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1423452	AUGGCGAUGAUGCCUCUAGUC	15	GACUAGAGGCAUCAUCGCCAUCG	285	38	60
AD-1423459	UGAUGCCUCUAGUCCUGCAUC	16	GAUGCAGGACUAGAGGCAUCAUC	286	45	67
AD-1423464	CCUCUAGUCCUGCAUCAUCCA	17	UGGAUGAUGCAGGACUAGAGGCA	287	50	72
AD-1423470	GUCCUGCAUCAUCCAGAGCGG	18	CCGCUCUGGAUGAUGCAGGACUA	288	56	78
AD-1423485	CCGGACUGCGAGAUAGGAGGAG	19	CUCCUCCAUCUCGACAGUCGGGAC	289	93	115
AD-1423493	CACCCGGCAGGCUUAUCUGUC	20	GACAGUAAGCCUGCCGGGUGGC	290	129	151
AD-1423498	GGCAGGCUUAUCUGUCUUGGG	21	CCCAAGACAGAUAAAGCCUGCCGG	291	134	156
AD-1423507	AUCUGUCUUGGGCCUCUUUUG	22	CAAAAGAGGCCCAAGACAGAUAA	292	143	165
AD-1423512	UCUUGGGCCUCUUUUGUCACA	23	UGUGACA AAAGAGGCCCAAGACA	293	148	170
AD-1423517	GGCCUCUUUUGUCACAUUUG	24	CAUAUUGUGACAAAAGAGGCCCA	294	153	175
AD-1423523	UUUUGUCACAUUUGUCUACUC	25	GAUGAGCAAUUUGUGACAAAAGA	295	159	181
AD-1423529	CACAUUUGUCUACUUGUGAG	26	CUCACAGAUAGGCAAUUUGUGAC	296	165	187
AD-1423534	AUUGCUACUCUGUGAGCUGAG	27	CUCAGCUCACAGAUAGGCAAUU	297	170	192
AD-1423540	CAUCUGUGAGCUGAGGCCUCUG	28	CAGGGCCUCAGCUCACAGAUAGG	298	176	198
AD-1423554	GGCCUCGACUCACUGAGUAUU	29	AAUACUCAGUGAGUCAGGGCCUC	299	190	212
AD-1423559	UGACUCACUGAGUAUUUUGG	30	CCAAAUAUCUCAGUGAGUCAGG	300	195	217
AD-1423563	GAGCAGAAGAAGGAGACAUUU	31	AAAUGUCUCCUUUCUUCGUCCC	301	217	239
AD-1423568	GAAGAAGGAGACAUUUCUCUC	32	GAGAGAAUUGUCUCCUUUCUUCUG	302	222	244
AD-1423574	GGAGACAUUUCUCUCCGAAA	33	UUUUCGGAGAGAAAUGUCUCCUU	303	228	250
AD-1423581	UUUCUCUCCGAAAUAUGAACUC	34	GAGUUCAUUUUCCGGAGAGAAAUG	304	235	257
AD-1423586	CUCCGAAAUAUGAACUCUACACAG	35	CUGUUGAGUUCAUUUUCCGGAGAG	305	240	262
AD-1423591	AAAAUAGAACUCUACAGGCCAC	36	GUGGCCUGUUGAGUUCAUUUUUCG	306	245	267
AD-1423596	GAACUCAACAGGCCACCUUCA	37	UGAAGGUGGCCUUGUUGAGUUCAU	307	250	272
AD-1423603	ACAGGCCACCUUCAGGAUGCC	38	GGCAUCCUGAAGGUGGCCUUGUUG	308	257	279
AD-1423610	CCACCUCGCCUCCAUUGUGCCUC	39	GAGGCACAUGGAGCGGAGGUGGCA	309	285	307

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1423615	UCGCUCCAUGUGCCUCACUCA	40	UGAGUGAGGCACAUGGAGCGAGG	310	290	312
AD-1423622	AUGUGCCUCACUCACAGGAAG	41	CUUCCUGUGAGUGAGGCACAUGG	311	297	319
AD-1423627	CCUCACUCACAGGAAGGAAC	42	GUUCCUUCUCCUGUGAGUGAGGCA	312	302	324
AD-1423635	ACAGGAAGGAAACAGCACCCUC	43	GAGGUGCUGUUUCCUCCUGUGA	313	310	332
AD-1423640	AAGGAAACAGCACCCUCUCUC	44	GGAGAGAGGUGCUGUUUCCUUC	314	315	337
AD-1423655	CUCUCCAGGAGGUCUUCAGG	45	CCUGAAGACCCUCCUGGAGAGAG	315	330	352
AD-1423660	CAGGAGGUCUUCAGGAUCUC	46	GAGAUCCUGAAGACCCUCCUGGA	316	335	357
AD-1423666	GGUCUUCAGGAUCUCAUCCAC	47	GUGGAUGAGAUCCUGAAGACCCU	317	341	363
AD-1423671	UCAGGAUCUCAUCCACACAGC	48	GCUGUGUGGAUGAGAUCCUGAAG	318	346	368
AD-1423679	UCAUCCACACAGCCACCUUGG	49	CCAAGGUGGCUGUGUGGAUGAGA	319	354	376
AD-1423684	CACACAGCCACCUUGGUGACC	50	GGUACCAAGGUGGCUGUGUGGA	320	359	381
AD-1423689	AGCCACCUUGGUGACCUUGUAC	51	GUACAGGUCACCAAGGUGGCUGU	321	364	386
AD-1423694	CCUUGGUGACCUUGUACUUC	52	GAAAAGUACAGGUCACCAAGGUG	322	369	391
AD-1423699	GUGACCUUGUACUUCUACUG	53	CAGUAGAAAAGUACAGGUCACCA	323	374	396
AD-1423708	ACUUUCUACUGGCGGUCAUC	54	GAUGACCGCCAGUAGAAAAGUAC	324	383	405
AD-1423713	UCUACUGGCGGUCAUUCUCUG	55	CAGAAGAUACCGCCAGUAGAAA	325	388	410
AD-1423722	GGUCAUCUUCUGCCUGGUUC	56	GAACCCAGGCAGAAGAUAGACCCG	326	397	419
AD-1423729	UUCUGCCUGGGUUCUUAUGGC	57	GCCAUAGGAACCCAGGCAGAAGA	327	404	426
AD-1423734	CCUGGGUUCUUAUGGCAACUU	58	AAGUUGCCAUAGGAAACCCAGGCA	328	409	431
AD-1423739	GUUCCUAUGGCAACUUCAUUG	59	CAAUGAAUUGCCAUAGGAACCC	329	414	436
AD-1423744	UAUGGCAACUUCAUUGUCUUC	60	GAAGACAUGAAGUUGCCAUAGG	330	419	441
AD-1423749	CAACUUCAUUGUCUUCUUGUC	61	GACAAGAAGACA AUUGAAGUUGCC	331	424	446
AD-1423754	UCAUUGUCUUCUUGUCCUUCU	62	AGAAGGACAAGAAGACA AUUGAAG	332	429	451
AD-1423757	GUCUUCUUGUCCUUCUUCGAU	63	AUCGAAAGAGGACAAGAAAGACAA	333	434	456
AD-1423762	CUUGUCCUUCUUCGAUCCAGC	64	GCUGGAUCCGAAGAAGGACAAGAA	334	439	461
AD-1423767	CCUUCUUCGAUCCAGCCUUCA	65	UGAAGGCUGGAUCCGAAGAAGGAC	335	444	466

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1423775	GAUCCAGCCUUCAGGAAAUUC	66	GAAUUUCCUGAAGGCUGGAUCGA	336	452	474
AD-1423780	AGCCUUCAGGAAAUUCAGAAC	67	GUUCUGAAUUUCCUGAAGGCUGG	337	457	479
AD-1423785	UCAGGAAAUUCAGAACCAACU	68	AGUUGGUUCUGAAUUUCCUGAAG	338	462	484
AD-1423792	AUUCAGAACCAACUUUGAUUU	69	AAAUCAAAGUUGGUUCUGAAUUU	339	469	491
AD-1423798	AACCAACUUUGAUUUCAUUGAU	70	AUCAUGAAAUCAAAGUUGGUUCU	340	475	497
AD-1423805	UUUGAUUUCAUUGAUUUCUGAAC	71	GUUCAGGAUCAUGAAAUCAAAGU	341	482	504
AD-1423811	UUCAUUGAUUCCUGAACCCUGUC	72	GGACAGGUUCAGGAUCAUGAAAU	342	488	510
AD-1423816	GAUCCUGAACCCUGUCCUUCUG	73	CAGAAAGACAGGUUCAGGAUCAU	343	493	515
AD-1423822	GAAACUGUCCUUCUGUGACCU	74	AGGUCACAGAAAGGACAGGUUCAG	344	499	521
AD-1423827	UGUCCUUCUGUGACCCUUCUA	75	UGAAGAGGUCACAGAAAGGACAGG	345	504	526
AD-1423832	UUCUGGACCCUUCUUAUUUGU	76	ACAAAUGAAGAGGUUCACAGAAGG	346	509	531
AD-1423838	GACCUCUUAUUUGUGGAGUG	77	CACUCCACAAUUGAAGAGGUUCAC	347	515	537
AD-1423843	CUUCAUUUGUGGAGUGACAGC	78	GCUGUCACUCCACAAUUGAAAGAG	348	520	542
AD-1423846	CAUGUUCACCUUUGUGUUUJU	79	AAUAACACAAAGGUGAACAUUGG	349	544	566
AD-1423851	UCACCUUUGUGUUUUAUUCUUA	80	UGAAGAUAUAACACAAAGGUGAAC	350	549	571
AD-1423856	UUUGUUUAUUCUUCAGCUCA	81	UGAGCUGAAGAAUAACACAAAGG	351	554	576
AD-1423861	GUUAUUCUUCAGCUCAGCCAG	82	CUGGCUGAGCUGAAGAAUAACAC	352	559	581
AD-1423870	CAGCUCAGCCAGUAGUAUCCC	83	GGGAUAUAUACUCCUGGAGCUGAA	353	568	590
AD-1423875	CAGCCAGUAGUAUCCCAGAU	84	CAUCCGGUAUAUAUACUCCUGGAG	354	573	595
AD-1423882	UAGUAUCCCAGGUAUUCUUCUG	85	CAGAAAGCAUCCGGGAUAUAUAU	355	580	602
AD-1423887	UCCCAGUAGCUUUCUGCUUCA	86	UGAAGCAGAAAGCAUCCGGGAUA	356	585	607
AD-1423892	GAUGCUUUCUGCUUCACUUCU	87	GAAAGUUAAGCAGAAAGCAUCCG	357	590	612
AD-1423897	UUUCUGCUUCACUUUCCAUCU	88	AGAUGGAAAGUUAAGCAGAAAGC	358	595	617
AD-1423906	CACUUCCAUCUCACCAGUUC	89	GAAACUGGUGAGAUUGGAAAGUGAA	359	604	626
AD-1423912	CCAUCUCACCAGUUCAGGCUU	90	AAGCCUGAACUCCUGGUGAGAUUGGAA	360	610	632
AD-1423917	UCACCAGUUCAGGCUUCAUCA	91	UGAUGAAGCCUGAACUCCUGGUGAGA	361	615	637

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1423922	AGUUCAGGCUUCAUCAUG	92	CAUGAUGAAGCCUGAACUGG	362	620	642
AD-1423927	AGGCUUCAUCAUGUCUCU	93	AGAGACAUGAUGAAGCCUGA	363	625	647
AD-1423932	UCAUCAUGUCUCUGAAGA	94	UCUUCAGAGACAUGAUGAAG	364	630	652
AD-1423937	AUCAUGUCUCUGAAGACAGUG	95	CACUGUCUUCAGAGACAUGAUGA	365	635	657
AD-1423943	UCUCUGAAGACAGUGGCAGUG	96	CACUGCCACUCUGUCUUCAGAGACA	366	641	663
AD-1423954	AGUGGCAGUGAUCGCCUCUGCA	97	UGCAGGGCGAUCACUGGCCACUGU	367	652	674
AD-1423969	CACCGGCUCCGGGUAUGGUGUG	98	CAACACCAUCCGGAGCCGGUGCA	368	671	693
AD-1423977	ACAGCCUAUUCGCACGGCCUC	99	GAGGCCUGCGAUUAGGCCUGUUU	369	697	719
AD-1423982	CUAUCGCACGGCCUCCUUUC	100	GAAAGGAGCCGUGCGAUUJAGGC	370	702	724
AD-1423987	CGCACGGCCUCCUUUCCUCUG	101	GCAGGGAAAGGAGGCCGUGCGAU	371	707	729
AD-1423994	CCUCCUUUCCCGCACCCGUAC	102	GUACGGUGCAGGGAAAGGAGGCC	372	714	736
AD-1423999	UUUCCUGCACCGUACUCCUC	103	GAGGAGUACGGUGCAGGGAAAAGG	373	719	741
AD-1424005	UGCACCGUACUCCUACACCCUG	104	CAGGGUGAGGAGUACGGUGGCAGG	374	725	747
AD-1424013	ACUCCUCACCCUGCUUCUCUG	105	CAGAGAAAGCAGGGUGAGGAGUAC	375	733	755
AD-1424020	ACCCUGCUUCUCUGGGCCACC	106	GGUGGCCACAGAAAGCAGGGUGA	376	740	762
AD-1424026	CUUCUCUGGGCCACCAGUUUC	107	GAAACUGGUGGCCACAGAGAAGCA	377	746	768
AD-1424031	CUGGGCCACCAGUUUCACCCU	108	AGGGUGAAACUGGUGGCCCCACAG	378	751	773
AD-1424037	CACCAGUUUCACCCUUGCCAC	109	GUGGCAAGGGUGAAACU'GGUGGC	379	757	779
AD-1424045	UCACCUUUGCCACC'UU'GGCUA	110	UAGCCAAAGGUGGCAAGGGUGAAA	380	765	787
AD-1424053	GCCACCUUGGCUACCUU'GAAA	111	UUUCAAGGUAGCCAAAGGUGGCCAA	381	773	795
AD-1424058	CUU'GGCU'ACCUU'GAAA'ACCAG	112	CUGGUUUUCAAGGUAGCCAAAGGU	382	778	800
AD-1424064	UACCUUGAAA'ACCAGCAAGUC	113	GACU'UGCU'GGUUU'UCAAGGU'AGC	383	784	806
AD-1424073	AACCAGCAAGUCC'CCACCUCUG	114	CAGAGGU'GGGACU'UGCU'GGUUUU	384	793	815
AD-1424080	AAGUCC'ACCUCU'GUCU'UCCC	115	GGGAAGACAGAGGUGGGACU'UGC	385	800	822
AD-1424086	CACCUCU'GUCU'UCCC'CAUGUCC	116	GGACAUGGGAAAGACAGAGGUGGG	386	806	828
AD-1424091	CUGUCU'UCCC'CAUGUCC'AGUCU	117	AGACUGGACAUGGGAAAGACAGAG	387	811	833

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424096	UUCCCAUGUCCAGUCUGAUUG	118	CAAUCAGACUGGACAUGGGAAGA	388	816	838
AD-1424105	CCAGUCUGAUUGCUGGAAAAG	119	CUUJUCCAGCAAUCCAGACUGGAC	389	825	847
AD-1424111	UGAUUGCUGGAAAAGGGAAG	120	CUUJUCCUUUCCAGCAAUCCAGA	390	831	853
AD-1424117	CUGGAAAAGGGAAGCCAUUU	121	AAAUGGCUUUCUUUCCAGCA	391	837	859
AD-1424123	AAGGAAAAGCCAUUUUGUCUC	122	GAGACAAAUGGCUUUCUUUUU	392	843	865
AD-1424130	AGCCAUUUUGUCUCUCUAUGU	123	ACAUAAGAGAGACAAA AUGGCUUU	393	850	872
AD-1424135	UUUUGUCUCUCUAUGUGGUCG	124	CGACCACAUAGAGAGACAAA AUG	394	855	877
AD-1424140	UCUCUCUAUGUGGUCGACUUC	125	GAAUGCGACCACAUAGAGAGACA	395	860	882
AD-1424148	UGUGGUCGACUUCACCCUUCUG	126	CAGAAAGGUGAAGUCGACCACAU	396	868	890
AD-1424154	CGACUUCACCCUUCUGUGUUC	127	GCAACACAGAAGGUGAAGUCCGAC	397	874	896
AD-1424161	ACCUUCUGUGUUCUGUGGUC	128	GACCACAGCAACACAGAAGGUGA	398	881	903
AD-1424169	UGUUGCUGUGGUCUCUGUCUC	129	GAGACAGAGACCACAGCAACAACA	399	889	911
AD-1424175	UGUGGUCUCUGUCUCUUAUCAU	130	AUGUAAGAGACAGAGACCACAGC	400	895	917
AD-1424180	UCUCUGUCUCUUAACAUCAUGA	131	UCAUGAUGUAAGAGACAGAGACC	401	900	922
AD-1424188	UCUUAACAUCAUGAUUGCUCAG	132	CUGAGCAUCAUGAUGUAAGAGA	402	908	930
AD-1424194	AUCAUGAUUGCUCAGACCCUCG	133	CAGGGUCUGAGCAAUCAUGAUGU	403	914	936
AD-1424207	AGACCCUGCGGAAGAACGCUC	134	GAGCGUUCUUCGCCAGGGUCUGA	404	927	949
AD-1424213	UGCGGAAGAACGCUCUAGUCA	135	UGACUUGAGCGUUCUUCGCCAGG	405	933	955
AD-1424218	AAGAACCUCUCAAAGUCAGAAAAG	136	CUUUCUGACUUGAGCGUUCUUC	406	938	960
AD-1424223	CGCUC AAGUCAGAAAAGUGCCC	137	GGCACUUCUGACUUGAGCGUUC	407	943	965
AD-1424226	GUAUUCACAGUCGAGUUCUUC	138	GGAAGCAUCGACUGUGAUUACAG	408	968	990
AD-1424234	AGUCGAUGCUUCCAGACCACA	139	UGUGGUCUGGAAAGCAUCGACUGU	409	976	998
AD-1424241	GCUUCCAGACCACAGCCUUUC	140	GAAAGGCUUGGUCUGGAAAGCAU	410	983	1005
AD-1424246	CAGACCACAGCCUUUCAUGGG	141	CCCAUGAAAAGGCUUGGUCUGGA	411	988	1010
AD-1424265	GUGGAGAUCCCAUCCAGUGUG	142	CACACUGGAUGGGAUCCACCUCU	412	1026	1048
AD-1424270	GAUCCCAUCCAGUGUGCCAUG	143	CAUGGCACACUGGGAUGGGAUCUC	413	1031	1053

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424289	UGCCGGCUCUGUAUAGGAACC	144	GGUUCUUAUACAGAGCCGGCAUG	414	1050	1072
AD-1424294	GCUCUGUAUAGGAACCAGAAU	145	AUUCUGGUUCCUAUACAGAGCCG	415	1055	1077
AD-1424299	GUAUAGGAACCAGAAUUAACA	146	UUGUAUUUCUGGUUCCUAUACAG	416	1060	1082
AD-1424305	GAACCAGAAUUAACAACAACU	147	AGUUUGUUUGAAUUCUGGUUCCU	417	1066	1088
AD-1424312	AAUUAACAACAACUGCAGCAC	148	GUGCUGCAGUUUGUUAUUCU	418	1073	1095
AD-1424318	AACAACUGCAGCACGUUCAG	149	CUGAACGUGCUGCAGUUUGUUGU	419	1079	1101
AD-1424324	CUGCAGCACGUUCAGACCCGU	150	ACGGUCUGAAACGUGCUGCAGUU	420	1085	1107
AD-1424330	CACGUUCAGACCCGUGGAUUAU	151	AUAUCCACGGGUCUGAACGUGCU	421	1091	1113
AD-1424336	CAGACCCGUGGAUUAUACCAAG	152	CUUGGUUAUUAUCCACGGGUCUGAA	422	1097	1119
AD-1424341	CCGUGGAUUAUACCAAGAGUCC	153	GGACUUCUUGGUUAUUAUCCACGGGU	423	1102	1124
AD-1424346	GAUAUACCAAGAGUCCCAACC	154	GGUUGGGACUCUUGGUUAUUAUCCA	424	1107	1129
AD-1424351	ACCAAGAGUCCCAACCAACUG	155	CAGUUGGUUUGGGACUCUUGGUUAU	425	1112	1134
AD-1424357	AGUCCCAACCAACUGGUCAACC	156	GGUGACCAAGUUGGUUUGGGACUCU	426	1118	1140
AD-1424364	GCAAGCCGACUCCAGCUCGUA	157	UACGAGCUCUGGAGUCGGCUUUGCUG	427	1145	1167
AD-1424370	CGACUCCAGCUCGUAUACAGCC	158	GGCUGAUACGAGCUCUGGAGUCGGC	428	1151	1173
AD-1424379	CUCGUAUCAGCCAUCAAACCUC	159	GAGGUUGAUGGCUGUAUACGAGCU	429	1160	1182
AD-1424387	AGCCAUCAACCUCUCCACUGC	160	GCAGUGGAGAGGUUGAUGGCGUGA	430	1168	1190
AD-1424392	UCAACCUCUCCACUGCCAAGG	161	CCUUGGCAGUGGAGAGGUUGAUG	431	1173	1195
AD-1424397	CUCUCCACUGCCAAGGAUUC	162	GGAAUCCUUGGCAGUGGAGAGGU	432	1178	1200
AD-1424405	UGCCAAGGAUUCCAAAGCCGU	163	ACGGCUUUGGAAUCCUUGGCAGU	433	1186	1208
AD-1424412	GAUUCCAAAGCCGUGGUCAACC	164	GGUGACCAACGGCUUUGGAAUCCU	434	1193	1215
AD-1424418	AAAGCCGUGGUCAACCUUGUG	165	CACACAGGUGACCAACGGCUUUGG	435	1199	1221
AD-1424425	UGGUCACCUUGUGUAUCAUUG	166	CAAUGAUCACACAGGUGACCCACG	436	1206	1228
AD-1424430	ACCUUGUGUAUCAUUGUGCUG	167	CAGCACAAUGAUCACACAGGUGA	437	1211	1233
AD-1424436	GUGAUCAUUGUGCUGUCAGUC	168	GACUGACAGCACAAUGAUCACAC	438	1217	1239
AD-1424445	GUGCUGACAGUCCUGGUGUGC	169	GCACACCAGGACUGACAGCACAA	439	1226	1248

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424451	UCAGUCCUGGUGUCUGUCUU	170	AAGACAGCACACCAGGACUGACA	440	1232	1254
AD-1424457	CUGGUGUCUGUCUCCACUG	171	CAGUGGAAGACAGCACACCAGGA	441	1238	1260
AD-1424464	UUUCCUUUGGUACAGGUGGUUC	172	GAACCACCCUGUACCCAAGGAAAUUC	442	1263	1285
AD-1424469	UUGGUACAGGUGGUUCUCUCC	173	GGAGAGAACCAACCCUGUACCCAAGG	443	1268	1290
AD-1424478	GUGGUUCUCUCCAGCAUUGGG	174	CCCAUUGCUGGAGAGAAACCACCU	444	1277	1299
AD-1424485	UCUCCAGCAUUGGGAGCUUCA	175	UGAAGCUCUCCAUUGCUGGAGAGA	445	1284	1306
AD-1424493	AAUGGGAGCUUCAUUCUUUAC	176	GUAAAGAAUGAAGCUCUCCAUUGC	446	1292	1314
AD-1424502	UUCAUUCUUUACCCAGUUUGAA	177	UUCAAACUGGUAAAAGAAUUGAAGC	447	1301	1323
AD-1424508	CUUUACCAAGUUUGAAUUGUUU	178	AAACAAUUCACACUGGUAAAAGAA	448	1307	1329
AD-1424514	CAGUUUGAAUUGUUUGGAAUU	179	AAAUCCAAACAUAUCAAACUGGU	449	1313	1335
AD-1424520	AAUUGUUUGGAAUUUACUCUUA	180	UAAAGAUAAAUCCAAACAUAUCA	450	1320	1342
AD-1424531	UCUUUAUUUUUUCAAAGUCAGG	181	CCUGACUUUGAAAUAUAAAGAGU	451	1336	1358
AD-1424540	UUUCAAGUCAGGAUUAAAACCC	182	GGUUUAAUCCUGACUUGAAAAA	452	1345	1367
AD-1424546	GUCAGGAUUAAAACCCUUUUU	183	AUAAAAGGGUUUAAUCCUGACUU	453	1351	1373
AD-1424553	AACCCUUUUUAUUAUUCUCGG	184	CCGAGAAUAUAUAAAAGGGUUUA	454	1361	1383
AD-1424558	UUUUUAUAUUUCUCGGAAACAG	185	CUGUCCGAGAAUAUAUAAAAGG	455	1366	1388
AD-1424563	UAUAUUUCUGGAACAGUGCAG	186	CUGCACUGUUCGAGAAUAUAUA	456	1371	1393
AD-1424568	UCUCGGAACAGUGCAGGGCUG	187	CAGCCUUGCACUGUUCGAGAAU	457	1376	1398
AD-1424580	GCAAGGUCUGAGAAAGAAAGUG	188	CACUUUCUUCUCAGCCUUCAC	458	1388	1410
AD-1424585	GCUGAGAAAGAAAGUCUCUG	189	CAGAGCACUUUCCUUCUCAGCCCC	459	1393	1415
AD-1424590	GAAAGAAAGUGCUCUGGUGCC	190	GGCACCAGAGCACUUUCCUUCUC	460	1398	1420
AD-1424603	CUGGUGCCUCCAAUACAUAAG	191	CCUAUGUAUUUGGAGGCACCAGAG	461	1411	1433
AD-1424609	CCUCCAAUACAUAAGGCCUUGG	192	CCCAGGCCUAUUAUUGGAGGCA	462	1417	1439
AD-1424614	AAUACAUAAGGCCUUGGUUUUU	193	AAAACCCAGGCCUUAUUAUUGG	463	1422	1444
AD-1424615	UUUCUGCUGCAACAACAAGAC	194	GUCUUUUGUUUGCAGCAGAAAAA	464	1441	1463
AD-1424622	UGCAAAACAAGACUCGACUU	195	AAGUCGAGUCUUUUUUUGCAGC	465	1448	1470

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424627	ACAAAAGACUCGACUUCGAGC	196	GCUCGAAAGUCGAGUCUUUUGUUU	466	1453	1475
AD-1424632	AGACUCGACUUCGAGCCAUGG	197	CCAUGGCUCGAAAGUCGAGUCUUU	467	1458	1480
AD-1424638	GACUUCGAGCCAUGGGAAG	198	CUUUUCCCAUGGCUCGAAAGUCGA	468	1464	1486
AD-1424643	CGAGCCAUGGGAAGGGAAC	199	GUUCCUUUUUCCCAUGGCUCGAA	469	1469	1491
AD-1424648	CAUGGGAAGGGAACCUCGA	200	UCGAGGUUCCUUUUUCCCAUGGC	470	1474	1496
AD-1424655	AAAGGGAACCUCCGAAAGUCAAC	201	GUUGACUUCGAGGUUCCUUUUUC	471	1481	1503
AD-1424661	AACCUCGAAAGUCAACAGAAAC	202	GUUUCUGUUGACUUCGAGGUUCC	472	1487	1509
AD-1424667	GAAAGUCAACAGAAACAAAUCC	203	GGAUUUUUUUCUGUUUGACUUCGA	473	1493	1515
AD-1424672	CAACAGAAACAUAUCCUCCCA	204	UGGAGGAUUUUGUUUCUGUUGAC	474	1498	1520
AD-1424678	AAACAUAUCCUCCCAUCAUGA	205	UCAUGAUGGGAGGAUUUUGUUUCU	475	1504	1526
AD-1424684	AUCCUCCCAUCAUGAAACAAA	206	UUUGUUUCAUGAUGGGAGGAUUU	476	1510	1532
AD-1424689	CCCAUCAUGAAACAACUCUG	207	CAGAGUUUUGUUUCAUGAUGGGAG	477	1515	1537
AD-1424695	AUGAAACAACUCUGCCUACA	208	UGUAGGCAGAUUUUGUUUCAUGA	478	1521	1543
AD-1424704	ACUCUGCCUACAUGUUUAUCUC	209	GAGAUACAUGAUGAGGCAGAGUUU	479	1530	1552
AD-1424709	GCCUACAUGUUUAUCUCCAAAG	210	CUUUGGAGAUACAUGAUGGCAG	480	1535	1557
AD-1424714	CAUGUUUAUCUCCAAAGCCACA	211	UGUGGCUUUGGAGAUACAUGUA	481	1540	1562
AD-1424723	UCCAAAGCCACAGAAAGAAUU	212	AAUUUCUUCUGUGGCUUUUGGAGA	482	1549	1571
AD-1424728	AGCCACAGAAAGAAUUUGUGG	213	CCACAAAUUUCUUCUGUGGCUUU	483	1554	1576
AD-1424733	CAGAAAGAAUUUGUGGACCAG	214	CUGGUCCACAAAUUUCUUCUGUG	484	1559	1581
AD-1424738	GAAUUUUGUGACCAGGCUUG	215	CAAGCCUGGUCCACAAAUUUCUU	485	1564	1586
AD-1424749	ACCAGGCUUGUGGCCCCAAGUC	216	GACUUGGGCCACAAAGCCUGGUCC	486	1575	1597
AD-1424757	UGUGGCCCAAGUCAUUCAAAA	217	UUUUGAAUGACUUGGGCCACAAG	487	1583	1605
AD-1424762	CCCAAGUCAUUCAAAAGAAAG	218	CUUUCUUUUGAAUGACUUGGGCC	488	1588	1610
AD-1424769	CAUUCAAAAGAAAGUAUGGUG	219	CACCAUACUUUCUUUUGAAUAGAC	489	1595	1617
AD-1424774	AAAAGAAAGUAUGGUGAGUCC	220	GGACUCACCAUACUUUCUUUUGA	490	1600	1622
AD-1424781	AGUAUGGUGAGUCCCAAGAUCC	221	GAUCUUUGGACUCACCAUACUUU	491	1607	1629

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424788	UGAGUCCCAAGAUCUCUGCUG	222	CAGCAGAGAUCUUGGGACUCACC	492	1614	1636
AD-1424793	CCCAAGAUCUCUGCUGGACAU	223	AUGUCCAGCAGAGAUCUUGGGAC	493	1619	1641
AD-1424798	GAUCUCUGCUGGACAUAACA	224	UGUUGAUGUCCAGCAGAGAUCUU	494	1624	1646
AD-1424803	CUGCUGGACAUAACACUCUG	225	CACAGUGUUGAUGUCCAGCAGAG	495	1629	1651
AD-1424809	GACAUAACAUCUGUGGUCAGA	226	UCUGACCACAGUGUUGAUGUCCA	496	1635	1657
AD-1424816	ACACUGUGGUCAGAGCAGCUC	227	GAGCUCUCUGACCACACAGUGUUG	497	1642	1664
AD-1424825	CAACACUCGGAUUGAACCUUA	228	UAAAGGUUCAAUCCGAGUGUUGAU	498	1672	1694
AD-1424830	CUCGGAUUGAACCUUACUACA	229	UGUAGUAAGGUUCAUCCGAGUG	499	1677	1699
AD-1424836	UUGAACCUUACUACAGCAUCU	230	AGAUGCUGUAGUAAGGUUCAUUC	500	1683	1705
AD-1424841	CCUUACUACAGCAUCUAUAAC	231	GUUAUAGAUGCUGUAGUAAGGUU	501	1688	1710
AD-1424846	CUACAGCAUCUAUAACAGCAG	232	CUGCUGUUAUAGAUGCUGUAGUA	502	1693	1715
AD-1424852	CAUCUAUAACAGCAGCCUUC	233	GAAGGGCUCUGUUAUAGAUGCUCU	503	1699	1721
AD-1424880	GAGAGCAGCCCAUGUAACUUA	234	UAAAGUUAUAUGGGCUCUCUCUCCU	504	1727	1749
AD-1424885	CAGCCCAUGUAACUUAACAGCC	235	GGCUGUAAGUUAACAUGGGCUCUCU	505	1732	1754
AD-1424891	AUGUAACUUAACAGCCAGUAAA	236	UUUACUGGCUGUAAGUUAACAUGG	506	1738	1760
AD-1424897	CUUACAGCCAGUAAACUCUUU	237	AAAAGAUUUACUGGCUGUAAAGUU	507	1744	1766
AD-1424904	CCAGUAAACUCUUUUGGAUUU	238	AAAUCCAAAAGAGUUUACUGGGCU	508	1751	1773
AD-1424911	ACUCUUUUGGAUUUGCCAAUU	239	AAUUGGCAAAUCCAAAAGAGUUU	509	1758	1780
AD-1424920	GAUUUGCCAAUUAUAUUUG	240	CAAUAUAUGAAUUGGCAAAUAUCCA	510	1767	1789
AD-1424929	AUUCAUUAUUUGCCAUUGCAUU	241	AAUGCAUUGGCAAUAUAUGAAUUUG	511	1776	1798
AD-1424935	AUAUUGCCAUUGCAUUUAUCACA	242	UGUGAUAAUGCAUUGGCAAUAUAU	512	1782	1804
AD-1424943	AUGCAUUUAUCACACCACUAAU	243	AUUAGUGGUGUGAUAUUGCAUUGG	513	1790	1812
AD-1424949	UAUCACACCACUUAUUGACUUA	244	UAAAGUCAUUAGUGGUGUGAUAAU	514	1796	1818
AD-1424954	CACCACUAAUGACUUUAGUGCA	245	UGCACUAAAGUCAUUAGUGGUGUG	515	1801	1823
AD-1424961	AAUGACUUUAGUGCAGGAAUAU	246	AUAUCCUGCACUUAAGUCAUUAG	516	1808	1830
AD-1424967	UUAGUGCAGGAAUAUUGACAGC	247	GCUGUCAUAUCCUGCACAUAAGU	517	1814	1836

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1424972	GCAGGAAUAUGACAGCACUUC	248	GAAUGUCUGUCAUAUCCUGCAC	518	1819	1841
AD-1424979	UAUGACAGCACUUCAGCCAAG	249	CUUGGCUGAAGUGCUGUCAUAUU	519	1826	1848
AD-1424987	CACUUCAGCCAAGCAGAUUCC	250	GGAAUCUGCUUGGCUGAAGUGCU	520	1834	1856
AD-1424992	CAGCCAAGCAGAUUCCAGUCC	251	GGACUGGAAUUCUGCUUGGCUGAA	521	1839	1861
AD-1424994	CUCCGUUUAAGUCAUGGAGG	252	CCUCCAUGACUUUAAACGGAGGG	522	1861	1883
AD-1425002	AAAGUCAUGGAGGCUAUAGGA	253	UCCUAUAGCCUCCAUGACUUUAA	523	1869	1891
AD-1425010	GGAGGCUAUAAGGAUCUUAUGU	254	ACAUAAGAUCUUAUAGCCUCCAU	524	1877	1899
AD-1425015	CUAUAAGGAUCUUAUGUAAACA	255	UGUUUACAUAAGAUCUUAUAGCC	525	1882	1904
AD-1425020	GGAUUUUAUGUAAACAGUUUU	256	AAAACUGUUUACAUAAGAUCUUA	526	1887	1909
AD-1425031	AAACAGUUUUUGUUUCUGAJA	257	UAUCAGAAACA AAAACUGUUUAC	527	1898	1920
AD-1425036	GUUUUUGUUUCUGAUAGUAAU	258	AUUACUAUCAGAAAACAAAACUG	528	1903	1925
AD-1425041	UGUUUCUGAUAGUAUUGGACU	259	AGUCCAUUACUAUCAGAAAACAAA	529	1908	1930
AD-1425046	CUGAUAGUAUUGGACUUUAUU	260	AAUAAAGUCCAUUACUAUCAGAA	530	1913	1935
AD-1425054	AAUGGACUUUAUUCUAACUUG	261	CAAGUUAGAUAUAAAGUCCAUUAC	531	1921	1943
AD-1425061	UUUAUUCUAACUUGAGAUACAG	262	CUGAUCUCAAGUUAGAUAUAAAGU	532	1928	1950
AD-1425066	UCUAAACUUGAGAUACAGUGGCG	263	CGCCACUGAUCUCAAGUUAGAAU	533	1933	1955
AD-1425074	GAGAUACAGUGGCGGAUCAAAA	264	UUUUGAUCCGCCACUCUGAUCUCAA	534	1941	1963
AD-1425079	CAGUGGCGGAUCAAAAACCUAC	265	GUAGGUUUUUGAUCCGCCACUGAU	535	1946	1968
AD-1425086	GGAUCAAAAACCUACAAGAUUUC	266	GAAUCUUGUAGGUUUUUGAUCCCGC	536	1953	1975
AD-1425091	AAAACCUACAAGAUUUC AACUG	267	CAGUUGAAUCUUGUAGGUUUUUGA	537	1958	1980
AD-1425096	CUACAAGAUUCAACUGAAAAAG	268	CUUUUCAGUUGAAUCUUGUAGGU	538	1963	1985
AD-1425101	AGAUCUCAAACUGAAAAGUUGGC	269	GCCAACUUUUCAGUUUGAAUUCUUG	539	1968	1990
AD-1425107	AACUGAAAAGUUGGCAGUUUAU	270	AUAACUGCCAACUUUUCAGUUGA	540	1974	1996
AD-1425113	AAAGUUGGCAGUUUUGGUUUUU	271	AAAACCAUAACUGCCAACUUUUC	541	1980	2002
AD-1425118	UGGCAGUUUAUGGUUUUCUUUC	272	GAAAGAAAACCAUUAACUGCCAAC	542	1985	2007
AD-1425123	GUUAUGGUUUUCUUUCAUCUG	273	CAGAUGAAAAGAAAACCAUUAACUG	543	1990	2012

雙螺旋名稱	正義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NMI 006794.4 中之 mRNA 起始位點	NMI 006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1425132	UUUUUCAUCUGAUGUCAG	274	CUGACACAUCAGAUAAAAGAAA	544	1999	2021
AD-1425138	CAUCUGAUGUCAGUAUCUG	275	CAGAUACUGACACAUCAUGAA	545	2005	2027
AD-1425144	AUGUGACAGUAUCUGUAUU	276	AUCAACAGAUACUGACACAUA	546	2011	2033
AD-1425150	CAGUAUCUGUAUUUGUUU	277	AAAGCAAAUCAACAGAUACUGAC	547	2017	2039
AD-1425158	GUUGAUUGUUUGUAUUUG	278	CAAACUACAAAGCAAAUCAAACAG	548	2025	2047
AD-1425165	GCUUUGAUGUUUGUAGACAUC	279	GAUGUCAACAACUACAAGCAA	549	2033	2055
AD-1425170	GUAGUUUGUAGACAUCUUAG	280	CUUAAAGAUJUCAACAACUACAA	550	2038	2060
AD-1425175	UUGUAGACAUCUUAGAUUUUG	281	CAAAUCUUAAAGAUJUCAACAAC	551	2043	2065
AD-1425180	GACAUCUUAGAUUUUGAUGUG	282	CACAUCAAAUUUAAAGAUJUCAAA	552	2048	2070
AD-1425186	UUAAAGAUUUUGAUGUAAAGUU	283	AACUUCAUCAUCAAUCUUUAAGA	553	2054	2076
AD-1425192	UUUGAUGUAAAGUUUUAGAU	284	AUCUAAAACUUUCACAUCAAAUC	554	2060	2082

表 3. 經修飾之正義及反義股GPR75 dsRNA序列

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1423452	asusggcgAfuGfAfUfgccucuaugnL96	555	asAfsenaGfaGfGfcaucAfuCfjcccauscsg	825	CGATGGCGGATGATGCCCTCTAGTC	1095
AD-1423459	usgsaugcCfuCfUfAfguccugcaunL96	556	asAfsugcAfgGfAfcuagAfgGfcaucisusc	826	GATGATGCCCTCTAGTCCTGCATC	1096
AD-1423464	csesucuaGfuCfUfGfcaucauceuL96	557	asGfsgauGfaUfGfcaaggAfcUfagaggscsa	827	TGCCCTCTAGTCCTGCATCAITCCA	1097
AD-1423470	gsusccugCfaUfCfAfucaagagcgnL96	558	asCfsgcuCfuGfGfauaUfGfagggacsusa	828	TAGTCCTGCATCAITCCAAGAGCGG	1098
AD-1423485	csesggacUfgCfGfAfgauggaggnL96	559	asUfscucfAfuUfucngCfagfuccgggsasc	829	GTCCGGACTGCCGAGATGGAGGAG	1099
AD-1423493	csascccgGfcAfGfGfcaucaucugnL96	560	asAfsacagAfuAfuAfgccuGfcCfjgggugsgsc	830	GCCACCCGGCAGGCTTATCTGTC	1100
AD-1423498	gsgscaggCfuUfAfuUfucugucunggnL96	561	asCfscaaGfaCfAfgaanaAfgCfucjccsgsgsg	831	CCGGCAGGCTTATCTGCTTGGG	1101

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1423507	asuscuguCfuUfGfGfgccucuuuuL96	562	asAfsaaaGfaGfGfccaaAfaAfcagaasasa	832	TTATCTGTCTTGGCCCTCTTTTGG	1102
AD-1423512	uscsmggGfcCfuCfuuuuuueacuL96	563	asGfsugaCfaAfaAfaagGfcCfcaagascsa	833	TGCTTGGGCCCTCTTTTGTGCACA	1103
AD-1423517	gsgscucUfuUfUfGfucacauuuL96	564	asAfsaaaUfgUfGfacaAfaGfaggccscsa	834	TGGGCCCTCTTTTGTACATAATTG	1104
AD-1423523	ususuuuuCfaCfaUfauuuuuuL96	565	asAfsugaGfcAfaUfauuUfgAfcuaaasgsa	835	TCITTTGTACATAATTGCTCATC	1105
AD-1423529	csascauaUfuGfCfUfcaucugauL96	566	asUfscacAfgAfuUfgagcAfaUfauggsasc	836	GTCACATAATTGCTCATCTGTGAG	1106
AD-1423534	asusugcuCfaUfCfUfugagugauL96	567	asUfscagCfuCfaAfcagaUfgAfgcaausasu	837	ATATTGCTCATCTGTGAGCTGAG	1107
AD-1423540	csasucugUfgAfgCfugagggccuuL96	568	asAfsuggCfcUfCfagcuCfaCfagaugsasg	838	CTCATCTGTGAGCTGAGGCCCTG	1108
AD-1423554	gsgscccuGfaCfUfCfagugaguauL96	569	asAfsuacUfcAfgUfgagUfcAfgggccsusc	839	GAGGCCCTGACTCACTGAGTATT	1109
AD-1423559	usgsacucAfcUfGfAfguauuuuuuL96	570	asCfsaaaAfaUfaAfcucaGfuGfagucasgsg	840	CCTGACTCACTGAGTATTTTGG	1110
AD-1423563	gsasgcagAfaGfAfaAfgagacuuL96	571	asAfsaugUfcUfCfcuucUfuCfugucscsc	841	GGGAGCAGAAGAAAGGAGACATTT	1111
AD-1423568	gsasagaaGfgAfgAfcuuuuuuuuL96	572	asAfsagAfaAfuUfgucuCfcUfucuuusug	842	CAGAAGAAGGAGACATTTCTCTC	1112
AD-1423574	gsgsagacAfuUfUfCfucuccgaaauL96	573	asUfsuucGfgAfgagaaAfuGfucuccsusu	843	AAGGAGACATTTCTCTCCGAAAA	1113
AD-1423581	ususucucUfcCfGfAfaaauuuuuL96	574	asAfsuguCfaUfuUfucugGfaGfagaasusg	844	CATTTCTCTCCGAAAAATGAACTC	1114
AD-1423586	csusccgaAfaAfuGfacaucacauL96	575	asUfsguuGfaGfUfucuuUfuUfuggagsasg	845	CTCTCCGAAAAATGAACTCAACAG	1115
AD-1423591	asasaauGafaCfUfCfaacaggccauL96	576	asUfsggcCfuGfUfugagUfuCfauuuuuscsg	846	CGAAAAATGAACTCAACAGGCCAC	1116
AD-1423596	gsasacucAfaCfaAfgfcccacuuL96	577	asGfsaagGfuGfGfcugUfuGfaguucsasuu	847	ATGAACTCAACAGGCCACCTTCA	1117
AD-1423603	ascasagcCfaCfCfUfucaggaugcuL96	578	asGfscuacUfcUfGfaaggUfgfucugusug	848	CAACAGGCCACCTTCAAGGATGCC	1118
AD-1423603	cscsaccuCfGfCfUfCfaugggccuuL96	579	asAfsuggAfcAfuUfgagCfGfaggggscsa	849	TGCCACCTCGCTCCATGTGCCTC	1119

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1423610						
AD-1423615	uscgcuCfaUfGfUfgccuacucuuL96	580	asGfsaguGfaGfGfcaUfGfagcgasgsg	850	CCTCGCTCCATGTGCCTCACTCA	1120
AD-1423622	asusguCfcUfCfaCfucacaggaauL96	581	asUfsuccUfGfUfGfagUfGfcaucusg	851	CCATGTGCCTCACTCAAGGAAG	1121
AD-1423627	cscsucUfcAfCfaFfggaagaaauL96	582	asUfsuucCfuUfCfcuguGfaGfugaggsca	852	TGCCTCACTCACAGGAAGGAAAC	1122
AD-1423635	ascsggaAfgGfAfafacagaccuuL96	583	asAfsnguGfUfGfuuucCfuUfccugusga	853	TCACAGGAAGGAAACAGCACCTC	1123
AD-1423640	asasggaAfcAfGfCfaccucucuuL96	584	asGfsagaGfaGfGfugcuGfuUfuccuusc	854	GGAAGGAAACAGCACCTCTCTCC	1124
AD-1423655	csuscuccAfgGfAfGfgnucaguuL96	585	asCfsugaAfgAfCfcucCfuGfagagsag	855	CTCTCTCCAGGAGGGTCTTCAGG	1125
AD-1423660	csasggaGfgUfcUfucaggauuuL96	586	asAfsganCfcUfGfaagaCfcUfccuggsa	856	TCCAGGAGGGTCTTCAGGATCTC	1126
AD-1423666	gsgsucuuCfaGfGfAfucuaucuuL96	587	asUfsggaUfgAfGfauccUfgAfagaccscu	857	AGGGTCTTCAGGATCTCATCCAC	1127
AD-1423671	uscsggaUfcUfcAfuccacacaguuL96	588	asCfsuguGfuGfGfauGaGfaUfccugasag	858	CTTCAGGATCTCATCCACACAGC	1128
AD-1423679	uscsauccAfcAfCfAfgcccuuuL96	589	asCfsaagGfuGfGfGfcuguGfuGfauagasga	859	TCTCATCCACACACAGCCACCTTGG	1129
AD-1423684	csascacaGfcCfAfCfcungugacuuL96	590	asGfsucaCfcAfAfggugGfcUfguguggsa	860	TCCACACAGCCACCTTGGTGACC	1130
AD-1423689	asgscacCfuUfGfGfugaccuuuuL96	591	asUfsacaGfUfCfaccuAfgGfugcugsgu	861	ACAGCCACCTTGGTGACCTGTAC	1131
AD-1423694	cscsunngUfgAfCfCfuguacuuuuL96	592	asAfsaaaGfuAfCfagguCfaCfaaggsug	862	CACCTTGGTGACCTGTACTTTTC	1132
AD-1423699	gsgsaccUfgUfAfCfuuuuuuuuuL96	593	asAfsguaGfaAfafaguaCfaGfugaccsca	863	TGGTGACCTGTACTTTTCTACTG	1133
AD-1423708	ascsunuuCfuAfCfUfgcggucuuuuL96	594	asAfsugaCfcGfCfcagnAfgAfaaguasasc	864	GTACTTTTCTACTGGCGGTCAATC	1134
AD-1423713	uscnuacuGfcCfGfGfucuuuuuuL96	595	asAfsгааGfaUfGfaccCfcAfguagasasa	865	TTTTACTGGCGGTCACTTCTG	1135
AD-1423722	gsgsucuuCfuUfCfUfgccugguuuuuL96	596	asAfsaccCfaGfGfcaGaAfgAfgaccgsgc	866	GCGGTCACTTCTGCTGGGTTC	1136

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1423822						
AD-1423827	usgsuccuUfcUfGfUfGaccuccuucuuL96	615	asGfsaagAfgGfUfcacaGfaAfggacassg	885	CCTGTCCCTTCTGTGACCTCTTCA	1155
AD-1423832	ususuguGfaCfcUfcumcauuuL96	616	asCfsaaaUfgAfaAfgaggUfcAfcagaassg	886	CCTTCTGTGACCTCTTCAATTTGT	1156
AD-1423838	gsasocucUfuCfaUfuugggaguuL96	617	asAfsucCfaCfaAfaugAfaGfaggucasac	887	GTGACCTCTTCAATTTGTGGAGTG	1157
AD-1423843	csusauUfuGfUfGfagagacaguL96	618	asCfsuguCfaCfUfcacAfaAfaugaasag	888	CTCTTCAATTTGTGGAGTGACAGC	1158
AD-1423846	csasuguUfcCfcUfuugguuuuL96	619	asAfsuaaCfaCfaAfaaggUfgAfacaugssg	889	CCCATGTTCAACCTTTTGTGTTATT	1159
AD-1423851	uscaccuUfuGfUfGfuuuuuuuL96	620	asGfsaagAfaUfaAfacacAfaAfggugasac	890	GTTCAACCTTTGTGTTATTCTTCA	1160
AD-1423856	ususugUfuAfuUfucuccuL96	621	asGfsagUfgAfaAfaaAfaCfacaassg	891	CCTTGTGTTATTCTTCACTCA	1161
AD-1423861	gsushuuCfuUfcfaAfgucagccauL96	622	asUfsggcUfgAfgfcugaAfgAfaaacsac	892	GTGTTATTCTTCACTCAGCCAG	1162
AD-1423870	csasgcncAfgCfcAfguaguuuuL96	623	asGfsgauAfcUfaAfcuggCfuGfagucgsasa	893	TTCAGCTCAGCCAGTAGTAJCCC	1163
AD-1423875	csasgccnGfuAfgUfauccggauuL96	624	asAfsuccGfgGfaAfuacuAfcUfggucgsasg	894	CTCAGCCAGTAGTATCCCAGGATG	1164
AD-1423882	usasguauCfcCfcGfGfauuuuuuL96	625	asAfsгааAfgCfaAfuaccGfgAfuacuasesu	895	AGTAGTATCCCAGGATGCTTCTG	1165
AD-1423887	uscscggAfuGfcUfucuccuL96	626	asGfsaagCfaGfaAfaagCfaAfcgaggasusa	896	TATCCCAGGATGCTTCTGCTTCA	1166
AD-1423892	gsasugcuUfuCfuGfucuccuuuL96	627	asAfsaagUfgAfaAfcagAfaAfgcaucssg	897	CGGATGCTTCTGCTTCACTTTC	1167
AD-1423897	ususucugCfuUfcfaAfcuuuL96	628	asGfsaagGfaAfaAfgugaAfgCfagaassg	898	GCTTCTGCTTCACTTCCATCT	1168
AD-1423906	csasccuuCfcAfuCfucaccaguuuL96	629	asAfsacuCfuUfgUfagauGfgAfaaggsasa	899	TTCACTTCCATCTCACCAGTTC	1169
AD-1423912	csasacuCfaCfcAfgucagguuL96	630	asAfsuccUfgAfaAfcuggUfgAfauggsasa	900	TTCATCTCACCAGTTCAGGCTT	1170
AD-1423917	uscaccaGfuUfcfaAfgguuuuuL96	631	asGfsaagAfaGfcCfugaAfcUfggugasgasa	901	TCTCACCAGTTCAGGCTTCACTCA	1171

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1423922	asgsnucaGfgCfuUfcaucaucauuL96	632	asAfsugaUfgAfuFgaagCfcUfgaacusgsg	902	CCAGTTTCAGGCTTCATCATCATG	1172
AD-1423927	asgsgcuuCfaUfCfAfucaugucucuL96	633	asGfsagaCfaUfGfaugaUfgAfgccusgsa	903	TCAGGCTTCAATCAATCATGTCTCT	1173
AD-1423932	uscnucaUfcAfUfGfucucugaaguL96	634	asCfsnucaAfgAfGfacauGfaUfgaugasasg	904	CTTCAATCATCATGTCTCTGAAGA	1174
AD-1423937	asuscaugUfcUfCfUfgaagacaguulL96	635	asAfsaugUfcUfUfcaugaGfaCfaugausgsa	905	TCATCAATGTCTCTGAAGACAGTG	1175
AD-1423943	uscnuugAfaGfAfCfaguggcaguuL96	636	asAfsaugCfcAfCfugucUfuCfagagascsa	906	TGTCTCTGAAGACAGTGGCAGTG	1176
AD-1423954	asgsnuggcAfgUfGfAfucgcccugcuL96	637	asGfscagGfgCfGfaucaCfuCfcaucusgsu	907	ACAGTGGCAGTGTGATCGCCCTGCA	1177
AD-1423969	csasccggCfuCfCfGfgauguguuL96	638	asAfsacaCfcAfUfccggAfgCfsgugscsa	908	TGCACCCGGCTCCGGGATGGIGTTG	1178
AD-1423977	ascasagccUfaAfUfCfGcagcggccuuL96	639	asAfsggcCfGfUfGfGfaUfaGfGfcugususu	909	AAACAGCCTAATCGCACGGCCCTC	1179
AD-1423982	csusaauCfcAfCfGfGccuccuuuL96	640	asAfsaagGfaGfGfcgUfGfGfaUfaGfGfaunagsgsc	910	GCCTAATCGCACGGCCCTCCTTTC	1180
AD-1423987	csgscacgGfcCfUfCfGcnuccuguuL96	641	asCfsaggGfaAfAfggagGfcCfGfGcgsasu	911	ATCGCACGGCCCTCCTTTCCTGTC	1181
AD-1423994	cscsuccUfuCfCfCfGfGcaccguauL96	642	asUfsacgGfuGfCfagggGfaAfggagsgsc	912	GGCCCTCCTTTCCTGACCCGTAC	1182
AD-1423999	ususscccUfgCfAfCfGcguaccuuL96	643	asAfsuggaGfuAfCfGfGgCfaGfGgaasgsg	913	CCTTTCCTGACCCGTACTCCTC	1183
AD-1424005	usgsaccGfuAfCfUfGcaccuuL96	644	asAfsuggUfgAfGfGfaUfaGfGfGcagsgsg	914	CCTGACCCGTACTCCTCACCCTG	1184
AD-1424013	ascsuccuCfaCfCfGfGcuccuuL96	645	asAfsagGfaGfCfagggUfgAfggagusc	915	GTACTCCTCACCCTGCTTCTCTG	1185
AD-1424020	ascscugCfuUfCfUfGfGgcccacuuL96	646	asGfsgggCfcAfAfgagaAfgCfagggusgsa	916	TCACCCCTGCTTCTCTGCGCCACC	1186
AD-1424026	csusnuucUfgGfGfCfGcaccaguuuL96	647	asAfsaacUfgGfUfGfGccCfaCfagagascsa	917	TGCTTCTCTGGGCCACCAGTTTC	1187
AD-1424031	csusgggcCfaCfCfAfgnuuaccuuL96	648	asGfsgguGfaAfAfcuggUfgGfcccagsasg	918	CTCTGGGCCACCAGTTTCACCCCT	1188
AD-1424037	csasccagUfuUfCfAfGcuccugccauL96	649	asUfsggcAfaGfGfGfaAfaCfuggugsgsc	919	GCCACCAGTTTCACCCCTTGCCAC	1189

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1424154	csgsacuuCfaCfCfUfucuguguuL96	667	asCfsaacAfcAfGfaaggUfgAfaugcgsasc	937	GTCGACTTCACCTTCTGTGTGTC	1207
AD-1424161	ascscuucUfgUfgUfgUfgucuguguuL96	668	asAfsccaCfaGfcfaacaCfaGfaagugsgsa	938	TCACCTTCTGTGTGTGCTGTGGTTC	1208
AD-1424169	usgsnugeUfgUfgUfgUfgucucuguuL96	669	asAfsagcAfgAfGfaccaCfaGfcaacacscsa	939	TGTGTGCTGTGGTCTCTGTCTC	1209
AD-1424175	usgsuuguCfuCfuGfucucuucauL96	670	asUfsguaAfgAfGfacagAfgAfccacacsgsc	940	GCTGTGGTCTCTGTCTCTTACAT	1210
AD-1424180	uscucugUfcUfcUfuaacaucauL96	671	asCfsaugAfuGfUfaagaGfaCfagagascsc	941	GGTCTGTGTCTCTTACATCATGA	1211
AD-1424188	uscnuacAfuCfaUfuaugcucauL96	672	asUfsagcCfaAfuCfaugAfuGfuaagsgsa	942	TCTCTTACATCATGATTGCTCAG	1212
AD-1424194	asusaugAfuUfgCfucagaccuuL96	673	asAfsaggUfcUfgfagcaAfuCfaugausgsu	943	ACATCATGATTGCTCAGACCCTG	1213
AD-1424207	asgsacceUfgCfGfGfaagaacguuL96	674	asAfsagcUfuCfufuccgCfaGfugucugsgsa	944	TCAGACCCTGCGGAAGAACGCTC	1214
AD-1424213	usgsoggaAfgAfaCfGcuaaguuL96	675	asGfsacuUfgAfgGfguuCfuUfccgacsgsg	945	CCTGCGGAAGAACGCTCAAGTCA	1215
AD-1424218	asasgaacGfcUfcAfafagucagaaauL96	676	asUfsuucUfgAfcfuugaGfcGfucuuuscsc	946	GGAAGAACGCTCAAGTCAAGAAAG	1216
AD-1424223	csgscucaAfgUfcAfafaagaugccuL96	677	asGfsagcCfuUfUfcugaCfuUfgagcggsusu	947	AACGCTCAAGTCAAGAAAGTGCCC	1217
AD-1424226	gsusaauCfaAfgUfGfuaugcuuL96	678	asGfsaagCfaUfcfgacuGfuGfuaucacsag	948	CTGTAATCACAGTCCGATGCTTCC	1218
AD-1424234	asgsucgaUfgCfuUfuccagaccuuL96	679	asGfsuugUfcUfgfagaagCfaUfcgacugsu	949	ACAGTCCGATGCTTCCAGACCACA	1219
AD-1424241	gscnuccAfgAfcCfGfacagccuuuL96	680	asAfsaagGfcUfgfugguCfuGfagaagcsasu	950	ATGCTTCCAGACCACAGCCCTTTC	1220
AD-1424246	csasgaccAfcAfgCfcuuuauuguuL96	681	asCfsauGfaAfaGfgguGfuGfugucugsgsa	951	TCCAGACCACAGCCCTTTCATGGG	1221
AD-1424265	gsusggagAfuCfcCfauccaguuL96	682	asAfsaacUfgGfaUfugguAfuCfuccacscsu	952	AGGTGGAGATCCCATCCAGTGTG	1222
AD-1424270	gsasucccAfuCfcAfgugugccuuL96	683	asAfsuagCfaCfaCfcuggAfuGfugaucscsc	953	GAGATCCCATCCAGTGTGCCATG	1223
AD-1424270	usgsccggCfuCfuGfuauggaacuL96	684	asGfsuucCfuAfuCfaagAfgCfcgagcasug	954	CATGCCGGCTCTGTATAGGAACC	1224

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1424289						
AD-1424294	gscnucgUfaUfaGfgaaccagaauL96	685	asUfsucuGfgUfUfccuaUfaCfagagcsosg	955	CGGCTCTGTATAGGAAACCAGAAAT	1225
AD-1424299	gsusauagGfaAfCfCfagaaaucauL96	686	asUfsguaAfuUfCfugguUfcCfuaucasag	956	CTGTATAGGAAACCAGAAATTACAA	1226
AD-1424305	gsasaccaGfaAfUfUfacaacaacuL96	687	asGfsuuuGfuUfGfuaauUfcUfgguuocsu	957	AGGAAACCAGAAATTACAAACAAACT	1227
AD-1424312	asasuacAfaCfaAfacugcagcauL96	688	asUfsgcuGfcAfGfuuugUfuGfuaauocsu	958	AGAAATTACAACAACAACCTGCAGCAC	1228
AD-1424318	asasaaaCfuGfCfAfgcacguucauL96	689	asUfsgaaCfgUfGfcugcAfgUfuuguusgsu	959	ACAACAACAACCTGCAGCACGTTTCAG	1229
AD-1424324	csusgcagCfaCfGfUfucagaccguL96	690	asCfsgggUfcUfGfuaagUfgCfugcagsusu	960	AACTGCAGCACGTTTCAGACCCCGT	1230
AD-1424330	csascguuCfaGfAfCfccgggaaauL96	691	asUfsauCfaCfGfggucUfgAfacugscsu	961	AGCACGTTTCAGACCCCGTGGATAT	1231
AD-1424336	csasgaccCfGfUfGfGfuaauaccauL96	692	asUfisuggUfaUfaUfuccaCfGfugucgsasa	962	TTCAGACCCCGTGGATATACCAAG	1232
AD-1424341	cscsuggAfuAfUfAfcfaagagacuL96	693	asGfsacuCfuUfGfguanAfuCfcaaggsgsu	963	ACCCGTGGATATACCAAGAGTCC	1233
AD-1424346	gsasuuaCfcAfAfGfagnuaccauL96	694	asGfsungGfgAfCfucuuGfgUfuaucscsa	964	TGGATATACCAAGAGTCCCAACC	1234
AD-1424351	ascsaagAfgUfCfcaaccaacuL96	695	asAfsuuuGfgUfUfgggaCfuCfuugguasusu	965	ATACCAAGAGTCCCAACCAACTG	1235
AD-1424357	asgsuuccAfaCfAfacuggnucacuL96	696	asGfsugaCfcAfGfuuugUfuGfaggacuscusu	966	AGAGTCCCAACCAACCAACTGGTCAACC	1236
AD-1424364	gscsaagcCfGfAfCfUfaccagucguuL96	697	asAfsccaGfcUfGfgagnCfGfucmgcsusug	967	CAGCAAGCCGACTCCAGCTCGTA	1237
AD-1424370	csgsacucCfaGfCfUfagauacagcuL96	698	asGfiscugAfuAfCfagagcUfgGfagnucgsgc	968	GCCGACTCCAGCTCGTATCAGCC	1238
AD-1424379	csuscguaUfcAfGfCfcaucaacuL96	699	asAfsugguUfgAfUfugguGfaUfacgagscsu	969	AGCTCGTATCAGCCATCAACCTC	1239
AD-1424387	asgsccauCfaAfCfCfucuccacugul96	700	asCfsagnGfgAfGfagguUfgAfuuggcuggsa	970	TCAGCCATCAACCTCTCCACTGC	1240
AD-1424392	uscsaaccUfcUfCfCfaguccaagul96	701	asCfsuugGfcAfGfuggaGfaGfuguuasusg	971	CATCAACCTCTCCACTGCCAAGG	1241

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1424397	csusuccAfcUfGfCfcaggauuL96	702	asGfsauCfcUfUfggcaGfuGfgagagsgsu	972	ACCTCTCCACTGCCAAGGATTCC	1242
AD-1424405	usgscaaGfgAfUfUfcaagccguL96	703	asCfsggeUfuUfGfgauCfcUfuggcasgsu	973	ACTGCCAAGGATTCCAAAGCCGT	1243
AD-1424412	gsasnuccAfaAfGfCfcggucacul96	704	asGfsugaCfcAfCfggcuUfuGfgauucscsu	974	AGGATTCCAAAGCCGTGGTCAACC	1244
AD-1424418	asasagccGfuGfUfCfaccuguuL96	705	asAfscaAfgGfUfgaccAfcGfguuusgsg	975	CCAAAGCCGTGGTCAACCCTGTGTG	1245
AD-1424425	usgsnucaCfcUfGfUfGfaucauuL96	706	asAfsaugAfuCfaAfcacaGfgUfgaccasg	976	CGTGGTCAACCCTGTGTGATCATTTG	1246
AD-1424430	ascscuguGfuGfAfUfcauugucmL96	707	asAfsucaCfaAfUfgaucAfcAfcagugsga	977	TCACCTGTGTGATCATTTGTGCTG	1247
AD-1424436	gsusgaucAfuUfGfUfGfucaguuL96	708	asAfsucgAfcAfGfcacaAfuGfaucacsasc	978	GfGTGATCATTTGTGTGCTGTGAGTC	1248
AD-1424445	gsusgcugUfcAfGfUfGfucgguguuL96	709	asCfsacaCfcAfGfgacuGfaCfagcacsasa	979	TTGTGCTGTCAAGTCCCTGGTGTGTC	1249
AD-1424451	uscsagucCfuGfUfGfucugucmL96	710	asAfsagacAfgCfaAfcaccAfgGfucgascasa	980	TGTCAGTCCCTGGTGTGTGCTGTGCTT	1250
AD-1424457	csusggugUfGfUfGfucuccacuL96	711	asAfsugugGfaAfGfagCfaCfaccagsgsa	981	TCCTGGTGTGTGCTGTCTTCCACTG	1251
AD-1424464	ususuccuUfGfUfAfcagguguuL96	712	asAfsaccAfcCfUfguacCfaAfggaaususc	982	GATTTCCITGGTACAGGTTGGTTC	1252
AD-1424469	ususgguacfaGfUfGfucucucuL96	713	asGfsagaGfaAfCfaccUfgUfaccasgsg	983	CCTTGGTACAGGTTGGTTCCTCTCC	1253
AD-1424478	gsusgguCfuCfUfCfcagcaanguL96	714	asCfscauUfgCfUfgagAfgAfaceacsesu	984	AGGTGGTTCTCTCCAGCAATGGG	1254
AD-1424485	uscsuccaGfcAfAfUfGfgagcuuL96	715	asGfsaagCfuCfcauuGfcUfGfgagsgsa	985	TCTCTCCAGCAATGGGAGCTTCA	1255
AD-1424493	asasnggAfgCfUfUfcauucuuuL96	716	asUfsaaaGfaAfUfgaagCfuCfcauusgsc	986	GCAATGGGAGCTTCACTTCTTAC	1256
AD-1424502	ususcauuCfuUfUfAfccaguuuL96	717	asUfscaaaCfcUfGfguaaAfgAfaugaasgsc	987	GCTTCACTTCTTACCAGTTTGAA	1257
AD-1424508	csusnuacCfaGfUfUfugaanguuL96	718	asAfsacaAfuUfCfaaacUfgGfuaaagsasa	988	TTCTTTACCAGTTTGAATTTGTTT	1258
AD-1424515	csasgmuGfaAfUfUfGfuuuL96	719	asAfsaucCfaAfAfaaaUfCfaacugsgsu	989	ACCAGTTTGAATTTGTGGATTT	1259

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1424632	asgsacucGfaCfUfUfcgagccaugL96	737	asCfsaugGfcUfCf'gaagUfcGfagucususu	1007	AAAGACTCGACTTCGAGCCATGG	1277
AD-1424638	gsasucucGfaGfCfCfaugggaaauL96	738	asUfsuuuCfcCfAfu'ggcUfcGfaugcgsa	1008	TCGACTTCGAGCCATGGGAAAAG	1278
AD-1424643	csagsaccAfuGfGfGfaaaagggaauL96	739	asUfsuccCfuUfUfucccAfuGf'gencgsasa	1009	TTCGAGCCATGGGAAAAGGGAAC	1279
AD-1424648	csasugggAfaAfaAfgfgaaccucguL96	740	asCfsgagGfuUfCfccuuUfuCf'caugsgsc	1010	GCCATGGGAAAAGGGAACCTCGA	1280
AD-1424655	asasaggAfaCfCfUfcgaagucuuL96	741	asUfsugaCfuUfCf'gaggUfuCf'ccuuususc	1011	GAAAAGGGAACCTCGAAGTCAAC	1281
AD-1424661	asasccucGfaAfgfUfcaacagaaauL96	742	asUfsuucUfgUfUf'gacuUfcGf'agguuscsc	1012	GGAACTCGAAGTCAACACAGAAAC	1282
AD-1424667	gsasagucAfaCfaAfgfaaacaaucul96	743	asGfsauuUfgUfUf'ucugUfuGf'acucsgsa	1013	TCGAAAGTCAACAGAAAACAATCC	1283
AD-1424672	csasacagAfaAfcAfaaaccuccuL96	744	asGfsggaGfgAfu'fuuuUfuCf'uguug'sasc	1014	GTC AACAGAAAACAATCCTCCCA	1284
AD-1424678	asasacaaAfuCfCfUf'cccaucguL96	745	asCf'saugAfuGfGf'gaggAfuUf'uguuiscsu	1015	AGAAACAATACTCCTCCATCATGA	1285
AD-1424684	asusccucCfcAfuCf'faugaacaaauL96	746	asUfsuquUfuCfAfu'gauGfgGf'aggaususu	1016	AAATCCTCCCATCATGAAACAAA	1286
AD-1424689	csascaucAfuGfAfaAfaaacucuuL96	747	asAfsaggUfuUfGf'uuucAfuGf'augggsasg	1017	CTCCCATCATGAAACAACAACTCTG	1287
AD-1424695	asusgaaaCfaAfaCf'ucugccuacul96	748	asGf'suagGfcAfgf'aguuUfgUf'uucauggsa	1018	TCATGAAAACAACAACTCTGCCTACA	1288
AD-1424704	ascsucugCfcUfaAfcfauguaucuuL96	749	asAfsagAfaCfaAfu'guaGfgCf'agagususu	1019	AAACTCTGCCATACATGTTATCTC	1289
AD-1424709	gscscuacAfuGfUf'faucuccaaauL96	750	asUfsuuuGfaGfa'uaacAfuGf'uauggsasg	1020	CTGCCATACATGTTATCTCCAAAAG	1290
AD-1424714	csasanguuAfuCfUf'cfaaaggccacul96	751	asGf'suggCfuUfUf'gagAfuAfa'caug'susa	1021	TACATGTTATCTCCAAAAGCCACA	1291
AD-1424723	uscscaaaGfcCfaAfcf'agaaagaaauL96	752	asAfsuuuUfuUf'cugugGfcUf'uauggsa	1022	TCTCCAAAAGCCACAGAAAGAAATT	1292
AD-1424728	asgsccacAfgAfaAfgfaaaauugul96	753	asCf'sacaAfaUf'ucuuCfuGf'uggcususu	1023	AAAGCCACAGAAAGAAATTGTGG	1293
AD-1424734	csasgaagAfaAfuUf'uguggaccuL96	754	asUf'sggUfcAfcfa'aaUfuCf'uuucg'susg	1024	CACAGAAAGAAATTGTGGACCAG	1294

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1424733						
AD-1424738	gsasaauUfgUfGfGfaccaggcuuL96	755	asAfsagcCfuGfGfuccaCfaAfauuususu	1025	AAGAAATTTGTGGACCAGGCTTG	1295
AD-1424749	ascscaggCfuUfGfUfggcccaaguL96	756	asAfsuunGfGfCfcaCaAfcGfcugusesc	1026	GGACCAGGCTTGTGGCCCCAAGTC	1296
AD-1424757	usgsuggcCfcAfaGfGfuccaucaauL96	757	asUfsuugAfaUfGfaccuUfGfGfccacasag	1027	CTTGTGGCCCCAAGTCATTCAAAA	1297
AD-1424762	csascaagUfcAfuUfUfcaaaagaaauL96	758	asUfsuucUfuUfUfGfaauGfaCfuugggscsc	1028	GGCCCCAAGTCATTCAAAAAGAAAG	1298
AD-1424769	csasnucaAfaAfaGfAfaaguuagguL96	759	asAfsccaUfaCfuUfucnuUfuUfGaaugsasc	1029	GTCATTCAAAAAGAAAGTATGGTGTG	1299
AD-1424774	asasaagaAfaGfUfAfuugguagucuuL96	760	asGfsacuCfaCfCfaucUfuUfuuuuusgsa	1030	TCAAAAAGAAAGTATGGTGTGAGTCC	1300
AD-1424781	asgsuauGfuGfAfgfucccaagaauL96	761	asAfsuucUfgGfGfaccAfcCfaucustusu	1031	AAAGTATGGTGTGAGTCCCAAGATC	1301
AD-1424788	usgsagucCfcAfaGfGfauucugcuL96	762	asAfsgeaGfaGfaGfucuuGfGfGfaccascsc	1032	GGTGAGTCCCAAGATCTCTGTGCTG	1302
AD-1424793	csascaagAfuCfuUfCfugugagacuL96	763	asUfsgucCfaGfCfagagAfuCfuugggsasc	1033	GTCCCAAGATCTCTGTGCTGGACAT	1303
AD-1424798	gsasucucUfgCfuUfGfgacaucaacuL96	764	asGfsuugAfuGfUfGfcagCfaGfagaucsusu	1034	AAGATCTCTGTGCTGGACATCAACA	1304
AD-1424803	csusgcugGfaCfaUfcaacacuguuL96	765	asAfscaGufGufUfGfaugUfcGfagcagsag	1035	CTCTGTGCTGGACATCAACACTGTG	1305
AD-1424809	gsascaucAfaCfaCfCfugugucaguL96	766	asCfsugaCfcAfcfagugUfuGfaugucscsa	1036	TGGACATCAACACTGTGCTGGTCCAGA	1306
AD-1424816	ascscacugUfgGfUfCfagagcagcuL96	767	asAfsgeuGfcUfCfugacCfaCfagugusug	1037	CAACACTGTGCTGGTCCAGAGCAGCTC	1307
AD-1424825	csasacacUfcGfGfAfuugaacuuuL96	768	asAfsagUfuCfaAfaucGfGfugugsasu	1038	ATCAACACTCGGATTGAACCTTA	1308
AD-1424830	csuscggaUfuGfaAfafcuuuacuL96	769	asGfsuagUfaAfaGfGfuucafaUfccgagsug	1039	CACTCGGATTGAACCTTACTACA	1309
AD-1424836	ususgaacCfuUfaAfcfuacagcauL96	770	asGfsaugCfuGfUfaguaAfgGfuucaasusc	1040	GATTGAACCTTACTACAGCATCT	1310
AD-1424841	cscsnuacUfaCfaGfcaucuaauuL96	771	asUfsuauAfgAfuUfGfcugUfaGfuaaggssusu	1041	AACCTTACTACAGCATCTATAAC	1311

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1424846	csusacgCfaUfcUfauaacagcauL96	772	asUfsgcuGfuUfaFuagaUfgCfuguaugsusa	1042	TACTACAGCATCTATAACAGCAG	1312
AD-1424852	csasucuaUfaAfcAfgcagcccuuL96	773	asAfsaggGfcUfgfcuguUfaUfagaugscsu	1043	AGCAICTATAACAGCAGCCCCTTC	1313
AD-1424880	gsasagacAfgCfcCfauguaacuuL96	774	asAfsaguUfaCfaFugggCfuGfcucucscsu	1044	AGGAGAGCAGCCCATGTAACTTA	1314
AD-1424885	csasgcccAfuGfUfaFacuuacagcuL96	775	asGfscugUfaAfgFuuaacAfuGfggcugscsu	1045	AGCAGCCCATGTAACTTACAGCC	1315
AD-1424891	asusguaaCfuUfaAfcFagccagauL96	776	asUfsuacUfgGfcfuguaAfgUfuacaugsg	1046	CCATGTAACTTACAGCCAGTAAA	1316
AD-1424897	csusuacaGfcCfaGfuuaacuuL96	777	asAfsagaGfuUfUfacugGfcUfguaagsusu	1047	AACTTACAGCCAGTAAACTCITT	1317
AD-1424904	csesaguaAfaCfUfcfuuuugcauuL96	778	asAfsaucCfaAfaFagagUfuUfacugscsu	1048	AGCCAGTAAACTCITTTGGATT	1318
AD-1424911	asesucuuUfuGfGfaFuuuugcauuL96	779	asAfsuugGfcAfaFauccAfaAfaFagagususu	1049	AAACTCITTTGGATTGGCCAATT	1319
AD-1424920	gsasuuugCfcAfaUfucuaauuuL96	780	asAfsauaUfaUfGfaauUGfcCfaauccsa	1050	TGGATTGGCCAATTCAATATTG	1320
AD-1424929	asusucuuAfuAfuUfGcfaugcauuL96	781	asAfsugcAfuGfGfcauuAfuAfuagausug	1051	CAATTCAATATTGGCCATGCATT	1321
AD-1424935	asusauugCfcAfuGfcauuacacuL96	782	asGfsugaUfaAfuUfgcauGfcCfaauuasasu	1052	ATATATTGCCATGCATTATCACA	1322
AD-1424943	asusgcauUfaUfcAfcaccacuaauL96	783	asUfsuagUfgGfUfugaUfaUfugaugsg	1053	CCATGCATTATCACACCACCTAAT	1323
AD-1424949	usasucacAfcCfaCfuuaugacuuL96	784	asAfsaguCfaUfUfagugGfuGfugaauasasu	1054	ATTATCACACCACCTAATGACTTA	1324
AD-1424954	csasccacUfaAfuGfcauuagucuuL96	785	asGfscacUfaAfgfucuuUfaGfuggugsg	1055	CACACCACCTAATGACTTAGTGCA	1325
AD-1424961	asasugacUfuAfgUfGfcaggaaauL96	786	asUfsauuUfcUfgfcauuAfaGfucuausag	1056	CTAATGACTTAGTGCCAGGAATAT	1326
AD-1424967	ususagugCfaGfGfaauaugacaguL96	787	asCfsuugCfaUfaFuuccUfgCfacuaasgsu	1057	ACTTAGTGCCAGGAATATGACAGC	1327
AD-1424972	gscsaggaAfuAfuUfGfacagacuuL96	788	asAfsaguGfcUfgfucuuAfuUfcucgcsasc	1058	GTGCAGGAATATGACAGCACTTC	1328
AD-1424977	usasugacAfgCfaCfuuaugcccauuL96	789	asUfsugcCfuGfaFagugCfuGfucuaususu	1059	AATATGACAGCACTTCAGCCAAG	1329

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1424979						
AD-1424987	csascuucAfgCfCfAfaagcagauucL96	790	asGfsaauCfuGfCfuggCfuGfaauggsesu	1060	AGCACTTCAGCCCAAGCAGATTCC	1330
AD-1424992	csasgccaAfgCfAfgfauccagucL96	791	asGfsacuGfgAfaAfcucgCfuUfggcujsasa	1061	TTCAGCCCAAGCAGATTCCAGTCC	1331
AD-1424994	csusccguUfuAfaAfaAfguauaggauL96	792	asCfsuccAfuGfaAfcuumAfaAfcggagsgsg	1062	CCCTCCGTTTTAAAGTCATGGAGG	1332
AD-1425002	asasagucAfuGfGfAfggcuauaggul96	793	asCfscuaUfaGfCfuccAfuGfacuumusasa	1063	TTAAAAGTCATGGAGGCTATATAGGA	1333
AD-1425010	gsgsaggcUfaUfaAfgfaucuuuauL96	794	asCfsauaAfgAfuAfcuaUfaGfucccsasu	1064	ATGGAGGCTATAGGATCTTATGT	1334
AD-1425015	csusauagGfaUfCfUfuauuuaaauL96	795	asGfsuumAfcAfuAfaagaUfcfuauagscsc	1065	GGCTATAGGATCTTATGTAAACA	1335
AD-1425020	gsgsauuUfaUfGfUfaaacaguuuuL96	796	asAfsaacUfgUfuuaaUfaAfgauccsusa	1066	TAGGATCTTATGTAAACAGTTTT	1336
AD-1425031	asasacagUfuUfuUfguuncugauL96	797	asAfsucaGfaAfaAfcAAAfaCfuguumisasc	1067	GTAAACAGTTTTTTGTTTCTGATA	1337
AD-1425036	gssuuuuUfuUfCfUfguauuauL96	798	asUfsuacUfaUfCfagaaAfaAfaaacusug	1068	CAGTTTTTGTCTCTGATAGTAAT	1338
AD-1425041	usgsuuucUfgAfuAfguauaggacuL96	799	asGfsuccAfuUfaAfcuuuAfaAfaaacasasa	1069	TTTTGTTTCTGATAGTAATGGACT	1339
AD-1425046	csusganaGfuAfaUfggacuuuuuL96	800	asAfsuaaAfgUfCfaauuAfcUfaucagsasa	1070	TTCTGATAGTAATGGACTTTAAT	1340
AD-1425054	asasuggaCfuUfuAfuuaacuumL96	801	asAfsaguUfaGfaAfaaaAfgUfccauusasc	1071	GTAATGGACTTTTATTCTAACTTG	1341
AD-1425061	ususuuuuCfuAfaAfcfuugaucauL96	802	asUfsgauCfuCfaAfaAfaAfaaaagsu	1072	ACTTTATTCTAACTTGAGATCAG	1342
AD-1425066	uscuaacUfuGfaAfgfaucaguggcuL96	803	asGfsccaCfuGfaAfuucAfaAfgfmuagasaki	1073	ATTCTAACTTGAGATCAGTGGCG	1343
AD-1425074	gsasgaucAfgUfGfGfggaucuuuL96	804	asUfsuugAfuCfCfsgcaCfuGfaucucsasa	1074	TTGAGATCAGTGGCGGATCAAAA	1344
AD-1425079	csasguggCfGfAfuAfaaaacuuuL96	805	asUfsaggUfuUfUfgaucCfGfcaucagsasu	1075	ATCAGTGGCGGATCAAAAACCTAC	1345
AD-1425086	gsgsaucaAfaAfcCfuuaaaguuuL96	806	asAfsaucUfuGfUfagguUfuUfgaucsgsc	1076	GCGGATCAAAAACCTACAAGATTC	1346

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1425091	asasaaccUfaCfaAfaAfgaaucaacuL96	807	asAfsgruGfaAfuUfcuugUfaGfguuuuugssa	1077	TCAAAAACCTACAAGATTCAACTG	1347
AD-1425096	csusacaaGfaUfuCfaacugaaaauL96	808	asUfsuuCfaGfuUfugaaUfcUfugaugssu	1078	ACCLACAAGATTCAACTGAAAAG	1348
AD-1425101	asgsauucAfaCfuUfgfaaagugguL96	809	asCfscaaCfuUfuUfucagUfuGfaaucusug	1079	CAAGATTCAACTGAAAAGTTGGC	1349
AD-1425107	asascugaAfaAfgUfuggcaguuauL96	810	asUfsaacUfgCfcaacuUfuUfcaguugssa	1080	TCAACTGAAAAGTTGGCAGTTAT	1350
AD-1425113	asasaguuGfgCfaGfuuaugguuuL96	811	asAfsaacCfaUfaAfacugCfcAfacuuususc	1081	GAAAAGTTGGCAGTTAIGGTTTT	1351
AD-1425118	usggcagUfuAfuUfgfuuuuuuuuL96	812	asAfsaagAfaAfaAfcacuuAfaCfugccasasc	1082	GTGGCAGTTAIGGTTTTCTTTC	1352
AD-1425123	gsusauugGfuUfuUfcuuuauuuL96	813	asAfsaguuGfaAfaAfgaaaAfcCfauaacsug	1083	CAGTTAIGGTTTTCTTTCATCTG	1353
AD-1425132	ususuuuCfaUfcUfugauguucauL96	814	asUfsgacAfcAfuUfcagaUfgAfaagaasasa	1084	TTTTCTTTCATCTGATGTGTGTCAG	1354
AD-1425138	csasucugAfuGfuUfgfucaguuuuL96	815	asAfsgruAfcUfgfacacAfuCfagaugsasa	1085	TTCATCTGATGTGTGTCAGTATCTG	1355
AD-1425144	asusuguuCfaGfuUfucuguuuuL96	816	asAfsucaAfcAfgfaucUfgAfcacaussa	1086	TGATGTGTGTCAGTATCTGTTGATT	1356
AD-1425150	csasgnauCfuGfuUfugaunuuuuL96	817	asAfsagcAfaAfuUfcaacAfgAfuacugsasc	1087	GTCAGTATCTGTTGATTGCTTTT	1357
AD-1425158	gsusugauUfuGfcUfuuuuguuuuL96	818	asAfsaacUfaCfaAfaagcAfaAfucaacsasg	1088	CTGTTGATTGCTTTGTTGATTG	1358
AD-1425165	gscsuuugUfaGfuUfufuuuugacuuL96	819	asAfsuguCfaAfcfaaacUfaCfaaagcsasa	1089	TTGCTTTGTTAGTTTGTGACATC	1359
AD-1425170	gsusaguuUfgUfuUfgfacuuuuuuL96	820	asUfsuaaGfaUfgfucuaaCfaAfacuacsasa	1090	TTGTAGTTTGTGTTGACATCTTAAG	1360
AD-1425175	ususguugAfcAfuUfcfuuaaguuuuL96	821	asAfsaacCfuUfaAfaaguuGfuCfaacaasasc	1091	GTTTGTGACATCTTAAGATTG	1361
AD-1425180	gsascaucUfuAfaAfgfauuuuguuL96	822	asAfscauCfaAfaAfuuuuAfaGfaugucsasa	1092	TTGACATCTTAAGATTGATGTG	1362
AD-1425186	ususaaagaUfuUfgAfaAfuugaaguuL96	823	asAfscauUfcAfcfaucAfaUfcuuuaasgasa	1093	TCCTTAAGATTTGTGATGTGAAAAGTT	1363
AD-1425186	ususugauGfuGfaAfaAfguuuuuaguuL96	824	asUfscuaAfaAfcfuuuuAfcAfucaaaususc	1094	GATTTGATGTGAAAAGTTTAGAT	1364

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425192						

表 4. 未修飾之正義及反義股 GPR75 dsRNA 序列

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1425210	AUGGCGAUGAUGCCUCUAGUC	15	GACUAGAGGCAUCAUCGCCAUCG	285	285	38	60
AD-1425217	UGAUGCCUCUAGUCCUGCAUC	16	GAUGCAGGACUAGAGGCAUCAUC	286	286	45	67
AD-1425222	CCUCUAGUCCUGCAUCAUCCA	17	UGGAUGAUGCAGGACUAGAGGCA	287	287	50	72
AD-1425228	GUCCUGCAUCAUCCAGAGCGG	18	CCGCUCUGGAUGAUGCAGGACUA	288	288	56	78
AD-1425243	C CGGACUGGAGAUUGGAGGAG	19	CUCUCCAUUCGCAGUCCGGAC	289	289	93	115
AD-1425251	CACCGGCAGGCUUAUCUGUC	20	GACAGUAAGCCUGCCGGUGGC	290	290	129	151
AD-1425256	GGCAGGCUUAUCUGUCUUGGG	21	CCCAAGACAGUAAGCCUGCCGG	291	291	134	156
AD-1425265	AUCUGUCUUGGCCUCUUCUUG	22	CAAAAGAGGCCAAAGACAGAUAA	292	292	143	165
AD-1425270	UCUUGGCCUCUUCUUGUCACA	23	UGUGACAAAGAGGCCCAAGACA	293	293	148	170
AD-1425275	GGCCUCUUCUUGUCACAUUUG	24	CAUAUGUGACAAAGAGGCCCA	294	294	153	175
AD-1425281	UUUUGUCACAUUUGCUCauc	25	GAUGACAAUUGUGACAAAAGA	295	295	159	181
AD-1425287	CACAUUUGCUCaucUGUGAG	26	CUCACAGAUAGGCAUAUUGAGC	296	296	165	187
AD-1425292	AUUGCUCaucUGUGAGCUGAG	27	CUCAGCUCACAGAUAGGCAUAU	297	297	170	192
AD-1425298	CAUCUGUGAGCUGAGGCCUCUG	28	CAGGCCUCACGCUCACAGAUAG	298	298	176	198
AD-1425312	GGCCUGACUCACUCAGUAUU	29	AAUACUCAGUGAGUCAGGCCUC	299	299	190	212
AD-1425317	UGACUCACUCAGUAUUUUUGG	30	CCAAAUAUCUCAGUGAGUCAGG	300	300	195	217
AD-1425321	GAGCAGAAGAGGAGACAUUU	31	AAUUGUCUCUCUCUCUCUCCC	301	301	217	239
AD-1425326	GAAGAAGGAGACAUUCUCUC	32	GAGAGAAUUGUCUCUCUCUCUG	302	302	222	244
AD-1425332	GGAGACAUUCUCUCGAAA	33	UUUCCGGAGAGAAUUGUCUCUU	303	303	228	250
AD-1425339	UUUCUCGGAUUUGAACUC	34	GAGUUCAUUUCCGGAGAGAAU	304	304	235	257
AD-1425344	CUCCGAAAUGAACUCAACAG	35	CUGUUGAGUUCAUUUCCGGAG	305	305	240	262
AD-1425349	AAAUGAACUCAACAGGCCAC	36	GUGGCCUGUUGAGUUCAUUUUCG	306	306	245	267
AD-1425354	GAACUCAACAGGCCACCUUCA	37	UGAAGGUGGCCUGUUGAGUUCAU	307	307	250	272
AD-1425361	ACAGGCCACCUUCAGGAUGCC	38	GGCAUCCUGAAGGUGGCCUUGU	308	308	257	279
AD-1425368	CCACCUCCUCCAUUGGCCUC	39	GAGGCACAUUGGAGCGGUGGCA	309	309	285	307
AD-1425373	UCGCUCCAUGUGCCUCACUCA	40	UGAGUGAGGCACAUUGGAGCGG	310	310	290	312

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM 006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM 006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1425380	AUGUGCCUCACUCACAGGAAG	41	CUUCCUGUGAGUGAGGCACAUGG	311	297	319
AD-1425385	CCUCACUCACAGGAAGAAAC	42	GUUUCCUCCUGUGAGUGAGGCA	312	302	324
AD-1425393	ACAGGAAGAAACAGCACCCUC	43	GAGGUGCUGUUUCCUCCUGUGA	313	310	332
AD-1425398	AAGGAAACAGCACCCUCUCUC	44	GGAGAGAGGUGCUGUUUCCUCC	314	315	337
AD-1425413	CUCUCCAGGAGGUCUUCAGG	45	CCUGAAGACCCUCCUGGAGAGAG	315	330	352
AD-1425418	CAGGAGGUCUUCAGGAUCUC	46	GAGAUCCUGAAGACCCUCCUGGA	316	335	357
AD-1425424	GGUCUUCAGGAUCUCAUCCAC	47	GUGGAUGAGAUCCUGAAGACCCU	317	341	363
AD-1425429	UCAGGAUCUCAUCCACACAGC	48	GCUGUGGAGAUCCUGAAG	318	346	368
AD-1425437	UCAUCCACACAGCCACCUUGG	49	CCAAGGUGGCUGUGGAGAGAGA	319	354	376
AD-1425442	CACACAGCCACCUUGGACCC	50	GGUCACCAAGGUGGCUGUGGGA	320	359	381
AD-1425447	AGCCACCUUGGACCCUGUAC	51	GUACAGGUCACCAAGGUGGCUGU	321	364	386
AD-1425452	CCUUGGACCCUGUACUUUUC	52	GAAAAGUACAGGUCACCAAGGUG	322	369	391
AD-1425457	GUGACCCUGUACUUUUCUACUG	53	CAGUAGAAAAGUACAGGUCACCA	323	374	396
AD-1425466	ACUUUUCUACUGGCGGUCUAC	54	GAUGACCCGACGUAAGAAAAGUAC	324	383	405
AD-1425471	UCUACUGGCGGUCUUCUCUG	55	CAGAAAGUACCCGACGUAAGAAA	325	388	410
AD-1425480	GGUCAUCUUCGCGGUGGUC	56	GAACCCAGGCAGAAAGUACCCGC	326	397	419
AD-1425487	UUCUGCCUGGUCUUCUUAUGGC	57	GCCAUAGGAACCCAGGCAGAAGA	327	404	426
AD-1425492	CCUGGGUUCUUAUGGCAACUU	58	AAGUUGCCAUAGGAACCCAGGCA	328	409	431
AD-1425497	GUUCCUAUGGCAACUUCUAUUG	59	CAUUGAAGUUGCCAUAGGAACCC	329	414	436
AD-1425502	UAUGGCAACUUCUAUUGUCUUC	60	GAAGACAUAUAGAUUGCCAUAGG	330	419	441
AD-1425507	CAACUUCUAUUGUCUUCUUGUC	61	GACAAAGAAGACAUAUAGAUUGCC	331	424	446
AD-1425512	UCAUUGUCUUCUUGUCCUUCU	62	AGAAAGGACAAGAAAGACAUAUAG	332	429	451
AD-1425515	GUCUUCUUGUCCUUCUUCGUAU	63	AUCGAAAGAAAGGACAAGAAAGCAA	333	434	456
AD-1425520	CUUGUCCUUCUUCGUAUCCAGC	64	GCUGGAUCGAAAGAAAGGACAAGAA	334	439	461
AD-1425525	CCUUCUUCGUAUCCAGCCUUCA	65	UGAAGGCUGGAUCCGAAAGGAC	335	444	466
AD-1425533	GAUCCAGCCUUCAGGAAAUUC	66	GAAUUCUUGAAGGCGUGGUAUCGA	336	452	474
AD-1425538	AGCCUUCAGGAAAUUCAGAAC	67	GUUCUGAAUUCUUGAAGGCGUGG	337	457	479
AD-1425543	UCAGGAAAUUCAGAACCAACU	68	AGUUGGUUCUGAAUUCUUGAAG	338	462	484
AD-1425550	AUUCAGAACCAACUUGAUUUU	69	AAAUCAAAGUUGGUUCUGAAUUU	339	469	491
AD-1425556	AACCAACUUGAUUUUCAUGAU	70	AUCAUGAAAUCAAAAGUUUGUUUCU	340	475	497
AD-1425563	UUUGAUUUCAUGAUCCUGAAC	71	GUUCAGGAUCAUGAAAUCAAAAGU	341	482	504
AD-1425569	UUCAUGAUCCUGAACCCUGUCC	72	GGACAGGUUCAGGAUCAUGAAAU	342	488	510
AD-1425574	GAUCCUGAACCCUGUCCUUCUG	73	CAGAAAGGACAGGUUCAGGAUCAU	343	493	515
AD-1425580	GAACCCUGUCCUUCUGUGACCU	74	AGGUCACAGAAGGACAGGUUCAG	344	499	521

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM 006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM 006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1425585	UGUCCUUCUGUGACCUCUUCUA	75	UGAAGAGGUCACAGAAGGACAGG	345	504	526
AD-1425590	UUCUGUGACCUCUUCUAUUGU	76	ACAAAUAGAAGAGGUCACAGAAGG	346	509	531
AD-1425596	GACCUCUUCUAUUGUGGAGUG	77	CACUCCACAAAUAGAGGUCAC	347	515	537
AD-1425601	CUUCAUUUGUGGAGUGACAGC	78	GCUGUCACUCCACAAAUAGAG	348	520	542
AD-1425604	CAUUCACCCUUUGUGUUAU	79	AAUAAACACAAAGGUAACAUGG	349	544	566
AD-1425609	UCACCUUUGUGUUAUUCUUCUA	80	UGAAGAUAACACAAAGGUGAAC	350	549	571
AD-1425614	UUUGUGUUAUUCUUCAGCUCA	81	UGAGCUGAAGAUAACACAAAGG	351	554	576
AD-1425619	GUUAUUCUUCAGCUCAGCCAG	82	CUGGCUGAGCUGAAGAAUAAACAC	352	559	581
AD-1425628	CAGCUCAGCCAGUAGUAUCCC	83	GGGAUACUACUGGCUGAGCUGAA	353	568	590
AD-1425633	CAGCCAGUAGUAUCCCGGAUG	84	CAUCCGGGAUACUACUGGCUGAG	354	573	595
AD-1425640	UAGUAUCCCGGAUGCUUUCUG	85	CAGAAAGCAUCCGGGAUACUACU	355	580	602
AD-1425645	UCCCGGAUGCUUUCUGCUUCA	86	UGAAGCAGAAAGCAUCCGGGAUA	356	585	607
AD-1425650	GAUGCUUUCUGCUUCACUUC	87	GAAAGUGAAGCAGAAAGCAUCCG	357	590	612
AD-1425655	UUUCUGUUCACUUCUCCAUUC	88	AGAUGGAAAGUGAAGCAGAAAGC	358	595	617
AD-1425664	CACUUCCAUCUCACCCAGUUC	89	GAACUGGUGAGAUUGGAAAGUGAA	359	604	626
AD-1425670	CCAUCUACCAGUUCAGGCUU	90	AAGCCUGAACUGGUGAGAUUGGAA	360	610	632
AD-1425675	UCACCAGUUCAGGCUUCAUCA	91	UGAUGAAGCCUGAACUUGGUGAGA	361	615	637
AD-1425680	AGUUCAGGCUUCAUCAUCAUG	92	CAUGAUGAUGAAGCCUUGAACUUG	362	620	642
AD-1425685	AGGCUUCAUCAUCAUGUCUCU	93	AGAGACAUGAUGAUGAAGCCUUGA	363	625	647
AD-1425690	UCAUCAUCAUGUCUCUGAAGA	94	UCUUCAGAGACAUGAUGAUGAAG	364	630	652
AD-1425695	AUCAUGUCUCUGAAGACAGUG	95	CACUGUCUUCAGAGACAUGAUGA	365	635	657
AD-1425701	UCUCUGAAGACAGUGGCAGUG	96	CACUGCCACUUCUUCACAGAGACA	366	641	663
AD-1425712	AGUGGCAGUGAUCGCCUUGCA	97	UGCAGGGCGAUCACUGCCACUGU	367	652	674
AD-1425727	CACCGCUCUCCGGAUGGUGUUG	98	CAACACCAUCCGGAGCCGGUGCA	368	671	693
AD-1425735	ACAGCCUAAUCGCACGGCCUC	99	GAGGCCUGCGAUUAGGCUGUUU	369	697	719
AD-1425740	CUAAUCGCACGGCCUCCUUC	100	GAAAGGAGCCUGGCGAUUAGGC	370	702	724
AD-1425745	CGCACGGCCUCCUUCUCCUUG	101	GCAGGGAAGGAGGGCCGUGCGAU	371	707	729
AD-1425752	CCUCCUUCUCCUUGCACCCGUAC	102	GUACGGUCCAGGGAAAGGAGGCC	372	714	736
AD-1425757	UUUCCUGCACCCGUACUCCUC	103	GAGGAGUACGGUGCAGGGAAAGG	373	719	741
AD-1425763	UGCACCGUACUCCUACCCUUG	104	CAGGGUGAGGAGUACGGUCCAGG	374	725	747
AD-1425771	ACUCCUACCCUUGCUUCUCUG	105	CAGAGAAACAGGGUGAGGAGUAC	375	733	755
AD-1425778	ACCCUGCUUCUUCUGGGCCACC	106	GGUGGCCACAGAAAGCAGGGUGA	376	740	762
AD-1425784	CUUCUCUGGGCCACCAGUUUC	107	GAAACUGGUGGCCCCAGAGAAAGCA	377	746	768
AD-1425789	CUGGGCCACCAGUUUCACCCU	108	AGGGUGAAACUGGUGGCCCCAGAG	378	751	773

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM 006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM 006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1425795	CACCAGUUUACCCUUGCCAC	109	GUGGCAAGGUGAAACUGGUGC	379	757	779
AD-1425803	UCACCCUUGCCACCUUGGCUA	110	UAGCCAAGGUGGCAAGGUGAAA	380	765	787
AD-1425811	GCCACCUUGGCUACCUUGAAA	111	UUUCAAGGUAGCCAAAGGUGCAA	381	773	795
AD-1425816	CUUGGCUACCUUGAAAACCAG	112	CUGGUUUUCAAGGUAGCCAAAGU	382	778	800
AD-1425822	UACCUUGAAAACCAGCAAGUC	113	GACUUGCUGUUUUUCAAGGUAGC	383	784	806
AD-1425831	AACAGCAAGUCCACCUCUG	114	CAGAGUGGACUUGCUGGUUUU	384	793	815
AD-1425838	AAGUCCACCCUCUGUCUCC	115	GGGAAAGACAGAGGUGGACUUGC	385	800	822
AD-1425844	CACCUCUGUCUCCCAUGUCC	116	GGACAUGGGAAGACAGAGGUGG	386	806	828
AD-1425849	CUGUCUCCCAUGUCCAGUCU	117	AGACUGGACAUGGGAAGACAGAG	387	811	833
AD-1425854	UUCCAUGUCCAGUCUGAUUG	118	CAAUCAGACUGGACAUGGGAAGA	388	816	838
AD-1425863	CCAGUCUGAUUGCUGGAAAAG	119	CUUUCCAGCAUUCAGACUGGAC	389	825	847
AD-1425869	UGAUUGCUGGAAAAGGAAAAG	120	CUUUCCUUUCCAGCAAUUCAGA	390	831	853
AD-1425875	CUGGAAAAGGAAAAGCCAUU	121	AAUUGGCUUCCUUUCCAGCA	391	837	859
AD-1425881	AAGGAAAAGCCAUUUUGUCUC	122	GAGACAAAUUGGUUUUCCUUUU	392	843	865
AD-1425888	AGCCAUUUUGUCUCUCUAUGU	123	ACAUAGAGAGACA AAUUGGCUUU	393	850	872
AD-1425893	UUUUGUCUCUCUAUGUGGUCG	124	CGACCACAUAGAGAGACA AAUUG	394	855	877
AD-1425898	UCUCUCUAUGUGGUCGACUUC	125	GAAGUCGACCACAUAGAGAGACA	395	860	882
AD-1425906	UGUGGUCGACUUCACCUUCUG	126	CAGAAGGUGAAGUCGACCACAUA	396	868	890
AD-1425912	CGACUUCACCUUCUGUGUUGC	127	GCAACACAGAAGGUAGAUGCAGC	397	874	896
AD-1425919	ACCUUCUGUGUUGCUGUGGUC	128	GACCACAGCAACACAGAAGGUGA	398	881	903
AD-1425927	UGUUGCUGUGGUCUCUCUGUCUC	129	GAGACAGAGACCACAGCAACACA	399	889	911
AD-1425933	UCUCUGUCUCUACAUCAUGA	130	AUGU AAGAGACAGAGACCACAGC	400	895	917
AD-1425938	UCUACAUCAUGAUUGCUCAG	131	UCAUGAUGUAAGAGACAGAGACC	401	900	922
AD-1425946	UCUACAUCAUGAUUGCUCAG	132	CUGAGCAAUCAUGAUUAAGAGA	402	908	930
AD-1425952	AUCAUGAUUGCUCAGACCCUG	133	CAGGUUCUGAGCAAUCAUGAUUG	403	914	936
AD-1425965	AGACCCUUGCGGAAGAACGCUC	134	GAGCGUUUUCCGCAGGUCUGA	404	927	949
AD-1425971	UGCGGAAGAAGCUCUAGUCA	135	UGACUUGAGCGUUUCCCGCAGG	405	933	955
AD-1425976	AAGAAGCUCUAAAGUCAGAAAAG	136	CUUUUGACUUGAGCGUUUCCUCC	406	938	960
AD-1425981	CGCUCAAGUCAGAAAAGUCC	137	GGGCACUUUCUGACUUGAGCGUU	407	943	965
AD-1425984	GUAUACACAGUCGAUGCUUCC	138	GGAAGCAUCGACUGUAUACAG	408	968	990
AD-1425992	AGUCGAUGCUUCCAGACACACA	139	UGUGUCUGGAAAGCAUCGACUGU	409	976	998
AD-1425999	GCUUCCAGACCCACAGCCUUUC	140	GAAAGCCUGUGGUCUGGAAAGCAU	410	983	1005
AD-1426004	CAGACCACAGCCUUUCAUGGG	141	CCCAUGAAAAGCCUGUGGUCUGGA	411	988	1010
AD-1426023	GUGGAGAUCCCAUCCAGUGUG	142	CACACUGGAUGGGAUCCACCACCU	412	1026	1048

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1426028	GAUCCCAUCCAGUGGCCCAUG	143	CAUGGCACACUGGGAUUCUC	413	1031	1053
AD-1426047	UGCCGGCUCUGUAUAGGAACC	144	GGUUCUUAUACAGACCCGGCAUG	414	1050	1072
AD-1426052	GCUCUGUAUAGGAACCCAGAAU	145	AUUCUGGUUCCUAUACAGACCCG	415	1055	1077
AD-1426057	GUUAAGGAACCCAGAAUUAACA	146	UUGUAUUUCUGGUUCCUAUACAG	416	1060	1082
AD-1426063	GAACCAGAAUUAACAACAACU	147	AGUUUUGUUAUUUCUGGUUUCU	417	1066	1088
AD-1426070	AAUUAACAACAACUGCAGCAC	148	GUGCUGCAGUUUUGUUAUUUCU	418	1073	1095
AD-1426076	AACAACUGCAGCACGUAUCAG	149	CUGAAACUGUCAGUUUUGUUGU	419	1079	1101
AD-1426082	CUGCAGCACGUUCAGACCCCGU	150	ACGGGUCUGAACGUGCUCGAGUU	420	1085	1107
AD-1426088	CACGUTUCAGACCCGGGUAUUA	151	AUAUCCACGGGUCUGAACGUGCU	421	1091	1113
AD-1426094	CAGACCCGUGGAUUAUACCAAG	152	CUUGGUUAUUAUCCACGGGUCUGAA	422	1097	1119
AD-1426099	CCGUGGAUUAUACCAAGAGUCC	153	GGACUCUUGGUUAUUAUCCACGGGU	423	1102	1124
AD-1426104	GAUUAACCAAGAGUCCCAACC	154	GGUUGGGACUCUUGGUUAUUAUCCA	424	1107	1129
AD-1426109	ACCAAGAGUCCCAACCAACUG	155	CAGUUUGUUUGGACUCUUGGUUAU	425	1112	1134
AD-1426115	AGUCCCAACCAACUGGUCACC	156	GGUGACCAAGUUUGGUUUGGACUCU	426	1118	1140
AD-1426122	GCAAGCCGACUCCAGCUCGUA	157	UACGAGCUGGAGUCGGCUCUUGCUG	427	1145	1167
AD-1426128	CGACUCCAGCUCGUAUCAGCC	158	GGCUGUAUACGAGCUCGGAGUCGGC	428	1151	1173
AD-1426137	CUCGUAUCAGCCAUCAACCUC	159	GAGGUUGAUUGGCUGAUUACGAGCU	429	1160	1182
AD-1426145	AGCCAUCAACCCUCCACUUGC	160	GCAGUUGGAGAGGUUGAUUGGCUGA	430	1168	1190
AD-1426150	UCAACCCUCCACUCCCAAGG	161	CCUUGGCAGUUGGAGAGGUUUGAU	431	1173	1195
AD-1426155	CUCUCCACUGCCAAAGGAUUC	162	GGAAUCCUUUGGCAGUUGGAGAGGU	432	1178	1200
AD-1426163	UGCCAAGGAUUCCAAAGCCCGU	163	ACGGCUUUUGGAAUCCUUUGGCAGU	433	1186	1208
AD-1426170	GAUCCAAAGCCGUGGUCACC	164	GGUGACCCACGGCUUUGGAAUCCU	434	1193	1215
AD-1426176	AAAGCCGUGGUCACCUUGUGUG	165	CACACAGGUGACCACGGCUCUUGG	435	1199	1221
AD-1426183	UGGUCACCUUGUGUAUCAUUG	166	CAAUGAUCACACAGGUGACCACCG	436	1206	1228
AD-1426188	ACCUUGUGUAUCAUUGUCUG	167	CAGCACAUAUGAUCACACAGGUGA	437	1211	1233
AD-1426194	GUGAUCAUUGUGCUGUCAGUC	168	GACUGACAGCACAUAUGAUCACAC	438	1217	1239
AD-1426203	GUGCUGUCAGUCCUUGGUGUC	169	GCACACCAGGACUGACAGCACAA	439	1226	1248
AD-1426209	UCAGUCCUGGUGUGCUGUCUUU	170	AAGACAGCACACCAGGACUGACA	440	1232	1254
AD-1426215	CUGGUGUCUGUCUUUCCACUG	171	CAGUGGAAGACAGCACACCAGGA	441	1238	1260
AD-1426222	UUUCCUUUGUAACAGGUGGUUC	172	GAACCCUUGUAACCAAGGAAUUC	442	1263	1285
AD-1426227	UUUGUAACAGGUGGUUCUCUCC	173	GGAGAGAACCACCUUGUACCAAGG	443	1268	1290
AD-1426236	GUGGUUCUCUCCAGCAAUUGGG	174	CCCAUUGCUGGAGAGAACCACCU	444	1277	1299
AD-1426243	UCUCCAGCAAUGGGAGCUUCA	175	UGAAAGCUCCCAUUGCUGGAGAGA	445	1284	1306
AD-1426251	AUUGGGAGCUUCAUUCUUUAC	176	GUAAAAGAAUGAAGCUCUCCAUUGC	446	1292	1314

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1426260	UUCAUUCUUUACCAGUUUGAA	177	UUCAACUCUGUAAAAGAAUGAAGC	447	1301	1323
AD-1426266	UUUACCAGUUUGAAUUGUUU	178	AAACAUUCAACUCUGGUAAGAA	448	1307	1329
AD-1426272	CAGUUUGAAUUGUUUGGAUUU	179	AAUCCAAACAUAUCAAACUGGU	449	1313	1335
AD-1426278	AAUUGUUUGAUUUACUCUUA	180	UAAGAGUAAUCCAAACAUAUCA	450	1320	1342
AD-1426289	UCUUAUUAUUUCAAAGUCAGG	181	CCUGACUUGAAAAUAUAAGAGU	451	1336	1358
AD-1426298	UUUCAAGUCAGGAUUAACCC	182	GGUUUAUCCUGACUUGAAAAA	452	1345	1367
AD-1426304	GUCAGGAUUAACCCUUUAU	183	AUAAAAGGUUUAAUCCUGACUU	453	1351	1373
AD-1426311	AACCCUUUAUAUAUUCUCGG	184	CCGAGAAUAUAUAAAAGGUUUA	454	1361	1383
AD-1426316	UUUAUAUAUUCUCGGAACAG	185	CUGUCCGAGAAUAUAUAAAAGG	455	1366	1388
AD-1426321	UAUAUUCUCGGAACAGUCAG	186	CUGCACUUGUCCGAGAAUAUAU	456	1371	1393
AD-1426326	UCUCGGAACAGUCAGGGCUG	187	CAGCCUUGCACUUGUCCGAGAAU	457	1376	1398
AD-1426338	GCAGGGCUGAGAGGAAGUG	188	CACUUCCUUCUCAGCCUUCGAC	458	1388	1410
AD-1426343	GCUGAGAAAGAAAGUCUCUG	189	CAGAGCACUUCCUUCUCAGCCC	459	1393	1415
AD-1426348	GAAGGAAAGUCUCUGGUGCC	190	GGCACCAAGAGCACUUCCUUCUC	460	1398	1420
AD-1426361	CUGGUGCCUCCAUAACAAGG	191	CCUAUGUAUUGGAGGCCACCAGAG	461	1411	1433
AD-1426367	CCUCCAAUAUAUAGGCCUJGGG	192	CCCAGGCCUUAUGUAUUGGAGGCA	462	1417	1439
AD-1426372	AAUACAUAGGCCUJGGUUUUU	193	AAAAACCAGGCCUUAUGUAUUGG	463	1422	1444
AD-1426373	UUUCUGCUGCAAACAAGAC	194	GUCUUUGUUUGCAGCAGCAAAA	464	1441	1463
AD-1426380	UGCAAACAAGAACUCUGACUU	195	AAGUCGAGUCUUUUUGUUJGCAGC	465	1448	1470
AD-1426385	ACAAAAGACUCGACUUCGAGC	196	GCUCGAAAGUCGAGUCUUUUUGUU	466	1453	1475
AD-1426390	AGACUCGACUUCGAGCCAUUGG	197	CCAUJGGCUCGAAAGUCGAGUCUU	467	1458	1480
AD-1426396	GACUUCGAGCCAUJGGAAAAG	198	CUUUCCCAUJGGCUCGAAAGUCGA	468	1464	1486
AD-1426401	CGAGCCAUJGGAAAAGGGAAC	199	GUUCCCUUUUCCCAUJGGCUCGAA	469	1469	1491
AD-1426406	CAUJGGAAAAGGAAACCUCGA	200	UCGAGUUUCCCUUUUCCCAUJGGC	470	1474	1496
AD-1426413	AAAGGGAACCUJGAAAGUCAAC	201	GUUGACUUCGAGGUUCCCUUUUC	471	1481	1503
AD-1426419	AACCUJGAAAGUCAACAGAAAC	202	GUUUUGUUUGACUUCGAGGUUCC	472	1487	1509
AD-1426425	GAAUUCACAGAAACAUAUCC	203	GGUUUGUUUCUGUUGACUUCGA	473	1493	1515
AD-1426430	CAACAGAAACAUAUCCUCCCA	204	UGGGAGGAUUUGUUUCUGUUGAC	474	1498	1520
AD-1426436	AAACAUAUCCUCCAUCAUGA	205	UCAUGAJGGGAGGAUUUUGUUUCU	475	1504	1526
AD-1426442	AUCCUCCAUCAUGAAACAACA	206	UUUGUUCAUJGAGGGGAGGAUUU	476	1510	1532
AD-1426447	CCCAUCAUGAAACAACUCUCUG	207	CAGAUUUUGUUUCAUJGAGGGGAG	477	1515	1537
AD-1426453	AUGAAACAACUCUCUGCCUACA	208	UGUAJGGCAGAUUUUGUUUCAUGA	478	1521	1543
AD-1426462	ACUCUGCCUACAUGUUUAUCUC	209	GAGAUACAUGAJGGCAGGAUUU	479	1530	1552
AD-1426467	GCCUACAUGUUUAUCCUCCAAAG	210	CUUJGGAGAUACAUGAJGGCAG	480	1535	1557

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1426472	CAUGUUAUCUCCAAAGCCACA	211	UGUGGCUUUGGAGAUAAUGUA	481	1540	1562
AD-1426481	UCCAAAGCCACAGAAAGAAUU	212	AAUUUUUUUGGCUUUGGAGA	482	1549	1571
AD-1426486	AGCCACAGAAAGAAUUUGUGG	213	CCACAAUUUUUUUGGCUUU	483	1554	1576
AD-1426491	CAGAAAGAAUUUGGACCCAG	214	CUGGUCCACAAUUUUUUUGUG	484	1559	1581
AD-1426496	GAAUUUGUGGACCCAGGCUUG	215	CAAGCCUGGUCCACAAUUUUUU	485	1564	1586
AD-1426507	ACCAGGCUUUGGCCCCAAGUC	216	GACUUUGGCCCACAAAGCCUGUCC	486	1575	1597
AD-1426515	UGUGGCCCAAGUCAUUCAAAA	217	UUUUAGAAUGACUUUGGGCCACAAG	487	1583	1605
AD-1426520	CCCAGUCAUUCAAAAAGAAAG	218	CUUUUUUUUGAAUGACUUUGGGCC	488	1588	1610
AD-1426527	CAUUCAAAAGAAAGUAUGGUG	219	CACCAUACUUUUUUUGAAUGAC	489	1595	1617
AD-1426532	AAAAGAAAGUAUGGUGAGUCC	220	GGACUACCAUACUUUUUUUGA	490	1600	1622
AD-1426539	AGUUGGUGAGUCCCAAGAU	221	GAUUUGGACUCACCAUACUUU	491	1607	1629
AD-1426546	UGAGUCCCAAGAUUCUUGCUG	222	CAGCAGAGAUUUUGGGACUCACC	492	1614	1636
AD-1426551	CCCAGAUUCUUGCUGGACAU	223	AUUCACGACAGAGAUUUUGGGAC	493	1619	1641
AD-1426556	GAUCUCUGCUGGACAUCAACA	224	UGUUAGUUCACGACAGAUUUU	494	1624	1646
AD-1426561	CUGCUGGACAUCAACACUGUG	225	CACAGUUUGAUUUGCCAGCAGAG	495	1629	1651
AD-1426567	GACAUCACACUGUGGUCAGA	226	UCUGACCACAGUUUGAUUCCA	496	1635	1657
AD-1426574	ACACUGUGGUCAGAGCAGCUC	227	GAGCUCUCUGACCACAGUUGU	497	1642	1664
AD-1426583	CAACACUCGGAUUGAACCUUA	228	UAAGUUUCAUCCGAGUGUUGAU	498	1672	1694
AD-1426588	CUCGGAUUUGAACCUUACUACA	229	UGUAAGUAGGUUCAUCCGAGUG	499	1677	1699
AD-1426594	UUGAACCUUACUACAGCAUCU	230	AGAUGCUGUAGUAAGGUUCAAU	500	1683	1705
AD-1426599	CCUACUACAGCAUCUUAUAAAC	231	GUUAUAGAUUCGUAGUAAGGUU	501	1688	1710
AD-1426604	CUACAGCAUCUUAUAAACAGCAG	232	CUGCUGUUAUAGAUUCGUAGUA	502	1693	1715
AD-1426610	CAUCUAUAAACAGCAGCCUUC	233	GAAGGCGUCUGUUUAUAGAUUCU	503	1699	1721
AD-1426638	GAGAGCAGCCCAUGUAACUUA	234	UAAGUUACAUUGGCGUCUCUCCU	504	1727	1749
AD-1426643	CAGCCCAUGUAACUUAACAGCC	235	GGCUGUAAGUUACAUGGGCUGCU	505	1732	1754
AD-1426649	AUGUAACUUAACAGCCAGUAAA	236	UUUACUGGCUUAGUUACAUGG	506	1738	1760
AD-1426655	CUUACAGCCAGUAAACUCUUU	237	AAAAGUUUAACUGGCGUUAAGUU	507	1744	1766
AD-1426662	CCAGUAAACUCUUUUGGAUUU	238	AAAUCCAAAAGAGUUUAACUGGCU	508	1751	1773
AD-1426669	ACUCUUUUGGAUUUUGCCAAUU	239	AAUUGGCAAUCCAAAAGAGUUU	509	1758	1780
AD-1426678	GAUUUGCCAAUUCAUUAUUUG	240	CAAUAUAGAAUUUGGCAAUCCA	510	1767	1789
AD-1426687	AUUCAUUAUUUGCCAUUGCAUU	241	AAUGCAUGGCAAUUAUUGAAUUG	511	1776	1798
AD-1426693	AUAUUUGCCAUUGCAUUUAUCACA	242	UGUGAUAAUGCAUGGCAAUUAU	512	1782	1804
AD-1426701	AUGCAUUUAUCACACCACUAAU	243	AUUAGUGGUGUGAUAAUGCAUGG	513	1790	1812
AD-1426707	UAUCACACCACUAAUGACUUA	244	UAAGUCAUUAGUGGUGUGAUAAU	514	1796	1818

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1426712	CACCACUAUAGACUUAGUGCA	245	UGCACUAAGUCAUUAGUGGUGG	515	1801	1823
AD-1426719	AUAGACUUAGUGCAGGAAUUAU	246	AUAUCCUGCACUAAGUCAUUAG	516	1808	1830
AD-1426725	UUAGUGCAGGAAUUAUGACAGC	247	GCUGUCAUUAUCCUGGCACUAAGU	517	1814	1836
AD-1426730	GCAGGAUUAUGACAGCACUUC	248	GAAUGCUGUCAUUAUCCUGCAC	518	1819	1841
AD-1426737	UAUGACAGCACUUCAGCCAAAG	249	CUUGGCUGAAAGUGCUGUCAUUAU	519	1826	1848
AD-1426745	CACUUCAGCCAAAGCAGAUUCC	250	GGAAUCUGCUUGGCUGAAUGUCU	520	1834	1856
AD-1426750	CAGCCAAAGCAGAUUCCAGUCC	251	GGACUGGAAUCUGCUUGGCUGAA	521	1839	1861
AD-1426752	CUCCGUUUAAAAGUCAUGGAGG	252	CCUCCAUGACUUUAAAACGGAGGG	522	1861	1883
AD-1426760	AAAGUCAUGGAGGCCUUAAGGA	253	UCCUAUAGCCUCCAUAGACUUUAA	523	1869	1891
AD-1426768	GGAGGCCUUAAGGAUCUUAUGU	254	ACAUAAAGAUCCUUAUAGCCUCCAU	524	1877	1899
AD-1426773	CUUAAGGAUCUUAUGUAAAACA	255	UGUUACAUAAGAUCUUAUAGCC	525	1882	1904
AD-1426778	GGAUUUUAUGUAAACAGUUUU	256	AAAACUGUUUACAUAAGAUCUUA	526	1887	1909
AD-1426789	AAACAGUUUUUUUGUUUCUGAJA	257	UAUCAGAAAACA AAAACUGUUUAC	527	1898	1920
AD-1426794	GUUUUUGUUUCUGUAUAGUAAU	258	AUUACUAUCAGAAAACA AAAACUG	528	1903	1925
AD-1426799	UGUUUCUGUAUAGUAAUGGACU	259	AGUCCAUAUCUAUCAGAAAACA AA	529	1908	1930
AD-1426804	CUGUAUAGUAAUGGACUUUAUU	260	AUUAAGUCCAUAUCUAUCAGAA	530	1913	1935
AD-1426812	AAUGGACUUUAUUUAACUUG	261	CAAGUUAGAUAAAAGUCCAUAUAC	531	1921	1943
AD-1426819	UUUAUUUAACUUGAGAUUCAG	262	CUGAUCUCAAAGUUAGAAUAAAAGU	532	1928	1950
AD-1426824	UCUAAUUUGAGAUUCAGUGGGC	263	CGCCACUGAUCUCAAGUUUAGAAU	533	1933	1955
AD-1426832	GAGAUUCAGUGGGGGAUCAAAA	264	UUUUUAUCCGCCACUGAUCUCAAA	534	1941	1963
AD-1426837	CAGUGGGGGAUCAAAAACCUAC	265	GUAGGUUUUUAUCCGCCACUGAU	535	1946	1968
AD-1426844	GGAUCAA AACCUACAAGAUUC	266	GAAUCUUUGAUGUUUUAUCCGC	536	1953	1975
AD-1426849	AAAACCUACAAGAUUCAACUG	267	CAGUUGAUUCUUUGAUGUUUUA	537	1958	1980
AD-1426854	CUACAAGAUUCAACUGAAAAG	268	CUUUUCAGUUUUAUCCUUAAGGU	538	1963	1985
AD-1426859	AGAUUCAACUGAAAAGUUGGC	269	GCCAAUUUUUCAGUUUUAUCCUUG	539	1968	1990
AD-1426865	AACUGAAAAGUUGGCAGUUUAU	270	AUAACUGCCAAUUUUUCAGUUUA	540	1974	1996
AD-1426871	AAAGUUGGCAGUUUAUGGUUUU	271	AAAACCUAAACUUGCCAAUUUUUC	541	1980	2002
AD-1426876	UGGCAGUUUAUGGUUUUCUUUC	272	GAAAAGAAAACCUAAACUGCCAAAC	542	1985	2007
AD-1426881	GUUAUGGUUUUCUUUCAUCUG	273	CAGAUAAAAGAAAACCUAAACUG	543	1990	2012
AD-1426890	UUUUUCAUCUGAUGUGUCAG	274	CUGACACAUCAGAUAAAAGAAA	544	1999	2021
AD-1426896	CAUCUGAUGUGUCAGUAUCUG	275	CAGAUACUGACACAUCAGAUAAA	545	2005	2027
AD-1426902	AUGUGCAGUAUCUGUUUGAUU	276	AAUCAACAGAUACUGACACAUCA	546	2011	2033
AD-1426908	CAGUAUCUGUUUAUGUUUCUUU	277	AAAGCAAUUCAACAGAUAAUCUGAC	547	2017	2039
AD-1426916	GUUGAUUUGCUUUUGAUGUUUG	278	CAAACUACAAGCAAUAUCACACAG	548	2025	2047

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	NM_006794.4 中之 mRNA 起始位點	NM_006794.4 中之 mRNA 終止位點
AD-1426923	GCUUUGUAGUUUGUUGACAUC	279	GAUGUCAACAACUACAAAGCAA	549	2033	2055
AD-1426928	GUAGUUUGUUGACAUCUUUAAAG	280	CUUAAAGUUGUCAACAACUACAA	550	2038	2060
AD-1426933	UUGUUGACAUCUUUAAAGAUUUG	281	CAAUCUUUAAAGUUGUCAACAAC	551	2043	2065
AD-1426938	GACAUCUUUAAAGAUUUGAUUGUG	282	CACAUCAAAUCUUUAAAGAUUCAAA	552	2048	2070
AD-1426944	UUAGAUUUUGAUUGUAAAAGUU	283	AACUUUCACAUCAAAUCUUUAAAGA	553	2054	2076
AD-1426950	UUUGAUGUGAAAAGUUUUAGAU	284	AUCUAAAACUUUCACAUCAAAUUC	554	2060	2082

表 5. 經修飾之正義及反義股 GPR75 dsRNA 序列

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
AD-1425210	asusggc(Ghd)AfuGfAfuGccuucugsusa	1365	VPusAfsucaGfaGfGfcaucAfuCfGCCaucscsg	1635	CGATGGCGGATGATGCCTCTAGTC	1095
AD-1425217	usgsaug(Chd)CfuCfuAfguccucgsusa	1366	VPusAfsugcAfgGfAfcuagAfgGfcaucasusc	1636	GATGATGCCTCTAGTCCTGCATC	1096
AD-1425222	cscsucu(Ahd)GfuCfuCfUfgcaucaucscsa	1367	VPusGfsgauGfaUfGfcaggAfcUfagaggscsa	1637	TGCCTCTAGTCCTGCATCATCCA	1097
AD-1425228	gsusccu(Ghd)CfaUfCfAfuccagcgsusa	1368	VPusCfsgcuCfuGfGfauaUfgCfaggacsusa	1638	TAGTCTGCATCATCCAGAGCGG	1098
AD-1425243	cscsgga(Chd)UfgCfGfAfgauggaggsusa	1369	VPusUfscuCfcAfuCfcuagCfaGfuccgggsasc	1639	GTCCGGACTGCGGAGATGGAGGAG	1099
AD-1425251	csasccc(Ghd)CfcAfgfGfcaucaucugsusa	1370	VPusAfscauAfuAfaAfgccuGfcCfgggugsgsc	1640	GCCACCCGGCAGGCTTATCTGTC	1100
AD-1425256	gsgscag(Ghd)CfuUfaUfGfucucunggsa	1371	VPusCfscaaGfaCfaAfgauaAfgCfcugccsgsg	1641	CCGGCAGGCTTATCTGCTTGGG	1101
AD-1425265	asuscug(Uhd)CfuUfGfGfcccucuuususa	1372	VPusAfsaaaGfaGfGfccaAfgAfcagausasa	1642	TTATCTGTCTTGGGCCCTCTTTTGG	1102
AD-1425270	uscsuug(Ghd)GfcCfuCfuuuugucasesa	1373	VPusGfscuaCfaAfaAfgagGfcCfaagascsa	1643	TGCTTGGGCCCTCTTTTGTCCACA	1103
AD-1425275	gsgscuu(Chd)UfuUfGfucacauususa	1374	VPusAfsauUfgUfGfacaaAfaGfaggccscsa	1644	TGGGCCCTCTTTTGTCCACATATTG	1104
AD-1425280	ususuug(Uhd)CfaCfaUfauugcucasesa	1375	VPusAfsugaGfcAfaAfuauugUfAfcfaaaagsa	1645	TCCTTTGTCCACATATTGCTCATT	1105

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425281						
AD-1425287	csascau(Ahd)UfuGfCfUfcaucugugsasa	1376	VPusUfscacAfgAfuFgagcAfaUfaugugsasc	1646	GTCACATAATTGCTCATCTGTGTGAG	1106
AD-1425292	asusugc(Uhd)CfaUfCfUfugagcugsasa	1377	VPusUfscagCfuCfaFcaUfgAfgcauasasu	1647	ATATTGCTCATCTGTGTGAGCTGAG	1107
AD-1425298	csasucU(Ghd)UfgAfGfCfugagggcccsusa	1378	VPusA.fsgggCfcUfCfagcuCfaCfagaugsasg	1648	CTCATCTGTGTGAGCTGAGGCCCTG	1108
AD-1425312	gsgsccc(Uhd)GfaCfUfCfagcaguanusa	1379	VPusA.fsuacUfcAfgfugagUfcA.fgggccsusc	1649	GAGGCCCTGACTCACTGACTGAGTATT	1109
AD-1425317	usgsacu(Chd)AfcUfGfAfguanuuuugsa	1380	VPusCfsaaaAfaUfAfcucaGfuGfagucasgsg	1650	CCTGACTCACTGACTGACTGATTTTTGG	1110
AD-1425321	gsgsgea(Ghd)AfaGfAfaFgagacausage	1381	VPusA.fsaugUfcUfcuucUfuCfugucscsc	1651	GGGAGCAGAAGAAGGAGACATTT	1111
AD-1425326	gsasaga(Ahd)GfgAfGfAfaauucucusa	1382	VPusA.fsgagAfaAfuFgucUfcUfucucuscg	1652	CAGAAAGAAGGAGACATTTCTCTC	1112
AD-1425332	gsgsaga(Chd)AfuUfUfCfucucgaaasasa	1383	VPusUfsuucGfgAfGfagaaAfuGfucucscsu	1653	AAGGAGACATTTCTCTCCGAAAA	1113
AD-1425339	ususucu(Chd)UfcCfGfAfaaangaacsusa	1384	VPusA.fsguuCfaUfuFuucGfAfgagaasusg	1654	CATTTCTCTCCGAAAAATGAACTC	1114
AD-1425344	csusccg(Ahd)AfaAfuGfAfaucacaesasa	1385	VPusUfsguuGfaGfUfucUfuUfCfagagsasg	1655	CTCTCCGAAAAATGAACTCAACAG	1115
AD-1425349	asasaau(Ghd)AfaCfUfCfaacaggccsasa	1386	VPusUfsggcCfuGfUfugUfuCfaunucscsg	1656	CGAAAAATGAACTCAACACAGGCCAC	1116
AD-1425354	gsasacu(Chd)AfaCfaFgcccacucscsa	1387	VPusGfsaagGfuGfGfccugUfuGfaguucscsu	1657	ATGAACTCAACAGGCCACCTTCA	1117
AD-1425361	ascsagg(Chd)CfaCfUfucaggaugscsa	1388	VPusGfscacuCfcUfGfaaggUfgGfccugusug	1658	CAACAGGCCACCTTCAAGGATGCC	1118
AD-1425368	csesacc(Uhd)CfGfCfUfCfcaugggccsusa	1389	VPusA.fsggcAfcAfuFgagCfuA.fgguggscsa	1659	TGCCACCTCGCTCCCATGTGCCTC	1119
AD-1425373	usosggcu(Chd)CfaUfGfUfGCCacucscsa	1390	VPusGfsaagGfaGfGfcaUfgGfagcagsgsg	1660	CCTCGCTCCCATGTGCCTCACTCA	1120
AD-1425379	asusugc(Chd)CfuCfaCfucacaggasasa	1391	VPusUfsuccUfgUfGfagugAfgGfcaucsgsg	1661	CCATGTGCCTCACTCACAGGAAG	1121

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425380						
AD-1425385	csesuca(Chd)UfcAfcAfggaaggaasasa	1392	VPusUfsuucCfuUfcfuguGfaGfugaggscsa	1662	TGCCTCACTCACAGGAAGGAAAC	1122
AD-1425393	asasagg(Ahd)AfgGfAfacagaccsusa	1393	VPusAfsnguGfcUfGfuuuuCfuUfccugusgsa	1663	TCACAGGAAAGGAAACAGCACCTC	1123
AD-1425398	asasgga(Ahd)AfcAfGcfaccucucscsa	1394	VPusGfsagaGfaGfGfugcuGfuUfuccuuusc	1664	GGAAAGGAAACAGCACCTCTCTCC	1124
AD-1425413	csuscuc(Chd)AfgGfAfgfgucuuucasgsa	1395	VPusCfsugaAfgAfcfcucCfuGfagagsasg	1665	CTCTCTCCAGGAGGGTCTTCAGG	1125
AD-1425418	csasgga(Ghd)GfgUfcUfucaggauucsusa	1396	VPusAfsngauCfcUfGfagaCfcCfuccugsgsa	1666	TCCAGGAGGGTCTTCAGGATCTC	1126
AD-1425424	gsgsucu(Uhd)CfaGfGfAfuucuuccsasa	1397	VPusUfsggaUfgAfgfaucUfgAfgaacscsu	1667	AGGGTCTTCAGGATCTCATCCAC	1127
AD-1425429	uscsagg(Ahd)UfcUfcAfuaccacacgsa	1398	VPusCfsuguGfuGfGfauGaGfaUfccugasasg	1668	CTTCAGGATCTCATCCACACAGC	1128
AD-1425437	uscsauc(Chd)AfcAfcAfgccaccuugsgsa	1399	VPusCfsaagGfuGfGfuguGfuGfgaugasgsa	1669	TCTCATCCACACAGCCACCTTGGTGG	1129
AD-1425442	csasacac(Ahd)GfcCfAfcfucungugascsa	1400	VPusGfsucaCfcAfafggugGfcUfgugugsgsa	1670	TCCACACAGCCACCTTGGTGACC	1130
AD-1425447	asgscca(Chd)CfuUfGfGfugaccugusasa	1401	VPusUfsacaGfgUfcfaccAfgGfuggcugsgsu	1671	ACAGCCACCTTGGTGACCTGTAC	1131
AD-1425452	csesuug(Ghd)UfgAfcCfuguaucuuusasa	1402	VPusAfsaaaGfuAfcfagyuCfaCfaagysusg	1672	CACCTTGGTGACCCTGTACTTTTC	1132
AD-1425457	gsusgac(Chd)UfgUfAfcfuuuuuuacsusa	1403	VPusAfsnguaGfaAfaGfuaGfaGfuaacsusa	1673	TGGTGACCCTGTACTTTTCTACTG	1133
AD-1425466	ascsuuu(Uhd)CfuAfcUfuggcgucacstasa	1404	VPusAfsugaCfcGfcfaguAfgAfaaagusc	1674	GTACTTTTCTACTGGCGGTCAATC	1134
AD-1425471	uscsuac(Uhd)GfgCfGfGfuaucuuucsusa	1405	VPusAfsngaaGfaUfGfaceGcfcAfguagasasa	1675	TTTCTACTGGCGGTCAATCTCTG	1135
AD-1425480	gsgsuca(Uhd)CfuUfcUfuccugggususa	1406	VPusAfsaccCfaGfGfagaAfgAfgaccsgsc	1676	GCGGTCACTTCTTGCCTGGGTTC	1136
AD-1425485	ususcug(Chd)CfuGfGfGfuuuuuugsgsa	1407	VPusCfscauAfgGfAfaccaAfgGfagaasgsa	1677	TCTTCTGCCTGGGTTCCTATGGC	1137

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425487						
AD-1425492	cscsugg(Ghd)UfuCfCfUfauuggcaacsusa	1408	VPusAfsuugGfcCfaFuaggAfaCfccaggscsa	1678	TGCCTGGGTTCCCTATGGCAACTT	1138
AD-1425497	gsusucc(Uhd)AfuGfGfCfaacucsausa	1409	VPusAfsaugAfaGfUfugccAfuAfggaacsesc	1679	GGGTTCCCTATGGCAACTTCAATTG	1139
AD-1425502	usasugg(Chd)AfaCfUfUfcauucucsausa	1410	VPusAfsagaCfaAfuUfgaagUfuUfccaauasgsg	1680	CCTATGGCAACTTCAATTGCTTTC	1140
AD-1425507	csasacu(Uhd)CfaUfUfGfucucucsausa	1411	VPusAfscaaGfaAfaGfacaUfgAfaauugscsc	1681	GGCAACTTCAATTGCTTCTTCTGTC	1141
AD-1425512	uscсаuu(Ghd)UfcUfUfCfucugucsausa	1412	VPusGfsaagGfaCfaFagaaGfaCfaaugasasg	1682	CTTCATTGCTTCTTGTCTTCTT	1142
AD-1425515	gsuscuu(Chd)UfuGfUfCfucucucsausa	1413	VPusUfscgaAfgAfaUfggacAfaGfaagacsasa	1683	TTGTCTTCTTGTCTTCTTCTTCCGAT	1143
AD-1425520	csusugu(Chd)CfuUfCfUfucgaucsausa	1414	VPusCfsuggAfuCfGfaagaAfgGfacaagsasa	1684	TTCTTGTCTTCTTCTTCCGATCCAGC	1144
AD-1425525	cscsuuc(Uhd)UfcGfAfuUfcagcucsausa	1415	VPusGfsaagGfcUfGfgaucGfaAfgaaggsasc	1685	GTCTTCTTCTGATCCAGCCCTTCA	1145
AD-1425533	gsasucc(Ahd)GfcCfUfUfcagaaususa	1416	VPusAfsaunUfcCfUfgaagGfcUfggaucsgsa	1686	TCCGATCCAGCCCTTCAAGGAAATTC	1146
AD-1425538	asgscu(Uhd)CfaGfGfAfaauucagasasa	1417	VPusUfsucuGfaAfuUfuccUfgAfggucsgsg	1687	CCAGCCTTCAAGGAAATTCAGAAC	1147
AD-1425543	uscсagg(Ahd)AfaUfUfCfagaaccaasasa	1418	VPusGfsuugGfuUfCfugaaUfuUfccugasasg	1688	CTTCAGGAAATTCAGAACCCTCAACT	1148
AD-1425550	asusuca(Ghd)AfaCfCfAfacuungaususa	1419	VPusAfsaucAfaAfaGfuuggUfuCfugaanususu	1689	AAATTCAGAACCCTTCAACTTTGATTT	1149
AD-1425556	asascca(Ahd)CfuUfUfGfaucucsausa	1420	VPusUfscauCfaAfaFucaaAfgUfugguucsu	1690	AGAACCCTTCAACTTTGATTTCAATGAT	1150
AD-1425563	ususuga(Uhd)UfuCfaUfUfgaucucsausa	1421	VPusUfsucaGfgAfuUfcaugAfaAfucaasgsu	1691	ACTTTGATTTCAATGATCCCTGAAC	1151
AD-1425569	ususcau(Ghd)AfuCfCfUfugaucucsausa	1422	VPusGfsacaGfgUfuUfcaggAfuCfaugaasasu	1692	ATTTCAATGATCCCTGAACCCTGTCC	1152
AD-1425573	gsasucc(Uhd)GfaAfcUfCfugucucsausa	1423	VPusAfsagaGfgAfuUfagguUfcAfggaucsasg	1693	ATGATCTTGAACCCTGTCTTCTTCTG	1153

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425574						
AD-1425580	gsasacc(Uhd)GfuCfUfuucugacscsa	1424	VPusGfsgucAfcAfgfaaggAfcAfgguucsasg	1694	CTGAACCTGTCTCTGTGACCT	1154
AD-1425585	usgsucc(Uhd)UfeUfGfUfgaccuucscsa	1425	VPusGfsaagAfgGfUfcacaGfaAfggacacsag	1695	CCGTCTCTCTGTGACCTCTTCA	1155
AD-1425590	ususeug(Uhd)GfaCfcUfucuaucscsa	1426	VPusCfsaaaUfgAfaAfgaggUfcAfcagaasgsg	1696	CCTTCTGTGACCTCTTCAATTTGT	1156
AD-1425596	gsasacc(Uhd)UfuCfAfuufuugggagcsusa	1427	VPusAfsucuCfaCfaAfaaugAfaGfaggucscasc	1697	GTGACCTCTTCAATTTGTGGAGTG	1157
AD-1425601	csusuca(Uhd)UfuGfUfgfagagacscsa	1428	VPusCfsuugCfaCfUfccacAfaAfuagaasgsg	1698	CTCTTCAATTTGTGGAGTGACAGC	1158
AD-1425604	csasugu(Uhd)CfaCfUfuuguguaucscsa	1429	VPusAfsuaaCfaCfaAfaaggUfgAfacaugsgsg	1699	CCCATGTTACCTTTGTGTTAATT	1159
AD-1425609	uscsacc(Uhd)UfuGfUfgfuaucucscsa	1430	VPusGfsaagAfaUfaAfacacAfaAfggugasasc	1700	GTTCACCTTTGTGTTAATCTTCA	1160
AD-1425614	ususugu(Ghd)UfuAfuUfucucagcsusa	1431	VPusGfsagcUfgAfaAfgaauAfaCfacaasgsg	1701	CCTTTGTGTTAATCTTCAAGCTCA	1161
AD-1425619	gsusuauc(Uhd)CfuUfCfAfgcucagcsusa	1432	VPusUfsggcUfgAfgfcugaAfgAfauaacsasc	1702	GTGTTAATCTTCAAGCTCAGCCAG	1162
AD-1425628	csasgcu(Uhd)AfgCfCfAfguaucscsa	1433	VPusGfsgauAfcUfaAfcuggCfuGfagcugsasa	1703	TTCAAGCTCAGCCAGTAGTATCCC	1163
AD-1425633	csasgccc(Ahd)GfuAfgUfaucccgasusa	1434	VPusAfsuccGfgGfaAfuacuAfcUfggcugsasg	1704	CTCAGCCAGTAGTATCCCAGGATG	1164
AD-1425640	usasgna(Uhd)CfcCfGfauucucscsa	1435	VPusAfsagaaAfgCfAfuaccGfAfuacuacsu	1705	AGTAGTATCCCAGGATGCTTCTG	1165
AD-1425645	uscscgg(Ghd)AfuGfCfUfucugucscsa	1436	VPusGfsaagCfaGfaAfaagcAfuCfaggasusa	1706	TATCCCAGGATGCTTCTGCTTCA	1166
AD-1425650	gsasugc(Uhd)UfuCfUfgfucucucscsa	1437	VPusAfsaagUfgAfaAfgcagAfaAfgaucscsg	1707	CGGATGCTTCTGCTTCACTTTC	1167
AD-1425655	ususucu(Ghd)CfuUfCfAfcuucucscsa	1438	VPusGfsaugGfaAfaAfgugaAfgCfagaasgsc	1708	GCTTCTGCTTCACTTCTCCATCT	1168
AD-1425660	csasccuu(Uhd)CfaAfuCfucaccagcsusa	1439	VPusAfsacuGfUfgfagauGfgAfaagugsasa	1709	TTCACCTTCCATCTCACCAGTTC	1169

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425664						
AD-1425670	cscsauc(Uhd)CfaCfAlfauucaggcsusa	1440	VPusAfsgccUfgAfaFcuggUfgAfgauggsasa	1710	TTCCATCTCACCCAGTTCAGGCTT	1170
AD-1425675	uscacc(Ahd)GfuUfCfAfgcuucausasa	1441	VPusGfsaugAfaGfCfcugaAfcUfgugasgsa	1711	TCTCACCCAGTTCAGGCTTCATCA	1171
AD-1425680	asgsuuc(Ahd)GfgCfUfUfcaucausasa	1442	VPusAfsugaUfgAfuFgaagCfcUfgaacusgs	1712	CCAGTTCAGGCTTCATCAATCATG	1172
AD-1425685	asgsuuc(Uhd)CfaUfCfAfucaugucusa	1443	VPusGfsagaCfaUfGfauaUfgAfgaccusasa	1713	TCAGGCTTCATCAATCAIGTCTCT	1173
AD-1425690	uscuauc(Ahd)UfcAfUfGfucucugaasgsa	1444	VPusCfsuucAfgAfgfacauGfaUfgaugasag	1714	CTTCATCAATCATGTCTCTGAAGA	1174
AD-1425695	asuscau(Ghd)UfcUfCfUfgaagacagsusa	1445	VPusAfsaucUfcUfUfcagaGfaCfaugausgsa	1715	TCATCAATGTCTCTGAAAGACAGTG	1175
AD-1425701	uscuauc(Ghd)AfaGfAfcfaguggcagsusa	1446	VPusAfsaucCfcAfcfugueUfuCfagagascasa	1716	TGTCTCTGAAGACAGTGGCAGTG	1176
AD-1425712	asgsuuc(Ghd)AfgUfGfAfuGCCcucgsasa	1447	VPusGfscagGfgCfGfaucaCfuGfccaucusgsu	1717	ACAGTGGCAGTGTATCGCCCTGCA	1177
AD-1425727	csasccg(Ghd)CfuCfCfGfgaugugususa	1448	VPusAfsacaCfcAfUfccggAfgCfeguggsasa	1718	TGCACCGGCTCCGGATGGTGTG	1178
AD-1425735	ascsagc(Ghd)UfaAfUfCfGcagggccsusa	1449	VPusAfsagcCfgUfGfGgauUfaGfgcugususu	1719	AAACAGCCTAATCGCACGGCCTC	1179
AD-1425740	csusaau(Ghd)GfcAfCfGfgccuccusasa	1450	VPusAfsaagGfaGfGfccguGfcGfaunagsgsc	1720	GCCTAATCGCACGGCCTCCTTTC	1180
AD-1425745	csgsaac(Ghd)GfcCfUfCfouuuccusgsa	1451	VPusCfsagGfaAfaAfggagGfcCfugcgsasusu	1721	AATCGCACGGCCTCCTTTCCTG	1181
AD-1425752	csuucc(Uhd)UfuCfCfCfugcaccgusasa	1452	VPusUfsaagGfuGfCfaggAfaAfggaggsasc	1722	GGCCTCCTTTCCTGACCCGTAC	1182
AD-1425757	ususucc(Ghd)UfgCfAfcfogaucuccsusa	1453	VPusAfsaggGfuAfcfuggGfaGfggaasgs	1723	CCITTCCTGACCCGTACTCCTC	1183
AD-1425763	usgsaac(Ghd)GfuAfcUfocuccsusa	1454	VPusAfsaggUfgAfgfaguAfcGfugcaggs	1724	CCTGCACCCGTACTCCTCACCCTG	1184
AD-1425768	ascsuuc(Uhd)CfaCfCfCfugcuccsusa	1455	VPusAfsagAfaGfCfaggUfgAfggagusasc	1725	GTAATCCTCACCCTGCTTCTCTG	1185

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425771						
AD-1425778	ascscuu(Ghd)CfuUfcUfcUfcuggccacsca	1456	VPusGfsuggCfcCfafigagaAfgCfagggusgsa	1726	TCACCCCTGCTTCTCTCTGGGCCACC	1186
AD-1425784	csustucu(Chd)UfgGfGfCfcaccaguususa	1457	VPusAfsaacUfgGfUfgggcCfaGfagaagscsa	1727	TGCTTCTCTGGGCCACCACAGTTTC	1187
AD-1425789	csusggg(Chd)CfaCfcAfguuuaccscsa	1458	VPusGfsuggGfaAfaAfcouggUfgGfccaggsasg	1728	CTCTGGGCCACCACAGTTTCACCCCT	1188
AD-1425795	csascca(Ghd)UfuUfcAfcfccuugccsasa	1459	VPusUfsggcAfaGfGfugaAfaCfugugsgsc	1729	GCCACCAAGTTTCACCCCTTGCCAC	1189
AD-1425803	uscacc(Chd)UfuGfcCfcfccuuggcsusa	1460	VPusAfsaggAfaGfGfuggcAfaGfugugasasa	1730	TTTACCCCTTGCCACCCTTGGCTA	1190
AD-1425811	gscscac(Chd)UfuGfGfcfuaccuugasasa	1461	VPusUfsucaAfgGfUfagccAfaGfugggcsasa	1731	TTGCCACCTTGCGTACCTTGAAA	1191
AD-1425816	csusugg(Chd)UfaCfcUfugaaaaccsasa	1462	VPusUfsgguUfuUfcfaaggUfaGfccaaagsu	1732	ACCTTGGCTACCTTGAAAACCAG	1192
AD-1425822	usascuu(Uhd)GfaAfaAfcagcaagsusa	1463	VPusAfsuuGfcUfGfguuUfcAfgguuagsgc	1733	GCTACCTTGAAAACCAGCAAAGTC	1193
AD-1425831	asascca(Ghd)CfaAfgfUfccaccucsusa	1464	VPusAfsaggGfuGfGfagcuUfgCfugguususu	1734	AAAACCAGCAAAGTCCCACCCTCTG	1194
AD-1425838	asasguc(Chd)CfaCfcUfcugucucscsa	1465	VPusGfsgaaGfaCfafigaggUfgGfagcuusgsc	1735	GCAAGTCCCACCCTCTGTCTTCCC	1195
AD-1425844	csasccu(Chd)UfgUfcUfcUfcuccaugscsa	1466	VPusGfsacaUfgGfGfaagaCfaGfagguugsag	1736	CCCACCTCTGTCTTCCCATGTICC	1196
AD-1425849	csusguc(Uhd)UfcCfcAfcuguccaguscasa	1467	VPusGfsacuGfgAfcfauggGfaAfgacagsasg	1737	CTCTGTCTTCCCAGTGTCCAGTCT	1197
AD-1425854	ususccc(Ahd)UfgUfcUfcUfcagucugaususa	1468	VPusAfsaacAfgAfcfuggaCfaUfgggaagsa	1738	TCTTCCCAGTCCAGTGTGATTG	1198
AD-1425863	csasagu(Chd)UfgAUfUfcuggaaasasa	1469	VPusUfsuuuCfcAfcfaauCfaGfaguggsasc	1739	GTCCAGTCTGATTGCTGGAAAAG	1199
AD-1425869	usgsuuu(Ghd)CfuGfGfAfaaagggaasasa	1470	VPusUfsuucCfcUfUfuuccAfcfaucagsasa	1740	TCTGATTGCTGGAAAAGGGAAG	1200
AD-1425875	csusgga(Ahd)AfaGfGfGfaaaagccaususa	1471	VPusAfsaugGfcUfUfucceUfuUfuccagsasa	1741	TGCTGGAAAAGGGAAGCCATTT	1201

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425875						
AD-1425881	asasggg(Ahd)AfaGfCfCfaunuuugucsusa	1472	VPusAfsaacAfaAfaAfuaggUfuUfccuuususu	1742	AAAAGGAAAAGCCATTTTGTCTC	1202
AD-1425888	asgscca(Uhd)UfuUfGfUfucucuausgsa	1473	VPusCfsauaGfaGfaAfgacaAfaAfuaggcususu	1743	AAAGCCATTTTGTCTCTCTATGT	1203
AD-1425893	ususuug(Uhd)CfuCfuCfuCfuaugugucsusa	1474	VPusGfsaacAfaAfuUfagagAfgAfcuaaasug	1744	CATTTTGTCTCTCTATGTGGTGG	1204
AD-1425898	uscscuu(Chd)UfaUfGfUfugucgacususa	1475	VPusAfsaacCfGfAfcfacaUfaGfaagascsa	1745	TGTCCTCTATGTGGTGGACTTC	1205
AD-1425906	usgsugg(Uhd)CfGfAfcUfucacuuucsusa	1476	VPusAfsaacGfGfUfGfaagnCfGfAfcacacusa	1746	TATGTGGTGGACTTCACCTTCTG	1206
AD-1425912	csgsacu(Uhd)CfaCfCfUfucugugucsusa	1477	VPusCfsaacAfaAfcGfaaggUfgAfaagucgsasc	1747	GTCGACTTCACCTTCTGTGTGG	1207
AD-1425919	ascscuu(Chd)UfgUfGfUfucugugucsusa	1478	VPusAfsaacCfaGfCfaacaCfaGfaaguggsa	1748	TCACCTTCTGTGTGGTGTGGTGC	1208
AD-1425927	usgsuug(Chd)UfgUfGfUfucugucucsusa	1479	VPusAfsaacAfaAfcGfaacaCfaGfaaacacsa	1749	TGTTGTGGTGTGGTCTCTGTCTC	1209
AD-1425933	usgsuugg(Uhd)CfuCfuUfGfucucuuacsasa	1480	VPusUfsguaAfgAfgfacagAfgAfccacagsgc	1750	GCTGTGGTCTCTGTCTCTTACAT	1210
AD-1425938	uscscuu(Chd)UfCfUfucuaucuausgsa	1481	VPusCfsaacAfaGfUfuaagaGfaCfagagascsc	1751	GGTCTGTCTCTTACATCATGA	1211
AD-1425946	uscscuu(Chd)AfuCfAfuUfgaungucsusa	1482	VPusUfsgagCfaAfuUfcaugAfuGfuaagsgsa	1752	TCTCTTACATCATGATTGCTCAG	1212
AD-1425952	asuscuu(Chd)AfuUfGfCfucagaccsusa	1483	VPusAfsaacUfCfUfuccgCfaGfagausgsu	1753	ACATCATGATTGCTCAGACCCCTG	1213
AD-1425965	asgsacc(Chd)UfgCfGfGfaaagaacgsusa	1484	VPusAfsaacUfCfUfuccgCfaGfagucuggsa	1754	TCAGACCCCTGGGGAAGAAGCGCTC	1214
AD-1425971	usgsugg(Uhd)AfgAfcfCfucuaagucsusa	1485	VPusGfsaacUfGfAfgfGfGfUfcccagsgsg	1755	CCTGGGGAAGAAGCGCTCAAGTCA	1215
AD-1425976	asasgaa(Chd)GfCfUfCfAfaagacagaasasa	1486	VPusUfscuuUfGfAfcfuaagaGfcGfuucuuuscsc	1756	GGAAGAAAGCGTCAAGTCAAGAAAG	1216
AD-1425981	csgsuc(Uhd)AfgUfCfAfgaaagugcsusa	1487	VPusGfsaacCfuUfUfcugaCfuUfagagcgsusu	1757	AACGCTCAAGTCAAGAAAGTGGCC	1217

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1425981						
AD-1425984	gsusaau(Chd)AfcAfgUfCfGauguucsasa	1488	VPusGfsaagCfaUfCfGacuGfuGfauuacsasg	1758	CTGTAATCACAGTCGATGCTTCC	1218
AD-1425992	asgsugc(Ahd)UfgCfUfUfCagaccasasa	1489	VPusGfsuggUfcUfGfgaagCfaUfCgacuggsu	1759	ACAGTCGATGCTTCCAGACCACA	1219
AD-1425999	gscsuuc(Chd)AfgAfcCfacagccuusasa	1490	VPusAfsaagGfcUfGfugguCfuGfgaagcsasu	1760	ATGCTTCCAGACCACAGCCTTTC	1220
AD-1426004	csasgac(Chd)AfcAfcCfounucaugsasa	1491	VPusCfscauGfaAfaFggcuGfuGfugugsgsa	1761	TCCAGACCACAGCCTTTCATGGG	1221
AD-1426023	gsusgga(Ghd)AfuCfCfCfauccagugsusa	1492	VPusAfscauUfgGfaFugggAfuCfuccacsusu	1762	AGGTGGAGATCCCATCCAGTGTG	1222
AD-1426028	gsasucc(Chd)AfuCfCfAfguggccasasa	1493	VPusAfsuggCfaCfaFuggAfuGffgaucsusc	1763	GAGATCCCATCCAGTGTGCCATG	1223
AD-1426047	usgsccg(Ghd)CfuCfUfGfuauaggasasa	1494	VPusGfsuucCfuAfuFacagAfgCfCfCgacausg	1764	CATGCCGGCTCTGTATAGGAACC	1224
AD-1426052	gscsuuc(Ghd)UfaUfaFfgaaccagasasa	1495	VPusUfsuucGfgUfUfcuaUfaCfagagcscsg	1765	CGGCTCTGTATAGGAACCAGAAAT	1225
AD-1426057	gsusaua(Ghd)GfaAfcCfCfagaauacsasa	1496	VPusUfsguaAfuUfCfCfugguUfcCfuauacsasg	1766	CTGTATAGGAACCAGAAATTACAA	1226
AD-1426063	gsasacc(Ahd)GfaAfuUfUfacaaacaacsasa	1497	VPusGfsuuuGfuUfGfuauuUfcUfgguuucscsu	1767	AGGAACCAGAAATTACAAACAACACT	1227
AD-1426070	asasuuu(Chd)AfaCfAfaCfagcagcsasa	1498	VPusUfsgcuGfcAfgfuungUfuGfuauuucscsu	1768	AGAAATTACAACAACAACACTGCAGCAC	1228
AD-1426076	asascaa(Ahd)CfuGfCfAfgcaguuacsasa	1499	VPusUfsgaaCfgUfGfougCfUfumuunggsu	1769	ACAACAACACTGCAGCACGTTTCAG	1229
AD-1426082	csusgca(Ghd)CfaCfGfUfucagaccsasa	1500	VPusCfsgggUfcUfGfaacgUfgCfugcagsusu	1770	AACTGCAGCACGTTTCAGACCCTG	1230
AD-1426088	csascgu(Uhd)CfaGfAfcCcgugausasa	1501	VPusUfsaucCfaCfGfugguUfgAfacugscsu	1771	AGCACGTTTCAGACCCTGTTGATAT	1231
AD-1426094	csasgac(Chd)CfGfGfGfaauaacsasa	1502	VPusUfsuggUfaUfaFucaCfGfugucgsasa	1772	TTCAGACCCTGGATATACCAAG	1232
AD-1426099	csescgug(Ghd)AfuAfuAfcfaagagusesasa	1503	VPusGfsacuCfuUfGfuuuAfuCfcaaggsgsu	1773	ACCCGTTGGATATACCAAGAGTCC	1233

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426099						
AD-1426104	gsasuu(Ahd)CfcAfaGfagucccaacsca	1504	VPusGfsungGfgAfcfucumGfgUfaauccsca	1774	TGGATATACCAAAGAGTCCCAACC	1234
AD-1426109	ascscAA(Chd)AfgUfcfcacaacsusa	1505	VPusAfsungGfgUfUfgggaCfuCfunngusasu	1775	ATACCAAAGAGTCCCAACCAACTG	1235
AD-1426115	asgsucc(Chd)AfaCfcAfacugncacsca	1506	VPusGfsugaCfcAfgfunngUfuGfggacuscu	1776	AGAGTCCCAACCAACTGGTCACC	1236
AD-1426122	gscsaag(Chd)CfgAfcUfccagucgsusa	1507	VPusAfsugaGfcUfGfgaguCfgGfcunngcsusg	1777	CAGCAAAGCCGACTCCAGCTCGTA	1237
AD-1426128	csgsacu(Chd)CfaGfcUfcgnaucagsca	1508	VPusGfsucgAfuAfcfgageUfgGfgagcsgsc	1778	GCCGACTCCAGCTCGTATCAGCC	1238
AD-1426137	csuscgU(Ahd)UfcAfgfcfcaucaaccsusa	1509	VPusAfsuggUfgAfuUfggcuGfaUfacgagcsu	1779	AGCTCGTATCAGCCATCAACCTC	1239
AD-1426145	asgscca(Uhd)CfaAfcfcucaccusgsa	1510	VPusCfsaguGfgAfgfagguUfgAfgggcusgsa	1780	TCAGCCATCAACCTCTCCACTGC	1240
AD-1426150	uscscac(Chd)UfcUfcfcfcacugccaagsa	1511	VPusCfsungGfcAfgfuggaGfaGfgunngasusg	1781	CATCAAACCTCTCCACTGCCAAGG	1241
AD-1426155	csuscuc(Chd)AfcUfgfcfcaaggauacsca	1512	VPusGfsaanCfcUfUfggcaGfuGfgagsgsu	1782	ACCTCTCCACTGCCAAGGATTC	1242
AD-1426163	usgscca(Ahd)GfgAfuUfcfaagccgsa	1513	VPusCfsggcUfuUfgfgaanCfcUfgggcasusu	1783	ACTGCCAAGGATTCCAAAGCCGT	1243
AD-1426170	gsasnuC(Chd)AfaAfgfcfcgugncacsca	1514	VPusGfsugaCfcAfcfggcuUfuGfgauncsu	1784	AGGATTCCAAAGCCGGTGGTCACC	1244
AD-1426176	asasagc(Chd)GfuGfgUfcaccugugsusa	1515	VPusAfscaAfgGfuUfgaccAfcGfgcuunsgsg	1785	CCAAAGCCGGTGGTCACCTGTGTG	1245
AD-1426183	usgsugc(Ahd)CfcUfgUfgugaucaususa	1516	VPusAfsaugAfuCfaAfcacaGfgUfgaccascs	1786	CGTGGTCACTGTGTGATCATTTG	1246
AD-1426188	ascscug(Uhd)GfuGfaUfcaungugsusa	1517	VPusAfsugaCfaAfuUfgaucAfcAfcaguggsa	1787	TCACCTGTGTGATCATTTGTGCTG	1247
AD-1426194	gsusgcu(Chd)AfuUfgUfgcugucagsusa	1518	VPusAfsucgAfcAfgfcaAfuGfaucacsasc	1788	GTGTGATCATTTGTGCTGTGCTG	1248
AD-1426199	gsusgcu(Uhd)UfcAfgUfcaugugugsusa	1519	VPusCfsacaCfcAfgfgaUfcafcagacsasa	1789	TTGTGCTGTGATCATTTGTGCTG	1249

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426203						
AD-1426209	uscagu(Chd)CfuCfGfUfgugcugucususa	1520	VPusAfsagacAfgCfAfcaccAfgGfacugagcsa	1790	TGTCAGTCCICGGTGTGTCIGTCTT	1250
AD-1426215	csusggu(Ghd)UfgCfUfgfucuccacsusa	1521	VPusAfsugugGfaAfgfacagCfAfcaccagsgsa	1791	TCCIGGTGTGCTGTCTTCCACTG	1251
AD-1426222	ususucc(Uhd)UfgGfUfAfcaggugususa	1522	VPusAfsaccAfcCfUfguacCfaAfggaaasusc	1792	GATTTCCITGGTACAGGTGGTTC	1252
AD-1426227	ususggu(Ahd)CfaGfGfUfgguucucuscusa	1523	VPusGfsagaGfaAfcfcaccUfgUfaccasgsg	1793	CCITGGTACAGGTGGTTCCTCCTCC	1253
AD-1426236	gsusggu(Uhd)CfuCfUfCfcaagcaauggsa	1524	VPusCfscauUfgCfUfgggagAfgAfcaccacsu	1794	AGGTGGTTCCTCCAGCAATGGG	1254
AD-1426243	uscusucc(Ahd)GfcAfaUfuggagucuscusa	1525	VPusGfsaagCfuCfcfcauuGfcUfggagagsa	1795	TCCTCCAGCAATGGGAGCTTCA	1255
AD-1426251	asasugg(Ghd)AfgCfUfUfcauucunusasa	1526	VPusUfsaaaGfaAfuUfgaagCfuCfcauuugsc	1796	GCAATGGGAGCTTCATTCCTTAC	1256
AD-1426260	ususeau(Uhd)CfuUfUfAfcaguuuggsa	1527	VPusUfscaaaAfcUfGfguaaAfgAfaugaasgsc	1797	GCTTCATTCCTTACCAGTTTGAA	1257
AD-1426266	csusuuu(Chd)CfaGfUfUfugaauugususa	1528	VPusAfsacaAfuUfCfaaacUfgGfuaaagsasa	1798	TTCTTTACCAGTTTGAATTGTTT	1258
AD-1426272	csasggm(Uhd)GfaAfuUfuguuggaususa	1529	VPusAfsaucCfaAfaAfcfaauUfcAfaacugsgsu	1799	ACCAGTTTGAATTGTTTGGATT	1259
AD-1426278	asasung(Uhd)UfuGfGfAfuuaucucuscusa	1530	VPusAfsagaGfuAfaAfauccAfaAfcfaauusosa	1800	TGAATTGTTTGGATTTACTICTTA	1260
AD-1426289	uscstuu(Uhd)AfuUfUfUfcaagucagsa	1531	VPusCfsugaCfuUfGfaaaaAfuAfuagaagsu	1801	ACTCTTATATTTTTTCAAGTCAGG	1261
AD-1426298	ususuca(Ahd)GfuCfAfgfaauaaacsusa	1532	VPusGfsguuUfaAfuUfcugAfcUfugaasasa	1802	TTTTTCAAGTCAGGATTAAACCC	1262
AD-1426304	gsuscag(Ghd)AfuUfAfaAfcaccunusasa	1533	VPusUfsaaaAfgGfGfuuuuAfuCfeguacsusu	1803	AAGTCAGGATTAAACCCTTTTAT	1263
AD-1426311	asasccc(Uhd)UfuUfAfuAfaauucucuscusa	1534	VPusCfsgagAfaUfaAfuuaAfaAfggguususa	1804	TAAACCCTTTTATATATTCCTCGG	1264
AD-1426317	ususuuu(Uhd)AfuAfuUfUfucuggaacsasa	1535	VPusUfsguuCfcGfAfgaaUfaAfuuaaasgsg	1805	CCTTTTATATATTCCTCGGAACAG	1265

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426316						
AD-1426321	usasuu(Uhd)CfuCfGfGfaacagucgsasa	1536	VPusUfsgcaCfuGfUfuccgAfgAfaauasusa	1806	TATATAATTCTCGGAACAGTGCCAG	1266
AD-1426326	uscucg(Ghd)AfaCfaGfGfucagggcsusa	1537	VPusAfsgccCfuGfCfacugUfuCfcgagasasu	1807	ATTCTCGGAACAAGTGCAGGGCTG	1267
AD-1426338	gscsagg(Ghd)CfuGfaGfaaggaagsusa	1538	VPusAfsuuUfcCfUfucucAfgCfccugcsasc	1808	GTGCAGGGCTGAGAAAGGAAAAGTG	1268
AD-1426343	gscsuu(Ghd)AfaGfGfaaagucucusa	1539	VPusAfsaggCfaCfUfuuccUfuCfucagcsesc	1809	GGGCTGAGAAAGGAAAAGTGTCTCTG	1269
AD-1426348	gsasagg(Ahd)AfaGfUfGfucuggucgsa	1540	VPusGfscacCfaGfaGfcaCfUfufecucusc	1810	GAGAAAGGAAAAGTGTCTCTGGTGCC	1270
AD-1426361	csusgg(Ghd)CfcUfcCfaaucauagsa	1541	VPusCfsuuGfuAfuUfuggaGfgCfaceagsag	1811	CTCTGGTGCCTCCAATACATAGG	1271
AD-1426367	cscsucc(Ahd)AfuAfcfa fuaggucugsgsa	1542	VPusCfscagGfcCfUfauguAfuUfagggsesa	1812	TGCCTCCAATACATAGGCCCTGGG	1272
AD-1426372	asasuac(Ahd)UfaGfGfCfcugguuususa	1543	VPusAfsaaaCfcCfaGfggcUfaUfguuuusgsg	1813	CCAATACATAGGCCCTGGGTTTT	1273
AD-1426373	ususu(Ghd)CfuGfCfaaacaagsasa	1544	VPusUfscuuUfuGfUfuggcAfgCfagaasasa	1814	TTTTTCTGCTGCACAAAACAAAAGAC	1274
AD-1426380	usgscaa(Ahd)CfaAfaAfaGacucgacsusa	1545	VPusAfsugcGfaGfUfucuuUfgUfuugcagsgc	1815	GCTGCAACAAAAGACTCGACTCGACTT	1275
AD-1426385	ascsaac(Ahd)GfaCfUfcfagucaggsa	1546	VPusCfsucgAfaGfUfegagUfcUfuuugususu	1816	AAACAAAAGACTCGACTTCGAGC	1276
AD-1426390	asgsacu(CHd)GfaCfUfGfagcccaugsasa	1547	VPusCfsaugGfcUfcGfaagUfcGfagucususu	1817	AAAGACTCGACTTCGAGCCATGG	1277
AD-1426396	gsasuu(CHd)GfaGfCfCfauggaasasa	1548	VPusUfsuuCfcCfa fuggcUfcGfaagucgsa	1818	TCGACTTCGAGCCATGGGAAAAG	1278
AD-1426401	csgsagg(CHd)AfuGfGfGfaaaagggsasa	1549	VPusUfsuccCfuUfUfuccAfuGfucuggsasa	1819	TTCGAGCCATGGGAAAAGGGAAC	1279
AD-1426406	csasugg(Ghd)AfaAfaAfgfgaacucgsa	1550	VPusCfsaggGfuUfcfcuuUfuCfaceugsgc	1820	GCCATGGGAAAAGGGAACCTCGA	1280
AD-1426411	asasagg(Ghd)AfaCfCfUfcgagucasasa	1551	VPusUfsugaCfuUfcfaggUfuCfccuuusc	1821	GAAAAGGGAACCTCGAAGTCAAC	1281

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426413						
AD-1426419	asascu(Chd)GfaAfgUfcaacagaasasa	1552	VPusUfsuucUfgUfUfgacuUfcGfagguuscsc	1822	GGAACCTCGAAGTCAACAGAAAC	1282
AD-1426425	gsasagu(Chd)AfaCfAfgfaacaanausasa	1553	VPusGfsauuUfgUfUfucugUfuGfacuucgsa	1823	TCGAAGTCAACAGAAACAATAATCC	1283
AD-1426430	csasaca(Ghd)AfaAfcAfaauncuccsasa	1554	VPusGfsggaGfgAfuFuunguUfuCfugmugsasc	1824	GTC AACAGAAA CA AATCCTCCCA	1284
AD-1426436	asasaca(Ahd)AfuCfcUfcccuaucgsa	1555	VPusCfsaugAfuGfGfaggAfuUfugnuuscsc	1825	AGAAA CA AATCCTCCCATCATGA	1285
AD-1426442	asusccu(Chd)CfcAfuCfaugaacacasa	1556	VPusUfsuguUfuCfAfuugauGfgGfaggaususu	1826	AAATCCTCCCATCATGAACAAA	1286
AD-1426447	cscscuu(Chd)AfuGfAfaaacaucusa	1557	VPusAfsagUfuUfGfuucAfuGfauggsasg	1827	CTCCCATCATGAACAAA CA AACTCTG	1287
AD-1426453	asusgaa(Ahd)CfaAfaCfucugccuacasa	1558	VPusGfsuugGfcAfgfaguUfgUfucuaugsa	1828	TCA TGA A A CA A A A C T C T G C C T A C A	1288
AD-1426462	ascsucu(Ghd)CfcUfaCfauguaucusa	1559	VPusAfsaguAfaCfAfuuaGfgCfagagususu	1829	AAACTCTGCCTACATGTTATCTC	1289
AD-1426467	gscscua(Chd)AfuGfUfauuccaasasa	1560	VPusUfsuugGfaGfaAfaacAfuGfauggsasg	1830	CTGCCTACATGTTATCTCCAAAG	1290
AD-1426472	csasugu(Uhd)AfuCfUfcaagccasasa	1561	VPusGfsuugCfuUfUfggagAfuAfacuugusa	1831	TACATGTTATCTCCAAAAGCCACA	1291
AD-1426481	uscscuu(Ahd)GfcCfaCfagaagaasasa	1562	VPusAfsuucUfuCfufugGfcUfuggsasg	1832	TCTCCAAAAGCCACAGAAAGAAATT	1292
AD-1426486	asgscca(Chd)AfgAfaGfaaauuggsa	1563	VPusCfsacaAfaUfufuucUfuGfuggsusu	1833	AAAGCCACAGAAAGAAATTTGTGG	1293
AD-1426491	csasgaa(Ghd)AfaAfuUfuggaccsasa	1564	VPusUfsugguCfcAfcfaauUfuCfuucugsusg	1834	CACAGAAAGAAATTTGTGGACCAG	1294
AD-1426496	gsasaa(Uhd)UfgUfgGfaccaggcusa	1565	VPusAfsagCfuGfGfucaCfaAfaunucusu	1835	AAGAAAATTTGTGGACCAGGCTTG	1295
AD-1426507	ascsccag(Ghd)CfuUfgUfugcccaugsasa	1566	VPusAfsuucUfgGfcfaaAfgCfuggsuscsc	1836	GGACCAGGCTTGTGGCCCCAAGTC	1296
AD-1426512	usgsuug(Chd)CfcAfaGfucauucasa	1567	VPusUfsuugAfaUfGfacuuGfgGfccacasag	1837	CTTGTGGCCCCAAGTCATCAAAA	1297

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426515						
AD-1426520	csccaa(Ghd)UfcAfuUfcaaaagaasasa	1568	VPusUfsuucUfuUfUfgaaUfGfCfuugggscsc	1838	GGCCCAAGTCATTCAAAAAGAAAAG	1298
AD-1426527	csasuuc(Ahd)AfaAfgAfaaauuggsusa	1569	VPusAfsccaUfaCfuUfuucUfuUfgaaugsasc	1839	GTCATTCAAAAAGAAAAGTATGGTG	1299
AD-1426532	asasaa(Ghd)AfaGfUfa fugggaguscasa	1570	VPusGfsacuCfaCfcfaucUfuUfuuuuggsa	1840	TCAAAAAGAAAAGTATGGTGAGTCC	1300
AD-1426539	asgsuau(Ghd)GfuGfAfgfucceaaagasusa	1571	VPusAfsuucUfgGfGfacucAfcCfaucucusu	1841	AAAGTATGGTGAGTCCCAAGATC	1301
AD-1426546	usgsagu(Chd)CfcAfaGfauucugcsusa	1572	VPusAfsagcaGfaGfA fucuuGfgGfaucaascsc	1842	GGTGAGTCCCAAGATCTCTGTCTG	1302
AD-1426551	csccaa(Ghd)AfuCfuCfugcuggacsasa	1573	VPusUfsgucCfaGfCfagagAfuCfuugggsasc	1843	GTCCCAAGATCTCTGTCTGGACAT	1303
AD-1426556	gsasucu(Chd)UfgCfuGfgacaucacsasa	1574	VPusGfsungAfuGfUfucagCfaGfauaucusu	1844	AAGATCTCTGTCTGGACATCAACA	1304
AD-1426561	csusgcu(Ghd)GfaCfa fUfcaacacuggsusa	1575	VPusAfsccagUfgUfUfgaaUfcCfagcagsasc	1845	CTCTGTCTGGACATCAACACTGTG	1305
AD-1426567	gsasacu(Chd)AfaCfaCfugugcuacsasa	1576	VPusCfsugaCfcAfcfagugUfuGfauucscsa	1846	TGGACATCAACACTGTGGTCAAGA	1306
AD-1426574	ascsacu(Ghd)UfgGfUfCfagagcagcsusa	1577	VPusAfsagcuGfcUfcfugacCfaCfagugusug	1847	CAACACTGTGGTCAAGAGCAGCTC	1307
AD-1426583	csasaca(Chd)UfcGfGfAfuugaaccusasa	1578	VPusAfsagguUfuCfa fauccGfaGfuuuggsasu	1848	ATCAACACTCGGATTGAAACCTTA	1308
AD-1426588	csuscgg(Ahd)UfuGfA fAfcuuuacuacsasa	1579	VPusGfsuagUfaAfgfugucAfaUfccgagsug	1849	CACTCGGATTGAAACCTTACTACA	1309
AD-1426594	ususgaa(Chd)CfuUfa fCfuacagcaucacsasa	1580	VPusGfsaugCfuGfUfaguaAfgfuucaausc	1850	GATTGAAACCTTACTACAGCATCT	1310
AD-1426599	cscsuua(Chd)UfaCfaGfcaucuauasasa	1581	VPusUfsuauAfgAfuGfcugUfaGfuaaggsusu	1851	AACCTTACTACAGCATCTATAAC	1311
AD-1426604	csusaca(Ghd)CfaUfcUfauaacagcsasa	1582	VPusUfsgucGfuUfa fuaigaUfgCfuguaugsusa	1852	TACTACAGCATCTATAACAGCAG	1312
AD-1426604	csasucu(Ahd)UfaAfcA fgcagccucusa	1583	VPusAfsagggfUfGfcugnUfaUfagauagscu	1853	AGCATCTATAACAGCAGCCCTTC	1313

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426610						
AD-1426638	gsasag(Chd)AfgCfCfCfauguuacusus	1584	VPusAfsaguUfaCfa fugggCfuGfucucscsu	1854	AGGAGAGCAGCCCATGTAACTTA	1314
AD-1426643	csasgcc(Chd)AfuGfUFAfacuuacagscsa	1585	VPusGfscugUfaAfgfuuacAfuGfggugscsu	1855	AGCAGCCCATGTAACTTACAGCC	1315
AD-1426649	asusgua(Ahd)CfuUfaCfagccaguuasasa	1586	VPusUfsuacUfgGfCfuguaAfgUfuacausgsg	1856	CCATGTAACTTACAGCCAGTAAA	1316
AD-1426655	csusuac(Ahd)GfcCfaFcfuaacucususa	1587	VPusAfsagaGfuUfUfacugGfcUfguaagsusu	1857	AACTTACAGCCAGTAAACTCITT	1317
AD-1426662	csesagu(Ahd)AfaCfUfCfunuuggaususa	1588	VPusAfsaucCfaAfa fagagUfuUfacuggscsu	1858	AGCCAGTAAACTCTTTTGGAITT	1318
AD-1426669	asesucu(Uhd)UfuGfGfAfuungccaasusa	1589	VPusAfsungGfcAfa fauccAfaA fagagususu	1859	AAACTCTTTTGGAITTGGCCAATT	1319
AD-1426678	gsasuuu(Ghd)CfcAfaUfucuuauaususa	1590	VPusAfsauuUfaUfGfaauUfgCfaauucscsa	1860	TGGAITTGGCCAATTTCATATATIG	1320
AD-1426687	asusuca(Uhd)AfuAfuUfUfgccaugcasusa	1591	VPusAfsugcAfuGfGfcauuAfuA fugaugsusu	1861	CAATTCATATATITGCCATGCAIT	1321
AD-1426693	asusauu(Ghd)CfcAfuGfcauuuacscsa	1592	VPusGfsugaUfaAfuUfgcauGfgCfaauuasusu	1862	ATATAITGGCCATGCAATTATCACA	1322
AD-1426701	asusgca(Uhd)UfaUfCfAfcaccacuasasa	1593	VPusUfsuagUfgGfUfgugaUfaA fugcausgsg	1863	CCATGCATTATCACACCACCTAAT	1323
AD-1426707	usasuca(Chd)AfcCfaCfuaaugacusus	1594	VPusAfsaguCfaUfUfagugGfuGfugauasasu	1864	ATTATCACACCACCTAATGACTTA	1324
AD-1426712	csascca(Chd)UfaAfuGfcauuuagucscsa	1595	VPusGfscacUfaAfgfucuuUfaGfuggugsusu	1865	CACACCACCTAATGACTTAGTGCA	1325
AD-1426719	asasuga(Chd)UfuAfuGfUfgcagaauasasa	1596	VPusUfsauuCfcUfGfcauuAfaGfucuuasag	1866	CTAATGACTTAGTGCAGGAATAT	1326
AD-1426725	ususuagu(Ghd)CfaGfGfAfauuuagacagsa	1597	VPusCfsuuguCfaUfa fuuccUfgCfacuuasgsu	1867	ACTTAGTGCAGGAATATGACAGC	1327
AD-1426730	gsesag(Chd)AfuAfuUfGfacagacacusus	1598	VPusAfsaguGfcUfGfucuuAfuUfuccuysasc	1868	GTGCAGGAATATGACAGCAGCCTTC	1328
AD-1426739	usasuaga(Chd)AfgCfaCfuuuagccaasasa	1599	VPusUfsuggCfuGfa fagugCfuGfucuuasusu	1869	AAATATGACAGCAGCCTTCAGCCAAAG	1329

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426737						
AD-1426745	csasuu(Chd)AfgCfcfA fagcagaunscsa	1600	VPusGfsaauCfuGfcfuggCfuGfaugsgesu	1870	AGCACTTCAGCCAAGCAGATTCC	1330
AD-1426750	csasgcc(Ahd)AfpCfAfgfauccaguscasa	1601	VPusGfsacuGfgAfaucugCfuUfgguggsasa	1871	TTCAGCCAAGCAGATTCCAGTCC	1331
AD-1426752	csusccg(Uhd)UfuAfaAfgucauggasgsa	1602	VPusCfsuccAfuGfAfcuuuAfaAfcggagsgsg	1872	CCCTCCGTTTAAAGTCATGGAGG	1332
AD-1426760	asasagu(Chd)AfuGfGfAfgycuaugsgsa	1603	VPusCfsuaUfaGfCfuccAfuGfacuuusasa	1873	TTAAAGTCATGGAGGCTATAGGA	1333
AD-1426768	gsgsagg(Chd)UfaUfaUfAfgaucuuuugsga	1604	VPusCfsaauAfgAfuUfcuaUfaGfuccesasu	1874	ATGGAGGCTATAGGATCTTATGT	1334
AD-1426773	csusuuu(Ghd)GfaUfcUfuauuaaascsa	1605	VPusGfsuuuAfcAfuAfaagaUfcCfuauagsgc	1875	GGCTATAGGATCTTATGTAAACA	1335
AD-1426778	gsgsanc(Uhd)UfaUfGfUfaaacaguususa	1606	VPusAfsaacUfgUfuUfaUfaAfgaucsusa	1876	TAGGATCTTATGTAAACAGTTTT	1336
AD-1426789	asasaca(Ghd)UfuUfuUfUfgnuucugasusa	1607	VPusAfsucaGfaAfaAfaaaAfaCfuguuusasc	1877	GTAAACAGTTTTTGTCTTGATA	1337
AD-1426794	gsgsuuu(Uhd)GfuUfUfcfugauaguasasa	1608	VPusUfsuacUfaUfcfagaaAfcAfaaaacsusg	1878	CAGTTTTTGTCTTGATAGTAAT	1338
AD-1426799	usgsuuu(Chd)UfgAfuAfguaauaggascsa	1609	VPusGfsuccAfuUfaAfcuaUcfaGfaaacasasa	1879	TTTGTCTTGATAGTAATGGACT	1339
AD-1426804	csusgau(Ahd)GfuAfaUfggacuuuasusa	1610	VPusAfsuaaAfgUfcfcuuAfcUfaucagsasa	1880	TTCTGATAGTAATGGACTTTATT	1340
AD-1426812	asasugg(Ahd)CfuUfUfaAfuucuaucususa	1611	VPusAfsaguUfaGfaAfauaaAfgUfccauuasasc	1881	GTAATGGACTTTATTCTTAACCTTG	1341
AD-1426819	ususuau(Uhd)CfuAfaCfingagauacsasa	1612	VPusUfsgauCfuCfaAfaumuAfgAfauaaagsu	1882	ACTTTATTCTAACTTGAGATCAG	1342
AD-1426824	uscsuaa(Chd)UfuGfAfgfaucagugggsasa	1613	VPusGfsccaCfuGfAfuucAfaGfumuagasasu	1883	ATTCTAACTTGAGATCAGTGGCG	1343
AD-1426832	gsgsgau(Chd)AfgUfGfGfggaucasaasasa	1614	VPusUfsungAfuCfcfccaCfuGfaucuscasa	1884	TTGAGATCAGTGGGGGATCAAAA	1344
AD-1426837	csasgug(Ghd)CfGfAfuAfaaaaccusasa	1615	VPusUfsaggUfuUfUfgaucCfGfcacugsasu	1885	ATCAGTGGGGGATCAAAAACCTAC	1345

雙螺旋名稱	正義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	反義股序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.	mRNA 標靶序列 5' 至 3'	SEQ ID NO.
1426933						
AD-1426938	gsascau(Chd)UfuAfaGfauuuugaugsusa	1632	VPusAfscauCfaAfaAfuuuAfaGfaugucsasa	1902	TTGACATCTTAAGATTIIGATGTG	1362
AD-1426944	ususaag(Ahd)UfuUfGfAfuugaaagsusa	1633	VPusAfsuuUfcAfcfaucaAfaUfcuuuaagsa	1903	TCTTAAGATTTTGATGTGAAAAGTT	1363
AD-1426950	ususuga(Uhd)GfuGfaAfafaguuuuagsasa	1634	VPusUfsuaAfaAfcfuucAfcAfucaaausuc	1904	GATTTGATGTGAAAAGTTTATAGAT	1364

表 6. Hepa1-6 細胞中之體外單劑量篩查

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1425192.1	8.565	0.498
AD-1425186.1	8.465	0.764
AD-1425180.1	17.453	1.691
AD-1425175.1	9.590	0.784
AD-1425170.1	11.877	1.230
AD-1425165.1	5.945	0.485
AD-1425158.1	7.310	0.948
AD-1425150.1	10.780	1.036
AD-1425144.1	6.601	0.560
AD-1425138.1	7.060	0.644
AD-1425132.1	8.986	0.341
AD-1425123.1	6.734	0.563
AD-1425118.1	11.254	0.751
AD-1425113.1	8.444	0.395
AD-1425107.1	7.246	0.413
AD-1425101.1	20.128	1.939
AD-1425096.1	12.141	0.735
AD-1425091.1	12.598	0.800
AD-1425086.1	18.239	0.877
AD-1425079.1	22.619	0.326
AD-1425074.1	13.860	0.689
AD-1425066.1	14.325	0.614
AD-1425061.1	7.542	0.687
AD-1425054.1	6.767	0.244
AD-1425046.1	10.605	0.739
AD-1425041.1	14.578	1.037
AD-1425036.1	8.267	0.982
AD-1425031.1	12.969	1.131
AD-1425020.1	9.164	0.312
AD-1425015.1	13.841	2.024
AD-1425010.1	33.159	0.983
AD-1425002.1	61.691	2.486
AD-1424994.1	46.510	3.765
AD-1424992.1	35.041	0.992
AD-1424987.1	25.453	1.471
AD-1424979.1	16.676	1.108
AD-1424972.1	21.708	1.639
AD-1424967.1	13.993	0.745
AD-1424961.1	17.721	0.966
AD-1424954.1	47.054	1.432
AD-1424949.1	21.479	1.792
AD-1424943.1	16.120	1.091
AD-1424935.1	42.873	2.471
AD-1424929.1	9.644	0.814
AD-1424920.1	12.141	1.338
AD-1424911.1	8.482	0.695
AD-1424904.1	13.597	1.200

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1424897.1	13.075	1.090
AD-1424891.1	50.540	2.915
AD-1424885.1	31.245	2.013
AD-1424880.1	36.367	1.591
AD-1424852.1	22.117	1.970
AD-1424846.1	28.804	1.805
AD-1424841.1	14.574	1.162
AD-1424836.1	21.257	1.413
AD-1424830.1	16.262	0.373
AD-1424825.1	13.649	0.627
AD-1424816.1	55.468	5.151
AD-1424809.1	32.073	0.933
AD-1424803.1	43.880	2.936
AD-1424798.1	32.087	1.719
AD-1424793.1	47.575	5.991
AD-1424788.1	50.901	4.298
AD-1424781.1	24.548	2.975
AD-1424774.1	14.471	1.268
AD-1424769.1	32.269	1.466
AD-1424762.1	23.334	3.213
AD-1424757.1	32.328	2.544
AD-1424749.1	67.802	4.870
AD-1424738.1	22.873	1.466
AD-1424733.1	29.561	1.747
AD-1424728.1	66.435	5.331
AD-1424723.1	26.834	0.706
AD-1424714.1	27.862	1.676
AD-1424709.1	14.536	1.000
AD-1424704.1	25.917	1.689
AD-1424695.1	15.127	0.613
AD-1424689.1	15.587	0.697
AD-1424684.1	46.487	3.711
AD-1424678.1	16.130	0.799
AD-1424672.1	24.262	3.048
AD-1424667.1	18.150	1.678
AD-1424661.1	25.616	1.655
AD-1424655.1	38.626	1.797
AD-1424648.1	50.175	3.818
AD-1424643.1	42.709	3.591
AD-1424638.1	44.915	2.539
AD-1424632.1	49.865	4.824
AD-1424627.1	55.723	6.908
AD-1424622.1	43.846	1.080
AD-1424615.1	32.033	2.025
AD-1424614.1	30.788	1.149
AD-1424609.1	61.666	4.642
AD-1424603.1	65.665	3.768
AD-1424590.1	53.062	3.860
AD-1424585.1	28.415	1.899

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1424580.1	55.078	1.686
AD-1424568.1	41.515	1.982
AD-1424563.1	19.505	1.250
AD-1424558.1	23.028	0.993
AD-1424553.1	16.284	0.985
AD-1424546.1	11.187	0.706
AD-1424540.1	17.507	1.012
AD-1424531.1	17.320	1.283
AD-1424520.1	4.630	0.232
AD-1424514.1	9.939	0.812
AD-1424508.1	8.556	0.754
AD-1424502.1	21.349	0.877
AD-1424493.1	17.843	1.747
AD-1424485.1	30.610	2.631
AD-1424478.1	61.007	3.912
AD-1424469.1	32.853	1.369
AD-1424464.1	51.900	3.541
AD-1424457.1	29.556	2.357
AD-1424451.1	34.874	2.531
AD-1424445.1	70.386	8.353
AD-1424436.1	48.471	3.818
AD-1424430.1	45.783	1.769
AD-1424425.1	50.950	3.366
AD-1424418.1	87.204	6.562
AD-1424412.1	73.274	2.931
AD-1424405.1	75.847	4.689
AD-1424397.1	62.232	5.118
AD-1424392.1	76.901	4.989
AD-1424387.1	46.468	4.034
AD-1424379.1	53.521	5.586
AD-1424370.1	42.451	2.531
AD-1424364.1	43.564	5.238
AD-1424357.1	45.116	3.278
AD-1424351.1	38.097	0.970
AD-1424346.1	39.452	3.109
AD-1424341.1	33.698	2.879
AD-1424336.1	25.375	1.957
AD-1424330.1	41.628	4.031
AD-1424324.1	37.701	3.407
AD-1424318.1	26.294	0.515
AD-1424312.1	24.052	0.981
AD-1424305.1	27.852	2.316
AD-1424299.1	22.584	2.086
AD-1424294.1	51.519	1.803
AD-1424289.1	42.941	1.678
AD-1424270.1	35.257	3.744
AD-1424265.1	62.888	5.700
AD-1424246.1	84.658	9.451
AD-1424241.1	44.204	3.016

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1424234.1	50.357	4.163
AD-1424226.1	27.269	2.365
AD-1424223.1	33.605	4.209
AD-1424218.1	29.956	2.667
AD-1424213.1	59.975	5.991
AD-1424207.1	52.313	0.765
AD-1424194.1	20.673	0.074
AD-1424188.1	12.924	0.655
AD-1424180.1	29.629	2.075
AD-1424175.1	89.041	8.803
AD-1424169.1	26.243	1.322
AD-1424161.1	59.462	2.316
AD-1424154.1	46.060	4.064
AD-1424148.1	41.628	3.914
AD-1424140.1	25.862	0.910
AD-1424135.1	39.521	3.588
AD-1424130.1	18.847	1.395
AD-1424123.1	15.079	0.890
AD-1424117.1	26.131	1.974
AD-1424111.1	59.254	2.466
AD-1424105.1	69.488	2.791
AD-1424096.1	49.312	4.503
AD-1424091.1	58.003	3.345
AD-1424086.1	59.559	5.148
AD-1424080.1	45.710	4.656
AD-1424073.1	34.564	2.136
AD-1424064.1	25.792	0.263
AD-1424058.1	26.141	1.486
AD-1424053.1	22.964	0.633
AD-1424045.1	46.093	1.286
AD-1424037.1	50.301	2.777
AD-1424031.1	59.288	2.768
AD-1424026.1	63.280	1.294
AD-1424020.1	48.844	1.971
AD-1424013.1	41.244	1.054
AD-1424005.1	51.622	3.232
AD-1423999.1	70.360	4.550
AD-1423994.1	55.737	3.120
AD-1423987.1	79.210	7.576
AD-1423982.1	79.666	6.276
AD-1423977.1	66.658	5.507
AD-1423969.1	80.646	8.227
AD-1423954.1	77.674	8.142
AD-1423943.1	37.922	0.962
AD-1423937.1	44.128	1.943
AD-1423932.1	37.391	1.634
AD-1423927.1	22.455	2.224
AD-1423922.1	25.465	1.303
AD-1423917.1	28.178	2.669

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1423912.1	38.313	1.448
AD-1423906.1	34.517	2.554
AD-1423897.1	31.939	1.213
AD-1423892.1	40.328	3.701
AD-1423887.1	28.423	1.593
AD-1423882.1	26.036	1.091
AD-1423875.1	79.201	4.253
AD-1423870.1	56.439	2.547
AD-1423861.1	54.184	3.822
AD-1423856.1	22.758	2.147
AD-1423851.1	15.026	1.285
AD-1423846.1	22.688	1.849
AD-1423843.1	38.875	4.109
AD-1423838.1	30.603	1.600
AD-1423832.1	30.326	2.507
AD-1423827.1	55.697	2.698
AD-1423822.1	50.081	2.653
AD-1423816.1	38.886	3.117
AD-1423811.1	45.890	2.315
AD-1423805.1	18.962	1.465
AD-1423798.1	24.747	1.229
AD-1423792.1	10.379	0.563
AD-1423785.1	15.091	1.021
AD-1423780.1	32.895	1.437
AD-1423775.1	107.478	7.532
AD-1423767.1	73.371	4.919
AD-1423762.1	18.272	1.397
AD-1423757.1	27.940	1.890
AD-1423754.1	19.282	1.474
AD-1423749.1	20.065	0.874
AD-1423744.1	43.399	4.875
AD-1423739.1	31.176	2.119
AD-1423734.1	50.170	6.254
AD-1423729.1	60.182	6.148
AD-1423722.1	59.997	6.924
AD-1423713.1	28.716	2.353
AD-1423708.1	51.666	2.837
AD-1423699.1	28.611	1.053
AD-1423694.1	26.086	1.940
AD-1423689.1	60.039	5.396
AD-1423684.1	66.325	4.148
AD-1423679.1	66.168	8.444
AD-1423671.1	33.591	1.979
AD-1423666.1	28.115	1.353
AD-1423660.1	52.412	1.846
AD-1423655.1	122.678	9.520
AD-1423640.1	54.833	3.355
AD-1423635.1	58.618	1.049
AD-1423627.1	39.571	1.802

雙螺旋名稱	RLuc/FLuc	
	10 nM	
	平均訊息剩餘之百分比	SD
AD-1423622.1	68.706	5.484
AD-1423615.1	73.172	2.722
AD-1423610.1	77.593	4.672
AD-1423603.1	78.427	1.977
AD-1423596.1	57.492	3.179
AD-1423591.1	45.113	3.474
AD-1423586.1	33.432	2.164
AD-1423581.1	49.109	1.564
AD-1423574.1	25.494	2.343
AD-1423568.1	39.863	2.065
AD-1423563.1	59.684	4.892
AD-1423559.1	60.529	3.187
AD-1423554.1	78.139	5.377
AD-1423540.1	59.912	4.805
AD-1423534.1	81.287	5.576
AD-1423529.1	89.715	5.711
AD-1423523.1	14.507	0.206
AD-1423517.1	20.748	2.013
AD-1423512.1	27.544	1.273
AD-1423507.1	37.435	1.368
AD-1423498.1	69.424	5.969
AD-1423493.1	49.072	5.028
AD-1423485.1	65.529	3.276
AD-1423470.1	42.272	1.967
AD-1423464.1	27.971	2.580
AD-1423459.1	47.512	2.820
AD-1423452.1	27.247	1.206
AD-1423464.1	94.710	5.279
AD-1423459.1	93.372	5.536
AD-1423452.1	90.040	4.598

實施例 3：dsRNA 雙螺旋於小鼠中之體內篩查

【0690】自上述體外研究鑑定的靶向 GPR75 基因之 siRNA 分子係於體內評估。

【0691】例如，可評估 siRNA 分子在過表現人 GPR75 之基因轉殖小鼠中降低 GPR75 表現的能力。或者，或此外，可使用適合之體重性病諸如肥胖的動物模型。可獲得之體重性病之模型的一些實例包括瘦素缺乏型(*ob/ob*)小鼠、瘦素受體缺乏型(*db/db*)小鼠及非肥胖型糖尿病(NOD)小鼠

(King A. *Br J Pharmacol.*, 2012, 166(3): 877–894); 飲食誘導型 C57BL/6J 小鼠模型(Vedova MD, *et al.*, *Nutr Metab Insights.* 2016 ; 9 : 93–102); 或飲食誘導型 *ob/ob* 小鼠模型(Tolbol KS *et al.*, *World J Gastroenterol* 2018, 2: 179)。小鼠模型中很多皆自傑克孫實驗室(Jackson Laboratory)或查爾斯河(Charles River)商購。

【0692】針對在實施例 1 中設計並檢定的所選擇之 dsRNA 劑，評估了它們在此等動物模型中減低 GPR75 表達水平的能力以及治療體重性病徵諸如肥胖的能力。

【0693】簡而言，向同窩幼崽經皮下或鞘內投予 0.1 mg/kg、1 mg/kg、10 mg/kg 或 30 mg/kg 之單劑量感興趣之 dsRNA 或安慰劑。每天監測動物體重。投予之後兩週時，將動物犧牲，收集血液及組織樣本，包括大腦皮質、脊髓、肝、脾及頸部淋巴結。量測肝臟細胞及/或神經元細胞對 dsRNA 之攝取以及標靶基因於經治療之小鼠腦中的表現水平。GPR75 之表現水平藉由原位雜交在小鼠中進一步評估。進一步評估犧牲時之體重、葡萄糖及脂質水平。

等效物

【0694】彼等熟識本領域者應知悉或能夠僅使用常規實驗來探明本文所揭示之具體態樣及方法的多種等效物。此類等效物擬涵蓋於下列申請專利範圍之範疇內。

【發明申請專利範圍】

【請求項1】一種雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)於細胞之表現，其中，該 dsRNA 劑包含形成雙股區域之正義股及反義股，其中，該正義股包含：包含與 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者之核苷酸序列的一部分具有 0、1、2 或 3 個誤配之至少 15 個接續核苷酸的核苷酸序列，或與 SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者之核苷酸序列的一部分具有至少 90%核苷酸序列同一性的核苷酸序列；以及，該反義股包含：包含與 SEQ ID NO：5 至 SEQ ID NO：8 中任一者之核苷酸序列的相應部分具有 0、1、2 或 3 個誤配之至少 15 個接續核苷酸的核苷酸序列，或與 SEQ ID NO：5 至 SEQ ID NO：8 中任一者之核苷酸序列的一部分具有至少 90%核苷酸序列同一性的核苷酸序列；並且，其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【請求項2】一種雙股核糖核酸(dsRNA)劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)於細胞之表現，其包含形成雙股區域之正義股及反義股，其中，該反義股包含與編碼 GPR75 基因之 mRNA(SEQ ID NO：1 至 SEQ ID NO：4 中任一者)的一部分互補的區域，其中，每一股獨立地為 14 至 30 個核苷酸之長度；且其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【請求項3】一種雙股 RNAi 劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)基因於細胞之表現，其包含形成雙股區域之正義股及反義股，其中該反義股包含與表 2 至 5 中任一者中之任一反義核苷酸序列相異不超過

3 個核苷酸的至少 15 個接續核苷酸，其中每一股獨立地為 14 至 30 個核苷酸之長度；且其中，該正義股或該反義股接合至一個或多個親脂性部分。

【請求項4】如請求項 1 至 3 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該正義股或該反義股係選自由表 2 至 5 中任一者中之任一正義股及反義股所組成之群組。

【請求項5】一種雙股 RNAi 劑，其係用於抑制 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)基因於細胞之表現，其包含形成雙股區域之正義股及反義股，其中該正義股包含與 SEQ ID NO: 1 之核苷酸 38-60、50-72、148-181、153-181、153-175、159-181、228-250、240-262、341-363、341-368、346-368、369-396、369-391、374-396、388-410、414-436、424-461、424-446、424-451、434-456、439-461、429-451、457-504、462-504、462-491、482-504、469-491、457-479、462-584、475-497、469-491、509-537、509-531、515-537、544-576、544-566、549-571、580-607、580-602、585-607、595-617、615-647、615-637、620-642、620-647、625-647、773-806、773-795、773-795、778-800、784-806、837-872、837-859、843-872、843-865、850-872、860-882、889-911、900-936、900-922、908-936、908-930、914-936、938-990、938-960、943-965、968-990、1060-1101、1060-1082、1066-1088、1073-1095、1079-1101、1097-1119、1238-1260、1268-1290、1284-1393、1284-1306、1292-1393、1292-1314、1292-1383、1292-1314、1301-1323、1307-1383、1307-1342、1307-1329、1313-1335、1371-1393、1351-1373、1320-1342、1336-1358、1345-1367、1351-1373、1361-1383、1366-1388、1393-1415、1422-1463、1422-1444、1441-1463、1487-1526、1487-1509、

1493-1526、1493-1515、1498-1520、1504-1526、1515-1571、1515-1557、
1515-1543、1515-1537、1521-1543、1530-1552、1535-1557、1540-1562、
1549-1571、1559-1586、1559-1581、1564-1586、1583-1629、1583-1605、
1588-1610、1595-1617、1600-1629、1600-1622、1607-1629、1624-1646、
1635-1657、1672-1721、1672-1710、1677-1699、1699-1721、1672-1699、
1688-1710、1672-1694、1683-1705、1693-1714、1732-1754、1744-1798、
1751-1773、1758-1780、1767-1789、1776-1798、1790-1818、1790-1812、
1796-1818、1808-1856、1808-1848、1808-1836、1808-1830、1826-1848、
1814-1836、1819-1841、1834-1856、1877-2082、1877-1899、1882-2082、
1882-1925、1882-1963、1882-1904、1887-1693、1887-1909、1898-1920、
1903-1925、1908-1930、1913-1935、1913-1950、1921-1950、1921-1943、
1928-1950、1933-1955、1941-1963、1946-1968、1953-1985、1953-2082、
1953-1975、1938-1985、1958-1980、1963-1985、1968-1990、1974-1996、
1974-2065、1974-2082、1974-2002、1980-2002、1985-2007、1990-2012、
1990-2033、1999-2021、2005-2033、2005-2027、2011-2033、2017-2039、
2025-2055、2025-2047、2033-2055、2038-2060、2043-2065、2033-2055、
2048-2070、2054-2082、2054-2076 及 2060-2082 中之任一核苷酸序列相
異不超過 3 個核苷酸的至少 15 個接續核苷酸，其中該反義股包含來自 SEQ
ID NO：2 之相應核苷酸序列的至少 15 個接續核苷酸，以及，其中該正義
股或該反義股係接合至一個或多個親脂性部分。

【請求項6】 如請求項 1 至 5 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該正義
股及該反義股兩者接合至一個或多個親脂性部分。

【請求項7】如請求項 1 至 6 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至該 dsRNA 劑之該雙股區域中的一個或多個位置。

【請求項8】如請求項 1 至 7 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分係經由鏈結子或載劑接合。

【請求項9】如請求項 1 至 8 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，藉由 logKow 量測，該親脂性部分之親脂性係超過 0。

【請求項10】如請求項 1 至 9 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，藉由該雙股 RNAi 劑之血漿蛋白結合檢定中之未結合級分量測，該雙股 RNAi 劑之疏水性係超過 0.2。

【請求項11】如請求項 10 所述之 dsRNA 劑，其中，該血漿蛋白結合檢定係使用人血清白蛋白蛋白質之電泳遷移位移檢定。

【請求項12】如請求項 1 至 11 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該 dsRNA 劑包含至少一個經修飾之核苷酸。

【請求項13】如請求項 12 所述之 dsRNA 劑，其中，不超過五個該正義股之核苷酸及不超過五個該反義股之核苷酸係未經修飾之核苷酸。

【請求項14】如請求項 12 所述之 dsRNA 劑，其中，該正義股之全部核苷酸及該反義股之全部核苷酸係包含修飾。

【請求項15】如請求項 12 至 14 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該經修飾之核苷酸之至少一者係選自由下列所組成之群組：去氧核苷酸、3'-端去氧胸苷(dT)核苷酸、2'-O-甲基修飾之核苷酸、2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、鎖定之核苷酸、未鎖定之核苷酸、構形限定之核苷酸、約束之乙基核苷酸、無鹼基之核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-O-烯丙基

修飾之核苷酸、2'-C-烷基修飾之核苷酸、2'-甲氧基乙基修飾之核苷酸、2'-O-烷基修飾之核苷酸、N-嗎啉基核苷酸、胺基磷酸酯、包含非天然鹼基之核苷酸、四氫呋喃修飾之核苷酸、1,5-失水己糖醇修飾之核苷酸、環己烯基修飾之核苷酸、包含 5'-硫代磷酸酯基團之核苷酸、包含 5'-甲基磷酸酯基團之核苷酸、包含 5'-磷酸酯或 5'-磷酸酯模擬物之核苷酸、包含乙烯基磷酸酯之核苷酸、包含腺苷-二醇核酸(GNA)之核苷酸、包含胸苷二醇核酸(GNA) S 異構物之核苷酸、包含 2-羥甲基-四氫呋喃-5-磷酸酯之核苷酸、包含 2'-去氧胸苷-3'磷酸酯之核苷酸、包含 2'-去氧鳥苷-3'磷酸酯之核苷酸、2'-O-十六烷基核苷酸、包含 2'-磷酸酯之核苷酸、胞苷-2'-磷酸酯核苷酸、鳥苷-2'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-胞苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-腺苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-鳥苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-O-十六烷基-尿苷-3'-磷酸酯核苷酸、5'-乙烯基磷酸酯(VP)、2'-去氧腺苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧胞苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧尿苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧胸苷-3'-磷酸酯核苷酸、2'-去氧尿苷核苷酸、以及鏈結至膽固醇基衍生物及十二酸雙癸基醯胺基團之末端核苷酸；及其組合。

【請求項16】如請求項 15 所述之 dsRNA 劑，其中，該經修飾之核苷酸係選自由下列所組成之群組：2'-去氧-2'-氟修飾之核苷酸、2'-去氧修飾之核苷酸、3'-末端去氧-胸苷核苷酸(dT)、鎖定之核苷酸、無鹼基之核苷酸、2'-胺基修飾之核苷酸、2'-烷基修飾之核苷酸、N-嗎啉基修飾之核苷酸、磷酸醯胺化物、以及包含非天然鹼基之核苷酸。

【請求項17】如請求項 15 所述之 dsRNA 劑，其中，該經修飾之核苷酸包含 3'-末端去氧-胸苷核苷酸(dT)之短序列。

【請求項18】如請求項 15 所述之 dsRNA 劑，其中，該核苷酸之該修飾為 2'-O-甲基修飾、2'-去氧-修飾、2'-氟修飾、5'-膦酸乙烯酯(VP)修飾及 2'-O 十六烷基核苷酸修飾。

【請求項19】如請求項 15 所述之 dsRNA 劑，復包含至少一個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。

【請求項20】如請求項 19 所述之 dsRNA 劑，其中，該 dsRNA 劑包含 6 至 8 個硫代磷酸酯類核苷酸間鏈結。

【請求項21】如請求項 1 至 20 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，每一股係不超過 30 個核苷酸之長度。

【請求項22】如請求項 1 至 21 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一股包含至少 1 個核苷酸的 3'突出。

【請求項23】如請求項 1 至 21 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，至少一股包含至少 2 個核苷酸的 3'突出。

【請求項24】如請求項 1 至 23 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 15 至 30 個核苷酸對之長度。

【請求項25】如請求項 24 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 17 至 23 個核苷酸對之長度。

【請求項26】如請求項 24 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 17 至 25 個核苷酸對之長度。

【請求項27】如請求項 24 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 23 至 27 個核苷酸對之長度。

【請求項28】如請求項 24 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 19 至 21 個核苷酸對之長度。

【請求項29】如請求項 24 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域係 21 至 23 個核苷酸對之長度。

【請求項30】如請求項 1 至 29 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，每一股具有 19 至 30 個核苷酸。

【請求項31】如請求項 1 至 29 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，每一股具有 19 至 23 個核苷酸。

【請求項32】如請求項 1 至 29 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，每一股具有 21 至 23 個核苷酸。

【請求項33】如請求項 1 至 32 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該一個或多個親脂性部分接合到至少一股之一個或多個內部位置。

【請求項34】如請求項 33 所述之 dsRNA 劑，其中，該一個或多個親脂性部分經由鏈結子或載劑接合到至少一股之一個或多個內部位置。

【請求項35】如請求項 34 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除來自至少一股之每一端之末端兩個位置以外的所有位置。

【請求項36】如請求項 34 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除來自至少一股之每一端之末端三個位置以外的所有位置。

【請求項37】如請求項 34 至 36 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置不包括該正義股之裂解位點區域。

【請求項38】如請求項 37 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除從該正義股之 5'-端起計數之位置 9 至 12 以外的所有位置。

【請求項39】如請求項 37 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除從該正義股之 3'-端起計數之位置 11 至 13 以外的所有位置。

【請求項40】如請求項 34 至 36 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置不包括該反義股之裂解位點區域。

【請求項41】如請求項 40 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除從該反義股之 5'-端起計數之位置 12 至 14 以外的所有位置。

【請求項42】如請求項 34 至 36 所述之 dsRNA 劑，其中，該內部位置包括除該正義股從 3'-端起計數之位置 11 至 13 以及該反義股從 5'-端起計數之位置 12 至 14 以外的所有位置。

【請求項43】如請求項 1 至 42 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該一個或多個親脂性部分接合至一個或多個選自由下列所組成之群組的內部位置：該正義股之位置 4 至 8 及 13 至 18，以及該反義股之位置 6 至 10 及 15 至 18，每一股皆自 5'端起計數。

【請求項44】如請求項 43 所述之 dsRNA 劑，其中，該一個或多個親脂性部分接合至一個或多個選自由下列所組成之群組的內部位置：該正義股之位置 5、6、7、15 及 17，以及該反義股之位置 15 及 17，每一股皆自 5'端起計數。

【請求項45】如請求項 7 所述之 dsRNA 劑，其中，該雙股區域中之該等位置不包括該正義股之裂解位點區域。

【請求項46】如請求項 1 至 45 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該正義股係 21 個核苷酸之長度，該反義股係 23 個核苷酸之長度，以及，該親

脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20、位置 15、位置 1、位置 7、位置 6 或位置 2 或該反義股之位置 16。

【請求項47】如請求項 46 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20、位置 15、位置 1 或位置 7。

【請求項48】如請求項 46 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 21、位置 20 或位置 15。

【請求項49】如請求項 46 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至該正義股之位置 20 或位置 15。

【請求項50】如請求項 46 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至該反義股之位置 16。

【請求項51】如請求項 1 至 50 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分係脂族、脂環族或多脂環族化合物。

【請求項52】如請求項 51 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分係選自由下列所組成之群組：脂質、膽固醇、視網酸、膽酸、金剛烷乙酸、1-萘丁酸、二氫鞣固酮、1,3-雙-O(十六烷基)甘油、香葉基氧己醇、十六烷基甘油、冰片、薄荷醇、1,3-丙二醇、十七烷基基團、棕櫚酸、肉豆蔻酸、O3-(油醯基)石膽酸、O3-(油醯基)膽烯酸、二甲氧基三苯甲基或啡啶。

【請求項53】如請求項 52 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C4-C30 烴鏈，以及視需要之選自由羥基、胺、羧酸、磺酸酯、磷酸酯、硫醇、疊氮化物及炔所組成之群組的官能基。

【請求項54】如請求項 53 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C6-C18 烴鏈。

【請求項55】如請求項 53 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分含有飽和或不飽和之 C16 烴鏈。

【請求項56】如請求項 55 所述之 dsRNA 劑，其中，該飽和或不飽和之 C16 烴鏈結合至自該股之 5'-端起計數之位置 6。

【請求項57】如請求項 1 至 54 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分經由載劑接合，該載劑替換該內部位置或該雙股區域中之一個或多個核苷酸。

【請求項58】如請求項 56 所述之 dsRNA 劑，其中，該載劑係選自由下列所組成之群組的環狀基團：吡咯啉基、吡唑啉基、吡啶基、咪唑啉基、咪唑啉基、哌啶基、哌啶基、[1,3]二氧雜環戊基、嘔啶基、異嘔啶基、嗎啉基、噻啶基、異噻啶基、喹啉基、嗒啶基、四氫呋喃基及十氫萘基；或係基於絲胺醇骨幹或二乙醇胺骨幹之非環狀部分。

【請求項59】如請求項 1 至 54 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分經由鏈結子接合至該雙股 RNAi 劑，該鏈結子含有醚、硫醚、脲、碳酸酯、胺、醯胺、馬來醯亞胺-硫醚、二硫化物、磷酸二酯、磺醯胺鏈結、鏈擊化學反應之產物或胺基甲酸酯。

【請求項60】如請求項 1 至 59 中任一項所述之雙股 iRNA 劑，其中，該親脂性部分接合至核酸鹼基、糖部分或核苷間鏈結。

【請求項61】如請求項 1 至 60 所述之 dsRNA 劑，其中，該親脂性部分或靶向配體經由生物可裂解之鏈結子接合，該鏈結子係選自由下列所組成之群組：DAN、RNA、二硫化物、醯胺、半乳胺糖、葡萄胺糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖的官能化之單糖或寡糖，及其組合。

【請求項62】如請求項 1 至 61 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該正義股之 3'端係經由端帽保護，該端帽係具有胺之環狀基團，該環狀基團係選自由下列所組成之群組：吡咯啉基、吡啶啉基、吡啶啉基、咪啶啉基、咪啶啉基、哌啶基、哌啶基、[1,3]二氧雜環戊基、嘔啶啉基、異嘔啶啉基、嗎啉基、噻啶啉基、異噻啶啉基、喹啶啉基、塔吡啶基、四氫呋喃基及十氫萘基。

【請求項63】如請求項 1 至 62 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含靶向肝臟組織之靶向配體。

【請求項64】如請求項 63 所述之 dsRNA 劑，其中，該靶向配體係 GalNAc 接合物。

【請求項65】如請求項 1 至 64 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含：
末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；
末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及
末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【請求項66】如請求項 1 至 64 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含：
末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；
末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及

末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【請求項67】 如請求項 1 至 64 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含：

末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個、第二個及第三個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；

末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及

末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【請求項68】 如請求項 1 至 64 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含：

末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；

末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第三個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；

末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子； 以及

末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【請求項69】 如請求項 1 至 64 中任一項所述之 dsRNA 劑，復包含：

末端手性修飾，其出現於該反義股 3'端之第一個及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Sp 組態之鏈結磷原子；

末端手性修飾，其出現於該反義股 5'端之第一個及第二個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 組態之鏈結磷原子；以及

末端手性修飾，其出現於該正義股 5'端之第一個核苷酸間鏈結處，具有 Rp 或 Sp 組態之鏈結磷原子。

【請求項70】 如請求項 1 至 69 任一項所述之 dsRNA 劑，復包含位於該反義股 5'端之磷酸酯或磷酸酯模擬物。

【請求項71】 如請求項 70 所述之 dsRNA 劑，其中，該磷酸酯模擬物係 5'-乙烯基磷酸酯(VP)。

【請求項72】 如請求項 1 至 69 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，位於該雙鏈之反義股 5'端之第 1 位置處的鹼基對係 AU 鹼基對。

【請求項73】 如請求項 1 至 69 中任一項所述之 dsRNA 劑，其中，該正義股具有總計 21 個核苷酸，且該反義股具有總計 23 個核苷酸。

【請求項74】 一種細胞，其含有如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑。

【請求項75】 一種用於抑制 GPR75 基因之表現的醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑。

【請求項76】 一種醫藥組成物，其包含如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑，以及脂質製劑。

【請求項77】 一種用於口服吸入投予之裝置，係包含如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑。

【請求項78】 如請求項 77 所述之裝置，其中，該裝置係選自由霧化器、計量投予吸入器及乾粉吸入器所組成之群組。

【請求項79】 一種抑制 GPR75 基因於細胞中之表現的方法，該方法包括：

(a) 令該細胞與如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 75 或 76 項所述之醫藥組成物或如請求項 77 或 78 所述之裝置接觸；以及

(b) 將步驟(a)中產生之細胞維持足以獲得 GPR75 基因降解的時間，從而抑制該 GPR75 基因於細胞中的表現。

【請求項80】 如請求項 79 所述之方法，其中，該細胞係位於受試者體內。

【請求項81】 如請求項 80 所述之方法，其中，該受試者係人。

【請求項82】 如請求項 77 至 81 中任一項所述之方法，其中，該 GPR75 基因之表現被抑制至少 50%。

【請求項83】 一種治療被診斷為患有 G 蛋白-偶合受體 75 (GPR75)相關疾病之受試者或處於發展出 GPR75 相關疾病之風險下之受試者的方法，該方法包括投予該受試者治療有效量之如請求項 1 至 73 中任一項所述之 dsRNA 劑或如請求項 75 或 76 所述之醫藥組成物或如請求項 77 或 78 項所述之裝置，從而治療該受試者。

【請求項84】 如請求項 83 所述之方法，其中，該受試者係人。

【請求項85】 如請求項 84 所述之方法，其中，該 GPR75 相關疾病係體重性病。

【請求項86】 如請求項 85 所述之方法，其中，該體重性病係肥胖。

【請求項87】如請求項 83 至 86 中任一項所述之方法，其中，治療包括減輕該疾病之至少一種徵象或症候。

【請求項88】如請求項 83 至 87 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 之投予係導致該受試者血糖水平之降低。

【請求項89】如請求項 83 至 88 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係以約 0.01 mg/kg 至約 50 mg/kg 之劑量投予該受試者。

【請求項90】如請求項 83 至 89 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係經鞘內腔投予該受試者。

【請求項91】如請求項 83 至 89 中任一項所述之方法，其中，該 dsRNA 劑係經皮下投予該受試者。

【請求項92】如請求項 83 至 91 中任一項所述之方法，復包括將適用於治療或預防 GPR75 相關病症的另外之劑或療法投予該受試者。

【請求項93】如請求項 92 所述之方法，其中，該另外之治療劑係選自由下列所組成之群組：糖尿病治療劑、糖尿病併發症治療劑、心血管疾病治療劑、抗高血脂症劑、降壓劑或抗高血壓劑、抗肥胖劑、非酒精性脂肪肝炎(NASH)治療劑、化療劑、免疫治療劑、免疫抑制劑、抗炎劑、抗脂肪變性劑及前述者之任意組合。