

(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号  
特許第7473472号  
(P7473472)

(45)発行日 令和6年4月23日(2024.4.23)

(24)登録日 令和6年4月15日(2024.4.15)

(51)国際特許分類		F I	
C 1 2 N	15/113 (2010.01)	C 1 2 N	15/113 1 4 0 Z
A 6 1 K	48/00 (2006.01)	A 6 1 K	48/00
A 6 1 K	47/54 (2017.01)	A 6 1 K	47/54
A 6 1 K	45/00 (2006.01)	A 6 1 K	45/00
A 6 1 P	43/00 (2006.01)	A 6 1 P	43/00 1 2 1
請求項の数 21 (全197頁) 最終頁に続く			
(21)出願番号	特願2020-521451(P2020-521451)	(73)特許権者	512219840
(86)(22)出願日	平成30年10月16日(2018.10.16)		アローヘッド ファーマシューティカルズ
(65)公表番号	特表2020-537653(P2020-537653 A)		インコーポレイテッド
(43)公表日	令和2年12月24日(2020.12.24)		アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1
(86)国際出願番号	PCT/US2018/056077		0 5 , バサデナ , イースト コロラド
(87)国際公開番号	WO2019/079294	(74)代理人	100099759
(87)国際公開日	平成31年4月25日(2019.4.25)		弁理士 青木 篤
審査請求日	令和3年10月13日(2021.10.13)	(74)代理人	100123582
(31)優先権主張番号	62/635,277		弁理士 三橋 真二
(32)優先日	平成30年2月26日(2018.2.26)	(74)代理人	100117019
(33)優先権主張国・地域又は機関	米国(US)		弁理士 渡辺 陽一
(31)優先権主張番号	62/608,606	(74)代理人	100141977
(32)優先日	平成29年12月21日(2017.12.21)		弁理士 中島 勝
最終頁に続く		(74)代理人	100138210
		最終頁に続く	

(54)【発明の名称】 アシアロ糖タンパク質受容体 1 の発現を阻害するための R N A i 剤および組成物

(57)【特許請求の範囲】

【請求項 1】

A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための組成物であって、前記組成物は、R N A i 剤を含み、前記 R N A i 剤は、  
アンチセンス鎖、ここで前記アンチセンス鎖の 1 ~ 2 1 位 ( 5 ´ から 3 ´ ) に位置するヌクレオチドが、A G C G A C U U C A U C U U U C U U C C G ( 配列番号 6 ) ; 又は A G C G A C U U C A U C U U U C U U C G U ( 配列番号 8 ) ( 5 ´ から 3 ´ ) のヌクレオチドを含むアンチセンス鎖、及び

前記アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるヌクレオチド配列を含むセンス鎖、  
を含み、  
前記センス鎖及びアンチセンス鎖はそれぞれ長さが 2 1 ~ 2 6 ヌクレオチドであり、二重鎖を形成し、かつ

前記センス鎖または前記アンチセンス鎖の少なくとも 1 つのヌクレオチドが、修飾されたヌクレオチドであるか、または前記 R N A i 剤が、1 つ以上の修飾されたヌクレオシド間連結を含む、  
組成物。

【請求項 2】

前記センス鎖が、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ´ から 3 ´ )  
A C C U A U C A U G A C C A A G G A I U A ( 配列番号 1 2 ) ;

A C C U A U C A U G A C C A A G G A G U A (配列番号 13) ;  
 A C C U A U C A U G A C C A A I G A I U A (配列番号 14) ;  
 C G G A A G A A A G A U G A A G U C I C U (配列番号 15) ;  
 A C G A A G A A A G A U G A A G U C I C U (配列番号 16) ;  
 A C G A A G A A A G A U G A A G U C G C U (配列番号 17) ;  
 C G G A A G A A A G A U G A A I U C I C U (配列番号 31) ; 又は  
 C G G A A G A A A G A U G A A G U C G C U (配列番号 33) ;  
 のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列を含み、  
 I は、イノシンヌクレオチドを表す、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 3】

10

前記 RNA i 剤の 0、1、2、3 又は 4 個のヌクレオチドがリボヌクレオチド (2' - ヒドロキシルヌクレオチド) である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 4】

前記センス鎖が、前記ヌクレオチド配列の 3' 末端、前記ヌクレオチド配列の 5' 末端、または 3' 末端および 5' 末端の両方に、逆位脱塩基残基をさらに含む、請求項 3 に記載の組成物。

【請求項 5】

前記アンチセンス鎖が、以下の修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')  
 a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s C f s g (配列番号 5) ;  
 a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s G f s u (配列番号 7) 20  
 ; 又は  
 a s G f s c s g a c u u c a u C f u U f u C f u U f c G f s u (配列番号 9) ; を  
 含む、a が、2' - O - メチルアデノシンを表し、c が、2' - O - メチルシチジンを表し、g が、2' - O - メチルグアノシンを表し、u が、2' - O - メチルウリジンを表し、A f が、2' - フルオロアデノシンを表し、C f が、2' - フルオロシチジンを表し、G f が、2' - フルオログアノシンを表し、U f が、2' - フルオロウリジンを表し、s が、ホスホロチオエート連結を表し、前記センス鎖の 0、1 又は 2 個のヌクレオチドが、リボヌクレオチド (2' - ヒドロキシルヌクレオチド) である、請求項 1 に記載の組成物。

【請求項 6】

30

前記センス鎖が、以下のヌクレオチド配列 (5' から 3')  
 c g g a a g a a A f G f A f u g a a g u c i c u (配列番号 23) ;  
 a c g a a g a a A f G f A f u g a a g u c i c u (配列番号 24) ;  
 a c g a a g a a A f G f A f u g a a g u c g c u (配列番号 25) ;  
 c g g a a g a a A f G f A f u g a a i u c i c u (配列番号 32) ; 又は  
 c g g a a g a a A f G f A f u g a a g u c g c u (配列番号 34) ; のうちの 1 つと  
 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列を含み、a が、2' -  
 O - メチルアデノシンを表し、c が、2' - O - メチルシチジンを表し、g が、2' - O -  
 メチルグアノシンを表し、i が、2' - O - メチルイノシンを表し、u が、2' - O -  
 メチルウリジンを表し、A f が、2' - フルオロアデノシンを表し、C f が、2' - フル  
 オロシチジンを表し、G f が、2' - フルオログアノシンを表し、そして U f が、2' -  
 フルオロウリジンを表す、請求項 5 に記載の組成物。 40

【請求項 7】

前記センス鎖およびアンチセンス鎖が、以下のヌクレオチド配列対 (5' から 3')  
 a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s C f s g (配列番  
 号 : 5) 及び  
 c g g a a g a a A f G f A f u g a a g u c i c u (配列番号 23) ;  
 a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s G f s u (配列番  
 号 7) 及び  
 a c g a a g a a A f G f A f u g a a g u c i c u (配列番号 24) ;  
 a s G f s c s g a c u u c a u C f u U f u C f u U f c G f s u (配列番号 9) 50

) 及び

a c g a a g a a A f G f A f u g a a g u c g c u ( 配列番号 2 5 ) ;  
a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s C f s g ( 配列番号 5 ) 及び

c g g a a g a a A f G f A f u g a a i u c i c u ( 配列番号 3 2 ) ; 又は  
a s G f s c G f a C f u u c a u C f u U f u C f u U f c s C f s g ( 配列番号 5 ) 及び

c g g a a g a a A f G f A f u g a a g u c g c u ( 配列番号 3 4 ) ;  
のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列を含む二重鎖を形成し、a が、2'-O-メチルアデノシンを表し、c が、2'-O-メチルシチジンを表し、g が、2'-O-メチルグアノシンを表し、i が、2'-O-メチルイノシンを表し、u が、2'-O-メチルウリジンを表し、A f が、2'-フルオロアデノシンを表し、C f が、2'-フルオロシチジンを表し、G f が、2'-フルオログアノシンを表し、そして U f が、2'-フルオロウリジンを表す、請求項 1 に記載の組成物。

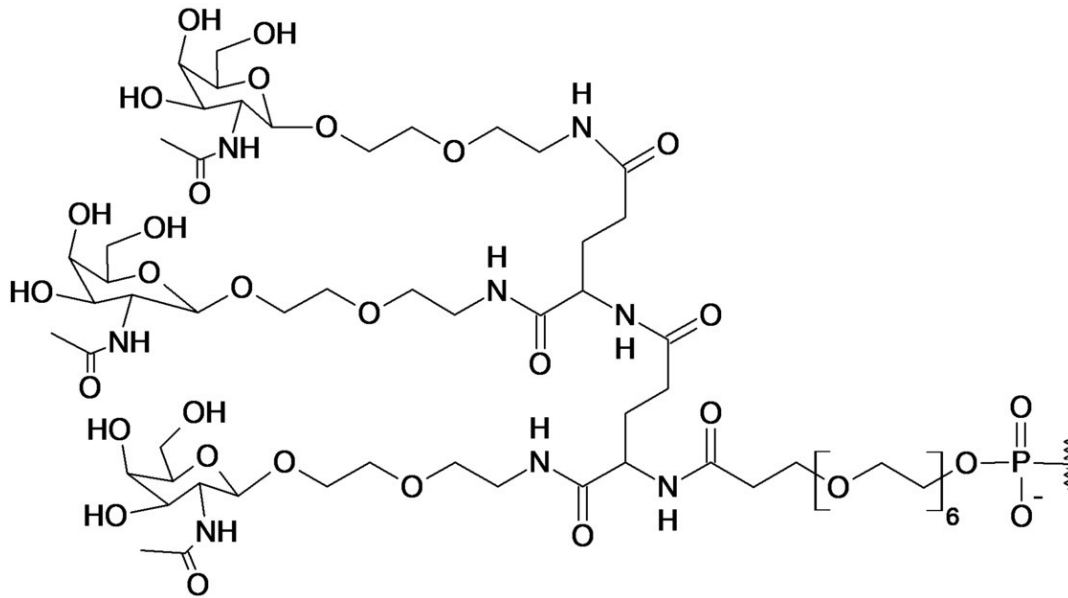
【請求項 8】

前記 RNA i 剤が、前記センス鎖の 5' 末端で標的化リガンドにコンジュゲートされている、請求項 5 に記載の組成物。

【請求項 9】

前記標的化リガンドが、N-アセチル-ガラクトサミンを含み、

【化 1】



10

20

30

40

50

[illegible]

10

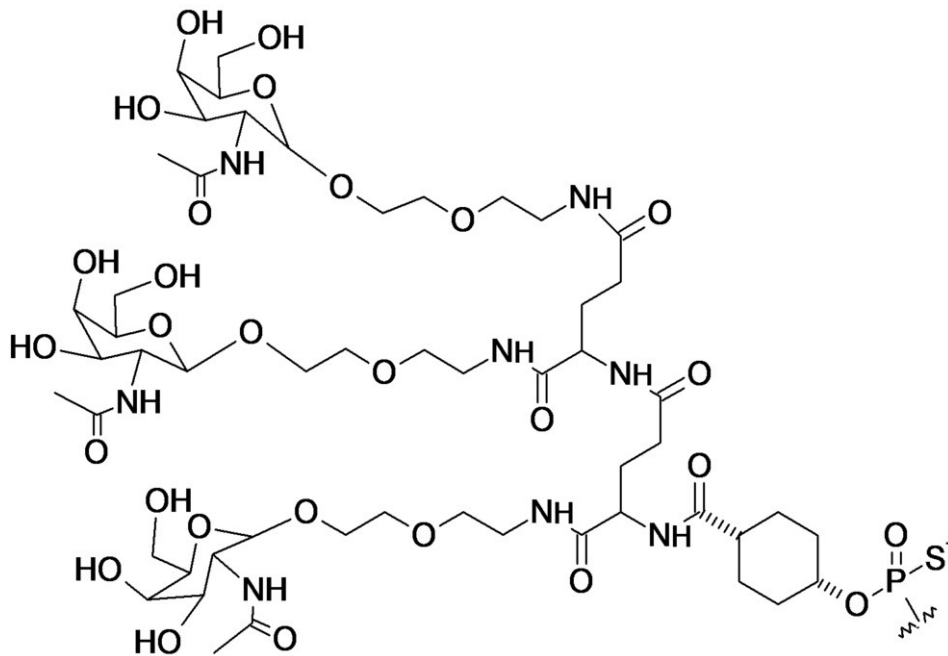
CC(=O)N[C@@H]1O[C@H](COCCOCCNC(=O)CCNC(=O)N[C@@H]2C[C@H](COP(=O)([O-])[O-])C[C@@H](C)C[C@H]2O)[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]1O

20

30

40

## 【化 4】



10

からなる群から選択される構造を有する、三座リガンドである、請求項 8 に記載の組成物。

20

## 【請求項 10】

請求項 1 に記載の RNA i 剤及び薬学的に許容される賦形剤を含む、組成物。

## 【請求項 11】

細胞において ASGR1 遺伝子の発現を阻害する方法に使用するための組成物であって、当該方法が、請求項 1 に記載の RNA i 剤を細胞に投与する工程を含む、組成物。

## 【請求項 12】

前記細胞がヒト対象の体内にある、請求項 11 に記載の組成物。

## 【請求項 13】

対象において ASGR1 遺伝子の発現を阻害する方法に使用するための組成物であって、当該方法が、請求項 10 に記載の組成物を対象に投与する工程を含む、組成物。

30

## 【請求項 14】

ASGR1 関連疾患または障害を処置する方法に使用するための組成物であって、当該方法が、有効量の請求項 10 に記載の組成物を、ASGR1 関連疾患または障害の処置を必要とする対象に投与する工程を含む、組成物。

## 【請求項 15】

前記 ASGR1 関連疾患または障害が、肥満、代謝症候群、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、脂質代謝異常および/もしくはコレステロール代謝異常、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、心血管疾患、冠動脈疾患、心筋梗塞、末梢血管疾患、または脳血管疾患である、請求項 14 に記載の組成物。

## 【請求項 16】

非-HDL コレステロールの減少が必要な対象において非-HDL コレステロールを減少する方法に使用するための組成物であって、当該方法が、有効量の請求項 10 に記載の組成物を、当該対象に投与する工程を含む、組成物。

40

## 【請求項 17】

前記非-HDL コレステロールが LDL コレステロールである、請求項 16 に記載の組成物。

## 【請求項 18】

心筋梗塞の危険性の減少が必要な対象において心筋梗塞の危険性を減少する方法に使用するための組成物であって、当該方法が、有効量の請求項 10 に記載の組成物を、当該対象に投与する工程を含む、組成物。

50

## 【請求項 19】

前記対象が、冠動脈疾患と診断されている、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 20】

前記対象が、非 - H D L コレステロールのレベルが上昇している、請求項 18 に記載の組成物。

## 【請求項 21】

前記 R N A i 剤が、ヒト対象の体重 1 k g あたり約 0 . 0 5 m g ~ 5 . 0 m g の用量で投与される、請求項 11 に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

10

## 【0001】

関連出願への相互参照

本出願は、2018年2月26日に出願された米国仮特許出願第62/635,277号、2017年12月21日に出願された米国仮特許出願第62/608,606号、および2017年10月17日に出願された米国仮特許出願第62/573,206号に基づく優先権を主張し、これらのそれぞれの内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

## 【0002】

配列表

本出願は、A S C I I 形式で提出された配列表を含み、この配列表は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。A S C I I コピーは、30653-W01\_\_S E Q L I S T . t x t という名称であり、サイズが226 k b である。

20

## 【0003】

発明の分野

本開示は、アジアロ糖タンパク質受容体1 ( A S G R 1 ) 遺伝子の発現の阻害のための R N A 干渉 ( R N A i ) 剤、たとえば、二本鎖 R N A i 剤、A S G R 1 R N A i 剤を含む組成物、およびそれを使用する方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0004】

背景

30

アジアロ糖タンパク質受容体1 ( A S G R 1 、これは、A S G P R 、A S G P R 1 、H L - 1 、および C L E C 4 H 1 としても公知 ) は、以前は、A s h w e l l - M o r e l l 受容体として公知であった。A S G R 1 は、脱シアル化された糖タンパク質の結合、内部移行、および循環からのクリアランスに関する主要な生理学的役割を果たす、膜貫通タンパク質である。A S G R 1 は、主として、アジアロ糖タンパク質受容体1遺伝子 ( A S G R 1 遺伝子 ) によって、肝臓において発現される。

## 【0005】

非 H D L コレステロールレベルならびに冠動脈疾患および心筋梗塞の危険性に影響を及ぼすバリエーションについての全ゲノム関連研究により、A S G R 1 における配列バリエーションが特定された。A S G R 1 のハプロ不全をもたらす d e l 1 2 A S G R 1 配列バリエーションは、非 H D L コレステロールの低減、ならびに冠動脈疾患および心筋梗塞の危険性の低減と関連付けられることが報告されている ( Nioi , S i g u r d s s o n e t a l . , N . E n g l . J . M e d . 2016 , 374 , 2131-41 ) 。 d e l 1 2 保持者における A S G R 1 レベルの約 50 % の低減から予測されるように、アルカリホスファターゼ ( A L P または A L K P ) レベルおよびビタミン B <sub>12</sub> レベルの増加があったが、これは、これらのタンパク質がいずれもアジアロ糖タンパク質受容体の基質であるためである。A S G R 1 タンパク質を低減することは、したがって、心血管疾患の処置のための有望な標的となっている。A S G R 1 遺伝子を標的とし、A S G R 1 タンパク質レベルを低減することができる、治療薬は、冠動脈疾患を含む心血管疾患を処置する新規な手段を表す。

40

## 【先行技術文献】

50

【非特許文献】

【0006】

【文献】Nioi, Sigurdsson et al., N. Engl. J. Med. 2016, 374, 2131-41

【発明の概要】

【課題を解決するための手段】

【0007】

要旨

ASGR1遺伝子の発現を選択的かつ効率的に阻害することができる、新規なASGR1特異的RNA干渉(RNAi)剤(本明細書において、RNAi剤、RNAiトリガー、またはトリガーとも称される)、たとえば、二本鎖RNAi剤に対する必要性が存在する。さらに、とりわけ、非HDLコレステロール(非HDL-C)レベルの上昇、LDLコレステロール(LDL-C)レベルの上昇、総コレステロールレベルの上昇、および/またはトリグリセリド(TG)レベルの上昇と関連する疾患の処置(予防的処置を含む)のための、新規なASGR1特異的RNAi剤の組成物に対する必要性が存在する。

10

【0008】

概して、本開示は、新規なASGR1遺伝子特異的RNAi剤、ASGR1遺伝子特異的RNAi剤を含む組成物、ならびに本明細書に記載されるASGR1遺伝子特異的RNAi剤およびASGR1遺伝子特異的RNAi剤を含む組成物を使用してin vivoおよび/またはin vitroにおいてASGR1遺伝子の発現を阻害するための方法の特徴とする。少なくとも部分的にASGR1遺伝子の発現によって媒介される疾患または障害の処置の方法であって、対象への、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤のうちの1つまたは複数の投与を含む、方法が、本明細書にさらに記載される。

20

【0009】

本明細書に記載されるASGR1遺伝子特異的RNAi剤は、ASGR1遺伝子の発現を選択的かつ効率的に減少させることができる。本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤は、それによって、対象、たとえば、ヒトまたは動物対象において、非HDLコレステロールレベル、および/またはLDLコレステロールレベル、および/または総コレステロールレベル、および/またはトリグリセリドレベルを低減することができる。本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤はまた、アテローム性動脈硬化症および/または血管疾患と関連する他の内因性因子にも影響を及ぼし得る。たとえば、記載されるASGR1 RNAi剤は、肥満、代謝症候群、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、脂質代謝異常および/もしくはコレステロール代謝異常、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、心血管疾患、冠状動脈疾患、心筋梗塞、末梢血管疾患、脳血管疾患、ならびに他の代謝関連障害および疾患を含むがこれらに限定されない、血清リポタンパク質レベル異常と関連する症状および疾患の治療の処置および/または予防のための方法において、使用することができる。一部の実施形態では、本明細書に開示される方法は、対象への、1つまたは複数のASGR1 RNAi剤の投与を含む。本明細書に記載される1つまたは複数のASGR1 RNAi剤は、当該技術分野において公知の任意の好適な方法、たとえば、皮下注射または静脈内投与によって、対象に投与され得る。

30

【0010】

一態様では、本開示は、ASGR1遺伝子の発現を選択的かつ効率的に減少または阻害することができる、1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む、組成物の特徴とする。一部の実施形態では、1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む、本明細書に開示される組成物は、対象においてASGR1タンパク質のレベルを低減することができる。一部の実施形態では、1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む、本明細書に開示される組成物は、対象においてASGR1 mRNAのレベルを低減することができる。1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む組成物は、非HDL-Cレベルの上昇、および/またはLDL-Cレベルの上昇、および/または総コレステロールレベルの上昇、および/またはTGレベルの上昇と関連する症状および疾患の処置および/または予防のために、対象、たとえば、ヒトまたは動物対象に投与することができる。

40

50

## 【0011】

本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤は、センス鎖（パッセンジャー鎖とも称される）およびアンチセンス鎖（ガイド鎖とも称される）を含む。センス鎖およびアンチセンス鎖は、互いに対して、部分的に、実質的に、または完全に、相補的であり得る。本明細書に記載されるRNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖の長さは、それぞれ、16～30個のヌクレオチドの長さであり得る。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、17～26個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、21～26個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、独立して、21～24個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、いずれも、21個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖および/またはアンチセンス鎖は、独立して、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、または30個のヌクレオチドの長さである。センス鎖およびアンチセンス鎖は、同じ長さであってもよく、または異なる長さであってもよい。本明細書に記載されるRNAi剤は、ASGR1を発現する細胞に送達されると、*in vivo*または*in vitro*において1つまたは複数のASGR1遺伝子の発現を阻害する。

10

## 【0012】

本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤のセンス鎖は、ASGR1 mRNAにおける同じヌクレオチド数のコアストレッチ配列（本明細書において、「コアストレッチ」または「コア配列」とも称される）に対して少なくとも85%の同一性を有する少なくとも16個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ASGR1 mRNAにおける配列に対して少なくとも85%の同一性を有するセンス鎖コアストレッチは、16、17、18、19、20、21、22、または23個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、このセンス鎖コアストレッチは、16、17、18、19、20、21、22、または23個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、このセンス鎖コアストレッチは、17個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、このセンス鎖コアストレッチは、19個のヌクレオチドの長さである。

20

## 【0013】

ASGR1 RNAi剤のアンチセンス鎖は、ASGR1 mRNAにおける同じヌクレオチド数のコアストレッチおよび対応するセンス鎖における同じヌクレオチド数のコアストレッチに対して、少なくとも85%の相補性を有する少なくとも16個の連続したヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、ASGR1 mRNAまたは対応するセンス鎖における配列に対して少なくとも85%の相補性を有するアンチセンス鎖コアヌクレオチドストレッチは、16、17、18、19、20、21、22、または23個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、このアンチセンス鎖コアストレッチは、17個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、このアンチセンス鎖コアストレッチは、19個のヌクレオチドの長さである。

30

## 【0014】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、表1に開示される配列のうちのいずれかの配列を有するASGR1遺伝子の部分を標的とするように設計されている。

40

## 【0015】

本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤に含まれ得るASGR1 RNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖の例は、表2、3、および4に提供される。ASGR1 RNAi剤の二重鎖の例は、表5に提供される。本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖からなるかまたはそれに含まれる、19個のヌクレオチドのコアストレッチ配列の例は、表2に提供される。

## 【0016】

別の態様では、本開示は、ASGR1 RNAi剤を、*in vivo*で、対象、たとえ

50



ば、哺乳動物における肝臓細胞へと送達するための方法の特徴とする。また、そのような方法における使用のための組成物も、本明細書に記載される。1つまたは複数のASGR1 RNAi剤は、当該技術分野において公知の任意のオリゴヌクレオチド送達技術を使用して、標的細胞または組織へと送達され得る。核酸送達方法としては、リポソームへのカプセル封入によるもの、イオン泳動によるもの、または他のビヒクル、たとえば、ヒドロゲル、シクロデキストリン、生体分解性ナノカプセル、および生体接着性マイクロスフェア、タンパク質性ベクター、もしくはDynamic Polyconjugates (商標)(DPC)への組込みによるものが挙げられるが、これらに限定されない(たとえば、WO2000/053722、WO2008/0022309、WO2011/104169、およびWO2012/083185を参照されたく、これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる)。

10

#### 【0017】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、RNAi剤を標的化基に共有結合により連結するかまたはコンジュゲートすることによって、標的細胞または組織へと送達される。一部の実施形態では、標的化基は、抗体、たとえば、モノクローナル抗体を含むか、それからなるか、または本質的にそれからなる。(たとえば、国際特許出願公開第WO2018/039647号を参照されたく、これは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる)。一部の実施形態では、標的化基は、アシアロ糖タンパク質受容体リガンド(すなわち、アシアロ糖タンパク質受容体に対する親和性を有する化合物を含むリガンド)からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含む。一部の実施形態では、アシアロ糖タンパク質受容体リガンドは、ガラクトースまたはガラクトース誘導体クラスターを含むか、それからなるか、または本質的にそれからなる。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、ガラクトース誘導体N-アセチル-ガラクトサミンを含む標的化リガンドに連結されている。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、N-アセチル-ガラクトサミン三量体またはN-アセチル-ガラクトサミン四量体を含む。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、N-アセチル-ガラクトサミン三量体またはN-アセチル-ガラクトサミン四量体である。一部の実施形態では、N-アセチル-ガラクトサミンを含む標的化リガンドにコンジュゲートされたASGR1 RNAi剤は、受容体に媒介されるエンドサイトーシスまたは他の手段のいずれかを通じて、肝臓細胞、および具体的には肝細胞によって選択的に内部移行される。RNAi剤を送達するのに有用な標的化基の例は、たとえば、Arrowhead Pharmaceuticals, Inc.への国際特許出願公開第WO2018/044350号および同第WO2017/156012号に開示されており、これらは、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

20

30

#### 【0018】

標的化基は、ASGR1 RNAi剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖の3'末端または5'末端に連結され得る。一部の実施形態では、標的化基は、センス鎖の3'末端または5'末端に連結される。一部の実施形態では、標的化基は、RNAi剤のセンス鎖および/またはアンチセンス鎖におけるヌクレオチドに内部で連結される。一部の実施形態では、標的化基は、センス鎖の5'末端に連結される。一部の実施形態では、標的化基は、リンカーを介してRNAi剤に連結される。

40

#### 【0019】

標的化基は、リンカーの有無にかかわらず、表2、3、および4に開示されているセンス鎖および/またはアンチセンス鎖のうちのいずれかの5'末端または3'末端に連結され得る。リンカーは、標的化基の有無にかかわらず、表2、3、および4に開示されているセンス鎖および/またはアンチセンス鎖のうちのいずれかの5'末端または3'末端に結合され得る。

#### 【0020】

一部の実施形態では、表5に開示されている二重鎖構造を有する1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む組成物が、本明細書に記載される。

50

## 【0021】

さらなる態様では、1つまたは複数の記載されるASGR1 RNAi剤を、必要に応じて1つまたは複数の追加の（すなわち、第2、第3などの）治療薬と組み合わせて含む、医薬組成物が、本明細書に記載される。追加の治療薬は、別のASGR1 RNAi剤（たとえば、ASGR1遺伝子内の異なる配列を標的とするASGR1 RNAi剤）であってもよい。追加の治療薬はまた、小分子薬、抗体、抗体断片、ペプチド、および/またはアプタマーであってもよい。ASGR1 RNAi剤は、1つまたは複数の追加の治療薬の有無にかかわらず、1つまたは複数の賦形剤と組み合わせて、医薬組成物を形成することができる。記載されるASGR1 RNAi剤は、必要に応じて、単一の剤形（すなわち、単回注射に含まれるカクテル）において、1つまたは複数の追加の治療薬と組み合わせることができる。一部の実施形態では、1つまたは複数の記載されるASGR1 RNAi剤を、必要に応じて1つまたは複数の追加の（すなわち、第2、第3などの）治療薬と組み合わせて含む、医薬組成物は、薬学的に許容される担体または希釈剤において製剤化することができる。一部の実施形態では、これらの組成物は、対象、たとえば、哺乳動物に投与することができる。一部の実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。

10

## 【0022】

一部の実施形態では、記載されるASGR1 RNAi剤は、1つまたは複数の必要に応じた追加の治療薬とは別個に投与され得る。一部の実施形態では、記載されるASGR1 RNAi剤は、それを必要とする対象に、皮下注射によって投与され、1つまたは複数の必要に応じた追加の治療薬は、経口で投与され、これらが、一緒に、非HDL-Cレベルの上昇、および/またはLDL-Cレベルの上昇、および/または総コレステロールレベルの上昇、および/またはTGレベルの上昇と関連する疾患および状態の処置レジメンを提供する。一部の実施形態では、記載されるASGR1 RNAi剤は、それを必要とする対象に、皮下注射によって投与され、1つまたは複数の必要に応じた追加の治療薬は、別個の皮下注射によって投与される。

20

## 【0023】

一部の実施形態では、異なるヌクレオチド配列を有する少なくとも2つのASGR1 RNAi剤の組合せまたはカクテルを含む、組成物が、本明細書に記載される。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回る異なるASGR1 RNAi剤は、それぞれ、別個かつ独立して、標的化基に連結されている。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回る異なるASGR1 RNAi剤は、それぞれ、別個かつ独立して、アシアロ糖タンパク質受容体を標的とする1つまたは複数の部分を含む標的化リガンドを含むかまたはそれからなる標的化基に、連結されている。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回る異なるASGR1 RNAi剤は、それぞれ、1つまたは複数のガラクトース誘導体を含む標的化リガンドを含むかまたはそれからなる標的化基に、連結されている。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回る異なるASGR1 RNAi剤は、それぞれ、1つまたは複数のN-アセチル-ガラクトサミンを含む標的化リガンドを含むかまたはそれからなる標的化基に、連結されている。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回るRNAi剤が、1つの組成物に含まれている場合、RNAi剤のそれぞれは、独立して、同じ標的化基に連結されている。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回るRNAi剤が、1つの組成物に含まれる場合、RNAi剤のそれぞれは、独立して、異なる標的化基、たとえば、異なる化学構造を有する標的化基に連結されている。

30

40

## 【0024】

一部の実施形態では、標的化基は、追加のリンカーを使用することなく、ASGR1 RNAi剤に連結されている。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤への連結を促進するために、容易に存在するリンカーを有する標的化基が、設計される。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回るRNAi剤が、1つの組成物に含まれる場合、2つまたはそれを上回るRNAi剤は、同じリンカーを使用してそれぞれの標的化基に連結されていてもよい。一部の実施形態では、2つまたはそれを上回るRNAi剤が、1つの組成物に含まれる場合、2つまたはそれを上回るRNAi剤は、異なるリンカーを使用してそ

50

それぞれの標的化基に連結されている。

【 0 0 2 5 】

別の態様では、本開示は、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇によって引き起こされるかまたはそれに帰属する疾患または症状の処置（予防または予防的処置を含む）の方法であって、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖を有する A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法の特徴とする。

【 0 0 2 6 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、細胞に、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖を含む A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

10

【 0 0 2 7 】

一部の実施形態では、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇によって引き起こされる疾患または症状の処置または予防の方法であって、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかの配列を含むセンス鎖を有する A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

【 0 0 2 8 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかの配列を含むセンス鎖を有する A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

20

【 0 0 2 9 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、対象に、表 4 内の配列のうちのいずれかの配列を含むセンス鎖と、表 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖とを含む、治療有効量の A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

【 0 0 3 0 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、表 4 内の配列のうちのいずれかの核酸塩基配列からなるセンス鎖と、表 3 内の配列のうちのいずれかの核酸塩基配列からなるアンチセンス鎖とを含む、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。他の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、表 4 内の修飾された配列のうちのいずれかの修飾された配列からなるセンス鎖と、表 3 内の修飾された配列のうちのいずれかの修飾された配列からなるアンチセンス鎖とを含む、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

30

【 0 0 3 1 】

一部の実施形態では、細胞において A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための方法であって、表 5 内の二重鎖のうちのいずれかの二重鎖構造を有する 1 つまたは複数の A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

40

【 0 0 3 2 】

さらなる態様では、本開示は、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇によって引き起こされる疾患または症状の処置（予防的または防止的処置を含む）の方法であって、表 1 に列挙されている配列のうちのいずれか 1 つを有する A S G R 1 m R N A の部分に対して少なくとも部分的に相補的であるアンチセンス鎖を有する A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法の特徴とする。

【 0 0 3 3 】

一部の実施形態では、細胞において A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための方法であって、表 1 に列挙されている配列のうちのいずれか 1 つを有する A S G R 1 m R N A の

50

部分に対して少なくとも部分的に相補的であるアンチセンス鎖を有する A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

【 0 0 3 4 】

一部の実施形態では、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇によって引き起こされる疾患または症状の処置または予防の方法であって、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的である、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかを含むセンス鎖とを有する、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

10

【 0 0 3 5 】

一部の実施形態では、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇によって引き起こされる疾患または症状の処置または予防の方法であって、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかを含むセンス鎖と、センス鎖に対して少なくとも部分的に相補的である、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖とを有する、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

【 0 0 3 6 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖と、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的である、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかを含むセンス鎖とを含む、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

20

【 0 0 3 7 】

一部の実施形態では、A S G R 1 遺伝子の発現を阻害する方法であって、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかを含むセンス鎖と、センス鎖に対して少なくとも部分的に相補的である、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含むアンチセンス鎖とを含む、A S G R 1 R N A i 剤を投与するステップを含む、方法が、本明細書に開示される。

【 0 0 3 8 】

一部の実施形態では、細胞において A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための組成物であって、本明細書に記載される A S G R 1 R N A i 剤のうちのいずれかを含む、組成物が、本明細書に開示される。

30

【 0 0 3 9 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤を、i n v i v o で肝臓細胞へと送達するための組成物であって、標的化基にコンジュゲートまたは連結された A S G R 1 R N A i 剤を含む、組成物が、本明細書に開示される。一部の実施形態では、標的化基は、アジアロ糖タンパク質受容体リガンドである。一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤を、i n v i v o で肝臓細胞へと送達するための組成物であって、N - アセチル - ガラクトサミンを含む標的化リガンドに連結された A S G R 1 R N A i 剤を含む組成物が、記載される。

40

【 0 0 4 0 】

一部の実施形態では、記載される A S G R 1 R N A i 剤のうちの 1 つまたは複数は、薬学的に許容される担体または希釈剤において、対象、たとえば、哺乳動物に投与される。一部の実施形態では、哺乳動物は、ヒトである。

【 0 0 4 1 】

A S G R 1 R N A i 剤の使用は、非 H D L - C レベルの上昇、および / または L D L - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または T G レベルの上昇、および / または A S G R 1 発現の増強もしくは上昇に関連する疾患 / 障害の治療的および / または予防的処置のための方法を提供する。記載される A S G R 1 R N A i 剤は、R N A 干渉を媒介し、A S G R 1 タンパク質の産生に必要な 1 つまたは複数

50

の遺伝子の発現を阻害することができる。ASGR1 RNAi剤はまた、肥満、代謝症候群、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、脂質代謝異常および/またはコレステロール代謝異常、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、心血管疾患、冠状動脈疾患、心筋梗塞、末梢血管疾患、脳血管疾患、ならびに他の代謝関連障害および疾患を含むがこれらに限定されない、血清リポタンパク質レベル異常と関連する様々な疾患または障害を処置または予防するために使用することができる。本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤はまた、アテローム性動脈硬化症および/または血管疾患と関連する他の内因性因子にも影響を及ぼし得る。さらに、ASGR1 RNAi剤の*in vivo*での肝臓細胞への送達のための組成物が、記載される。

#### 【0042】

10

1つまたは複数のASGR1 RNAi剤を含む医薬組成物は、局所処置が所望されるかまたは全身処置が所望されるかに応じて、いくつかの手段で投与することができる。投与は、静脈内、動脈内、皮下、腹腔内、真皮下（たとえば、埋込みデバイスを介して）、および実質内の投与であり得るが、これらに限定されない。一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、皮下注射によって投与される。

#### 【0043】

記載されるASGR1 RNAi剤、および/またはASGR1 RNAi剤を含む組成物は、非HDL-Cレベルの上昇、および/またはLDL-Cレベルの上昇、および/または総コレステロールレベルの上昇、および/またはTGレベルの上昇によって引き起こされる疾患または状態の治療的処置のための方法において使用することができる。そのような方法は、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤の、対象、たとえば、ヒトまたは動物対象への投与を含む。

20

#### 【0044】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤は、それぞれ、表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(NAG39)、(NAG39)sの構造を有する1つまたは複数の標的化基を含み得る。

30

#### 【0045】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤は、センス鎖の5'末端に、それぞれ、表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(NAG39)、(NAG39)sの構造を有する1つの標的化基を含む。

40

#### 【0046】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、ヌクレオチド配列(5'から3')

#### 【化1】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

(配列番号3)

50

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

10

【化 3】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、配列番号 3 は、アンチセンス鎖の 1 ~ 2 1 位 ( 5 ' から 3 ' ) に位置している。

【 0 0 4 7】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

20

【化 4】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。当業者であれば、本明細書に開示される修飾されたヌクレオチド配列に示されているホスホロチオエート連結を含めることで、オリゴヌクレオチドに典型的に存在しているホスホジエステル連結が置き換えられることを明確に理解する (たとえば、すべてのヌクレオチド間連結を示している図 1 A から 1 M を参照されたい)。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

30

【化 5】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

40

【 0 0 4 8】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6】

usAfscUfcCfu<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 4)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそ

50

れからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub>は、2'，3'-セコ-ウリジンを表し（たとえば、表6を参照されたい）、sは、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。当業者であれば、本明細書に開示される修飾されたヌクレオチド配列に示されているホスホロチオエート連結を含めることで、オリゴヌクレオチドに典型的に存在しているホスホジエステル連結が置き換えられることを明確に理解する（たとえば、すべてのヌクレオチド間連結を示している図1Aから1Mを参照されたい）。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、ヌクレオチド配列（5'から3'）

10

## 【化7】

usAfscUfcCfU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuaGfsGfsu（配列番号 4）

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub>は、2'，3'-セコ-ウリジンを表し（たとえば、表6を参照されたい）、sは、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

20

## 【0049】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、ヌクレオチド配列（5'から3'）

## 【化8】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG（

配列番号6）

と0または1個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、ヌクレオチド配列（5'から3'）

30

## 【化9】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG（配列番号 6）

と1個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、ヌクレオチド配列（5'から3'）

40

## 【化10】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG（配列番号 6）

と0または1個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、配列番号6は、アンチセンス鎖の1～21位（5'から3'）に位置している。

## 【0050】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、ヌクレオチド配列（5'から3'）

50

## 【化 1 1】

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。当業者であれば、本明細書に開示される修飾されたヌクレオチド配列に示されているホスホロチオエート連結を含めることで、オリゴヌクレオチドに典型的に存在しているホスホジエステル連結が置き換えられることを明確に理解する（たとえば、すべてのヌクレオチド間連結を示している図 1 A から 1 M を参照されたい）。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

10

## 【化 1 2】

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

20

## 【0 0 5 1】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

## 【化 1 3】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU

(配列番号 8)

30

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

## 【化 1 4】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

40

## 【化 1 5】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、配列番号 8 は、アンチセンス鎖の 1 ~ 21 位（5' から 3'）に位置している。

## 【0 0 5 2】

50



一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 1 6】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsGfsu ( 配列番号 7)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、 a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

10

【化 1 7】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsGfsu ( 配列番号 7)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

20

【0 0 5 3】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 1 8】

asGfscgacucacCfuUfuCfuUfcGfsu ( 配列番号 9)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

30

【化 1 9】

asGfscgacucacCfuUfuCfuUfcGfsu ( 配列番号 9)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

40

【0 0 5 4】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 0】

ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC (

配列番号 11)

と0または1個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 1】

ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC (配列番号 11)

と1個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 2】

ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC (配列番号 11)

と0または1個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、配列番号 1 1 は、アンチセンス鎖の 1 ~ 2 1 位 ( 5 ' から 3 ' ) に位置している。

【0 0 5 5】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 3】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

と1個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、およびuは、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、およびU fは、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 4】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、およびuは、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、およびU fは、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

【0 0 5 6】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 2 5】

UGAAAUAAAUAAAAGGAGAGG

(配列番号 27)

と0または1個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 2 6】

UGAAAUAAAUUAAAGGAGAGG (配列番号 27)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 2 7】

UGAAAUAAAUUAAAGGAGAGG (配列番号 27)

10

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、配列番号 2 7 は、アンチセンス鎖の 1 ~ 2 1 位 ( 5 ' から 3 ' ) に位置している。

## 【0 0 5 7】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 2 8】

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

20

と 1 個以下のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2 ' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2 ' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 2 9】

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

30

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2 ' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2 ' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、アンチセンス鎖に対して少なくとも実質的に相補的である。

## 【0 0 5 8】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

40

## 【化 3 0】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

(配列番号 3)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 3 1】

ACCUAUGACCAAGGAIUA (配列番号 12)

50

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。( I は、イノシンヌクレオチドを表す)。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 2】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

(配列番号 3)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 3】

ACCUAUCAUGACCAAGGAIUA (配列番号 12)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0 0 5 9】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 4】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

(配列番号 3)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 5】

ACCUAUCAUGACCAAGGAGUA (配列番号 13)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 6】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU (配列番号 3)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 3 7】

ACCUAUCAUGACCAAGGAGUA

(配列番号 13)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが

、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【 0 0 6 0 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 3 8 】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

( 配列番号 3 )

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

10

【 化 3 9 】

ACCUAUGACCAAIGAIUA ( 配列番号 14 )

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。( I は、イノシンヌクレオチドを表す )。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 4 0 】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU

20

( 配列番号 3 )

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 4 1 】

ACCUAUGACCAAIGAIUA ( 配列番号 14 )

30

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【 0 0 6 1 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 4 2 】

AGCGACUUCAUCUUCUCCG (

配列番号 6 )

40

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 4 3 】

CGGAAGAAAGAUGAAGUCICU ( 配列番号 15 )

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。( I は、イノシンヌクレオチドを表す )。一部の実

50

施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

【化 4 4】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG

（配列番号 6）

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

10

【化 4 5】

CGGAAGAAAGAUGAAGUCICU（配列番号 15）

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0 0 6 2】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

20

【化 4 6】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU

（配列番号 8）

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

【化 4 7】

ACGAAGAAAGAUGAAGUCICU（配列番号 16）

30

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。（I は、イノシンヌクレオチドを表す）。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

【化 4 8】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU

（配列番号 8）

40

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列（5' から 3'）

【化 4 9】

ACGAAGAAAGAUGAAGUCICU（配列番号 16）

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなる

50

か、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0063】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化50】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU

(配列番号 8)

10

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化51】

ACGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 17)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化52】

20

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化53】

ACGAAGAAAGAUGAAGUCGCU

(配列番号 17)

30

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0064】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化54】

ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC (

配列番号 11)

40

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化55】

GCGUGGGAAGAAAGAUGAAGU (配列番号 18)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G

50

R 1 RNA i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 5 6】

ACUUCAUCUUUCUUCCCCACGC ( 配列番号 11)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 5 7】

GCGUGGGAAGAAAGAUGAAGU

10

( 配列番号 18)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0 0 6 5】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 5 8】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (

20

配列番号 6)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 5 9】

CGGAAGAAAGAUGAAIUCICU ( 配列番号 31)

30

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。( I は、イノシンヌクレオチドを表す)。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 0】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG

( 配列番号 6)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

40

【化 6 1】

CGGAAGAAAGAUGAAIUCICU ( 配列番号 31)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0 0 6 6】

50



一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 2】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (

配列番号 6)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 3】

CGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 33)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 4】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (配列番号 6)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 5】

CGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU

(配列番号 33)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

【0 0 6 7】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 6】

UGAAAUAAAUUAAGGAGAGG

(配列番号 27)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 7】

CCUCUCCUUUAAUUUAUUUCA (配列番号 35)

と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含む。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 8】

UGAAAUAAAUUAAGGAGAGG (配列番号 27)

10

20

30

40

50

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖と、ヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 6 9】

CCUCUCCUUUAAUUUAUUUCA

( 配列番号 35)

と 1 個以下のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、センス鎖とを含む。

10

【 0 0 6 8】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 7 0】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

20

【化 7 1】

accuaucaUfGfAfccaaggaiua ( 配列番号 19)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、 a、c、g、i、および u は、それぞれ、2' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f は、それぞれ、2' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

30

【化 7 2】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 7 3】

accuaucaUfGfAfccaaggaiua ( 配列番号 19)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、( N A G 2 5 )、( N A G 2 5 ) s、( N A G 3 7 )、および ( N A G 3 7 ) s から選択される。

40

【 0 0 6 9】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

50

## 【化 7 4】

usAfscUfcCfU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 7 5】

accuaucUfGfAfccaaggagua (配列番号 20)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub>は、2', 3'-セコ-ウリジンを表し (表 6 を参照されたい)、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

10

## 【化 7 6】

usAfscUfcCfU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

20

## 【化 7 7】

accuaucUfGfAfccaaggagua (配列番号 20)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および (NAG37)s から選択される。

30

## 【0070】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 7 8】

usAfscUfcCfUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 7 9】

accuaucUfGfAfcCaaggagua (配列番号 21)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

40

## 【化 8 0】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 8 1】

accuaucaUfGfAfcCaaggagua (配列番号 21)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

10

## 【0071】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 8 2】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2)

20

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 8 3】

accuaucaUfGfAfcCaaigaiua (配列番号 22)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

30

## 【化 8 4】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 8 5】

accuaucaUfGfAfcCaaigaiua (配列番号 22)

40

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

## 【0072】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

50

## 【化 8 6】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 8 7】

cggaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 23)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホリチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

10

## 【化 8 8】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

20

## 【化 8 9】

cggaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 23)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の3'末端および5'末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3'末端および/または5'末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および(NAG37)sから選択される。

## 【0073】

30

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 9 0】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 9 1】

acgaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 24)

40

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホリチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 9 2】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7)

50

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 3】

acgaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 24)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

【0074】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 4】

asGfscsgacuucauCfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 5】

acgaagaaAfGfAfugaagucgu (配列番号 25)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 6】

asGfscsgacuucauCfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 7】

acgaagaaAfGfAfugaagucgu (配列番号 25)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

【0075】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 9 8】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

10

20

30

40

50

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 99】

gcgugggaAfGfAfaaugaagu (配列番号 26)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 100】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 101】

gcgugggaAfGfAfaaugaagu (配列番号 26)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および (NAG37)s から選択される。

【0076】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 102】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 103】

gscgugggaAfGfAfaaugaagu (配列番号 29)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 104】

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 0 5】

gscgugggaAfGfAfaaugaagu ( 配列番号 29)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25) s、(NAG 37)、および (NAG 37) s から選択される。

## 【0 0 7 7】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 0 6】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 0 7】

accuaucaUfGfAfccaaigaiua ( 配列番号 30)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホロチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 0 8】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 0 9】

accuaucaUfGfAfccaaigaiua ( 配列番号 30)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25) s、(NAG 37)、および (NAG 37) s から選択される。

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

## 【化 1 1 0】

asGfscGfaCfucauCfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

10

20

30

40

50



## 【化 1 1 1】

cggaagaaAfGfAfugaaiucicu (配列番号 32)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホリチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 2】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 3】

cggaagaaAfGfAfugaaiucicu (配列番号 32)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の3'末端および5'末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3'末端および/または5'末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および(NAG37)sから選択される。

## 【0 0 7 8】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 4】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 5】

cggaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 34)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、sは、ホスホリチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNA i剤は、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 6】

asGfscGfaCfuucacCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列(5'から3')

## 【化 1 1 7】

cggaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 34)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、セ

10

20

30

40

50

センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 118】

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

10

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 119】

ccucuccuUfUfAfauuuuuuuca (配列番号 36)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、a、c、g、i、および u は、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf は、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、s は、ホスホリチオエート連結を表す。一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

20

【化 120】

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖と、修飾されたヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 121】

ccucuccuUfUfAfauuuuuuuca (配列番号 36)

30

からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むセンス鎖とを含み、ここで、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3' 末端および / または 5' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表 6 において定義されている、(NAG 25)、(NAG 25)s、(NAG 37)、および (NAG 37)s から選択される。

【0079】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、以下のヌクレオチド配列 (5' から 3')

【化 122】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU (配列番号 3);

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (配列番号 6);

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8);

ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC (配列番号 11); または

UGAAAUAAAUAAAAGGAGAGG (配列番号 27)

40

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、ASGR1 R

50

N A i 剤は、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるセンス鎖をさらに含み、アンチセンス鎖およびセンス鎖の両方におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドである。

【 0 0 8 0 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 1 2 3 】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3);  
 AGCGACUUCAUCUUUCUUCGG ( 配列番号 6);  
 AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU ( 配列番号 8);  
 ACUUCAUCUUUCUUCGCCACGC ( 配列番号 11); または  
 UGAAAUAAAUAAAGGAGAGG ( 配列番号 27)

10

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、A S G R 1 R N A i 剤は、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるセンス鎖をさらに含み、アンチセンス鎖およびセンス鎖の両方におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドであり、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3 ' 末端および 5 ' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3 ' 末端および / または 5 ' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。

20

【 0 0 8 1 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【 化 1 2 4 】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3);  
 AGCGACUUCAUCUUUCUUCGG ( 配列番号 6);  
 AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU ( 配列番号 8);  
 ACUUCAUCUUUCUUCGCCACGC ( 配列番号 11); または  
 UGAAAUAAAUAAAGGAGAGG ( 配列番号 27)

30

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、A S G R 1 R N A i 剤は、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるセンス鎖をさらに含み、アンチセンス鎖およびセンス鎖の両方におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドであり、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3 ' 末端および 5 ' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3 ' 末端および / または 5 ' 末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含み、それぞれのアンチセンス鎖配列は、アンチセンス鎖の 1 ~ 2 1 位に位置している。

40

【 0 0 8 2 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、アンチセンス鎖とセンス鎖とを含み、ここで、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' ) 対 :

【 化 1 2 5 】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3) および  
 ACCUAUCAUGACCAAGGAIUA ( 配列番号 12)

50

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、  
【化 1 2 6】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU	(配列番号	3)	および
ACCUAUCAUGACCAAGGAGUA	(配列番号	13);	
UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU	(配列番号	3)	および
ACCUAUCAUGACCAAIGAIUA	(配列番号	14)	

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、  
【化 1 2 7】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG	(配列番号	6)	および
CGGAAGAAAGAUGAAGUCICU	(配列番号	15)	

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、  
【化 1 2 8】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU	(配列番号	8)	および
ACGAAGAAAGAUGAAGUCICU	(配列番号	16)	

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、  
【化 1 2 9】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU	(配列番号	8)	および
ACGAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	17);	
ACUUCAUCUUUCUCCCCACGC	(配列番号	11)	および
GCGUGGGAAGAAAGAUGAAGU	(配列番号	18);	
AGCGACUUCAUCUUUCUCCG	(配列番号	6)	および
CGGAAGAAAGAUGAAIUCICU	(配列番号	31)	

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、  
【化 1 3 0】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG	(配列番号	6)	および
CGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	33); または	
UGAAAUAAAUAAAGGAGAGG	(配列番号	27)	および
CCUCUCCUUUAAUUUAUUUCA	(配列番号	35)	

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含み、ここで、アンチセンス鎖およびセンス鎖の両方におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドである。  
【0 0 8 3】

一部の実施形態では、本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖とセンス鎖とを含み、ここで、アンチセンス鎖およびセンス鎖は、以下のヌクレオチド配列 (5' から 3') 対

10

20

30

40

50

## 【化 1 3 1】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU (配列番号 3) および  
 ACCUAUCAUGACCAAGGAIUA (配列番号 12)

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、

## 【化 1 3 2】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU (配列番号 3) および  
 ACCUAUCAUGACCAAGGAGUA (配列番号 13);  
 UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU (配列番号 3) および  
 ACCUAUCAUGACCAAIGAIUA (配列番号 14)

10

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、

## 【化 1 3 3】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (配列番号 6) および  
 CGGAAGAAAGAUGAAGUCICU (配列番号 15)

20

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、

## 【化 1 3 4】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8) および  
 ACGAAGAAAGAUGAAGUCICU (配列番号 16)

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、

## 【化 1 3 5】

AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU (配列番号 8) および  
 ACGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 17);  
 ACUUCAUCUUUCUUCACGC (配列番号 11) および  
 GCGUGGGAAGAAAGAUGAAGU (配列番号 18);  
 AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (配列番号 6) および  
 CGGAAGAAAGAUGAAIUCICU (配列番号 31)

30

(ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す)、

## 【化 1 3 6】

AGCGACUUCAUCUUUCUCCG (配列番号 6) および  
 CGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 33); または  
 UGAAAUAAAUAAAGGAGAGG (配列番号 27) および  
 CCUCUCCUUUAAUUUAUUUCA (配列番号 35)

40

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含み、ここで、アンチセンス鎖およびセンス鎖の両方におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドであり、センス鎖は、ヌクレオチド配列の 3' 末端および 5' 末端に逆位脱塩基残基をさらに含み

50

、センス鎖は、3'末端および/または5'末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。

【0084】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、以下のヌクレオチド配列(5'から3')

【化137】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2);  
usAfscUfcCfU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4);  
asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5);  
asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7);  
asGfscsgacuucacfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9);  
asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10); または  
usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

10

のうちの1つと0または1個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub>は、2', 3'-セコ-ウリジンを表し(たとえば、表6を参照されたい)、sは、ホスホロチオエート連結を表し、ASGR1 RNAi剤は、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるセンス鎖をさらに含み、センス鎖におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドである。

20

【0085】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、以下のヌクレオチド配列(5'から3')

【化138】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2);  
usAfscUfcCfU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4);  
asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5);  
asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7);  
asGfscsgacuucacfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9);  
asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10); または  
usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28)

30

40

のうちの1つと0または1個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖を含み、ここで、ASGR1 RNAi剤は、アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるセンス鎖をさらに含み、センス鎖におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドであり、センス鎖は、ヌクレオチド配列の3'末端および5'末端に逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3'末端および/または5'末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および(NAG37)sから選択される。

【0086】

50

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、以下のヌクレオチド配列対 ( 5 ' から 3 ' )

【化 1 3 9】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfccaaggaiua ( 配列番号 19);

usAfscUfcCfuU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 4) および  
accuaucaUfGfAfccaaggagua ( 配列番号 20);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaaggagua ( 配列番号 21);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaagaiua ( 配列番号 22);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucicu ( 配列番号 23);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsGfsu ( 配列番号 7) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucicu ( 配列番号 24);

asGfscgacucacfuUfuCfuUfcGfsu ( 配列番号 9) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucgu ( 配列番号 25);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
gcgugggaAfGfAfaaugaagu ( 配列番号 26);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
gscgugggaAfGfAfaaugaagu ( 配列番号 29);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
accuaucaUfGfAfccaagaiua ( 配列番号 30);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaaiucicu ( 配列番号 32);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucgu ( 配列番号 34); または

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg ( 配列番号 28) および  
ccucuccuUfUfAfauuuuuuua ( 配列番号 36);

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub>は、2', 3'-セコ-ウリジンを表し(たとえば、表6を参照されたい)、sは、ホスホロチオエート連結を表す。

【0087】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤は、以下のヌクレオチド配列対 ( 5 ' から 3 ' )

10

20

30

40

50

## 【化 1 4 0】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfccaaggaiua ( 配列番号 19);

usAfscUfcCfuUNA UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 4) および  
accuaucaUfGfAfccaaggagua ( 配列番号 20);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaaggagua ( 配列番号 21);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu ( 配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaigaiua ( 配列番号 22);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucicu ( 配列番号 23);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsGfsu ( 配列番号 7) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucicu ( 配列番号 24);

asGfscgacuucaCfuUfuCfuUfcGfsu ( 配列番号 9) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucgu ( 配列番号 25);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
gcgugggaAfGfAfaaugaagu ( 配列番号 26);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
gscgugggaAfGfAfaaugaagu ( 配列番号 29);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc ( 配列番号 10) および  
accuaucaUfGfAfccaagaiua ( 配列番号 30);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaaiucicu ( 配列番号 32);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg ( 配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucgu ( 配列番号 34); または

usGfsaAfaUfaAfaUfaAfaGfaGfasGfsg ( 配列番号 28) および  
ccucuccuUfUfAfauuuuuua ( 配列番号 36)

のうちの 1 つからなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含むアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、ここで、a、c、g、i、およびuは、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、およびUfは、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、UNAは、2'、3'-セコ-ウリジンを表し(たとえば、表6を参照されたい)、sは、ホスホロチオエート連結を表し、センス鎖は、ヌクレオチド配列の3'末端および5'末端に、逆位脱塩基残基をさらに含み、センス鎖は、3'末端および/または5'末端に共有結合により連結された標的化リガンドも含む。ある特定の実施形態では、標的化リガンドは、それぞれ本明細書の表6において定義されている、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、および(NAG37)sから選択される。

## 【0088】

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、(5'から3')

10

20

30

40

50



## 【化 1 4 1】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG (配列番号 87);  
AGCGACUUCAUCUUUCUUC (配列番号 141);  
ACUUCAUCUUUCUUCCCAC (配列番号 133); または  
UGAAAUAAAUAAAGGAGA (配列番号 239)

からなる群から選択されるヌクレオチド配列と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖を含む。

10

## 【0 0 8 9】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、( 5 ' から 3 ' )

## 【化 1 4 2】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG (配列番号 87);  
AGCGACUUCAUCUUUCUUC (配列番号 141);  
ACUUCAUCUUUCUUCCCAC (配列番号 133); または  
UGAAAUAAAUAAAGGAGA (配列番号 239)

からなる群から選択されるヌクレオチド配列と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、アンチセンス鎖を含む。

20

## 【0 0 9 0】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、( 5 ' から 3 ' )

## 【化 1 4 3】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG (配列番号 87);  
AGCGACUUCAUCUUUCUUC (配列番号 141);  
ACUUCAUCUUUCUUCCCAC (配列番号 133); または  
UGAAAUAAAUAAAGGAGA (配列番号 239)

30

からなる群から選択されるヌクレオチド配列と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列を含むアンチセンス鎖であって、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドであり、

## 【化 1 4 4】

配列番号 87, 配列番号 141, 配列番号 133, または 配列番号 239

が、それぞれ、アンチセンス鎖のヌクレオチド 1 ~ 1 9 位 ( 5 ' から 3 ' ) に位置している、アンチセンス鎖を含む。

40

## 【0 0 9 1】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、( 5 ' から 3 ' )

## 【化 1 4 5】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAGGAIUA	(配列番号	253);		
UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAGGAGUA	(配列番号	250);		
UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAIGAIUA	(配列番号	257);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	10
GAAGAAAGAUGAAGUCICU	(配列番号	316);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	312);		
ACUUCAUCUUUCUCCAC	(配列番号	133)	および	
GUGGGAAGAAAGAUGAAGU	(配列番号	304);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAIUCICU	(配列番号	852);		20
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	312);		
UGAAAUAAAUAAGGAGA	(配列番号	239)	および	
UCUCCUUUAUUUAUUUCA	(配列番号	414)		

からなる群から選択されるヌクレオチド配列対と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列をそれぞれ含む、アンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表す。

## 【0 0 9 2】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤は、( 5 ' から 3 ' )

## 【化 1 4 6】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAGGAIUA	(配列番号	253);		
UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAGGAGUA	(配列番号	250);		

## 【化 1 4 7】

UACUCCUUGGUCAUGAUAG	(配列番号	87)	および	
CUAUC AUGACCAAIGAIUA	(配列番号	257);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAGUCICU	(配列番号	316);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	312);		
ACUUCAUCUUUCUCCCCAC	(配列番号	133)	および	10
GUGGGAAGAAAGAUGAAGU	(配列番号	304);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAIUCICU	(配列番号	852);		
AGCGACUUCAUCUUUCUUC	(配列番号	141)	および	
GAAGAAAGAUGAAGUCGCU	(配列番号	312);		
UGAAAUAAAUAAAGGAGA	(配列番号	239)	および	
UCUCCUUUAAUUUAUUUCA	(配列番号	414)		20

からなる群から選択されるヌクレオチド配列対と 0 または 1 個の核酸塩基が異なる核酸塩基配列をそれぞれ含む、アンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、ここで、I は、イノシンヌクレオチドを表し、ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドである。

## 【0093】

一部の実施形態では、1 つまたは複数の ASGR1 RNAi 剤を含む本明細書に記載される組成物は、キット、容器、パック、デispenser、事前充填シリンジ、またはバイアルにパッケージングされる。一部の実施形態では、本明細書に記載される組成物は、非経口で投与される。

30

## 【0094】

本発明の他の目的、特性、態様、および利点は、以下の詳細な説明、添付の図面、および特許請求の範囲から明らか。

特定の実施形態では、例えば、以下が提供される：

(項目 1)

ASGR1 遺伝子の発現を阻害するための RNAi 剤であって、

表 2 または表 3 に提供されるアンチセンス鎖配列のうちのいずれかと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる少なくとも 16 個の連続したヌクレオチドを含むアンチセンス鎖と、前記アンチセンス鎖に対して少なくとも部分的に相補的であるヌクレオチド配列を含むセンス鎖と

40

を含む、RNAi 剤。

(項目 2)

前記アンチセンス鎖が、表 2 または表 3 に提供される配列のうちのいずれかのヌクレオチド 2 ~ 18 を含む、項目 1 に記載の RNAi 剤。

(項目 3)

前記センス鎖が、前記アンチセンス鎖に対して少なくとも 85% 相補的である少なくとも 16 個の連続したヌクレオチドのヌクレオチド配列を含む、項目 1 または 2 に記載の RNAi 剤。

(項目 4)

前記センス鎖が、表 2 または表 4 に提供されるセンス鎖配列のうちのいずれかの少なく

50

とも 16 個の連続したヌクレオチドを含む、項目 3 に記載の RNA i 剤。

(項目 5)

前記センス鎖およびアンチセンス鎖が、それぞれ、約 16 ~ 約 30 個のヌクレオチドの長さである、項目 1 から 4 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 6)

前記センス鎖およびアンチセンス鎖が、それぞれ、約 17 ~ 約 26 個のヌクレオチドの長さである、項目 1 から 5 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 7)

前記センス鎖および / または前記アンチセンス鎖の少なくとも 1 つのヌクレオチドが、修飾されたヌクレオチドであるか、または修飾されたヌクレオシド間連結を含む、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

10

(項目 8)

前記ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、項目 1 から 6 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 9)

前記修飾されたヌクレオチドが、デオキシリボヌクレオチド、脱塩基ヌクレオチド、2' - 修飾ヌクレオチド、逆位ヌクレオチド、2' , 3' - セコヌクレオチド模倣体、ロックドヌクレオチド、2' - F - アラビノヌクレオチド、5' - Me , 2' - フルオロヌクレオチド、イノシン含有ヌクレオチド、またはこれらの組合せである、項目 7 または 8 に記載の RNA i 剤。

20

(項目 10)

前記センス鎖が、少なくとも 1 つのイノシン含有ヌクレオチドを含む、項目 7 に記載の RNA i 剤。

(項目 11)

前記アンチセンス鎖が、少なくとも 1 つの 2' , 3' - セコ - ヌクレオチドを含む、項目 7 に記載の RNA i 剤。

(項目 12)

前記アンチセンス鎖が、表 2 に提供されるアンチセンス配列のうちのいずれかのヌクレオチド配列を含む、項目 1 から 11 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 13)

前記センス鎖が、表 2 に提供されるセンス配列のうちのいずれかのヌクレオチド配列を含む、項目 12 に記載の RNA i 剤。

30

(項目 14)

前記アンチセンス鎖が、表 3 に提供される修飾されたアンチセンス配列のうちのいずれかの修飾された配列を含む、項目 1 から 11 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 15)

前記センス鎖が、表 4 に提供される修飾されたセンス配列のうちのいずれかの修飾された配列を含む、項目 14 に記載の RNA i 剤。

(項目 16)

標的化リガンドにコンジュゲートされている、項目 1 から 15 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

40

(項目 17)

前記標的化リガンドが、N - アセチル - ガラクトサミンを含む、項目 16 に記載の RNA i 剤。

(項目 18)

前記標的化リガンドが、表 6 内の標的化リガンドから選択される、項目 16 に記載の RNA i 剤。

(項目 19)

前記標的化リガンドが、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG37)、または (NAG37)s である、項目 16 に記載の RNA i 剤。

50

( 項目 2 0 )

前記標的化リガンドが、前記センス鎖の 5 ' 末端にコンジュゲートされている、項目 1 6 から 1 9 のいずれか一項に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 1 )

前記標的化リガンドが、前記センス鎖の 3 ' 末端にコンジュゲートされている、項目 1 6 から 1 9 のいずれか一項に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 2 )

前記センス鎖が、1 つまたは 2 つの逆位脱塩基残基を含む、項目 1 から 2 1 のいずれか一項に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 3 )

表 5 に提供される二重鎖のうちのいずれかである、項目 1 から 2 2 のいずれか一項に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 4 )

【化 1 5 1】

AD05126 ( 配列番号 10 および 631), AD05150 ( 配列番号 10 および 632),  
AD05183 ( 配列番号 2 および 636), AD05186 ( 配列番号 2 および 639), AD05193  
( 配列番号 5 および 645), AD05195 ( 配列番号 5 および 647), AD05196 ( 配列番号  
5 および 648), AD05206 ( 配列番号 28 および 658), AD05209 ( 配列番号 4

【化 1 5 2】

および 602), AD05256 ( 配列番号 2 および 674), AD05374 ( 配列番号 2 および 700),  
AD05609 ( 配列番号 7 および 708), または AD05692 ( 配列番号 9 および 721)

から選択される二重鎖である、項目 1 に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 5 )

前記アンチセンス鎖が、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

【化 1 5 3】

UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU ( 配列番号 3);  
AGCGACUUCAUCUUUCUCCG ( 配列番号 6);  
AGCGACUUCAUCUUUCUUCGU ( 配列番号 8);  
ACUUCAUCUUUCUUCCACGC ( 配列番号 11); または  
UGAAAUAAAUAAAAGGAGAGG ( 配列番号 27)

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含む、項目 1 に記載の R N A i 剤。

( 項目 2 6 )

前記センス鎖が、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

10

20

30

40

50

## 【化 1 5 4】

ACCUAUAUGACCAAGGAIUA (配列番号 12),  
 ACCUAUAUGACCAAGGAGUA (配列番号 13);  
 ACCUAUAUGACCAAIGAIUA (配列番号 14);  
 CGGAAGAAAGAUGAAGUCICU (配列番号 15);  
 ACGAAGAAAGAUGAAGUCICU (配列番号 16);  
 ACGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 17);  
 GCGUGGGAAGAAAGAUGAAGU (配列番号 18);  
 CGGAAGAAAGAUGAAIUCICU (配列番号 31);  
 CGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU (配列番号 33); または  
 CCUCUCCUUUAAUUUAUUUCA (配列番号 35)

10

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なるヌクレオチド配列からなるか、本質的にそれからなるか、またはそれを含み、

I は、イノシンヌクレオチドを表す、項目 2 5 に記載の RNA i 剤。

( 項目 2 7 )

20

前記ヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、項目 2 5 または 2 6 に記載の RNA i 剤。

( 項目 2 8 )

前記センス鎖が、前記ヌクレオチド配列の 3 ' 末端、前記ヌクレオチド配列の 5 ' 末端、または 3 ' 末端および 5 ' 末端の両方に、逆位脱塩基残基をさらに含む、項目 2 7 に記載の RNA i 剤。

( 項目 2 9 )

前記アンチセンス鎖が、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

## 【化 1 5 5】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2);

30

## 【化 1 5 6】

usAfscUfcCfuU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5);

asGfscGfaCfuucacfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7);

asGfscsgacuucacfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10); または

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28);

40

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列を含むか、それからなるか、または本質的にそれからなり、a、c、g、および u が、それぞれ

、2 ' - O - メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、A f、C f、G f、および U f が、それぞれ、2 ' - フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表し、U<sub>UNA</sub> が、2 '、3 ' - セコ - ウリジンを表し、s が、ホスホロチオエート連結を表し、前記センス鎖におけるヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべてが、修飾されたヌクレオチドである、項目 1 に記載の RNA i 剤。

( 項目 3 0 )

前記センス鎖が、以下のヌクレオチド配列 ( 5 ' から 3 ' )

50

## 【化 1 5 7】

accuaucaUfGfAfccaaggaiua (配列番号 19);  
accuaucaUfGfAfccaaggagua (配列番号 20);  
accuaucaUfGfAfcCaaggagua (配列番号 21);  
accuaucaUfGfAfcCaigaiua (配列番号 22);  
cggaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 23);  
acgaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 24);  
acgaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 25);  
gcgugggaAfGfAfaaugaagaagu (配列番号 26);  
gscgugggaAfGfAfaaugaagaagu (配列番号 29);  
accuaucaUfGfAfccaagigaiua (配列番号 30);  
cggaagaaAfGfAfugaaiucicu (配列番号 32);  
cggaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 34); または  
ccucuccuUfUfAfauuuuuuuca (配列番号 36)

10

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列を含むか、それからなるか、または本質的にそれからなり、a、c、g、i、および u が、それぞれ、2'-O-メチルアデノシン、シチジン、グアノシン、イノシン、またはウリジンを表し、Af、Cf、Gf、および Uf が、それぞれ、2'-フルオロアデノシン、シチジン、グアノシン、またはウリジンを表す、項目 1 に記載の RNA i 剤。

20

(項目 31)

二重鎖対の前記センス鎖およびアンチセンス鎖が、以下のヌクレオチド配列対 (5' から 3')

30

40

50

## 【化 1 5 8】

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfccaaggaiua (配列番号 19);

usAfscUfcCfuU<sub>UNA</sub>UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 4) および  
accuaucaUfGfAfccaaggagua (配列番号 20);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaaggagua (配列番号 21);

usAfscUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu (配列番号 2) および  
accuaucaUfGfAfcCaaigaiua (配列番号 22);

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 23);

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsGfsu (配列番号 7) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucicu (配列番号 24);

asGfscsgacuucuuCfuUfuCfuUfcGfsu (配列番号 9) および  
acgaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 25);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10) および  
gcgugggaAfGfAfaaugaagaagu (配列番号 26);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10) および  
gscgugggaAfGfAfaaugaagaagu (配列番号 29);

asCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcGfsc (配列番号 10) および  
accuaucaUfGfAfccaagaiua (配列番号 30);

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaaiucicu (配列番号 32);

asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg (配列番号 5) および  
cggaagaaAfGfAfugaagucgcu (配列番号 34); または

usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfgGfaGfasGfsg (配列番号 28) および  
ccucuccuUfUfAfauuuuuua (配列番号 36)

のうちの 1 つと 0 または 1 個のヌクレオチドが異なる修飾されたヌクレオチド配列を含む  
か、それからなるか、または本質的にそれからなる、項目 1 に記載の RNA i 剤。

(項目 3 2)

前記センス鎖の 5' 末端において標的化リガンドにコンジュゲートされている、項目 2 9  
から 3 1 のいずれか一項に記載の RNA i 剤。

(項目 3 3)

前記標的化リガンドが、

(NAG 2 5)、(NAG 2 5) s、(NAG 3 7)、または(NAG 3 7) s

からなる群から選択される、項目 3 2 に記載の RNA i 剤。

(項目 3 4)

前記標的化リガンドが、N - アセチル - ガラクトサミンを含み、

10

20

30

40

50

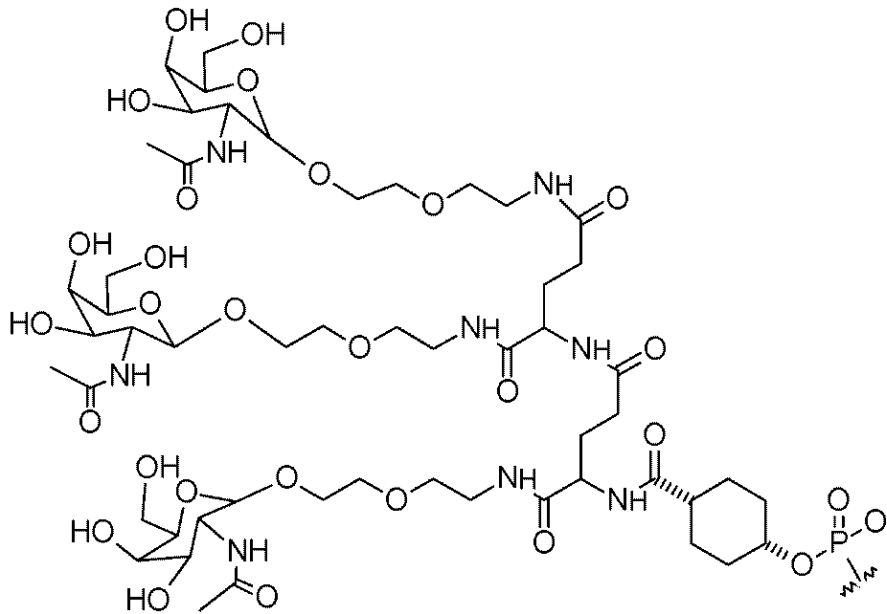


C[C@H]1N[C@@H](COCCOCCNC(=O)C[C@H]2N[C@@H](COCCOCCNC(=O)[C@@H](N)C(=O)CCOP(=O)([O-])OCCOC)C[C@H](O)[C@H](O)[C@H]2O)[C@H](O)[C@H](O)[C@H]1OCC(=O)N[C@@H]1O[C@H](COCCOCCNCC(=O)N[C@@H]2CC(=O)N[C@@H](CC(=O)N[C@@H]3CC(=O)N[C@@H](CCOCCOCCOCCOP(=O)([S-])\*)CC3)C[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]2O)[C@H](O)[C@@H](O)[C@H]1O

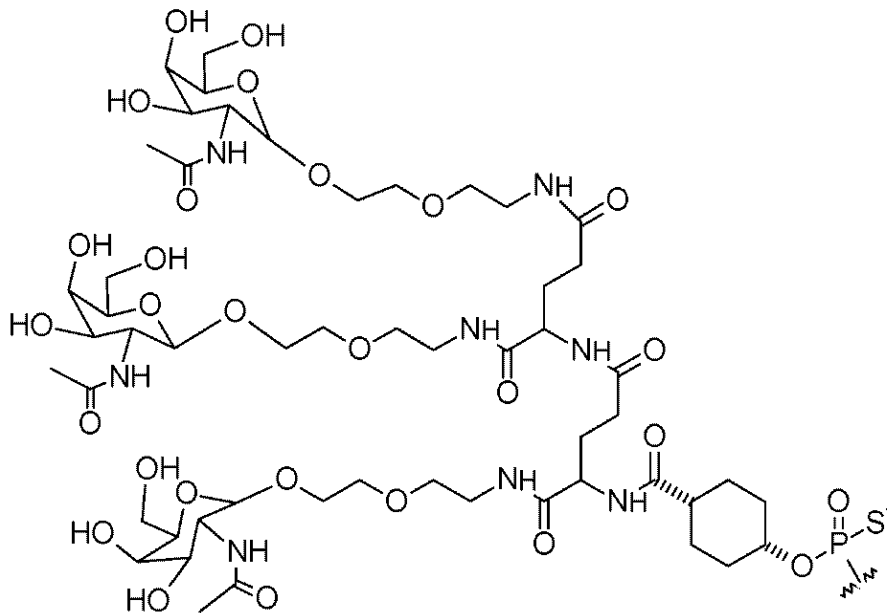
(NAG25)s;

50

【化 1 6 0】



(NAG37); および



(NAG37)s

からなる群から選択される構造を有する、三座リガンドである、項目 3 3 に記載の RNA i 剤。

(項目 3 5 )

項目 1 から 3 1 のいずれか一項に記載の RNA i 剤と、薬学的に許容される賦形剤とを含む、組成物。

(項目 3 6 )

アンチセンス鎖およびセンス鎖を含む第 2 の ASGR1 RNA i 剤をさらに含み、前記アンチセンス鎖が、表 2 または表 3 に提供される配列のうちのいずれかのヌクレオチド 2 ~ 1 8 を含む、項目 3 4 に記載の組成物。

(項目 3 7 )

1 つまたは複数の追加の治療薬をさらに含む、項目 3 5 または 3 6 に記載の組成物。

( 項目 3 8 )

細胞において A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための方法であって、前記細胞に、項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤を投与するステップを含む、方法。

( 項目 3 9 )

前記細胞が、ヒト対象内にある、項目 3 8 に記載の方法。

( 項目 4 0 )

対象において A S G R 1 遺伝子の発現を阻害するための方法であって、前記対象に、項目 3 5 から 3 7 のいずれかに記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

( 項目 4 1 )

A S G R 1 関連疾患または障害を処置する方法であって、それを必要とする対象に、有効量の項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤または項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

10

( 項目 4 2 )

前記 A S G R 1 関連疾患または障害が、肥満、代謝症候群、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、脂質代謝異常および/もしくはコレステロール代謝異常、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、心血管疾患、冠状動脈疾患、心筋梗塞、末梢血管疾患、または脳血管疾患である、項目 4 1 に記載の方法。

( 項目 4 3 )

非 H D L コレステロールの低減をそれを必要とする対象において行うための方法であって、前記対象に、有効量の項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤または項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

20

( 項目 4 4 )

前記非 H D L コレステロールが、L D L コレステロールである、項目 4 3 に記載の方法。

( 項目 4 5 )

心筋梗塞の危険性の低減をそれを必要とする対象において行うための方法であって、前記対象に、有効量の項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤または項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の組成物を投与するステップを含む、方法。

( 項目 4 6 )

前記対象が、冠状動脈疾患と診断されている、項目 4 5 に記載の方法。

( 項目 4 7 )

前記対象が、非 H D L コレステロールレベルの上昇を有する、項目 4 5 に記載の方法。

30

( 項目 4 8 )

前記 R N A i 剤が、ヒト対象の体重を基準として約 0 . 0 5 m g / k g ~ 約 5 . 0 m g / k g の用量で投与される、項目 3 8 から 4 7 のいずれか一項に記載の方法。

( 項目 4 9 )

A S G R 1 関連疾患または障害の処置のための、項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤または項目 3 5 から 3 7 のいずれか一項に記載の組成物の使用。

( 項目 5 0 )

A S G R 1 関連疾患または障害の処置のための医薬の製造のための、項目 3 5 から 3 7 のいずれかに記載の組成物の使用。

40

( 項目 5 1 )

非 H D L コレステロールの低減をそれを必要とする対象において行うための医薬の製造のための、項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤の使用。

( 項目 5 2 )

心筋梗塞の危険性の低減をそれを必要とする対象において行うための医薬の製造のための、項目 1 から 3 4 のいずれか一項に記載の R N A i 剤の使用。

【図面の簡単な説明】

【 0 0 9 5 】

【図 1 A】図 1 A は、( N A G 3 7 ) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド ( 表 6 を参照されたい ) にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A

50

D05126の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Aは、配列番号10および631を開示する。以下の略語が、図1Aから1Mにおいて使用されている：a、c、g、i、およびuは、2'-O-メチル修飾ヌクレオチドであり、Af、Cf、Gf、およびUfは、2'-フルオロ修飾ヌクレオチドであり、pは、ホスホジエステル連結であり、sは、ホスホロチオエート連結であり、in v Abは、逆位脱塩基残基であり（たとえば、表6を参照されたい）、Cは、シチジンリボヌクレオチドであり、UNAは、2', 3'-セコ-ウリジンであり（たとえば、表6を参照されたい）、(NAG37)sおよび(NAG37)pは、それぞれ、表6に示される構造を有する三座配位のN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドである。

【図1B】図1Bは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05150の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Bは、配列番号10および632を開示する。

10

【図1C】図1Cは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05183の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Cは、配列番号2および636を開示する。

【図1D】図1Dは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05186の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Dは、配列番号2および639を開示する。

20

【図1E】図1Eは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05193の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Eは、配列番号5および645を開示する。

【図1F】図1Fは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05195の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Fは、配列番号5および647を開示する。

【図1G】図1Gは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05196の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Gは、配列番号5および648を開示する。

30

【図1H】図1Hは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05206の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Hは、配列番号28および658を開示する。

【図1I】図1Iは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05209の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Iは、配列番号4および602を開示する。

40

【図1J】図1Jは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05256の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Jは、配列番号2および674を開示する。

【図1K】図1Kは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三座リガンド（表6を参照されたい）にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi剤AD05374の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表3～5を参照されたい）の概略図である。図1Kは、配列番号2および700を開示する。

【図1L】図1Lは、(NAG37)sの構造を有するN-アセチル-ガラクトサミン三

50

座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 6 0 9 の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表 3 ～ 5 を参照されたい）の概略図である。図 1 L は、配列番号 7 および 7 0 8 を開示する。

【図 1 M】図 1 M は、（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 6 9 2 の修飾されたセンス鎖およびアンチセンス鎖（表 3 ～ 5 を参照されたい）の概略図である。図 1 M は、配列番号 9 および 7 2 1 を開示する。

【図 2 A】図 2 A ～ 2 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

10

【図 2 B】図 2 A ～ 2 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

【図 2 C】図 2 A ～ 2 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

【図 2 D】図 2 A ～ 2 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

20

【図 3 A】図 3 A ～ 3 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

【図 3 B】図 3 A ～ 3 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

30

【図 3 C】図 3 A ～ 3 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

【図 3 D】図 3 A ～ 3 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 9 3 の化学構造の図である。

【図 4 A】図 4 A ～ 4 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 2 0 9 の化学構造の図である。

40

【図 4 B】図 4 A ～ 4 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 2 0 9 の化学構造の図である。

【図 4 C】図 4 A ～ 4 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において（N A G 3 7）s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド（表 6 を参照されたい）にコンジュゲートされた、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 2 0 9 の化

50

学構造の図である。

【図 4 D】図 4 A ~ 4 D は、ナトリウム塩の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において (NAG37) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド (表 6 を参照されたい) にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi 剤 AD05209 の化学構造の図である。

【図 5 A】図 5 A ~ 5 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において (NAG37) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド (表 6 を参照されたい) にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi 剤 AD05209 の化学構造の図である。

【図 5 B】図 5 A ~ 5 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において (NAG37) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド (表 6 を参照されたい) にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi 剤 AD05209 の化学構造の図である。

【図 5 C】図 5 A ~ 5 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において (NAG37) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド (表 6 を参照されたい) にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi 剤 AD05209 の化学構造の図である。

【図 5 D】図 5 A ~ 5 D は、遊離酸の形態で示されている、センス鎖の 5' 末端において (NAG37) s の構造を有する N - アセチル - ガラクトサミン三座リガンド (表 6 を参照されたい) にコンジュゲートされた、ASGR1 RNAi 剤 AD05209 の化学構造の図である。

【発明を実施するための形態】

【0096】

詳細な説明

定義

本明細書において使用される場合、「オリゴヌクレオチド」および「ポリヌクレオチド」という用語は、連結したヌクレオシドのポリマーを意味し、それらのそれぞれは、独立して、修飾されていてもよく、または修飾されていなくてもよい。

【0097】

本明細書において使用される場合、「RNAi 剤」(「RNAi トリガー」とも称される) は、配列特異的な様式で、標的メッセンジャー RNA (mRNA) の mRNA 転写産物の翻訳を低下または阻害することができる (たとえば、適切な条件下において低下または阻害する)、RNA または RNA 様 (たとえば、化学修飾された RNA) オリゴヌクレオチド分子を含む組成物を意味する。本明細書において使用される場合、RNAi 剤は、RNA 干渉機序 (すなわち、哺乳動物細胞の RNA 干渉経路機構 (RNA に誘導されるサイレンシング複合体もしくは RISC) との相互作用を通じて RNA 干渉を誘導すること) を通じて、または任意の代替的な機序または経路によって、作動し得る。RNAi 剤は、この用語が本明細書において使用される場合、主として、RNA 干渉機序を通じて作動すると考えられるが、開示される RNAi 剤は、任意の特定の作用経路または作用機序に束縛されることも制限されることもない。本明細書に開示される RNAi 剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖から構成され、これには、短い (または小さな) 干渉 RNA (siRNA)、二本鎖 RNA (dsRNA)、マイクロ RNA (miRNA)、短いヘアピン RNA (shRNA)、およびダイサー (dicer) 基質が含まれるが、これらに限定されない。本明細書に記載される RNAi 剤のアンチセンス鎖は、標的とされている mRNA (すなわち、ASGR1 mRNA) に対して少なくとも部分的に相補的である。RNAi 剤は、1 つもしくは複数の修飾されたヌクレオチドおよび / または 1 つもしくは複数の非ホスホジエステル連結を含み得る。

【0098】

本明細書において使用される場合、「サイレンシングする」、「低減する」、「阻害する」、「下方調節する」、または「ノックダウンする」という用語は、所与の遺伝子の発

現に言及する場合、遺伝子が転写される細胞、細胞の群、組織、器官、または対象において、遺伝子から転写されるRNAのレベルまたはmRNAから翻訳されるポリペプチド、タンパク質、もしくはタンパク質サブユニットのレベルによって測定される遺伝子の発現が、細胞、細胞の群、組織、器官、または対象を本明細書に記載されるRNAi剤で処置した場合に、そのように処置されていない第2の細胞、細胞の群、組織、器官、または対象と比較して、低減されることを意味する。

【0099】

本明細書において使用される場合、「配列」および「ヌクレオチド配列」という用語は、標準的な命名法を使用して一連の文字で記載された、核酸塩基またはヌクレオチドの連続物または順序を意味する。

10

【0100】

本明細書において使用される場合、「塩基」、「ヌクレオチド塩基」、または「核酸塩基」は、ヌクレオチドの構成要素である複素環式ピリミジンまたはプリン化合物であり、これには、主要なプリン塩基であるアデニンおよびグアニン、ならびに主要なピリミジン塩基であるシトシン、チミン、およびウラシルが含まれる。核酸塩基は、限定することなく、ユニバーサル塩基、疎水性塩基、乱雑塩基 (promiscuous base)、サイズ拡大塩基、およびフッ素化塩基を含むように、さらに修飾され得る。(たとえば、Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine, Herdewijn, P. ed. Wiley -VCH, 2008を参照されたい)。そのような修飾された核酸塩基(修飾された核酸塩基を含むホスホラミダイト化合物を含む)の合成は、当該技術分野において公知である。

20

【0101】

本明細書において使用される場合、および別途示されない場合、「相補的」という用語は、第1の核酸塩基またはヌクレオチド配列(たとえば、RNAi剤のセンス鎖または標的とされるmRNA)を、第2の核酸塩基またはヌクレオチド配列(たとえば、RNAi剤のアンチセンス鎖または一本鎖アンチセンスオリゴヌクレオチド)に関連して説明するために使用される場合、第1のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドが、ハイブリダイズし(哺乳動物の生理学的条件(またはin vitroにおける類似の条件)下において塩基対の水素結合を形成し)、ある特定の標準的な条件下において第2のヌクレオチド配列を含むオリゴヌクレオチドまたはポリヌクレオチドと二重鎖または二本鎖ヘリックス構造を形成する、能力を意味する。相補的な配列には、少なくとも上述のハイブリダイゼーション要件が満たされる程度に、ワトソンクリック塩基対または非ワトソンクリック塩基対が含まれ、天然であるかまたは修飾されたヌクレオチドまたはヌクレオチド模倣体が含まれる。配列同一性または相補性は、修飾とは独立している。たとえば、aおよびAfは、本明細書において定義される場合、同一性または相補性を決定する目的で、U(またはT)に対して相補的であり、Aと同一である。

30

【0102】

本明細書において使用される場合、「完璧に相補的」または「完全に相補的」とは、ハイブリダイズした核酸塩基またはヌクレオチド配列分子の対において、第1のオリゴヌクレオチドの連続した配列における塩基のすべて(100%)が、第2のオリゴヌクレオチドの連続した配列における同じ数の塩基とハイブリダイズすることを意味する。連続した配列は、第1または第2のヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含み得る。

40

【0103】

本明細書において使用される場合、「部分的に相補的」とは、ハイブリダイズした核酸塩基またはヌクレオチド配列分子の対において、第1のオリゴヌクレオチドの連続した配列における塩基のすべてではないが少なくとも70%が、第2のオリゴヌクレオチドの連続した配列における同じ数の塩基とハイブリダイズすることを意味する。連続した配列は、第1または第2のヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含み得る。

【0104】

本明細書において使用される場合、「実質的に相補的」とは、ハイブリダイズした核酸

50

塩基またはヌクレオチド配列分子の対において、第1のオリゴヌクレオチドの連続した配列における塩基のすべてではないが少なくとも85%が、第2のオリゴヌクレオチドの連続した配列における同じ数の塩基とハイブリダイズすることを意味する。連続した配列は、第1または第2のヌクレオチド配列のすべてまたは一部を含み得る。

【0105】

本明細書において使用される場合、「相補的」、「完全に相補的」、「部分的に相補的」、および「実質的に相補的」という用語は、RNAi剤のセンス鎖とアンチセンス鎖との間、またはRNAi剤のアンチセンス鎖とASGR1 mRNAの配列との間の核酸塩基またはヌクレオチドのマッチングに関して使用される。

【0106】

本明細書において使用される場合、「実質的に同一」または「実質的な同一性」という用語は、核酸配列に適用される場合、ヌクレオチド配列（またはヌクレオチド配列の一部）が、参照配列と比較して、少なくとも約85%の配列同一性、またはそれを上回る、たとえば、少なくとも90%、少なくとも95%、もしくは少なくとも99%の同一性を有することを意味する。配列同一性の割合は、2つの最適にアライメントされた配列を、比較枠にわたって比較することによって判定される。割合は、両方の配列において同じ種類の核酸塩基が生じる位置の数を判定して、マッチする位置の数を得、マッチする位置の数を、比較の枠内の位置の総数で除し、結果に100を乗じて配列同一性の割合を得ることによって、計算される。本明細書に開示される発明は、本明細書に開示されるものと実質的に同一であるヌクレオチド配列を包含する。

【0107】

本明細書において使用される場合、「処置する」、「処置」などの用語は、対象における疾患の1つまたは複数の症状の数、重症度、および/または頻度の軽減または緩和を提供するためになされる方法またはステップを意味する。本明細書において使用される場合、「処置する」および「処置」には、対象における疾患の1つまたは複数の症状の数、重症度、および/または頻度の予防的処置、管理、防止的処置、および/または阻害もしくは低減が含まれ得る。

【0108】

本明細書において使用される場合、「細胞に導入する」という語句は、RNAi剤に言及する場合、RNAi剤を細胞に機能的に送達することを意味する。「機能的な送達」という語句は、RNAi剤が、予測される生物学的活性、たとえば、遺伝子発現の配列特異的な阻害を有することが可能となる様式で、RNAi剤を細胞に送達することを意味する。

【0109】

別途示されない限り、

【化148】



という記号の使用は、本明細書において使用される場合、本明細書に記載される発明の範囲内に含まれる、任意の基が、そこに連結され得ることを意味する。

【0110】

本明細書において使用される場合、「異性体」という用語は、同一な分子式を有するが、原子の結合の性質もしくは順序または原子の空間配置が異なる、化合物を指す。原子の空間配置が異なる異性体は、「立体異性体」と称される。互いに鏡像ではない立体異性体は、「ジアステレオ異性体」と称され、重ね合わせることができない鏡像である立体異性体は、「エナンチオマー」と称されるかまたは光学異性体と称されることもある。同一でない4つの置換基に結合した炭素原子は、「キラル中心」と称される。

【0111】

本明細書において使用される場合、構造において特定の立体構造を有すると具体的に特定されない限り、不斉中心が存在し、したがってエナンチオマー、ジアステレオマー、ま



たは他の立体異性体構成が生じるそれぞれの構造について、本明細書に開示されるそれぞれの構造は、光学的に純粋な形態およびラセミ形態を含め、すべてのそのような可能性のある異性体を表すことが意図される。たとえば、本明細書に開示される構造は、ジアステレオマーの混合物ならびに単一の立体異性体の両方を包含することが意図される。

【0112】

本特許請求において使用される場合、「からなる」という語句は、本特許請求に示されていない任意の要素、ステップ、または成分を除外する。本特許請求において使用される場合、「本質的にからなる」という語句は、本特許請求の範囲を、指定された材料またはステップ、ならびに特許請求される発明の基本的かつ新規な特徴に実質的に影響を及ぼさないものに限定する。

10

【0113】

当業者であれば、本明細書に開示される化合物および組成物が、化合物または組成物が置かれている環境に応じて、ある特定の原子（たとえば、N、O、またはS原子）をプロトン化状態または脱プロトン化状態で有し得ることを容易に理解および認識する。したがって、本明細書において使用される場合、本明細書に開示される構造は、ある特定の官能基、たとえば、OH、SH、またはNHなどが、プロトン化されていてもよく、または脱プロトン化されていてもよいことを想定する。本明細書における開示は、当業者によって容易に理解されるように、開示される化合物および組成物を、環境（たとえば、pH）に基づいたプロトン化の状態に関係なく、包含することを意図する。

【0114】

20

本明細書において使用される場合、「連結された」または「コンジュゲートされた」という用語は、2つの化合物または分子の間の接続に言及している場合、2つの化合物または分子が、共有結合によって結合されていることを意味する。示されない限り、「連結された」および「コンジュゲートされた」という用語は、本明細書において使用される場合、任意の介在原子または原子の群を伴うかまたは伴わないかのいずれかの、第1の化合物と第2の化合物との間の接続を指し得る。

【0115】

本明細書において使用される場合、「含む」という用語は、「含むが、限定されない」という語句を意味して本明細書に使用され、また、それと互換可能に使用される。「または」という用語は、内容により別途明確に示されない限り、「および/または」という用語を意味して本明細書に使用され、また、それと互換可能に使用される。

30

【0116】

別途定義されない限り、本明細書において使用されるすべての技術用語および科学用語は、当業者によって広く理解されているものと同じ意味を有する。本明細書に記載されるものに類似またはそれと同等の方法および材料を、本発明の実施または試験において使用することができるが、好適な方法および材料が、以下に記載されている。本明細書に記載されるすべての刊行物、特許出願、特許、および他の参考文献は、参照によりその全体が組み込まれる。矛盾が生じた場合には、定義を含め、本明細書が優先される。加えて、材料、方法、および実施例は、例示に過ぎず、限定することを意図するものではない。

RNAi剤

40

【0117】

ASGR1遺伝子の発現を阻害するためのRNAi剤（本明細書において、ASGR1 RNAi剤またはASGR1 RNAiトリガーと称される）が、本明細書に記載される。それぞれのASGR1 RNAi剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む。センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、16～30ヌクレオチド長であり得る。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、17～26個のヌクレオチドの長さであり得る。センス鎖およびアンチセンス鎖は、同じ長さであってもよく、またはそれらは異なる長さであってもよい。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、独立して、17～21個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、21～26個のヌクレオチドの長さ

50

である。一部の実施形態では、センス鎖は、約 19 個のヌクレオチドの長さであり、一方でアンチセンス鎖は、約 21 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖は、約 21 個のヌクレオチドの長さであり、一方でアンチセンス鎖は、約 23 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖は、23 個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、21 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の両方は、それぞれ、21 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖およびアンチセンス鎖の両方は、それぞれ、26 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖は、22 個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、21 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖は、19 個のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖は、21 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、独立して、17、18、19、20、21、22、23、24、25、または 26 個のヌクレオチドの長さである。

10

#### 【0118】

一部の実施形態では、二本鎖 RNAi 剤は、約 16、17、18、19、20、21、22、23、または 24 個のヌクレオチドの二重鎖長を有する。センス鎖とアンチセンス鎖との間の完全または実質的な相補性のこの領域は、典型的に、15 ~ 26 個（たとえば、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、または 26 個）のヌクレオチドの長さであり、アンチセンス鎖の 5' 末端またはその近傍に生じる（たとえば、この領域は、完全または実質的に相補的ではないヌクレオチド 0、1、2、3、または 4 個分、アンチセンス鎖の 5' 末端から離れていてもよい）。

20

#### 【0119】

センス鎖およびアンチセンス鎖は、それぞれ、16 ~ 23 個の核酸塩基の長さであるコアストレッチ配列を含む。アンチセンス鎖のコアストレッチ配列は、ASGR1 mRNA 標的に存在するヌクレオチド配列（しばしば、たとえば、標的配列と称される）に対して、100%（完全に）相補的であるか、または少なくとも約 85%（実質的に）相補的である。センス鎖のコアストレッチ配列は、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列に対して、100%（完全に）相補的であるか、または少なくとも約 85%（実質的に）相補的であり、したがって、センス鎖のコアストレッチ配列は、ASGR1 mRNA 標的に存在するヌクレオチド配列（標的配列）に完全に同一であるかまたは少なくとも約 85% 同一である。センス鎖のコアストレッチ配列は、対応するアンチセンスのコア配列と同じ長さであってもよく、または異なる長さであってもよい。一部の実施形態では、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列は、16、17、18、19、20、21、22、または 23 個のヌクレオチドの長さである。一部の実施形態では、センス鎖のコアストレッチ配列は、16、17、18、19、20、21、22、または 23 個のヌクレオチドの長さである。

30

#### 【0120】

ASGR1 RNAi 剤を形成するのに使用されるセンス鎖およびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列の例は、表 2、3、および 4 に提供される。表 3 および 4 内のセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列を含む、RNAi 剤の二重鎖の例は、表 5 に示されている。

40

#### 【0121】

ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖が、アニーリングして、二重鎖が形成される。ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、互いに、部分的に、実質的に、または完全に相補的であり得る。相補的な二重鎖領域内において、センス鎖のコアストレッチ配列は、アンチセンスのコアストレッチ配列に対して少なくとも 85% 相補的であるかまたは 100% 相補的である。一部の実施形態では、センス鎖のコアストレッチ配列は、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列の対応する 16、17、18、19、20、21、22、または 23 個のヌクレオチドの配列に対して、少なくとも 85% または 100% 相補的である少なくとも 16、少なくとも 17、少なくとも 18、少なくとも 19、少なくとも 20、少なくとも 21、少なくとも 22、または少なくとも

50

2 3 個のヌクレオチドの配列を含む（すなわち、A S G R 1 R N A i 剤のセンスおよびアンチセンスのコアストレッチ配列は、少なくとも 8 5 % が塩基対合しているかまたは 1 0 0 % が塩基対合している少なくとも 1 6、少なくとも 1 7、少なくとも 1 8、少なくとも 1 9、少なくとも 2 0、少なくとも 2 1、少なくとも 2 2、または少なくとも 2 3 個のヌクレオチドの領域を有する）。

【 0 1 2 2 】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または表 3 のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオチドが異なる。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 2 または表 4 のセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオチドが異なる。

10

【 0 1 2 3 】

センス鎖および / またはアンチセンス鎖は、必要に応じてかつ独立して、コアストレッチ配列の 3' 末端、5' 末端、または 3' 末端および 5' 末端の両方に、追加の 1、2、3、4、5、または 6 個のヌクレオチド（伸長）を含み得る。アンチセンス鎖の追加のヌクレオチドは、存在する場合、A S G R 1 m R N A における対応する配列に対して相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。センス鎖の追加のヌクレオチドは、存在する場合、A S G R 1 m R N A における対応する配列と同一であってもよく、または同一でなくてもよい。アンチセンス鎖の追加のヌクレオチドは、存在する場合、対応するセンス鎖の追加のヌクレオチドが存在する場合にはそれに対して相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。

20

【 0 1 2 4 】

本明細書において使用される場合、伸長は、センス鎖のコアストレッチ配列および / またはアンチセンス鎖のコアストレッチ配列の 5' 末端および / または 3' 末端における 1、2、3、4、5、または 6 個のヌクレオチドを含む。センス鎖における伸長ヌクレオチドは、対応するアンチセンス鎖における、コアストレッチ配列のヌクレオチドまたは伸長ヌクレオチドのいずれかのヌクレオチドに対して相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。逆に、アンチセンス鎖における伸長ヌクレオチドは、対応するセンス鎖における、コアストレッチヌクレオチドまたは伸長ヌクレオチドのいずれかのヌクレオチドに対して相補的であってもよく、または相補的でなくてもよい。一部の実施形態では、R N A i 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方が、3' および 5' 伸長を含む。一部の実施形態では、一方の鎖の 3' 伸長ヌクレオチドのうちの 1 つまたは複数は、他方の鎖の 1 つまたは複数の 5' 伸長ヌクレオチドと塩基対合する。他の実施形態では、一方の鎖の 3' 伸長ヌクレオチドのうちの 1 つまたは複数は、他方の鎖の 1 つまたは複数の 5' 伸長ヌクレオチドと塩基対合しない。一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤は、3' 伸長を有するアンチセンス鎖および 5' 伸長を有するセンス鎖を有する。

30

【 0 1 2 5 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤は、1、2、3、4、5、または 6 個のヌクレオチドの長さの 3' 伸長を有するアンチセンス鎖を含む。他の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤は、1、2、または 3 個のヌクレオチドの長さの 3' 伸長を有するアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、アンチセンス鎖の伸長ヌクレオチドのうちの 1 つまたは複数は、ウラシルもしくはチミジンヌクレオチド、または対応する A S G R 1 m R N A 配列に対して相補的であるヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、3' アンチセンス鎖伸長は、限定されないが、以下の配列のうちの 1 つを含むかまたはそれからなる：A U A、U G C U U、C U G、U G、U G C C、C U G C C、C G U、C U U、U G C C U A、C U G C C U、U G C C U、U G A U U、G C C U A U、T、T T、U、U U（それぞれ、5' から 3' で列挙されている）。

40

【 0 1 2 6 】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖の 3' 末端は、追加の脱塩基残基または部位（A b）を含み得る。「脱塩基残基」または「脱塩基部位」は、糖の 1' 位における核酸塩基が欠

50

如したヌクレオチドまたはヌクレオシドである。一部の実施形態では、A bまたはA b A bが、アンチセンス鎖の3'末端に付加され得る。一部の実施形態では、脱塩基残基は、逆位脱塩基残基として付加されてもよい(表6を参照されたい)。(たとえば、F. Czauderna, Nucleic Acids Res., 2003, 31(11), 2705-16を参照されたい)。

#### 【0127】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1、2、3、4、または5個のヌクレオチドの長さの5'伸長を有するアンチセンス鎖を含む。他の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1または2個のヌクレオチドの長さの5'伸長を有するアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、アンチセンス鎖の伸長ヌクレオチドのうちの1つまたは複数は、ウラシルもしくはチミジンヌクレオチド、または対応するASGR1 mRNA配列に対して相補的であるヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、5'アンチセンス鎖伸長は、限定されないが、以下の配列のうちの1つを含むかまたはそれからなる：UA、TU、U、T、UU、TT、CUC(それぞれ、5'から3'で列挙されている)。アンチセンス鎖は、上述の3'伸長のうちのいずれかを、記載される5'アンチセンス鎖伸長が存在する場合はそれらのうちのいずれかと組み合わせてもよい。

#### 【0128】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1、2、3、4、または5個のヌクレオチドの長さの3'伸長を有するセンス鎖を含む。一部の実施形態では、センス鎖の伸長ヌクレオチドのうちの1つまたは複数は、アデノシン、ウラシル、もしくはチミジンヌクレオチド、ATジヌクレオチド、またはASGR1 mRNA配列内のヌクレオチドに対応するヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、3'センス鎖伸長は、限定されないが、以下の配列のうちの1つを含むかまたはそれからなる：T、UT、TT、UU、UUT、TTT、またはTTTT(それぞれ、5'から3'で列挙されている)。

#### 【0129】

一部の実施形態では、センス鎖の3'末端は、追加の脱塩基残基を含み得る。一部の実施形態では、UUA b、UA b、またはAbは、センス鎖の3'末端に付加され得る。一部の実施形態では、センス鎖の3'末端に付加される1つまたは複数の脱塩基残基は、逆位であってもよい(inv Ab)。一部の実施形態では、1つまたは複数の逆位脱塩基残基は、標的化リガンドとRNAi剤のセンス鎖の核酸塩基配列との間に挿入され得る。一部の実施形態では、RNAi剤のセンス鎖の一方または両方の末端またはその近傍に1つまたは複数の逆位脱塩基残基を含むことにより、RNAi剤の活性または他の所望される特性の増強が可能となり得る。

#### 【0130】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1、2、3、4、5、または6個のヌクレオチドの長さの5'伸長を有するセンス鎖を含む。一部の実施形態では、センス鎖の伸長ヌクレオチドのうちの1つまたは複数は、ウラシルもしくはアデノシンヌクレオチド、またはASGR1 mRNA配列内のヌクレオチドに対応するヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、センス鎖5'伸長は、限定されないが、以下の配列のうちの1つであり得る：CA、AUAGGC、AUAGG、AUAG、AUA、A、AA、AC、GCA、GGCA、GGC、UAUCA、UAUC、UCA、UAU、U、UU(それぞれ、5'から3'で列挙されている)。センス鎖は、3'伸長および/または5'伸長を有し得る。

#### 【0131】

一部の実施形態では、センス鎖の5'末端は、1つまたは複数の追加の脱塩基残基(たとえば、(Ab)または(AbAb))を含み得る。一部の実施形態では、センス鎖の5'末端に付加される1つまたは複数の脱塩基残基は、逆位であってもよい(たとえば、inv Ab)。一部の実施形態では、1つまたは複数の逆位脱塩基残基は、標的化リガンドとRNAi剤のセンス鎖の核酸塩基配列との間に挿入され得る。一部の実施形態では、RNAi剤のセンス鎖の一方または両方の末端またはその近傍に1つまたは複数の逆位脱塩基残基を含むことにより、RNAi剤の活性または他の所望される特性の増強が可能となり得る。

10

20

30

40

50

## 【 0 1 3 2 】

一部の実施形態では、センス鎖のコアストレッチ配列の 3' 末端またはセンス鎖配列の 3' 末端は、逆位脱塩基残基 (invAb (表 6 を参照されたい)) を含み得る。一部の実施形態では、センスコアストレッチの 5' 末端、またはセンス鎖配列の 5' 末端は、逆位脱塩基部位または残基を含み得る。一部の実施形態では、センス鎖のコアストレッチ配列の 3' 末端および 5' 末端の両方が、逆位脱塩基残基を含み得る。一部の実施形態では、センス鎖配列の 3' 末端および 5' 末端の両方が、逆位脱塩基残基を含み得る。

## 【 0 1 3 3 】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列の 3' 末端またはアンチセンス鎖配列の 3' 末端は、逆位脱塩基残基 (invAb (表 6 を参照されたい)) を含み得る。一部の実施形態では、アンチセンスコアストレッチの 5' 末端、またはアンチセンス鎖配列の 5' 末端は、逆位脱塩基部位または残基を含み得る。一部の実施形態では、アンチセンス鎖のコアストレッチ配列の 3' 末端および 5' 末端の両方が、逆位脱塩基残基を含み得る。一部の実施形態では、アンチセンス鎖配列の 3' 末端および 5' 末端の両方が、逆位脱塩基残基を含み得る。

10

## 【 0 1 3 4 】

ASGR1 RNAi 剤を形成するのに使用される配列の例は、表 2、3、および 4 に提供される。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかの配列を含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または 3 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド 1 ~ 17、2 ~ 15、2 ~ 17、1 ~ 18、2 ~ 18、1 ~ 19、2 ~ 19、1 ~ 20、2 ~ 20、1 ~ 21、2 ~ 21、1 ~ 22、2 ~ 22、1 ~ 23、2 ~ 23、1 ~ 24、2 ~ 24、1 ~ 25、2 ~ 25、1 ~ 26、または 2 ~ 26 の配列を含む。ある特定の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖は、表 3 内の修飾された配列のうちのいずれか 1 つの修飾された配列を含むかまたはそれからなる。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖は、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかの配列を含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖は、表 2 または 4 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド 1 ~ 18、1 ~ 19、1 ~ 20、1 ~ 21、1 ~ 22、1 ~ 23、1 ~ 24、1 ~ 25、1 ~ 26、2 ~ 19、2 ~ 20、2 ~ 21、2 ~ 22、2 ~ 23、2 ~ 24、2 ~ 25、2 ~ 26、3 ~ 20、3 ~ 21、3 ~ 22、3 ~ 23、3 ~ 24、3 ~ 25、3 ~ 26、4 ~ 21、4 ~ 22、4 ~ 23、4 ~ 24、4 ~ 25、4 ~ 26、5 ~ 22、5 ~ 23、5 ~ 24、5 ~ 25、5 ~ 26、6 ~ 23、6 ~ 24、6 ~ 25、6 ~ 26、7 ~ 24、7 ~ 25、7 ~ 25、8 ~ 25、8 ~ 26 の配列を含む。ある特定の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖は、表 4 内の修飾された配列のうちのいずれか 1 つの修飾された配列を含むかまたはそれからなる。

20

30

## 【 0 1 3 5 】

一部の実施形態では、本明細書に記載される RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、同じ数のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、本明細書に記載される RNAi 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、異なる数のヌクレオチドを含む。一部の実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端およびアンチセンス鎖の 3' 末端は、平滑末端を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖の 3' 末端およびアンチセンス鎖の 5' 末端は、平滑末端を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤の両端は、平滑末端を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤のいずれの末端も、平滑末端ではない。本明細書において使用される場合、平滑末端は、2 つのアニールリングされた鎖の末端のヌクレオチドが相補的である (相補的な塩基対を形成する)、二本鎖 RNAi 剤の末端を指す。

40

## 【 0 1 3 6 】

一部の実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端およびアンチセンス鎖の 3' 末端は、ほつれ末端 (frayed end) を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤のセンス鎖の 3' 末端およびアンチセンス鎖の 5' 末端は、ほつれ末端を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤の両端は、ほつれ末端を形成する。一部の実施形態では、RNAi 剤の

50

いずれの末端も、ほつれ末端ではない。本明細書において使用される場合、ほつれ末端は、2つのアニーリングされた鎖の末端のヌクレオチドが対を形成する（すなわち、オーバーハングを形成しない）が、相補的ではない（すなわち、非相補的な対を形成する）、二本鎖RNAi剤の末端を指す。本明細書において使用される場合、オーバーハングは、二本鎖RNAi剤の一方の鎖の末端における1つまたは複数の対合していないヌクレオチドのストレッチである。対合していないヌクレオチドは、センス鎖にあってもアンチセンス鎖にあってもよく、3'オーバーハングまたは5'オーバーハングのいずれかをもち得る。一部の実施形態では、RNAi剤は、平滑末端およびほつれ末端、平滑末端および5'オーバーハング末端、平滑末端および3'オーバーハング末端、ほつれ末端および5'オーバーハング末端、ほつれ末端および3'オーバーハング末端、2つの5'オーバーハング末端、2つの3'オーバーハング末端、5'オーバーハング末端および3'オーバーハング末端、2つのほつれ末端、または2つの平滑末端を含む。

#### 【0137】

ヌクレオチド塩基（または核酸塩基）は、すべての核酸の構成要素である複素環式ピリミジンまたはプリン化合物であり、これには、アデニン（A）、グアニン（G）、シトシン（C）、チミン（T）、およびウラシル（U）が含まれる。本明細書において使用される場合、「ヌクレオチド」という用語は、修飾されたヌクレオチド（たとえば、ヌクレオチド模倣体、脱塩基部位もしくは残基（Ab）、または代理置換え部分など）を含み得る。修飾されたヌクレオチドは、様々なポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド構築物において使用される場合、細胞における化合物の活性を保存し、同時に、これらの化合物の血清安定性を増加させることができ、さらに、ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド構築物を投与したときにヒトにおいてインターフェロン活性を作動させる可能性を最小限に抑えることができる。

#### 【0138】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、塩、混合塩、または遊離酸として調製または提供される。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、ナトリウム塩として調製される。そのような形態は、本明細書に開示される発明の範囲内である。

#### 【0139】

##### 修飾されたヌクレオチド

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1つまたは複数の修飾されたヌクレオチドを含む。本明細書において使用される場合、「修飾されたヌクレオチド」は、リボヌクレオチド（2'-ヒドロキシルヌクレオチド）以外のヌクレオチドである。一部の実施形態では、ヌクレオチドのうちの少なくとも50%（たとえば、少なくとも60%、少なくとも70%、少なくとも80%、少なくとも90%、少なくとも95%、少なくとも97%、少なくとも98%、少なくとも99%、または100%）が、修飾されたヌクレオチドである。本明細書において使用される場合、修飾されたヌクレオチドとしては、デオキシリボヌクレオチド、ヌクレオチド模倣体、脱塩基ヌクレオチド（本明細書においてAbとして表される）、2'-修飾ヌクレオチド、3'と3'との連結（逆位）ヌクレオチド（本明細書において、invdN、invN、invn、invAbとして表される）、修飾された核酸塩基を含むヌクレオチド、架橋ヌクレオチド、ペプチド核酸（PNA）、2', 3'-セコヌクレオチド模倣体（アンロックド核酸塩基類似体（unlocked nucleobase analogue）、本明細書においてNUNAまたはNUNAとして表される）、ロックドヌクレオチド（本明細書においてNLNAまたはNLNAとして表される）、3'-O-メトキシ（2'ヌクレオチド間連結）ヌクレオチド（本明細書において3'-OMeNとして表される）、2'-F-アラビノヌクレオチド（本明細書においてNfANAまたはNfANAとして表される）、5'-Me, 2'-フルオロヌクレオチド（本明細書において5Me-Nfとして表される）、モルホリノヌクレオチド、ビニルホスホネートデオキシリボヌクレオチド（本明細書においてvpdNとして表される）、ビニルホスホネート含有ヌクレオチド、ならびにシクロプロピルホスホネート含有ヌクレオチド（cPrpN）が挙げられるが、これらに限定されない。2'-修飾ヌクレオチド（すなわち、5員の糖環の2'位

にヒドロキシル基以外の基を有するヌクレオチド)としては、2'-O-メチルヌクレオチド(本明細書では、ヌクレオチド配列において小文字の「n」として表される)、2'-デオキシ-2'-フルオロヌクレオチド(本明細書においてNfとして表され、また本明細書において2'-フルオロヌクレオチドとしても表される)、2'-デオキシヌクレオチド(本明細書においてdNとして表される)、2'-メトキシエチル(2'-O-2'-メトキシエチル)ヌクレオチド(本明細書においてNMまたは2'-MOEとして表される)、2'-アミノヌクレオチド、および2'-アルキルヌクレオチドが挙げられるが、これらに限定されない。所与の化合物におけるすべての位置が、均一に修飾されている必要はない。逆に、1つを上回る修飾が、単一のASGR1 RNAi剤に組み込まれていてもよく、またはさらにはその単一のヌクレオチドに組み込まれていてもよい。ASGR1 RNAi剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、当該技術分野において公知の方法によって合成および/または修飾され得る。1つのヌクレオチドにおける修飾は、別のヌクレオチドにおける修飾とは独立している。

#### 【0140】

修飾された核酸塩基としては、合成および天然の核酸塩基が含まれ、たとえば、5-置換ピリミジン、6-アザピリミジン、ならびにN-2、N-6、およびO-6置換プリン、(たとえば、2-アミノプロピルアデニン、5-プロピニルウラシル、または5-プロピニルシトシン)、5-メチルシトシン(5-me-C)、5-ヒドロキシメチルシトシン、イノシン、キサンチン、ヒポキサンチン、2-アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの6-アルキル(たとえば、6-メチル、6-エチル、6-イソプロピル、または6-n-ブチル)誘導体、アデニンおよびグアニンの2-アルキル(たとえば、2-メチル、2-エチル、2-イソプロピル、または2-n-ブチル)および他のアルキル誘導体、2-チオウラシル、2-チオチミン、2-チオシトシン、5-ハロウラシル、シトシン、5-プロピニルウラシル、5-プロピニルシトシン、6-アゾウラシル、6-アゾシトシン、6-アゾチミン、5-ウラシル(シュードウラシル)、4-チオウラシル、8-ハロ、8-アミノ、8-スルフヒドリル、8-チオアルキル、8-ヒドロキシル、および他の8-置換アデニンおよびグアニン、5-ハロ(たとえば、5-ブロモ)、5-トリフルオロメチル、および他の5-置換ウラシルおよびシトシン、7-メチルグアニンおよび7-メチルアデニン、8-アザグアニンおよび8-アザアデニン、7-デアザグアニン、7-デアザアデニン、3-デアザグアニン、ならびに3-デアザアデニンが挙げられる。

#### 【0141】

一部の実施形態では、RNAi剤のヌクレオチドのすべてまたは実質的にすべては、修飾されたヌクレオチドである。本明細書において使用される場合、存在するヌクレオチドのうちの実質的にすべてが修飾されたヌクレオチドであるRNAi剤は、センス鎖およびアンチセンス鎖の両方における4個またはそれを下回る(すなわち、0、1、2、3、または4個の)ヌクレオチドがリボヌクレオチドである、RNAi剤である。本明細書において使用される場合、存在するヌクレオチドのうちの実質的にすべてが修飾されたヌクレオチドであるセンス鎖は、センス鎖における2個またはそれを下回る(すなわち、0、1、または2個の)ヌクレオチドがリボヌクレオチドである、センス鎖である。本明細書において使用される場合、存在するヌクレオチドのうちの実質的にすべてが修飾されたヌクレオチドであるアンチセンス鎖は、センス鎖における2個またはそれを下回る(すなわち、0、1、または2個の)ヌクレオチドがリボヌクレオチドである、アンチセンス鎖である。一部の実施形態では、RNAi剤の1つまたは複数のヌクレオチドは、リボヌクレオチドである。

#### 【0142】

##### 修飾されたヌクレオシド間連結

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤の1つまたは複数のヌクレオチドは、非標準的な連結または骨格(すなわち、修飾されたヌクレオシド間連結または修飾された骨格)によって連結されている。修飾されたヌクレオシド間連結または骨格としては、限定されないが、ホスホロチオエート基(本明細書において小文字の「s」として表される)

、キラルホスホロチオエート、チオホスフェート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキル - ホスホトリエステル、アルキルホスホネート（たとえば、メチルホスホネートまたは 3' - アルキレンホスホネート）、キラルホスホネート、ホスフィネート、ホスホロアミデート（たとえば、3' - アミノホスホロアミデート、アミノアルキルホスホロアミデート、またはチオノホスホロアミデート）、チオノアルキル - ホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、モルホリノ連結、ノルマル 3' - 5' 連結を有するボラノホスフェート、ボラノホスフェートの 2' - 5' 連結類似体、またはヌクレオシド単位の隣接する対が 3' - 5' と 5' - 3' または 2' - 5' と 5' - 2' で連結されている極性反転を有するボラノホスフェートが挙げられる。

#### 【0143】

10

一部の実施形態では、修飾されたヌクレオシド間連結または骨格は、リン原子が欠如している。リン原子が欠如している修飾されたヌクレオシド間連結としては、短鎖アルキルもしくはシクロアルキル糖間連結、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキル糖間連結、または 1 つもしくは複数の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環式糖間連結が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、修飾されたヌクレオシド間骨格としては、シロキサ骨格、スルフィド骨格、スルホキシド骨格、スルホン骨格、ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、メチレンホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格、アルケン含有骨格、スルファメート骨格、メチレンイミノおよびメチレンヒドラジノ骨格、スルホネートおよびスルホンアミド骨格、アミド骨格、ならびに N、O、S、および  $\text{CH}_2$  成分の混合を有する他の骨格が挙げられるが、これらに限定されない。

20

#### 【0144】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖が、1、2、3、4、5、もしくは 6 つのホスホロチオエート連結を含み得、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖が、1、2、3、4、5、もしくは 6 つのホスホロチオエート連結を含み得るか、またはセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方が、独立して、1、2、3、4、5、もしくは 6 つのホスホロチオエート連結を含んでもよい。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖が、1、2、3、もしくは 4 つのホスホロチオエート連結を含み得、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖が、1、2、3、もしくは 4 つのホスホロチオエート連結を含み得るか、またはセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方が、独立して、1、2、3、もしくは 4 つのホスホロチオエート連結を含んでもよい。

30

#### 【0145】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖は、少なくとも 2 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。一部の実施形態では、少なくとも 2 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の 3' 末端から 1 ~ 3 位のヌクレオチドの間にある。一部の実施形態では、少なくとも 2 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の 5' 末端から 1 ~ 3 位、2 ~ 4 位、3 ~ 5 位、4 ~ 6 位、4 ~ 5 位、または 6 ~ 8 位のヌクレオチドの間にある。一部の実施形態では、一方のホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の 5' 末端にあり、もう一方のホスホロチオエート連結は、センス鎖の 3' 末端にある。一部の実施形態では、2 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、センス鎖の 5' 末端に位置しており、別のホスホロチオエート連結は、センス鎖の 3' 末端にある。一部の実施形態では、センス鎖は、ヌクレオチドの間にいずれのホスホロチオエートヌクレオシド間連結も含まないが、5' 末端および 3' 末端の両方の末端のヌクレオチドの間に 1、2、または 3 つのホスホロチオエート連結を含み、必要に応じて、逆位脱塩基残基末端キャップを示す。一部の実施形態では、標的化リガンドが、ホスホロチオエート連結を介してセンス鎖に連結されている。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖は、4 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。一部の実施形態では、4 つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、アンチセンス鎖の 5' 末端から 1 ~ 3 位のヌクレオチドの間、ならびに 5' 末端から 19 ~ 21 位、20 ~ 22 位、21 ~ 23 位、22 ~ 24 位、23 ~ 25 位、または 24 ~ 26 位のヌクレオチドの間にある。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、センス鎖に少なくとも

40

50



2つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含み、アンチセンス鎖に3または4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。

【0146】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤のアンチセンス鎖は、4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。一部の実施形態では、4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、アンチセンス鎖の5'末端から1～3位のヌクレオチドの間、ならびに5'末端から19～21位、20～22位、21～23位、22～24位、23～25位、または24～26位のヌクレオチドの間にある。一部の実施形態では、3つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、アンチセンス鎖の5'末端から1～4位の間に位置しており、第4のホスホロチオエートヌクレオシド間連結は、アンチセンス鎖の5'末端から20～21位の間に位置している。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、アンチセンス鎖に少なくとも3または4つのホスホロチオエートヌクレオシド間連結を含む。

10

【0147】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、1つまたは複数の修飾されたヌクレオチドおよび1つまたは複数の修飾されたヌクレオシド間連結を含む。一部の実施形態では、2'-修飾ヌクレオシドは、修飾されたヌクレオシド間連結と組み合わせられる。

【0148】

ASGR1 RNAi剤

一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、表1に示されるASGR1遺伝子の位置またはその近傍のASGR1遺伝子を標的とする。一部の実施形態では、本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤のアンチセンス鎖は、表1に開示される標的ASGR1 19量体配列に対して完全に、実質的に、または少なくとも部分的に相補的である、コアストレッチ配列を含む。

20

30

40

50

【表 1 - 1】

表1. ASGR1 19量体mRNA標的配列(ヒトASGR1(転写産物バリエント1)cDNA、GenBank NM\_001671. 4(配列番号1)から取得)。

配列番号	<i>ASGR1</i> 19量体標的配列 (5'から3')	対応する遺伝子の位置(配列番号1から取得)
37	AGCCCUAUGACCAAGG	392-410
38	CCUAUGACCAAGGAGU	395-413
39	CUAUGACCAAGGAGUA	396-414
40	UAUGACCAAGGAGUAU	397-415
41	AUGACCAAGGAGUAUC	398-416
42	CAUGACCAAGGAGUAUCAA	400-418
43	GGAGAGUGACCACCAUCAG	442-460
44	GAGUGACCACCAUCAGCUC	445-463
45	CAACUUCACAGCGAGCACG	634-652
46	AGGGAGGCAAUGUGGGAAG	681-699
47	GGAGGCAAUGUGGGAAGAA	683-701
48	GGCAAUGUGGGAAGAAAGA	686-704
49	CAAUGUGGGAAGAAAGAUG	688-706
50	AAUGUGGGAAGAAAGAUGA	689-707
51	GUGGGAAGAAAGAUGAAGU	692-710
52	GGAAGAAAGAUGAAGUCGC	695-713
53	GAAGAAAGAUGAAGUCGCU	696-714
54	UGCUGCUCCACGUGAAGCA	768-786
55	CUGCUCCACGUGAAGCAGU	770-788
56	UGCUGCUCCACGUGAAGCAGUU	771-789
57	GCUCCACGUGAAGCAGUUC	772-790
58	UCCACGUGAAGCAGUUCGU	774-792
59	GCUCCAGGGCAAUGGCUCA	829-847
60	CACGAGCGCAGCUGCUACU	881-899
61	AGCGCAGCUGCUACUGGUU	885-903
62	GCGCAGCUGCUACUGGUUC	886-904
63	GACGCCGACAACUACUGCC	929-947
64	ACCUGGUGGUGGUCACGUC	963-981
65	UGGUGGUGGUCACGUCCUG	966-984
66	AGGAGCAGAAAUUUGUCCA	987-1005
67	GCAGAAAUUUGUCCAGCAC	991-1009
68	GCCUCCACGACAAAACGG	1038-1056
69	GGACGGGACGGACUACGAG	1072-1090
70	GACGGGACGGACUACGAGA	1073-1091
71	ACGGGACGGACUACGAGAC	1074-1092
72	CAGCCGGACGACUGGUACG	1118-1136
73	CGCUGGAACGACGACGUCU	1187-1205

10

20

30

40

50

【表 1 - 2】

配列番号	<i>ASGR1</i> 19量体標的配列 (5'から3')	対応する遺伝子 の位置(配列番号 1から取得)
74	GGUCUGCGAGACAGAGCUG	1225-1243
75	GGAGCCACCUCUCCUUUAA	1258-1276
76	GAGCCACCUCUCCUUUAAU	1259-1277
77	AGCCACCUCUCCUUUAAUU	1260-1278
78	UCUCCUUUAAUUUAAUUCU	1267-1285

10

## 【0149】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖を含み、ここで、アンチセンス鎖の19位(5'から3')は、表1に開示される19量体標的配列の1位と塩基対を形成することができる。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖を含み、ここで、アンチセンス鎖の1位(5'から3')は、表1に開示される19量体標的配列の19位と塩基対を形成することができる。

## 【0150】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖を含み、ここで、アンチセンス鎖の2位(5'から3')は、表1に開示される19量体標的配列の18位と塩基対を形成することができる。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖を含み、ここで、アンチセンス鎖の2位から18位(5'から3')は、表1に開示される19量体標的配列の18位から2位に位置するそれぞれの相補的な塩基のそれぞれと塩基対を形成することができる。

20

## 【0151】

本明細書に開示されるRNAi 剤について、アンチセンス鎖の1位(5'末端から3'末端)のヌクレオチドは、ASGR1 遺伝子に対して完全に相補的であってもよく、またはASGR1 遺伝子に対して非相補的であってもよい。一部の実施形態では、アンチセンス鎖の1位(5'末端から3'末端)のヌクレオチドは、U、A、またはdT(またはその修飾されたバージョン)である。一部の実施形態では、アンチセンス鎖の1位(5'末端から3'末端)のヌクレオチドは、センス鎖とA:UまたはU:Aの塩基対を形成する。

30

## 【0152】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤のアンチセンス鎖は、表2または表3内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド(5'末端から3'末端)2~18または2~19の配列を含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi のセンス鎖は、表2または表4内のセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド(5'末端から3'末端)1~17、1~18、または2~18の配列を含む。

## 【0153】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、(i)表2または表3内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド(5'末端から3'末端)2~18または2~19の配列を含むアンチセンス鎖と、(ii)表2または表4内のセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド(5'末端から3'末端)1~17、1~18、または2~18の配列を含むセンス鎖とから構成される。

40

## 【0154】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、以下の表2に示されているセンス鎖、アンチセンス鎖、またはセンス鎖およびアンチセンス鎖の両方におけるコア19量体ヌクレオチド配列を含む。

50

【表 2 - 1】

表2. ASGR1 RNAi剤のアンチセンス鎖およびセンス鎖のコアストレッチ塩基配列の例  
(N=任意の核酸塩基、I=イノシン(ヒポキサンチン)ヌクレオチド)。

配列 番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	配列 番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
79	CCUUGGUCAUGAUAGGGCU	242	AGCCCUAUCAUGACCAAGG	392-410
80	UCUUGGUCAUGAUAGGGCU	243	AGCCCUAUCAUGACCAAGA	392-410
81	NCUUGGUCAUGAUAGGGCU	244	AGCCCUAUCAUGACCAAGN	392-410
82	NCUUGGUCAUGAUAGGGCN	245	NGCCCUAUCAUGACCAAGN	392-410
83	ACUCCUUGGUCAUGAUAGG	246	CCUAUCAUGACCAAGGAGU	395-413
84	UCUCCUUGGUCAUGAUAGG	247	CCUAUCAUGACCAAGGAGA	395-413
85	NCUCCUUGGUCAUGAUAGG	248	CCUAUCAUGACCAAGGAGN	395-413
86	NCUCCUUGGUCAUGAUAGN	249	NCUAUCAUGACCAAGGAGN	395-413
87	UACUCCUUGGUCAUGAUAG	250	CUAUC AUGACCAAGGAGUA	396-414
88	NACUCCUUGGUCAUGAUAG	251	CUAUC AUGACCAAGGAGUN	396-414
89	NACUCCUUGGUCAUGAUAN	252	NUAUC AUGACCAAGGAGUN	396-414
87	UACUCCUUGGUCAUGAUAG	253	CUAUC AUGACCAAGGAIUA	396-414
88	NACUCCUUGGUCAUGAUAG	254	CUAUC AUGACCAAGGAIUN	396-414
89	NACUCCUUGGUCAUGAUAN	255	NUAUC AUGACCAAGGAIUN	396-414
89	NACUCCUUGGUCAUGAUAN	256	NUAUC AUGACCAAGGANUN	396-414
87	UACUCCUUGGUCAUGAUAG	257	CUAUC AUGACCAAIGAIUA	396-414
88	NACUCCUUGGUCAUGAUAG	258	CUAUC AUGACCAAIGAIUN	396-414
89	NACUCCUUGGUCAUGAUAN	259	NUAUC AUGACCAAIGAIUN	396-414
89	NACUCCUUGGUCAUGAUAN	260	NUAUC AUGACCAANGANUN	396-414
90	AUACUCCUUGGUCAUGAUA	261	UAUCAUGACCAAGGAGUAU	397-415
91	UUACUCCUUGGUCAUGAUA	262	UAUCAUGACCAAGGAGUAA	397-415
92	NUACUCCUUGGUCAUGAUA	263	UAUCAUGACCAAGGAGUAN	397-415

10

20

30

40

50

【表 2 - 2】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
93	NUACUCCUUGGUCAUGAUN	264	NAUCAUGACCAAGGAGUAN	397-415
94	GAUACUCCUUGGUCAUGAU	265	AUCAUGACCAAGGAGUAUC	398-416
95	UAUACUCCUUGGUCAUGAU	266	AUCAUGACCAAGGAGUAUA	398-416
96	NAUACUCCUUGGUCAUGAU	267	AUCAUGACCAAGGAGUAUN	398-416
97	NAUACUCCUUGGUCAUGAN	268	NUCAUGACCAAGGAGUAUN	398-416
98	UUGAUACUCCUUGGUCAUG	269	CAUGACCAAGGAGUAUCAA	400-418
99	NUGAUACUCCUUGGUCAUG	270	CAUGACCAAGGAGUAUCAN	400-418
100	NUGAUACUCCUUGGUCAUN	271	NAUGACCAAGGAGUAUCAN	400-418
101	CUGAUGGUUGGUCAUCUCC	272	GGAGAGUGACCAACCAUCAG	442-460
102	UUGAUGGUUGGUCAUCUCC	273	GGAGAGUGACCAACCAUCAA	442-460
103	NUGAUGGUUGGUCAUCUCC	274	GGAGAGUGACCAACCAUCAN	442-460
104	NUGAUGGUUGGUCAUCUCN	275	NGAGAGUGACCAACCAUCAN	442-460
105	GAGCUGAUGGUUGGUCAUC	276	GAGUGACCAACCAUCAGCUC	445-463
106	UAGCUGAUGGUUGGUCAUC	277	GAGUGACCAACCAUCAGCUA	445-463
107	NAGCUGAUGGUUGGUCAUC	278	GAGUGACCAACCAUCAGCUN	445-463
108	NAGCUGAUGGUUGGUCAUCN	279	NAGUGACCAACCAUCAGCUN	445-463
109	CGUGCUCGCUGUGAAGUUG	280	CAACUUCACAGCGAGCACG	634-652
110	UGUGCUCGCUGUGAAGUUG	281	CAACUUCACAGCGAGCACAC	634-652
111	NGUGCUCGCUGUGAAGUUG	282	CAACUUCACAGCGAGCACN	634-652
112	NGUGCUCGCUGUGAAGUUN	283	NAACUUCACAGCGAGCACN	634-652
113	CUUCCCAUUGCCUCCCA	284	AGGGAGGCAUUGGGGAAG	681-699
114	UUUCCCAUUGCCUCCCA	285	AGGGAGGCAUUGGGGAAA	681-699
115	UUUCCCAUUGCCUCCCA	286	AGGGAGGCAUUGGGGAAN	681-699
116	UUUCCCAUUGCCUCCCN	287	NGGGAGGCAUUGGGGAAN	681-699
117	UUCUCCCAUUGCCUCC	288	GGAGGCAUUGGGGAAGAA	683-701
118	NUCUCCCAUUGCCUCC	289	GGAGGCAUUGGGGAAGAN	683-701
119	NUCUCCCAUUGCCUCN	290	NGAGGCAUUGGGGAAGAN	683-701

10

20

30

40

50

【表 2 - 3】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
120	UCUUUCUCCCCACAUUGCC	291	GGCAUUGUGGGAAGAAAGA	686-704
121	NCUUUCUCCCCACAUUGCC	292	GGCAUUGUGGGAAGAAAGN	686-704
122	NCUUUCUCCCCACAUUGCN	293	NGCAUUGUGGGAAGAAAGN	686-704
123	CAUCUUUCUCCCCACAUUG	294	CAUUGUGGGAAGAAAGAUG	688-706
124	UAUCUUUCUCCCCACAUUG	295	CAUUGUGGGAAGAAAGAUA	688-706
125	NAUCUUUCUCCCCACAUUG	296	CAUUGUGGGAAGAAAGAUN	688-706
126	NAUCUUUCUCCCCACAUUN	297	NAUUGUGGGAAGAAAGAUN	688-706
127	NAUCUUUCUCCCCACAUUN	298	NAUUGUNGGGAAGAAAGAUN	688-706
128	NAUCUUUCUCCCCACAUUN	299	NAUUGUNGAAGAAAGAUN	688-706
129	UCAUCUUUCUCCCCACAUU	300	AAUGUGGGAAGAAAGAUGA	689-707
130	NCAUCUUUCUCCCCACAUU	301	AAUGUGGGAAGAAAGAUN	689-707
131	NCAUCUUUCUCCCCACAUUN	302	NAUGUGGGAAGAAAGAUN	689-707
132	NCAUCUUUCUCCCCACAUUN	303	NAUGUNGGGAAGAAAGAUN	689-707
133	ACUUCAUUCUUUCUCCCCAC	304	GUGGGAAGAAAGAUAGAAU	692-710
134	UCUUCAUUCUUUCUCCCCAC	305	GUGGGAAGAAAGAUAGAAAG	692-710
135	NCUUCAUUCUUUCUCCCCAC	306	GUGGGAAGAAAGAUAGAAAGN	692-710
136	NCUUCAUUCUUUCUCCCCAN	307	NUGGGAAGAAAGAUAGAAAGN	692-710
137	GCGACUUCACUUCUUCUUC	308	GGAGAAAGAUAGAAUCCG	695-713
138	UCGACUUCACUUCUUCUUC	309	GGAGAAAGAUAGAAUCCGA	695-713
139	NCGACUUCACUUCUUCUUC	310	GGAGAAAGAUAGAAUCCGN	695-713
140	NCGACUUCACUUCUUCUUN	311	NGAGAAAGAUAGAAUCCGN	695-713
141	AGCGACUUCACUUCUUCUUC	312	GAAGAAAGAUAGAAUCCGU	696-714
142	UGCACUUCACUUCUUCUUC	313	GAAGAAAGAUAGAAUCCGA	696-714
143	NGCGACUUCACUUCUUCUUC	314	GAAGAAAGAUAGAAUCCGN	696-714
144	NGCGACUUCACUUCUUCUUN	315	NAAGAAAGAUAGAAUCCGN	696-714
141	AGCGACUUCACUUCUUCUUC	316	GAAGAAAGAUAGAAUCICU	696-714
142	UGCACUUCACUUCUUCUUC	317	GAAGAAAGAUAGAAUCICA	696-714

10

20

30

40

50

【表 2 - 4】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
143	NGCGACUUCACUUCUUUCUUC	318	GAAGAAAAGUAAGAGUCICN	696-714
144	NGCGACUUCACUUCUUUCUUN	319	NAAGAAAAGUAAGAGUCICN	696-714
145	NGCGACUUCACUUCUUUCUUN	320	NAAGAAAAGUAAGAGUCNCN	696-714
141	AGCGACUUCACUUCUUUCUUC	852	GAAGAAAAGUAAGAIUCICU	696-714
142	UGCGACUUCACUUCUUUCUUC	879	GAAGAAAAGUAAGAIUCICA	696-714
143	NGCGACUUCACUUCUUUCUUC	883	GAAGAAAAGUAAGAIUCICN	696-714
144	NGCGACUUCACUUCUUUCUUN	886	NAAGAAAAGUAAGAIUCICN	696-714
145	NGCGACUUCACUUCUUUCUUN	892	NAAGAAAAGUAAGAIUCNCN	696-714
146	UGCUCACGUGGAGCAGCA	321	UGCUCUCCACGUGAAGCA	768-786
147	NGCUUCACGUGGAGCAGCA	322	UGCUCUCCACGUGAAGCN	768-786
148	NGCUUCACGUGGAGCAGCN	323	NGCUGUCCACGUGAAGCN	768-786
149	ACUGCUUCACGUGGAGCAG	324	CUGCUCACGUGAAGCAGU	770-788
150	UCUGCUUCACGUGGAGCAG	325	CUGCUCACGUGAAGCAGA	770-788
151	NCUGCUUCACGUGGAGCAG	326	CUGCUCACGUGAAGCAGN	770-788
152	NCUGCUUCACGUGGAGCAN	327	NUGCUCACGUGAAGCAGN	770-788
153	AACUGCUUCACGUGGAGCA	328	UGCUCACGUGAAGCAGUU	771-789
154	UACUGCUUCACGUGGAGCA	329	UGCUCACGUGAAGCAGUA	771-789
155	NACUGCUUCACGUGGAGCA	330	UGCUCACGUGAAGCAGUN	771-789
156	NACUGCUUCACGUGGAGCN	331	NGCUCACGUGAAGCAGUN	771-789
157	GAACUGCUUCACGUGGAGC	332	GCUCACGUGAAGCAGUUC	772-790
158	UACUGCUUCACGUGGAGC	333	GCUCACGUGAAGCAGUUA	772-790
159	NAACUGCUUCACGUGGAGC	334	GCUCACGUGAAGCAGUUN	772-790
160	NAACUGCUUCACGUGGAGN	335	NCUCACGUGAAGCAGUUN	772-790
161	ACGAACUGCUUCACGUGGA	336	UCCACGUGAAGCAGUUCGU	774-792
162	UCGAACUGCUUCACGUGGA	337	UCCACGUGAAGCAGUUCGA	774-792
163	NCGAACUGCUUCACGUGGA	338	UCCACGUGAAGCAGUUCGN	774-792
164	NCGAACUGCUUCACGUGGN	339	NCCACGUGAAGCAGUUCGN	774-792

10

20

30

40

50

【表 2 - 5】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
165	UGAGCCAUUGCCCCUGGAGC	340	GCUCCAGGGCAUUGGCUCA	829-847
166	NGAGCCAUUGCCCCUGGAGC	341	GCUCCAGGGCAUUGGCUCN	829-847
167	NGAGCCAUUGCCCCUGGAGN	342	NCUCCAGGGCAUUGGCUCN	829-847
168	AGUAGCAGCUGGCGUCGUG	343	CACGAGCGCAGCUGCUACU	881-899
169	UGUAGCAGCUGGCGUCGUG	344	CACGAGCGCAGCUGCUACA	881-899
170	NGUAGCAGCUGGCGUCGUG	345	CACGAGCGCAGCUGCUACN	881-899
171	NGUAGCAGCUGGCGUCGUN	346	NACGAGCGCAGCUGCUACN	881-899
172	AACCAGUAGCAGCUGCGCU	347	AGCGCAGCUGCUACUGGUU	885-903
173	UACCAGUAGCAGCUGCGCU	348	AGCGCAGCUGCUACUGGUA	885-903
174	NACCAGUAGCAGCUGCGCU	349	AGCGCAGCUGCUACUGGUN	885-903
175	NACCAGUAGCAGCUGCGCN	350	NGCGCAGCUGCUACUGGUN	885-903
176	GAACCAGUAGCAGCUGCGC	351	GGCGCAGCUGCUACUGGUUC	886-904
177	UAACCAGUAGCAGCUGCGC	352	GGCGCAGCUGCUACUGGUA	886-904
178	NAACCAGUAGCAGCUGCGC	353	GGCGCAGCUGCUACUGGUUN	886-904
179	NAACCAGUAGCAGCUGCGC	354	NCGCAGCUGCUACUGGUUN	886-904
180	GGCAGUAGUUGUCGGCGUC	355	GACGCCGACAAACUACUGCC	929-947
181	UGCAGUAGUUGUCGGCGUC	356	GACGCCGACAAACUACUGCA	929-947
182	NGCAGUAGUUGUCGGCGUC	357	GACGCCGACAAACUACUGCN	929-947
183	NGCAGUAGUUGUCGGCGUN	358	NACGCCGACAAACUACUGCN	929-947
184	GACGUGACCACCCACCAGGU	359	ACCUGGUGGUGGUCACGUC	963-981
185	UACGUGACCACCCACCAGGU	360	ACCUGGUGGUGGUCACGUA	963-981
186	NACGUGACCACCCACCAGGU	361	ACCUGGUGGUGGUCACGUN	963-981
187	NACGUGACCACCCACCAGGN	362	NCCUGGUGGUGGUCACGUN	963-981
188	CAGGACGUGACCACCACCCA	363	UGGUGGUGGUCACGUCCUG	966-984
189	UAGGACGUGACCACCACCCA	364	UGGUGGUGGUCACGUCCUA	966-984
190	NAGGACGUGACCACCACCCA	365	UGGUGGUGGUCACGUCCUN	966-984
191	NAGGACGUGACCACCACCN	366	NGGUGGUGGUCACGUCCUN	966-984

10

20

30

40

50



【表 2 - 6】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
192	UGGACAAUUUUCUGCUCU	367	AGGAGCAGAAAUUUGUCCA	987-1005
193	NGGACAAUUUUCUGCUCU	368	AGGAGCAGAAAUUUGUCCN	987-1005
194	NGGACAAUUUUCUGCUCN	369	NGGAGCAGAAAUUUGUCCN	987-1005
195	GUGCUGGACAAAUUUCUGC	370	GCAGAAAUUUGUCCAGCAC	991-1009
196	UUGCUGGACAAAUUUCUGC	371	GCAGAAAUUUGUCCAGCAA	991-1009
197	NUGCUGGACAAAUUUCUGC	372	GCAGAAAUUUGUCCAGCAN	991-1009
198	NUGCUGGACAAAUUUCUGN	373	NCAGAAAUUUGUCCAGCAN	991-1009
199	CCGUUUUGGUCGUGGAGGC	374	GCCUCCACGACCAAAACGG	1038-1056
200	UCGUUUUGGUCGUGGAGGC	375	GCCUCCACGACCAAAACGA	1038-1056
201	NCGUUUUGGUCGUGGAGGC	376	GCCUCCACGACCAAAACGN	1038-1056
202	NCGUUUUGGUCGUGGAGGN	377	NCUCCACGACCAAAACGN	1038-1056
203	CUCGUAGUCCGUCGCCGUCC	378	GGACGGGACGGACUACGAG	1072-1090
204	UUCGUAGUCCGUCGCCGUCC	379	GGACGGGACGGACUACGAA	1072-1090
205	NUCGUAGUCCGUCGCCGUCC	380	GGACGGGACGGACUACGAN	1072-1090
206	NUCGUAGUCCGUCGCCGUCN	381	NGACGGGACGGACUACGAN	1072-1090
207	UCUCGUAGUCCGUCGCCGUC	382	GACGGGACGGACUACGAGA	1073-1091
208	NCUCGUAGUCCGUCGCCGUC	383	GACGGGACGGACUACGAGN	1073-1091
209	NCUCGUAGUCCGUCGCCGUN	384	NACGGGACGGACUACGAGN	1073-1091
210	GUCUCGUAGUCCGUCGCCGU	385	ACGGGACGGACUACGAGAC	1074-1092
211	UUCUCGUAGUCCGUCGCCGU	386	ACGGGACGGACUACGAGAA	1074-1092
212	NUCUCGUAGUCCGUCGCCGU	387	ACGGGACGGACUACGAGAN	1074-1092
213	NUCUCGUAGUCCGUCGCCGN	388	NCGGGACGGACUACGAGAN	1074-1092
214	CGUACCAGUCGUCGCCGUG	389	CAGCCGGACGACUGGUACG	1118-1136
215	UGUACCAGUCGUCGCCGUG	390	CAGCCGGACGACUGGUACA	1118-1136
216	NGUACCAGUCGUCGCCGUG	391	CAGCCGGACGACUGGUACN	1118-1136
217	NGUACCAGUCGUCGCCGUN	392	NAGCCGGACGACUGGUACN	1118-1136
218	AGACGUCGUCGUUCCAGCG	393	CGCUGGAACGACGACGUCU	1187-1205

10

20

30

40

50

【表 2 - 7】

配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	配列番号	アンチセンス配列 (5'から3') (19 量体)	遺伝子位置 (配列番号1 から取得)
219	UGACGUCGUCGUUCCAGCG	394	CGCUGGAACGACGACGUC	1187-1205
220	NGACGUCGUCGUUCCAGCG	395	CGCUGGAACGACGACGUCN	1187-1205
221	NGACGUCGUCGUUCCAGCN	396	NGCUGGAACGACGACGUCN	1187-1205
222	NGACGUCGUCGUUCCAGCN	397	NGCUGGAACGACGACGUCN	1187-1205
223	CAGCUCUGUCUCGCAGACC	398	GGUCUGCGAGACACAGCUG	1225-1243
224	UAGCUCUGUCUCGCAGACC	399	GGUCUGCGAGACACAGCUA	1225-1243
225	NAGCUCUGUCUCGCAGACC	400	GGUCUGCGAGACACAGCUN	1225-1243
226	NAGCUCUGUCUCGCAGACN	401	NGUCUGCGAGACACAGCUN	1225-1243
227	UUAAGGAGAGGUGGCUC	402	GGAGCCACCCUCUCCUUAA	1258-1276
228	NUAAGGAGAGGUGGCUC	403	GGAGCCACCCUCUCCUUAN	1258-1276
229	NUAAGGAGAGGUGGCUCN	404	NGAGCCACCCUCUCCUUAN	1258-1276
230	AUUAAGGAGAGGUGGCUC	405	GAGCCACCCUCUCCUUAAU	1259-1277
231	UUUAAGGAGAGGUGGCUC	406	GAGCCACCCUCUCCUUAAA	1259-1277
232	UUUAAGGAGAGGUGGCUC	407	GAGCCACCCUCUCCUUAAAN	1259-1277
233	UUUAAGGAGAGGUGGCUN	408	NAGCCACCCUCUCCUUAAAN	1259-1277
234	AUUUAAGGAGAGGUGGCU	409	AGCCACCCUCUCCUUAAU	1260-1278
235	UAUUUAAGGAGAGGUGGCU	410	AGCCACCCUCUCCUUAAUA	1260-1278
236	NAUUUAAGGAGAGGUGGCU	411	AGCCACCCUCUCCUUAAUN	1260-1278
237	NAUUUAAGGAGAGGUGGCN	412	NGCCACCCUCUCCUUAAUN	1260-1278
238	AGAAUUAAUUAAAGGAGA	413	UCUCCUUAAUUAAUUCU	1267-1285
239	UGAAUUAAUUAAAGGAGA	414	UCUCCUUAAUUAAUUCU	1267-1285
240	NGAAUUAAUUAAAGGAGA	415	UCUCCUUAAUUAAUUCN	1267-1285
241	NGAAUUAAUUAAAGGAGN	416	NCUCCUUAAUUAAUUCN	1267-1285

## 【0155】

表 2 内のヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなる A S G R 1 RNA i 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、修飾されたヌクレオチドであってもよく、または修飾されていないヌクレオチドであってもよい。一部の実施形態では、表 2 内のヌクレオチド配列を含むかまたはそれからなるセンス鎖およびアンチセンス鎖配列を有する A S G R 1 RNA i 剤は、すべてまたは実質的にすべてが修飾されたヌクレオチドである。

## 【0156】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNA i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオ

10

20

30

40

50

チドが異なる。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 2 内のセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオチドが異なる。

#### 【0157】

本明細書において使用される場合、表 2 に開示される配列において列挙されているそれぞれの N は、独立して、ありとあらゆる核酸塩基（修飾されたヌクレオチドおよび修飾されていないヌクレオチドの両方に見出されるものを含む）から選択され得る。一部の実施形態では、表 2 に開示される配列において列挙されている N ヌクレオチドは、他方の鎖の対応する位置にある N ヌクレオチドに対して相補的である核酸塩基を有する。一部の実施形態では、表 2 に開示される配列において列挙されている N ヌクレオチドは、他方の鎖の対応する位置にある N ヌクレオチドに対して相補的でない核酸塩基を有する。一部の実施形態では、表 2 に開示される配列において列挙されている N ヌクレオチドは、他方の鎖の対応する位置にある N ヌクレオチドと同じである核酸塩基を有する。一部の実施形態では、表 2 に開示される配列において列挙されている N ヌクレオチドは、他方の鎖の対応する位置にある N ヌクレオチドと異なる核酸塩基を有する。

10

#### 【0158】

ある特定の修飾された A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖は、表 3 および表 4 に提供される。ある特定の修飾された A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖、ならびにそれらの根底にある修飾されていない核酸塩基配列は、表 3 に提供される。ある特定の修飾された A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖、ならびにそれらの根底にある修飾されていない配列は、表 4 に提供される。A S G R 1 R N A i 剤を形成する際、表 3 および 4、ならびに上述の表 2 に列挙されている修飾されていない配列のそれぞれにおけるヌクレオチドのそれぞれは、修飾されたヌクレオチドであってもよい。

20

#### 【0159】

本明細書に記載される A S G R 1 R N A i 剤は、アンチセンス鎖をセンス鎖とアニーリングすることによって形成される。表 2 または表 4 に列挙されている配列を含むセンス鎖を、表 2 または表 3 に列挙されている配列を含む任意のアンチセンス鎖とハイブリダイズさせることができるが、ただし、2 つの配列が、連続した 16、17、18、19、20、または 21 個のヌクレオチドの配列にわたる少なくとも 85 % の相補性の領域を有することを条件とする。

30

#### 【0160】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または表 3 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド配列を含む。

#### 【0161】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤は、表 2、表 3、または表 4 内の配列のうちのいずれかのセンス鎖およびアンチセンス鎖の核酸塩基配列を有する二重鎖を含むかまたはそれからなる。

#### 【0162】

修飾されたヌクレオチドを含むアンチセンス鎖の例は、表 3 に提供される。修飾されたヌクレオチドを含むセンス鎖の例は、表 4 に提供される。

40

#### 【0163】

表 3 および 4 において使用される場合、修飾されたヌクレオチド、標的化基、および連結基を示すために、以下の表記が使用される。当業者であれば、配列によって別途示されない限り、オリゴヌクレオチドに存在する場合、モノマーは、5' - 3' - ホスホジエステル結合によって相互に連結されていることを容易に理解するであろう。

A = アデノシン - 3' - リン酸

C = シチジン - 3' - リン酸

G = グアノシン - 3' - リン酸

U = ウリジン - 3' - リン酸

I = イノシン - 3' - リン酸

50

n = 任意の 2' - O - メチル修飾ヌクレオチド	
a = 2' - O - メチルアデノシン - 3' - リン酸	
a s = 2' - O - メチルアデノシン - 3' - ホスホロチオエート	
c = 2' - O - メチルシチジン - 3' - リン酸	
c s = 2' - O - メチルシチジン - 3' - ホスホロチオエート	
g = 2' - O - メチルグアノシン - 3' - リン酸	
g s = 2' - O - メチルグアノシン - 3' - ホスホロチオエート	
t = 2' - O - メチル - 5 - メチルウリジン - 3' - リン酸	
t s = 2' - O - メチル - 5 - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
u = 2' - O - メチルウリジン - 3' - リン酸	10
u s = 2' - O - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
i = 2' - O - メチルイノシン - 3' - リン酸	
i s = 2' - O - メチルイノシン - 3' - ホスホロチオエート	
N f = 任意の 2' - フルオロ修飾ヌクレオチド	
A f = 2' - フルオロアデノシン - 3' - リン酸	
A f s = 2' - フルオロアデノシン - 3' - ホスホロチオエート	
C f = 2' - フルオロシチジン - 3' - リン酸	
C f s = 2' - フルオロシチジン - 3' - ホスホロチオエート	
G f = 2' - フルオログアノシン - 3' - リン酸	
G f s = 2' - フルオログアノシン - 3' - ホスホロチオエート	20
T f = 2' - フルオロ - 5' - メチルウリジン - 3' - リン酸	
T f s = 2' - フルオロ - 5' - メチルウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
U f = 2' - フルオロウリジン - 3' - リン酸	
U f s = 2' - フルオロウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
d N = 任意の 2' - デオキシリボヌクレオチド	
d A = 2' - デオキシアデノシン - 3' - リン酸	
d A s = 2' - デオキシアデノシン - 3' - ホスホロチオエート	
d C = 2' - デオキシシチジン - 3' - リン酸	
d C s = 2' - デオキシシチジン - 3' - ホスホロチオエート	
d G = 2' - デオキシグアノシン - 3' - リン酸	30
d G s = 2' - デオキシグアノシン - 3' - ホスホロチオエート	
d T = 2' - デオキシチミジン - 3' - リン酸	
d T s = 2' - デオキシチミジン - 3' - ホスホロチオエート	
d U = 2' - デオキシウリジン - 3' - リン酸	
d U s = 2' - デオキシウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
N <sub>UNA</sub> = 2' , 3' - セコヌクレオチド模倣体 (アンロックド核酸塩基類似体) - 3' - リン酸	
N <sub>UNA</sub> s = 2' , 3' - セコヌクレオチド模倣体 (アンロックド核酸塩基類似体) - 3' - ホスホロチオエート	
A <sub>UNA</sub> = 2' , 3' - セコ - アデノシン - 3' - リン酸	40
A <sub>UNA</sub> s = 2' , 3' - セコ - アデノシン - 3' - ホスホロチオエート	
C <sub>UNA</sub> = 2' , 3' - セコ - シチジン - 3' - リン酸	
C <sub>UNA</sub> s = 2' , 3' - セコ - シチジン - 3' - ホスホロチオエート	
G <sub>UNA</sub> = 2' , 3' - セコ - グアノシン - 3' - リン酸	
G <sub>UNA</sub> s = 2' , 3' - セコ - グアノシン - 3' - ホスホロチオエート	
U <sub>UNA</sub> = 2' , 3' - セコ - ウリジン - 3' - リン酸	
U <sub>UNA</sub> s = 2' , 3' - セコ - ウリジン - 3' - ホスホロチオエート	
a <sub>__2N</sub> = 表 6 を参照されたい	
a <sub>__2Ns</sub> = 表 6 を参照されたい	
p <sub>u__2N</sub> = 表 6 を参照されたい	50

p u \_ 2 N s = 表 6 を参照されたい

N L N A = ロックドヌクレオチド

N f A N A = 2' - F - アラビノヌクレオチド

N M = 2' - O - メトキシエチルヌクレオチド

A M = 2' - O - メトキシエチルアデノシン - 3' - リン酸

A M s = 2' - O - メトキシエチルアデノシン - 3' - ホスホロチオエート

T M = 2' - O - メトキシエチルチミジン - 3' - リン酸

T M s = 2' - O - メトキシエチルチミジン - 3' - ホスホロチオエート

R = リピトール

( i n v d N ) = 任意の逆位デオキシリボヌクレオチド ( 3' - 3' 連結ヌクレオチド )

( i n v A b ) = 逆位 ( 3' - 3' 連結 ) 脱塩基デオキシリボヌクレオチド、表 6 を参照されたい

( i n v A b ) s = 逆位 ( 3' - 3' 連結 ) 脱塩基デオキシリボヌクレオチド - 5' - ホスホロチオエート、表 6 を参照されたい

( i n v n ) = 任意の逆位 2' - O M e ヌクレオチド ( 3' - 3' 連結ヌクレオチド )

s = ホスホロチオエート連結

s p = 表 6 を参照されたい

v p d N = ビニルホスホネートデオキシリボヌクレオチド

( 5 M e - N f ) = 5' - M e , 2' - フルオロヌクレオチド

c P r p = シクロプロピルホスホネート、表 6 を参照されたい

e p T c P r = 表 6 を参照されたい

e p T M = 表 6 を参照されたい

#### 【 0 1 6 4 】

当業者であれば、配列によって（たとえば、ホスホロチオエート連結「s」によってなど）別途示されない限り、オリゴヌクレオチドに存在する場合、ヌクレオチドモノマーは、5' - 3' - ホスホジエステル結合によって相互に連結されていることを容易に理解するであろう。当業者であれば、本明細書に開示される修飾されたヌクレオチド配列に示されているホスホロチオエート連結を含めることで、オリゴヌクレオチドに典型的に存在しているホスホジエステル連結が置き換えられることを明確に理解するであろう（たとえば、すべてのヌクレオチド間連結を示している図 1 A から 1 M を参照されたい）。さらに、当業者であれば、所与のオリゴヌクレオチド配列の 3' 末端における末端ヌクレオチドが、典型的に、e x v i v o におけるリン酸部分の代わりに、所与のモノマーのそれぞれの 3' 位置にヒドロキシル（- O H ）基を有することを容易に理解するであろう。さらに、当業者には容易に理解され認識されるように、本明細書に示されているホスホロチオエート化学構造は、典型的に、硫黄原子上のアニオンを示すが、本明細書に開示される発明は、すべてのホスホロチオエート互変異性体および/またはジアステレオマー（たとえば、硫黄原子が二重結合を有し、アニオンが酸素原子上にある場合）を包含する。本明細書において別途明示的に示されない限り、当業者のそのような理解は、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤および A S G R 1 R N A i 剤の組成物について説明する際に使用される。

#### 【 0 1 6 5 】

本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤とともに使用される標的化基および連結基のある特定の例は、以下の表 6 に提供される。より具体的には、標的化基および連結基は、以下のものを含み、それらの化学構造は、以下の表 6 に提供される。（N A G 1 3 ）、（N A G 1 3 ）s、（N A G 1 8 ）、（N A G 1 8 ）s、（N A G 2 4 ）、（N A G 2 4 ）s、（N A G 2 5 ）、（N A G 2 5 ）s、（N A G 2 6 ）、（N A G 2 6 ）s、（N A G 2 7 ）、（N A G 2 7 ）s、（N A G 2 8 ）、（N A G 2 8 ）s、（N A G 2 9 ）、（N A G 2 9 ）s、（N A G 3 0 ）、（N A G 3 0 ）s、（N A G 3 1 ）、（N A G 3 1 ）s、（N A G 3 2 ）、（N A G 3 2 ）s、（N A G 3 3 ）、（N A G 3 3 ）s、（N A G 3 4 ）、（N A G 3 4 ）s、（N A G 3 5 ）、（N A G 3 5 ）s、（N A G 3 6 ）、（

10

20

30

40

50

表3. ASGR1 RNAi剤のアンチセンス鎖配列

アンチセンス鎖 識別子	アンチセンス配列 (修飾) (5' から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5' から 3')
AM05757-AS	asCfsusUfcAfcAfuCfuUfcCfuUfcCfcAfcusu	417	ACUUCACUUCUUUCUCCCCACUU
AM05761-AS	usAfgsgAfaCfcAfgUfaGfcAfgCfuGfcusu	418	UAGAACCAGUAGCAGCUGCUU
AM05919-AS	asCfsusUfcAfuCfUfUfCfuUfcCfcAfcAfsu	419	ACUUCACUUCUUUCUCCCCACAU
AM05920-AS	asCfsusUfcAfuuuuufCfuUfcCfcAfcAfsu	420	ACUUCACUUCUUUCUCCCCACAU
AM05921-AS	asCfsusUfcAfuCfuUfcCfuUfcCfcAfcAfsu	421	ACUUCACUUCUUUCUCCCCACAU
AM05922-AS	asCfsusUfcAfuCfuUfcCfuUfcCfcAfcAfuUfsg	422	ACUUCACUUCUUUCUCCCCACAUUG
AM05927-AS	usCfsusUfcAfuCfuUfcCfuUfcCfcAfcAfsu	423	UCUUCACUUCUUUCUCCCCACAU
AM06016-AS	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsgsg	424	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06017-AS	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsgsu	425	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU
AM06020-AS	usCfsuCfgUfaGfuCfcGfuCfcCfgUfescsa	426	UCUCGUAGUCCGUCCCGUCCA
AM06021-AS	usCfsuCfgUfaGfuCfcGfuCfcCfgUfcsusu	427	UCUCGUAGUCCGUCCCGUCUU
AM06023-AS	usUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuCfcusug	428	UUAAGGAGAGGUGGCUCCUG
AM06026-AS	usGfsuAfgCfaGfcUfgCfgCfuCfgUfgscsu	429	UGUAGCAGCUGCGCUCGUGCU
AM06027-AS	usGfsuAfgCfaGfcUfgCfgCfuCfgUfgssusu	430	UGUAGCAGCUGCGCUCGUGUU
AM06029-AS	usGfsuGfcUfcGfcUfgUfgAfaGfuUfgscsu	431	UGUGCUCGUGUGAAGUUGCU
AM06030-AS	usGfsuGfcUfcGfcUfgUfgAfaGfuUfgscusg	432	UGUGCUCGUGUGAAGUUGCUG
AM06033-AS	usUfsgAfuGfgUfgGfuCfaCfuCfuCfcusc	433	UUGAUGGUGGUCACUUCUCCUC
AM06172-AS	usUfsgAfuGfgUfgGfuCfaCfuCfuCfcusu	434	UUGAUGGUGGUCACUUCUCCUU
AM06175-AS	usGfsaCfgUfcGfuCfgUfuCfcAfgCfgusu	435	UGACGUCGUCGUUCCAGCGUU
AM06176-AS	asGfsaCfgUfcGfuCfgUfuCfcAfgCfgusu	436	AGACGUCGUCGUUCCAGCGUU
AM06179-AS	usAfgCfuGfaUfgGfuGfgUfcAfcUfcsusc	437	UAGCUGAUGGUGGUCACUCUC
AM06180-AS	usAfgCfuGfaUfgGfuGfgUfcAfcUfcusu	438	UAGCUGAUGGUGGUCACUCUU
AM06183-AS	usGfsasGfcCfaUfuGfcCfcUfgGfaGfcusu	439	UGAGCCAUUGCCUUGGAGCUU
AM06185-AS	usAfcGfuGfaCfcAfcCfaCfcAfgGfuusu	440	UACGUGACCACCACCCAGGUUU

【 表 3 - 2 】

アンチセンス鎖 識別子	配列 番号	アンチセンス配列(修飾) (5'から3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から3')
AM06186-AS	441	usAfcGfuGfaCfcAfcCfaCfcAfgGfusgsc	744	UACGUGACCACCAACGAGGUGC
AM06189-AS	442	usCfsuGfcUfuCfaCfGfUfgGfaGfcAfgsusu	745	UCUGCUUCACGUGGAGCAGUU
AM06192-AS	443	spasCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcusu	722	ACUUCAUCUUUCUUCGCCACUU
AM06193-AS	444	cPrpusCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcusu	746	UCUUCAUCUUUCUUCGCCACUU
AM06200-AS	445	cPrpdUsCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcusu	746	UCUUCAUCUUUCUUCGCCACUU
AM06201-AS	446	usCfsusUfcAfuCfuUfuCfuUfcCfcAfcusu	746	UCUUCAUCUUUCUUCGCCACUU
AM06248-AS	447	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfggsusu	747	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGUU
AM06249-AS	448	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsgg	748	UACUCCUUGGUCAUGAUAGG
AM06250-AS	449	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsag	749	UACUCCUUGGUCAUGAUAG
AM06251-AS	450	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsusu	750	UACUCCUUGGUCAUGAUAGUU
AM06252-AS	451	usAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgsgsc	751	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGGC
AM06253-AS	452	cPrpdUAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfgg(invAb)	748	UACUCCUUGGUCAUGAUAGG
AM06254-AS	453	cPrpdUsAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfgAfuAfggsu	3	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU
AM06442-AS	454	usUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuCfcusu	752	UUAAAGGAGAGGUGGCCUUU
AM06443-AS	455	cPrpdUsUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuCfcusu	752	UUAAAGGAGAGGUGGCCUUU
AM06444-AS	456	cPrpusUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuCfcusu	752	UUAAAGGAGAGGUGGCCUUU
AM06445-AS	457	usUfsaAfaGfgagagGfuGfgCfuCfcusu	752	UUAAAGGAGAGGUGGCCUUU
AM06446-AS	458	usUfsaaaggAfgAfgGfuGfguccesusu	752	UUAAAGGAGAGGUGGCCUUU
AM06447-AS	459	usUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuscsc	753	UUAAAGGAGAGGUGGCCUCC
AM06448-AS	460	usUfsaAfaGfgAfgAfgGfuGfgCfuCfcusgsg	754	UUAAAGGAGAGGUGGCCUCCUGG
AM06575-AS	461	asGfsaCfGfUfcGfuCfGfUfuCfcAfgCfGfusu	739	AGACGUCGUCGUUCCACGGUU
AM06578-AS	462	usGfsaCfGfUfcGfuCfGfUfuCfcAfgCfGfusu	738	UGACGUCGUCGUUCCACGGUU
AM06579-AS	463	cPrpusGfsaCfGfUfcGfuCfGfUfuCfcAfgCfGfusu	738	UGACGUCGUCGUUCCACGGUU
AM06581-AS	464	usCfsuCfGfUfaguccGfuCfcCfGfUfcusu	730	UCUCGUAGUCCGUCCCCGUCUU
AM06582-AS	465	cPrpusCfsuCfGfUfaguccGfuCfcCfGfUfcusu	730	UCUCGUAGUCCGUCCCCGUCUU

10

20

30

40

50

【表 3 - 3】

アンチセンス鎖 識別子	配列 番号	アンチセンス配列 (修飾) (5' から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5' から 3')
AM06584-AS	466	asCfsuCf <sub>g</sub> Ufagu <sub>cc</sub> GfuCf <sub>c</sub> Cf <sub>g</sub> Ufcsusu	755	ACUCGUAGUCCCGUCCCGUCUU
AM06586-AS	467	asCfsuCf <sub>g</sub> Ufagu <sub>cc</sub> GfuCf <sub>c</sub> Cf <sub>g</sub> Ufsc	756	ACUCGUAGUCCCGUCCCGUC
AM06598-AS	468	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> CfuUf <sub>g</sub> GfuCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsGfsg	727	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06599-AS	469	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> Cfu <sub>gg</sub> uCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsGfsg	727	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06601-AS	2	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> CfuUf <sub>g</sub> GfuCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU
AM06639-AS	470	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> Cfu <sub>gg</sub> uCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsGfsg	727	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06641-AS	471	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> CfuUf <sub>g</sub> GfuCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsusu	750	UACUCCUUGGUCAUGAUAGUU
AM06643-AS	472	usAfs <sub>c</sub> Uf <sub>c</sub> Cfu <sub>gg</sub> uCfaUf <sub>g</sub> AfuAfsGfsgs(inv/Ab)	727	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06645-AS	473	usGfscsUfuCf <sub>ac</sub> gugGfaGf <sub>c</sub> Af <sub>g</sub> CfaGfsg	757	UGCUUACGUGGAGCAGCAGG
AM06647-AS	474	usCfsgsUfuUf <sub>gg</sub> ucGfuGf <sub>g</sub> Af <sub>g</sub> Gf <sub>c</sub> Cfsu	758	UCGUUUUGGUCGUGGAGGCCU
AM06649-AS	475	usUfscsCf <sub>c</sub> Cf <sub>ac</sub> auuGf <sub>c</sub> CfuCf <sub>c</sub> Uf <sub>g</sub> Gfsg	759	UUUCCACAUUGCCUCCCUUGG
AM06651-AS	476	asAfs <sub>c</sub> CfaGfuagcaGf <sub>c</sub> Uf <sub>g</sub> Cf <sub>g</sub> CfuCfsg	760	AACCAGUAGCAGCUGCGCUCG
AM06653-AS	477	asAfs <sub>c</sub> CfaGfuagcaGf <sub>c</sub> Uf <sub>g</sub> Cf <sub>g</sub> Cfuusu	761	AACCAGUAGCAGCUGCGCUUU
AM06655-AS	478	usGfscAf <sub>g</sub> Ufagu <sub>g</sub> Uf <sub>c</sub> Gf <sub>g</sub> Cf <sub>g</sub> UfcsAfs <sub>g</sub>	762	UGCAGUAGUUGUCGGCGUCAG
AM06657-AS	479	usAfs <sub>g</sub> GfaCf <sub>g</sub> ugacCfaCf <sub>c</sub> Af <sub>c</sub> CfaGfsg	763	UAGGACGUGACCAACCACAGG
AM06659-AS	480	usUfsgsCfuGf <sub>g</sub> Af <sub>c</sub> AfaAfuUfuCfuGf <sub>c</sub> Ufsc	764	UUGCUGGACAAAUUCUGCUC
AM06661-AS	481	usUfscsGfuAf <sub>g</sub> uecgUf <sub>c</sub> Cf <sub>c</sub> GfuCf <sub>c</sub> Afsc	765	UUCGUAGUCCGUCUCCGUCCAC
AM06663-AS	482	usUfscsUf <sub>c</sub> GfuagucCf <sub>g</sub> Uf <sub>c</sub> Cf <sub>c</sub> GfuCf <sub>c</sub> Ufsc	766	UUCUGUAGUCCGUCUCCGUUU
AM06665-AS	483	usGfscsAf <sub>c</sub> Cf <sub>ag</sub> ucgUf <sub>c</sub> Cf <sub>g</sub> Gf <sub>c</sub> Uf <sub>g</sub> usu	767	UGUACCAUGUCGUCUCCGGCUGUU
AM06667-AS	484	asGfscsCf <sub>g</sub> Uf <sub>g</sub> ucgUfuCf <sub>c</sub> Af <sub>g</sub> Cf <sub>g</sub> usu	739	AGACGUCGUCGUGUCCACGCGUU
AM06669-AS	485	usAfs <sub>g</sub> CfuGf <sub>c</sub> uicaCf <sub>g</sub> Uf <sub>g</sub> GfaGf <sub>c</sub> Afsg	768	UAAUGCUUCACGUGGAGCAG
AM06671-AS	486	usUfscsUfuCf <sub>c</sub> caCfuGf <sub>c</sub> CfuCf <sub>c</sub> Cfsu	769	UUCUCCCCACAUUGCCUCCCU
AM06673-AS	487	usUfscsUfuCf <sub>c</sub> caCfuGf <sub>c</sub> CfuCf <sub>c</sub> Ufsc	770	UUCUCCCCACAUUGCCUCCCU
AM06675-AS	488	usGfscGfaCfucauCfuUfuCfuUfscCfsc	771	UGCAGUUCAUUCUUUUCUCCC
AM06677-AS	489	asGfscGfaCfucauCfuUfuCfuUfscCfsc	772	AGCGACUUCAUUCUUUUCUCCC

10

20

30

40

50



40

[illegible]

【表 3 - 5】

アンチセンス鎖 識別子	配列 番号	アンチセンス配列 (修飾) (5' から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5' から 3')
AM06834-AS	513	usCfsuUfuCfuUfcCfcAfcAfuUfgCfesUfsc	793	UCUUUCUUUCCCCACAUUGCCUC
AM06836-AS	514	usCfsaUfcUfuUfcUfuCfcCfaCfaUfusGfsc	794	UCAUCUUUCUUUCCCCACAUUGC
AM06838-AS	28	usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfaGfaGfasGfsg	27	UGAAAUAAAUUAAAGGAGAGG
AM06840-AS	515	usGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfaGfaGfasGfsg	795	UGAAAUAAAUUAAAGGAGCGG
AM06842-AS	516	asGfsaAfaUfaAfaUfuAfaAfaGfaGfasGfsg	796	AGAAAUAAAUUAAAGGAGCGG
AM06851-AS	4	usAfcUfcCU <sub>usa</sub> UfgGfuCfaUfgAfuAfgsGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGU
AM06853-AS	517	usCfsusUfgGfucaugAfuAfgGfgCfuGfsu	797	UCUUGGUCAUGAUAGGGCUGU
AM06855-AS	518	asCfsusCfcUfuggucAfuGfaUfaGfgGfsu	798	ACUCCUUGGUCAUGAUAGGGU
AM06857-AS	519	asUfsasCfuCfcuuggUfcAfuGfaUfaGfsc	799	AUACUCCUUGGUCAUGAUAGC
AM06859-AS	520	usAfsusAfcUfcccungGfuCfaUfgAfuCfsc	800	UAUACUCCUUGGUCAUGAUCC
AM06861-AS	521	usAfsusAfcUfcccungGfuCfaUfgAfuAfc	801	UAUACUCCUUGGUCAUGAUAC
AM06911-AS	522	usAfsesUfcCfuugguCfaUfgAfuAfgGfsg	727	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGG
AM06796-AS	523	usAfsesUfcCfuugguCfaUfgAfuAfgGfsc	782	UACUCCUUGGUCAUGAUAGGC
AM06914-AS	524	asGfscsGfaCfuucanCfuUfuCfuUfcCfsc	772	AGCGACUUCACUUCUUCUCC
AM06916-AS	525	asGfscsGfaCfuucanCfuUfuCfuUfcCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUCCG
AM06918-AS	526	usUfsusAfaAfgGfaGfaGfgUfgGfcUfcusu	803	UUUAAAGGAGAGGUGGCUUU
AM06920-AS	527	usUfsusAfaAfgGfaGfaGfgUfgGfcUfgusu	804	UUUAAAGGAGAGGUGGCUUU
AM07073-AS	528	usUfsgAfuAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfsgsGfsu	805	UUGAUACUCCUUGGUCAUGGU
AM07075-AS	529	usUfsgAfuAfcUfcCfuUfgGfuCfaUfsgsAfcg	806	UUGAUACUCCUUGGUCAUGAG
AM07077-AS	530	usUfsgAfuAfcuuccUfgGfuCfaUfsgsGfsc	807	UUGAUACUCCUUGGUCAUGGC
AM07079-AS	531	usAfsusCfuUfucuuCfcAfcAfuUfgCfsg	808	UAUCUUUCUUCUCCACAUUGCG
AM07083-AS	532	usAfsusCfuUfucuuCfcAfcAfuUfgGfsg	809	UAUCUUUCUUCUCCACAUUGGG
AM07085-AS	533	usCfsaUfcUfuUfcUfuCfcCfaUfusGfsg	810	UCAUCUUUCUUCUCCACAUUGG
AM07088-AS	534	usCfsaUfcUfuUfcUfuCfcCfaUfusCfsg	811	UCAUCUUUCUUCUCCACAUUCG
AM07090-AS	535	usCfsaUfcUfuUfcUfuCfcCfaUfcsGfsg	812	UCAUCUUUCUUCUCCACAUUCGG

10

20

30

40

50

【表 3 - 6】

アンチセンス鎖 識別子	配列 番号	アンチセンス配列 (修飾) (5'から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から 3')
AM07092-AS	536	usGfsaAfaUfaAfaUfaAfaUfaAfaGfaGfasGfsc	813	UGAAAUAAUUUAAAGGAGAGC
AM07096-AS	537	usGfsaAfaUfaAfaUfaAfaUfaAfaGfsgGfsg	814	UGAAAUAAUUUAAAGGAGGGG
AM07098-AS	538	usGfsaAfaUfaAfaUfaAfaUfaAfaGfsgGfsg	815	UGAAAUAAUUUAAAGGAGGGC
AM07209-AS	539	asGfscGfaCfU <sub>UNA</sub> ucauCfuUfuCfuUfcsCfsc	772	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCC
AM07210-AS	540	asGfscGfaCfU <sub>UNA</sub> ucauCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07213-AS	541	asGfscG <sub>UNA</sub> GfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07214-AS	542	asGfscG <sub>UNA</sub> aCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07216-AS	543	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsu	816	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCU
AM07390-AS	544	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsusu	817	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCU
AM07392-AS	545	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsa	818	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCA
AM07394-AS	546	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsGfsg	819	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07396-AS	7	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsGfsu	8	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCU
AM07398-AS	547	asGfscGfaCfuucauCfuUfuCfuUfcsGfsc	820	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07449-AS	548	asGfscGfA <sub>UNA</sub> CfuucauCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07487-AS	549	usAfsccuuccuugguCfaUfgAfuAfgGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUAGAUAGGU
AM07488-AS	550	usAfsccuuccU <sub>UNA</sub> ugguCfaUfgAfuAfgGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUAGAUAGGU
AM07489-AS	551	asGfscgacuucanCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07490-AS	552	asGfscgacU <sub>UNA</sub> ucauCfuUfuCfuUfcsCfsg	6	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCG
AM07492-AS	553	asGfscGfaCfU <sub>UNA</sub> ugguacfuUfuCfuUfcsCfsg	821	AGCGACUUGUACUUCUUCUUCUCCG
AM07501-AS	9	asGfscgacuucanCfuUfuCfuUfcsGfsu	8	AGCGACUUCACUUCUUCUUCUCCU
AM07576-AS	554	usAfsccuuccuugguCfaUfgAfuAfgsGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUAGAUAGGU
AM07577-AS	555	usAfsccuuccU <sub>UNA</sub> ugguacfaUfgAfuAfgsGfsu	3	UACUCCUUGGUCAUAGAUAGGU

【 0 1 6 6 】

10

20

30

40

50

【表 4 - 1】

表4. ASGR1 RNAi剤のセンス鎖配列

センス鎖 識別子	配列 番号	センス配列 (修飾) (5'から3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から3')
AM05756-SS	556	(NAG31)(inv Ab)GfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	822	GUGGGAAGAAAGAUGAAGUUU
AM05760-SS	557	(NAG31)(inv Ab)gcagcuGfCfUfacugguucuuus(inv Ab)	823	GCAGCUGCUACUGGUUCUAUU
AM05923-SS	558	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	824	AUGUGGGAAGAAAGAUGAAGU
AM05924-SS	559	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	824	AUGUGGGAAGAAAGAUGAAGU
AM05925-SS	560	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	825	GUGGGAAGAAAGAUGAAGU
AM05926-SS	561	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	822	GUGGGAAGAAAGAUGAAGUUU
AM05928-SS	562	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	826	AUGUGGGAAGAAAGAUGAAGA
AM06018-SS	563	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	827	CCCUAUCAGUACCAAGGAGUA
AM06019-SS	564	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	828	CCUUAUCAGUACCAAGGAGUA
AM06022-SS	565	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	829	GACGGGACGGACUACGAGA
AM06024-SS	566	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	830	GGAGCCACCUUCUCCUUA
AM06025-SS	567	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	831	CAGGAGCCACCUUCUCCUUA
AM06028-SS	568	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	832	CACGAGCGCAGCUGCUACA
AM06031-SS	569	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	833	AGCAACUUCACAGCGAGCACA
AM06032-SS	570	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	834	CAGCAACUUCACAGCGAGCACA
AM06034-SS	571	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	835	GAGGAGAGUGACCAACCAUCA
AM06173-SS	572	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	836	GGAGAGUGACCAACCAUCA
AM06174-SS	573	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	835	GAGGAGAGUGACCAACCAUCA
AM06177-SS	574	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	837	CGCUGGAACGACGACGUCU
AM06178-SS	575	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	838	CGCUGGAACGACGACGUCU
AM06181-SS	576	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	839	GAGAGUGACCAACCAUCAGCUA
AM06182-SS	577	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	840	GAGAGUGACCAACCAUCAGCUA
AM06184-SS	578	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	841	GCUCCAGGGCAUUGGCUCA
AM06187-SS	579	(NAG25)s(inv Ab)sauGfuGfGfAfaA fgaugaguuus(inv Ab)	842	ACCUUGGUGGUGGUCACGUA

10

20

30

40

50

【表 4 - 2】

センス鎖 識別子	配列 番号	センス配列 (修飾) (5'から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から 3')
AM06188-SS	580	(NAG25)sgseaccuggUfGfGfugguacagus(inv dA)	843	GCACCUGGUGGUGGUCACGUA
AM06190-SS	581	(NAG25)j(inv Ab)scugcucCfAICf'gugaagcags(inv dA)	844	CUGCUCCACGUGAAGCAGA
AM06194-SS	582	(NAG25)j(inv Ab)sgugggaAfGfAfaagaagagag(inv Ab)	845	GUGGGAAAGAAAGAUAGAAGA
AM06255-SS	583	(NAG37)j(inv Ab)scuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv dA)	828	CCUAUCAUGACCAAGGAGUA
AM06256-SS	584	(NAG37)j(inv Ab)scuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv dA)	846	CUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06257-SS	585	(NAG37)j(inv Ab)scuccuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv dA)	827	CCCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06258-SS	586	(NAG37)sgsccuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv dA)	847	GCCCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06259-SS	587	(NAG37)j(inv Ab)sgsccuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv dA)	847	GCCCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06260-SS	588	(NAG37)(inv Ab)ecuaucaUfGfA'fccaagagag(u(inv dA)	828	CCUAUCAUGACCAAGGAGUA
AM06440-SS	589	(NAG37)j(inv Ab)sgugggaAfGfAfaagaagagagus(inv Ab)	825	GUGGGAAGAAAGAUAGAAGU
AM06441-SS	590	(NAG37)j(inv Ab)sggagccAICfC'fuccuauas(inv dA)	830	GGAGCCACCUCUCCUUUAA
AM06449-SS	591	(NAG37)sgsgagccAICfC'fuccuauas(inv dA)	830	GGAGCCACCUCUCCUUUAA
AM06450-SS	592	(NAG37)scsagagccAICfC'fuccuauas(inv dA)	831	CAGGAGCCACCUCUCCUUUAA
AM06451-SS	593	(NAG37)scsagagccAICfC'fuccuauas(inv dA)	848	CCAGGAGCCACCUCUCCUUUAA
AM06458-SS	594	(NAG37)j(inv Ab)sgugggaAfGfAfaagaagagagus(inv Ab)	845	GUGGGAAGAAAGAUAGAAGA
AM06574-SS	595	(NAG37)j(inv Ab)sgcguggAIAfC'fagcagcuguc(inv Ab)	838	CGCUGGAACGACGACGUCU
AM06576-SS	596	(NAG37)j(inv Ab)sgcguggAIAfC'fagcagcuguc(inv Ab)	849	CGCUGGAACGACGACGUCU
AM06577-SS	597	(NAG37)j(inv Ab)sgcguggAIAfC'fagcagcuguc(inv Ab)	837	CGCUGGAACGACGACGUCU
AM06580-SS	598	(NAG37)j(inv Ab)sgacgggAICfGf'gacuacgagag(inv Ab)	829	GACGGGACGGACUACGAGA
AM06583-SS	599	(NAG37)j(inv Ab)sgacgggAICfGf'gacuacgagag(inv Ab)	850	GACGGGACGGACUACGAGU
AM06585-SS	600	(NAG37)j(inv Ab)sgacgggAICfGf'gacuacgagag(inv Ab)	851	GACGGGACGGACUACGAGAUU
AM06597-SS	601	(NAG37)j(inv Ab)scuccuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv Ab)	827	CCCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06600-SS	602	(NAG37)j(inv Ab)saccuaucaUfGfA'fccaagagagus(inv Ab)	13	ACCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM06640-SS	603	(NAG37)j(inv Ab)scuaucaUfGfA'fccaagagagauus(inv Ab)	853	CUAUCAUAGACCAAGGAGUAU
AM06644-SS	604	(NAG37)j(inv Ab)scuaucaUfGfA'fccaagagagauus(inv Ab)	854	CCUUGCUGUCCACGACGUAAGCA

10

20

30

40

50

【表 4 - 3】

センス鎖 識別子	配列 番号	センス配列(修飾) (5'から3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から3')
AM06646-SS	605	(NAG37)s(invAb)sagggcuccAfCfGfaceaaacgas(invAb)	855	AGGCCUCCACGACCCAAAACGA
AM06648-SS	606	(NAG37)s(invAb)scagggagGfCfAfaugugggaaas(invAb)	856	CCAGGGAGGCAUUGUGGGAAA
AM06650-SS	607	(NAG37)s(invAb)scgagggcaGfCUfGcuacugguus(invAb)	857	CGAGCGCAGCUGCUACUGGUUU
AM06652-SS	608	(NAG37)s(invAb)sagcgcaGfCUfGcuacugguuus(invAb)	858	AGCGCAGCUGCUACUGGUUUU
AM06654-SS	609	(NAG37)s(invAb)scuagagccGfAfCfaacuagccas(invAb)	859	CUGACGCCGACAAACUACUGCA
AM06656-SS	610	(NAG37)s(invAb)scuugugugUfGfGfucacuguccas(invAb)	860	CCUGGUGGUGGUCACGUCCUA
AM06658-SS	611	(NAG37)s(invAb)sgagcgaaAUUfUfuguccagcaas(invAb)	861	GAGCAGAAAUUUGUCCAGCAA
AM06660-SS	612	(NAG37)s(invAb)sguggagcgGfAfCfGacuacgaas(invAb)	862	GUAGCGGACGGACUACGAA
AM06662-SS	613	(NAG37)s(invAb)sagaggggaCfGfGfacuaggaas(invAb)	863	AGACGGGACGGACUACGAGAA
AM06664-SS	614	(NAG37)s(invAb)saacagccgGfAfCfGacuugguacas(invAb)	864	AACAGCCGGACGACUGGUACA
AM06666-SS	615	(NAG37)s(invAb)scgugggAfAfCfGagagcucuuus(invAb)	865	CGCUGGAACGACGACGUCUUU
AM06668-SS	616	(NAG37)s(invAb)scuguccaCfGUfGaaagcaguuas(invAb)	866	CUGCUCCACGUGAAGCAGUUA
AM06670-SS	617	(NAG37)s(invAb)sagggagggcAfAUfGugggagaas(invAb)	867	AGGGAGGCAUUGUGGGAAGAA
AM06672-SS	618	(NAG37)s(invAb)sggagggcAfAUfGugggagaauus(invAb)	868	GGAGGCAUUGUGGGAAGAAUU
AM06674-SS	619	(NAG37)s(invAb)sgggagaaAfGfAfugaagucgcas(invAb)	869	GGGAAGAAAGAUGAAGUCGCA
AM06676-SS	620	(NAG37)s(invAb)sgggagaaAfGfAfugaagucgcus(invAb)	870	GGGAAGAAAGAUGAAGUCGCU
AM06678-SS	621	(NAG37)s(invAb)sagggagccaCfCUfGcuccuuuaas(invAb)	871	AGGAGCCACCUCCUCCUUAAA
AM06680-SS	622	(NAG37)s(invAb)sagggagccaCfCUfGcuccuuuaas(invAb)	872	AGGAGCCACCUCCUCCUUAAA
AM06682-SS	623	(NAG37)s(invAb)sggagggcacCfUfGcuccuuuaas(invAb)	873	GGAGCCACCUCCUCCUUAAA
AM06684-SS	624	(NAG37)s(invAb)sggagggcacCfUfGcuccuuuaas(invAb)	873	GGAGCCACCUCCUCCUUAAA
AM06686-SS	625	(NAG37)s(invAb)sgagggcgagCfUfGfGcuacugguuas(invAb)	874	GAGCGCAGCUGCUACUGGUUA
AM06688-SS	626	(NAG37)s(invAb)sgugggucugCfGfAfGacagagcuas(invAb)	875	UGGGUCUGCGAGACAGAGCUA
AM06702-SS	627	(NAG37)s(invAb)sguggggaAfGfUfugaagagagcas(invAb)	876	GUAGGGAAGUUGAUGAAGA
AM06704-SS	628	(NAG37)s(invAb)scuaucaUfGfUfGgaagagagcas(invAb)	877	CCUAUCAUGUGGAAGGAGUA
AM06706-SS	629	(NAG37)s(invAb)sauggggggaAfGfAfagaagagagcas(invAb)	824	AUGUGGGAAGAAAGAUAGAAGU

10

20

30

40

50

【表 4 - 4】

センス鎖 識別子	配列 番号	センス配列(修飾) (5'から3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から3')
AM06707-SS	630	(NAG37)s(inv Ab)sauuguggaAfGfAfaagauaagus(inv Ab)	878	GUGUGGGAAGAAAGAUAGAAGU
AM06709-SS	631	(NAG37)s(inv Ab)sccgugggaAfGfAfaagauaagus(inv Ab)	18	GCGUGGGAAGAAAGAUAGAAGU
AM06754-SS	632	(NAG37)gscgugggaAfGfAfaagauaagus(inv Ab)	18	GCGUGGGAAGAAAGAUAGAAGU
AM06755-SS	633	(NAG37)gscuugggaAfGfAfaagauaagus(inv Ab)	880	GCCUGGGAAGAAAGAUAGAAGU
AM06795-SS	634	(NAG37)s(inv Ab)sccuaucaUfGfAfccaaggagauas(inv Ab)	881	GCCUAUCAUGACCAAGGAGUA
AM06797-SS	635	(NAG37)s(inv Ab)sccuaucaUfGfAfccaaggagauas(inv Ab)	882	GGCUAUCAUGACCAAGGAGUA
AM06802-SS	636	(NAG37)s(inv Ab)saccuaucaUfGfAfccaaggaiuas(inv Ab)	12	ACCUAUCAUGACCAAGGAIUA
AM06803-SS	637	(NAG37)s(inv Ab)saccuaucaUfGfAfccaaggaiuas(inv Ab)	884	ACCUAUCAUGACCAAGIAGUA
AM06804-SS	638	(NAG37)s(inv Ab)saccuaucaUfGfAfccaaggaiuas(inv Ab)	885	ACCUAUCAUGACCAAIAGAGUA
AM06805-SS	639	(NAG37)s(inv Ab)saccuaucaUfGfAfccaaggaiuas(inv Ab)	14	ACCUAUCAUGACCAAIAGAIUA
AM06807-SS	640	(NAG37)s(inv Ab)saccuaucaUfGfAfccaaggagauus(inv Ab)	887	ACCUAUCAUGACCAAGGAGUU
AM06809-SS	641	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfCfCfagcugagcauus(inv Ab)	888	UGCUGCUCCACGUGAAICAUU
AM06811-SS	642	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfCfCfagcugagcauus(inv Ab)	889	UGCUGCUCCACGUGAAICAUU
AM06812-SS	643	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfCfCfagcugagcauus(inv Ab)	890	UGCUGCUCCACGUIAAGCAUU
AM06813-SS	644	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfCfCfagcugagcauus(inv Ab)	891	UGCUGCUCCACGUIAICAUU
AM06814-SS	645	(NAG37)s(inv Ab)sccgagaaAfGfAfugaagucicus(inv Ab)	15	CGGAAGAAAGAUAGAUGCICU
AM06816-SS	646	(NAG37)s(inv Ab)sccgagaaAfGfAfugaagucicus(inv Ab)	893	CGGAAGAAAGAUAGAUIUCGCU
AM06817-SS	647	(NAG37)s(inv Ab)sccgagaaAfGfAfugaagucicus(inv Ab)	31	CGGAAGAAAGAUAGAUIUCICU
AM06818-SS	648	(NAG37)s(inv Ab)sccgagaaAfGfAfugaagucicus(inv Ab)	33	CGGAAGAAAGAUAGAUGCUCU
AM06819-SS	649	(NAG37)s(inv Ab)scccuaucaUfGfAfccaaggagauus(inv Ab)	896	GCCCUAUCAUAGACCAAGGAGU
AM06821-SS	650	(NAG37)s(inv Ab)scccuaucaUfGfAfccaaggagauus(inv Ab)	897	GGCAAUGUGGGAAGAAAGAUAGA
AM06823-SS	651	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfGfAfugaagucicus(inv Ab)	898	UGGGAAGAAAGAUAGAAGUCGA
AM06825-SS	652	(NAG37)s(inv Ab)sugcugcUfGfAfugaagucicus(inv Ab)	899	UGCUCACGUGAAGCAGUUIUU
AM06827-SS	653	(NAG37)s(inv Ab)succacgUfGfAfagcagucgucuuus(inv Ab)	900	UCCACGUGAAGCAGUUCGUUU
AM06829-SS	654	(NAG37)s(inv Ab)sccgagagcAfGfAfauuuguccas(inv Ab)	901	GGAGGAGCAGAAAUUUGUCCA

10

20

30

40

50

10

20

30

40



【表 4 - 6】

センズ鎖 識別子	配列 番号	センズ配列(修飾) (5'から3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から3')
AM06939-SS	680	(NAG37)s(invAb)scggaagaafGfAfGfGgagucicus(invAb)	15	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCICU
AM06940-SS	681	(NAG37)s(invAb)scggaagaafGfAfUgagucicus(invAb)	15	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCICU
AM06941-SS	682	(NAG37)s(invAb)scggaagaafGfAfUdGagucicus(invAb)	15	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCICU
AM07072-SS	683	(NAG37)s(invAb)saccaugacCfAfAfggagaucaas(invAb)	919	ACCAUGACCAAGGAGUAUCAA
AM07074-SS	684	(NAG37)s(invAb)scucaugacCfAfAfggagaucaas(invAb)	920	CUCAUGACCAAGGAGUAUCAA
AM07076-SS	685	(NAG37)s(invAb)sgccaugacCfAfAfggagaucaas(invAb)	921	GCCAUGACCAAGGAGUAUCAA
AM07078-SS	686	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfGfagagaugaus(invAb)	922	CGCAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07080-SS	687	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfagagaugaus(invAb)	923	CGCAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07081-SS	688	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfagagaugaus(invAb)	924	CGCAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07082-SS	689	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfagagaugaus(invAb)	925	CCCAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07084-SS	690	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfAfgagaugaus(invAb)	926	CCAAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07086-SS	691	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfAfgagaugaus(invAb)	927	CCAAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07087-SS	692	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfAfgagaugaus(invAb)	928	CGAAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07089-SS	693	(NAG37)s(invAb)scgcaauguGfGfAfgagaugaus(invAb)	929	CCGAUUGUGGGAAGAAAGAU
AM07091-SS	694	(NAG37)s(invAb)sgcucuccuUfUfAfauuuuuccas(invAb)	930	GCUCUCCUUUAUUUAUUUCA
AM07093-SS	695	(NAG37)s(invAb)sgcucuccuUfUfAfauuuu_2Nuuccas(invAb)	931	GCUCUCCUUUAUUUA(A <sup>2N</sup> )UUUCA
AM07094-SS	696	(NAG37)s(invAb)sgcucuccuUfUfAfa_2Nuuuuuccas(invAb)	932	GCUCUCCUUUA(A <sup>2N</sup> )UUUAUUUCA
AM07095-SS	697	(NAG37)s(invAb)scgccuccuUfUfAfauuuuuccas(invAb)	933	CCCCUCCUUUAUUUAUUUCA
AM07097-SS	698	(NAG37)s(invAb)scgccuccuUfUfAfauuuuuccas(invAb)	934	CCCCUCCUUUAUUUAUUUCA
AM07109-SS	699	(NAG37)s(invAb)saccuaucaUfGfAfcCaaggauas(invAb)	12	ACCUAUC AUGACC AAGGAIUA
AM07110-SS	700	(NAG37)s(invAb)saccuaucaUfGfAfcCaaggauas(invAb)	14	ACCUAUC AUGACC AAGGAIUA
AM07211-SS	701	(NAG37)s(invAb)scggaagaafGfAfUdGagucicus(invAb)	33	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCGCU
AM07212-SS	702	(NAG37)s(invAb)scggaagaafGfAfUdGagucicus(invAb)	33	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCGCU
AM07215-SS	703	(NAG37)s(invAb)sgggaagaafGfAfUdGagucicus(invAb)	935	AGGAAGAAAGAUGAAAGUCICU
AM07388-SS	704	(NAG37)scggaagaafGfAfUdGagucicus(invAb)	33	CGGAAGAAAGAUGAAAGUCGCU

10

20

30

40

50

【表 4 - 7】

センス鎖 識別子	配列 番号	センス配列 (修飾) (5'から 3')	配列 番号	根底にある塩基配列 (5'から 3')
AM07389-SS	705	(NAG37)s(invAb)sgaagaaAfGfAfugaaguciuuus(invAb)	936	GAAGAAAGAUGAAGUCICUUU
AM07391-SS	706	(NAG37)s(invAb)sggaagaaAfGfAfugaagucicus(invAb)	937	UGGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07393-SS	707	(NAG37)s(invAb)scgaagaaAfGfAfugaagucicus(invAb)	938	CCGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07395-SS	708	(NAG37)s(invAb)sacgaagaaAfGfAfugaagucicus(invAb)	16	ACGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07397-SS	709	(NAG37)s(invAb)scgaagaaAfGfAfugaagucicus(invAb)	940	GCGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07414-SS	710	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfudGaa <sub>LNA</sub> gucgus(invAb)	33	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU
AM07444-SS	711	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfuga <sub>LNA</sub> gucgus(invAb)	33	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU
AM07445-SS	712	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfuga <sub>LNA</sub> gucicus(invAb)	15	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07446-SS	713	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfuga <sub>LNA</sub> gucgus(invAb)	33	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU
AM07447-SS	714	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfudGaa <sub>LNA</sub> gucicus(invAb)	15	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCICU
AM07448-SS	715	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfugaag <sub>LNA</sub> gucgus(invAb)	33	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU
AM07450-SS	716	(NAG37)s(invAb)scggaagaaAfGfAfudTgaagucgus(invAb)	941	CGGAAGAAAAGATGAAGUCGCU
AM07451-SS	717	(NAG37)s(invAb)saccuaaUfGfAfcdCaaggaguuas(invAb)	13	ACCUAUCAUAGACCAAGGAGUA
AM07452-SS	718	(NAG37)s(invAb)saccuaaUfGfAfcdCaaggaguuas(invAb)	12	ACCUAUCAUAGACCAAGGAIUA
AM07491-SS	719	(NAG33)s(invAb)scggaagaaAfGfUfadCaagucgus(invAb)	943	CGGAAGAAAAGUACAAGUCGCU
AM07494-SS	720	(NAG33)s(invAb)scggaagaaAfGfAfudGaagucgus(invAb)	33	CGGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU
AM07500-SS	721	(NAG37)s(invAb)sacgaagaaAfGfAfugaagucgus(invAb)	17	ACGAAGAAAAGAUGAAGUCGCU

(A<sup>2N</sup>) = 2-アミノアデニンヌクレオチド  
(pu<sup>2N</sup>) = 2-アミノプリンヌクレオチド

【0167】

本明細書に記載される A S G R 1 RNAi 剤は、アンチセンス鎖をセンス鎖とアニーリングすることによって形成される。表 2 または表 4 に列挙されている配列を含むセンス鎖を、表 2 または表 3 に列挙されている配列を含む任意のアンチセンス鎖とハイブリダイズさせることができるが、ただし、2 つの配列が、連続した 16、17、18、19、20、または 21 個のヌクレオチドの配列にわたる少なくとも 85 % の相補性の領域を有することを条件とする。

【0168】

一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 RNAi 剤のアンチセンス鎖

10

20

30

40

50

は、表 3 内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオチドが異なる。一部の実施形態では、本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 4 内のセンス鎖配列のうちのいずれかと 0、1、2、または 3 個のヌクレオチドが異なる。

【 0 1 6 9 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または表 3 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または表 3 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 1 ~ 1 7、2 ~ 1 7、1 ~ 1 8、2 ~ 1 8、1 ~ 1 9、2 ~ 1 9、1 ~ 2 0、2 ~ 2 0、1 ~ 2 1、2 ~ 2 1、1 ~ 2 2、2 ~ 2 2、1 ~ 2 3、2 ~ 2 3、1 ~ 2 4、2 ~ 2 4、1 ~ 2 5、2 ~ 2 5、1 ~ 2 6、または 2 ~ 2 6 の配列を含む。ある特定の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 3 内の修飾された配列のうちのいずれか 1 つの修飾された配列を含むかまたはそれからなる。

10

【 0 1 7 0 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 2 または表 4 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 2 または表 4 内の配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 1 ~ 1 7、2 ~ 1 7、3 ~ 1 7、4 ~ 1 7、1 ~ 1 8、2 ~ 1 8、3 ~ 1 8、4 ~ 1 8、1 ~ 1 9、2 ~ 1 9、3 ~ 1 9、4 ~ 1 9、1 ~ 2 0、2 ~ 2 0、3 ~ 2 0、4 ~ 2 0、1 ~ 2 1、2 ~ 2 1、3 ~ 2 1、4 ~ 2 1、1 ~ 2 2、2 ~ 2 2、3 ~ 2 2、4 ~ 2 2、1 ~ 2 3、2 ~ 2 3、3 ~ 2 3、4 ~ 2 3、1 ~ 2 4、2 ~ 2 4、3 ~ 2 4、4 ~ 2 4、1 ~ 2 5、2 ~ 2 5、3 ~ 2 5、4 ~ 2 5、1 ~ 2 6、2 ~ 2 6、3 ~ 2 6、または 4 ~ 2 6 の配列を含む。ある特定の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖は、表 4 内の修飾された配列のうちのいずれか 1 つの修飾された配列を含むかまたはそれからなる。

20

【 0 1 7 1 】

本明細書に開示される A S G R 1 R N A i 剤について、アンチセンス鎖の 1 位 ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) のヌクレオチドは、A S G R 1 遺伝子に対して完全に相補的であってもよく、または A S G R 1 遺伝子に対して非相補的であってもよい。一部の実施形態では、アンチセンス鎖の 1 位 ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) のヌクレオチドは、U、A、または d T ( またはその修飾されたバージョン ) である。

30

【 0 1 7 2 】

一部の実施形態では、アンチセンス鎖の 1 位 ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) のヌクレオチドは、センス鎖と A : U または U : A の塩基対を形成する。

【 0 1 7 3 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤のアンチセンス鎖は、表 2 または表 3 内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 2 ~ 1 8 または 2 ~ 1 9 の配列を含む。一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i のセンス鎖は、表 2 または表 4 内のセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 1 ~ 1 7 または 1 ~ 1 8 の配列を含む。

40

【 0 1 7 4 】

一部の実施形態では、A S G R 1 R N A i 剤は、( i ) 表 2 または表 3 内のアンチセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 2 ~ 1 8 または 2 ~ 1 9 の配列を含むアンチセンス鎖と、( i i ) 表 2 または表 4 内のセンス鎖配列のうちのいずれかのヌクレオチド ( 5 ' 末端から 3 ' 末端 ) 1 ~ 1 7 または 1 ~ 1 8 の配列を含むセンス鎖とを含む。

【 0 1 7 5 】

表 2 または表 4 に列挙されている配列を含むセンス鎖を、表 2 または表 3 に列挙されている配列を含む任意のアンチセンス鎖とハイブリダイズさせることができるが、ただし、2 つの配列が、連続した 1 6、1 7、1 8、1 9、2 0、または 2 1 個のヌクレオチドの

50

配列にわたる少なくとも 85% の相補性の領域を有することを条件とする。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表 4 内の修飾された配列のうちのいずれかの修飾された配列からなるセンス鎖と、表 3 内の修飾された配列のうちのいずれかの修飾された配列からなるアンチセンス鎖とを有する。それぞれの配列の対合は、表 5 に示される二重鎖識別番号で例示されている。

#### 【0176】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかを含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかからなる。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかのセンス鎖およびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列を含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかのセンス鎖およびアンチセンス鎖のヌクレオチド配列、ならびに標的化基および / または連結基を含み、ここで、標的化基および / または連結基は、センス鎖またはアンチセンス鎖に共有結合により連結（すなわち、コンジュゲート）されている。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかの修飾されたヌクレオチド配列を有するセンス鎖およびアンチセンス鎖を含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、本明細書に提示される二重鎖識別番号のうちのいずれかによって表される二重鎖のうちのいずれかの修飾されたヌクレオチド配列を有するセンス鎖およびアンチセンス鎖、ならびに標的化基および / または連結基を含み、ここで、標的化基および / または連結基は、センス鎖またはアンチセンス鎖に共有結合により連結されている。

#### 【0177】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表 2 または表 5 のアンチセンス鎖 / センス鎖二重鎖のうちのいずれかのヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、標的化基をさらに含む。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表 2 または表 5 のアンチセンス鎖 / センス鎖二重鎖のうちのいずれかのヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、アシアロ糖タンパク質受容体リガンド標的化基をさらに含む。

#### 【0178】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表 2 または表 5 のアンチセンス鎖 / センス鎖二重鎖のうちのいずれかのヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、それぞれ表 6 において定義されている、(PAZ)、(NAG13)、(NAG13)s、(NAG18)、(NAG18)s、(NAG24)、(NAG24)s、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(NAG39)、(NAG39)s からなる群から選択される標的化基をさらに含む。一部の実施形態では、標的化基は、表 6 において定義される (NAG25) または (NAG25)s である。他の実施形態では、標的化基は、表 6 において定義される (NAG37) または (NAG37)s である。

#### 【0179】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表 5 の二重鎖のうちのいずれかのアンチセンス鎖および / またはセンス鎖ヌクレオチド配列のうちのいずれかの修飾されたヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含む。

## 【0180】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表5の二重鎖のうちのいずれかのアンチセンス鎖および/またはセンス鎖ヌクレオチド配列のうちのいずれかの修飾されたヌクレオチド配列を有するアンチセンス鎖およびセンス鎖を含み、アシアロ糖タンパク質受容体リガンド標的化基を含む。

## 【0181】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表2または表5の二重鎖のうちのいずれかを含む。ある特定の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、AD05126、AD05150、AD05183、AD05186、AD05193、AD05195、AD05196、AD05206、AD05209、AD05256、AD05374、AD05609、およびAD05692、またはそれらの塩からなる群から選択される二重鎖を含む。

10

## 【0182】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、表2または表5の二重鎖のうちのいずれかからなる。ある特定の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、AD05126、AD05150、AD05183、AD05186、AD05193、AD05195、AD05196、AD05206、AD05209、AD05256、AD05374、AD05609、およびAD05692、またはそれらの塩からなる群から選択される二重鎖からなる。

20

30

40

50

【表 5 - 1】

表5. 対応するセンス鎖およびアンチセンス鎖とともに、二重鎖識別番号によって識別される、ASGR1 RNAi剤の二重鎖。

二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子	二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子
AD04518	AM05757-AS	AM05756-SS	AD04854	AM06252-AS	AM06259-SS
AD04519	AM05761-AS	AM05760-SS	AD04855	AM06253-AS	AM06260-SS
AD04629	AM05919-AS	AM05923-SS	AD04856	AM06254-AS	AM06255-SS
AD04630	AM05920-AS	AM05924-SS	AD04964	AM05757-AS	AM06440-SS
AD04631	AM05921-AS	AM05924-SS	AD04965	AM06023-AS	AM06441-SS
AD04632	AM05921-AS	AM05925-SS	AD04966	AM06442-AS	AM06441-SS
AD04633	AM05921-AS	AM05926-SS	AD04967	AM06443-AS	AM06441-SS
AD04634	AM05757-AS	AM05925-SS	AD04968	AM06444-AS	AM06441-SS
AD04635	AM05922-AS	AM05924-SS	AD04969	AM06445-AS	AM06441-SS
AD04636	AM05927-AS	AM05928-SS	AD04970	AM06446-AS	AM06441-SS
AD04697	AM06016-AS	AM06018-SS	AD04971	AM06447-AS	AM06441-SS
AD04698	AM06017-AS	AM06019-SS	AD04972	AM06447-AS	AM06449-SS
AD04699	AM06020-AS	AM06022-SS	AD04973	AM06023-AS	AM06450-SS
AD04700	AM06021-AS	AM06022-SS	AD04974	AM06448-AS	AM06451-SS
AD04701	AM06023-AS	AM06024-SS	AD04975	AM06193-AS	AM06458-SS
AD04702	AM06023-AS	AM06025-SS	AD05046	AM06575-AS	AM06574-SS
AD04703	AM06026-AS	AM06028-SS	AD05047	AM06575-AS	AM06576-SS
AD04704	AM06027-AS	AM06028-SS	AD05048	AM06578-AS	AM06577-SS
AD04705	AM06029-AS	AM06031-SS	AD05049	AM06579-AS	AM06577-SS
AD04706	AM06030-AS	AM06032-SS	AD05050	AM06581-AS	AM06580-SS
AD04707	AM06033-AS	AM06034-SS	AD05051	AM06582-AS	AM06580-SS
AD04791	AM06172-AS	AM06173-SS	AD05052	AM06584-AS	AM06583-SS
AD04792	AM06033-AS	AM06174-SS	AD05053	AM06581-AS	AM06585-SS
AD04793	AM06175-AS	AM06177-SS	AD05054	AM06586-AS	AM06583-SS
AD04794	AM06176-AS	AM06178-SS	AD05065	AM06598-AS	AM06597-SS
AD04795	AM06179-AS	AM06181-SS	AD05066	AM06599-AS	AM06597-SS
AD04796	AM06180-AS	AM06182-SS	AD05067	AM06601-AS	AM06600-SS
AD04797	AM06183-AS	AM06184-SS	AD05089	AM06639-AS	AM06597-SS
AD04798	AM06185-AS	AM06187-SS	AD05090	AM06641-AS	AM06640-SS
AD04799	AM06186-AS	AM06188-SS	AD05092	AM06643-AS	AM06597-SS
AD04800	AM06189-AS	AM06190-SS	AD05093	AM06645-AS	AM06644-SS
AD04801	AM06192-AS	AM05925-SS	AD05094	AM06647-AS	AM06646-SS
AD04802	AM06193-AS	AM06194-SS	AD05095	AM06649-AS	AM06648-SS
AD04810	AM06200-AS	AM06194-SS	AD05096	AM06651-AS	AM06650-SS
AD04811	AM06201-AS	AM06194-SS	AD05097	AM06653-AS	AM06652-SS
AD04847	AM06017-AS	AM06255-SS	AD05098	AM06655-AS	AM06654-SS
AD04848	AM06248-AS	AM06255-SS	AD05099	AM06657-AS	AM06656-SS
AD04849	AM06249-AS	AM06255-SS	AD05100	AM06659-AS	AM06658-SS
AD04850	AM06250-AS	AM06256-SS	AD05101	AM06661-AS	AM06660-SS
AD04851	AM06251-AS	AM06256-SS	AD05102	AM06663-AS	AM06662-SS
AD04852	AM06016-AS	AM06257-SS	AD05103	AM06665-AS	AM06664-SS
AD04853	AM06252-AS	AM06258-SS	AD05104	AM06667-AS	AM06666-SS

10

20

30

40

50

【表 5 - 2】

二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子	二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子
AD05105	AM06669-AS	AM06668-SS	AD05207	AM06840-AS	AM06839-SS
AD05106	AM06671-AS	AM06670-SS	AD05208	AM06842-AS	AM06841-SS
AD05107	AM06673-AS	AM06672-SS	AD05209	AM06851-AS	AM06600-SS
AD05108	AM06675-AS	AM06674-SS	AD05210	AM06853-AS	AM06852-SS
AD05109	AM06677-AS	AM06676-SS	AD05211	AM06855-AS	AM06854-SS
AD05110	AM06679-AS	AM06678-SS	AD05212	AM06857-AS	AM06856-SS
AD05111	AM06681-AS	AM06680-SS	AD05213	AM06859-AS	AM06858-SS
AD05112	AM06683-AS	AM06682-SS	AD05214	AM06861-AS	AM06860-SS
AD05113	AM06685-AS	AM06684-SS	AD05240	AM06601-AS	AM06909-SS
AD05114	AM06687-AS	AM06686-SS	AD05241	AM06799-AS	AM06909-SS
AD05115	AM06689-AS	AM06688-SS	AD05242	AM06911-AS	AM06910-SS
AD05122	AM06703-AS	AM06702-SS	AD05243	AM06796-AS	AM06912-SS
AD05123	AM06705-AS	AM06704-SS	AD05244	AM06914-AS	AM06913-SS
AD05124	AM05921-AS	AM06706-SS	AD05245	AM06916-AS	AM06915-SS
AD05125	AM06708-AS	AM06707-SS	AD05246	AM06918-AS	AM06917-SS
AD05126	AM06710-AS	AM06709-SS	AD05247	AM06920-AS	AM06919-SS
AD05150	AM06710-AS	AM06754-SS	AD05248	AM06918-AS	AM06921-SS
AD05151	AM06756-AS	AM06755-SS	AD05256	AM06601-AS	AM06930-SS
AD05180	AM06796-AS	AM06795-SS	AD05257	AM06601-AS	AM06931-SS
AD05181	AM06798-AS	AM06797-SS	AD05261	AM06916-AS	AM06818-SS
AD05182	AM06799-AS	AM06600-SS	AD05262	AM06916-AS	AM06935-SS
AD05183	AM06601-AS	AM06802-SS	AD05263	AM06916-AS	AM06936-SS
AD05184	AM06601-AS	AM06803-SS	AD05264	AM06916-AS	AM06937-SS
AD05185	AM06601-AS	AM06804-SS	AD05265	AM06916-AS	AM06938-SS
AD05186	AM06601-AS	AM06805-SS	AD05266	AM06916-AS	AM06939-SS
AD05187	AM06806-AS	AM06804-SS	AD05267	AM06916-AS	AM06940-SS
AD05188	AM06808-AS	AM06807-SS	AD05268	AM06916-AS	AM06941-SS
AD05189	AM06810-AS	AM06809-SS	AD05352	AM07073-AS	AM07072-SS
AD05190	AM06810-AS	AM06811-SS	AD05353	AM07075-AS	AM07074-SS
AD05191	AM06810-AS	AM06812-SS	AD05354	AM07077-AS	AM07076-SS
AD05192	AM06810-AS	AM06813-SS	AD05355	AM07079-AS	AM07078-SS
AD05193	AM06815-AS	AM06814-SS	AD05356	AM07079-AS	AM07080-SS
AD05194	AM06815-AS	AM06816-SS	AD05357	AM07079-AS	AM07081-SS
AD05195	AM06815-AS	AM06817-SS	AD05358	AM07083-AS	AM07082-SS
AD05196	AM06815-AS	AM06818-SS	AD05359	AM07085-AS	AM07084-SS
AD05197	AM06820-AS	AM06819-SS	AD05360	AM07085-AS	AM07086-SS
AD05198	AM06822-AS	AM06821-SS	AD05361	AM07088-AS	AM07087-SS
AD05199	AM06824-AS	AM06823-SS	AD05362	AM07090-AS	AM07089-SS
AD05200	AM06826-AS	AM06825-SS	AD05363	AM07092-AS	AM07091-SS
AD05201	AM06828-AS	AM06827-SS	AD05364	AM07092-AS	AM07093-SS
AD05202	AM06830-AS	AM06829-SS	AD05365	AM07092-AS	AM07094-SS
AD05203	AM06832-AS	AM06831-SS	AD05366	AM07096-AS	AM07095-SS
AD05204	AM06834-AS	AM06833-SS	AD05367	AM07098-AS	AM07097-SS
AD05205	AM06836-AS	AM06835-SS	AD05373	AM06601-AS	AM07109-SS
AD05206	AM06838-AS	AM06837-SS	AD05374	AM06601-AS	AM07110-SS

10

20

30

40

【表 5 - 3】

二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子	二重鎖識別子	アンチセンス鎖識別子	センス鎖識別子
AD05375	AM06851-AS	AM06930-SS	AD05640	AM06815-AS	AM07444-SS
AD05376	AM06851-AS	AM06802-SS	AD05641	AM06815-AS	AM07445-SS
AD05377	AM06851-AS	AM07109-SS	AD05642	AM06815-AS	AM07446-SS
AD05378	AM06851-AS	AM06805-SS	AD05643	AM06815-AS	AM07447-SS
AD05379	AM06851-AS	AM07110-SS	AD05644	AM06815-AS	AM07448-SS
AD05380	AM06806-AS	AM06802-SS	AD05645	AM07449-AS	AM07211-SS
AD05460	AM07209-AS	AM06676-SS	AD05646	AM06815-AS	AM07450-SS
AD05461	AM07210-AS	AM06818-SS	AD05647	AM07210-AS	AM07450-SS
AD05462	AM07210-AS	AM07211-SS	AD05648	AM06601-AS	AM07451-SS
AD05463	AM07210-AS	AM07212-SS	AD05649	AM06851-AS	AM07451-SS
AD05464	AM07213-AS	AM06818-SS	AD05650	AM06601-AS	AM07452-SS
AD05465	AM07214-AS	AM06818-SS	AD05651	AM06851-AS	AM07452-SS
AD05466	AM07210-AS	AM06814-SS	AD05674	AM07487-AS	AM06802-SS
AD05467	AM07210-AS	AM06941-SS	AD05675	AM07488-AS	AM06600-SS
AD05468	AM07213-AS	AM06814-SS	AD05676	AM07487-AS	AM07110-SS
AD05469	AM07214-AS	AM06814-SS	AD05677	AM07489-AS	AM06818-SS
AD05470	AM07216-AS	AM07215-SS	AD05678	AM07489-AS	AM06814-SS
AD05603	AM06815-AS	AM07212-SS	AD05679	AM07490-AS	AM07211-SS
AD05604	AM06815-AS	AM07211-SS	AD05680	AM07492-AS	AM07491-SS
AD05605	AM07210-AS	AM07388-SS	AD05682	AM07210-AS	AM07494-SS
AD05606	AM07390-AS	AM07389-SS	AD05692	AM07501-AS	AM07500-SS
AD05607	AM07392-AS	AM07391-SS	AD05740	AM07576-AS	AM06600-SS
AD05608	AM07394-AS	AM07393-SS	AD05741	AM07577-AS	AM06600-SS
AD05609	AM07396-AS	AM07395-SS	AD05742	AM07576-AS	AM06802-SS
AD05610	AM07398-AS	AM07397-SS			
AD05624	AM06815-AS	AM07414-SS			

10

20

## 【0183】

30

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、塩、混合塩、または遊離酸として調製または提供される。本明細書に記載される RNAi 剤は、ASGR1 遺伝子を発現する細胞に送達されると、*in vivo* において 1 つまたは複数の ASGR1 遺伝子の発現を阻害またはノックダウンする。

## 【0184】

## 標的化基、連結基、および送達ビヒクル

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、標的化基、連結基、送達ポリマー、または送達ビヒクルを含むがこれらに限定されない、1 つまたは複数の非ヌクレオチド基にコンジュゲートされている。非ヌクレオチド基は、RNAi 剤の標的化、送達、または結合を増強することができる。標的化基および連結基の例は、表 6 に提供される。非ヌクレオチド基は、センス鎖および / またはアンチセンス鎖のいずれかの 3' 末端および / または 5' 末端に、共有結合により連結され得る。一部の実施形態では、ASGR1 RNAi 剤は、センス鎖の 3' 末端および / または 5' 末端に連結された非ヌクレオチド基を含む。一部の実施形態では、非ヌクレオチド基は、ASGR1 RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端に連結されている。非ヌクレオチド基は、RNAi 剤に直接的に連結されてもよく、またはリンカー / 連結基を介して間接的に連結されてもよい。一部の実施形態では、非ヌクレオチド基は、不安定性、切断可能、または可逆性の結合またはリンカーを介して、RNAi 剤に連結される。

40

## 【0185】

一部の実施形態では、非ヌクレオチド基は、それが結合している RNAi 剤またはコン

50



ジュゲートの薬物動態または生体分布特性を増強して、RNAi 剤またはコンジュゲートの細胞または組織特異的分布および細胞特異的取り込みを改善する。一部の実施形態では、非ヌクレオチド基は、RNAi 剤のエンドサイトーシスを増強する。

【0186】

標的化基または標的化部分は、それらが結合したコンジュゲートまたはRNAi 剤の薬物動態または生体分布特性を増強して、コンジュゲートまたはRNAi 剤の細胞特異的（一部の場合には、器官特異的を含む）生体分布および細胞特異的（または器官特異的）取り込みを改善する。標的化基は、それが指向される標的に対して、一価、二価、三価、四価であってもよく、またはそれを上回る価数を有してもよい。代表的な標的化基としては、細胞表面分子に対する親和性を有する化合物、細胞表面分子に対する親和性を有する細胞受容体リガンド、ハプテン、抗体、モノクローナル抗体、抗体断片、ならびに抗体模倣体が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、標的化基は、リンカー、たとえば、PEG リンカー、または一部の場合にはリンカーとしての機能を果たし得る1、2、もしくは3つの脱塩基および/もしくはリビトール（脱塩基リボース）残基を使用して、RNAi 剤に連結されている。一部の実施形態では、標的化基は、ガラクトース誘導体クラスターを含む。

10

【0187】

本明細書に記載されるASGR1 RNAi 剤は、5'末端および/または3'末端に反応性基、たとえば、アミノ基（本明細書においてアミンとも称される）を有するように合成することができる。反応性基は、後で、当該技術分野において典型的な方法を使用して、標的化基を結合するために使用され得る。

20

【0188】

一部の実施形態では、標的化基は、アシアロ糖タンパク質受容体リガンドを含む。本明細書において使用される場合、アシアロ糖タンパク質受容体リガンドは、アシアロ糖タンパク質受容体に対する親和性を有する化合物を含むリガンドである。本明細書に示されるように、アシアロ糖タンパク質受容体は、肝細胞に高度に発現される。一部の実施形態では、アシアロ糖タンパク質受容体リガンドは、1つまたは複数のガラクトース誘導体を含むかまたはそれからなる。本明細書において使用される場合、ガラクトース誘導体という用語は、ガラクトース、およびガラクトースのものと同等であるかもしくはそれよりも高いアシアロ糖タンパク質受容体に対する親和性を有するガラクトースの誘導体の両方を含む。ガラクトース誘導体としては、ガラクトース、ガラクトサミン、N - ホルミルガラクトサミン、N - アセチル - ガラクトサミン、N - プロピオニル - ガラクトサミン、N - n - ブタノイル - ガラクトサミン、およびN - イソ - ブタノイルガラクトース - アミンが挙げられるが、これらに限定されない（たとえば、S.T. lobst and K. Drickamer, J.B.C., 1996, 271, 6686を参照されたい）。in vivoでのオリゴヌクレオチドおよび他の分子の肝臓への標的化に有用であるガラクトース誘導体およびガラクトース誘導体のクラスターは、当該技術分野において公知である（たとえば、Baenziger and Fietz, 1980, Cell, 22, 611-620; Connolly et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 939-945を参照されたい）。

30

【0189】

ガラクトース誘導体は、肝細胞の表面上に発現されるアシアロ糖タンパク質受容体への結合を通じて、in vivoにおいて分子を肝細胞へと標的化するために使用されている。アシアロ糖タンパク質受容体リガンドのアシアロ糖タンパク質受容体への結合により、肝細胞への細胞特異的標的化および分子の肝細胞内へのエンドサイトーシスが促進される。アシアロ糖タンパク質受容体リガンドは、モノマー（たとえば、単一のガラクトース誘導体を有する）であってもよく、または多量体（たとえば、複数のガラクトース誘導体を有する）であってもよい。ガラクトース誘導体またはガラクトース誘導体クラスターは、当該技術分野において公知の方法を使用して、RNAi 剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖の3'末端または5'末端に結合され得る。標的化基、たとえば、ガラクトース誘導体クラスターの調製は、たとえば、Arrowhead Pharmaceuticals,

40

50

Inc. に対する国際特許出願公開第WO2018/044350号、およびArrowhead Pharmaceuticals, Inc. に対する国際特許出願公開第WO2017/156012号に記載されており、これらの両方の内容は、参照によりその全体が本明細書に組み込まれる。

#### 【0190】

本明細書において使用される場合、ガラクトース誘導体クラスターは、2～4つの末端ガラクトース誘導体を有する分子を含む。末端ガラクトース誘導体は、そのC-1炭素を通じて分子に結合される。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体三量体（三分岐ガラクトース誘導体または三価ガラクトース誘導体とも称される）である。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、N-アセチル-ガラクトサミンを含む。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、3つのN-アセチル-ガラクトサミンを含む。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、ガラクトース誘導体四量体（四分岐ガラクトース誘導体または四価ガラクトース誘導体とも称される）である。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、4つのN-アセチル-ガラクトサミンを含む。

10

#### 【0191】

本明細書において使用される場合、ガラクトース誘導体三量体は、それぞれが中心の分岐点に連結された3つのガラクトース誘導体を含む。本明細書において使用される場合、ガラクトース誘導体四量体は、それぞれが中心の分岐点に連結された4つのガラクトース誘導体を含む。ガラクトース誘導体は、糖類のC-1炭素を通じて中心の分岐点に結合され得る。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体は、リンカーまたはスペーサーを介して分岐点に連結される。一部の実施形態では、リンカーまたはスペーサーは、可動性親水性スペーサー、たとえば、PEG基である（たとえば、米国特許第5,885,968号、Biessen et al. J. Med. Chem. 1995 Vol. 39 p. 1538-1546を参照されたい）。一部の実施形態では、PEGスペーサーは、PEG<sub>3</sub>スペーサーである。分岐点は、3つのガラクトース誘導体の結合を許容し、さらにRNAi剤への分岐点の結合を許容する、任意の小分子であり得る。分岐点基の例は、ジ-リシンまたはジ-グルタメートである。RNAi剤への分岐点の結合は、リンカーまたはスペーサーを通じて生じ得る。一部の実施形態では、リンカーまたはスペーサーは、可動性親水性スペーサー、たとえば、限定されないが、PEGスペーサーを含む。一部の実施形態では、リンカーは、剛性リンカー、たとえば、環式基を含む。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体は、N-アセチル-ガラクトサミンを含むかまたはそれからなる。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、たとえば、N-アセチル-ガラクトサミン四量体であり得るガラクトース誘導体四量体から構成される。

20

30

#### 【0192】

本開示の実施形態は、ASGR1 RNAi剤をin vivoにおいて肝臓細胞に送達するための医薬組成物を含む。そのような医薬組成物は、たとえば、ガラクトース誘導体クラスターにコンジュゲートされたASGR1 RNAi剤を含み得る。一部の実施形態では、ガラクトース誘導体クラスターは、たとえば、N-アセチル-ガラクトサミン三量体であり得るガラクトース誘導体三量体、またはたとえば、N-アセチル-ガラクトサミン四量体であり得るガラクトース誘導体四量体から構成される。

40

#### 【0193】

標的化基としては、表6において定義されている、(PAZ)、(NAG13)、(NAG13)s、(NAG18)、(NAG18)s、(NAG24)、(NAG24)s、(NAG25)、(NAG25)s、(NAG26)、(NAG26)s、(NAG27)、(NAG27)s、(NAG28)、(NAG28)s、(NAG29)、(NAG29)s、(NAG30)、(NAG30)s、(NAG31)、(NAG31)s、(NAG32)、(NAG32)s、(NAG33)、(NAG33)s、(NAG34)、(NAG34)s、(NAG35)、(NAG35)s、(NAG36)、(NAG36)s、(NAG37)、(NAG37)s、(NAG38)、(NAG38)s、(

50

N A G 3 9 )、および ( N A G 3 9 ) s が挙げられるが、これらに限定されない。ガラクトースクラスター標的化リガンドを含む、他の標的化基は、当該技術分野において公知である。

【 0 1 9 4 】

一部の実施形態では、連結基は、RNAi 剤にコンジュゲートされている。連結基は、薬剤の標的化基または送達ポリマーまたは送達ビヒクルへの共有結合による連結を促進する。連結基は、RNAi 剤のセンス鎖またはアンチセンス鎖の 3' 末端または 5' 末端に連結され得る。一部の実施形態では、連結基は、RNAi 剤のセンス鎖に連結されている。一部の実施形態では、連結基は、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端または 3' 末端にコンジュゲートされている。一部の実施形態では、連結基は、RNAi 剤のセンス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされている。連結基の例としては、反応性基、たとえば、一級アミンおよびアルキン、アルキル基、脱塩基ヌクレオチド、リビトール（脱塩基リボース）、ならびに / または P E G 基が挙げられるが、これらに限定されない。

10

【 0 1 9 5 】

リンカーまたは連結基は、1 つまたは複数の共有結合により、1 つの化学基（たとえば、RNAi 剤）または目的のセグメントを、別の化学基（たとえば、標的化基もしくは送達ポリマー）または目的のセグメントに連結する、2 つの原子間の接続である。不安定性連結は、不安定性結合を含む。連結は、必要に応じて、2 つの結合される原子間の距離を増加させるスペーサーを含んでもよい。スペーサーは、さらに、連結に可動性および / または長さを付加し得る。スペーサーとしては、アルキル基、アルケニル基、アルキニル基、アリール基、アラルキル基、アラルケニル基、およびアラルキニル基が挙げられるがこれらに限定されず、これらのそれぞれは、1 つまたは複数のヘテロ原子、複素環、アミノ酸、ヌクレオチド、および糖類を含み得る。スペーサー基は、当該技術分野において周知であり、前述の一覧は、説明の範囲を制限することを意味するものではない。

20

【 0 1 9 6 】

表 2、3、または 4 に列举されている A S G R 1 RNAi 剤のヌクレオチド配列のうちのいずれも、修飾されているか修飾されていないかにかかわらず、3' または 5' 標的化基または連結基を含み得る。3' または 5' 標的化基または連結基を含む、表 3 または 4 に列举されている A S G R 1 RNAi 剤の配列のうちのいずれも、代替として、3' または 5' 標的化基もしくは連結基を含まなくてもよく、または表 6 に示されているものを含むがこれらに限定されない異なる 3' もしくは 5' 標的化基もしくは連結基を含んでもよい。表 2 または表 5 に列举されている A S G R 1 RNAi 剤の二重鎖のいずれも、修飾されているかまたは修飾されていないかにかかわらず、表 6 に示されているものを含むがこれらに限定されない標的化基または連結基をさらに含んでもよく、標的化基または連結基は、A S G R 1 RNAi 剤の二重鎖のセンス鎖またはアンチセンス鎖のいずれかの 3' 末端または 5' 末端に結合されていてもよい。

30

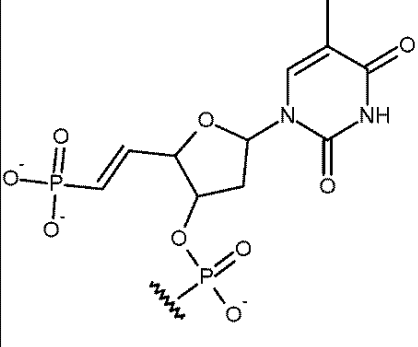
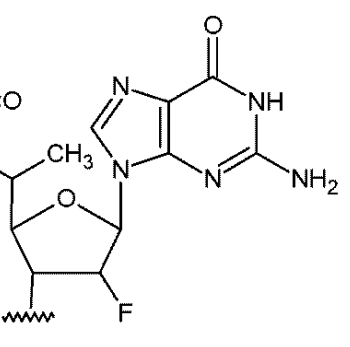
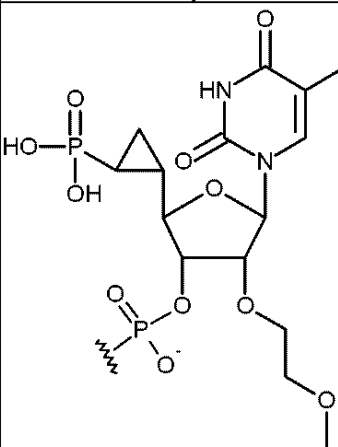
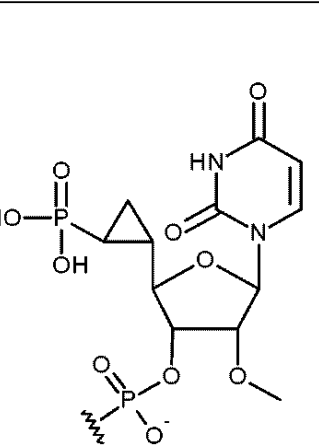
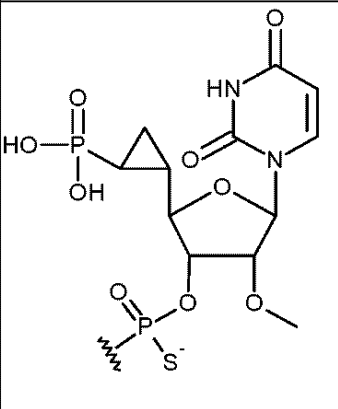
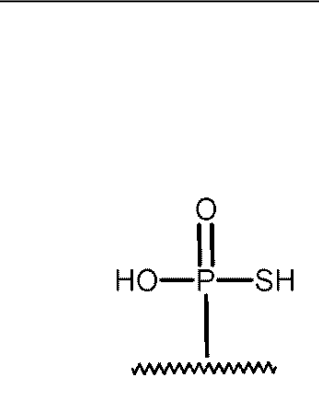
【 0 1 9 7 】

標的化基および連結基の例は、表 6 に提供される。表 4 は、5' 末端または 3' 末端に連結された標的化基または連結基を有する、A S G R 1 RNAi 剤のセンス鎖のいくつかの実施形態を提供する。

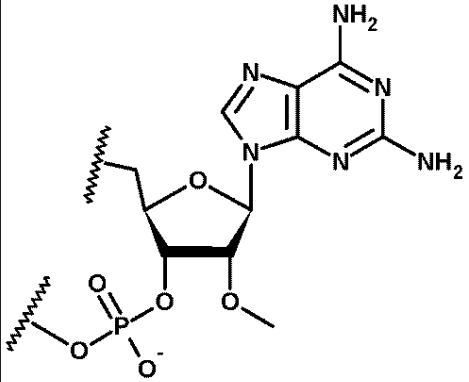
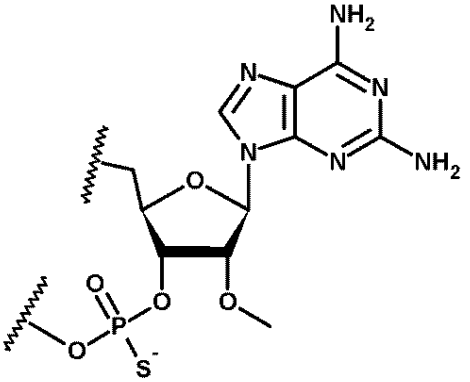
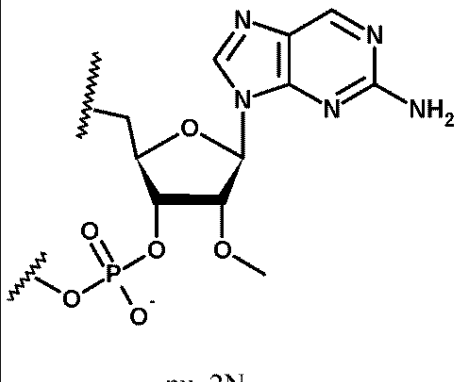
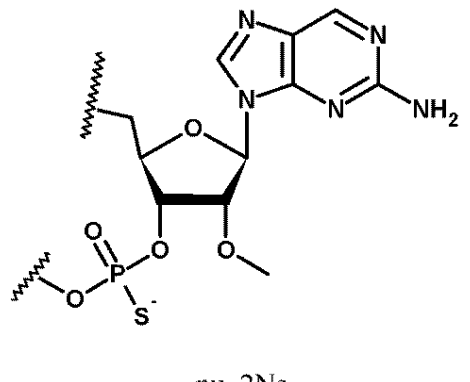
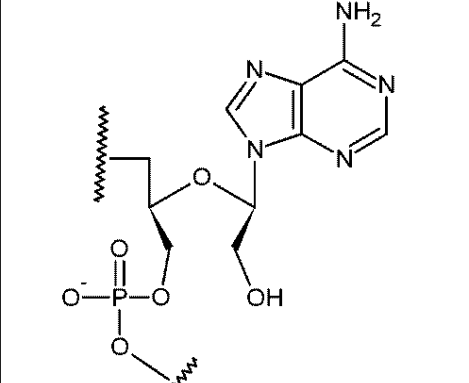
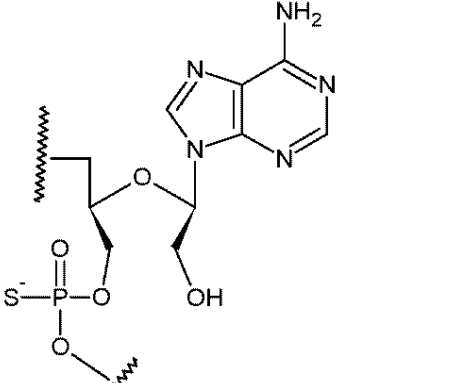
40

【表 6 - 1】

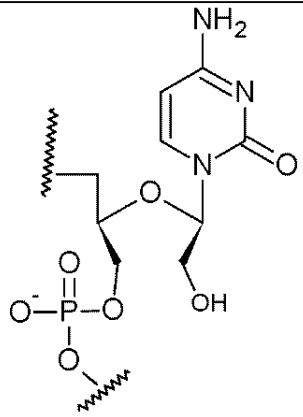
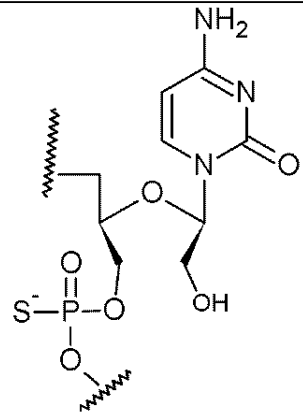
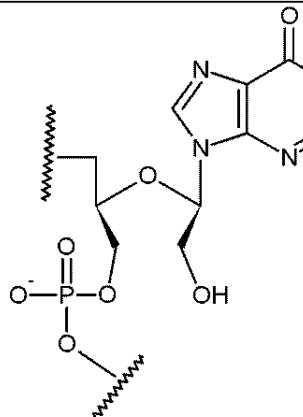
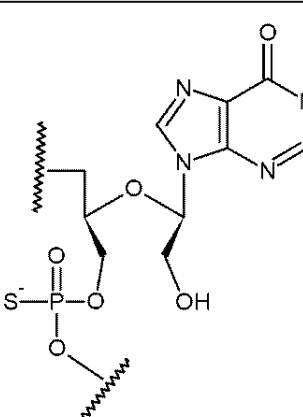
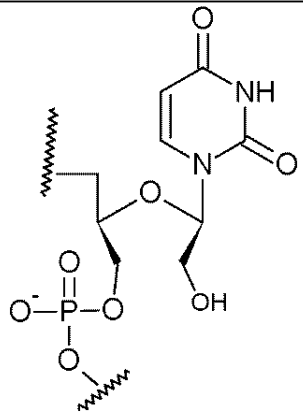
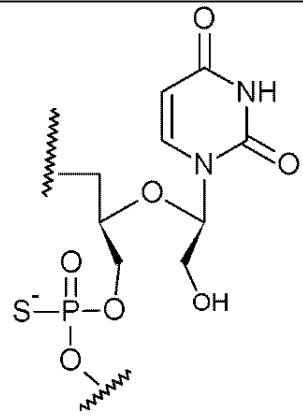
表6. 様々な修飾されたヌクレオチド、標的化基、および連結基を表す構造。

 <p>vpdT</p>	 <p>5Me-Gf</p>	10
 <p>cPrpTM</p>	 <p>cPrpu</p>	20
 <p>cPrpus</p>	 <p>sp</p>	30
		40

【表 6 - 2】

 <p>a<sub>2</sub>N</p>	 <p>a<sub>2</sub>Ns</p>	10
 <p>pu<sub>2</sub>N</p>	 <p>pu<sub>2</sub>Ns</p>	20
 <p>AUNA</p>	 <p>AUNAS</p>	40

【表 6 - 3】

 <p>CUNA</p>	 <p>CUNAS</p>
 <p>GUNA</p>	 <p>GUNAS</p>
 <p>UUNA</p>	 <p>UUNAS</p>

10

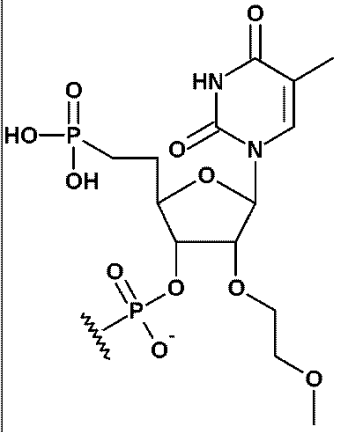
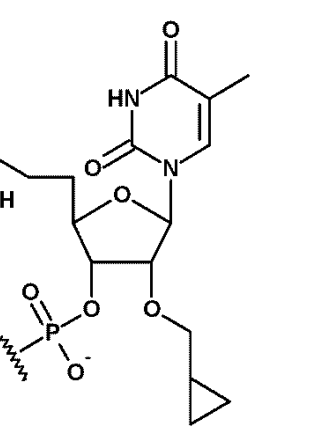
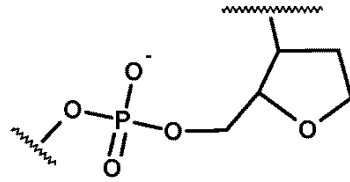
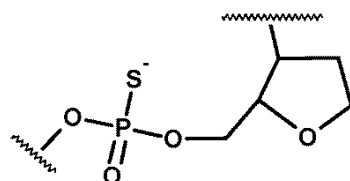
20

30

40

50

【表 6 - 4】

 <p>epTM</p>	 <p>epTcPr</p>
<p>オリゴヌクレオチドの内部に位置する場合:</p>  <p>オリゴヌクレオチドの 5' 末端への連結</p> <p>オリゴヌクレオチドの 3' 末端への連結</p> <p>(invAb)</p>	
<p>オリゴヌクレオチドの内部に位置する場合:</p>  <p>オリゴヌクレオチドの 5' 末端への連結</p> <p>オリゴヌクレオチドの 3' 末端への連結</p> <p>(invAb)s</p>	

10

20

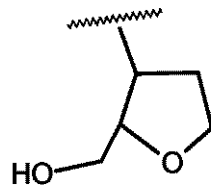
30

40

50

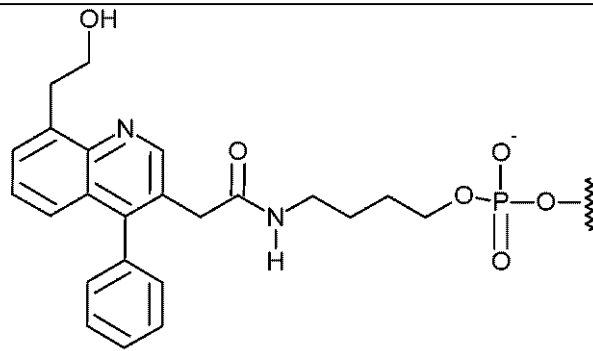
【表 6 - 5】

オリゴヌクレオチドの3'末端に位置する場合：

オリゴヌクレオチドの  
5'末端への連結

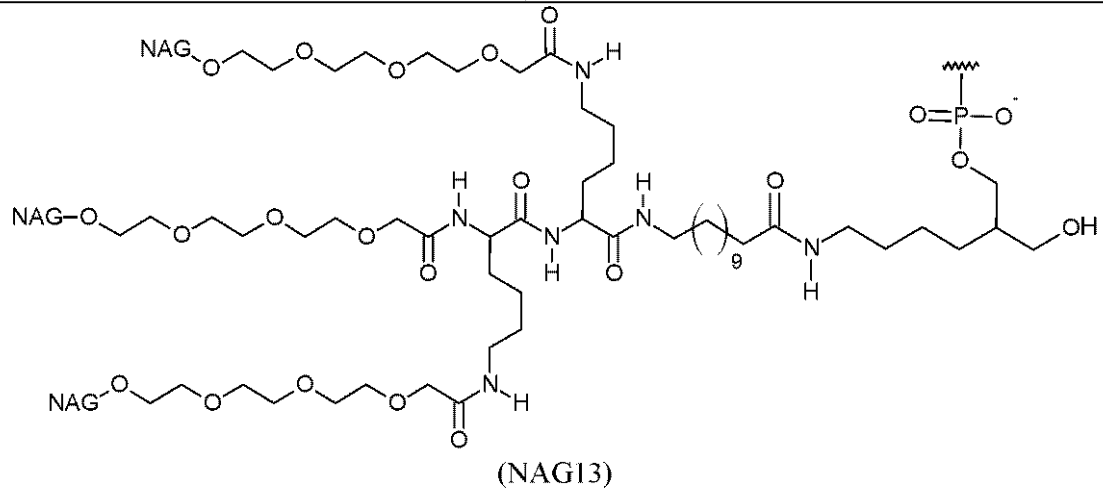
(invAb)

10



(PAZ)

20



(NAG13)

30

40

50



【表 6 - 6】

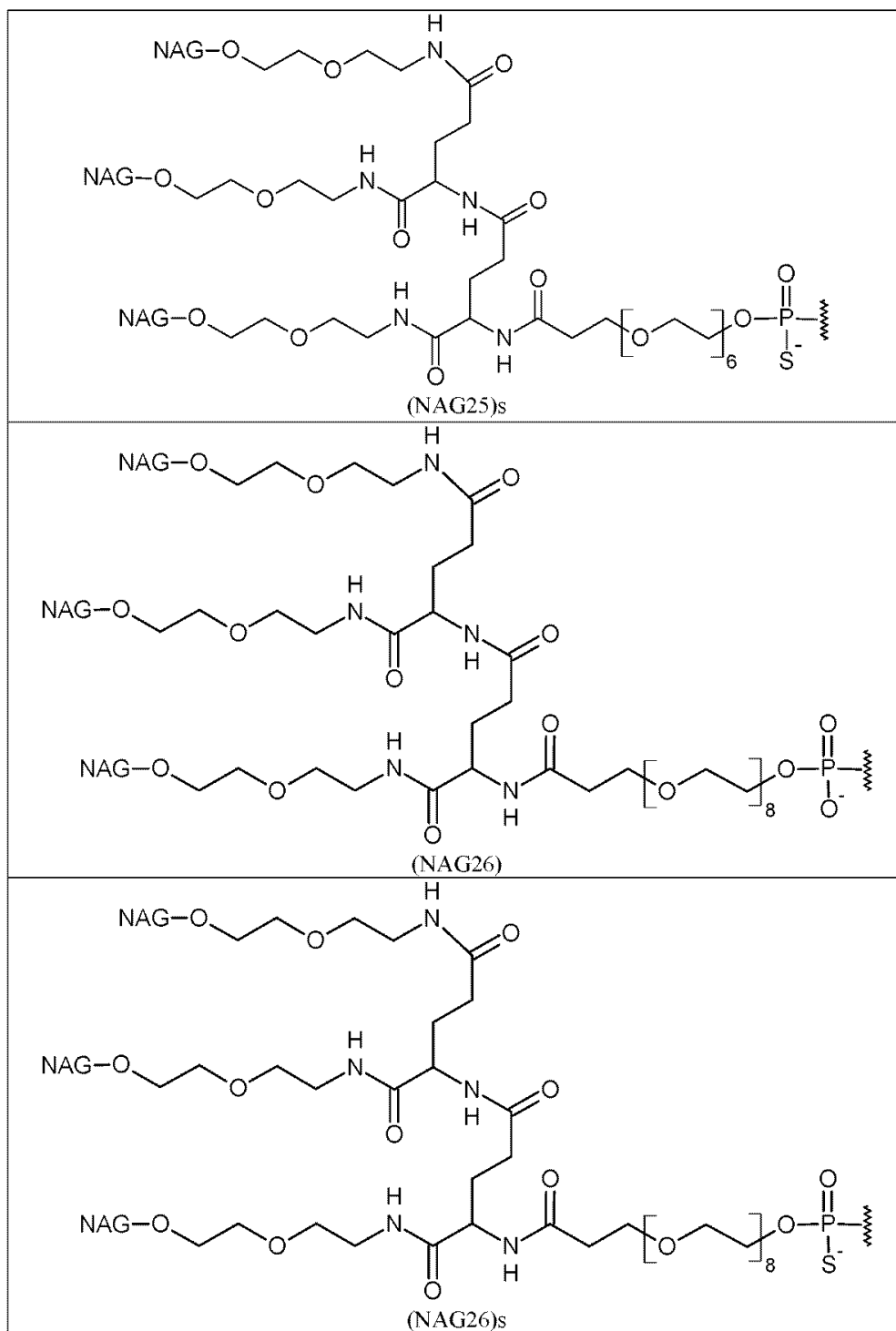


40

【表 6 - 7】

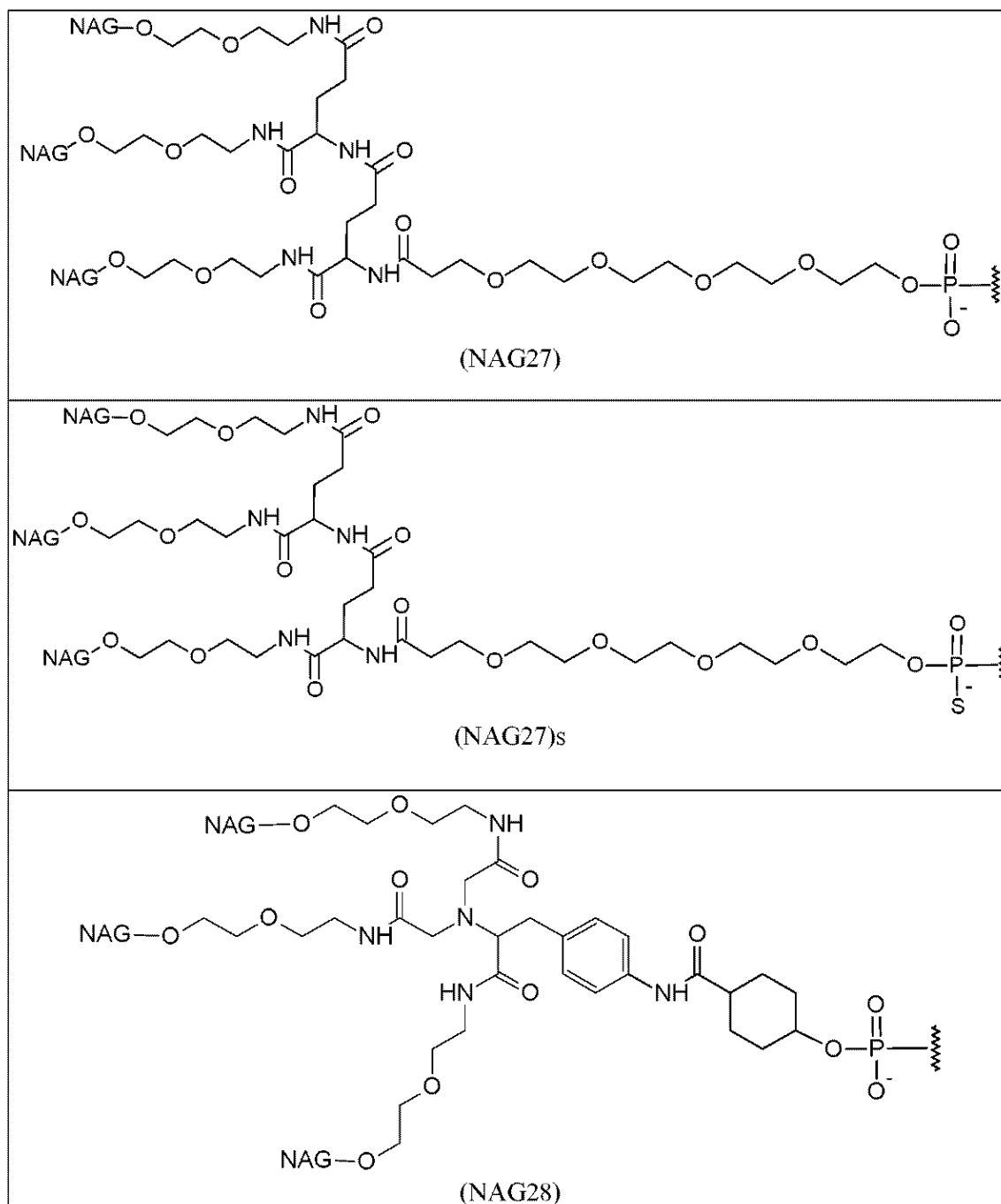
<p>Chemical structure of (NAG24): A central amide linkage connects a side chain with a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group to a main chain. The main chain consists of a CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(=O)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-O-P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub> group. The side chain also has a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group attached to the central nitrogen.</p>	10
<p>Chemical structure of (NAG24)<sub>s</sub>: Similar to (NAG24), but the phosphate group is a phosphorothioate, represented as -P(=O)(S<sup>-</sup>)(O<sup>-</sup>).</p>	20
<p>Chemical structure of (NAG25): A more complex structure featuring a central amide linkage. The side chain has a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group. The main chain includes a CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(=O)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-O-P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub> group. The side chain also has a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group attached to the central nitrogen.</p>	30
<p>Chemical structure of (NAG25): Similar to the previous structure, but the side chain has a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group. The main chain includes a CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>2</sub>-C(=O)-NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-C(=O)-C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>-O-P(=O)(O<sup>-</sup>)<sub>2</sub> group. The side chain also has a NAG-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-NH- group attached to the central nitrogen.</p>	40

【表 6 - 8】



40

【表 6 - 9】



10

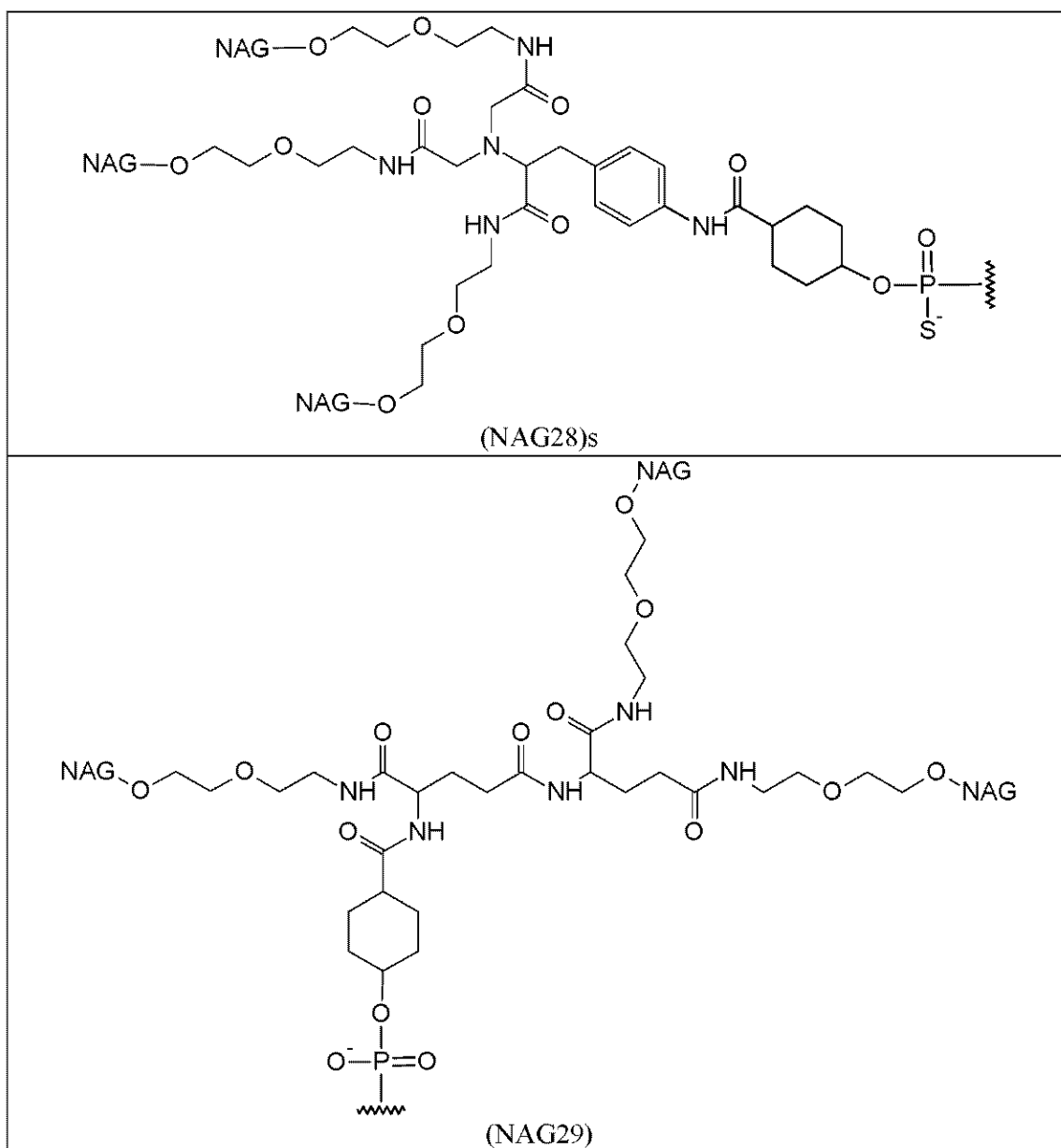
20

30

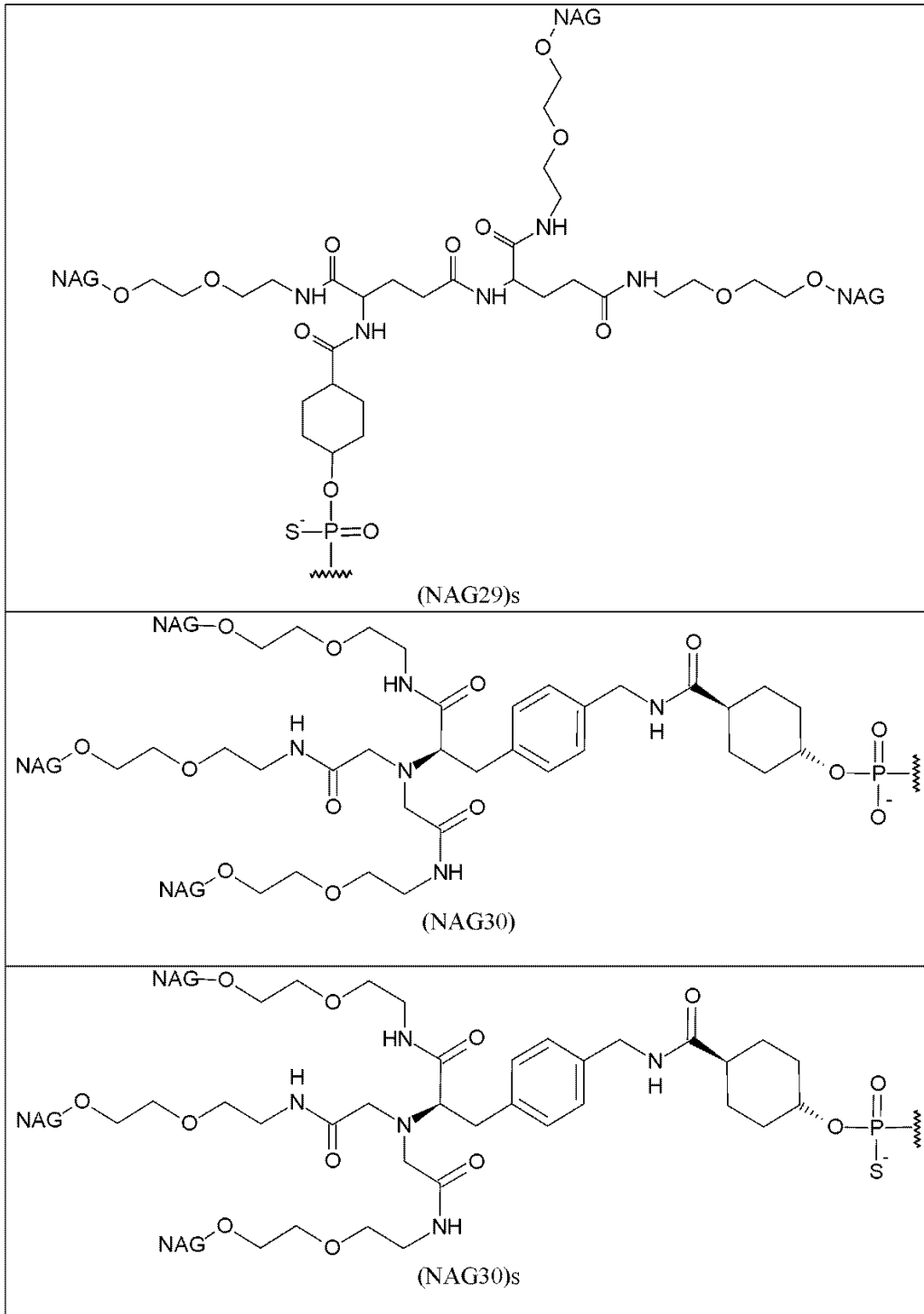
40

50

【表 6 - 1 0】



【表 6 - 1 1】



10

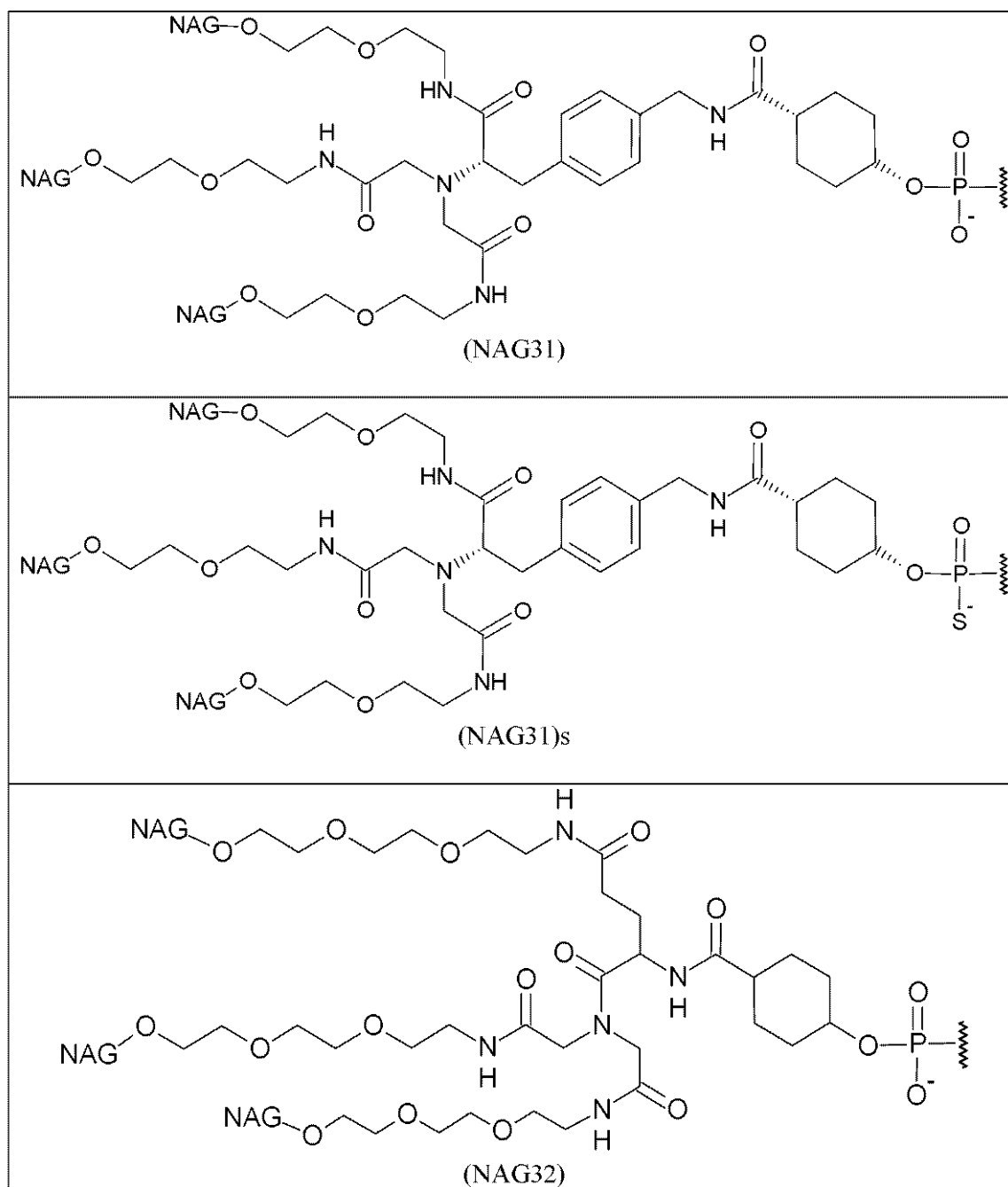
20

30

40

50

【表 6 - 1 2】



10

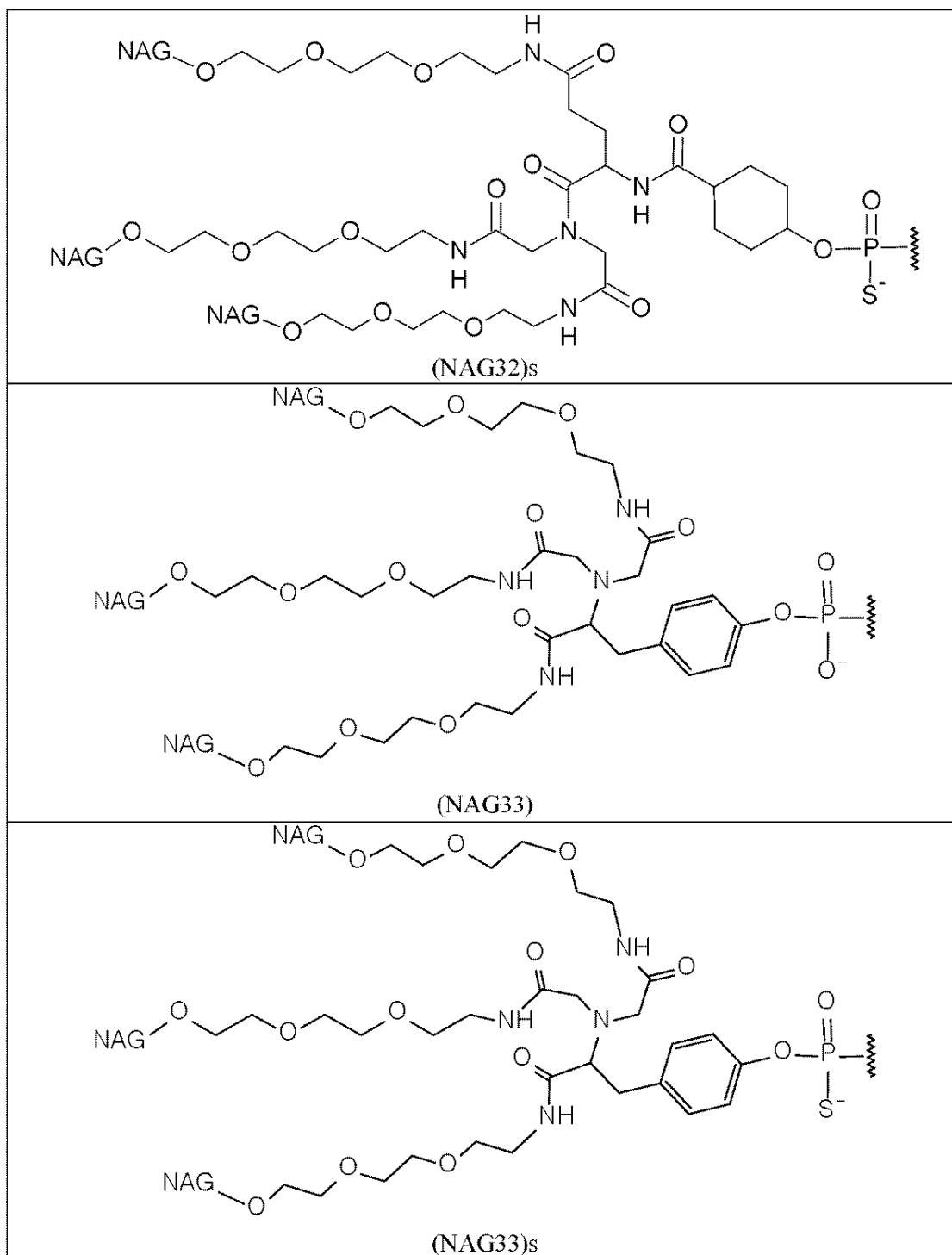
20

30

40

50

【表 6 - 1 3】



40

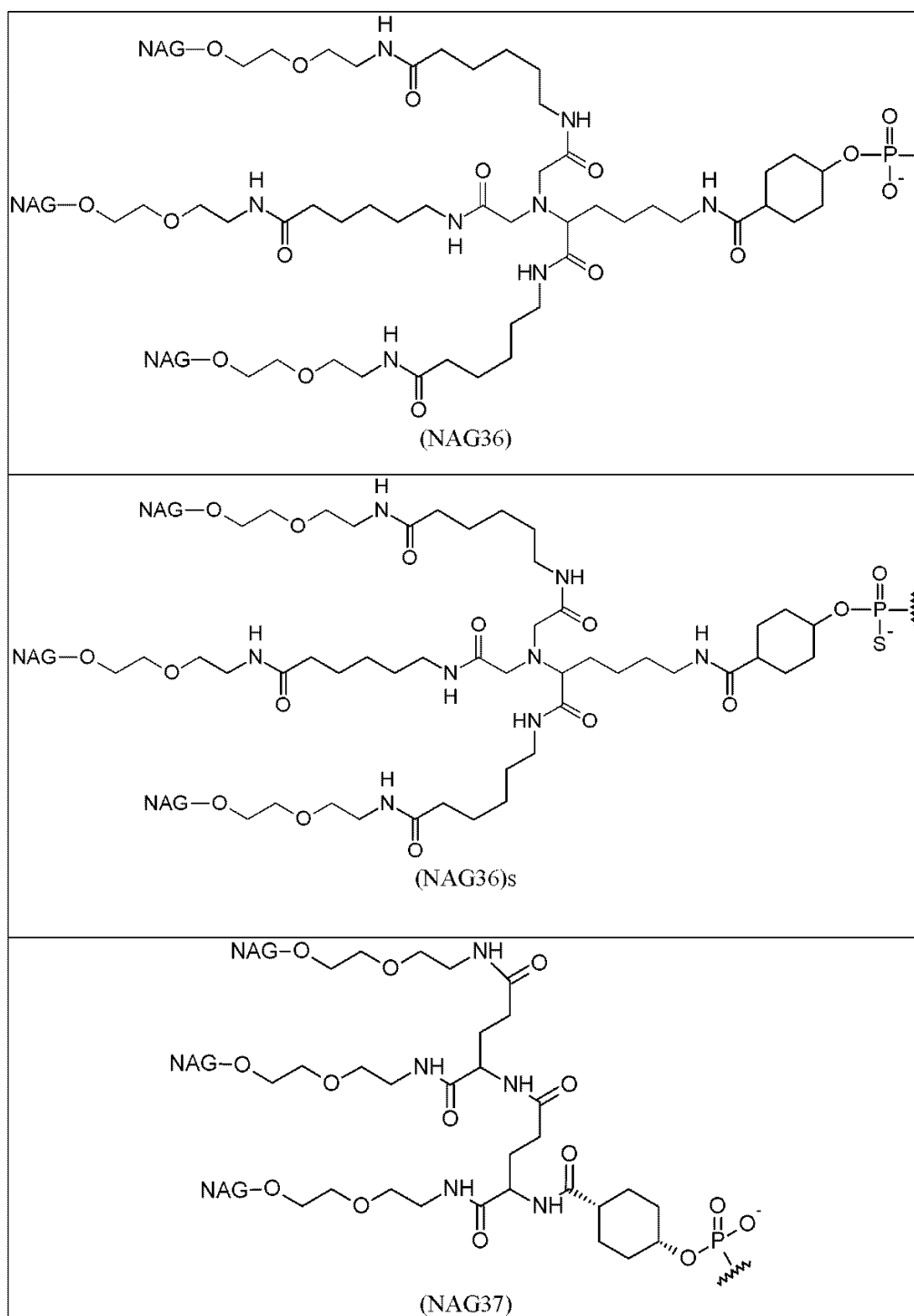
50



【表 6 - 1 4】



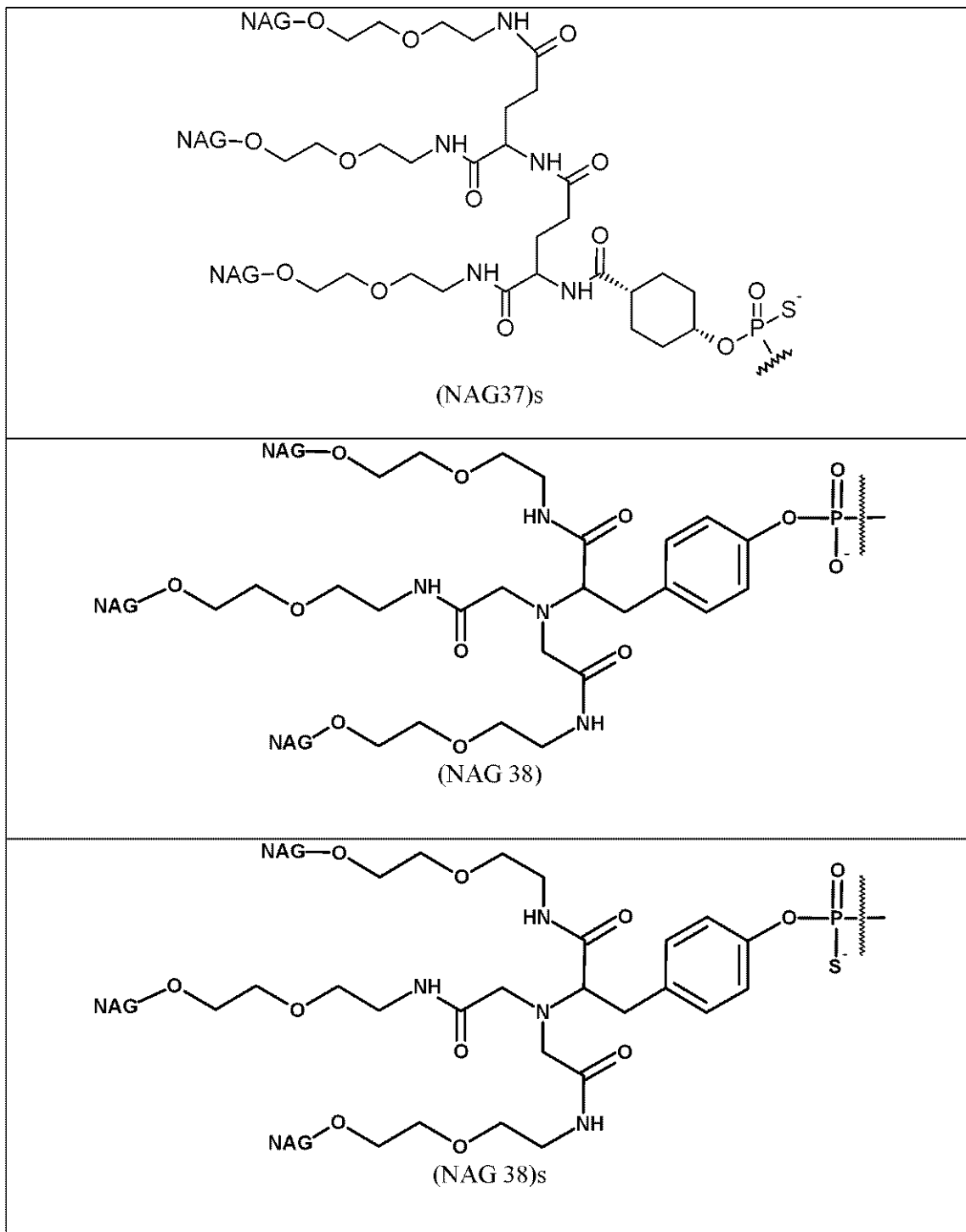
【表 6 - 15】



40

50

【表 6 - 1 6】



10

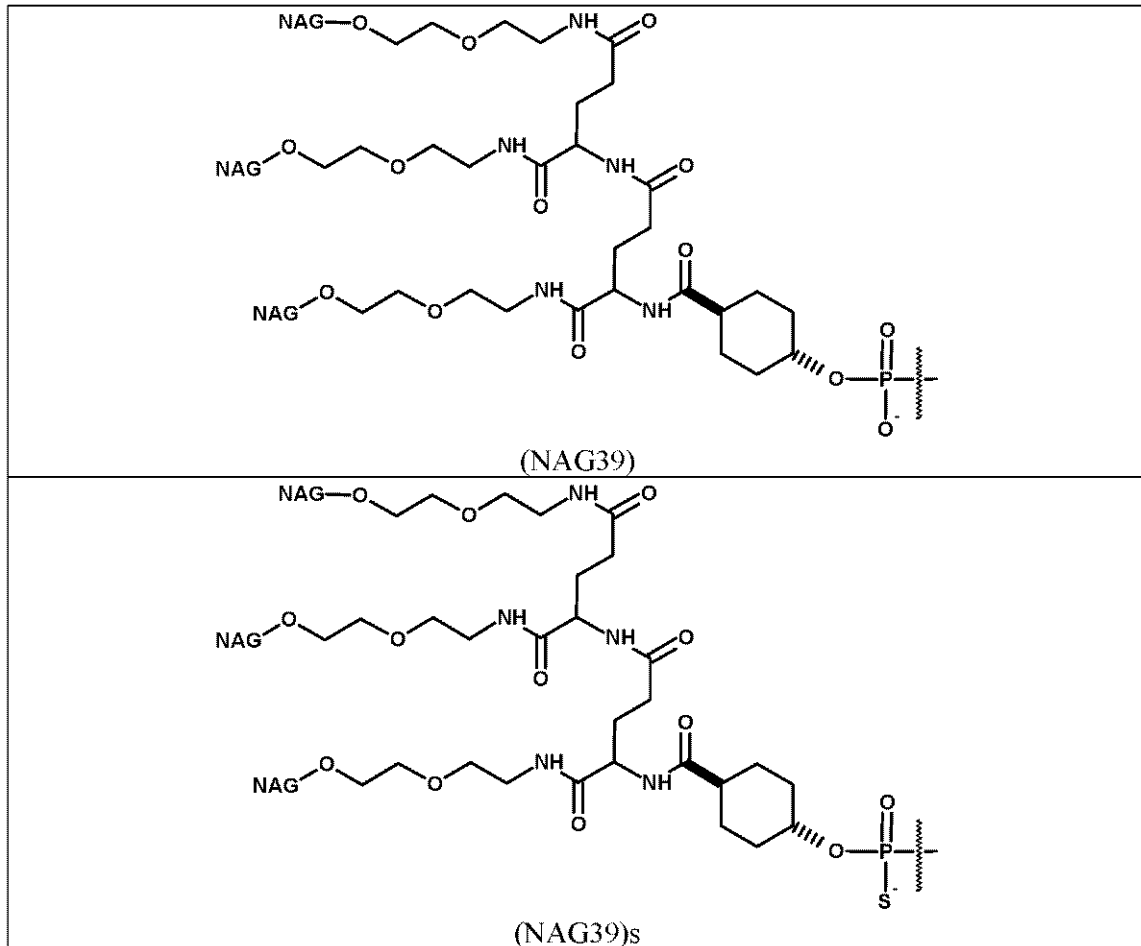
20

30

40

50

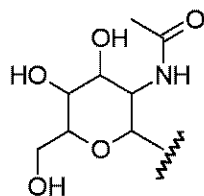
【表 6 - 17】



## 【0198】

表 6 内の上述の構造のそれぞれにおいて、NAGは、当業者には理解されるように、上述の構造および本明細書に提供される説明を踏まえて結合しようとするN - アセチル - ガラクトサミンまたは別のアシアロ糖タンパク質受容体リガンドを含む。たとえば、一部の実施形態では、表 6 に提供される構造におけるNAGは、以下の構造によって表される。

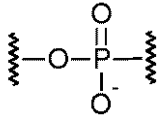
## 【化149】



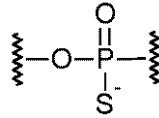
(N-アセチル-ガラクトサミン)

それぞれの(NAGx)は、リン酸基((NAG25)、(NAG30)、および(NAG31)にあるように)、またはホスホロチオエート基((NAG25)s、(NAG29)s、(NAG30)s、(NAG31)s、もしくは(NAG37)sであるように)、または別の連結基を介して、ASGR1 RNAi剤に結合され得る。

## 【化 1 5 0】



リン酸基



ホスホチオエート基

## 【 0 1 9 9】

当該技術分野において公知の他の連結基を使用してもよい。

## 【 0 2 0 0】

一部の実施形態では、送達ビヒクルは、RNA i 剤を細胞または組織に送達するために使用することができる。送達ビヒクルは、RNA i 剤の細胞または組織への送達を改善する化合物である。送達ビヒクルは、ポリマー、たとえば、両親媒性ポリマー、膜活性ポリマー、ペプチド、メリチンペプチド、メリチン様ペプチド (MLP)、脂質、可逆的に修飾されたポリマーもしくはペプチド、または可逆的に修飾された膜活性ポリアミンを含み得るか、またはこれらからなり得るが、これらに限定されない。

## 【 0 2 0 1】

一部の実施形態では、RNA i 剤は、脂質、ナノ粒子、ポリマー、リポソーム、ミセル、DPC、または当該技術分野において利用可能な他の送達系と組み合わせることができる。RNA i 剤はまた、標的化基、脂質 (コレステロールおよびコレステリル誘導体を含むがこれらに限定されない)、ナノ粒子、ポリマー、リポソーム、ミセル、DPC (たとえば、WO 2 0 0 0 / 0 5 3 7 2 2、WO 2 0 0 8 / 0 0 2 2 3 0 9、WO 2 0 1 1 / 1 0 4 1 6 9、および WO 2 0 1 2 / 0 8 3 1 8 5、WO 2 0 1 3 / 0 3 2 8 2 9、WO 2 0 1 3 / 1 5 8 1 4 1 を参照されたく、これらのそれぞれは、参照により本明細書に組み込まれる)、または当該技術分野において利用可能な他の送達系に、化学的にコンジュゲートされ得る。

## 【 0 2 0 2】

## 医薬組成物および製剤

本明細書に開示される ASGR1 RNA i 剤は、医薬組成物または製剤 (本明細書において、「医薬」とも称される) として調製することができる。一部の実施形態では、医薬組成物は、少なくとも 1 つの ASGR1 RNA i 剤を含む。これらの医薬組成物は、標的細胞、細胞の群、組織、または生物における標的 mRNA の発現の阻害に特に有用である。医薬組成物は、標的 mRNA のレベルの低減または標的遺伝子の発現の阻害により利益を得る疾患または障害を有する対象を処置するために使用することができる。医薬組成物は、標的 mRNA のレベルの低減または標的遺伝子の発現の阻害により利益を得る疾患または障害を発症する危険性にある対象を処置するために使用することができる。一実施形態では、本方法は、本明細書に記載されるように、標的化リガンドに連結された ASGR1 RNA i 剤を、処置しようとする対象に投与するステップを含む。一部の実施形態では、1 つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤 (ビヒクル、担体、希釈剤、および / または送達ポリマーを含む) が、ASGR1 RNA i 剤を含む医薬組成物に添加され、それによって、ヒトを含む対象への *in vivo* 送達に好適な医薬製剤が形成される。

## 【 0 2 0 3】

本明細書に開示される ASGR1 RNA i 剤を含む医薬組成物および方法は、対象に、治療有効量の ASGR1 RNA i 剤を投与し、それによって対象における ASGR1 mRNA の発現を阻害することによるものを含め、細胞、細胞の群、細胞の群、組織、または対象における標的 mRNA のレベルを減少させる。一部の実施形態では、対象は、標的とされる細胞または組織における標的遺伝子の病原的上方調節を有するとして以前に特定されている。

## 【 0 2 0 4】

一部の実施形態では、ASGR1 RNA i 剤を含む、記載される医薬組成物は、非 H

LDL - C レベルの上昇、および / または LDL - C レベルの上昇、および / または総コレステロールレベルの上昇、および / または TG レベルの上昇、および / または ASGR1 mRNA の過剰発現と関連する臨床症状を処置または管理するために使用される。一部の実施形態では、治療有効量または予防有効量の、医薬組成物のうちの 1 つまたは複数は、そのような処置、予防、または管理を必要とする対象に投与される。一部の実施形態では、開示される ASGR1 RNAi 剤のうちのいずれかの投与は、対象における疾患の症状の数、重症度、および / または頻度を減少させるために使用することができる。一部の実施形態では、対象は、コレステロールレベルの上昇、トリグリセリドレベルの上昇、および / または何らかの他の脂質異常症を有するとして、以前に特定または診断されている。

【0205】

ASGR1 RNAi 剤を含む、記載される医薬組成物は、ASGR1 mRNA の発現の低減または阻害により利益を得る疾患または障害を有する対象において少なくとも 1 つの症状を処置するために使用することができる。一部の実施形態では、対象には、治療有効量の、ASGR1 RNAi 剤を含む 1 つまたは複数の医薬組成物が投与され、それによって、症状が処置される。他の実施形態では、対象には、予防有効量の、1 つまたは複数の ASGR1 RNAi 剤が投与され、それによって、少なくとも 1 つの症状が予防される。

【0206】

投与の経路は、ASGR1 RNAi 剤が身体と接触する経路である。一般に、哺乳動物の処置のために、薬物、オリゴヌクレオチド、および核酸を投与する方法は、当該技術分野において周知であり、本明細書に記載される組成物の投与に適用することができる。本明細書に開示される ASGR1 RNAi 剤は、特定の経路のために適切に調整された調製物において、任意の好適な経路を介して投与することができる。したがって、本明細書に記載される医薬組成物は、たとえば、静脈内、筋肉内、皮内、皮下、関節内、または腹腔内の注射によって投与することができる。一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、皮下注射を介して投与される。

【0207】

本明細書に記載される ASGR1 RNAi 剤を含む医薬組成物は、当該技術分野において公知のオリゴヌクレオチド送達技術を使用して、細胞、細胞の群、組織、または対象に送達することができる。一般に、核酸分子を送達するため (in vitro または in vivo において) の当該技術分野において認識されている任意の好適な方法を、本明細書に記載される組成物での使用に適合することができる。たとえば、送達は、局所投与、(たとえば、直接的な注射、埋込み、もしくはは局部投与)、全身投与、または皮下、静脈内、腹腔内、もしくはは非経口の経路によるものであってよく、頭蓋内 (たとえば、脳室内、実質内、および髄腔内)、筋肉内、経皮、気道 (エアロゾル)、鼻内、経口、直腸、または局所 (頬内および舌下を含む) 投与が含まれる。ある特定の実施形態では、組成物は、皮下または静脈内の注入または注射によって投与される。

【0208】

したがって、一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、1 つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤を含み得る。一部の実施形態では、本明細書に記載される医薬組成物は、対象への投与のために製剤化され得る。

【0209】

本明細書において使用される場合、医薬組成物または医薬は、薬理学的有効量の、記載される ASGR1 RNAi 剤のうちの少なくとも 1 つと、1 つまたは複数の薬学的に許容される賦形剤とを含む。薬学的に許容される賦形剤 (賦形剤) は、薬物送達系に意図的に含まれる、活性医薬成分 (API、治療用製品、たとえば、ASGR1 RNAi 剤) 以外の物質である。賦形剤は、意図される投薬量で、治療作用を発揮しないか、または治療作用を発揮することは意図されない。賦形剤は、a) 製造中の薬物送達系の加工を補助する、b) API の安定性、バイオアベイラビリティ、もしくはは患者許容性を保護、補助、もしくはは強化する、c) 製品の識別を補助する、および / または d) 保管もしくはは使

10

20

30

40

50

用中のAPIの送達の全般的な安全性、有効性に関する任意の他の属性を強化するように、作用し得る。薬学的に許容される賦形剤は、不活性物質であってもよく、またはそうでなくてもよい。

#### 【0210】

賦形剤としては、吸収促進剤、接着防止剤、消泡剤、酸化防止剤、結合剤、緩衝剤、担体、コーティング剤、着色剤、送達促進剤、送達ポリマー、デキストラン、デキストロース、希釈剤、崩壊剤、乳化剤、増量剤、充填剤、香味剤、滑剤、保水剤、滑沢剤、油、ポリマー、保存剤、生理食塩水、塩、溶媒、糖、懸濁化剤、持続放出マトリックス、甘味剤、増粘剤、等張剤、ビヒクル、撥水剤、および湿潤剤が挙げられるが、これらに限定されない。

10

#### 【0211】

注射での使用に好適な医薬組成物には、滅菌水溶液（水溶性の場合）または分散液、および滅菌注射溶液または分散液の即時調製のための滅菌粉末が挙げられる。静脈内投与に関して、好適な担体としては、生理食塩水、静菌水、Cremophor（登録商標）ELTM（BASF、Parsippany, NJ）、またはリン酸緩衝食塩水（PBS）が挙げられる。それは、製造および保管の条件下において安定である必要があり、細菌および真菌などの微生物の混入作用から保護されなければならない。担体は、たとえば、水、エタノール、ポリオール（たとえば、グリセロール、プロピレングリコール、および液体ポリエチレングリコール）、およびそれらの好適な混合物を含有する、溶媒または分散媒であり得る。適切な流動性は、たとえば、レシチンなどのコーティングの使用によって、分散液の場合には、必要な粒子サイズの維持によって、および界面活性剤の使用によって、維持することができる。多くの事例では、組成物中に、等張剤、たとえば、糖、多価アルコール、たとえば、マンニトール、ソルビトール、および塩化ナトリウムを含めることが好ましい。注射用組成物の持続吸収は、吸収を遅延する薬剤、たとえば、モノステアリン酸アルミニウムおよびゼラチンを組成物中に含めることによって、もたらすことができる。

20

#### 【0212】

滅菌注射溶液は、必要に応じて、上述の成分のうちの1つまたは組合せとともに、活性化合物を、必要とされる量で、適切な溶媒中に組み込み、続いて濾過滅菌することによって、調製することができる。一般に、分散液は、活性化合物を、基礎分散培地および上述のもの以外の必要な他の成分を含む、滅菌ビヒクル中に組み込むことによって、調製される。滅菌注射溶液の調製のための滅菌粉末の事例において、調製の方法は、真空乾燥および凍結乾燥により、活性成分に任意の追加の所望される成分を加えた粉末を、それらの事前に滅菌濾過した溶液から得ることを含む。

30

#### 【0213】

関節内投与に好適な製剤は、微晶質形態、たとえば、水性微晶質懸濁液の形態であり得る薬物の滅菌水性調製物の形態であり得る。リポソーム製剤または生体分解性ポリマー系もまた、関節内および眼内投与の両方のための薬物を提示するために使用することができる。

#### 【0214】

インプラントおよびマイクロカプセル化送達系を含む、制御放出製剤など、化合物を身体からの急速な排除から保護する担体を用いて、活性化合物を調製することができる。生分解性生体適合性ポリマー、たとえば、エチレン酢酸ビニル、ポリ無水物、ポリグリコール酸、コラーゲン、ポリオルトエステル、およびポリ乳酸を使用することができる。そのような製剤を調製するための方法は、当業者には明らか。リポソーム懸濁液もまた、薬学的に許容される担体として使用することができる。これらは、たとえば、米国特許第4,522,811号に記載されているように、当業者に公知の方法に従って調製することができる。

40

#### 【0215】

ASGR1 RNAi剤は、投与の容易さおよび投薬量の均一性のために、投薬単位形

50

態で組成物に製剤化することができる。投薬単位形態とは、治療しようとする対象の単位投薬量として好適な物理的に別個の単位を指し、それぞれの単位は、必要とされる薬学的担体と関連して所望される治療作用をもたらすように計算された、所定の量の活性化合物を含有する。本開示の投薬単位形態の仕様は、活性化合物の固有の特徴および達成しようとする治療作用、ならびに個体の処置のためのそのような活性化合物の配合の技術分野に固有の制限によって決定され、それらに直接左右される。

#### 【0216】

医薬組成物は、医薬組成物において一般的に見出される他の追加の成分を含有してもよい。そのような追加の成分としては、鎮痒剤、収れん剤、局所麻酔薬、または抗炎症剤（たとえば、抗ヒスタミン剤、ジフェンヒドラミンなど）が挙げられるが、これらに限定されない。本明細書に定義されるRNAi剤を発現するかまたは含む、細胞、組織、または単離された器官を、「医薬組成物」として使用してもよいこともまた、想定される。本明細書において使用される場合、「薬理学的有効量」、「治療有効量」、または単に「有効量」とは、薬理学的、治療的、または予防的な結果をもたらすRNAi剤の量を指す。

#### 【0217】

一般に、活性化合物の有効量は、約0.1～約100mg/体重kg/日、たとえば、約1.0～約50mg/体重kg/日の範囲である。一部の実施形態では、活性化合物の有効量は、1用量当たり約0.25～約5mg/体重kgの範囲である。一部の実施形態では、活性成分の有効量は、1用量当たり約0.5～約4mg/体重kgの範囲である。投与される量はまた、患者の全般的な健康状態、送達される化合物の相対的な生物学的有効性、薬物の製剤、製剤中の賦形剤の存在および種類、ならびに投与経路などの変数にも依存する可能性が高い。また、投与される初回投薬量は、所望される血液レベルもしくは組織レベルを高速で達成するために、上限レベルを上回って増加させてもよく、または初回投薬量は、最適よりも低いものであってもよいことを理解されたい。

#### 【0218】

疾患の処置のため、または疾患の処置のための医薬もしくは組成物の形成のために、ASGR1 RNAi剤を含む本明細書に記載される医薬組成物は、賦形剤と組み合わせてもよく、または第2のもしくはその他のRNAi剤、小分子薬、抗体、抗体断片、ペプチド、および/もしくはアプタマーを含むがこれらに限定されない第2の治療剤もしくは処置と組み合わせてもよい。

#### 【0219】

記載されるASGR1 RNAi剤は、薬学的に許容される賦形剤またはアジュバントに添加されると、キット、容器、パック、またはディスペンサーにパッケージングすることができる。本明細書に記載される医薬組成物は、事前充填シリンジまたはバイアルにパッケージングすることができる。

#### 【0220】

#### 処置および発現の阻害の方法

本明細書に開示されるASGR1 RNAi剤は、化合物の投与により利益を得る疾患または障害を有する対象（たとえば、ヒトまたは他の哺乳動物）を処置するために使用することができる。一部の実施形態では、本明細書に開示されるRNAi剤は、ASGR1 mRNAの発現の低減または阻害により利益を得る疾患または障害を有する対象（たとえば、ヒト）を処置するために使用することができる。対象には、治療有効量の、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤のうちのいずれか1つまたは複数が投与される。対象は、ヒト、患者、またはヒト患者であり得る。対象は、成人、青年期、小児、または幼児であり得る。ASGR1 RNAi剤を含む記載される医薬組成物は、疾患の治療的処置のための方法を提供するために使用することができる。そのような方法には、本明細書に記載される医薬組成物のヒトまたは動物への投与が含まれる。

#### 【0221】

一部の実施形態では、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤は、ASGR1関連疾患または障害を有する対象を処置するために使用される。「ASGR1関連疾患また

10

20

30

40

50



は障害」は、A S G R 1 の発現レベルが改変されているか、またはA S G R 1 の発現レベルの上昇が、状態、疾患、もしくは障害を発症する危険性の増加と関連している、状態、疾患、または障害を指す。A S G R 1 関連疾患または障害としては、肥満、代謝症候群、高脂血症、高トリグリセリド血症、高コレステロール血症、脂質代謝異常および/またはコレステロール代謝異常、アテローム性動脈硬化症、糖尿病、心血管疾患、冠状動脈疾患、心筋梗塞、末梢血管疾患、脳血管疾患、ならびに他の代謝関連障害および疾患が挙げられるが、これらに限定されない。一部の実施形態では、記載されるA S G R 1 R N A i 剤は、A S G R 1 関連疾患または障害を有する対象において少なくとも1つの症状を処置するために使用される。対象には、治療有効量の、記載されるR N A i 剤のうちのいずれか1つまたは複数が投与される。一部の実施形態では、本発明は、A S G R 1 関連疾患または障害の処置をそれを必要とする患者において行うための医薬の調製のための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤の使用を提供する。他の実施形態では、本発明は、A S G R 1 関連疾患の処置をそれを必要とする患者において行うための方法において使用するための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤を提供する。

10

#### 【0222】

ある特定の実施形態では、本発明は、心筋梗塞の危険性の低減を、それを必要とする患者において行うための方法であって、患者に、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤のうちのいずれかを投与するステップを含む、方法を提供する。心筋梗塞を有する危険性にある患者は、心筋梗塞の病歴を有する（たとえば、以前に心筋梗塞を有したことがある）患者であり得る。心筋梗塞を有する危険性にある患者はまた、心筋梗塞の家族歴を有する患者であり得るか、または心筋梗塞の1つもしくは複数の危険性因子を有する患者であり得る。そのような危険性因子としては、高血圧、非H D L コレステロールのレベルの上昇、トリグリセリドのレベルの上昇、糖尿病、肥満、または自己免疫疾患（たとえば、リウマチ性関節炎、ループス）の病歴が挙げられるが、これらに限定されない。一実施形態では、心筋梗塞を有する危険性にある患者は、冠状動脈疾患を有するかまたはそう診断された患者である。これらおよび他の患者における心筋梗塞の危険性は、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤のうちのいずれかを患者に投与することによって、低減され得る。一部の実施形態では、本発明は、心筋梗塞の危険性の低減をそれを必要とする患者において行うための医薬の調製のための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤の使用を提供する。他の実施形態では、本発明は、心筋梗塞の危険性の低減をそれを必要とする患者において行うための方法において使用するための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤を提供する。

20

30

#### 【0223】

一部の実施形態では、本発明は、非H D L コレステロールの低減を、それを必要とする患者において行うための方法であって、患者に、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤のうちのいずれかを投与することによる、方法を提供する。非H D L コレステロールは、L D L コレステロール、超低密度リポタンパク質、中間密度リポタンパク質、リポタンパク質（a）、カイロミクロン、およびカイロミクロンレムナントを含む、すべてのコレステロール含有アテローム生成促進性リポタンパク質の尺度である。非H D L コレステロールは、心血管の危険性の良好な予測因子であることが報告されている（Rana et al., Curr. Atheroscler. Rep., Vol. 14: 130-134, 2012）。非H D L コレステロールレベルは、総コレステロールレベルから、H D L コレステロールレベルを差し引くことによって、計算することができる。一実施形態では、患者のL D L コレステロールレベルは、A S G R 1 R N A i 剤の投与後に、低減される。別の実施形態では、患者のリポタンパク質（a）レベルは、A S G R 1 R N A i 剤の投与後に、低減される。一部の実施形態では、本発明は、非H D L コレステロールの低減をそれを必要とする患者において行うための医薬の調製のための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤の使用を提供する。他の実施形態では、本発明は、非H D L コレステロールの低減をそれを必要とする患者において行うための方法において使用するための、本明細書に記載されるA S G R 1 R N A i 剤を提供する。

40

50

## 【 0 2 2 4 】

一部の実施形態では、本発明の方法に従って処置しようとする患者は、非HDLコレステロールのレベルの上昇（たとえば、非HDLコレステロールの血清レベルの上昇）を有する患者である。理想的には、非HDLコレステロールのレベルは、任意の所与の患者について、LDLコレステロールレベルの標的を約30mg/dL上回るべきである。特定の実施形態では、患者が、約130mg/dLまたはそれを上回る非HDLコレステロールレベルを有する場合、患者に、本発明のASGR1 RNAi剤が投与される。一実施形態では、患者が、約160mg/dLまたはそれを上回る非HDLコレステロールレベルを有する場合、患者に、本発明のASGR1 RNAi剤が投与される。別の実施形態では、患者が、約190mg/dLまたはそれを上回る非HDLコレステロールレベルを有する場合、患者に、本発明のASGR1 RNAi剤が投与される。なおも別の実施形態では、患者が、約220mg/dLまたはそれを上回る非HDLコレステロールレベルを有する場合、患者に、本発明のASGR1 RNAi剤が投与される。ある特定の実施形態では、患者が、2013年の心血管危険性の評価に関するACC/AHAガイドライン（2013 ACC/AHA Guideline on the Assessment of Cardiovascular Risk）（Goff et al., ACC/AHA guideline on the assessment of cardiovascular risk: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Circulation. 2013;00:000-000）に従って高いかもしくは非常に高い心血管疾患の危険性にあり、また約100mg/dLもしくはそれを上回る非HDLコレステロールレベルを有する場合、患者に、本発明のASGR1 RNAi剤が投与される。

10

20

## 【 0 2 2 5 】

本発明の方法の一部の実施形態では、患者が、2013年の心血管危険性の評価に関するACC/AHAガイドライン（本明細書において「2013年のガイドライン」と称される）に従って中等度またはそれよりも高い心血管疾患の危険性にある場合、患者に、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤が投与される。ある特定の実施形態では、本発明のASGR1 RNAi剤は、患者のLDLコレステロールレベルが約160mg/dLを上回る場合に、患者に投与される。他の実施形態では、本発明のASGR1 RNAi剤は、患者のLDLコレステロールレベルが約130mg/dLを上回り、患者が、2013年のガイドラインに従って中等度の心血管疾患の危険性を有する場合に、患者に投与される。なおも他の実施形態では、本発明のASGR1 RNAi剤は、患者のLDLコレステロールレベルが100mg/dLを上回り、患者が、2013年のガイドラインに従って高いかまたは非常に高い心血管疾患の危険性を有する場合に、患者に投与される。

30

## 【 0 2 2 6 】

一部の実施形態では、ASGR1 RNAi剤は、ASGR1関連疾患または障害を有する対象の臨床症状を処置または管理するために使用される。対象には、治療有効量の、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤またはASGR1 RNAi剤を含有する組成物のうちの1つまたは複数投与される。一部の実施形態では、本方法は、処置しようとする対象に、本明細書に記載されるASGR1 RNAi剤を含む組成物を投与するステップを含む。

40

## 【 0 2 2 7 】

一部の実施形態では、記載されるASGR1 RNAi剤が投与された対象におけるASGR1遺伝子の遺伝子発現レベルおよび/またはmRNAレベルは、ASGR1 RNAi剤が投与される前の対象またはASGR1 RNAi剤を受容していない対象と比べて、少なくとも約5%、10%、15%、20%、25%、30%、35%、40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、95%、96%、97%、98%、99%、または99%を上回って低減される。対象における遺伝子発現レベルおよび/またはmRNAレベルは、対象の細胞、細胞の群、および/または組織において低減され得る。一部の実施形態では、記載されるASGR1 RNAi剤が

50

投与された対象における A S G R 1 のタンパク質レベルは、A S G R 1 R N A i 剤が投与される前の対象または A S G R 1 R N A i 剤を受容していない対象と比べて、少なくとも約 5 %、10 %、15 %、20 %、25 %、30 %、35 %、40 %、45 %、50 %、55 %、60 %、65 %、70 %、75 %、80 %、85 %、90 %、95 %、96 %、97 %、98 %、99 %、または 99 % を上回って低減される。対象におけるタンパク質レベルは、対象の細胞、細胞の群、組織、血液、および/または他の体液において低減され得る。遺伝子発現、mRNA、またはタンパク質のレベルの低減は、当該技術分野において公知の任意の方法によって評価することができる。A S G R 1 mRNA レベルおよび/またはタンパク質レベルの低減または減少は、本明細書において、集合的に、A S G R 1 の低減もしくは減少、または A S G R 1 の発現の阻害もしくは低減と称される。

10

【0228】

細胞、組織、器官、および非ヒト生物

本明細書に記載される A S G R 1 R N A i 剤のうちの少なくとも 1 つを含む細胞、組織、器官、および非ヒト生物が、企図される。細胞、組織、器官、または非ヒト生物は、R N A i 剤を、細胞、組織、器官、または非ヒト生物に送達することによって作製される。

【0229】

上記に提供される実施形態および項目は、以下の非限定的な実施例とともにさらに例証される。

【実施例】

【0230】

20

(実施例 1)

A S G R 1 R N A i 剤の合成。

表 5 に (表 3 および 4 において特定される対応するセンス鎖およびアンチセンス鎖の配列とともに) 示されている A S G R 1 R N A i 剤の二重鎖を、以下に従って合成した。

【0231】

A . 合成。A S G R 1 R N A i 剤のセンス鎖およびアンチセンス鎖を、オリゴヌクレオチド合成において使用される固相におけるホスホラミダイト技術に従って合成した。規模に応じて、Mer Made 96 E (登録商標) (Bioautomation)、Mer Made 12 (登録商標) (Bioautomation)、または OP Pilot 100 (GE Healthcare) のいずれかを使用した。合成は、制御多孔質ガラス (CPG、500 または 600、Prime Synthesis、Aston、PA、USA から入手) から作製された固体支持体において行った。すべての RNA および 2' - 修飾 RNA ホスホラミダイトは、Thermo Fisher Scientific (Milwaukee, WI, USA) から購入した。2' - O - メチルホスホラミダイトには、以下が含まれた: (5' - O - ジメトキシトリチル - N<sup>6</sup> - (ベンゾイル) - 2' - O - メチル - アデノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピルアミノ) ホスホラミダイト、5' - O - ジメトキシ - トリチル - N<sup>4</sup> - (アセチル) - 2' - O - メチル - シチジン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピル - アミノ) ホスホラミダイト、(5' - O - ジメトキシトリチル - N<sup>2</sup> - (イソブチリル) - 2' - O - メチル - グアノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピルアミノ) ホスホラミダイト、および 5' - O - ジメトキシトリチル - 2' - O - メチル - ウリジン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピルアミノ) ホスホラミダイト。2' - デオキシ - 2' - フルオロ - ホスホラミダイトは、2' - O - メチルアミダイトと同じ保護基を有していた。5' - (4, 4' - ジメトキシトリチル) - 2' , 3' - セコ - ウリジン - 2' - ベンゾイル - 3' - [ (2 - シアノエチル) - (N, N - ジイソプロピル) ] - ホスホラミダイトもまた、Thermo Fisher Scientific から購入した。5' - ジメトキシトリチル - 2' - O - メチル - イノシン - 3' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピルアミノ) ホスホラミダイトは、Glen Research (Virginia) から購入した。逆位脱塩基 (3' - O - ジメトキシトリチル - 2' - デオキシリボース - 5' - O - (2 - シアノエチル - N, N - ジイソプロピルアミノ) ホスホラミダイト

30

40

50

イトは、ChemGenes (Wilmington, MA, USA) から購入した。

【0232】

標的化リガンドを含むホスホラミダイトを、無水ジクロロメタンまたは無水アセトニトリル (50 mM) 中に溶解し、一方ですべての他のアミダイトは、無水アセトニトリル (規模に応じて 50 mM または 100 mM) 中に溶解し、分子篩 (3 ) を添加した。5 - ベンジルチオ - 1 H - テトラゾール (BTT、アセトニトリル中 250 mM) または 5 - エチルチオ - 1 H - テトラゾール (ETT、アセトニトリル中 250 mM) を、活性化溶液として使用した。カップリング時間は、12 分間 (RNA)、15 分間 (標的化リガンド)、90 秒間 (2' OMe)、および 60 秒間 (2' F) であった。ホスホロチオエート連結を導入するために、無水アセトニトリル中の、3 - フェニル 1, 2, 4 - ジチアゾリン - 5 - オン (POSS, PolyOrg, Inc., Leominster, MA, USA から入手) の 100 mM 溶液を、利用した。標的化リガンドが存在していない「ネイキッド」RNAi 剤として具体的に特定されない限り、以下の実施例において合成および試験する ASGR1 RNAi 剤の二重鎖のそれぞれは、表 6 に表される標的化リガンドの化学構造において N - アセチル - ガラクトサミンを「NAG」として利用した。

【0233】

B. 支持体に結合したオリゴマーの切断および脱保護。固相合成の終了処理の後に、乾燥させた固体支持体を、30 において 1.5 時間、水中 40 重量 % のメチルアミンおよび 28 % 水酸化アンモニウム溶液 (Aldrich) の 1 : 1 体積溶液で処理した。溶液を蒸発させ、固体残渣を、水中に再構成した (以下を参照されたい)。

【0234】

C. 精製。粗製オリゴマーを、TSK gel Super Q - 5PW 13 μm カラムおよび Shimadzu LC - 20AP システムを使用して、アニオン交換 HPLC によって精製した。緩衝液 A は、20 mM Tris、pH 9.0 であり、20 % アセトニトリルを含有し、緩衝液 B は、緩衝液 A と同じであったが、1.5 M 塩化ナトリウムが添加されていた。260 nm での UV トレースを記録した。適切な画分をプールし、次いで、Sephadex G - 25 微細を充填した GE Healthcare XK 26 / 40 カラムを使用して、濾過した DI 水または 100 mM 重炭酸アンモニウム、pH 6.7 および 20 % アセトニトリルの泳動緩衝液を用いて、サイズ排除 HPLC を行った。

【0235】

D. アニールリング。1 倍リン酸緩衝食塩水 (Coming, Cellgro) 中の RNA 溶液 (センスおよびアンチセンス) を等モルで合わせることによって、相補鎖を混合し、RNAi 剤を形成した。一部の RNAi 剤を、-15 ~ -25 で凍結乾燥させ、保管した。二重鎖の濃度は、1 倍リン酸緩衝食塩水において、UV - Vis 分光計で溶液の吸光を測定することによって判定した。260 nm での溶液の吸光に、次いで、変換係数および希釈係数を乗じて、二重鎖の濃度を判定した。使用した変換係数は、0.037 mg / (mL · cm) であったか、または実験的に判定した消光係数から計算したかのいずれかであった。

【0236】

(実施例 2)

ASGR1 - SEAP マウスモデル。

RNAi 剤の効力を評価するために、ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。6 ~ 8 週齢の雌性 C57BL / 6 アルビノマウスに、in vivo で、ASGR1 RNAi 剤または対照の投与の少なくとも 15 日前に投与した、流体力学的尾静脈注射によって、プラスミドを一過性にトランスフェクトした。プラスミドは、SEAP (分泌型ヒト胎盤アルカリホスファターゼ) レポーター遺伝子の 3' UTR に挿入された ASGR1 cDNA 配列 (GenBank NM\_001671.4 (配列番号 1)) を含む。動物の体重の 10 % の総体積で、リンガー溶液中、50 μg の ASGR1 cDNA 配列含有プラスミドを、尾静脈からマウスに注射して、ASGR1 - SEAP モデルマウスを作製した。溶液は、これまでに説明されているように、27 ゲージのニードルを通じて 5 ~ 7

10

20

30

40

50

秒間で注射した (Zhang G et al., "High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injection of naked plasmid DNA." Human Gene Therapy 1999 Vol. 10, p 1735-1737.)。ASGR1 RNAi 剤による ASGR1 の発現の阻害は、Phospho-Light (商標) SEAP レポーター遺伝子アッセイシステム (Invitrogen) によって測定される、SEAP 発現の同時阻害をもたらす。処置の前に、血清中の SEAP 発現レベルを測定し、マウスを、平均 SEAP レベルに応じて群に分けた。

【0237】

分析：SEAP レベルは、ASGR1 RNAi 剤の投与の前および後の両方の様々な時点において測定してよい。

10

【0238】

i) 血清採取：マウスに、2 ~ 3 % イソフルランで麻酔を行い、血液試料を、顎下の領域から、血清分離チューブ (Sarstedt AG & Co., Numbrecht, Germany) に採取した。血液を、周囲温度で 20 分間、凝固させた。チューブを、8,000 × g で 3 分間遠心分離して、血清を分離させ、4 °C で保管した。

【0239】

ii) 血清 SEAP レベル：血清を採取し、Phospho-Light (商標) SEAP レポーター遺伝子アッセイシステム (Invitrogen) によって、製造業者の説明に従って測定した。このモデルでの処置とは無関係の ASGR1 発現低下を説明するために、それぞれの動物の血清 SEAP レベルを、生理食塩水を注射したマウスの対照群に対して正規化した。「処置前に対して正規化した」発現の比を判定するために、まず、ある時点におけるそれぞれの動物の SEAP レベルを、その動物における処置前の発現レベル (「処置前」) で除した。次いで、個々の動物の「処置前に対して正規化した」比を、通常の生理食塩水対照群におけるすべてのマウスの平均の「処置前に対して正規化した」比で除すことによって、特定の時点における発現を、対照群に対して正規化した。代替として、本明細書に記載される一部の実施例では、それぞれの動物の血清 SEAP レベルは、処置前のレベルに対してのみ正規化することによって評価した。

20

【0240】

(実施例 3)

ASGR1 - SEAP マウスにおける ASGR1 RNAi 剤の in vivo 試験。

30

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、3.0 mg / kg (mpk) の ASGR1 RNAi 剤を含有する 200 µl または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 200 µl の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 7 に従って、行った。

40

50

## 【表 7】

表7. 実施例3のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	3.0 mg/kg の AD04634	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kg の AD04698	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg の AD04699	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kg の AD04700	1日目に単回注射
6	3.0 mg/kg の AD04701	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg の AD04702	1日目に単回注射
8	3.0 mg/kg の AD04703	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg の AD04704	1日目に単回注射

10

## 【 0 2 4 1 】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。3 日目、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、SEAP 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 8 に示すが、平均 SEAP は、正規化された SEAP 平均値を反映している。

20

30

40

50

表8. 実施例3で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	3日目			8日目			15日目			22日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.192	0.176	1.000	0.176	0.614	1.000	0.614	1.000	0.287		
群 2 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.757	0.404	0.164	0.282	0.164	0.202	0.235	0.202	0.316	0.243		
群 3 (3.0 mg/kg の AD04698)	0.442	0.395	0.067	0.068	0.067	0.011	0.010	0.011	0.049	0.047		
群 4 (3.0 mg/kg の AD04699)	0.904	0.324	0.130	0.380	0.130	0.115	0.253	0.115	0.427	0.236		
群 5 (3.0 mg/kg の AD04700)	0.924	0.487	0.117	0.382	0.117	0.089	0.246	0.089	0.392	0.164		
群 6 (3.0 mg/kg の AD04701)	0.480	0.263	0.135	0.234	0.135	0.085	0.133	0.085	0.362	0.244		
群 7 (3.0 mg/kg の AD04702)	0.480	0.283	0.349	0.379	0.349	0.170	0.351	0.170	0.331	0.157		
群 8 (3.0 mg/kg の AD04703)	0.669	0.283	0.226	0.429	0.226	0.267	0.313	0.267	0.285	0.202		
群 9 (3.0 mg/kg の AD04704)	0.674	0.367	0.178	0.343	0.178	0.228	0.296	0.228	0.303	0.184		

群識別子	29日目			36日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.258	0.241	1.000	0.241	
群 2 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.284	0.196	0.187	0.262	0.187	
群 3 (3.0 mg/kg の AD04698)	0.071	0.078	0.101	0.094	0.101	
群 4 (3.0 mg/kg の AD04699)	0.395	0.216	0.191	0.424	0.191	
群 5 (3.0 mg/kg の AD04700)	0.383	0.218	0.165	0.376	0.165	

10

20

30

40

50

【表 8 - 2】

群 6 (3.0 mg/kg の AD04701)	0.484	0.307	0.552	0.306
群 7 (3.0 mg/kg の AD04702)	0.360	0.121	0.264	0.257
群 8 (3.0 mg/kg の AD04703)	0.472	0.411	0.380	0.288
群 9 (3.0 mg/kg の AD04704)	0.545	0.537	0.610	0.503

10

20

## 【 0 2 4 2 】

30

投薬群（すなわち、群 2 から 9）のそれぞれにおける ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、すべての測定時点において、生理食塩水対照（群 1）と比較して、SEAP の低減を示し、これは、本明細書に記載されるように、ASGR1 - SEAP マウスモデルにおける ASGR1 の阻害を示す。たとえば、群 3 は、15 日目に  $0.010 (\pm 0.011)$  の正規化された SEAP レベルを示すが、これは、 $3.0 \text{ mg/kg}$  の二重鎖 AD04698 の単回投与後のその時点における 99% の発現の阻害を示す。

## 【 0 2 4 3 】

（実施例 4）

ASGR1 - SEAP マウスにおける ASGR1 RNAi 剤の *in vivo* 試験。

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、 $3.0 \text{ mg/kg}$  の ASGR1 RNAi 剤を含有する  $200 \mu\text{l}$  または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない  $200 \mu\text{l}$  の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 9 に従って、行った。

40

50



## 【表 9】

表9. 実施例4のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	3.0 mg/kg のAD04634	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kg のAD04705	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg のAD04706	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kg のAD04707	1日目に単回注射
6	3.0 mg/kg のAD04791	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg のAD04792	1日目に単回注射
8	3.0 mg/kg のAD04793	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg のAD04794	1日目に単回注射
10	3.0 mg/kg のAD04797	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kg のAD04800	1日目に単回注射

## 【 0 2 4 4 】

A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。4 日目、8 日目、15 日目、22 日目、および 29 日目に血清を採取し、S E A P 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 10 に示すが、平均 S E A P は、正規化された S E A P 平均値を反映している。

10

20

30

40

50

【表 10 - 1】

表 10. 実施例4で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	4日目		8日目		15日目		22日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.271	1.000	0.036	1.000	0.546	1.000	0.428
群 2 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.505	0.105	0.357	0.066	0.333	0.079	0.276	0.076
群 3 (3.0 mg/kg の AD04705)	0.747	0.305	0.734	0.293	0.509	0.111	0.387	0.149
群 4 (3.0 mg/kg の AD04706)	0.830	0.239	0.885	0.133	0.555	0.160	0.519	0.165
群 5 (3.0 mg/kg の AD04707)	0.625	0.035	0.763	0.187	0.596	0.134	0.595	0.059
群 6 (3.0 mg/kg の AD04791)	1.236	0.622	0.834	0.197	0.650	0.148	0.713	0.030
群 7 (3.0 mg/kg の AD04792)	1.345	1.033	0.988	0.400	0.886	0.175	0.796	0.602
群 8 (3.0 mg/kg の AD04793)	1.431	1.439	0.496	0.044	0.368	0.110	0.346	0.168
群 9 (3.0 mg/kg の AD04794)	1.066	1.144	0.491	0.092	0.453	0.209	0.795	0.334
群 10 (3.0 mg/kg の AD04797)	0.764	0.617	1.156	0.366	0.939	0.412	1.113	0.490
群 11 (3.0 mg/kg の AD04800)	0.412	0.235	1.641	1.240	0.869	0.234	0.829	0.144
29日目								
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.517						
群 2 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.308	0.200						
群 3 (3.0 mg/kg の AD04705)	0.430	0.186						
群 4 (3.0 mg/kg の AD04706)	0.568	0.087						

10

20

30

40

50

【表 1 0 - 2】

群 5 (3.0 mg/kg の AD04707)	0.393	0.073
群 6 (3.0 mg/kg の AD04791)	0.654	0.131
群 7 (3.0 mg/kg の AD04792)	1.120	0.647
群 8 (3.0 mg/kg の AD04793)	0.343	0.091
群 9 (3.0 mg/kg の AD04794)	0.880	0.303
群 10 (3.0 mg/kg の AD04797)	1.344	0.375
群 11 (3.0 mg/kg の AD04800)	0.615	0.199

10

20

( 実施例 5 )

【 0 2 4 5 】

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

【 0 2 4 6 】

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、0 . 5 m g / k g、1 . 0 m g / k g、もしくは 3 . 0 m g / k g のいずれかの ASGR1 RNAi 剤を含有する 2 0 0 μ l、または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 2 0 0 μ l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 1 1 に従って、行った。

30

40

50

## 【表 1 1】

表11. 実施例5のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	3.0 mg/kg のAD04634	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg のAD04697	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg のAD04697	1日目に単回注射
5	0.5 mg/kg のAD04698	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg のAD04698	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg のAD04698	1日目に単回注射
8	3.0 mg/kg のAD04795	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg のAD04796	1日目に単回注射
10	3.0 mg/kg のAD04798	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kg のAD04799	1日目に単回注射

## 【0 2 4 7】

ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において3匹のマウスに試験を行った（n = 3匹）。8日目、15日目、22日目、および29日目に血清を採取し、SEAP発現レベルを、上述の実施例2に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表12に示すが、平均SEAPは、正規化されたSEAP平均値を反映している。

【表 1 2】

表 12. 実施例5で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		15日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.253	1.000	0.145	1.000	0.372	1.000	0.593
群 2 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.323	0.032	0.351	0.050	0.343	0.055	0.451	0.252
群 3 (1.0 mg/kg の AD04697)	0.384	0.145	0.364	0.066	0.363	0.184	0.563	0.353
群 4 (3.0 mg/kg の AD04697)	0.236	0.073	0.144	0.007	0.119	0.044	0.207	0.047
群 5 (0.5 mg/kg の AD04698)	0.557	0.112	0.633	0.137	0.688	0.245	1.134	0.293
群 6 (1.0 mg/kg の AD04698)	0.331	0.030	0.301	0.041	0.242	0.010	0.560	0.109
群 7 (3.0 mg/kg の AD04698)	0.186	0.024	0.094	0.013	0.079	0.012	0.203	0.033
群 8 (3.0 mg/kg の AD04795)	0.601	0.258	0.754	0.292	0.862	0.565	1.863	1.301
群 9 (3.0 mg/kg の AD04796)	0.532	0.093	0.949	0.199	0.729	0.076	1.068	0.257
群 10 (3.0 mg/kg の AD04798)	0.643	0.154	1.310	0.700	1.063	0.323	1.252	0.251
群 11 (3.0 mg/kg の AD04799)	0.489	0.220	0.373	0.161	0.400	0.135	0.519	0.315

【 0 2 4 8 】

( 実施例 6 )

ASGR1-SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1-SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg / kg もしくは 3.0 mg / kg のいずれかの ASGR1 RNAi 剤を含有する 200  $\mu$  l、または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 200  $\mu$  l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 13 に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 1 3】

表13. 実施例6のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kgのAD04634	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kgのAD04634	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kgのAD04964	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kgのAD04964	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kgのAD04698	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kgのAD04698	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kgのAD04847	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kgのAD04847	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kgのAD04701	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kgのAD04701	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kgのAD04965	1日目に単回注射
13	3.0 mg/kgのAD04965	1日目に単回注射
14	3.0 mg/kgのAD04700	1日目に単回注射
15	3.0 mg/kgのAD04793	1日目に単回注射

## 【0 2 4 9】

ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において4匹のマウスに試験を行った（n = 4匹）。8日目、13日目、22日目、および29日目に血清を採取し、SEAP発現レベルを、上述の実施例2に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表14に示すが、平均SEAPは、正規化されたSEAP平均値を反映している。

10

20

30

40

50

【 表 1 4 】

表 14. 実施例6で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		13日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群1 (生理食塩水)	1.000	0.639	1.000	0.384	1.000	0.364	1.000	0.477
群2 (1.0 mg/kgの AD04634)	0.851	0.116	0.825	0.222	0.576	0.086	0.491	0.208
群3 (3.0 mg/kgの AD04634)	0.538	0.128	0.355	0.150	0.194	0.057	0.249	0.098
群4 (1.0 mg/kgの AD04964)	0.608	0.217	0.564	0.138	0.358	0.090	0.402	0.244
群5 (3.0 mg/kgの AD04964)	0.476	0.255	0.374	0.194	0.325	0.204	0.327	0.247
群6 (1.0 mg/kgの AD04698)	0.404	0.163	0.198	0.069	0.191	0.067	0.186	0.079
群7 (3.0 mg/kgの AD04698)	0.256	0.073	0.078	0.026	0.083	0.048	0.138	0.103
群8 (1.0 mg/kgの AD04787)	0.307	0.129	0.138	0.056	0.145	0.068	0.210	0.119
群9 (3.0 mg/kgの AD04787)	0.383	0.161	0.193	0.154	0.147	0.191	0.230	0.231
群10 (1.0 mg/kgの AD04701)	0.788	0.122	0.925	0.142	0.759	0.141	0.726	0.078
群11 (3.0 mg/kgの AD04701)	0.491	0.138	0.640	0.206	0.436	0.067	0.651	0.130
群12 (1.0 mg/kgの AD04965)	0.813	0.248	0.900	0.209	0.643	0.124	0.904	0.504
群13 (3.0 mg/kgの AD04965)	0.672	0.338	0.845	0.129	0.523	0.155	0.394	0.090
群14 (3.0 mg/kgの AD04700)	0.743	0.063	0.793	0.378	0.438	0.287	0.424	0.215
群15 (3.0 mg/kgの AD04793)	0.504	0.072	0.525	0.142	0.417	0.140	0.458	0.108

【 0 2 5 0 】

( 実施例 7 )

ASGR1-SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

上述の実施例2において説明されているASGR1-SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg/kgもしくは3.0 mg/kgのいずれかのASGR1 RNAi剤を含有する200  $\mu$ l、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200  $\mu$ lの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表15に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 1 5】

表15. 実施例7のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD04698	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kg の AD04698	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD04847	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kg の AD04847	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD04802	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg の AD04802	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD04975	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg の AD04975	1日目に単回注射

10

## 【 0 2 5 1】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 4 匹のマウスに試験を行った（n = 4 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、および 29 日目に血清を採取し、SEAP 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 16 に示すが、平均 SEAP は、正規化された SEAP 平均値を反映している。

20

30

40

50



【表 16】

表16. 実施例7で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目			15日目			22日目			29日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	
群1 (生理食塩水)	1.000	0.412		1.000	0.421		1.000	0.497		1.000	0.582	
群2 (1.0 mg/kgの AD04698)	0.494	0.104		0.295	0.149		0.239	0.080		0.377	0.108	
群3 (3.0 mg/kgの AD04698)	0.188	0.032		0.077	0.028		0.076	0.048		0.143	0.131	
群4 (1.0 mg/kgの AD04847)	0.517	0.196		0.304	0.129		0.297	0.109		0.533	0.184	
群5 (3.0 mg/kgの AD04847)	0.160	0.069		0.071	0.030		0.085	0.031		0.153	0.025	
群6 (1.0 mg/kgの AD04802)	0.579	0.170		0.372	0.127		0.336	0.152		0.403	0.229	
群7 (3.0 mg/kgの AD04802)	0.304	0.075		0.185	0.083		0.220	0.131		0.297	0.172	
群8 (1.0 mg/kgの AD04975)	0.487	0.069		0.338	0.069		0.453	0.295		0.689	0.537	
群9 (3.0 mg/kgの AD04975)	0.193	0.046		0.097	0.031		0.247	0.060		0.125	0.042	

【0252】

(実施例8)

ASGR1-SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例2において説明されているASGR1-SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg/kgもしくは3.0 mg/kgのいずれかのASGR1 RNAi剤を含有する200 µl、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200 µlの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表17に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 17】

表17. 実施例8のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD04847	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD04634	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg の AD05090	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05065	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg の AD05066	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD05089	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05092	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg の AD05093	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kg の AD05093	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg の AD05094	1日目に単回注射
13	3.0 mg/kg の AD05094	1日目に単回注射

## 【0253】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において3匹のマウスに試験を行った（n = 3匹）。8日目、15日目、22日目、および29日目に血清を採取し、SEAP発現レベルを、上述の実施例2に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表18に示すが、平均SEAPは、正規化されたSEAP平均値を反映している。

10

20

30

40

50

【 表 1 8 】

表18. 実施例8で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目			15日目			22日目			29日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.160		1.000	0.202		1.000	0.132		1.000	0.346	
群 2 (1.0 mg/kgの AD04847)	0.444	0.181		0.404	0.186		0.372	0.226		0.369	0.184	
群 3 (1.0 mg/kgの AD04634)	0.619	0.033		0.673	0.209		0.716	0.480		0.671	0.048	
群 4 (1.0 mg/kgの AD05067)	0.679	0.059		0.454	0.129		0.200	0.174		0.416	0.557	
群 5 (1.0 mg/kgの AD05090)	0.540	0.054		0.489	0.265		0.499	0.176		0.598	0.240	
群 6 (1.0 mg/kgの AD05065)	0.605	0.056		0.537	0.118		0.416	0.192		0.483	0.221	
群 7 (1.0 mg/kgの AD05066)	0.967	0.193		0.837	0.649		0.426	0.345		0.746	0.488	
群 8 (1.0 mg/kgの AD05089)	1.017	0.434		0.547	0.041		0.446	0.134		0.406	0.071	
群 9 (1.0 mg/kgの AD05092)	1.191	0.462		1.315	0.217		1.269	0.442		1.143	0.337	
群 10 (1.0 mg/kgの AD05093)	1.698	0.150		1.075	0.577		1.056	0.243		0.900	0.365	
群 11 (3.0 mg/kgの AD05093)	1.437	0.307		1.368	0.637		1.254	0.589		1.000	0.496	
群 12 (1.0 mg/kgの AD05094)	1.838	0.167		1.367	0.548		1.455	0.552		2.236	1.451	
群 13 (3.0 mg/kgの AD05094)	1.197	0.622		1.567	0.658		1.451	0.371		1.719	0.279	

【 0 2 5 4 】

( 実施例 9 )

ASGR1-SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例2において説明されているASGR1-SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg/kgもしくは3.0 mg/kgのいずれかのASGR1 RNAi剤を含有する200  $\mu$ l、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200  $\mu$ lの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表19に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 19】

表19. 実施例9のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD04847	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kg の AD04634	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg の AD04700	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kg の AD05053	1日目に単回注射
6	3.0 mg/kg の AD05096	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg の AD05097	1日目に単回注射
8	3.0 mg/kg の AD05108	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg の AD05109	1日目に単回注射
10	3.0 mg/kg の AD05110	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kg の AD05111	1日目に単回注射
12	3.0 mg/kg の AD05112	1日目に単回注射
13	3.0 mg/kg の AD05113	1日目に単回注射
14	3.0 mg/kg の AD05114	1日目に単回注射
15	3.0 mg/kg の AD05115	1日目に単回注射
16	1.0 mg/kg の AD05180	1日目に単回注射
17	1.0 mg/kg の AD05181	1日目に単回注射
18	1.0 mg/kg の AD05182	1日目に単回注射

## 【0255】

ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において3匹のマウスに試験を行った（n = 3匹）。8日目、13日目、22日目、29日目、および36日目に血清を採取し、SEAP発現レベルを、上述の実施例2に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表20に示すが、平均SEAPは、正規化されたSEAP平均値を反映している。

10

20

30

40

50

【 表 2 0 - 1 】

表20. 実施例9で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		13日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群1 (生理食塩水)	1.000	0.323	1.000	0.356	1.000	0.183	1.000	0.045
群2 (1.0 mg/kgの AD04847)	0.411	0.129	0.289	0.121	0.491	0.259	0.631	0.428
群3 (3.0 mg/kgの AD04634)	0.430	0.127	0.466	0.232	0.356	0.142	0.583	0.341
群4 (3.0 mg/kgの AD04700)	0.550	0.021	0.597	0.139	0.826	0.228	0.770	0.131
群5 (3.0 mg/kgの AD05053)	0.591	0.116	0.396	0.068	0.658	0.214	0.745	0.191
群6 (3.0 mg/kgの AD05096)	0.511	0.089	0.445	0.030	0.421	0.085	0.503	0.129
群7 (3.0 mg/kgの AD05097)	0.588	0.095	0.987	0.221	0.996	0.217	1.083	0.206
群8 (3.0 mg/kgの AD05108)	0.253	0.126	0.155	0.093	0.132	0.074	0.134	0.091
群9 (3.0 mg/kgの AD05109)	0.219	0.022	0.141	0.021	0.109	0.041	0.105	0.027
群10 (3.0 mg/kgの AD05110)	0.217	0.061	0.285	0.097	0.335	0.110	0.491	0.073
群11 (3.0 mg/kgの AD05111)	0.470	0.255	0.592	0.160	0.596	0.167	0.821	0.138
群12 (3.0 mg/kgの AD05112)	0.600	0.173	0.862	0.252	0.905	0.517	0.992	0.343
群13 (3.0 mg/kgの AD05113)	0.897	0.105	1.156	0.170	1.124	0.122	0.920	0.319
群14 (3.0 mg/kgの AD05114)	0.567	0.053	0.640	0.087	0.602	0.015	0.763	0.321
群15 (3.0 mg/kgの AD05115)	0.619	0.283	0.608	0.264	0.627	0.198	0.570	0.246
群16 (1.0 mg/kgの AD05180)	0.491	0.111	0.337	0.152	0.466	0.084	0.573	0.152
群17 (1.0 mg/kgの AD05181)	0.493	0.155	0.448	0.338	0.490	0.298	0.617	0.475
群18 (1.0 mg/kgの AD05182)	0.453	0.057	0.405	0.071	0.379	0.065	0.592	0.134

10

20

30

40

50

【表 2 0 - 2】

群識別子	36日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.188
群 2 (1.0 mg/kg の AD04847)	1.115	0.941
群 3 (3.0 mg/kg の AD04634)	0.600	0.421
群 4 (3.0 mg/kg の AD04700)	0.847	0.340
群 5 (3.0 mg/kg の AD05053)	0.649	0.226
群 6 (3.0 mg/kg の AD05096)	0.532	0.098
群 7 (3.0 mg/kg の AD05097)	1.425	0.289
群 8 (3.0 mg/kg の AD05108)	0.191	0.093
群 9 (3.0 mg/kg の AD05109)	0.181	0.089
群 10 (3.0 mg/kg の AD05110)	0.575	0.244
群 11 (3.0 mg/kg の AD05111)	0.803	0.477
群 12 (3.0 mg/kg の AD05112)	0.905	0.252
群 13 (3.0 mg/kg の AD05113)	0.789	0.207
群 14 (3.0 mg/kg の AD05114)	0.532	0.185
群 15 (3.0 mg/kg の AD05115)	0.514	0.178
群 16 (1.0 mg/kg の AD05180)	0.429	0.041
群 17 (1.0 mg/kg の AD05181)	0.428	0.322
群 18 (1.0 mg/kg の AD05182)	0.718	0.149

10

20

## 【 0 2 5 6】

( 実施例 1 0 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例 2 において説明されているASGR1 - SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg / kg もしくは3.0 mg / kg のいずれかのASGR1 RNAi剤を含有する200 μl、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200 μlの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 2 1 に従って、行った。

30

40

50

## 【表 2 1】

表21. 実施例10のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD04847	1日目に単回注射
3	3.0 mg/kg の AD05183	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg の AD05184	1日目に単回注射
5	3.0 mg/kg の AD05185	1日目に単回注射
6	3.0 mg/kg の AD05186	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg の AD05187	1日目に単回注射
8	3.0 mg/kg の AD05188	1日目に単回注射
9	3.0 mg/kg の AD05189	1日目に単回注射
10	3.0 mg/kg の AD05190	1日目に単回注射
11	3.0 mg/kg の AD05191	1日目に単回注射
12	3.0 mg/kg の AD05192	1日目に単回注射
13	3.0 mg/kg の AD05193	1日目に単回注射
14	3.0 mg/kg の AD05194	1日目に単回注射
15	3.0 mg/kg の AD05195	1日目に単回注射
16	3.0 mg/kg の AD05196	1日目に単回注射

## 【 0 2 5 7 】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、SEAP 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 2 2 に示すが、平均 SEAP は、正規化された SEAP 平均値を反映している。

10

20

30

40

50

表22. 実施例10で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		15日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.018	1.000	0.190	1.000	0.205	1.000	0.178
群 2 (1.0 mg/kg の AD04847)	0.318	0.103	0.339	0.056	0.247	0.074	0.412	0.095
群 3 (3.0 mg/kg の AD05183)	0.106	0.015	0.043	0.025	0.062	0.017	0.062	0.009
群 4 (3.0 mg/kg の AD05184)	0.134	0.030	0.143	0.109	0.170	0.150	0.146	0.151
群 5 (3.0 mg/kg の AD05185)	0.186	0.060	0.141	0.052	0.095	0.039	0.147	0.018
群 6 (3.0 mg/kg の AD05186)	0.107	0.030	0.097	0.032	0.141	0.063	0.170	0.087
群 7 (3.0 mg/kg の AD05187)	0.255	0.132	0.264	0.138	0.420	0.204	0.520	0.341
群 8 (3.0 mg/kg の AD05188)	0.188	0.061	0.160	0.075	0.182	0.158	0.367	0.297
群 9 (3.0 mg/kg の AD05189)	0.538	0.300	0.755	0.256	0.924	0.312	0.752	0.578
群 10 (3.0 mg/kg の AD05190)	0.540	0.049	0.697	0.037	0.653	0.150	0.812	0.340
群 11 (3.0 mg/kg の AD05191)	0.489	0.293	0.769	0.706	0.686	0.636	0.550	0.566
群 12 (3.0 mg/kg の AD05192)	1.307	0.511	1.908	1.094	2.401	0.835	1.826	0.514
群 13 (3.0 mg/kg の AD05193)	0.279	0.403	0.204	0.275	0.137	0.171	0.226	0.280
群 14 (3.0 mg/kg の AD05194)	0.954	1.497	0.523	0.774	0.377	0.570	0.487	0.702
群 15 (3.0 mg/kg の AD05195)	0.153	0.228	0.137	0.187	0.130	0.151	0.094	0.098
群 16 (3.0 mg/kg の AD05196)	0.358	0.550	0.024	0.008	0.200	0.297	0.294	0.440
	36日目							

10

20

30

40

50



【表 2 2 - 2】

群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.191
群 2 (1.0 mg/kg の AD04847)	0.456	0.114
群 3 (3.0 mg/kg の AD05183)	0.119	0.055
群 4 (3.0 mg/kg の AD05184)	0.215	0.248
群 5 (3.0 mg/kg の AD05185)	0.150	0.044
群 6 (3.0 mg/kg の AD05186)	0.195	0.069
群 7 (3.0 mg/kg の AD05187)	0.678	0.388
群 8 (3.0 mg/kg の AD05188)	0.487	0.323
群 9 (3.0 mg/kg の AD05189)	0.720	0.486
群 10 (3.0 mg/kg の AD05190)	1.114	0.559
群 11 (3.0 mg/kg の AD05191)	0.685	0.693
群 12 (3.0 mg/kg の AD05192)	3.280	1.958
群 13 (3.0 mg/kg の AD05193)	0.475	0.622
群 14 (3.0 mg/kg の AD05194)	0.908	1.380
群 15 (3.0 mg/kg の AD05195)	0.046	0.039
群 16 (3.0 mg/kg の AD05196)	0.479	0.707

【 0 2 5 8 】

( 実施例 1 1 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

上述の実施例 2 において説明されているASGR1 - SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg / kg のASGR1 RNAi剤を含有する200 μl、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200 μlの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 2 3 に従って、行った。

【表 2 3】

表23. 実施例11のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD05209	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD05240	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg の AD05256	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05257	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg の AD05245	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD05246	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05210	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg の AD05211	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg の AD05213	1日目に単回注射

【 0 2 5 9 】

A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、S E A P 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 2 4 に示すが、平均 S E A P は、正規化された S E A P 平均値を反映している。

【表 2 4 - 1】

表 24. 実施例 11 で得られた A S G R 1 - S E A P マウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均 S E A P。

群識別子	8 日目		15 日目		22 日目		29 日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.378	1.000	0.326	1.000	0.308	1.000	0.264
群 2 (1.0 mg/kg の AD05067)	0.380	0.065	0.251	0.090	0.185	0.060	0.296	0.011
群 3 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.190	0.023	0.103	0.025	0.106	0.079	0.164	0.154
群 4 (1.0 mg/kg の AD05240)	0.358	0.158	0.254	0.148	0.354	0.207	0.344	0.183
群 5 (1.0 mg/kg の AD05256)	0.237	0.155	0.135	0.081	0.147	0.092	0.108	0.052
群 6 (1.0 mg/kg の AD05257)	0.313	0.136	0.172	0.097	0.267	0.152	0.300	0.141
群 7 (1.0 mg/kg の AD05245)	0.278	0.029	0.227	0.061	0.324	0.080	0.414	0.130
群 8 (1.0 mg/kg の AD05246)	0.793	0.290	1.056	0.066	1.529	0.334	1.297	0.359
群 9 (1.0 mg/kg の AD05210)	0.451	0.018	0.394	0.082	0.585	0.075	0.509	0.100
群 10 (1.0 mg/kg の AD05211)	0.637	0.160	0.680	0.273	0.660	0.216	0.782	0.209
群 11 (1.0 mg/kg の AD05213)	0.280	0.123	0.206	0.070	0.334	0.165	0.469	0.240
36 日目								
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.513						
群 2 (1.0 mg/kg の AD05067)	0.413	0.082						
群 3 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.210	0.175						
群 4 (1.0 mg/kg の AD05240)	0.463	0.303						

10

20

30

40

50

【表 2 4 - 2】

群 5 (1.0 mg/kg の AD05256)	0.106	0.062
群 6 (1.0 mg/kg の AD05257)	0.337	0.164
群 7 (1.0 mg/kg の AD05245)	0.469	0.214
群 8 (1.0 mg/kg の AD05246)	1.132	0.308
群 9 (1.0 mg/kg の AD05210)	0.715	0.194
群 10 (1.0 mg/kg の AD05211)	0.890	0.212
群 11 (1.0 mg/kg の AD05213)	0.658	0.459

10

20

## 【 0 2 6 0】

( 実施例 1 2 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

上述の実施例 2 において説明されているASGR1 - SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg / kg のASGR1 RNAi剤を含有する200 μl、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200 μlの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 2 5 に従って、行った。

【表 2 5】

30

表25. 実施例12のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg のAD05109	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg のAD05193	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg のAD05196	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg のAD05262	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg のAD05263	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg のAD05264	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg のAD05265	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg のAD05266	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg のAD05267	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg のAD05268	1日目に単回注射

40

50

## 【 0 2 6 1 】

A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、23 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、S E A P 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 2 6 に示すが、平均 S E A P は、正規化された S E A P 平均値を反映している。

【表 2 6】

表 26. 実施例 12 で得られた A S G R 1 - S E A P マウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均 S E A P。

群識別子	8 日目		15 日目		23 日目		29 日目		36 日目	
	平均 S E A P	標準偏差 (+/-)	平均 S E A P	標準偏差 (+/-)	平均 S E A P	標準偏差 (+/-)	平均 S E A P	標準偏差 (+/-)	平均 S E A P	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.418	1.000	0.481	1.000	0.215	1.000	0.643	1.000	0.655
群 2 (1.0 mg/kg の AD05109)	0.372	0.050	0.255	0.047	0.358	0.190	0.205	0.005	0.184	0.125
群 3 (1.0 mg/kg の AD05193)	0.166	0.074	0.093	0.061	0.122	0.092	0.087	0.063	0.085	0.081
群 4 (1.0 mg/kg の AD05196)	0.177	0.034	0.142	0.049	0.219	0.088	0.191	0.098	0.132	0.055
群 5 (1.0 mg/kg の AD05262)	0.768	0.215	0.606	0.192	1.108	0.429	0.642	0.344	0.717	0.422
群 6 (1.0 mg/kg の AD05263)	0.267	0.084	0.162	0.042	0.215	0.023	0.263	0.042	0.206	0.084
群 7 (1.0 mg/kg の AD05264)	0.420	0.016	0.425	0.049	0.715	0.239	0.744	0.103	0.498	0.163
群 8 (1.0 mg/kg の AD05265)	0.561	0.280	0.703	0.391	1.105	0.732	0.793	0.532	0.652	0.412
群 9 (1.0 mg/kg の AD05266)	0.329	0.071	0.338	0.050	1.021	0.541	0.456	0.195	0.397	0.229
群 10 (1.0 mg/kg の AD05267)	0.369	0.038	0.652	0.223	1.581	0.403	0.748	0.255	0.653	0.079
群 11 (1.0 mg/kg の AD05268)	0.216	0.093	0.201	0.067	0.299	0.134	0.151	0.050	0.213	0.034

10

20

30

40

50

## 【 0 2 6 2 】

## ( 実施例 1 3 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例 2 において説明されているASGR1 - SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0 mg / kg のASGR1 RNAi 剤を含有する200 μ l、または対照として使用するためにASGR1 RNAi 剤を含まない200 μ l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 2 7 に従って、行った。

## 【表 2 7】

表27. 実施例13のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD05241	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD05242	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg の AD05243	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05109	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg の AD05244	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD05247	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05248	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg の AD05212	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg の AD05214	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg の AD05206	1日目に単回注射
13	1.0 mg/kg の AD05207	1日目に単回注射
14	1.0 mg/kg の AD05208	1日目に単回注射

## 【 0 2 6 3 】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において3匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8日目、16日目、22日目、29日目、および36日目に血清を採取し、SEAP発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 2 8 に示すが、平均SEAPは、正規化されたSEAP平均値を反映している。

10

20

30

40

50

表28. 実施例13で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		16日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.252	1.000	0.134	1.000	0.375	1.000	0.454
群 2 (1.0 mg/kgのAD05067)	0.353	0.107	0.203	0.074	0.239	0.044	0.270	0.039
群 3 (1.0 mg/kgのAD05241)	0.457	0.177	0.338	0.184	0.217	0.093	0.236	0.129
群 4 (1.0 mg/kgのAD05242)	0.302	0.181	0.209	0.147	0.209	0.148	0.214	0.099
群 5 (1.0 mg/kgのAD05243)	0.379	0.133	0.141	0.022	0.111	0.040	0.134	0.033
群 6 (1.0 mg/kgのAD05109)	0.454	0.087	0.171	0.054	0.114	0.036	0.136	0.063
群 7 (1.0 mg/kgのAD05244)	0.468	0.138	0.363	0.209	0.274	0.189	0.170	0.096
群 8 (1.0 mg/kgのAD05247)	0.662	0.249	0.670	0.299	0.569	0.232	0.594	0.288
群 9 (1.0 mg/kgのAD05248)	0.597	0.127	0.325	0.252	0.276	0.182	0.246	0.241
群 10 (1.0 mg/kgのAD05212)	0.413	0.045	0.244	0.122	0.123	0.072	0.119	0.047
群 11 (1.0 mg/kgのAD05214)	0.486	0.049	0.252	0.104	0.213	0.063	0.198	0.015
群 12 (1.0 mg/kgのAD05206)	0.359	0.166	0.196	0.066	0.214	0.089	0.284	0.104
群 13 (1.0 mg/kgのAD05207)	1.109	0.103	0.484	0.223	0.381	0.275	0.404	0.247
群 14 (1.0 mg/kgのAD05208)	0.529	0.063	0.252	0.022	0.221	0.026	0.160	0.042
36日目								
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.337						

10

20

30

40

50

【表 2 8 - 2】

群 2 (1.0 mg/kg の AD05067)	0.307	0.064
群 3 (1.0 mg/kg の AD05241)	0.325	0.186
群 4 (1.0 mg/kg の AD05242)	0.164	0.019
群 5 (1.0 mg/kg の AD05243)	0.158	0.041
群 6 (1.0 mg/kg の AD05109)	0.176	0.066
群 7 (1.0 mg/kg の AD05244)	0.244	0.086
群 8 (1.0 mg/kg の AD05247)	0.804	0.531
群 9 (1.0 mg/kg の AD05248)	0.293	0.301
群 10 (1.0 mg/kg の AD05212)	0.171	0.077
群 11 (1.0 mg/kg の AD05214)	0.189	0.023
群 12 (1.0 mg/kg の AD05206)	0.416	0.127
群 13 (1.0 mg/kg の AD05207)	0.605	0.382
群 14 (1.0 mg/kg の AD05208)	0.303	0.112

【 0 2 6 4】

( 実施例 1 4 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、0.5 mg/kg、1.0 mg/kg、もしくは 3.0 mg/kg のいずれかの ASGR1 RNAi 剤を含有する 200  $\mu$ l、または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 200  $\mu$ l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 2 9 に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 2 9】

表29. 実施例14のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	0.5 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
4	3.0 mg/kg の AD05067	1日目に単回注射
5	0.5 mg/kg の AD05183	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05183	1日目に単回注射
7	3.0 mg/kg の AD05183	1日目に単回注射
8	0.5 mg/kg の AD05209	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05209	1日目に単回注射
10	4.0 mg/kg の AD05209	1日目に単回注射
11	0.5 mg/kg の AD05256	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg の AD05256	1日目に単回注射
13	3.0 mg/kg の AD05256	1日目に単回注射

## 【 0 2 6 5】

A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、S E A P 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 3 0 に示すが、平均 S E A P は、正規化された S E A P 平均値を反映している。

10

20

30

40

50



【表 30 - 1】

表30. 実施例14で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		15日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.479	1.000	0.737	1.000	0.401	1.000	0.359
群 2 (0.5 mg/kgの AD05067)	0.315	0.178	0.215	0.087	0.175	0.072	0.143	0.047
群 3 (1.0 mg/kgの AD05067)	0.265	0.136	0.129	0.071	0.139	0.025	0.165	0.029
群 4 (3.0 mg/kgの AD05067)	0.250	0.092	0.069	0.036	0.083	0.029	0.083	0.060
群 5 (0.5 mg/kgの AD05183)	0.274	0.140	0.156	0.053	0.173	0.069	0.215	0.039
群 6 (1.0 mg/kgの AD05183)	0.305	0.047	0.123	0.020	0.158	0.093	0.221	0.069
群 7 (3.0 mg/kgの AD05183)	0.182	0.060	0.052	0.028	0.069	0.036	0.070	0.045
群 8 (0.5 mg/kgの AD05209)	0.295	0.110	0.193	0.062	0.268	0.131	0.399	0.232
群 9 (1.0 mg/kgの AD05209)	0.185	0.034	0.073	0.031	0.113	0.051	0.120	0.055
群 10 (3.0 mg/kgの AD05209)	0.100	0.021	0.020	0.007	0.024	0.004	0.025	0.013
群 11 (0.5 mg/kgの AD05256)	0.618	0.069	0.334	0.087	0.397	0.128	0.430	0.312
群 12 (1.0 mg/kgの AD05256)	0.392	0.126	0.129	0.015	0.195	0.067	0.238	0.075
群 13 (3.0 mg/kgの AD05256)	0.199	0.063	0.070	0.033	0.110	0.078	0.134	0.079
36日目								
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.601						
群 2 (0.5 mg/kgの AD05067)	0.218	0.042						

10

20

30

40

50

【表 3 0 - 2】

群 3 (1.0 mg/kg の AD05067)	0.238	0.046
群 4 (3.0 mg/kg の AD05067)	0.138	0.130
群 5 (0.5 mg/kg の AD05183)	0.261	0.111
群 6 (1.0 mg/kg の AD05183)	0.157	0.051
群 7 (3.0 mg/kg の AD05183)	0.069	0.068
群 8 (0.5 mg/kg の AD05209)	0.404	0.160
群 9 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.175	0.106
群 10 (3.0 mg/kg の AD05209)	0.036	0.024
群 11 (0.5 mg/kg の AD05256)	0.484	0.298
群 12 (1.0 mg/kg の AD05256)	0.255	0.111
群 13 (3.0 mg/kg の AD05256)	0.121	0.063

10

20

## 【 0 2 6 6 】

上述の表 3 0 に示されるように、用量応答が、試験した A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれについて、観察される。たとえば、22 日目に、A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 2 0 9 は、投与した用量 0.5 mg / k g でおよそ 7 3 % ( 0.268 )、1.0 mg / k g でおよそ 8 9 % ( 0.113 )、および 3.0 mg / k g でおよそ 9 8 % ( 0.024 ) のノックダウンを示した。

## 【 0 2 6 7 】

( 実施例 1 5 )

30

カニクイザルにおける A S G R 1 R N A i 剤の *i n v i v o* 試験。

A S G R 1 R N A i 剤を、カニクイザルにおいて評価した。1 日目に、カニクイザル ( *Macaca fascicularis* ) 霊長類 ( 「カニクイザル」 ) に、生理食塩水中に製剤化された 5.0 mg / k g の A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 1 2 6 または A D 0 5 1 5 0 を含む 0.3 mL / k g ( 動物の大きさに応じておよそ 2 ~ 3 mL 体積 ) の単回皮下注射を与えた。A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

## 【 0 2 6 8 】

それぞれの群において 2 匹のサルに試験を行った (  $n = 2$  匹 )。血液試料を採取し、1 日目 ( 投薬前 )、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、36 日目、および 50 日目に、アルカリホスファターゼ ( 「 A L P」、 「 A L K P」、または 「 A l k - P h o s」と称される ) および標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。A L P は、A S G R 1 の基質であるため、A S G R 1 の低減は、ヒト集団で A S G R 1 d e l 1 2 保持者において観察されるように、A L P レベルを増加させることが予測される。全体として、A S G R 1 d e l 1 2 保持者における A S G R 1 レベルの 50 % の低減は、A L P レベルのおよそ 50.1 % の増加を示した。したがって、A L P は、A S G R 1 の低減および A S G R 1 遺伝子の阻害をモニタリングするための代理バイオマーカーとしての機能を果たすことが示されている。( Nioi et al., 2016 )。血清中の A L P レベルを、C o b a s ( 登録商標 ) I n t e g r a 4 0 0 ( R o c h e D i a g n o s t i c s ) に

40

50

において、製造業者の推奨に従って測定した。

【 0 2 6 9 】

実験から得られたデータを、以下の表 3 1 および 3 2 に示すが、これは、未加工の A L P 値 ( 単位 / L ) ならびに平均した個々の処置前レベルに対して正規化した A L P を報告する。

【表 3 1 】

表 3 1 . 実施例 1 5 で得られた Cobas (登録商標) によるカニクイザルからの ALP レベルは単位 / L で報告する)

群識別子	平均投薬前 ALP	8 日目の ALP	15 日目の ALP	22 日目の ALP	29 日目の ALP	36 日目の ALP	50 日目の ALP
AD05126 ( カニクイザル A ) ( 5.0 mg/kg )	74	88	100	120	122	115	107
AD05126 ( カニクイザル B ) ( 5.0 mg/kg )	115	128	151	159	160	146	159
AD05150 ( カニクイザル A ) ( 5.0 mg/kg )	90	100	103	110	104	111	101
AD05150 ( カニクイザル B ) ( 5.0 mg/kg )	105	112	136	152	165	153	161

10

20

30

40

50

【表 3 2】

表32. 実施例15で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからの正規化されたALPレベル

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	50日目の ALP
AD05126 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.19	1.36	1.63	1.66	1.56	1.45
AD05126 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.12	1.32	1.39	1.40	1.27	1.39
AD05150 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.11	1.14	1.22	1.15	1.23	1.12
AD05150 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.06	1.29	1.44	1.57	1.45	1.53

【 0 2 7 0 】

AD05126またはAD05150のいずれかを投薬したカニクイザルのそれぞれは、測定したすべての時点にわたって、投薬前の測定値と比較して、ALPの増加を示し、ASGR1タンパク質レベルの低減およびASGR1の阻害を示した。

【 0 2 7 1 】

( 実施例 1 6 )

カニクイザルにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

ASGR1 RNAi剤を、カニクイザルにおいて評価した。1日目に、カニクイザル (Macaca fascicularis) 霊長類 (「カニクイザル」) に、生理食塩

10

20

30

40

50

水中に製剤化された  $5.0 \text{ mg/kg}$  の  $\text{ASGR1 RNAi}$  剤  $\text{AD05186}$  または  $\text{AD05196}$  を含む  $0.3 \text{ mL/kg}$  (動物の大きさに応じておよそ  $2 \sim 3 \text{ mL}$  体積) の単回皮下注射を与えた。 $\text{ASGR1 RNAi}$  剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の  $5'$  末端にコンジュゲートされた  $\text{N}$ -アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

【0272】

それぞれの群において 2 匹のサルに試験を行った ( $n = 2$  匹)。血液試料を採取し、1 日目 (投薬前)、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、36 日目、および 43 日目に、ALP および標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。実施例 15 に記載されるように、ALP は、 $\text{ASGR1}$  の低減および  $\text{ASGR1}$  遺伝子の阻害をモニタリ

10

【0273】

実験から得られたデータを、以下の表 33 および 34 に示すが、これは、未加工の ALP 値 (単位/L) ならびに平均した個々の処置前レベルに対して正規化した ALP を報告する。

20

30

40

50

【 表 3 3 】

表33. 実施例16で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからのALPレベルは単位/Lで報告する)。

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP
AD05186 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	89	96	118	135	134	127	134
AD05186 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	177	213	284	324	354	380	364
AD05196 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	97	107	143	178	206	219	199
AD05196 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	170	177	237	255	292	285	304

10

20

30

40

50

【表 3 4】

表34. 実施例16で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからの正規化されたALPレベル

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP
AD05186 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.08	1.33	1.52	1.51	1.43	1.51
AD05186 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.21	1.61	1.84	2.01	2.15	2.06
AD05196 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.10	1.47	1.84	2.12	2.26	2.05
AD05196 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.04	1.40	1.50	1.72	1.68	1.79

10

20

30

40

【 0 2 7 4】

( 実施例 1 7 )

カニクイザルにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

ASGR1 RNAi剤を、カニクイザルにおいて評価した。1日目に、カニクイザル (Macaca fascicularis) 霊長類に、生理食塩水中に製剤化された3.0mg/kgのASGR1 RNAi剤AD05183またはAD05193を含む0.3mL/kg(動物の大きさに応じておよそ2~3mL体積)の単回皮下注射を与えた。ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

50

【 0 2 7 5 】

それぞれの群において2匹のサルに試験を行った（ $n = 2$ 匹）。血液試料を採取し、8日目、15日目、22日目、29日目、36日目、および43日目に、ALPおよび標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。実施例15に記載されるように、ALPは、ASGR1の低減およびASGR1遺伝子の阻害をモニタリングするための代理バイオマーカーとしての機能を果たす。血清中のALPレベルを、Cobas（登録商標）Integra 400（Roche Diagnostics）において、製造業者の推奨に従って測定した。

【 0 2 7 6 】

実験から得られたデータを、以下の表35および36に示すが、これは、未加工のALP値（単位/L）ならびに平均した個々の処置前レベルに対して正規化したALPを報告する。

10

20

30

40

50



表35. 実施例17で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからのALPレベルは単位/Lで報告する。

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP
AD05183 ( カニクイザル A) (3.0 mg/kg)	236	245	347	472	575	630	578
AD05183 ( カニクイザル B) (3.0 mg/kg)	193	186	250	318	411	452	458
AD05193 ( カニクイザル A) (3.0 mg/kg)	295	272	374	490	620	693	593
AD05193 ( カニクイザル B) (3.0 mg/kg)	242	238	284	369	427	481	440

10

20

30

40

50

【表 3 6】

表36: 実施例17で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからの正規化されたALPレベル

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP
AD05183 ( カニクイザル A) (3.0 mg/kg)	1.00	1.04	1.47	2.00	2.44	2.67	2.45
AD05183 ( カニクイザル B) (3.0 mg/kg)	1.00	0.97	1.30	1.65	2.13	2.35	2.38
AD05193 ( カニクイザル A) (3.0 mg/kg)	1.00	0.92	1.27	1.66	2.10	2.35	2.01
AD05193 ( カニクイザル B) (3.0 mg/kg)	1.00	0.98	1.17	1.52	1.76	1.99	1.82

【 0 2 7 7 】

( 実施例 1 8 )

カニクイザルにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

ASGR1 RNAi剤を、カニクイザルにおいて評価した。1日目に、カニクイザル (Macaca fascicularis) 霊長類に、生理食塩水中に製剤化された、総用量5.0mg/kgで16.7mg/mLのASGR1 RNAi剤AD05209、AD05195、またはAD05256を含む0.3mL/kg(動物の大きさに応じておよそ2~3mL体積)の単回皮下注射を与えた。ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4および5に示されるように、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセ

10

20

30

40

50

チル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

【 0 2 7 8 】

それぞれの群において 2 匹のサルに試験を行ったが、1 匹のみに投薬した A D 0 5 1 9 5 は除く。血液試料を採取し、8 日目、1 5 日目、2 2 日目、および 2 9 日目に、A L P および標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。実施例 1 5 に記載されるように、A L P は、A S G R 1 の低減および A S G R 1 遺伝子の阻害をモニタリングするための代理バイオマーカーとしての機能を果たす。血清中の A L P レベルを、C o b a s (登録商標) I n t e g r a 4 0 0 (R o c h e D i a g n o s t i c s) において、製造業者の推奨に従って測定した。

【 0 2 7 9 】

実験から得られたデータを、以下の表 3 7 および 3 8 に示すが、これは、未加工の A L P 値 (単位 / L) ならびに平均した個々の処置前レベルに対して正規化した A L P を報告する。

10

20

30

40

50

【 3 7 】

表37. 実施例18で得られたCobas (登録商標)によるカニクイザルからのALPレベルは単位／Lで報告する)。

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP
AD05209 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	64	77	147	199	231
AD05209 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	81	114	174	214	223
AD05195 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	116	122	161	181	177
AD05256 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	69	73	79	86	91
AD05256 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	122	163	255	313	352

10

20

30

40

50

【表 38】

表38. 実施例18で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからの正規化されたALPレベル

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP
AD05209 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.20	2.30	3.11	3.61
AD05209 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.41	2.15	2.64	2.75
AD05195 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.06	1.39	1.57	1.53
AD05256 ( カニクイザル A) (5.0 mg/kg)	1.00	1.06	1.14	1.25	1.32
AD05256 ( カニクイザル B) (5.0 mg/kg)	1.00	1.34	2.10	2.58	2.90

【0280】

(実施例19)

カニクイザルにおけるASGR1 RNAi剤の*in vivo*試験。

ASGR1 RNAi剤を、カニクイザルにおいて評価した。1日目に、カニクイザル (*Macaca fascicularis*) 霊長類に、生理食塩水中に製剤化された、総用量3.0 mg/kg、5.0 mg/kg、または8.0 mg/kgで、それぞれ、10.0 mg/mL、16.7 mg/mL、または26.7 mg/mLのASGR1 RNAi剤AD05183を含む0.3 mL/kg (動物の大きさに応じておよそ2~3 mL 体積) の単回皮下注射を与えた。追加の群には、対照として使用するために、0.3 mL

10

20

30

40

50

/ kg (動物の大きさに応じておよそ 2 ~ 3 mL 体積) で、生理食塩水を投薬した。ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

【0281】

それぞれの群において 2 匹のサルに試験を行ったが、生理食塩水対照を投薬したサルのうちの 1 匹が、15 日目よりも前に死亡したことを除く。血液試料を採取し、8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、36 日目、43 日目、50 日目、および 57 日目に、ALP および標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。実施例 15 に記載されるように、ALP は、ASGR1 の低減および ASGR1 遺伝子の阻害をモニタリングするための代理バイオマーカーとしての機能を果たす。血清中の ALP レベルを、Cobas (登録商標) Integra 400 (Roche Diagnostics) において、製造業者の推奨に従って測定した。

10

【0282】

実験から得られたデータを、以下の表 39 および 40 に示すが、これは、未加工の ALP 値 (単位 / L) ならびに平均した個々の処置前レベルに対して正規化した ALP を報告する。

20

30

40

50

表39. 実施例19で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルからのALPレベルは単位/Lで報告する)。

群識別子	1日目 (投薬前)の ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP	50日目の ALP	57日目の ALP
生理食塩水ビヒクル(カニクイザルA)	644	544							
生理食塩水ビヒクル(カニクイザルB)	337	341	317	297	313	331	342	329	347
3. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	350	421	698	919	847	739	727	776	759
3. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	633	735	1053	1116	1423	1161	1181	1187	1130
5. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	554	681	1079	1146	1317	1184	1179	1386	1391
5. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	415	491	790	799	815	848	794	818	788
8. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	459	592	874	1006	1249	1065	1028	1251	1120
8. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	630	689	816	957	959	888	913	1007	959

【表 4 0 - 1】

表40. 実施例19|によりCobas（登録商標）から得られたカニクイザルからの正規化されたALPレベル。

群識別子	1日目 (投薬前)の ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP	50日目の ALP	57日目の ALP
生理食塩水ビヒクル(カニクイザルA)	1.00	0.85							
生理食塩水ビヒクル(カニクイザルB)	1.00	1.01	0.94	0.88	0.93	0.98	1.02	0.98	1.03
3. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	1.00	1.20	1.99	2.62	2.42	2.11	2.08	2.22	2.17
3. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	1.00	1.16	1.66	1.76	2.25	1.84	1.87	1.88	1.79

10

20

30

40

50



【表 4 0 - 2】

群識別子	1日目 (投薬前)の ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP	50日目の ALP	57日目の ALP
5. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	1.00	1.23	1.95	2.07	2.38	2.14	2.13	2.50	2.51
5. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	1.00	1.18	1.90	1.93	1.96	2.04	1.91	1.97	1.90
8. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルA)	1.00	1.29	1.90	2.19	2.72	2.32	2.24	2.72	2.44
8. 0mg/kgのAD05183(カニクイザルB)	1.00	1.09	1.30	1.52	1.52	1.41	1.45	1.60	1.52

10

20

30

40

## 【 0 2 8 4】

( 実施例 2 0 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例 2 において説明されているASGR1 - SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0mg/kgのASGR1 RNAi剤を含有する200μl、または対照として使用するためにASGR1 RNAi剤を含まない200μlの生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 4 1 に従って、行った。

50

## 【表 4 1】

表41. 実施例20のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg のAD05067	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg のAD05183	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg のAD05209	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg のAD05256	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg のAD05373	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg のAD05374	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg のAD05375	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg のAD05376	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg のAD05377	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg のAD05378	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg のAD05379	1日目に単回注射
13	1.0 mg/kg のAD05380	1日目に単回注射

10

20

## 【 0 2 8 5】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、SEAP 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 4 2 に示すが、平均 SEAP は、正規化された SEAP 平均値を反映している。

30

40

50

表42. 実施例20で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目			15日目			22日目			29日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	
群 1 ( 生理食塩水 )	1.000	0.214		1.000	0.205		1.000	0.253		1.000	0.469	
群 2 (1.0 mg/kgのAD05067)	0.490	0.126		0.303	0.102		0.284	0.099		0.286	0.173	
群 3 (1.0 mg/kgのAD05183)	0.404	0.138		0.205	0.109		0.216	0.093		0.311	0.089	
群 4 (1.0 mg/kgのAD05209)	0.209	0.100		0.110	0.084		0.146	0.101		0.233	0.209	
群 5 (1.0 mg/kgのAD05256)	0.413	0.159		0.238	0.124		0.252	0.148		0.338	0.172	
群 6 (1.0 mg/kgのAD05373)	0.397	0.091		0.236	0.091		0.572	0.136		0.654	0.233	
群 7 (1.0 mg/kgのAD05374)	0.266	0.051		0.248	0.148		0.281	0.069		0.443	0.204	
群 8 (1.0 mg/kgのAD05375)	0.388	0.156		0.519	0.255		0.672	0.090		1.005	0.327	
群 9 (1.0 mg/kgのAD05376)	0.270	0.071		0.321	0.239		0.295	0.078		0.349	0.166	
群 10 (1.0 mg/kgのAD05377)	0.442	0.085		0.624	0.228		0.846	0.308		1.012	0.413	
群 11 (1.0 mg/kgのAD05378)	0.304	0.080		0.203	0.097		0.280	0.117		0.315	0.079	
群 12 (1.0 mg/kgのAD05379)	0.372	0.029		0.366	0.077		0.471	0.191		0.660	0.185	
群 13 (1.0 mg/kgのAD05380)	0.298	0.084		0.320	0.251		0.289	0.098		0.409	0.233	
	36日目											
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)										
群 1 ( 生理食塩水 )	1.000	0.207										
群 2 (1.0 mg/kgのAD05067)	0.570	0.459										

10

20

30

40

50

【表 4 2 - 2】

群 3 (1.0 mg/kg の AD05183)	0.574	0.343
群 4 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.483	0.403
群 5 (1.0 mg/kg の AD05256)	0.276	0.113
群 6 (1.0 mg/kg の AD05373)	0.987	0.489
群 7 (1.0 mg/kg の AD05374)	0.634	0.357
群 8 (1.0 mg/kg の AD05375)	1.208	0.523
群 9 (1.0 mg/kg の AD05376)	0.455	0.233
群 10 (1.0 mg/kg の AD05377)	1.133	0.236
群 11 (1.0 mg/kg の AD05378)	0.635	0.184
群 12 (1.0 mg/kg の AD05379)	1.169	0.244
群 13 (1.0 mg/kg の AD05380)	0.846	0.702

【 0 2 8 6 】

( 実施例 2 1 )

ASGR1 - SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例 2 において説明されている ASGR1 - SEAP マウスモデルを使用した。1 日目に、それぞれのマウスに、1 . 0 m g / k g の ASGR1 RNAi 剤を含有する 2 0 0 μ l、または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 2 0 0 μ l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 4 3 に従って、行った。

10

20

30

40

50

## 【表 4 3】

表43. 実施例21のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD05193	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD05196	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD05462	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg の AD05603	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05604	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg の AD05605	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD05606	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05607	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg の AD05608	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg の AD05609	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg の AD05610	1日目に単回注射
13	1.0 mg/kg の AD05624	1日目に単回注射

## 【 0 2 8 7 】

A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、29 日目、および 36 日目に血清を採取し、S E A P 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 4 4 に示すが、平均 S E A P は、正規化された S E A P 平均値を反映している。

10

20

30

40

50

【 表 4 4 - 1 】

表44. 実施例21で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		15日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.349	1.000	0.246	1.000	0.152	1.00	0.330
群 2 (1.0 mg/kg の AD05193)	0.307	0.177	0.275	0.273	0.480	0.451	0.465	0.442
群 3 (1.0 mg/kg の AD05196)	0.176	0.072	0.120	0.052	0.181	0.053	0.186	0.107
群 4 (1.0 mg/kg の AD05462)	0.230	0.015	0.176	0.121	0.374	0.054	0.739	0.097
群 5 (1.0 mg/kg の AD05603)	0.186	0.060	0.242	0.033	0.529	0.170	0.645	0.134
群 6 (1.0 mg/kg の AD05604)	0.170	0.029	0.171	0.128	0.204	0.159	0.318	0.343
群 7 (1.0 mg/kg の AD05605)	0.149	0.026	0.127	0.036	0.222	0.036	0.304	0.018
群 8 (1.0 mg/kg の AD05606)	0.144	0.024	0.130	0.035	0.380	0.038	0.406	0.081
群 9 (1.0 mg/kg の AD05607)	0.166	0.032	0.095	0.046	0.137	0.049	0.194	0.084
群 10 (1.0 mg/kg の AD05608)	0.181	0.051	0.149	0.085	0.247	0.186	0.342	0.184
群 11 (1.0 mg/kg の AD05609)	0.120	0.008	0.118	0.031	0.223	0.047	0.210	0.109
群 12 (1.0 mg/kg の AD05610)	0.151	0.028	0.098	0.053	0.255	0.138	0.274	0.117
群 13 (1.0 mg/kg の AD05624)	0.165	0.072	0.595	0.582	0.912	1.128	0.391	0.306
	36日目							
群識別子	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)						
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.305						
群 2 (1.0 mg/kg の AD05193)	0.539	0.557						

10

20

30

40

50

【表 4 4 - 2】

群 3 (1.0 mg/kg の AD05196)	0.481	0.272			
群 4 (1.0 mg/kg の AD05462)	0.775	0.320			
群 5 (1.0 mg/kg の AD05603)	1.321	0.295			
群 6 (1.0 mg/kg の AD05604)	0.452	0.448			
群 7 (1.0 mg/kg の AD05605)	0.404	0.115			
群 8 (1.0 mg/kg の AD05606)	0.672	0.054			
群 9 (1.0 mg/kg の AD05607)	0.268	0.176			
群 10 (1.0 mg/kg の AD05608)	0.587	0.393			
群 11 (1.0 mg/kg の AD05609)	0.493	0.333			
群 12 (1.0 mg/kg の AD05610)	0.342	0.161			
群 13 (1.0 mg/kg の AD05624)	0.611	0.757			

【 0 2 8 8 】

( 実施例 2 2 )

カニクイザルにおける A S G R 1 R N A i 剤の *i n v i v o* 試験。

A S G R 1 R N A i 剤を、カニクイザルにおいて評価した。1 日目に、カニクイザル ( *Macaca fascicularis* ) 霊長類に、それぞれ、生理食塩水中に製剤化された、総用量 3 . 0 m g / k g で 1 0 . 0 m g / m L の A S G R 1 R N A i 剤 A D 0 5 2 0 9 、 A D 0 5 3 7 4 、 A D 0 5 6 0 9 、または A D 0 5 6 9 2 のいずれかを含む 0 . 3 m L / k g ( 動物の大きさに応じておよそ 2 ~ 3 m L 体積 ) の単回皮下注射を与えた。A S G R 1 R N A i 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の

10

20

30

40

50

5'末端にコンジュゲートされたN - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

【0289】

それぞれの群において2匹のサルに試験を行った。血液試料を採取し、8日目、15日目、22日目、29日目、および36日目に、ALPおよび標準的な臨床化学パネルについて、血清試料を分析した。実施例15に記載されるように、ALPは、ASGR1の低減およびASGR1遺伝子の阻害をモニタリングするための代理バイオマーカーとしての機能を果たす。血清中のALPレベルを、Cobas（登録商標）Integra 400（Roche Diagnostics）において、製造業者の推奨に従って測定した。

【0290】

実験から得られたデータを、以下の表45および46に示すが、これは、未加工のALP値（単位/L）ならびに個々の処置前レベルの平均に対して正規化したALPを報告する。

10

20

30

40

50



表45. 実施例22で得られたCobas（登録商標）によるカニクイザルからのALPLレベルは単位／Lで報告する）。

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP
3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルA)	342	427	616	750	707	754
3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルB)	253	323	410	521	573	520
3. 0mg/kgのAD05374(カニクイザルA)	298	345	406	420	420	415
3. 0mg/kgのAD05374(カニクイザルB)	225	292	397	402	367	338
3. 0mg/kgのAD05609(カニクイザルA)	320	365	428	475	542	532
3. 0mg/kgのAD05609(カニクイザルB)	214	299	380	481	427	371
3. 0mg/kgのAD05692(カニクイザルA)	320	370	405	406	388	430
3. 0mg/kgのAD05692(カニクイザルB)	110	144	186	182	175	148

【表 4 6 - 1】

表46. 実施例22で得られたCobas（登録商標）によるカニクイザルからの正規化されたALPレベル

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP
3. 0mg/kgのAD05209 (カニクイザルA)	1.00	1.25	1.80	2.19	2.07	2.20
3. 0mg/kgのAD05209 (カニクイザルB)	1.00	1.28	1.62	2.06	2.26	2.05
3. 0mg/kgのAD05374 (カニクイザルA)	1.00	1.16	1.36	1.41	1.41	1.39
3. 0mg/kgのAD05374 (カニクイザルB)	1.00	1.30	1.76	1.79	1.63	1.50
3. 0mg/kgのAD05609 (カニクイザルA)	1.00	1.14	1.34	1.49	1.70	1.66
3. 0mg/kgのAD05609 (カニクイザルB)	1.00	1.40	1.77	2.24	1.99	1.73

10

20

30

40

50

【表 4 6 - 2】

群識別子	平均投薬前 ALP	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP
3. 0mg/kgのAD05692(カニクイザルA)	1.00	1.16	1.27	1.27	1.21	1.35
3. 0mg/kgのAD05692(カニクイザルB)	1.00	1.31	1.69	1.65	1.59	1.35

10

20

30

## 【0292】

上述の表45および46に提示されているデータにおいて示されるように、RNAi剤のそれぞれは、カニクイザルにおける投与の後に、報告されるALPレベルの増加を示した。たとえば、3.0mg/kgのAD05209を投薬したカニクイザルの両方が、22日目、29日目、および36日目において、ベースラインと比較して、それぞれのALPレベルが2倍になった（たとえば、ベースラインと比較した比を示す表46を参照されたい）。

40

## 【0293】

(実施例23)

ASGR1-SEAPマウスにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

上述の実施例2において説明されているASGR1-SEAPマウスモデルを使用した。1日目に、それぞれのマウスに、1.0mg/kgのASGR1 RNAi剤を含有す

50

る 200  $\mu$ l、または対照として使用するために ASGR1 RNAi 剤を含まない 200  $\mu$ l の生理食塩水の単回皮下注射を、以下の表 47 に従って、行った。

【表 47】

表47. 実施例23のASGR1－SEAPマウスの投薬群。

群	RNAi剤および用量	投薬レジメン
1	生理食塩水(RNAi剤なし)	1日目に単回注射
2	1.0 mg/kg の AD05183	1日目に単回注射
3	1.0 mg/kg の AD05209	1日目に単回注射
4	1.0 mg/kg の AD05648	1日目に単回注射
5	1.0 mg/kg の AD05649	1日目に単回注射
6	1.0 mg/kg の AD05650	1日目に単回注射
7	1.0 mg/kg の AD05651	1日目に単回注射
8	1.0 mg/kg の AD05674	1日目に単回注射
9	1.0 mg/kg の AD05675	1日目に単回注射
10	1.0 mg/kg の AD05676	1日目に単回注射
11	1.0 mg/kg の AD05740	1日目に単回注射
12	1.0 mg/kg の AD05741	1日目に単回注射
13	1.0 mg/kg の AD05742	1日目に単回注射
14	1.0 mg/kg の AD05193	1日目に単回注射
15	1.0 mg/kg の AD05692	1日目に単回注射
16	1.0 mg/kg の AD05677	1日目に単回注射
17	1.0 mg/kg の AD05678	1日目に単回注射
18	1.0 mg/kg の AD05679	1日目に単回注射

【0294】

ASGR1 RNAi 剤のそれぞれは、表 4 および 5 に示されるように、センス鎖の 5' 末端にコンジュゲートされた N - アセチル - ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。注射は、首および肩の領域にわたる緩んだ皮膚に、皮膚と筋肉との間に行った（すなわち、皮下注射）。それぞれの群において 3 匹のマウスに試験を行った（n = 3 匹）。8 日目、15 日目、22 日目、および 29 日目に血清を採取し、SEAP 発現レベルを、上述の実施例 2 に記載されている手順に従って判定した。実験から得られたデータを、以下の表 48 に示すが、これは、処置前および対照に対して正規化した SEAP の正規化した平均値を反映する平均 SEAP を示し、以下の表 49 には、処置前のレベルに対してのみ正規化した SEAP の正規化した平均値を反映する平均 SEAP を示す。

10

20

30

40

50

表48. 実施例23で得られたASGR1－SEAPマウスにおける処置前および生理食塩水対照に対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目			15日目			22日目			29日目		
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)		平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	
群 1 (生理食塩水)	1.000	0.326		1.000	0.281		1.000	0.554		1.000	0.346	
群 2 (1.0 mg/kg の AD05183)	0.658	0.363		0.276	0.142		0.379	0.177		0.534	0.180	
群 3 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.290	0.104		0.272	0.236		0.300	0.302		0.467	0.387	
群 4 (1.0 mg/kg の AD05648)	0.476	0.242		0.317	0.186		0.270	0.199		0.332	0.183	
群 5 (1.0 mg/kg の AD05649)	0.215	0.119		0.121	0.099		0.174	0.156		0.353	0.312	
群 6 (1.0 mg/kg の AD05650)	0.390	0.119		0.210	0.060		0.274	0.104		0.408	0.147	
群 7 (1.0 mg/kg の AD05651)	0.316	0.198		0.189	0.116		0.343	0.154		0.943	0.275	
群 8 (1.0 mg/kg の AD05674)	0.506	0.228		0.341	0.308		0.500	0.166		0.917	0.389	
群 9 (1.0 mg/kg の AD05675)	0.337	0.040		0.158	0.059		0.251	0.221		0.470	0.453	
群 10 (1.0 mg/kg の AD05676)	0.451	0.195		0.273	0.122		0.317	0.100		0.795	0.549	
群 11 (1.0 mg/kg の AD05740)	0.345	0.217		0.258	0.170		0.266	0.201		0.368	0.247	
群 12 (1.0 mg/kg の AD05741)	0.241	0.014		0.136	0.073		0.175	0.100		0.288	0.180	
群 13 (1.0 mg/kg の AD05742)	0.294	0.076		0.210	0.138		0.405	0.285		0.641	0.387	
群 14 (1.0 mg/kg の AD05193)	0.237	0.094		0.096	0.060		0.137	0.115		0.242	0.157	
群 15 (1.0 mg/kg の AD05692)	0.468	0.285		0.304	0.325		0.545	0.497		0.718	0.902	
群 16 (1.0 mg/kg の AD05677)	0.353	0.097		0.205	0.208		0.387	0.380		0.588	0.580	
群 17 (1.0 mg/kg の AD05678)	0.274	0.065		0.236	0.143		0.309	0.286		0.715	0.568	
群 18 (1.0 mg/kg の AD05679)	0.348	0.049		0.195	0.122		0.260	0.138		0.271	0.085	

【表 4 9】

表49. 実施例23で得られたASGR1-SEAPマウスにおける処置前のみに対して正規化した平均SEAP。

群識別子	8日目		15日目		22日目		29日目	
	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)	平均 SEAP	標準偏差 (+/-)
群1 (生理食塩水)	0.756	0.247	0.574	0.161	0.421	0.233	0.400	0.138
群2 (1.0 mg/kg の AD05183)	0.497	0.275	0.159	0.081	0.160	0.075	0.214	0.072
群3 (1.0 mg/kg の AD05209)	0.220	0.079	0.156	0.136	0.126	0.127	0.187	0.155
群4 (1.0 mg/kg の AD05648)	0.360	0.183	0.182	0.107	0.114	0.084	0.133	0.073
群5 (1.0 mg/kg の AD05649)	0.162	0.090	0.070	0.057	0.073	0.066	0.141	0.125
群6 (1.0 mg/kg の AD05650)	0.295	0.090	0.120	0.034	0.115	0.044	0.163	0.059
群7 (1.0 mg/kg の AD05651)	0.239	0.150	0.109	0.067	0.145	0.065	0.377	0.110
群8 (1.0 mg/kg の AD05674)	0.382	0.172	0.196	0.177	0.211	0.070	0.367	0.156
群9 (1.0 mg/kg の AD05675)	0.255	0.031	0.091	0.034	0.106	0.093	0.188	0.181
群10 (1.0 mg/kg の AD05676)	0.341	0.147	0.157	0.070	0.133	0.042	0.318	0.220
群11 (1.0 mg/kg の AD05740)	0.261	0.164	0.148	0.098	0.112	0.085	0.147	0.099
群12 (1.0 mg/kg の AD05741)	0.182	0.010	0.078	0.042	0.074	0.042	0.115	0.072
群13 (1.0 mg/kg の AD05742)	0.240	0.062	0.130	0.085	0.186	0.130	0.267	0.161
群14 (1.0 mg/kg の AD05193)	0.194	0.077	0.059	0.037	0.063	0.052	0.101	0.065
群15 (1.0 mg/kg の AD05692)	0.382	0.232	0.187	0.200	0.250	0.228	0.299	0.375
群16 (1.0 mg/kg の AD05677)	0.288	0.079	0.126	0.128	0.177	0.174	0.245	0.241
群17 (1.0 mg/kg の AD05678)	0.224	0.053	0.145	0.088	0.142	0.131	0.297	0.236
群18 (1.0 mg/kg の AD05679)	0.263	0.037	0.112	0.070	0.109	0.058	0.113	0.035

【0 2 9 6】

(実施例24)

カニクイザルにおけるASGR1 RNAi剤のin vivo試験。

ASGR1 RNAi剤を、カニクイザルにおいてASGR1 mRNAレベルの低減に関して評価した。1日目に、雌性のカニクイザル(Macaca fascicularis)霊長類(「カニクイザル」)に、それぞれ、生理食塩水中に製剤化された、総用量3.0 mg/kgで10.0 mg/mLのASGR1 RNAi剤AD05193またはAD05209のいずれかを含む0.3 mL/kg(動物の大きさに応じておよそ2~3 mL体積)の単回皮下注射を与えた。ASGR1 RNAi剤のそれぞれは、表4、5、

10

20

30

40

50

および6に示されるように、(NAG37)sの構造を有する、センス鎖の5'末端にコンジュゲートされたN-アセチル-ガラクトサミン標的化リガンドを含んでいた。

【0297】

それぞれの群において4匹のサルに試験を行った。-7日目(処置前)、15日目、29日目、43日目、および57日目に、肝臓生検を採取した。それぞれの生検採取の日に、カニクイザルを、麻酔し、超音波ガイド下肝臓生検を行って、肝臓組織試料を抽出した。中葉からおよそ100mgの肝臓試料を採取し、RNA単離のために液体窒素中で瞬間凍結させた。生検試料を、次いで、ホモジナイズし、カニクイザル肝臓におけるASGR1 mRNAのレベルを、RT-qPCRによって測定した。結果として得られた値を、次に、C<sub>T</sub>方法を使用して、投薬前(この事例では、-7日目)のASGR1 mRNA測定値に対して正規化し、これは、以下の表50に反映されている。

10

【0298】

加えて、-14日目、-1日目、1日目(投薬前)、8日目、15日目、22日目、29日目、36日目、43日目、57日目、71日目、および85日目に、血清試料を採取し、それぞれの日の血清中のALPレベルを、Cobas(登録商標)Integra 400(Roche Diagnostics)において、製造業者の推奨に従って測定し、これを、以下の表51および52に報告する。

20

30

40

50

【 表 5 0 】

表50. 実施例24で得られた投薬前(ー7日目)と比べたASGR1 mRNAの発現レベル

群	15日目			29日目			43日目			57日目		
	平均相対 ASGR1 mRNA 発現	低い方 の誤差	高い方 の誤差	平均相対 ASGR1 mRNA 発現	低い方 の誤差	高い方 の誤差	平均相対 ASGR1 mRNA 発現	低い方 の誤差	高い方 の誤差	平均相対 ASGR1 mRNA 発現	低い方 の誤差	高い方 の誤差
AD05193	0.292	0.057	0.071	0.284	0.128	0.233	0.248	0.383	0.151	0.598	0.295	0.197
AD05209	0.237	0.055	0.071	0.286	0.041	0.048	0.237	0.068	0.095	0.421	0.233	0.150

【 0 2 9 9 】

10

20

30

40

50



【 表 5 1 】

表51. 実施例24で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルにおける群ごとの正規化されたALPレベル(投薬前に対して正規化)。

群識別子	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP	57日目の ALP	71日目の ALP	85日目の ALP
AD05193 (3.0 mg/kg)	1.44	2.08	2.27	2.60	2.33	2.33	2.09	1.49	1.47
AD05209 (3.0 mg/kg)	1.56	1.99	2.07	2.08	2.01	1.94	1.59	1.34	1.26

【 0 3 0 0 】

10

20

30

40

50

【 表 5 2 - 1 】

表52. 実施例24で得られたCobas(登録商標)によるカニクイザルにおける正規化されたALPレベル(投薬前に対して正規化)。

群識別子	8日目の ALP	15日目の ALP	22日目の ALP	29日目の ALP	36日目の ALP	43日目の ALP	57日目の ALP	71日目の ALP	85日目の ALP
3. 0mg/kgのAD05193(カニクイザルA)	1.48	2.09	2.54	2.74	2.25	1.89	1.81	1.16	1.21
3. 0mg/kgのAD05193(カニクイザルB)	1.51	2.61	2.39	2.88	2.54	2.44	2.15	1.54	1.53
3. 0mg/kgのAD05193(カニクイザルC)	1.42	1.62	1.91	1.99	1.95	2.04	2.04	1.46	1.40
3. 0mg/kgのAD05193(カニクイザルD)	1.37	2.00	2.24	2.77	2.60	2.97	2.34	1.82	1.73
3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルA)	1.68	1.89	2.39	2.13	2.41	1.83	1.50	1.27	1.16

10

20

30

40

50

【表 5 2 - 2】

3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルB)	1.40	1.66	1.50	1.31	1.17	1.17	1.05	1.00	0.96
3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルC)	1.79	2.45	2.48	2.55	2.44	2.51	1.84	1.50	1.51
3. 0mg/kgのAD05209(カニクイザルD)	1.36	1.94	1.91	2.32	2.01	2.23	1.95	1.60	1.43

10

20

30

40

## 【 0 3 0 1】

両方の群におけるカニクイザルが、測定したすべての時点において、処置前の測定値と比較して、肝臓特異的ASGR1 mRNAの有意な低減を示した。43日目には、投薬前のレベルと比較して、たとえば、群1(AD05193)のカニクイザルは、ASGR1 mRNAのおよそ75.2%(0.248)の低減を有し、一方で、群2(AD05209)のカニクイザルは、およそ76.3%(0.237)の低減を有した。

## 【 0 3 0 2】

他の実施形態

本発明は、その詳細な説明とともに記載されているが、前述の説明は、例示を意図する

50

ものであり、添付の特許請求の範囲によって定められる本発明の範囲を制限することを意図するものではないことを理解されたい。他の態様、利点、および修正が、以下の特許請求の範囲内に含まれる。

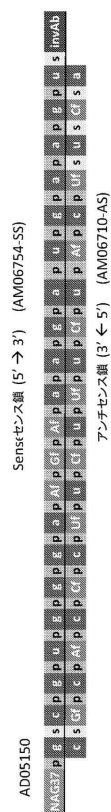
【図面】

【 図 1 A 】



**FIG. 1A**

【 図 1 B 】



**FIG. 1B**

10

20

30

40

50

【 1 C 】

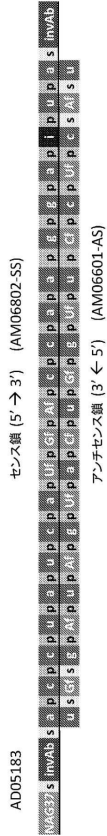


FIG. 1C

【 1 D 】



FIG. 1D

【 1 E 】

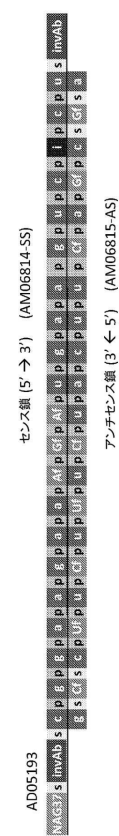


FIG. 1E

【 1 F 】

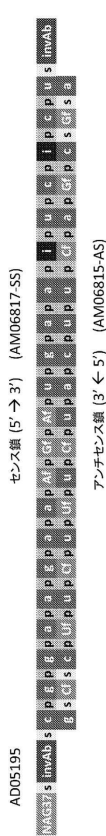


FIG. 1F

10

20

30

40

50



【 図 1 K 】

センス鎖 (5' → 3') (AM07110-SS)

アンチセンス鎖 (3' ← 5') (AM06601-AS)

FIG. 1K

【 図 1 L 】

センス鎖 (5' → 3') (AM07395-SS)

アンチセンス鎖 (3' ← 5') (AM07396-AS)

FIG. 1L

【圖 1 M】

センス鎖 (5' → 3') (AM07500-SS)

アンチセンス鎖 (3' ← 5') (AM07501-AS)

**FIG. 1M**

【圖 2 A】

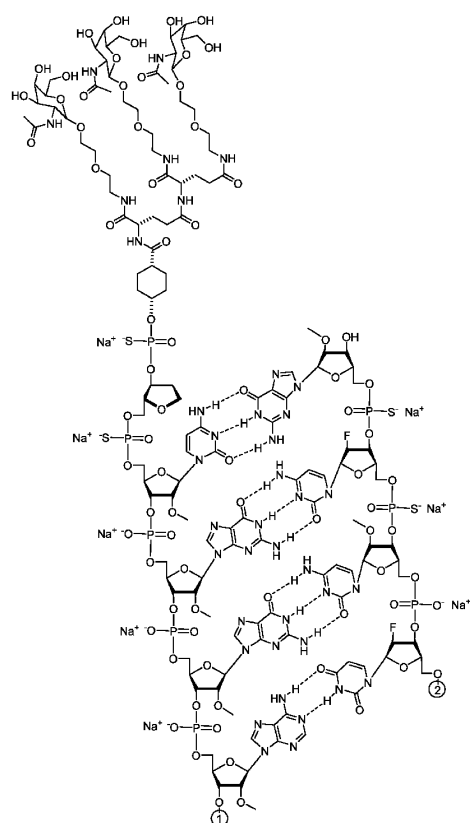


FIG. 2A

【図 2 B】

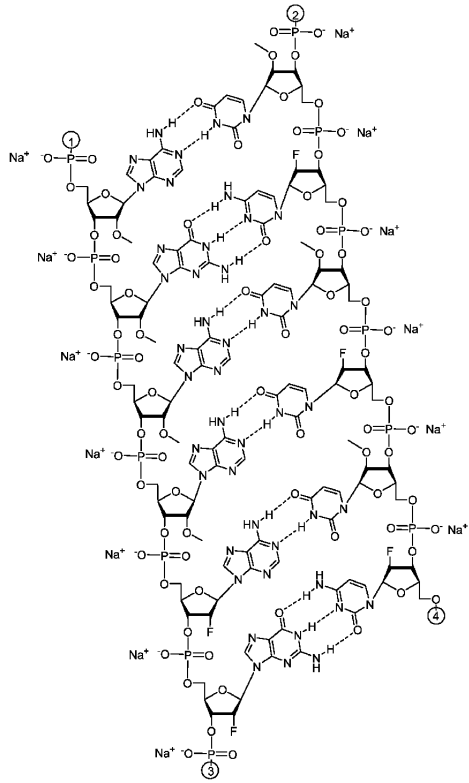


FIG. 2B

【図 2 C】

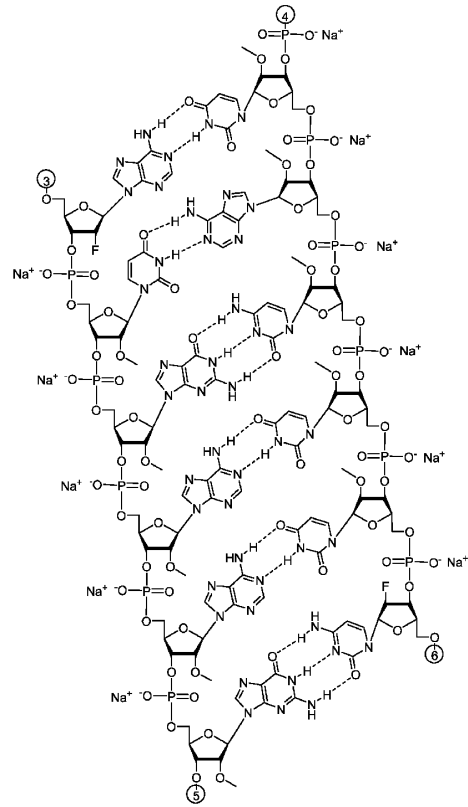


FIG. 2C

【図 2 D】

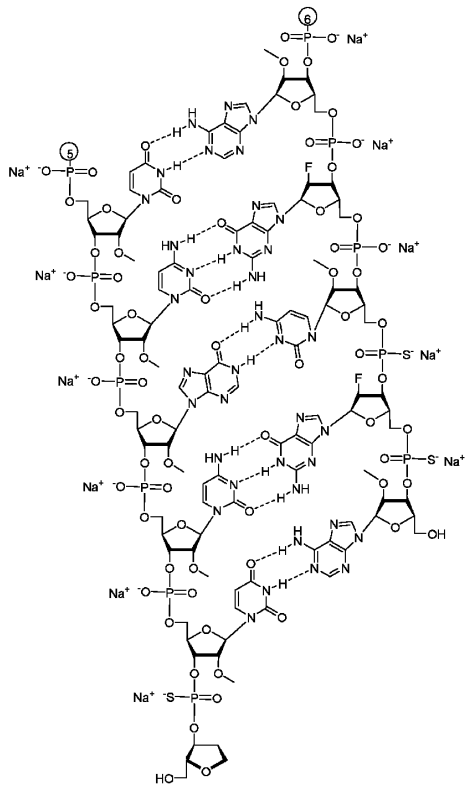


FIG. 2D

【図 3 A】

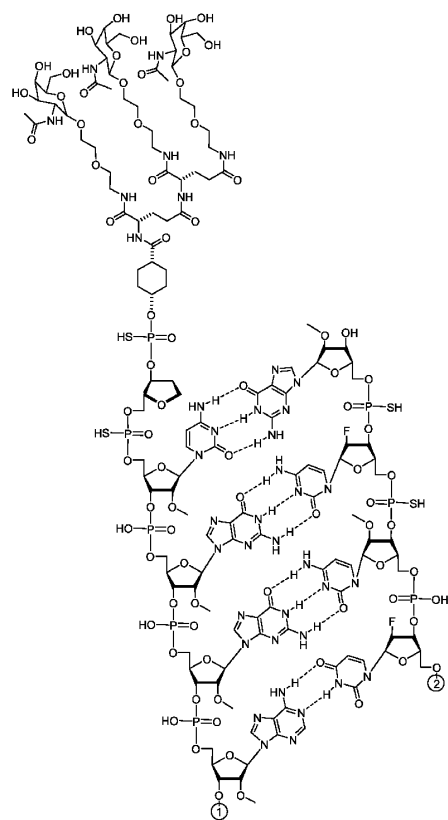


FIG. 3A

10

20

30

40

50



【図 3 B】

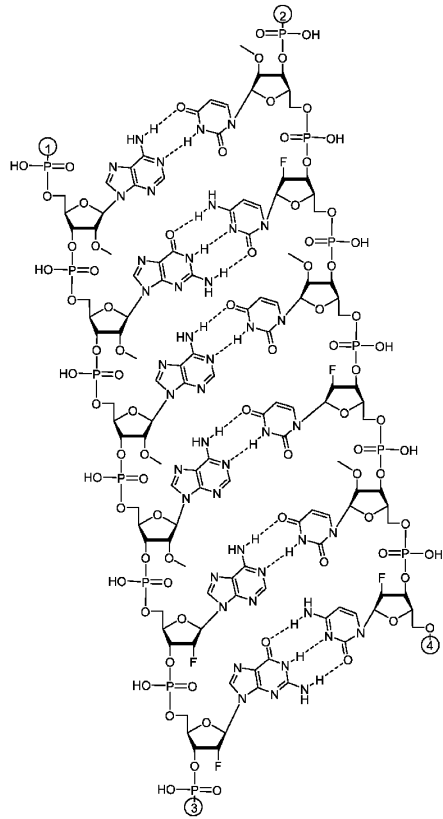


FIG. 3B

【図 3 C】

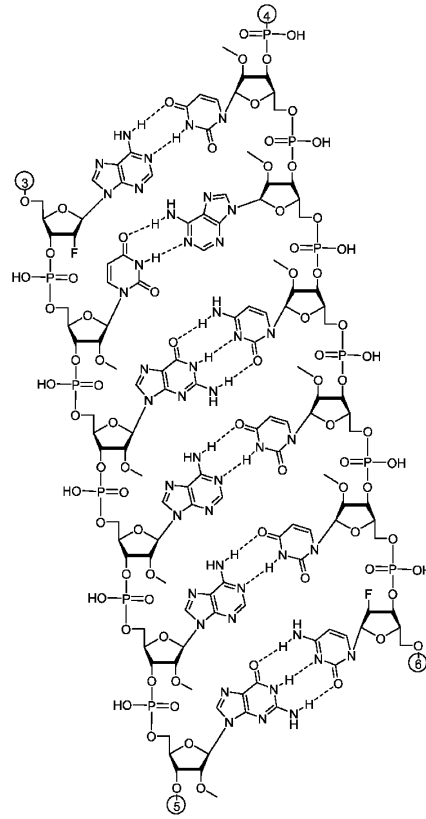


FIG. 3C

【図 3 D】

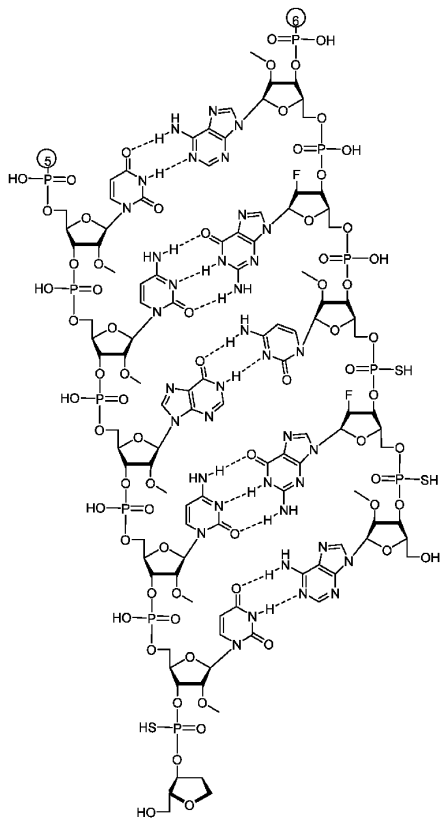


FIG. 3D

【図 4 A】

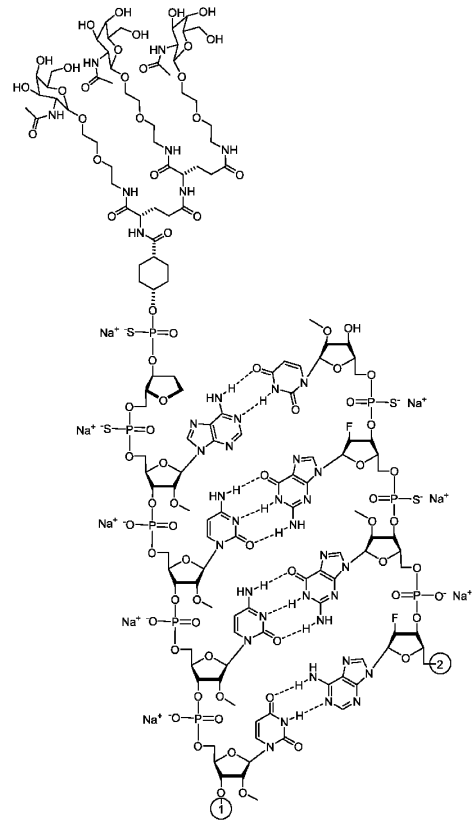


FIG. 4A

10

20

30

40

50

【 図 4 B 】

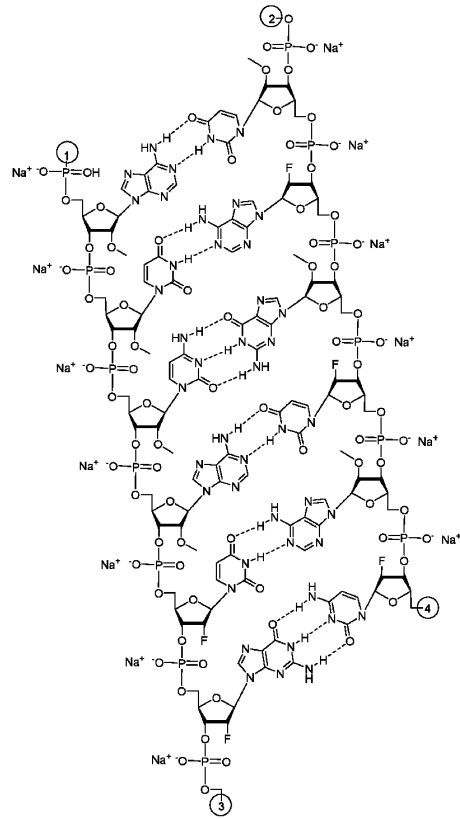


FIG. 4B

【 図 4 C 】

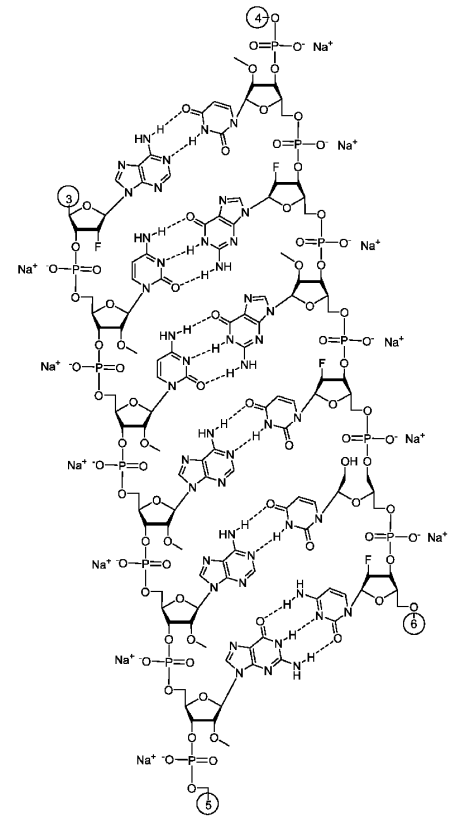


FIG. 4C

【 図 4 D 】

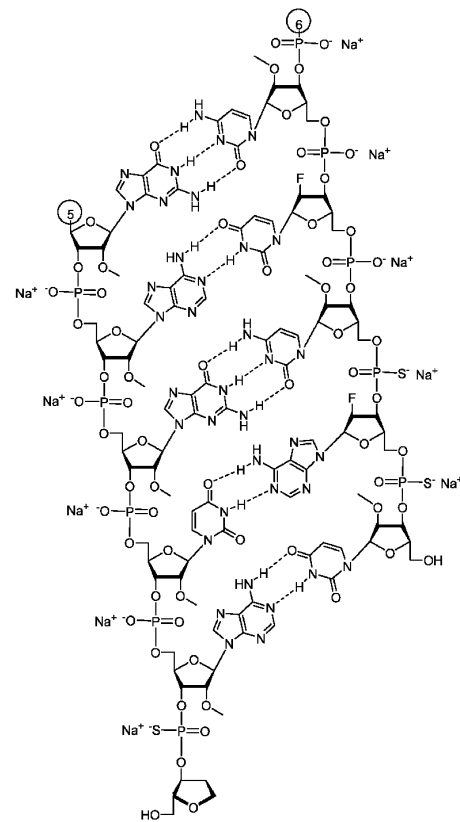


FIG. 4D

【 図 5 A 】

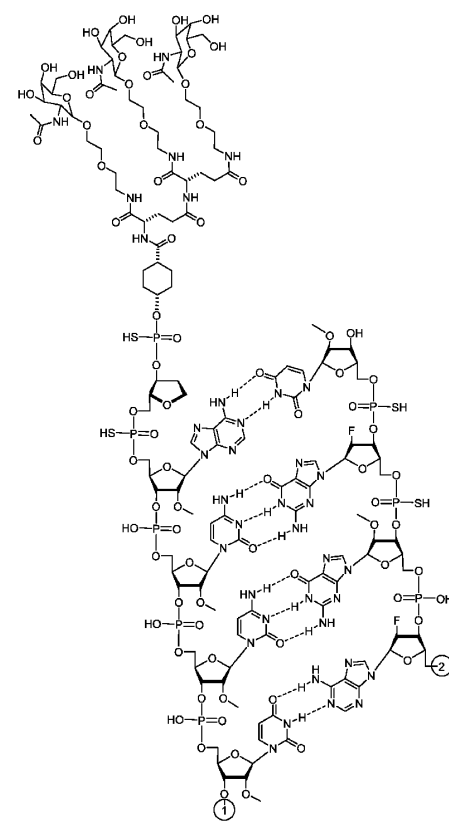


FIG. 5A

10

20

30

40

50

【 図 5 B 】

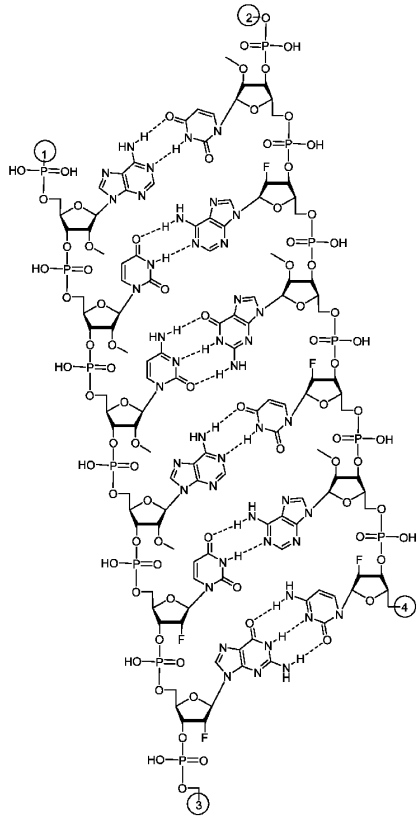


FIG. 5B

【 図 5 C 】

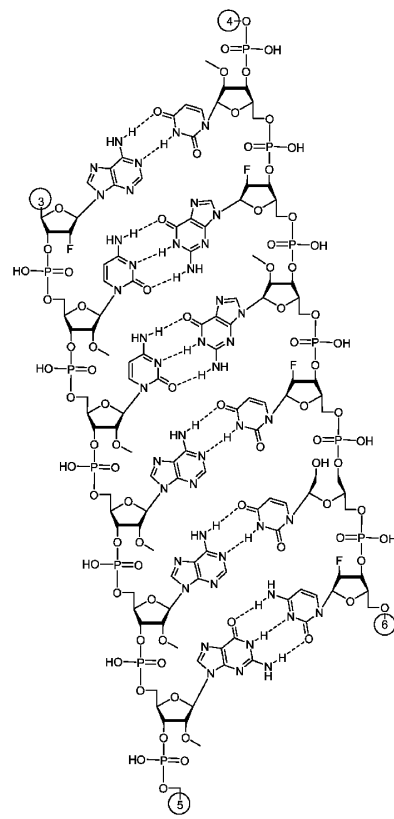


FIG. 5C

【 図 5 D 】

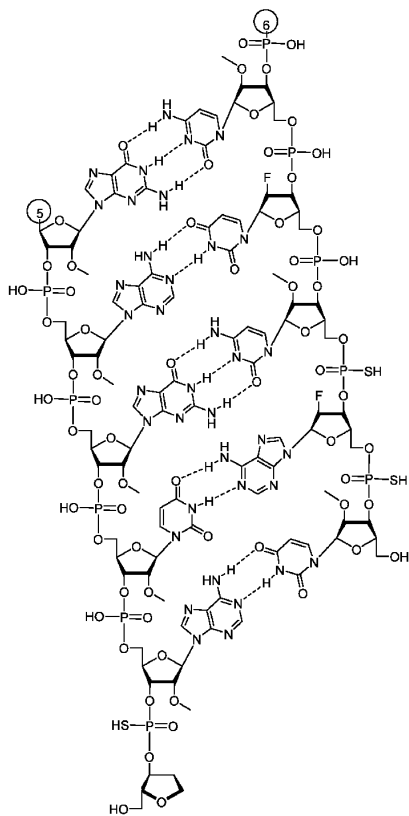


FIG. 5D

10

20

30

40

50

【配列表】

0007473472000001.app

10

20

30

40

50

## フロントページの続き

## (51)国際特許分類

## F I

A 6 1 P	3/04 (2006.01)	A 6 1 P	43/00	1 1 1
A 6 1 P	3/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/04	
A 6 1 P	3/06 (2006.01)	A 6 1 P	3/00	
A 6 1 P	9/10 (2006.01)	A 6 1 P	3/06	
A 6 1 P	3/10 (2006.01)	A 6 1 P	9/10	1 0 1
A 6 1 P	9/00 (2006.01)	A 6 1 P	3/10	
A 6 1 P	9/04 (2006.01)	A 6 1 P	9/00	
A 6 1 K	31/713(2006.01)	A 6 1 P	9/04	
		A 6 1 P	9/10	
		A 6 1 K	31/713	
		C 1 2 N	15/113	Z N A

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

## (31)優先権主張番号 62/573,206

## (32)優先日 平成29年10月17日(2017.10.17)

## (33)優先権主張国・地域又は機関

米国(US)

弁理士 池田 達則

## (74)代理人 100182730

弁理士 大島 浩明

## (72)発明者 リ, ゼン

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 7 1 9 , マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2 ,  
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

## (72)発明者 ペイ, タオ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 7 1 9 , マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2 ,  
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

## (72)発明者 ジュー, ルイ

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 7 1 9 , マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2 ,  
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

## (72)発明者 ギブン, ブルース ディー.

アメリカ合衆国 ウィスコンシン 5 3 7 1 9 , マディソン, エス. ローザ ロード 5 0 2 ,  
アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

## (72)発明者 メルクイスト, ステイシー

アメリカ合衆国 カリフォルニア 9 1 1 0 5 , パサデナ, イースト コロラド ブールバード 1  
7 7 , スイート 7 0 0 , アローヘッド ファーマシューティカルズ, インコーポレイテッド

審査官 太田 雄三

## (56)参考文献 特表 2 0 1 9 - 5 2 4 1 5 1 ( J P , A )

国際公開第 2 0 1 7 / 0 5 8 9 4 4 ( W O , A 1 )

## (58)調査した分野 (Int.Cl., D B 名)

C 1 2 N 1 5 / 0 0

J S T P l u s / J M E D P l u s / J S T 7 5 8 0 ( J D r e a m I I I )

C A p l u s / M E D L I N E / E M B A S E / B I O S I S ( S T N )