

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **201201457** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2013.04.30

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)
A61P 3/12 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2011.04.20

(54) **ОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С БЕТА-СУБЪЕДИНИЦЕЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ**

(31) 61/327,379; 61/333,398

(32) 2010.04.23; 2010.05.11

(33) US

(86) PCT/EP2011/056299

(87) WO 2011/131707 2011.10.27

(71) Заявитель:
НОВАРТИС АГ (CH)

(57) В заявке описывают агенты РНКи, применимые в способах лечения заболеваний, связанных с β -ENaC, например муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и гипертонии, связанной с ожирением, используя терапевтически эффективное количество агента РНКи к β -ENaC.

(72) Изобретатель:
Де-Фужероль Антонен, Динер
Джон Л. (US), Хикман Эмма (GB),
Хинкле Грегори, Милстейн Стюарт,
Пюлишино Анн-Мари, Спраге
Эндрю (US)

(74) Представитель:
Медведев В.Н., Павловский А.Н. (RU)

201201457
A1

201201457
A1

5

10

15

Заявка № 201201457

Заявитель Новартис АГ, СН

20

ОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ,
СВЯЗАННЫХ С БЕТА-СУБЪЕДИНИЦЕЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НАТРИЕВЫХ
КАНАЛОВ

25

По настоящей заявке испрашивается приоритет в соответствии с разделом 35 Свода законов США §119 (а)-(г) на основе предварительной заявки на патент США US 61/327379, поданной 23 апреля 2003 г., и предварительной заявки на патент США 61/333398, поданной 11 мая 2010 г., содержание которых полностью включено в настоящее изобретение.

Предпосылки создания изобретения

30

Слизистая поверхность между окружающей средой и организмом обладает многими защитными механизмами. Одна из форм защиты заключается в увлажнении поверхности. Количество жидкости является показателем баланса между секрецией жидкости эпителием (которая часто отражает секрецию аниона, связанную с водой и катионным противоионом) и абсорбцией жидкости (которая часто отражает абсорбцию Na^+ , связанную с водой и анионным

противоионом). Многие заболевания слизистых поверхностей возникают из-за слишком малого количества жидкости, вызванного нарушением баланса между секрецией (слишком малой) и абсорбцией (слишком большой). Один из способов поддержания баланса жидкостного слоя заключается в снижении абсорбции жидкости, опосредованной Na^+ -каналом.

Потенциал-независимые чувствительные к амилориду натриевые каналы контролируют транспорт жидкости и электролитов через эпителий во многих органах. Апикальные мембраны многих форм эпителия с низкой проницаемостью межклеточных путей имеют натриевые каналы, которые главным образом отличаются высоким сродством к диуретическому блокатору амилориду. Эти каналы опосредуют первую стадию активной натриевой реабсорбции, важной для поддержания солевого и водного гомеостаза. У позвоночных эти каналы контролируют реабсорбцию натрия в почках, толстой кишке, легких и потовых железах; они также участвуют во вкусовом восприятии.

Стадия ограничения скорости абсорбции Na^+ и жидкости опосредуется эпителиальным натриевым каналом (epithelial Na^+ channel – ENaC). Такие натриевые каналы являются гетеромерными комплексами, состоящими из трех субъединиц: Alpha-ENaC, Beta-ENaC и Gamma-ENaC.

Ген Beta-ENaC (также обозначаемый SCNN1B) кодирует бета-субъединицу натриевого канала, и мутации этого гена и/или его измененная экспрессия связаны с несколькими заболеваниями (и/или с лечением этих заболеваний), включая муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА1), синдром Лиддла, гипертонию, алкалоз, гипокалиемую и гипертонию, связанную с ожирением.

Таким образом, существует потребность в лечении заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (Beta-ENaC).

Краткое описание изобретения

Настоящее описание охватывает агенты РНКи к Beta-ENaC, которые применимы для лечения заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (Beta-ENaC), например, муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и ожирения, связанного с гипертонией. Настоящее

описание охватывает способ лечения человека с патологическим состоянием, опосредованным, по меньшей мере, частично экспрессией alpha-ENaC, который включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи к Beta-ENaC.

5 Настоящее описание представляет специфические агенты РНКи и способы, применимые для снижения уровней Beta-ENaC у субъекта, например, млекопитающего, например, человека. Настоящее описание специфически представляет двухцепочечные агенты РНКи, включающие по меньшей мере 15 или более последовательно расположенных нуклеотидов Beta-ENaC. В частности
10 настоящее описание предусматривает агенты, включающие последовательности из 15 или более последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательностей агентов РНКи, представленных, например, в табл.1. Агенты РНКи в частности в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения могут включать менее 30 нуклеотидов в
15 цепи, например, 18-23 нуклеотида, и/или 19-21 нуклеотид, и/или, например, нуклеотиды, предусмотренные в табл. 1.

Двухцепочечные агенты РНКи могут иметь тупые концы или выступы из 1, 2, 3 или 4 нуклеотидов (т.е. 1-4 нуклеотида) с одного или обоих 3'- и/или 5'-
20 концов. Двухцепочечные агенты РНКи также могут необязательно включать один или два 3'-кэпа и/или один или несколько модифицированных нуклеотидов. К предусмотренным в настоящем изобретении модифицированным вариантам относятся те, которые в другом отношении идентичны, но содержат замещения природного нуклеотида на соответствующий модифицированный нуклеотид.

25 Кроме того, агент РНКи может состоять только из природных рибонуклеотидных субъединиц, или из одной или нескольких замещающих нуклеотидных субъединиц, содержащих одну или несколько модификаций по сахару, фосфату или основанию, независимо от того, включает ли он рибонуклеотидные субъединицы или дезоксирибонуклеотидные субъединицы. В
30 одном из вариантов осуществления настоящего изобретения модифицированные варианты описанных агентов РНКи включают агенты РНКи с той же последовательностью, но с одной или несколькими модификациями по одному или нескольким сахарам, фосфатам или основаниям одной или нескольких

нуклеотидных субъединиц. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения модификации улучшают эффективность, стабильность и/или снижают иммуногенность агента РНКи. Один из объектов по настоящему изобретению относится к двухцепочечному олигонуклеотиду, включающему по меньшей мере одно неприродное нуклеиновое основание. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения неприродным нуклеиновым основанием является дифтортолил, нитроиндолил, нитропирролил или нитроимидазолил. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения неприродным нуклеиновым основанием является дифтортолил. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения только одна из двух олигонуклеотидных цепей содержит неприродное нуклеиновое основание.

Агент (агенты) РНКи могут быть необязательно присоединены к лиганду, выбранному для улучшения одного или нескольких признаков, например, стабильности, распределения и/или потребления клеткой агента, например, холестерина или его производного. Агент (агенты) РНКи могут быть представлены отдельно или в виде части фармацевтической композиции, используемой в способах, описанных в настоящем изобретении. Особым образом фармацевтическая композиция может быть переработана для доставки в легкие или носовой проход, или переработана для парентерального введения. Фармацевтические композиции могут необязательно включать два или несколько агентов РНКи, каждый из которых направлен на один и тот же, или на разные сегменты иРНК Beta-ENaC. Необязательно фармацевтические композиции могут дополнительно включать или использоваться вместе с каким-либо известным лечением какого-либо заболевания, связанного с Beta-ENaC.

Настоящее изобретение дополнительно предусматривает способы снижения уровня иРНК Beta-ENaC в клетке, особенно в случае заболевания, отличающегося сверхэкспрессией или гиперактивностью ENaC. Настоящее изобретение также предусматривает способ лечения человека с патологическим состоянием, опосредованным по меньшей мере частично экспрессией Beta-ENaC, который включает стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи Beta-ENaC. Такие способы включают стадию введения одного из агентов РНКи по настоящему изобретению субъекту согласно описанному ниже. Настоящие способы используют клеточные

механизмы, участвующие в РНК-интерференции, для избирательного разрушения РНК-мишени в клетке и включаются на стадии контакта клеток с одним из агентов РНКи по настоящему изобретению. Такие способы могут быть выполнены непосредственно на клетках или на млекопитающих путем введения субъекту одного из агентов РНКи/фармацевтических композиций по настоящему изобретению. Снижение РНК-мишени Beta-ENaC в клетке приводит к снижению количества вырабатываемого кодированного белка Beta-ENaC. В организме это может привести к снижению возможной дифференциации эпителия, сбалансированной абсорбции жидкости и повышенного клиренса реснитчатого эпителия.

К способам и композициям по настоящему изобретению относятся, например, способы и композиции агента РНКи к Beta-ENaC, которые могут применяться в каких-либо дозах и/или с каким-либо составом, описанным в настоящем изобретении, а также с каким-либо способом введения, описанным в настоящем изобретении.

Детали одного или нескольких вариантов осуществления настоящего изобретения приведены ниже вместе с фигурами и описанием. Другие признаки, объекты и преимущества настоящего изобретения могут быть поняты яснее, благодаря представленному в настоящем описании, фигурах, а также в формуле изобретения.

Краткое описание фигур

Фиг. 1А и 1Б представляют способность агентов РНКи AD20807, AD20826, AD20832, AS20834, AD20848 и AD20861 вызывать нокдаун действия Beta-ENaC *in vivo*.

Фиг. 2А, 2Б и 2В представляют *in vitro* воздействие агента РНКи Beta-ENaC AD20832 на функциональную активность канала ENaC в эпителиальных клетках бронхов человека.

Подробное описание изобретения

Настоящее описание охватывает агенты РНКи к Beta-ENaC, которые могут быть применены для лечения заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC) (например, заболеваний, ассоциированных с мутациями и/или с измененными экспрессией, уровнем и/или действием Beta-ENaC, и/или заболеваний, которые поддаются лечению путем

модулирования экспрессии, уровня и/или действия Beta-ENaC), например, муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и гипертонии, связанной с ожирением.

Настоящее изобретение также предусматривает способы лечения человека с патологическим состоянием, опосредованным по меньшей мере частично экспрессией Beta-ENaC, включающие стадию введения субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи Beta-ENaC.

К различным вариантам осуществления настоящего изобретения относятся:

Агент РНКи, содержащий описанную в настоящем изобретении

антисмысловую цепь.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного в отношении Beta-ENaC (или какого-либо набора перекрывающихся агентов РНКи, специфичных в отношении Beta-ENaC), предусмотренного, например, в табл.1. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи из какой-либо последовательности, предусмотренной в настоящем изобретении. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий первую цепь и вторую цепь, причем первая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности первой цепи, и вторая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности второй цепи какого-либо агента РНКи, предусмотренного в настоящем изобретении.

К определенным дуплексам относятся приводимые ниже дуплексы, причем каждый дуплекс включает комплект последовательностей, в котором первая

последовательность SEQ ID NO соответствует первой цепи (например, смысловой цепи), и вторая последовательность SEQ ID NO соответствует второй цепи (например, антисмысловой цепи): AD-20805 (последовательности SEQ ID NO: 111 и 112); AD-20806 (последовательности: 113 и 114); AD-20807 (последовательности: 115 и 116); AD-20808 (последовательности: 117 и 118); AD-20809 (последовательности: 119 и 120); AD-20810 (последовательности: 121 и 122); AD-20811 (последовательности: 123 и 124); AD-20812 (последовательности: 125 и 126); AD-20813 (последовательности: 127 и 128); AD-20814 (последовательности: 129 и 130); AD-20815 (последовательности: 131 и 132); AD-20816 (последовательности: 133 и 134); AD-20817 (последовательности: 135 и 136); AD-20818 (последовательности: 137 и 138); AD-20819 (последовательности: 139 и 140); AD-20820 (последовательности: 141 и 142); AD-20821 (последовательности: 143 и 144); AD-20822 (последовательности: 145 и 146); AD-20823 (последовательности: 147 и 148); AD-20824 (последовательности: 149 и 150); AD-20825 (последовательности: 151 и 152); AD-20826 (последовательности: 153 и 154); AD-20827 (последовательности: 155 и 156); AD-20828 (последовательности: 157 и 158); AD-20829 (последовательности: 159 и 160); AD-20830 (последовательности: 161 и 162); AD-20831 (последовательности: 163 и 164); AD-20832 (последовательности: 165 и 166); AD-20833 (последовательности: 167 и 168); AD-20834 (последовательности: 169 и 170); AD-20835 (последовательности: 171 и 172); AD-20836 (последовательности: 173 и 174); AD-20837 (последовательности: 175 и 176); AD-20838 (последовательности: 177 и 178); AD-20839 (последовательности: 179 и 180); AD-20840 (последовательности: 181 и 182); AD-20841 (последовательности: 183 и 184); AD-20842 (последовательности: 185 и 186); AD-20843 (последовательности: 187 и 188); AD-20844 (последовательности: 189 и 190); AD-20845 (последовательности: 191 и 192); AD-20846 (последовательности: 193 и 194); AD-20847 (последовательности: 195 и 196); AD-20848 (последовательности: 197 и 198); AD-20849 (последовательности: 199 и 200); AD-20850 (последовательности: 201 и 202); AD-20851 (последовательности: 203 и 204); AD-20852 (последовательности: 205 и 206); AD-20861 (последовательности: 207 и 208); AD-20862 (последовательности: 209 и 210); AD-20863 (последовательности: 211

и 212); AD-20864 (последовательности: 213 и 214); AD-20865 (последовательности: 215 и 216); AD-20866 (последовательности: 217 и 218); и AD-20867 (последовательности: 219 и 220) и их модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения

5 предусматривают модифицированные варианты определенных дуплексов, причем каждый дуплекс включает комплекс последовательностей SEQ ID NO, в котором первая последовательность SEQ ID NO соответствует первой цепи (например, смысловой цепи), и вторая последовательность SEQ ID NO соответствует второй цепи (например, антисмысловой цепи), которые выбраны

10 из группы, состоящей из дуплексов: AD-20805 (последовательности: 1 и 2); AD-20806 (последовательности: 3 и 4); AD-20807 (последовательности: 5 и 6); AD-20808 (последовательности: 7 и 8); AD-20809 (последовательности: 9 и 10); AD-20810 (последовательности: 11 и 12); AD-20811 (последовательности: 13 и 14); AD-20812 (последовательности: 15 и 16); AD-20813 (последовательности: 17 и

15 18); AD-20814 (последовательности: 19 и 20); AD-20815 (последовательности: 21 и 22); AD-20816 (последовательности: 23 и 24); AD-20817 (последовательности: 25 и 26); AD-20818 (последовательности: 27 и 28); AD-20819 (последовательности: 29 и 30); AD-20820 (последовательности: 31 и 32); AD-20821 (последовательности: 33 и 34); AD-20822 (последовательности: 35 и 36);

20 AD-20823 (последовательности: 37 и 38); AD-20824 (последовательности: 39 и 40); AD-20825 (последовательности: 41 и 42); AD-20826 (последовательности: 43 и 44); AD-20827 (последовательности: 45 и 46); AD-20828 (последовательности: 47 и 48); AD-20829 (последовательности: 49 и 50); AD-20830 (последовательности: 51 и 52); AD-20831 (последовательности: 53 и 54); AD-

25 20832 (последовательности: 55 и 56); AD-20833 (последовательности: 57 и 58); AD-20834 (последовательности: 59 и 60); AD-20835 (последовательности: 61 и 62); AD-20836 (последовательности: 63 и 64); AD-20837 (последовательности: 65 и 66); AD-20838 (последовательности: 67 и 68); AD-20839 (последовательности: 69 и 70); AD-20840 (последовательности: 71 и 72); AD-20841

30 (последовательности: 73 и 74); AD-20842 (последовательности: 75 и 76); AD-20843 (последовательности: 77 и 78); AD-20844 (последовательности: 79 и 80); AD-20845 (последовательности: 81 и 82); AD-20846 (последовательности: 83 и 84); AD-20847 (последовательности: 85 и 86); AD-20848 (последовательности: 87

и 88); AD-20849 (последовательности: 89 и 90); AD-20850 (последовательности: 91 и 92); AD-20851 (последовательности: 93 и 94); AD-20852 (последовательности: 95 и 96); AD-20861 (последовательности: 97 и 98); AD-20862 (последовательности: 99 и 100); AD-20863 (последовательности: 101 и 102); AD-20864 (последовательности: 103 и 104); AD-20865 (последовательности: 105 и 106); AD-20866 (последовательности: 107 и 108); и AD-20867 (последовательности: 109 и 110).

Специфические композиции

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из какой-либо последовательности (или перекрывающегося набора последовательностей), предусмотренной в таблице настоящего изобретения (например, табл. 1). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из какой-либо последовательности (или перекрывающегося набора последовательностей), предусмотренной в таблице настоящего изобретения (например, табл. 1). В другом варианте осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи из какой-либо последовательности, предусмотренной в настоящем изобретении. В другом варианте осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий первую цепь и вторую цепь, причем первая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности первой цепи, и вторая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно

расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности второй цепи какого-либо агента РНКи, предусмотренного в настоящем изобретении. К специфическим дуплексам относятся те специфические дуплексы, которые предусмотрены выше и перечислены в виде одной или нескольких последовательностей в табл. 1. Дополнительные модифицированные последовательности (например, последовательности, включающие одно или несколько модифицированных оснований) каждой из указанных выше композиций также рассматриваются в качестве части настоящего изобретения.

В приведенной ниже табл. А1 предусматривают последовательности SEQ ID NO для немодифицированной и характерной модифицированной последовательности смысловой и антисмысловой цепей различных агентов РНКи к Beta-ENaC. Композиция оснований каждой из специфических последовательностей, представленных в виде последовательностей SEQ ID NO, подробно рассматривается в табл. 1, и их части предусмотрены в табл. 2.

Таблица А1. Последовательности SEQ ID NO первой и второй цепи (например, смысловой («СЦ») и антисмысловой («АСЦ») цепей) агентов РНКи к Beta-ENaC.

Название дуплекса – агента РНКи	Последовательность	Модифицированная последовательность SEQ ID NO	Немодифицированная последовательность SEQ ID NO
AD-20805	Смысловая	1	111
	Антисмысловая	2	112
AD-20806	Смысловая	3	113
	Антисмысловая	4	114
AD-20807	Смысловая	5	115
	Антисмысловая	6	116
AD-20808	Смысловая	7	117
	Антисмысловая	8	118
AD-20809	Смысловая	9	119
	Антисмысловая	10	120
AD-20810	Смысловая	11	121
	Антисмысловая	12	122
AD-20811	Смысловая	13	123
	Антисмысловая	14	124
AD-20812	Смысловая	15	125
	Антисмысловая	16	126
AD-20813	Смысловая	17	127
	Антисмысловая	18	128
AD-20814	Смысловая	19	129
	Антисмысловая	20	130
AD-20815	Смысловая	21	131
	Антисмысловая	22	132

Название дуплекса – агента РНКи	Последовательность	Модифицированная последовательность SEQ ID NO	Немодифицированная последовательность SEQ ID NO
AD-20816	Смысловая	23	133
	Антисмысловая	24	134
AD-20817	Смысловая	25	135
	Антисмысловая	26	136
AD-20818	Смысловая	27	137
	Антисмысловая	28	138
AD-20819	Смысловая	29	139
	Антисмысловая	30	140
AD-20820	Смысловая	31	141
	Антисмысловая	32	142
AD-20821	Смысловая	33	143
	Антисмысловая	34	144
AD-20822	Смысловая	35	145
	Антисмысловая	36	146
AD-20823	Смысловая	37	147
	Антисмысловая	38	148
AD-20824	Смысловая	39	149
	Антисмысловая	40	150
AD-20825	Смысловая	41	151
	Антисмысловая	42	152
AD-20826	Смысловая	43	153
	Антисмысловая	44	154
AD-20827	Смысловая	45	155
	Антисмысловая	46	156
AD-20828	Смысловая	47	157
	Антисмысловая	48	158
AD-20829	Смысловая	49	159
	Антисмысловая	50	160
AD-20830	Смысловая	51	161
	Антисмысловая	52	162
AD-20831	Смысловая	53	163
	Антисмысловая	54	164
AD-20832	Смысловая	55	165
	Антисмысловая	56	166
AD-20833	Смысловая	57	167
	Антисмысловая	58	168
AD-20834	Смысловая	59	169
	Антисмысловая	60	170
AD-20835	Смысловая	61	171
	Антисмысловая	62	172
AD-20836	Смысловая	63	173
	Антисмысловая	64	174
AD-20837	Смысловая	65	175
	Антисмысловая	66	176
AD-20838	Смысловая	67	177
	Антисмысловая	68	178
AD-20839	Смысловая	69	179
	Антисмысловая	70	180
AD-20840	Смысловая	71	181
	Антисмысловая	72	182
AD-20841	Смысловая	73	183
	Антисмысловая	74	184
AD-20842	Смысловая	75	185

Название дуплекса – агента РНКи	Последовательность	Модифицированная последовательность SEQ ID NO	Немодифицированная последовательность SEQ ID NO
	Антисмысловая	76	186
AD-20843	Смысловая	77	187
	Антисмысловая	78	188
AD-20844	Смысловая	79	189
	Антисмысловая	80	190
AD-20845	Смысловая	81	191
	Антисмысловая	82	192
AD-20846	Смысловая	83	193
	Антисмысловая	84	194
AD-20847	Смысловая	85	195
	Антисмысловая	86	196
AD-20848	Смысловая	87	197
	Антисмысловая	88	198
AD-20849	Смысловая	89	199
	Антисмысловая	90	200
AD-20850	Смысловая	91	201
	Антисмысловая	92	202
AD-20851	Смысловая	93	203
	Антисмысловая	94	204
AD-20852	Смысловая	95	205
	Антисмысловая	96	206
AD-20861	Смысловая	97	207
	Антисмысловая	98	208
AD-20862	Смысловая	99	209
	Антисмысловая	100	210
AD-20863	Смысловая	101	211
	Антисмысловая	102	212
AD-20864	Смысловая	103	213
	Антисмысловая	104	214
AD-20865	Смысловая	105	215
	Антисмысловая	106	216
AD-20866	Смысловая	107	217
	Антисмысловая	108	218
AD-20867	Смысловая	109	219
	Антисмысловая	110	220

Например, в табл. А1 пример модифицированной последовательности агента РНКи AD-20805 представлен последовательностями SEQ ID NO: 1 (смысловая цепь) и SEQ ID NO: 2 (антисмысловая цепь). Немодифицированная последовательность AD-20805 представлена последовательностями SEQ ID NO: 111 (смысловая цепь) и SEQ ID NO: 112 (антисмысловая цепь). Таким образом, в табл. А1 представлены идентификаторы SEQ ID NO первой и второй цепей немодифицированной последовательности и по меньшей мере одной характерной модифицированной последовательности для каждого из различных агентов РНКи к Beta-ENaC.

Агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, описанную в настоящем изобретении

В одном из предпочтительных вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, содержащей агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из антисмысловых цепей в специфических дуплексах, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл. 1.

Различные специфические варианты такого варианта осуществления описаны ниже.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция дополнительно включает второй агент РНКи к Beta-ENaC. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения второй агент РНКи физически отделен от первого или два физически связаны (например, ковалентно связаны или иным образом конъюгированы).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь составляет в длину примерно 30 нуклеотидов или меньше.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь из области дуплекса, составляющей в длину примерно от 15 до примерно 30 пар нуклеотидов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь составляет в длину примерно от 15 до примерно 36 нуклеотидов, составляет в длину примерно от 18 до примерно 30 нуклеотидов, и дополнительно составляет в длину примерно от 19 до примерно 23 нуклеотидов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет в длину примерно от 15 нуклеотидов, примерно от 16 нуклеотидов, примерно от 17 нуклеотидов, примерно от 18 нуклеотидов, примерно от 19 нуклеотидов, примерно от 20 нуклеотидов, примерно от 21 нуклеотида, примерно от 22 нуклеотидов, примерно от 23 нуклеотидов, примерно от 24 нуклеотидов, примерно от 25 нуклеотидов, примерно от 26 нуклеотидов, примерно от 27 нуклеотидов, примерно от 28 нуклеотидов, примерно от 29 нуклеотидов и примерно от 30 нуклеотидов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает модификацию, которая приводит к тому, что агент РНКи обладает повышенной стабильностью в биологическом образце или во внешней среде, например, в сыворотке крови или в жидкости просвета кишечника.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает по меньшей мере одну модификацию каркаса молекулы сахара (например, фосфотиоатную связь) и/или по меньшей мере один 2'-модифицированный нуклеотид. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения все пиримидины представлены 2' O-метил-

10 модифицированными нуклеотидами.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает: по меньшей мере один 5'-уридин-аденин-3' (5'-ua-3') динуклеотид, в котором уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-гуанин-3' (5'-ug-3') динуклеотид, в котором 5'-

15 уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-цитидин-аденин-3' (5'-ca-3') динуклеотид, в котором 5'-цитидин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-уридин-3' (5'-uu-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает 2'-модификацию, выбранную из группы, состоящей из: 2'-дезокси, 2'-дезокси-2'-фтор, 2'-O-метил, 2'-O-метоксиэтил (2'-O-MOE), 2'-O-аминопропил (2'-O-AP), 2'-O-диметиламиноэтил (2'-O-DMAOE), 2'-O-диметиламинопропил (2'-O-DMAP), 2'-O-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAEOE) и 2'-O-N-

25 метилацетамидо (2'-O-NMA). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения все пиримидины являются 2'-O-метил-модифицированными нуклеотидами.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи содержит тупой конец.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает выступ, имеющий 1-4 неспаренных нуклеотида.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает выступ с 3'-конца антисмысловой цепи агента РНКи.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи лигирован с одним или несколькими диагностическими соединениями, репортерной группой, агентом перекрестного связывания, частью молекулы, определяющей резистентность к нуклеазе, природным или необычным
5 нуклеиновым основанием, липофильной молекулой, холестерином, липидом, лектином, стероидом, уваолом, гецигенином, диосгенином, терпеном, тритерпеном, сарсасапогенином, фрайделином, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислотой, витамином, углеводом, декстраном,
10 пуллуланом, хитином, хитозаном, синтетическим углеводом, 15-мерным олиголактатом, природным полимером, низкомолекулярным полимером или полимером среднего молекулярного веса, инулином, циклодекстрином, гиалуриновой кислотой, белком, белок-связывающим агентом, интегрин-нацеливающей молекулой, поликатионным агентом, пептидом, полиамином, пептидным миметиком и/или трансферинном.

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 60% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно
20 на 70% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 80% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 90% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,1 нМ.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,01 нМ.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,001 нМ.

Агент РНКи, включающий первую и вторую цепи, описанные в настоящем изобретении

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий первую цепь и вторую цепь, причем первая и вторая цепь включают по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от первой и второй цепей, соответственно, агента РНКи к Beta-ENaC, выбранного из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл. 1.

Различные специфические варианты осуществления настоящего изобретения описаны ниже.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция дополнительно включает второй агент РНКи к Beta-ENaC. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения второй агент РНКи физически отделен от первого или два агента физически связаны (например, ковалентно связаны или иным образом конъюгированы).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь составляет в длину примерно 30 нуклеотидов или меньше.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь формируют область дуплекса, составляющую в длину примерно от 15 до примерно 30 пар нуклеотидов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь составляет в длину примерно от 15 до примерно 36 нуклеотидов, составляет в длину примерно от 18 до примерно 23 нуклеотидов, и составляет в длину примерно от 19 до примерно 23 нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет в длину примерно от 15 нуклеотидов, примерно от 16 нуклеотидов, примерно от 17 нуклеотидов, примерно от 18 нуклеотидов, примерно от 19 нуклеотидов, примерно от 20 нуклеотидов, примерно от 21 нуклеотида, примерно от 22 нуклеотидов, примерно от 23 нуклеотидов, примерно от 24 нуклеотидов, примерно от 25 нуклеотидов, примерно от 26 нуклеотидов, примерно от 27 нуклеотидов, примерно от 28 нуклеотидов, примерно от 29 нуклеотидов и примерно от 30 нуклеотидов.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает модификацию, которая приводит к тому, что агент РНКи обладает повышенной стабильностью в биологическом образце или во внешней среде, например, в сыворотке крови или в жидкости просвета кишечника.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает по меньшей мере одну модификацию каркаса молекулы сахара (например, фосфоротиоатную связь) и/или по меньшей мере один 2'-модифицированный нуклеотид. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения все пиримидины представлены 2'-О-метил-
10 модифицированными нуклеотидами.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает: по меньшей мере один 5'-уридин-аденин-3' (5'-ua-3') динуклеотид, в котором уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-гуанин-3' (5'-ug-3') динуклеотид, в которых 5'-
15 уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-цитидин-аденин-3' (5'-ca-3') динуклеотид, в котором 5'-цитидин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-уридин-3' (5'-uu-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает 2'-модификацию, выбранную из группы, состоящей из: 2'-дезокси, 2'-дезокси-2'-фтор, 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил (2'-О-АР), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-ДМАОЕ), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAЕОЕ) и 2'-О-N-
25 метилацетамидо (2'-О-NMA).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает тупой конец.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает выступ из 1-4 неспаренных нуклеотидов.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает выступ с 3'-конца антисмысловой цепи агента РНКи.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи

лигирован с одним или несколькими диагностическими соединениями, репортерной группой, агентом перекрестного связывания, частью молекулы, определяющей резистентность к нуклеазе, природным или необычным нуклеиновым основанием, липофильной молекулой, холестерином, липидом, лектином, стероидом, уваолом, гецигенином, диосгенином, терпеном, тритерпеном, сарсасапогенином, фрайделином, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислотой, витамином, углеводом, декстраном, пуллуланом, хитином, хитозаном, синтетическим углеводом, 15-мерным олиголактатом, природным полимером, низкомолекулярным полимером или полимером средней молекулярной массы, инулином, циклодекстрином, гиалуроновой кислотой, белком, белок-связывающим агентом, интегрин-нацеливающей молекулой, поликатионным агентом, пептидом, полиамином, пептидным миметиком и/или трансферинном.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 60% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 70% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 80% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 90% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,1 нМ.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,01 нМ.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения величина EC50 агента РНКи составляет не более примерно 0,001 нМ.

Способ лечения с применением агента РНКи, описанного в настоящем изобретении

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к способу лечения у индивидуума заболевания, связанного с Beta-ENaC, который
5 включает стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции, содержащей агент РНКи, содержащий по меньшей мере антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15
10 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранного из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и
перечисленных, например, в табл. 1. В другом варианте осуществления настоящее изобретение относится к способу, согласно которому композиция, включающая агент РНКи, дополнительно включает смысловую цепь, причем
15 смысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранного из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл.
1.

20 Различные варианты осуществления настоящего изобретения описаны ниже.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения заболеваниями, связанными с Beta-ENaC, являются муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА1), синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертония, связанная с ожирением.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно предусматривает проведение дополнительного лечения. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительным лечением
30 является терапевтически эффективное количество композиции.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительным лечением является методика (или процедура).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительное лечение и агент РНКи могут применяться в каком-либо порядке или одновременно.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию проведения дополнительного лечения муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и/или гипертонии, связанной с ожирением.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию проведения дополнительного лечения или лечения в виде применения средства, выбранного из перечня, который включает дополнительный агонист к ENaC, калийсберегающее мочегонное средство, амилорид, триамтерин, регуляцию потребления пищевой соли, антибиотики, терапию ДНазой, альбутерол, N-ацетилцистеин, дыхательную терапию, перкуSSIONную терапию и занятия аэробикой.

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает второй агент РНКи к Beta-ENaC. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения второй агент РНКи физически отделен от первого, два агента физически контактируют (например, ковалентно связаны или объединены иным образом).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию введения дополнительного агента РНКи, который содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из специфических дуплексов, 25 предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл.1.

Способ подавления экспрессии Beta-ENaC с применением описанных в настоящем изобретении агентов РНКи

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к способу подавления экспрессии гена Beta-ENaC у индивидуума, включающему стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции, содержащей агент РНКи по настоящему описанию. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает по

меньшей мере антисмысловую цепь и/или включает смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из тех специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл.1.

Различные варианты данного объекта настоящего изобретения описаны ниже.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения у индивидуума имеется заболевание, связанное с Beta-ENaC, или индивидуум чувствителен к этому заболеванию.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА1), синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертония, связанная с ожирением.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно предусматривает проведение дополнительного лечения. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительным лечением является терапевтически эффективное количество композиции.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительным лечением является методика (или процедура).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительное лечение и агент РНКи могут применяться в каком-либо порядке или одновременно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения дополнительное лечение и агент РНКи могут проводиться в каком-либо порядке или одновременно.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию проведения дополнительного лечения муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и/или гипертонии, связанной с ожирением.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию проведения дополнительного лечения или лечения в виде применения средства, выбранного из перечня, который включает дополнительный агонист к ENaC, калийсберегающее мочегонное средство, амилорид, триамтерин, регуляцию потребления пищевой соли, антибиотики, терапию ДНазой, альбутерол, N-ацетилцистеин, дыхательную терапию, перкуссионную терапию и занятия аэробикой.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает второй агент РНКи к Beta-ENaC. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения второй агент РНКи физически отделен от первого, два агента физически контактируют (например, ковалентно связаны или объединены иным образом).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения способ дополнительно включает стадию введения дополнительного агента РНКи, который содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранной из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл.1.

Фармацевтические составы агента РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение связано с композицией, включающей агент РНКи по настоящему изобретению. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает по меньшей мере антисмысловую цепь и/или включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами из антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранного из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл. 1, причем композиция является фармацевтически эффективным составом.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают применение агента РНКи для получения лекарственного средства для лечения заболевания, связанного с Beta-ENaC, причем агент РНКи

включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, и антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами из антисмысловой цепи агента РНКи к Beta-ENaC, выбранного из специфических дуплексов, предусмотренных в настоящем изобретении и перечисленных, например, в табл.1.

ENaC

Обозначение «ENaC» означает эпителиальный натриевый канал (epithelial sodium channel – ENaC) – и мембранный белок, составленный из трех разных, но гомологичных субъединиц (альфа, бета и гамма).

ENaC содержится в апикальной мембране эпителиальных клеток дистальных нефронов (кортикальных и медуллярных прямых почечных канальцев) и дистального отдела ободочной кишки, а также в дыхательных путях и в выводных протоках некоторых желез. ENaC также экспрессируется в плаценте, мозге и мочевом пузыре. ENaC обеспечивает контролируемый метаболический путь поступления Na^+ из просвета указанных органов в эпителиальные клетки и вместе с Na^+/K^+ -АТФазой, локализованной в базолатеральной мембране тех же клеток, и отвечает за активный векторный транспорт Na^+ из внешней среды через эпителиальные клетки во внеклеточную жидкость и затем в кровь. ENaC расположен на апикальной мембране и обращен в просвет, что позволяет натрию двигаться из просвета в эпителиальные клетки. Натрий, реабсорбированный через ENaC, затем выделяется из эпителиальных клеток назад в кровяное русло под действием Na^+/K^+ -АТФазы. Реабсорбция натрия под действием ENaC сопровождается осмотическим поступлением воды для поддержания постоянной внеклеточной концентрации Na^+ . Это изменяет объем крови и в результате влияет на кровяное давление. Таким образом, ENaC играет важную роль в гомеостазе электролитов и в контроле объема крови и кровяного давления. См., например, Saxena и др., *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 252, 1998, сс. 208-213.

ENaC проявляет разные функциональные действия в разных органах, в которых он экспрессируется. В почках (в прямых почечных канальцах) контролируемая реабсорбция Na^+ через ENaC обеспечивает основной механизм регуляции экскреции Na^+ с мочой и таким образом позволяет точно

контролировать баланс Na^+ в организме в целом под контролем гормона альдостерона. Благодаря присущему ему эффекту деполяризации потенциала на апикальной мембране, Na^+ канал также обеспечивает движущую силу для тубулярной секреции K^+ .

5 Специфические ингибиторы ENaC индуцируют мочевую экскрецию Na^+ и ингибируют секрецию K^+ ; соответственно эти лекарственные средства (включая амилорид и триамтерен) применяют в качестве K^+ -сберегающих диуретиков. ENaC обладает сходной функциональной ролью в дистальном отделе ободочной кишки, предупреждая чрезмерную потерю Na^+ с экскрементами. В воздушных
10 путях важную роль представляет реабсорбция жидкости, которая наполняет воздушные пути при дыхании, индуцируя сдвиг с секреции жидкости (до дыхания) к реабсорбции жидкости (постнатальной).

 Вместе с регулятором трансмембранной проводимости при муковисцидозе (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator – CFTR) он также участвует в
15 тонкой регуляции баланса жидкости в воздушных путях, что поддерживает тонкую пленку слизи, необходимую для очищения слизи. В выделительных протоках слюнных и потовых желез действие ENaC проявляет тенденцию к снижению концентрации Na^+ в просвете, допуская экскрецию менее соленой слюны и предупреждая значительную потерю Na^+ со слюной. См., например,
20 работу Hummler и др., Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 276, 1999, сс. 567-571, и приведенные в ней ссылки.

 Изменения и мутации в последовательности и/или экспрессии ENaC могут привести к сверхэкспрессии или гиперактивности ENaC. Предусматриваемые в
настоящем изобретении агенты РНКи восстанавливают баланс по отношению к
25 модулированной реабсорбции Na^+ за счет снижения уровня Beta-ENaC.

Beta-ENaC

 Обозначение «Beta-ENaC» означает ген или белок бета-субъединицы амилорид-чувствительного натриевого канала (или какую-либо нуклеиновую кислоту, кодирующую этот белок), которая может называться по-разному:
30 натриевый канал, потенциал-независимый канал 1, бета; SCNN1B; bENaC; ENaCb; ENaC-beta; SCNEB или β -ENaC. К дополнительным идентификаторам относятся: OMIM: 600760; MGI: 104696; HomoloGene: 284; и GeneCards:

SCNN1B. С дополнительной информацией можно ознакомиться в: Human: Entrez 6338; Ensembl ENSG00000168447; UniProt P51168; RefSeq (mRNA) NM_000336; RefSeq (protein) NP_000327; Location (UCSC) Chr 16: 23.22 - 23.3 Mb. Mouse: Entrez 20277; Ensembl ENSMUSG00000030873; UniProt Q3TP51; RefSeq (mRNA) NM_011325 RefSeq (protein) NP_035455; Location (UCSC) Chr 7: 121.66 - 121.71 Mb.

Аминокислотная последовательность Beta-ENaC человека описана в работе Saxena и др., Biochem. Biophys. Res. Comm. 252, 1998, сс. 208-213.

Функциональные домены Beta-ENaC были очерчены. Этот белок имеет внутриклеточный N-концевой домен (аминокислоты с 1 по 50), первый трансмембранный домен (аминокислоты с 51 по 71), внеклеточную петлю (аминокислоты с 72 по 533), второй трансмембранный домен (аминокислоты с 534 по 553) и C-концевой внутриклеточный домен (аминокислоты с 554 по 640).

C-концевой внутриклеточный домен содержит две области, в которых мутации связаны с синдромом Лиддла и другими заболеваниями: в области аминокислот с 564 по 595 и мотиве «PY» (с аминокислотной консенсусной последовательностью PPXY по аминокислотам с 615 по 618). См., например, Saxena и др., 1998.

Агент РНКи Beta-ENaC по настоящему изобретению может взаимодействовать с частью иРНК, соответствующей специфическому функциональному домену или доменам Beta-ENaC. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агенты РНКи по настоящему изобретению специфически связываются с иРНК Beta-ENaC в последовательности, соответствующей функциональному домену, например, в N-концевом внутриклеточном домене, в первом трансмембранном домене, во внеклеточной петле, во втором трансмембранном домене или в C-концевом внутриклеточном домене или, более конкретно, в области аминокислот с 564 по 595, или в мотиве PY (аминокислоты с 615 по 618).

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агенты РНКи по настоящему изобретению связываются с 5' или 3' UTR (т.е. с нетранслируемой областью (областями)).

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агенты РНКи по настоящему изобретению описывают связывание с иРНК Beta-ENaC, но

не в последовательности, соответствующей определенному функциональному домену, например, не в N-концевом внутриклеточном домене, не в первом трансмембранном домене, не во внеклеточной петле, не во втором трансмембранном домене, или не в C-концевом внутриклеточном домене, или, более конкретно, не в области аминокислот с 564 по 595, или в мотиве РУ (аминокислоты с 615 по 618).

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения связывание агента РНКи с определенной областью иРНК Beta-ENaC приводит к пониженным экспрессии, уровню и/или действию Beta-ENaC.

Эффективность агента РНКи в снижении уровня Beta-ENaC может быть измерена непосредственно, например, путем измерения уровней нагрузки иРНК Beta-ENaC или уровней самого белка. В другом варианте эффективность РНКи может быть измерена опосредованно путем измерения уровня какой-либо одной или нескольких из известных активностей Beta-ENaC или путем измерения изменений в активностях компонентов метаболического пути, расположенных ниже Beta-ENaC.

Главное действие белка заключается в формировании наряду с Alpha-ENaC и Gamma-ENaC, и, возможно иногда, Delta-ENaC, натриевого канала ENaC. Beta-ENaC, Gamma-ENaC и Delta-ENaC также могут формировать определенный тип канала, описанный в поджелудочной железе, яичках и яичниках. Также было показано, что Beta-ENaC взаимодействует с WWP2 и NEDD4. См., например, McDonald и др., Am. J. Physiol. Renal Physiol. 283(3), 2002, сс. F431-6; Harvey и др., J. Biol. Chem. 276(11), 2001, сс. 8597-601; Farr и др., Biochem. J. 345(3), 2000, сс. 503-509. Действие Beta-ENaC может быть измерено, например, по способности связывать и формировать функциональные единицы вместе с такими другими биологическими компонентами. Эффективность агента РНКи также может быть измерена косвенно путем измерения количества поверхностной жидкости на слизистых мембранах и за счет гистологических исследований тканей, экспрессирующих Beta-ENaC.

30 Последовательности Beta-ENaC у разных видов

Специфический к Beta-ENaC агент РНКи может быть сконструирован таким образом, что его последовательность полностью соответствует последовательности иРНК, соответствующей гену Beta-ENaC человека, и

гомологичному гену исследуемого животного. Таким образом, точно соответствующий агент РНКи может применяться для исследуемых животных (например, для крыс, мышей, макак-крабоедов и др.), и для людей.

Последовательности различных генов ENaC были определены у многих видов, в том числе у людей, мышей, крыс, коров и кур, согласно описанному, наряду с другими работами, в публикациях Garty и др., *Physiol. Rev.* 77, 1997, сс. 359-396; и Ahn и др., *Am. J. Physiol.* 277, 1999, сс. F121-F129.

Бала определена последовательность Beta-ENaC у макаки-крабоеда (*Macaca fascicularis*, или «супо»).

Выравнивание последовательностей иРНК Beta-ENaC cyno (SEQ ID NO: 221) и иРНК Beta-ENaC человека (human) (SEQ ID NO: 222) показано ниже.

```
Cyno Beta-ENaC -----
Human Beta-ENaC GTGCTTCCCCGCCCCTGAACCTGCTCCCTCCCAGTCGGTCTCGCCGCGCT 50

Cyno Beta-ENaC -----GGTACCCAGCTTGCT 15
Human Beta-ENaC CGCCGGGTGTCCCAGTGTACCAACACTCGGCCGCCGCCAGCTTGCC 100
                    *      *
                    *      *

Cyno Beta-ENaC TGTCTTTTTTGCAGAAGCTCAGAATAAACGCTCAACTTTGGCAGATCAAT 65
Human Beta-ENaC GCGCACCGCCGCCTCCGCCACCGCCGACAGCGCGCATCCTCCGTGTCCCC 150
          **  **      *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC TCCCCGGGGATCCGA-ATTGCCACCATGACAGTGAAGAAGTACCTGCTG 114
Human Beta-ENaC GCTCCGCCGCCGAGCAGGTGCCACTATGACAGTGAAGAAGTACCTGCTG 200
          *  **  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC AAGTGCCTGCACCGGCTGCAGAAGGGCCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 164
Human Beta-ENaC AAGGGCCTGCATCGGCTGCAGAAGGGCCCCGGCTACACGTACAAGGAGCT 250
          ***  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC GCTGGTGTGGTACTGCGATAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGTATCA 214
Human Beta-ENaC GCTGGTGTGGTACTGCGACAACACCAACACCCACGGCCCCAAGCGCATCA 300
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC TCTGCGAGGGGCCAAGAAGAAAGCCGTGTGGTTCCTGCTCACCTGCTC 264
Human Beta-ENaC TCTGTGAGGGGGCCCAAGAAGAAAGCCATGTGGTTCCTGCTCACCTGCTC 350
          ****  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC TTCCTGCTCTCGTCTGCTGGCAGTGGGGCATCTTCATCAGGACCTACTT 314
Human Beta-ENaC TTCGCCGCCCTCGTCTGCTGGCAGTGGGGCATCTTCATCAGGACCTACTT 400
          ***  *  **  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC GAGCTGGGAGGTCAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGACCATGGACT 364
Human Beta-ENaC GAGCTGGGAGGTCAGCGTCTCCCTCTCCGTAGGCTTCAAGACCATGGACT 450
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC TCCCCCGCGTACCATCTGCAATGCTAGCCCCTTCAAGTATTCCAAAGTC 414
Human Beta-ENaC TCCCTGCCGTACCATCTGCAATGCTAGCCCCTTCAAGTATTCCAAAATC 500
          ****  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC AAGCATTTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGGAAGCTGTCCTGGAGAG 464
Human Beta-ENaC AAGCATTTGCTGAAGGACCTGGATGAGCTGATGGAAGCTGTCCTGGAGAG 550
          *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *  *

Cyno Beta-ENaC AATCCTGGCTCCTGAGCTAAGCCATGCCAATGCCACCAGGACCCTGAACT 514
```

Human Beta-ENaC AATCCTGGCTCCTGAGCTAAGCCATGCCAATGCCACCAGGAACCTGAACT 600

5 Cyno Beta-ENaC CTTCCATCTGGAACCACACACCCTGGTCCTTATTGATGAACGGAACCCC 564
Human Beta-ENaC TCTCCATCTGGAACCACACACCCTGGTCCTTATTGATGAACGGAACCCC 650

10 Cyno Beta-ENaC CACCACCCCATGGTCCTCGATCTCTTTGGAGATAACCACAATGGCTTAAC 614
Human Beta-ENaC CACCACCCCATGGTCCTTGATCTCTTTGGAGACAACCACAATGGCTTAAC 700

15 Cyno Beta-ENaC AAACAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCCATGGGTGCAAAAATGG 664
Human Beta-ENaC AAGCAGCTCAGCATCAGAAAAGATCTGTAATGCCCACGGGTGCAAAAATGG 750
** *****

20 Cyno Beta-ENaC CCATGAGACTATGTAGCCTCAACGGGACCCAGTGCACCTTCCGGAACCTC 714
Human Beta-ENaC CCATGAGACTATGTAGCCTCAACAGGACCCAGTGTACCTTCCGGAACCTC 800

25 Cyno Beta-ENaC ACCAGCGCTACCCAGGCAGTGACAGAGTGGTACAGCCTGCAGGCCACCAA 764
Human Beta-ENaC ACCAGTGCTACCCAGGCATTGACAGAGTGGTACATCCTGCAGGCCACCAA 850

30 Cyno Beta-ENaC CATCTTTGCGCAGGTGCCGCAGCAGGAGCTGGTGGAGATGAGCTACCCCG 814
Human Beta-ENaC CATCTTTGCACAGGTGCCACAGCAGGAGCTAGTAGAGATGAGCTACCCCG 900

35 Cyno Beta-ENaC GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTGTTTGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 864
Human Beta-ENaC GCGAGCAGATGATCCTGGCCTGCCTATTCGGAGCTGAGCCCTGCAACTAC 950

40 Cyno Beta-ENaC CGGAACTTCACGTCCATCTTCTACCCTCACTATGGCAACTGTTACATCTT 914
Human Beta-ENaC CGGAACTTCACGTCCATCTTCTACCCTCACTATGGCAACTGTTACATCTT 1000

45 Cyno Beta-ENaC CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACCTTCCTTCGGCCAACCCTGGACCTG 964
Human Beta-ENaC CAACTGGGGCATGACAGAGAAGGCACCTTCCTTCGGCCAACCCTGGAACTG 1050

50 Cyno Beta-ENaC AATTTGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1014
Human Beta-ENaC AATTTCGGCCTGAAGTTGATCCTGGACATAGGCCAGGAAGACTACGTCCCC 1100
**** *****

55 Cyno Beta-ENaC TTCCTCGGTCCACGGCTGGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC 1064
Human Beta-ENaC TTCCTTGCGTCCACGGCCGGGGTCAGGCTGATGCTTCACGAGCAGAGGTC 1150

60 Cyno Beta-ENaC ATACCCCTTCATCAGAGACGAGGGCATCTATGCCATGTCGGGGACAGAGA 1114
Human Beta-ENaC ATACCCCTTCATCAGAGATGAGGGCATCTACGCCATGTCGGGGACAGAGA 1200

65 Cyno Beta-ENaC CGTCCATCGGGGTACTCGTGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGGAGCCCTAC 1164
Human Beta-ENaC CGTCCATCGGGGTACTCGTGGACAAGCTTCAGCGCATGGGGGAGCCCTAC 1250

70 Cyno Beta-ENaC AGCCCGTGCACCGTGAATGGCTCCGAGGTCCCCGTCCAAAACCTTCTACAG 1214
Human Beta-ENaC AGCCCGTGCACCGTGAATGGTTCTGAGGTCCCCGTCCAAAACCTTCTACAG 1300

5 Cyno Beta-ENaC TGACTACAACACGACCTACTCCATCCAGGCCTGTCTTCGCTCCTGCTTCC
1264
Human Beta-ENaC TGACTACAACACGACCTACTCCATCCAGGCCTGTCTTCGCTCCTGCTTCC
1350

10 Cyno Beta-ENaC AAGACCACATGATCCGTAGCTGCAAGTGTGGGCACTACCTCTACCCACTG
1314
Human Beta-ENaC AAGACCACATGATCCGTAAGTGTGGGCACTACCTGTACCCACTG
1400

15 Cyno Beta-ENaC CCCC GTGGGAGAAATACTGCAACAACCGGGACTTCCCAGACTGGGCCCA
1364
Human Beta-ENaC CCCC GTGGGAGAAATACTGCAACAACCGGGACTTCCCAGACTGGGCCCA
1450

20 Cyno Beta-ENaC TTGCTACTCAGATCTGCAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGAGACCTGCATTG
1414
Human Beta-ENaC TTGCTACTCAGATCTACAGATGAGCGTGGCGCAGAGAGAGACCTGCATTG
1500

25 Cyno Beta-ENaC GCATGTGCAAGGAATCCTGCAATGACACCCAGTACAAGATGACTATCTCC
1464
Human Beta-ENaC GCATGTGCAAGGAGTCTGCAATGACACCCAGTACAAGATGACCATCTCC
1550

30 Cyno Beta-ENaC ATGGCTGACTGGCCTTCTGAGGCCTCTGAGGACTGGATTTTCCACGTCTT
1514
Human Beta-ENaC ATGGCTGACTGGCCTTCTGAGGCCTCCGAGGACTGGATTTTCCACGTCTT
1600

35 Cyno Beta-ENaC GTCTCAGGAGCGGGACCAAAGCACC AATATCACCTGAGCAGGAAGGGAA
1564
Human Beta-ENaC GTCTCAGGAGCGGGACCAAAGCACC AATATCACCTGAGCAGGAAGGGAA
1650

40 Cyno Beta-ENaC TTGTCAAGCTCAACATCTACTTCCAAGAATTTAACTATCGCACCATTGAA
1614
Human Beta-ENaC TTGTCAAGCTCAACATCTACTTCCAAGAATTTAACTATCGCACCATTGAA
1700

45 Cyno Beta-ENaC GAATCAGCAGCCAATAACCTCGTCTGGCTGCTCTCAAATCTGGGTGGCCA
1664
Human Beta-ENaC GAATCAGCAGCCAATAACATCGTCTGGCTGCTCTCGAATCTGGGTGGCCA
1750

50 Cyno Beta-ENaC GTTTGGCTTCTGGATGGGGGGCTCTGTGCTGTGCCTCATCGAGTTTGGGG
1714
Human Beta-ENaC GTTTGGCTTCTGGATGGGGGGCTCTGTGCTGTGCCTCATCGAGTTTGGGG
1800

55 Cyno Beta-ENaC AGATCATCATCGACTTTGTGTGGATCACCATCATCAAGCTGGTGGCCTTG
1764
Human Beta-ENaC AGATCATCATCGACTTTGTGTGGATCACCATCATCAAGCTGGTGGCCTTG
1850

60 Cyno Beta-ENaC GCCAAGAGCCTCCGGCAGCGGCGAGCCCAAGCCAGCTACTCCGGCCCACC
1814

```

Human Beta-ENaC GCCAAGAGCCTACGGCAGCGGCGAGCCCAAGCCAGCTACGCTGGCCCACC
1900
*****

5 Cyno Beta-ENaC GCCCACGGTGGCTGAGCTGGTGGAGGCCACACCAACTTCGGCTACCAGC
1864
Human Beta-ENaC GCCCACCGTGGCCGAGCTGGTGGAGGCCACACCAACTTTGGCTTCCAGC
1950
*****

10 Cyno Beta-ENaC CTGACACGGCCCCCGCAGCCCCAACACCCGGGCCCTACCCCAGTGAGCAG
1914
Human Beta-ENaC CTGACACGGCCCCCGCAGCCCCAACACTGGGCCCTACCCCAGTGAGCAG
2000
*****

15 Cyno Beta-ENaC GCCCTGCCCATCCCGGGCACCCCGCCCCCAACTATGACTCCCTGCGTCT
1964
Human Beta-ENaC GCCCTGCCCATCCCAGGCACCCCGCCCCCAACTATGACTCCCTGCGTCT
2050
*****

25 Cyno Beta-ENaC GCAGCCACTGGACGTCATCGAGTCTGACAGTGAGGGTGATGCCATCTAA-
2013
Human Beta-ENaC GCAGCCGCTGGACGTCATCGAGTCTGACAGTGAGGGTGATGCCATCTAAC
2100
*****

30 Cyno Beta-ENaC ---GCGGCCGCTAG---AAATAGCTTGATCTGGTTA--CCACTAAACCA
2055
Human Beta-ENaC CCTGCCCTGCCACCCCGGGCGGCTGAAACTCACTGAGCAGCCAAGACT
2150
** * *** *      *** * * * * * * * * * *

35 Cyno Beta-ENaC GC--CTCAAGAACAC-CCGAATGGAGTCTCT----AAGCTACATAATACC
2098
Human Beta-ENaC GTTGCCCGAGGCCTCACTGTATGGTGCCCTCTCCAAAGGGTCGGGAGGGT
2200
* * * ** * * * * * * * * * * * * * * *

40 Cyno Beta-ENaC AACTTACACTTTACAAAATGTTGTCCCCCAA-AATGTAGCCATTTCGTATC
2147
Human Beta-ENaC AGCTCTCAGGCCAGAGCTTGTGTCCTTCAACAGAGAGGCCAGCGGCAAC
2250
* * * * * * * * * * * * * * * * * * *

45 Cyno Beta-ENaC TGCTCCTAATAAAAAGAAAGTTTCTTCACATTCTAAAAA
2197
Human Beta-ENaC TGGTCCGTTACTGGCCAAGGGCTCTGTAGAATCACGGTGCTGGTACAGGA
2300
** ***      ** * *** * * * * * * * * *

55 Cyno Beta-ENaC AAAAAAAAAAAAAAAAAAACC-----CCCCCCCCCTGCAGAGATCTG
2245
Human Beta-ENaC TGCAGGAATAAATTGTATCTTCACCTGGTTCTTACCCTCGTCCCTACCTG
2350
* ** *** * * * * * * * * * * * * * * *

60 Cyno Beta-ENaC CTAGCTTGAGTATTCTATAGAGTCACCTAAATACT-----
2280
Human Beta-ENaC TCCTGATCCTGGTCTTGAAGACCCCTCGGAACACCCCTCTCCTGGTGGCAG
2400
* * * * * * * * * * * * * * *

65 Cyno Beta-ENaC -----
Human Beta-ENaC GCCACTTCCCTCCCAGTGCCAGTCTCCATCCACCCAGAGAGGAACAGGC
2450
Cyno Beta-ENaC -----

```

Human Beta-ENaC GGGTGGGCCATGTGGTTTTCTCCTTCTGGCCTGGCTGGCCTCTGGGGC
2500

5 Cyno Beta-ENaC -----
Human Beta-ENaC AGGGGTGGTGGAGAGATGGAAGGGCATCAGGTGTAGGGACCTGCCAAGT
2550

10 Cyno Beta-ENaC -----
Human Beta-ENaC GGCACCTGATTTACTCTAGAAAATAAAAGTAGAAAATACTGAGTCCA 2597

Cyno Beta-ENaC (SEQ ID NO: 221)
Human Beta-ENaC (SEQ ID NO: 222)

Стартовый кодон (ATG) и стоп-кодон (TAA) последовательностей cyno и
15 human подчеркнуты. Выравнивание нуклеотидов между последовательностями
human и cyno отмечены звездочкой (*).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи
Beta-ENaC по настоящему изобретению включают последовательность,
идентичную иРНК Beta-ENaC человека, крысы и cyno. Идентичность
20 последовательности облегчает тестирование животных перед тестированием
человека. В другом варианте осуществления настоящего изобретения агент
РНКи Beta-ENaC включает последовательность, идентичную иРНК Beta-ENaC
человека, крысы и cyno.

Дополнительные варианты осуществления агента РНКи к Beta-ENaC

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи
Beta-ENaC включает последовательность, которая не спаривается с какой-либо
другой последовательностью иРНК или гена. В одном из вариантов
осуществления настоящего изобретения агент РНКи Beta-ENaC включает
последовательность, которая отличается от всех других известных иРНК или
30 генов, не относящихся к Beta-ENaC, по меньшей мере 0, 1, 2 или 3
нуклеотидами.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи
Beta-ENaC по настоящему изобретению вводят пациенту, нуждающемуся в этом
(например, пациенту, больному муковисцидозом, псевдогипоальдостеронизмом
35 типа 1 (ПГА1), синдромом Лиддла, гипертонией, алкалозом, гипокалиемией и
гипертонией, связанной с ожирением).

Пациенту также может быть введено более одного агента РНКи,
специфичного в отношении Beta-ENaC. В одном из вариантов осуществления
настоящего изобретения агент (агенты) РНКи Beta-ENaC по настоящему
40 изобретению может необязательно вводиться наряду с одним или несколькими

дополнительными фармацевтическими агентами, соответствующими данному заболеванию. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент (агенты) РНКи Beta-ENaC по настоящему изобретению могут быть необязательно введены наряду с проведением какого-либо другого соответствующего дополнительного лечения, причем дополнительное лечение может представлять композицию или способ.

В случае муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1, синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и/или гипертонии, связанной с ожирением, агент (агенты) РНКи и дополнительное средство (средства) лечения могут вводиться в любом порядке, одновременно или последовательно, в виде одной или многих доз на протяжении определенного времени.

Определения

Для удобства ниже приводятся определенные термины и фразы, используемые в настоящем описании. Если имеется очевидное расхождение с применением понятия в других разделах настоящего описания и его определением, предусмотренным в этом разделе, превалирует определение, используемое в данном разделе.

Агент РНКи

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к агенту РНКи Beta-ENaC или к композиции, включающей по меньшей мере последовательность антисмысловой нуклеиновой кислоты, комплементарной нуклеиновой кислоте Beta-ENaC (или их части), или относятся к рекомбинантному вектору экспрессии, кодирующему миРНК, или к композиции, включающей антисмысловую нуклеиновую кислоту, которая может функционировать в качестве РНКи, согласно указанному ниже. В настоящем изобретении понятие «антисмысловая» нуклеиновая кислота означает нуклеотидную последовательность, комплементарную «смысловой» нуклеиновой кислоте, кодирующей белок Beta-ENaC (например, комплементарную кодирующей цепи двухцепочечной ДНК, комплементарной иРНК или комплементарной кодирующей цепи гена Beta-ENaC или нуклеиновой кислоте).

В контексте настоящего изобретения понятия «агент РНКи к Beta-ENaC», «агент иРНК к Beta-ENaC», «миРНК к Beta-ENaC», «миРНК Beta-ENaC» и

другие относятся к миРНК (малой ингибирующей РНК), кшРНК (короткой или малой шпилечной РНК), агенту иРНК (агенту интерферирующей РНК), агенту РНКи (агенту РНК-интерференции), дцРНК (двухцепочечной РНК), микроРНК и другим агентам, и относятся к композиции, которая специфически нацеливается, специфически относится и/или связывается с иРНК Beta-ENaC. В контексте настоящего изобретения понятия «антисмысловая нуклеиновая кислота» или «композиция, включающая антисмысловую нуклеиновую кислоту» и им подобные имеют широкое значение и относятся к какой-либо композиции, включающей по меньшей мере одну цепь нуклеиновой кислоты, которая является антисмысловой по отношению к соответствующей мишени; к этим понятиям относятся, но ими перечень не ограничивается, какие-либо миРНК, кшРНК, иРНК, дцРНК, микроРНК, антисмысловой олигонуклеотид и какая-либо другая композиция, включающая антисмысловую нуклеиновую кислоту. В контексте настоящего изобретения обозначения «иРНК» и «РНКи» относятся к агенту, который содержит РНК (или ее производное) и который опосредует направленное расщепление другого транскрипта РНК по метаболическому пути через комплекс RISC (RNA-induced silencing complex – заглушающий комплекс, индуцированный РНК). В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агентом РНКи является олигонуклеотидная композиция, которая активировывает комплекс/метаболический путь RISC. В другом варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает последовательность антисмысловой цепи (антисмысловой олигонуклеотид).

Агент (агенты) РНКи по настоящему изобретению нацеливаются (например, связываются, отжигаются и т.д.) с иРНК Beta-ENaC. Применение агента РНКи, специфичного в отношении Beta-ENaC, приводит к снижению действия, уровня и/или экспрессии Beta-ENaC, например, к «нокдауну» или «нокауту» гена-мишени или целевой последовательности. В частности в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения в случае болезненного состояния, отличающегося сверхэкспрессией или гиперактивностью Beta-ENaC, введение агента РНКи к Beta-ENaC приводит к нокдауну мишени Beta-ENaC, достаточному для восстановления нормального уровня активности Beta-ENaC и/или нормального уровня реабсорбции Na^+ .

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения РНКи представляет единственную цепь (например, кшРНК, описанную в настоящем изобретении).

5 В различных вариантах осуществления настоящего изобретения одна или обе цепи имеют однонитевые разрывы (ники).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид или полинуклеотид агента одноцепочечной РНКи может включать смысловую и/или антисмысловую цепь. См., например, статью Sioud, J. Mol. Biol., 348, 2005, сс. 1079-1090, и приведенные в ней ссылки на
10 литературу. Таким образом, настоящее описание охватывает агенты РНКи с одной цепью, включающей или смысловую, или антисмысловую цепь агента РНКи, описанного в настоящем изобретении.

К миРНК, которые особенно применимы для настоящего описания, относятся те агенты, которые могут специфически связываться с областью иРНК
15 Beta-ENaC и обладают одним или несколькими из следующих признаков: связыванием в кодирующем сегменте Beta-ENaC; связыванием по месту соединения 5'-нетранслируемой области и начала кодирующего сегмента или около этого места; связыванием по месту начала трансляции иРНК или около этого места; связыванием по месту соединения экзонов и интронов, через него
20 или около него; связыванием с молекулами иРНК или транскриптами других генов, которое незначительно или отсутствует (незначительно или нет «эффектов вне мишени»); связыванием с иРНК Beta-ENaC в области (областях) или около области (областей), которые не являются двухцепочечными или стволовыми областями, например, в петле или одноцепочечном участке;
25 индукцией незначительной иммуногенности или отсутствием такой индукции; связыванием в сегменте последовательности иРНК Beta-ENaC, консервативным у животных разных видов (в том числе у человека, мыши, крысы, макаки-крабоеда и др.), причем наличие консервативной последовательности облегчает тестирование и применением различных лабораторных животных; связыванием с
30 двухцепочечной областью (областями) иРНК; связыванием с областью с высоким содержанием АТ (например, по меньшей мере примерно с 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59 или 60% АТ); и/или отсутствием определенных последовательностей, предположительно снижающих действие миРНК, или о

которых известно, что они снижают действие миРНК, например, наличием последовательности GG с 5'-конца, который может снижать разделение двухцепочечной части миРНК. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи, специфичный к Beta-ENaC, может быть

5 двухцепочечной РНК, обладающей одним или несколькими из указанных свойств.

Понятие «двухцепочечная РНК» или «дцРНК» в контексте настоящего изобретения относится к агенту РНКи, включающему первую и вторую цепь; например, композиция, которая включает молекулу РНК или комплекс молекул,

10 имеющих гибридизируемую дуплексную область (т.е. область, в которой основания нуклеотидов из первой цепи и второй цепи спарены), которая включает две антипараллельные и в существенной степени комплементарные цепочки нуклеиновых кислот, которые могут иметь «смысловую» и «антисмысловую» ориентации по отношению к целевой РНК. Антисмысловую

15 цепь, касающуюся мишени иРНК, также называют «ведущей цепью», а смысловую цепь также называют «цепью-пассажем». Цепь-пассаж может обладать по меньшей мере одним или несколькими из следующих признаков: одним или несколькими дополнительными нуклеотидами (например, выступом или петлей из 1 нуклеотида) по сравнению с другой цепью, ником, гэпом и др.

20 по сравнению с другой цепью. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает первую цепь и вторую цепь. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения первая цепь является смысловой цепью, и вторая цепь является антисмысловой цепью. В других вариантах осуществления настоящего изобретения первая цепь является

25 антисмысловой цепью, а вторая цепь – смысловой цепью.

Дуплексная область может быть какой-либо длины, которая позволяет специфически разрушать требуемую целевую РНК по метаболическому пути RISC, но обычно может варьировать в длину в диапазоне 9-36 пар оснований (п.о.), например, может иметь 15-30 п.о. в длину. Соответствующий дуплекс

30 размером от 9 до 36 п.о. может быть любой длины в указанном диапазоне, например, состоять из 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35 или 36 п.о., и может находиться в каком-либо поддиапазоне в заданном диапазоне, включая, но ими, не ограничиваясь, 15-30

п.о., 15-26 п.о., 15-23 п.о., 15-22 п.о., 15-21 п.о., 15-20 п.о., 15-19 п.о., 15-18 п.о., 15-17 п.о., 18-30 п.о., 18-26 п.о., 18-23 п.о., 18-22 п.о., 18-21 п.о., 18-20 п.о., 19-30 п.о., 19-26 п.о., 19-23 п.о., 19-22 п.о., 19-21 п.о., 19-20 п.о., 19 п.о., 20-30 п.о., 20-26 п.о., 20-25 п.о., 20-24 п.о., 20-23 п.о., 20-22 п.о., 20-21 п.о., 20 п.о., 21-30 п.о., 21-26 п.о., 21-25 п.о., 21-24 п.о., 21-23 п.о., 21-22 п.о., 21 п.о., 22 п.о. или 23 п.о. В клетке вырабатываются дцРНК путем процессинга с участием Dicer и сходных ферментов, и они обычно находятся в диапазоне примерно от 19 до примерно 22 п.о. в длину. Одна цепь области дуплекса дцРНК включает последовательность, которая в существенной степени комплементарна области целевой РНК. Две цепи, образующие структуру дуплекса, могут происходить от одной молекулы РНК, имеющей по меньшей мере одну самокомплементарную область дуплекса или может быть сформирована из двух или нескольких отдельных молекул РНК, которые гибридизируются с формированием дуплекса. Если область дуплекса сформирована из двух самокомплементарных областей одной молекулы, молекула может иметь область дуплекса, отделенную односторонней цепью нуклеотидов (в настоящем изобретении называемой «шпилечной петлей», например, имеющейся в конструкции кшРНК) между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, формируя структуру дуплекса. Шпилька может включать по меньшей мере один неспаренный нуклеотид; в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения петля шпильки может включать по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 20, по меньшей мере 23 или более неспаренных нуклеотидов. Если две в существенной степени комплементарные цепи в дцРНК включены в разные молекулы РНК, эти молекулы необязательно, но могут быть ковалентно соединены. Если две цепи соединяются ковалентно с помощью шпилечной петли, в настоящем изобретении конструкцию обычно обозначают «кшРНК». Если две цепи соединяются ковалентно не с помощью шпильки, а иным образом, связующая структура называется «линкером».

РНК-интерференция

РНК-интерференция (РНКи) – пост-трансляционный направленный метод сайленсинга генов, в котором используют двухцепочечную РНК (дцРНК) для

разрушения информационной РНК (иРНК), содержащей ту же последовательность, что и дцРНК. Процесс РНКи происходит в том случае, когда рибонуклеаза III (Dicer) расщепляет более длинную дцРНК на более короткие фрагменты, называемые миРНК. Молекулы миРНК (малые интерферирующие РНК) обычно составляют в длину примерно 21-23 нуклеотида и содержат дуплексы примерно из 19 пар оснований. Более короткие сегменты РНК затем опосредуют разрушение целевой иРНК. Dicer также вовлечен в вырезание малых временных РНК (мвРНК), размером 21 и 22 нуклеотида, из РНК-предшественника консервативной структуры, которые участвуют в контроле трансляции. Hutvagner и др., Science, 293, 2001, с. 834. РНКи ответ также отличается эндонуклеазным комплексом, обычно называемым комплексом RISC (RNA-induced silencing complex – заглушающий комплекс, индуцированный РНК), который опосредует расщепление одноцепочечной иРНК, комплементарной антисмысловой цепи миРНК. Расщепление целевой РНК происходит в середине области, комплементарной антисмысловой цепи дуплекса миРНК.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНК-интерференции включает одноцепочечную РНК, которая взаимодействует с последовательностью РНК-мишени, для направления расщепления РНК-мишени. Не опираясь на какую-либо теорию, полагают, что длинная двухцепочечная РНК, интродуцированная в растительные клетки и клетки беспозвоночных, разрушается на миРНК эндонуклеазой типа III, называемой Dicer (Sharp и др., Genes Dev. 2001, 15, с. 485). Dicer, фермент рибонуклеаза типа III, перерабатывает дцРНК в короткие интерферирующие РНК из 19-23 пар оснований, которым свойственны выступы из двух оснований с 3'-конца (Bernstein и др., Nature 409, 2001, с. 363). Затем молекулы миРНК инкорпорируют в заглушающий комплекс, индуцированный РНК (RISC), в котором одна или несколько геликаз раскручивают дуплекс миРНК, в результате чего одна из неспаренных в настоящее время цепей миРНК действует в качестве «направляющей» цепи для распознавания мишени (Nykanen и др., Cell 107, 2001, с. 309). При связывании антисмысловой направляющей цепи с соответствующей целевой иРНК одна или несколько эндонуклеаз в комплексе RISC расщепляет мишень для индукции сайленсинга (Elbashir и др., Genes Dev., 15, 2001, с. 188).

Таким образом, один из объектов настоящего изобретения относится к одноцепочечной РНК, которая индуцирует формирование комплекса RISC, чтобы вызвать эффект сайлинсинга гена-мишени.

РНК-интерференция также была изучена в различных системах. Работа с эмбриональными лизатами *Drosophila* (Elbashir и др., EMBO J., 20, 2001, с. 6877, и WO 01/75164) выявила определенные потребности в длине, структуре, химической композиции и последовательности миРНК, которые важны для опосредования эффективного действия РНКи в разных системах, включая млекопитающих. Такие исследования показали, что дуплексы миРНК из 21 нуклеотида наиболее активны, если содержат 3'-концевые динуклеотидные выступы. Допускалось замещение 3'-концевых нуклеотидов миРНК на 2'-дезоксинуклеотиды (2'-Н). Кроме того, 5'-фосфат на мишень-комплементарной цепи дуплекса миРНК обычно необходим для действия миРНК. Наиболее важно для терапевтического применения, что дуплексы миРНК короче 50 п.о. или примерно такого размера не активируют ответ в виде интерферона в клетках млекопитающих. См., например, WO 01/752164.

Таким образом, молекулы дцРНК (агенты РНКи), описанные в настоящем изобретении, применимы в РНК-интерференции Beta-ENaC.

Свойства агента РНКи: смысловая цепь, антисмысловая цепь и (необязательно) выступы

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агенты РНКи включают первую цепь и вторую цепь, например, смысловую цепь и антисмысловую цепь и, необязательно, один или оба конца дуплекса, содержащие неспаренные нуклеотиды, которые в контексте настоящего изобретения называются выступами.

Понятие «антисмысловая цепь» относится к цепи агента РНКи, которая включает область, в существенной степени комплементарную последовательности-мишени. К контексту настоящего изобретения понятие «область комплементарности» относится к области в антисмысловой цепи, которая в существенной степени комплементарна последовательности, например последовательности-мишени, согласно описанному в настоящем изобретении. Если область комплементарности не полностью комплементарна последовательности-мишени, ошибочные спаривания могут быть во внутренней

области или в концевых областях молекулы. В большинстве случаев наиболее устойчивые ошибочные спаривания находятся в концевых областях, например, на расстоянии 5, 4, 3 или 2 нуклеотидов с 5'- и/или 3'-конца.

5 В контексте настоящего изобретения понятие «смысловая цепь» относится к цепи агента РНКи, которая включает область, в значительной степени комплементарную области антисмысловой цепи – понятия, смысл которого описан в настоящем изобретении.

10 Последовательность гена может варьировать от индивидуума к индивидууму, особенно в положениях неоднозначного соответствия в кодирующем сегменте или в нетранслируемой области; индивидуумы могут также отличаться друг от друга кодирующей последовательностью, приводя к дополнительным различиям в иРНК. Таким образом, последовательности смысловой и антисмысловой цепей агента РНКи могут быть сконструированы для соответствия агента конкретному пациенту, если это требуется. Агенты
15 РНКи также могут быть модифицированы по последовательности для уменьшения иммуногенности, связывания с нежелательными иРНК (например, «эффекты вне мишени») или для повышения стабильности в крови. Такие варианты последовательности независимы от химической модификации оснований, или 5', или 3', или других концевых кэпов агентов РНКи.

20 Агенты РНКи также могут иметь выступы из 0, 1 или 2 нуклеотидов; в случае 0 выступающих нуклеотидов, агенты имеют тупые концы. Агент РНКи может иметь 0, 1 или 2 тупых конца. В «агенте РНКи с тупыми концами» обе цепи оканчиваются парой оснований; таким образом, молекула с тупыми концами утратила или 3'-, или 5'-одноцепочечные нуклеотидные выступы.

25 В контексте настоящего изобретения понятия «выступ» или «нуклеотидный выступ» относится по меньшей мере к одному неспаренному нуклеотиду, который выступает с конца по меньшей мере одной из двух цепей структуры дуплекса агента РНКи. Например, если 3'-конец одной цепи дцРНК простирается за пределы 5'-конца другой цепи, или наоборот, неспаренный нуклеотид
30 (нуклеотиды) формируют выступ. Молекула дцРНК может включать выступ, состоящий по меньшей мере из одного нуклеотида; в другом варианте выступ может включать по меньшей мере два нуклеотида, по меньшей мере три нуклеотида, по меньшей мере четыре нуклеотида, по меньшей мере пять

нуклеотидов или более. Выступ может включать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Выступ (выступы) могут быть на смысловой цепи, антисмысловой цепи или какой-либо их комбинации. Кроме того, нуклеотид (нуклеотиды) выступа могут быть на 5'-конце, 3'-конце или на обоих концах или антисмысловой, или смысловой цепи дцРНК.

Агент РНКи также может необязательно включать кэп. Понятие «кэп» относится к химической части молекулы, присоединенной к концу двухцепочечного нуклеотидного дуплекса, но в контексте настоящего изобретения используется для исключения химической части молекулы, являющейся нуклеотидом или нуклеозидом. Понятие «3'-кэп» относится к кэпу, присоединенному к 3'-концу нуклеотида или олигонуклеотида. Понятие «5'-кэп» относится к кэпу, присоединенному к 5'-концу нуклеотида или олигонуклеотида. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения, 3'-концевые кэпы подобны описанным, например, в WO 2005/021749 и WO 2007/128477.

Настоящее изобретение также относится к агенту РНКи, специфичному к Beta-ENaC, включающему антисмысловую цепь (которая может быть примыкающей или соединенной через линкер или петлю) в агенте РНКи. В более конкретном варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, которые вместе представляют двухцепочечную или комплементарную область. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи также необязательно включает один или два выступа и/или один или два кэпа. Агент РНКи применяют для индукции РНК-интерференции Beta-ENaC.

Мишень и комплементарные последовательности

Агенты РНКи по настоящему изобретению нацеливаются (например, специфически связываются, отжигаются и т.д.) на иРНК, кодирующую ген Beta-ENaC. Применение агента РНКи, специфичного по отношению к Beta-ENaC, приводит к снижению действия, уровня и/или экспрессии Beta-ENaC, например, к «нокдауну» или «нокауту» гена-мишени или последовательности-мишени. В частности, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения в случае болезненного состояния, отличающегося сверхэкспрессией или гиперактивностью Beta-ENaC, введение агента РНКи к Beta-ENaC приводит к

нокдауну гена Beta-ENaC, что достаточно для восстановления нормального уровня действия Beta-ENaC и/или нормального уровня реабсорбции Na^+ .

В контексте настоящего изобретения понятия «последовательность-мишень» или «ген-мишень» относятся к прилегающей части нуклеотидной последовательности молекулы иРНК, сформированной при транскрипции гена, например, гена Beta-ENaC, в том числе иРНК, которая является продуктом процессинга РНК основного продукта транскрипции. Часть последовательности, являющаяся мишенью, должна быть по меньшей мере такой длиной, которая достаточна для того, чтобы служить субстратом для иРНК-направленного расщепления в этой части последовательности или рядом. Например, последовательность-мишень обычно может быть из 9-36 нуклеотидов в длину, например, 15-30 нуклеотидов в длину, включая все субдиапазоны в этом интервале. Последовательность-мишень может быть из 15-30 нуклеотидов, 15-26 нуклеотидов, 15-23 нуклеотидов, 15-22 нуклеотидов, 15-21 нуклеотидов, 15-20 нуклеотидов, 15-19 нуклеотидов, 15-18 нуклеотидов, 15-17 нуклеотидов, 18-30 нуклеотидов, 18-26 нуклеотидов, 18-23 нуклеотидов, 18-22 нуклеотидов, 18-21 нуклеотида, 18-20 нуклеотидов, 19-30 нуклеотидов, 19-26 нуклеотидов, 19-23 нуклеотидов, 19-22 нуклеотидов, 19-21 нуклеотида, 19-20 нуклеотидов, 19 нуклеотидов, 20-30 нуклеотидов, 20-26 нуклеотидов, 20-25 нуклеотидов, 20-24 нуклеотидов, 20-23 нуклеотидов, 20-22 нуклеотидов, 20-21 нуклеотида, 20 нуклеотидов, 21-30 нуклеотидов, 21-26 нуклеотидов, 21-25 нуклеотидов, 21-24 нуклеотидов, 21-23 нуклеотидов, или 21-22 нуклеотидов, 21 нуклеотида, 22 нуклеотидов или 23 нуклеотидов, но этими примерами перечень не ограничивается. Смысловая и антисмысловая цепи РНКи включают последовательность, комплементарную последовательности целевой нуклеиновой кислоты, Beta-ENaC.

В контексте настоящего изобретения, если не указано иначе, понятие «комплементарность» относится к способности олигонуклеотида или полинуклеотида, включающего первую нуклеотидную последовательность, к гибридизации и формированию дуплексной структуры в определенных условиях с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, включающим вторую нуклеотидную последовательность. Такие условия могут быть, например, жесткими, например, 400 мМ NaCl, 40 мМ PIPES pH 6,4, 1 мМ EDTA, 50°C или 70°C в течение 12-16 ч

с последующей промывкой. Могут применяться другие условия, например, физиологически значимые условия, которые могут встретиться вне организма. Специалист может определить набор условий, наиболее приемлемых для определения комплементарности двух последовательностей в соответствии с основным применением гибридизируемых нуклеотидов.

В контексте настоящего изобретения понятие «комплементарная» применительно к последовательности означает последовательность, которая также может включать или может быть полностью сформирована из пар оснований, не относящихся к парам Уотсона-Крика, и/или пар оснований, сформированных неприродными и модифицированными нуклеотидами, при условии, что указанные выше требования относительно их способности гибридизоваться полностью выполнены. Такие пары оснований, не относящиеся к парам Уотсона-Крика, включают, но ими не ограничиваются, неоднозначную пару оснований G:U или хугстиновское спаривание оснований.

В контексте настоящего изобретения понятия «комплементарный», «полностью комплементарный» и «в существенной степени комплементарный» также могут применяться по отношению к скрещиванию оснований между смысловой цепью и антисмысловой цепью дцРНК, или между смысловой цепью агента РНКи и последовательностью-мишенью, что будет понятно из контекста их применения.

В контексте настоящего изобретения полинуклеотидом, который «в существенной степени комплементарен по меньшей мере в отношении части» информационной РНК (иРНК), называется полинуклеотид, который в существенной степени комплементарен к смежной части по отношению к целевой иРНК (например, иРНК, кодирующей Beta-ENaC). Например, полинуклеотид комплементарен по меньшей мере в отношении части иРНК Beta-ENaC, если его последовательность в существенной степени комплементарна непрерывающейся части иРНК, кодирующей Beta-ENaC.

Комплементарные последовательности в агенте РНКи, например, в дцРНК, согласно описанному в настоящем изобретении, включают спаренные по основаниям олигонуклеотиды или полинуклеотиды, включающие первую нуклеотидную последовательность к олигонуклеотиду или полинуклеотиду, представляющему вторую нуклеотидную последовательность по всей длине

одной или обеих нуклеотидных последовательностей. В контексте настоящего изобретения такие последовательности могут обозначаться «полностью комплементарными» по отношению друг к другу. Однако в контексте настоящего изобретения, если первую последовательность обозначают

5 «полностью комплементарной» по отношению ко второй последовательности, две последовательности могут быть полностью комплементарными, или они могут формировать одну или несколько, но обычно не более 5, 4, 3 или 2, ошибочно спаренных пар оснований при условии гибридизации для дуплекса до

10 30 пар оснований, хотя сохраняется способность гибридизироваться в условиях, наиболее значимых для их окончательного применения, например, подавления генной экспрессии по метаболическому пути RISC. Однако если два олигонуклеотида сконструированы для формирования путем гибридизации одного или нескольких одноцепочечных выступов, такие выступления не следует

15 рассматривать в качестве ошибочных спариваний в том, что касается определения комплементарности. Например, дуплекс, включающий один олигонуклеотид из 21 нуклеотида в длину и другой олигонуклеотид из 23 нуклеотидов в длину, в котором более длинный олигонуклеотид включает последовательность из 21 нуклеотида, которая полностью комплементарна более

20 короткому олигонуклеотиду, все еще может называться «полностью комплементарной» для целей, описанных в настоящем изобретении. Понятие «выступ» означает неспаренный нуклеотид с 3'- или 5'-конца двухцепочечного нуклеотидного дуплекса, согласно описанному выше. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения выступ составляет в длину 0-4 нуклеотида и располагается с 3'-конца.

25 Таким образом, агент РНКи по настоящему изобретению комплементарен или в существенной степени комплементарен последовательности-мишени в мишени Beta-ENaC и является двухцепочечным, включающим смысловую и антисмысловую цепь (которая может быть прилегающей, связанной петлей или иначе присоединенной), где двухцепочечная область состоит из 9-36 п.о. в длину

30 (особенно, например, 19-22 п.о. или 19-23 п.о. в длину), и может также необязательно включать 3'- или 5'-выступ, и агент РНКи может также включать 3'-кэп. Агент РНКи опосредует РНК-интерференцию, снижает регуляцию или подавляет уровень, экспрессию и/или действие Beta-ENaC, и/или создает или

восстанавливает примерный нормальный уровень действия ENaC и/или Beta-ENaC, или другую биологическую функцию, связанную с ENaC.

Агенты РНКи, снижающие уровень, экспрессию и/или действие Beta-ENaC

К агентам РНКи для нацеливания на Beta-ENaC относятся те, которые
5 связываются с последовательностью Beta-ENaC, предусмотренной в настоящем изобретении, и которые действуют, снижая Beta-ENaC по механизму РНКи. Примеры миРНК к Beta-ENaC представлены, например, в табл. 1.

Агенты РНКи по настоящему изобретению отключают, подавляют
экспрессию, снижают регуляцию экспрессии и/или подавляют экспрессию гена
10 Beta-ENaC, например, так, что достигается примерно нормальный уровень действия, экспрессии Beta-ENaC, и/или уровень и/или реабсорбция Na^+ .

Кроме того, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения
в зависимости от состояния больного и биологического контекста допустимо
применение агентов РНКи по настоящему изобретению для установки уровня
15 экспрессии, действия Beta-ENaC и/или уровня, который ниже нормального уровня или выше нормального уровня.

Какой-либо способ, известный в данной области, может применяться для
измерения изменений в действии, уровне и/или экспрессии Beta-ENaC,
вызванной миРНК Beta-ENaC. Измерения могут проводиться многократно в
20 разное время, до, во время и после введения миРНК, для определения эффекта миРНК.

Понятия «молчание», «подавление экспрессии», «снижение регуляции
экспрессии», «супрессия регуляции» и др. применительно к гену Beta-ENaC
означают по меньшей мере частичное подавление экспрессии гена Beta-ENaC,
25 которое проявляется в виде уменьшения количества иРНК Beta-ENaC, которое может быть выделено из первой клетки или группы клеток или обнаружено в них, в которых ген Beta-ENaC транскрибируется и которые обработаны таким образом, что экспрессия гена Beta-ENaC подавляется, по сравнению со второй
клеткой или группой клеток, в существенной степени идентичных первой клетке
30 или группе клеток, которые не были обработаны (контрольные клетки). Степень подавления обычно выражают уравнением:

$$\frac{(\text{иРНК в контрольных клетках}) - (\text{иРНК в обработанных клетках})}{(\text{иРНК в контрольных клетках})} \times 100\%$$

Уравнение 1

В другом варианте степень подавления может быть выражена в терминах снижения параметра, который функционально связан с экспрессией гена Beta-ENaC, например, количества белка, кодируемого геном Beta-ENaC, изменения уровней жидкости в легких или уровней слизи и т.д. В принципе сайленсинг гена Beta-ENaC может быть определен в какой-либо клетке, экспрессирующей Beta-ENaC, или конститутивно, или путем геномного инжиниринга, и каким-либо соответствующим методом. Однако если эталонный образец или контроль необходимы для того, чтобы определить, может ли данный агент РНКи подавлять экспрессию гена Beta-ENaC до определенной степени и соответственно входить в рамки охвата настоящего изобретения, проводимые ниже в примерах исследования могут служить таким контролем.

Например, в некоторых случаях экспрессия гена Beta-ENaC супрессируется по меньшей мере примерно на 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45% или 50% введением агента РНКи, описанным в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ген Beta-ENaC подавляется по меньшей мере примерно на 60%, 70% или 80% путем введения агента РНКи, описанного в настоящем изобретении. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ген Beta-ENaC подавляется по меньшей мере примерно на 85%, 90% или 95% или более введением агента РНКи согласно описанному в настоящем изобретении.

Способность агента РНКи подавлять Beta-ENaC сначала может быть исследована *in vitro* (например, используя тест-клетки, например, клетки H441).

Агенты РНКи, которые могут подавлять Beta-ENaC *in vitro*, затем могут быть исследованы на предмет иммуностимуляции, используя, например, исследование с применением МКПК (моноклеарных клеток периферической крови). Агенты РНКи также могут быть исследованы в опытах на животных. К подопытным и контрольным животным относятся те, которые повышено экспрессируют или понижено экспрессируют Beta-ENaC, согласно описанному, например, в работах Hummer и др., J. Am. Soc. Nephrol., 16, 2005, сс. 3160-3166; Randrianarison и др., Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol., 294, 2007, сс. 409-416; Cao и др., Am. J. Physiol. Renal Physiol., 2006, а также в цитируемой в этих работах литературе. Агенты РНКи, которые супрессируют или изменяют уровень, действие и/или экспрессию Beta-ENaC, могут применяться в

лекарственных средствах для лечения различных заболеваний, связанных с Beta-ENaC.

Понятие «пониженное» применительно к Beta-ENaC или к симптому заболевания, связанного с Beta-ENaC, означает статистически существенное
5 снижение уровня. Снижение может быть, например, по меньшей мере на 10%, по меньшей мере на 20%, по меньшей мере на 30%, по меньшей мере на 40% или более. Если, в случае определенного заболевания или в случае больного с определенным заболеванием, уровни или экспрессия Beta-ENaC повышены, лечение агентом РНКи к Beta-ENaC по настоящему изобретению может
10 существенно понизить уровень или экспрессию Beta-ENaC до уровня, рассматриваемого в литературе в качестве диапазона нормы для индивидуума, не имеющего такого заболевания. Уровень или экспрессия Beta-ENaC могут быть измерены по оценке иРНК (например, методом норзен-блоттинга или ПЦР) или белка (например, методом вестерн-блоттинга). Воздействие агента РНКи на
15 экспрессию Beta-ENaC может быть определено путем измерения транскрипции гена Beta-ENaC (например, методом норзен-блоттинга; или с помощью полимеразной цепной реакции обратной транскриптазы или полимеразной цепной реакции реального времени (РВ-ПЦР)). РВ-ПЦР применяют, чтобы продемонстрировать, что уровни иРНК Beta-ENaC высоки в почках,
20 поджелудочной железе и простате, и имеют среднюю величину в печени и селезенке. Brauner-Osborne и др., *Biochim. Biophys. Acta*, 1518, 2001, сс. 237-248. Могут быть произведены прямые исследования уровней белка Beta-ENaC (экспрессируемого на поверхности клеток), например, методом вестерн-блоттинг, в тканях, в которых экспрессируется Beta-ENaC.

25 В контексте настоящего изобретения понятие «снижение регуляции» относится к какому-либо статистически значимому снижению биологического действия и/или экспрессии Beta-ENaC, включая полное блокирование действия (т.е. полное подавление) и/или экспрессии. Например, «снижение регуляции» может относиться к снижению по меньшей мере примерно на 10, 20, 30, 40, 50,
30 60, 70, 80, 90 или 100% уровня, действия и/или экспрессии Beta-ENaC.

В контексте настоящего изобретения понятия «ингибирует» или «ингибирование» Beta-ENaC относится к какому-либо статистически значимому снижению биологического уровня, действия и/или экспрессии Beta-ENaC,

включая полное блокирование действия и/или экспрессии. Например, «ингибирование» может относиться к снижению по меньшей мере примерно на 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или 100% уровня, действия и/или экспрессии Beta-ENaC. В контексте настоящего изобретения понятие «ингибирует» сходным образом относится к существенному снижению уровня, действия и/или экспрессии, наряду с отношением к какому-либо другому биологическому агенту или композиции.

В контексте настоящего изобретения понятие «уровень» означает, что агент РНКи Beta-ENaC может изменять уровень Beta-ENaC, например, уровень иРНК Beta-ENaC или уровень белка Beta-ENaC, или уровень действия Beta-ENaC.

Некоторые заболевания, например, муковисцидоз, отличаются интенсивной ENaC-опосредованной абсорбцией Na^+ . В частности, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения в случае заболевания, отличающегося сверхэкспрессией и/или гиперактивностью Beta-ENaC, введение агента РНКи к Beta-ENaC снижает уровень, экспрессию и/или действие Beta-ENaC. Однако чрезвычайно низкие уровни Beta-ENaC также могут привести к ухудшению клиренса жидкости в легких и к почечной дисфункции. Randrianarison и др., *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 294, 2007, сс. 409-416. Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения введение агента РНКи к Beta-ENaC в высокой степени устанавливает или восстанавливает нормальное или примерно нормальное действие, экспрессию и/или уровень Beta-ENaC.

Понятия «нормальный» или «примерно нормальный» применительно к понятиям уровня, экспрессии и/или действия, означает по меньшей мере: примерно 50%, примерно 60%, примерно 70%, примерно 80%, примерно 90%, и/или примерно 100%; и/или не более чем: примерно 100%, примерно 120%, примерно 130%, примерно 140%, или примерно 150% от уровня, экспрессии и/или действия Beta-ENaC в здоровых клетках, тканях или органах. Измерения могут быть произведены, используя, например, гомогенаты легких или почек, согласно описанному в работе Gambling и др., *Kidney Intl.*, 65, 2004, сс. 1774-1781. В частности в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения введение соответствующего количества соответствующего агента РНКи к Beta-ENaC восстанавливает уровень, действие и/или экспрессию Beta-ENaC и/или

уровни реабсорбции Na^+ примерно от 50% до примерно 150%, более предпочтительно примерно от 60% до примерно 140%, более предпочтительно примерно от 70% до примерно 130%, более предпочтительно примерно от 80% до примерно 120%, более предпочтительно примерно от 90% до примерно 110%,
5 и наиболее предпочтительно примерно от 100% от показателей здоровых клеток, тканей или органов. Уровень действия Beta-ENaC также может быть косвенным образом измерен по балансу жидкости в легких. Баланс жидкости в легких может быть оценен путем подсчета кровопотери, соотношения сухой/влажной
10 жидкости в легких. Randrianarison и др., Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 294, 2007, сс. 409-416. Уровень действия Beta-ENaC также может быть косвенным образом измерен гистологическими методами исследования легких, в частности бронхов, альвеолярных ходов и кровеносных сосудов. Randrianarison и др. 2007; Zhou и др., Am. J. Resp. Crit. Care Med. 178, 2008, сс. 1245-1256.
15 Введение РНКи к Beta-ENaC пациенту с заболеванием, связанным с Beta-ENaC, таким образом эффективно восстанавливает уровень, действие и/или экспрессию Beta-ENaC и уровень реабсорбции Na^+ до примерно нормального уровня, который определяют прямым измерением уровней иРНК или белка Beta-ENaC, или косвенным определением, например, анализом гистологических образцов
20 или уровней жидкости в легких.

Кроме того, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения, в зависимости от болезненного состояния и биологического контекста, допустимо применение агентов РНКи по настоящему изобретению для установки уровня экспрессии, действия Beta-ENaC и/или уровня, который
25 ниже нормального уровня.

Известно, что различные факторы изменяют уровень ENaC или, особенно, Beta-ENaC. К гормонам, которые повышают физиологическое действие ENaC, относятся альдостерон, вазопрессин и инсулин. Регуляция Beta-ENaC повышается специфически под действием вазопрессина и за счет ограничения
30 воды, а также при нагрузке натрием бикарбонатом у крыс. Такие различные факторы могут применяться в качестве контролей при определении воздействия агента РНКи на уровень Beta-ENaC.

Типы агентов РНКи и их модификации

Применение агентов РНКи или композиций, включающих антисмысловую нуклеиновую кислоту, для снижения модуляции экспрессии определенного белка в клетке известно в данной области. Агент РНКи включает последовательность, комплементарную к кодирующей цепи другой нуклеиновой кислоты (например, иРНК) и способную к связыванию с ней за счет водородных связей. Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения к агентам РНКи по настоящему изобретению относятся какие-либо агенты РНКи, которые нацеливаются (например, комплементарны, способны к связыванию с ней за счет водородных связей и др.) на какую-либо последовательность, представленную, например, в табл. 1.

Антисмысловые последовательности, комплементарные иРНК, могут быть комплементарными по отношению к кодирующей области, 5'- или 3'-нетранслируемой области иРНК и/или области, связывающей кодирующие и нетранслируемые области и/или их части. Кроме того, агент РНКи или его часть могут быть комплементарны регуляторной области гена, кодирующего иРНК, например, последовательности инициации транскрипции или трансляции или регуляторному элементу. В частности агент РНКи или его часть могут быть комплементарны области, предшествующей или охватывающей кодон инициации кодирующей цепи, или 3'-нетранслируемой области иРНК.

Молекулы агента РНКи могут быть сконструированы по правилам спаривания оснований Уотсона и Крика. Агент РНКи может быть комплементарным по отношению к кодирующей области иРНК Beta-ENaC, но более предпочтительно он является олигонуклеотидом, антисмысловым только к части кодирующей или не кодирующей области иРНК Beta-ENaC. Например, антисмысловой олигонуклеотид может быть комплементарным по отношению к области, близко расположенной к сайту инициации трансляции иРНК Beta-ENaC. В длину антисмысловой олигонуклеотид может составлять, например, примерно 5, 10, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 нуклеотидов.

Агент РНКи может содержать модификации внутри или с одного или с обоих из концов. Модификации по концам могут помочь стабилизировать агент РНКи, защищая его от разрушения нуклеазами в крови. Агенты РНКи могут необязательно быть направленными на области иРНК Beta-ENaC, о которых известно, что они расположены около сайтов сплайсинга или по местам

сплайсинга этого гена, или которые предположительно так расположены; например, соединения экзона-интрона (согласно описанному, например, Saxena и др., 1998).

5 Агенты РНКи также необязательно могут быть сконструированы для отжига с известными или прогнозируемыми доступными и/или одноцепочечными областями иРНК (например, петлями).

10 Агент РНКи может быть создан, используя химический синтез и реакции энзиматического лигирования, известные в данной области. Например, агент РНКи может быть синтезирован химически, используя природные нуклеотиды или различные модифицированные нуклеотиды, сконструированные для
15 снижения эффектов вне мишени, и/или повышения биологической стабильности молекул, или повышения физической стабильности дуплекса, сформированного между антисмысловой и смысловой нуклеиновыми кислотами, например, могут применяться фосфоротиоатные производные и акридин-замещенные
15 нуклеотиды.

 Обозначения «G», «C», «A», «T» и «U» обычно применяют для нуклеотидов, содержащих азотистые основания гуанин, цитозин, аденин, тимидин и урацил, соответственно. Однако понятия «рибонуклеотид» или «нуклеотид» также могут относиться к модифицированному нуклеотиду или
20 замещающей части молекулы. Специалистам в данной области известно, что гуанин, цитозин, аденин и урацил могут быть замещены другими частями молекулы без существенного изменения свойств по спариванию оснований олигонуклеотидов, включая такую замещаемую часть молекулы с нуклеотидом. Например, нуклеотид, включающий инозин в качестве основания, может
25 основывать пару с нуклеотидами, содержащими аденин, цитозин или урацил, но им перечень не ограничивается. Следовательно, нуклеотиды, содержащие урацил, гуанин или аденин, могут быть замещены в последовательностях нуклеотидов дцРНК, описанных в настоящем изобретении, на нуклеотид, содержащий, например, инозин. В другом примере аденин и цитозин в каком-
30 либо месте олигонуклеотид может быть замещен гуанином и урацилом, соответственно, для формирования неоднозначных пар оснований G-U, спаривающихся с иРНК-мишенью. Последовательности, содержащие такие

замещающие части молекул, применимы для композиций и способов, свойственных для настоящего изобретения.

Специалистам в данной области известно, что понятие «молекула РНК» или «молекула рибонуклеиновой кислоты» относится не только к молекулам РНК, экспрессированным или обнаруженным в природе (т.е. природным), но также к неприродным аналогам и производным РНК, включающим один или несколько аналогов или производных рибонуклеотида/рибонуклеозида, описанных в настоящем изобретении или известных в настоящей области. Если формулировать кратко, понятие «рибонуклеозид» включает пару нуклеозидов и сахар рибозу, а понятие «рибонуклеотид» означает рибонуклеозид с одним, двумя или тремя фосфатами. Однако понятия «рибонуклеозид» и «рибонуклеотид» могут рассматриваться в настоящем изобретении в качестве эквивалентов. Модификации РНК могут затрагивать структуру оснований или структуру каркаса рибозы-фосфата, например, согласно описанному ниже.

Однако молекулы, включающие аналоги или производные рибонуклеозидов, должны сохранять способность формировать дуплекс. В качестве примеров, которыми перечень, однако не ограничивается, также может быть по меньшей мере один модифицированный рибонуклеозид, включая, но ими не ограничиваясь, 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид, нуклеозид, включающий 5'-фосфоротиоатную группу, концевой нуклеозид, связанный с холестерильным производным или бисдециламидной группы додекановой кислоты, замкнутый нуклеотид, абазический нуклеозид, 2'-дезоксид-2'-фтор-модифицированный нуклеозид, 2'-амино-модифицированный нуклеозид, 2'-алкил-модифицированный нуклеозид, морфолиновый нуклеозид, незамкнутый рибонуклеотид (например, ациклический нуклеотидный мономер, описанный в WO 2008/147824), фосфорамидат или неприродное основание, включающее нуклеозид, или какая-либо их комбинация. В другом варианте, молекула РНК может включать по меньшей мере два модифицированных рибонуклеозида, по меньшей мере 3, по меньшей мере 4, по меньшей мере 5, по меньшей мере 6, по меньшей мере 7, по меньшей мере 8, по меньшей мере 9, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20 или более, вплоть до полной длины молекулы дцРНК. Модификации необязательно могут быть одинаковыми для каждого из множества модифицированных рибонуклеозидов в молекуле РНК. В

одном из вариантов осуществления настоящего изобретения модифицированными РНК, предусмотренными для применения в способах и композициях, описанных в настоящем изобретении, являются пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК), которые могут формировать необходимую структуру дуплекса и которые допускают или опосредуют специфическое разрушение РНК-мишени по метаболическому пути RISC.

К примерам модифицированных нуклеотидов, которые могут применяться для получения агента РНКи, относятся 5-фторурацил, 5-бром урацил, 5-хлорурацил, 5-иодурацил, гипоксантин, ксантин, 4-ацетилцитозин, 5-(карбоксигидроксиметил)урацил, 5-карбоксиметиламинметил-2-тиоуридин, 5-карбоксиметиламинметилурацил, дигидроурацил, бета-D-галактозилквеуозин, инозин, N6-изопентиладенин, 1-метилгуанин, 1-метилюридин, 2,2-диметилгуанин, 2-метиладенин, 2-метилгуанин, 3-метилцитозин, 5-метилцитозин, N6-аденин, 7-метилгуанин, 5-метиламинметилурацил, 5-метоксиаминметил-2-тиоурацил, бета-D-маннозилквеуозин, 5'-метоксикарбоксиметилурацил, 5-метоксиурацил, 2-метилтио-N6-изопентиладенин, урацил-5-оксиуксусная кислота (v), вибутоксозин, псевдоурацил, квеуозин, 2-тиоцитозин, 5-метил-2-тиоурацил, 2-тиоурацил, 4-тиоурацил, 5-метилурацил, метиловый эфир урацил-5-оксиуксусной кислоты, урацил-5-оксиуксусная кислота (v), 5-метил-2-тиоурацил, 3-(3-амино-3-N-2-карбоксипропил) урацил, (аср3)w и 2,6-диаминопурин.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к какому-либо модифицированному варианту какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем изобретении. Модифицированный вариант содержит ту же последовательность, но может быть модифицирован для включения модификаций в фосфате, сахаре, основании, нуклеотиде и т.д. Например, модифицированный вариант может включать один или несколько модифицированных нуклеотидов, перечисленных в настоящем изобретении, например, C, замещенный 2'-модифицированным C.

В одном из объектов настоящего изобретения к модифицированному рибонуклеозиду относится дезоксирибонуклеозид. В этом случае агент РНКи может включать один или несколько дезоксинуклеозидов, включая, например, дезоксинуклеозидный выступ (выступы) или один или несколько

дезоксинуклеозидов в двухцепочечной части дцРНК. Однако очевидно, что ни при каких обстоятельствах молекула двухцепочечной ДНК не будет относиться к «агенту РНКи».

5 Замещение 3'-концевых нуклеотидных выступающих сегментов 21-мерного
дуплекса миРНК, обладающего 3'-выступами из двух нуклеотидов, на
дезоксирибонуклеотиды не оказывает побочного воздействия на действие РНКи.
Замещение до четырех нуклеотидов с каждого конца миРНК на
дезоксирибонуклеотиды устойчиво, но полное замещение на
10 дезоксирибонуклеотиды приводит к утрате активности РНКи. См. WO 00/44914
и WO 01/68836, в которых ранее сообщалось, что миРНК могут включать
модификации либо в каркасе молекулы из фосфата-сахара, либо в нуклеозиде
для включения в качестве гетероатома по меньшей мере одного азота или серы.
В канадской патентной заявке 2359180 также описывают определенные
химические модификации для применения в конструкциях дцРНК для
15 препятствования активированию двухцепочечной РНК-зависимой
протеинкиназы PKR, особенно 2'-амино- или 2'-О-метил-нуклеотиды и
нуклеотиды, содержащие 2'-О или 4'-С метиленовый мост. Дополнительные 3'-
концевые нуклеотидные выступы включают dT (дезокситимидин), 2'-О,4'-С-
этилентимидин (eT) и 2-гидроксиэтилфосфат (hp).

20 Parrish и др., Molecular Cell 6, 2000, сс. 1077-1087, исследуют определенные
химические модификации, нацеливающиеся на ген *unc-22* у *C. elegans*,
используя длинные транскрипты миРНК (> 25 нуклеотидов). Авторы описывают
внедрение тиофосфатных остатков в такие транскрипты миРНК путем
инкорпорирования тиофосфатных нуклеотидных аналогов РНК-полимеразой
25 фагов T7 и T3 и наблюдают, что молекулы РНК с двумя фосфоротиоатными
модифицированными основаниями также обладают существенным снижением
эффективности в качестве агентов РНКи. Кроме того, Parrish и др. сообщают,
что фосфоротиоатная модификация более двух остатков значительно
дестабилизирует молекулы РНК *in vitro* таким образом, что интерферирующее
30 действие не поддается анализу. (Parrish и др., Molecular Cell 6, 2000, с. 1081).
Авторы также исследовали определенные модификации в 2'-положении сахара
нуклеотида в длинных транскриптах миРНК и установили, что замещение
дезоксинуклеотидов на рибонуклеотиды приводит к существенному снижению

интерферирующего действия, особенно в случаях замещения уридина на тимидин и/или цитидин на дезоксицитидин. (Parrish и др., *Molecular Cell* 6, 2000, сс. 1077-1087). Кроме того, авторы исследуют определенные модификации, включая замещения в смысловой и антисмысловой цепях миРНК, 4-тиоурацил, 5-бромурацил, 5-иодурацил и 3-(аминоаллил)урацил на урацил, и инозин на гуанозин. Если замещения на 4-тиоурацил и 5-бромурацил устойчивы, Parrish и др. сообщают, что замещение инозином приводит к существенному снижению интерферирующего действия при включении в любую из цепей. Parrish и др. также сообщают, что включение 5-иодурацила и 3-(аминоаллил)урацила в антисмысловую цепь также приводит к существенному снижению действия РНКи.

Специалистам в данной области известно, что можно синтезировать и модифицировать миРНК, используя какой-либо обычный известный в данной области способ (см. Henschel и др., *Nucleic Acids Research*, 32 (Web Server Issue), 2004, сс. W113-W120). Кроме того, специалистам в данной области известно, что существуют разнообразные регуляторные последовательности (например, конститутивные или индуцибельные промоторы, тканеспецифичные промоторы или их функциональные фрагменты и др.), которые применимы для конструкции/вектора экспрессии антисмыслового олигонуклеотида, миРНК или кшРНК.

В данной области известно несколько примеров, описывающих модификации сахара, фосфата и каркаса молекул, которые могут быть интродуцированы в молекулы нуклеиновой кислоты с существенным повышением их стабильности к нуклеазам и эффективности. Например, олигонуклеотиды модифицированы для повышения стабильности и/или повышения биологического действия группами, устойчивыми к нуклеазам, например, 2'-амино-, 2'-С-аллил-, 2'-фтор-, 2'-О-метил-, 2'-О-аллил-, 2'-Н-модификациями нуклеотидных оснований (см. обзор Usman и Cedergren, *TIBS*, 17, 1992, с. 34; Usman и др., *Nucleic Acids Symp. Ser.*, 31, 1994, с. 163; Burgin и др., *Biochemistry* 35, 1996, с. 14090). Модификации сахара молекул нуклеиновой кислоты подробно описаны в данной области.

Были описаны дополнительные модификации и конъюгации агентов РНКи. В работе Soutschek и др., *Nature*, 432, 2004, сс. 173-178, описана конъюгация

холестерина с 3'-концом смысловой цепи молекулы миРНК с помощью пирролидинового линкера, тем самым получая ковалентный и необратимый конъюгат. Химические модификации (включая конъюгацию с другими молекулами) агентов РНКи также могут быть произведены для улучшения *in vivo* фармакокинетического времени удержания и эффективности.

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агент РНКи к Beta-ENaC включает по меньшей мере один 5'-уридин-аденин-3' (5'-ua-3') динуклеотид, в котором уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; по меньшей мере один 5'-уридин-гуанин-3' (5'-ug-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; по меньшей мере один 5'-цитидин-аденин-3' (5'-ca-3') динуклеотид, в котором 5'-цитидин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-уридин-3' (5'-uu-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом.

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает 2'-модификацию, выбранную из группы, включающей: 2'-дезоксид, 2'-дезоксид-2'-фтор, 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил (2'-О-АП), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAEOE), и 2'-О-N-метилацетамидо (2'-О-NMA).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения РНКи включает гэп или ошибочно спаренное основание. Например, может быть каркас молекулы из фосфата-сахара, но с недостающим основанием.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи содержит олноцепочечный ник (например, разрыв или ошибочную связь в каркасе молекулы). В различных вариантах осуществления настоящего изобретения одонитевой ник может быть или в смысловой, или в антисмысловой цепи, или в обеих.

Ник может быть, например, в смысловой цепи, создавая малую внутренне сегментированную интерферирующую РНК, или миРНК, которая может иметь меньшие эффекты, удаленные от мишени, чем соответствующий агент РНКи без ника.

Антисмысловая нуклеиновая кислота или агент РНКи также может иметь иной каркас молекулы, например, закрытые нуклеиновые кислоты (ЗНК), морфолины, пептидные нуклеиновые кислоты (ПНК), треозо-нуклеиновые кислоты (ТНК), или гликолевая нуклеиновая кислота (glycol nucleic acid – GNA), и/или на нее может быть нанесена метка (например, радиометка или иная метка).

Одна или обе цепи могут включать другой каркас молекулы.

В еще одном другом варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи, используемый в способах настоящего изобретения, может включать α -аномерную молекулу нуклеиновой кислоты. Молекула α -аномерной нуклеиновой кислоты формирует специфические двухцепочечные гибриды с комплементарной РНК, в которой в противоположность обычным β -единицам, цепи проходят параллельно друг другу. Gaultier и др., *Nucleic Acids. Res.* 15, 1987, сс. 6625-6641.

Молекула антисмысловой нуклеиновой кислоты также может включать 2'-о-метилрибонуклеотид (Inoue и др., *Nucleic Acids Res.* 15, 1987, сс. 6131-6148) или химерный аналог РНК-ДНК (Inoue и др., *FEBS Lett.* 215, 1987, сс. 327-330).

В еще одном другом варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи является рибозимом. Рибозимы – это каталитические молекулы РНК с рибонуклеазным действием, которые могут расщеплять одноцепочечную нуклеиновую кислоту, например, иРНК, к которой они имеют комплементарную область. Таким образом, рибозимы [например, молоточковые рибозимы (описанные Haselhoff и др., *Nature* 334, 1988, сс. 585-591)] могут применяться для каталитического расщепления транскриптов иРНК Beta-ENaC, чтобы тем самым ингибировать трансляцию иРНК Beta-ENaC.

В другом варианте генная экспрессия может подавляться путем нацеливания нуклеотидных последовательностей, комплементарных регуляторной области Beta-ENaC (например, промотор и/или энхансер) для формирования тройных спиральных структур, которые предупреждают транскрипцию гена Beta-ENaC. См. в первую очередь Helene, *Anticancer Drug Des.* 6(6), 1991, сс. 569-584; Helene и др., *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 660, 1992, сс. 27-36; Maher, *Bioassays*, 14(12), 1992, сс. 807-815.

Получение агентов РНКи

Агент РНКи может быть получен биологически, используя вектор экспрессии, в котором субклонирована нуклеиновая кислота в антисмысловой ориентации (т.е. РНК, транскрибированная с инсертированной нуклеиновой кислоты, может быть в антисмысловой ориентации по отношению к нуклеиновой кислоте-мишени). Агент РНКи также может быть получен биологически, используя вектор экспрессии, в котором субклонирована нуклеиновая кислота в качестве конструкции кшРНК (т.е. РНК, транскрибированная с инсертированной нуклеиновой кислоты, может включать первую область в антисмысловой ориентации с нуклеиновой кислотой-мишенью, вторую область, которая включает петлю или шарнир, и третью область в смысловой ориентации к нуклеиновой кислоте-мишени, причем первая и третья области транскрипта предпочтительно гибридизирована сама с собой, тем самым формируя структуру ствол-и-петля).

Способы получения агентов РНКи известны в данной области и доступны для специалистов в данной области.

Наборы для синтеза РНКи коммерчески доступны, например, от фирм New England Biolabs и Ambion.

Доставка агентов РНКи

Агенты РНКи по настоящему изобретению могут быть доставлены или интродуцированы (например, в клетку *in vitro* для анализа животного или человека) с помощью каких-либо средств, известных в данной области.

Агенты РНКи по настоящему изобретению обычно вводят субъекту или вырабатывают *in situ* таким образом, что они гибридизируются с клеточной иРНК и/или геномной ДНК, кодирующей Beta-ENaC, и подавляют экспрессию путем подавления транскрипции и/или трансляции. Примером введения агента РНКи является прямая инъекция в ткань. В другом варианте агенты РНКи могут быть модифицированы для направленности на определенные клетки и затем введены системно. Например, для системного введения антисмысловые молекулы могут быть модифицированы таким образом, что они специфически связываются с рецепторами или антигенами, экспрессируемыми на поверхности определенных клеток, например, связыванием молекул антисмысловых нуклеиновых кислот с пептидами или антителами, которые связываются с

рецепторами или антигенами на поверхности клеток. Антисмысловые молекулы нуклеиновых кислот также могут быть доставлены в клетки, используя векторы, известные в этой области и описанные, например, в патентной заявке US 20070111230, сущность которой включена в настоящее изобретение. Для достижения значительных внутриклеточных концентраций антисмысловых молекул предпочтительны векторные конструкции, в которых антисмысловая молекула нуклеиновой кислоты помещена под контроль сильного промотора *pol* II или *pol* III.

В контексте настоящего изобретения понятие «интродукция в клетки», когда оно относится к агенту РНКи, означает облегчение, или эффективное потребление, или абсорбцию в клетку, что известно специалистам в данной области. Абсорбция или потребление агента РНКи может происходить путем пассивной диффузии, или активного клеточного процесса, или с помощью вспомогательных агентов или устройств. Понимание этого термина не ограничивается клетками *in vitro*; агент РНКи также может быть «интродуцированным в клетку», причем клетка является частью живого организма. В этом случае внедрение в клетку может включать поступление в организм. Например, для доставки *in vivo* агент РНКи может быть инъецирован в участок ткани или введен системно. *In vivo* доставка может быть с помощью системы доставки бета-глюкана, например, описанной в патентах US 5032401 и 5607677, а также в патентной публикации US 2005/0281781. *In vitro* внедрение в клетку включает способы, известные в данной области, например, электропорацию и липофекцию. Другие подходы описаны в настоящем изобретении или известны в данной области.

Доставка агента РНКи в ткань осложнено, поскольку материал должен достичь органа-мишени и также должен проникнуть в цитоплазму клеток-мишеней. РНК не может преодолеть клеточные мембраны, поэтому маловероятно, чтобы системная доставка чистого агента РНКи была успешной. РНК быстро разрушается под действием РНКазы в сыворотке. В связи с этим были разработаны другие способы доставки агента РНКи к клеткам-мишеням. К известным в данной области способам относятся, но ими не ограничиваются, следующие: доставка с вирусом (ретровирусом, аденовирусом, лентивирусом, бакуловирусом, AAV); с липосомами (липофектаминол, катионным DOTAP,

нейтральным DOPC) или наночастицами (катионным полимером, ПЭИ), доставка с бактериями (tkRNAi), и также химическая модификация (LNA) миРНК для улучшения стабильности. Xia и др., Nat. Biotechnol., 20, 2002, и Devroe и др., BMC Biotechnol. 2(1), 2002, с. 15, описывают включение миРНК в вирусный вектор. Рассмотрены другие системы доставки агентов РНКи, и агенты РНКи по настоящему изобретению могут быть доставлены разными методами, уже выявленными и/или одобренными FDA или другими авторитетными органами. Агенты РНКи по настоящему изобретению могут быть переработаны для доставки в соответствующую фармацевтическую композицию.

Фармацевтические агенты РНКи

В контексте настоящего изобретения понятие «фармацевтическая композиция» подразумевает фармацевтически эффективное количество одного или нескольких агентов РНКи Beta-ENaC, фармацевтически приемлемый носитель и необязательно дополнительное лечение заболевания, которое действует синергически с агентом РНКи. В контексте настоящего изобретения понятие «фармацевтически эффективное количество», «терапевтически эффективное количество» или просто «эффективное количество» относится к такому количеству агента РНКи, которое эффективно для выработки предназначенного фармакологического, терапевтического или профилактического результата. Например, если данное клиническое лечение рассматривают в качестве эффективного, имеется снижение по меньшей мере на 10% измеримого параметра, ассоциированного с заболеванием или расстройством, терапевтически эффективным количеством лекарственного средства для лечения этого заболевания или расстройства является количество, необходимое для эффективного снижения по меньшей мере на 10% такого параметра. В терапевтически эффективном количестве агента РНКи, нацеливающегося на Beta-ENaC, может понизить уровни белка Beta-ENaC по меньшей мере на 10%. В других вариантах осуществления настоящего изобретения данное клиническое лечение рассматривают в качестве эффективного, если имеется снижение по меньшей мере на 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95% измеряемого параметра, связанного с заболеванием или расстройством, и терапевтически эффективным количеством лекарственного средства для лечения такого заболевания или расстройства

является количество, необходимое для снижения воздействия по меньшей мере на 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95%, соответственно, указанного параметра.

В контексте настоящего изобретения понятие «фармацевтически приемлемый носитель» относится к носителю для введения терапевтического агента. К таким носителям относятся, но ими перечень не ограничивается, физиологический солевой раствор, буферный солевой раствор, декстроза, вода, глицерин, этанол и их комбинации. Это понятие специально исключает среду для культивирования клеток. Для лекарственных средств, вводимых перорально, к фармацевтически приемлемым носителям относятся, но ими не ограничиваются, фармацевтически приемлемые эксципиенты, например, инертные растворители, разрыхляющие агенты, связывающие агенты, смазывающие агенты, подсластители, вкусовые агенты, красители и консерванты. К соответствующим инертным растворителям относятся натрий карбонат и кальций карбонат, натрий фосфат и кальций фосфат, лактоза, а кукурузный крахмал и альгиновая кислота являются соответствующими разрыхляющими агентами. К связывающим агентам могут относиться крахмал и желатин, а к смазывающим агентам, если они содержатся, обычно могут относиться магний стеарат, стеариновая кислота или тальк. При необходимости таблетки могут быть покрыты минералом, например, глицерил моностеаратом или глицерил дистеаратом, для отсрочки всасывания в желудочнокишечном тракте. Агенты, включенные в составы лекарственных средств, дополнительно описаны в настоящем изобретении ниже.

Фармацевтические композиции, включающие агент РНКи Beta-ENaC, могут быть в твердой форме, например, порошки, гранулы, таблетки, пилюли, гелевые капсулы, желатиновые капсулы, липосомы, суппозитории, жевательные формы или пластыри. Фармацевтические композиции, включающие агент РНКи Beta-ENaC, также могут быть в жидкой форме, например, растворы, эмульсии, суспензии, эликсиры или сиропы. Соответствующей жидкой основой может быть, например, вода, органические растворители, например, многоатомные спирты, например, глицерин или гликоли, включая пропиленгликоль и полиэтиленгликоль, или этанол, растворитель Cremophor EL, или их смеси, в варьирующих пропорциях, в воде. Композиции могут включать аморфные или

кристаллические гранулы наноразмера, покрытые альбумином или поверхностно-активным веществом.

Соответствующая основа может включать, например, антибактериальные и противогрибковые агенты, буферные агенты, кальций фосфат, целлюлозу, метилцеллюлозу, хлорбутанол, масло какао, красители, декстрин, эмульгаторы, энтеросолюбильное покрытие, ароматизаторы, желатин, изотонические агенты, лецитин, магний стеарат, отдушки, многоатомные спирты, например, маннит, инъекционные органические сложные эфиры, например, этилолеат, парабен, фенолсорбиновую кислоту, полиэтиленгликоль, поливинилпирролидин, фосфатно-солевой буфер (ФСБ), консерванты, пропиленгликоль, натриевую соль карбоксиметилцеллюлозы, натрий хлорид, сорбит, различные сахара (включая, но ими, не ограничиваясь, сахарозу, фруктозу, галактозу, лактозу и трегалозу), крахмал, воск для суппозиторий, тальк, растительные масла, например, оливковое масло и кукурузное масло, витамины, воск и/или увлажняющие агенты. Для агентов РНК к Beta-ENaC предпочтительная основа включает декстран и воду, например, 5% глюкозу в воде (5% dextrose in water – D5W).

Биологически инертная часть фармацевтической композиции может необязательно подвергаться разрушению, позволяя с выдержкой во времени высвобождать агент РНК.

Фармацевтическая композиция может включать дополнительные компоненты, которые способствуют доставке, стабилизации, эффективности или снижению иммуногенности.

Фармацевтическая композиция, включающая агент РНК к Beta-ENaC

Дополнительные компоненты фармацевтической композиции, включающей агент РНК к Beta-ENaC, могут быть добавлены для того, чтобы способствовать доставке, стабилизации, эффективности или снижению иммуногенности.

Липосомы ранее использовали для доставки лекарств (например, для доставки химиотерапевтических средств). Липосомы (например, катионные липосомы) описаны в публикациях PCT WO02/100435A1, WO03/015757A1 и WO04029213A2; US 5962016; 5030453 и 6680068; и в патентной заявке US 2004/0208921. Способ получения липосом также описан в WO04/002453A1. Кроме того, нейтральные липиды были включены в катионные липосомы (например, Farhood и др., 1995).

Катионные липосомы применяли для высвобождения агента РНКи в различные типы клеток (Sioud и Sorensen, 2003; US 2004/0204377; Duxbury и др., 2004; Donze и Picard, 2002).

5 Применение нейтральных липосом описано в работе Miller и др., 1998, и в патентной заявке US 2003/0012812.

В контексте настоящего изобретения обозначение «SNALP» относится к стабильной частице нуклеиновой кислоты-липиды (stable nucleic acid-lipid particle). SNALP представляет липидную частицу, покрывающую сниженное внутреннее пространство, включающее нуклеиновую кислоту, например, РНКи
10 или плазмиду, с которой транскрибируется РНКи. Частицы SNALP описывают, например, в патентных заявках US 20060240093, 20070135372 и WO 2009082817.

Химическая трансфекция с применением методов на основе липидов, аминов и полимеров, предусмотрена в продуктах фирм Ambion Inc., Austin, Техас, и Novagen, EMD Biosciences, Inc, филиале фирмы Merck KGaA,
15 Дармштадт, Германия); см. Ovcharenko D., Ambion TechNotes, 10(5), 2003, сс. 15-16). Кроме того, Song и др. (Nat Med. published online (Fete 1 0, 2003) doi: 10.1038/nm828) и другие [Caplen и др., Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 98, 2001, сс. 9742-9747; и McCaffrey и др., Nature, 2001, 414, сс. 34-39] описывают, что клетки печени могут эффективно трансфицироваться путем инъекции миРНК в
20 кровеносное русло млекопитающих.

Различные молекулы применяли для доставки специфического в отношении клеток агента РНКи. Например, свойство протамина конденсировать нуклеиновые кислоты объединяли со специфическими антителами для доставки молекул миРНК. Song и др., Nat Biotech. 23, 2005, сс. 709-717.
25 Самоорганизующийся ПЭГелированный поликатионный полиэтиленимин (ПЭИ) также применяли для конденсирования и защиты молекул миРНК. Schiffelers и др., Nucl. Acids Res., 32, e149, 2004, сс. 141-158.

Наночастицы, включающие миРНК, затем успешно доставляли к вновь сформированной кровеносной сети опухоли, сверхэкспрессирующей интегрин.
30 Hu-Lieskovan и др., Cancer Res. 65, 2005, сс. 8984-8992.

Агенты РНКи по настоящему изобретению могут быть доставлены, например, с помощью липидных наночастиц (ЛНЧ); нейтральных липосом (НЛ); полимерных наночастиц; мотивов, связывающих двухцепочечную РНК

(дцРНКсм); или за счет модификации агента РНКи (например, ковалентное присоединение к дцРНК).

5 Липидные наночастицы (ЛНЧ) представляют самоорганизующиеся катионные системы на основе лиПидов. Они могут включать, например, нейтральный липид (основание липосомы); катионный липид (для нагрузки миРНК); холестерин (для стабилизации липосом); и ПЭГ-липид (для стабилизации состава, экранирования заряда и продленного циркулирования в кровеносном русле).

10 К катионному липиду может относиться, например, головная группа, линкер, хвост и холестериновый хвост. ЛНЧ могут обладать, например, хорошим поступлением в опухоль, продленным циркулированием в крови, малым размером частиц (например, менее 100 нм) и стабильностью в микросреде опухоли (которая обладает низкой величиной рН и характеризует гипоксией).

15 Нейтральные липосомы (НЛ) являются частицами, основанными не на катионном липиде

Полимерные наночастицы являются самоорганизующимися частицами на основе полимера.

20 Мотивы связывающих двухцепочечных РНК (дцРНКсм) являются самоорганизующимися РНК-связывающими белками, требующими модификаций.

25 В различных вариантах осуществления настоящего изобретения агент РНКи к Beta-ENaC лигирован с одним или несколькими диагностическими соединениями, репортерной группой, агентом перекрестного связывания, определяющей резистентность к нуклеазе частью молекулы, природным или необычным нуклеиновым основанием, липофильной молекулой, холестерином, липидом, лектином, стероидом, уваолом, гецигенином, диосгенином, терпеном, тритерпеном, сарсасапогенином, фрайделином, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислотой, витамином, углеводом, декстраном, пуллуланом, хитином, хитозаном, синтетическим углеводом, 15-мерным олиголактатом, природным полимером, низкомолекулярным полимером или 30 полимером средней молекулярной массы, инулином, циклодекстрином, гиалуроновой кислотой, белком, белок-связывающим агентом, интегрин-

нацеливающей молекулой, поликатионным агентом, пептидом, полиамином, миметиком пептида и/или трансферинном.

Агенты РНКи по настоящему изобретению могут быть получены в составе фармацевтической композиции, включающей различные компоненты, предназначенные для определенного способа введения агента РНКи.

Введение агента РНКи

Фармацевтические композиции, включающие агент РНКи Beta-ENaC, могут вводиться защежно, ингаляционно (включая вдухание и глубокую ингаляцию), назально, перорально, парентерально, с помощью импланта, инъекцией или инфузией эпидурально, внутриартериально, внутрисуставно, внутрикапсулярно, интракардиально, интрацеребровентрикулярно, интракраниально, внутриможно, внутримышечно, внутриможно, внутриможно, интраспинально, интраспирально, интратекально, внутриможно, подпаутинно, подкапсулярно, подкожно, подкутикулярно, трансэндотелиально, транстрахеально, трансвакулярно, ректально, подязычно, местно и/или вагинально. Введение может быть осуществлено с помощью инъекции, инфузии, кожного пластыря или какого-либо иного способа, известного в данной области. Состав может быть порошковым, распыляемым, аэрозольным, гранулированным или иным образом приготовленным для доставки. Введение жидкости может быть медленным или в виде болюсов, однако в некоторых обстоятельствах, известных в данной области, болюсные инъекции могут привести к потере материала через почки.

Фармацевтические композиции, включающие агент РНКи Beta-ENaC, могут вводиться с помощью медицинских устройств, известных в данной области.

Например, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения агент РНКи может вводиться с помощью устройств без иглы для подкожной инъекции, например, описанных в US 5399163, 5383851, 5312335, 5064413, 4941880, 4790824 или 4596556. К примерам известных имплантов и модулей, применимых в настоящем описании, относятся: патент US 4487603, который описывает имплантируемый микроинфузионный насос для распределения лекарственного средства с контролируемой скоростью; патент US 4486194, который описывает терапевтическое устройство для введения лекарственных средств через кожу; патент US 4447233, который описывает медицинский инфузионный насос для

распределения лекарственного средства с точной скоростью инфузии; патент US 4447224, который описывает имплантируемый аппарат для инфузии с переменной скоростью тока для непрерывной доставки лекарственного средства; патент US 4439196, который описывает осмотическую систему доставки лекарственного средства, обладающую многокамерными компартментами; и патент US 4475196, который описывает осмотическую систему доставки лекарственного средства. Специалистам в данной области известны многие другие подобные имплантат, системы доставки и модули.

В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции, включающие агент РНКи, могут быть переработаны для обеспечения должного распределения *in vivo*. Введение агента РНКи к Beta-ENaC может быть системным (агент распределяется по всему организму) или, частичным, направленным на ткани или органы, которые экспрессируют (или сверхэкспрессируют или проявляют гиперактивность) Beta-ENaC, например, легкие, почки, толстую кишку и железы. Способы нацеливания на такие определенные ткани или органы описаны в настоящем изобретении и/или известны в данной области. Например, они могут быть переработаны в липосомы. Описание способов получения липосом см., например, в US 4522811, 5374548 и 5399331. Липосомы могут включать одну или несколько частей молекулы, которые избирательно транспортируются в определенные клетки или органы и таким образом повышают целевую доставку лекарственного средства (см., например, V.V. Ranade, J. Clin. Pharmacol. 29, 1989, с. 685).

К примерам нацеливающих частей молекул относятся фолат или биотин (см., например, US 5416016); маннозиды (Umezawa и др., Biochem. Biophys. Res. Commun., 153, 1988, с. 1038); антитела (P.G. Bloeman и др., FEBS Lett., 357, 1995, с. 140; M. Owais и др., Antimicrob. Agents Chemother., 39, 1995, с. 180); поверхностно активный рецептор белка А (Briscoe и др., Am. J. Physiol., 1233, 1995, с. 134), разные виды которого могут представлять составы по настоящему изобретению, а также компоненты молекул, обладающие признаками изобретения; p120 (Schreier и др., J. Biol. Chem. 269, 1994, с. 9090); см. также K. Keinanen; M.L. Laukkanen, FEBS Lett., 346, 1994, с. 123; J.J. Killion; I.J. Fidler, Immunomethods 4, 1994, с. 273.

В настоящем изобретении также предусмотрены фармацевтические композиции, включающие один или несколько агентов РНКи к Beta-ENaC, которые могут необязательно включать различные модификации и/или дополнительные компоненты, для применения в лечении заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC).

Заболевания, связанные с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC)

Настоящее изобретение охватывает агенты РНКи к бета-ENaC и введение агентов РНКи людям и животным для лечения различных заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC).

Понятие «заболевание, связанное с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC)» означает какое-либо заболевание, связанное с дисфункцией уровня, экспрессии и/или действия бета-ENaC, и/или какое-либо заболевание, которое может быть вылечено и/или облегчено путем модификации уровня, экспрессии и/или действия бета-ENaC. В частности к таким заболеваниям относятся муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА1), синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и гипертония, связанная с ожирением.

Понятие «муковисцидоз (МВ)» означает распространенное наследственное заболевание, связанное с мутациями в гене регулятора трансмембранной проводимости при муковисцидозе (cystic fibrosistransmembrane conductance regulator – CFTR). Ген CFTR кодирует сАМР-зависимый Cl-канал и регулирует ENaC. При МВ в эпителии дыхательных путей нарушена CFTR-опосредованная секреция Cl- и повышена ENaC-опосредованная абсорбция Na^+ . Такие нарушения ионного транспорта в дыхательных путях при муковисцидозе вызывают истощение объема влаги на поверхности дыхательных путей, нарушение очищения слизи и адгезии на слизистой, тем самым подтверждая, что истощение объема влаги на поверхности дыхательных путей является ключевым механизмом при патогенезе болезни легких при муковисцидозе. У экспериментальных мышей специфичная для дыхательных путей сверхэкспрессия показывает, что один только повышенный транспорт Na^+ достаточен для индукции истощения объема влаги на поверхности дыхательных путей и МВ-подобное заболевание легких, включающее слизистую закупорку

дыхательных путей, метаплазию бокаловидных клеток, хроническое нейтрофильное воспаление дыхательных путей, ослабленный клиренс бактериальных патогенов и в итоге смерть. См. Zhou и др. 2008, а также приведенные в этой работе ссылки.

5 Понятие «синдром Лиддла» означает ауtosомную доминантную наследственную форму гипертонии, отличающуюся ранней и тяжелой гипертонией, часто сопровождаемой метаболическим алкалозом и гипокалиемией, причем все эти признаки характерны для избытка альдостерона (синдром Конна).

10 Однако уровни альдостерона в плазме низкие. Таким образом, синдром Лиддла также называют псевдоальдостеронизмом. Эта тяжелая форма гипертонии отвечает на лечение низкосолевой диетой и ингибиторами каналов Na^+ (K^+ -сберегающими диуретиками), подтверждая первичную нарушенную регуляцию ENaC. Заболевание связано с мутациями в Gamma-ENaC, а также с
15 некоторыми мутациями в Beta-ENaC (P615S, P616L и Y618H в мотиве «PY», который имеет консенсусную последовательность PPXY; а также R564st, W574st, 579del32, Q589st, T592fr, A593fr и R595fr, где обозначение «fr» означает сдвиг рамки (frameshift), обозначение «del» означает делецию (deletion) и обозначение «st» означает ранний стоп-кодон).

20 Эти мутации вызывают сверхэкспрессию Na^+ -каналов, которые гиперактивны по сравнению с ENaC дикого типа. Эти мутации также предупреждают снижение регуляции канала, которая в норме присутствует при повышении внутриклеточного Na^+ ; каналы ENaC с мутацией Лиддла сохраняются в состоянии высокой активности, несмотря на высокую
25 внутриклеточную концентрацию Na^+ . Таким образом, уровень и/или действие мутантного ENaC при синдроме Лиддла может модифицироваться под действием миРНК к Beta-ENaC, или под действием такой миРНК в комбинации с известными способами лечения синдрома Лиддла, например, в комбинации с
30 низкосолевой диетой и ингибиторами Na^+ -каналов (K^+ -сберегающими диуретиками).

Дополнительную информацию по заболеваниям, связанным с бета-ENaC, см., например, в публикации Hummler и др., *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 276, 1999, сс. 567-571.

5 Понятие «гипертония, ассоциированная с ожирением», означает гипертонию, связанную или ассоциированную с ожирением и др. Ожирение ассоциировано с гипертонией. Многочисленные механизмы были предложены для объяснения такой корреляции, включая (при ожирении) повышенное симпатическое действие; повышенное действие ренин-ангиотензин-альдостероновой системы; повышенный минутный сердечный выброс; и
10 повышенное механическое давление интерстициального жира на расположенные вокруг органы, гиперинсулинемию и/или инсулинорезистентность. Задержка натрия почками может произойти в результате одного из этих механизмов. В прямом почечном канальце и в собирающей протоке происходит реабсорбция натрия через ENaC. Уровни Beta-ENaC повышены в почках у крыс линии Zucker
15 (модель ожирения у животных).

Bickel и др., *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 281, 2001, сс. 639-648. Относительное повышение при избытке этого или других переносчиков натрия, без снижения других переносчиков натрия, вероятно приводит к повышенной тубулярной реабсорбции натрия. В результате такие изменения при избытке
20 почечного транспортера натрия могут играть роль в развитии и/или поддержании повышенного кровяного давления у млекопитающих с ожирением, в том числе у людей.

Понятие «псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА-1)» означает гетерологический клинический синдром, отличающийся устойчивостью
25 минералокортикоидных рецепторов, т.е. потерю с мочой Na^+ и пониженную экскрецию K^+ , несмотря на повышенный уровень альдостерона. Тяжелая форма этого синдрома наследуется в качестве аусосомного рецессивного признака, проявляющегося в виде нескольких летальных эпизодов гипонатриемии, гипотонии и гипокалиемии, и проявляет изменение транспорта Na^+ в некоторых
30 органах, почках, слюнных железах, потовых железах и толстой кишке. В некоторых семействах, показывающих такую форму ПГА-1, обнаружена связь с мутациями в какой-либо одной из трех субъединиц ENaC (включая G37S в Beta-ENaC).

Менее тяжелая форма ПГА-1 с аутомным доминантным типом наследования симптоматически наиболее проявляется в раннем детстве, и с возрастом состояние улучшается. См. Hummler и др., Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., 276, 1999, сс. 567-571.

5 Агенты РНКи могут применяться для лечения заболеваний, связанных с Beta-ENaC, в частности тех заболеваний, которые ассоциированы с измененной экспрессией, действием и/или уровнями Beta-ENaC.

Применение агентов РНКи для лечения заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (Beta-ENaC)

10 Агенты РНКи к Beta-ENaC, описанные в настоящем изобретении, могут быть переработаны в фармацевтические композиции, которые могут вводиться людям или животным. Такие композиции могут включать один или несколько агентов РНКи и необязательно дополнительные средства лечения, применимые для лечения заболеваний, связанных с Beta-ENaC. Они могут быть введены в
15 качестве составляющей раннего/превентивного лечения и могут вводиться в терапевтически эффективной дозе. Фармацевтическая композиция может включать фармацевтический носитель и может вводиться каким-либо способом, известным в данной области. Такие разные объекты настоящего изобретения дополнительно подробно описаны ниже.

20 Агенты РНКи к Beta-ENaC могут вводиться людям и животным для лечения заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (Beta-ENaC).

 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиции, включающие агент РНКи к Beta-ENaC, могут вводиться животным, а не людям.
25 Например, композиции могут вводиться курам, индюшкам, сельскохозяйственным животным (например, овцам, свиньям, лошадям, крупному рогатому скоту и др.), домашним животным (например, кошкам и собакам), и могут быть эффективны в лечении муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1, синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза,
30 гипокалиемии и/или гипертонии, связанной с ожирением, и других родственных заболеваний. В каждом случае агент РНКи к Beta-ENaC может быть выбран для спаривания с последовательностью Beta-ENaC генома животного, и в частности содержат по меньшей мере 1 ошибочный нуклеотид от всех других генов в таком

геноме животного. Агенты РНКи по настоящему изобретению таким образом могут применяться для лечения заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (Beta-ENaC) у людей и животных.

5 В контексте настоящего изобретения применительно к экспрессии Beta-ENaC понятия «лечить», «лечение» и другие относятся к освобождению от патологических процессов, опосредованных экспрессией Beta-ENaC, или к их
10 облегчению. В контексте настоящего изобретения в той мере, в которой они относятся к какому-либо из других условий, описанных в настоящем изобретении ниже (отличных от патологических процессов, опосредованных экспрессией Beta-ENaC), понятия «лечение», «лечить» и др. относятся к помощи или к облегчению по меньшей мере одного симптома, ассоциированного с таким состоянием, или для замедления или прекращения прогрессирования или опережающего прогрессирования такого состояния, например, замедляя прогрессирование липидного расстройства, например, атеросклероза.

15 Понятие «лечение» также означает профилактику, терапию, лечение или какое-либо другое изменение в состоянии пациента, свидетельствующее об улучшении или отсутствии разрушения физического состояния. Понятие «лечение» означает лечение заболевания, связанного с Beta-ENaC (например, муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1, синдрома Лиддла,
20 гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и гипертонии, связанной с ожирением), или какое-либо соответствующее лечение какого-либо другого болезненного состояния пациента. В контексте настоящего изобретения понятия «лечение» и «лечить» относятся и к профилактике, и к превентивному лечению, а также к целительству или модифицирующему болезнь лечению, включая лечение
25 пациентов с риском инфекционного заболевания или предположительно имеющих заболевание, а также пациентов, которые уже больны или у которых диагностировано болезненное состояние. Понятия «лечение» и «лечить» также относятся к поддержанию и/или индукции здоровья у индивидуума без указанного заболевания, но у которого может быть чувствительность к развитию
30 нездорового состояния, например, к нарушению баланса азота или потере мышечной массы. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения понятие «лечение» не подразумевает предупреждение болезненного состояния. Таким образом, настоящее изобретение применимо для подавления экспрессии

гена Beta-ENaC и/или лечения заболевания, связанного с Beta-ENaC, у индивидуума, пораженного заболеванием, связанным с Beta-ENaC, или у индивидуума, чувствительного к заболеванию, связанному с Beta-ENaC.

Индивидуум, «пораженный» заболеванием, связанным с Beta-ENaC,

5 демонстрирует выявляемые симптомы, характерные для данного заболевания, или иначе было показано клинически, что такой индивидуум был подвергнут воздействию патогенов или маркеров заболевания, связанного с Beta-ENaC, или несет их. В качестве примера, не ограничивающего настоящее изобретение, можно упомянуть, что индивидуум, пораженный заболеванием, которое связано
10 с Beta-ENaC, может проявлять внешние симптомы; или может не проявлять внешних симптомов, но, что может быть показано с помощью клинического теста, несет белковые маркеры, ассоциированные с заболеваниями, связанными с Beta-ENaC, или генетический материал, ассоциированный с патогеном в крови.

15 Раннее лечение некоторых заболеваний, связанных с Beta-ENaC, может быть более эффективным, если вводят скорее раньше, чем позже. Превентивное раннее введение амилорида (ингибитора ENaC) полезно для лечения муковисцидоза у модельных мышей, в отличие от более позднего лечения. Сходным образом раннее применение антимикробных агентов при
20 муковисцидозе более эффективно, чем лечение после выявления инфекции. Zhou и др., 2008. Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи к Beta-ENaC вводят рано, до проявления заболевания и/или в качестве превентивного агента, что предпочтительнее, чем введение после выявления заболевания.

25 Лечение заболеваний, связанных с бета-субъединицей эпителиальных натриевых каналов (бета-ENaC), может включать разные схемы лечения, включающие агент РНКи к Beta-ENaC, и необязательно включающие дополнительное лечение, которое может быть методом (или процедурой) или дополнительной композицией (например, агентом или дополнительным агентом
30 РНКи).

Дозы и эффективные количества агентов РНКи

Агенты РНКи по настоящему изобретению вводят в дозе, составляющей терапевтически эффективное количество для пациента, нуждающегося в указанных агентах.

5 Понятие «эффективное количество» или «терапевтически эффективное количество» означает количество, которое лечит заболевание или медицинское состояние индивидуума, или в основном обеспечивает пищевую, физиологическую или медицинскую пользу для индивидуума. В контексте настоящего изобретения фразы «терапевтически эффективное количество» и «профилактически эффективное количество» относятся к количеству, которое 10 обеспечивает терапевтическую пользу от лечения, предупреждения или ведение патологического процесса, опосредованного экспрессией Beta-ENaC, или очевидного симптома патологического процесса, опосредованного экспрессией Beta-ENaC. Определенное количество, которое терапевтически эффективно, может быть легко определено рядовым специалистом и может варьировать в 15 зависимости от факторов, известных в данной области, например, типа патологического процесса, опосредованного экспрессией Beta-ENaC, историей болезни и возрастом, стадией патологического процесса, опосредованного экспрессией Beta-ENaC, и введением других агентов, которые ингибируют патологические процессы, опосредованные экспрессией Beta-ENaC.

20 В различных вариантах осуществления настоящего изобретения возраст пациента может составлять по меньшей мере примерно 1, 3, 6 или 9 месяцев, или 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70 или 75 лет. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения возраст пациента составляет примерно не более 1, 3, 6 или 9 месяцев или 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 90 25 или 100 лет. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения масса тела пациента составляет по меньшей мере примерно 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380 или 400 фунтов. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения масса тела пациента составляет примерно не более 5, 10, 15, 20, 30, 30 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 280, 300, 320, 340, 360, 380 или 400 фунтов.

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения дозировка [по измерению только действующего ингредиента (ингредиентов)] может

составлять по меньшей мере примерно 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 нг, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 мкг, 1, 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 мг. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения дозировка может составлять не более примерно 10, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 250, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 или 1000 мг. В различных вариантах осуществления настоящего изобретения дозировка может вводиться по меньшей мере более одного раза в сутки, ежедневно, чаще раза в неделю, еженедельно, раз в две недели, ежемесячно и/или каждые 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 или 12 месяцев, или в различных их комбинациях.

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения дозировка коррелирует с массой тела или площадью поверхности тела индивидуума.

Фактический уровень дозирования может варьировать для получения количества действующего агента, эффективного для определенного пациента, композиции и способа введения без проявления токсичности для пациента. Выбранная доза может зависеть от разных фармакокинетических факторов, включая действие определенного применяемого агента РНКи, способа введения, скорости экскреции агента РНКи, длительности лечения, других лекарственных средств, соединений и/или материалов, применяемых в комбинации с агентом РНКи, от возраста, пола, массы тела, состояния, общего состояния здоровья и первичной истории болезни пациента, а также от других факторов, известных в медицине. Врач или ветеринар, практикующий в этой области, может легко определить требуемое эффективное количество агента РНКи. Приемлемой дозой может быть такое количество, которое представляет наименьшую дозу, эффективную для получения терапевтического эффекта, или доза, достаточная для получения терапевтического эффекта без индукции побочных эффектов.

Помимо терапевтически эффективной дозы одного или нескольких агентов РНКи к Beta-ENaC, фармацевтические композиции по настоящему изобретению могут включать или могут применяться вместе с дополнительным лечением заболевания, которое действует синергически с агентом РНКи. Например, фармацевтическая композиция может включать дополнительный агонист к

ENaC, например, калий-сберегающие диуретики, амилорид и триамтерен.

Дополнительное лечение может проводиться наряду с введением фармацевтической композиции, например, включая, но ею не ограничиваясь, регуляцию потребления соли с едой. В случае применения для лечения

5 муковисцидоза фармацевтическая композиция может применяться вместе с различными лекарственными средствами и известным в данной области лечением, включая, но ими не ограничиваясь, антибиотики, терапию ДНазой, альбутерол, N-ацетилцистеин, дыхательную терапию, перкуссионную терапию, занятия аэробикой, и различные лекарственные средства и способы терапии для
10 лечения недомоганий, ассоциированных с муковисцидозом (например, с диареей, остеопорозом, диабетом, кровотечением и др.).

Дополнительные варианты агентов РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение предусматривает композицию, включающую один или несколько агентов РНКи
15 к Beta-ENaC. В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь состоит, в значительной степени состоит или включает последовательность антисмысловой цепи агента РНКи, из числа перечисленных, например, в табл.1.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь состоит, в значительной степени состоит или включает последовательность с 0, 1, 2 или 3 несоответствиями относительно антисмысловой цепи какого-либо агента РНКи, из числа перечисленных, например, в табл.1. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь состоит из
25 последовательности антисмысловой цепи агента РНКи, из числа перечисленных, например, в табл.1, и дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов. В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь состоит из последовательности с 0, 1, 2 или 3 несоответствиями относительно антисмысловой цепи агента РНКи, из числа
30 перечисленных, например, в табл.1, и дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения композиция по заявленному изобретению не содержит какого-либо определенного

индивидуального агента РНКи, перечисленного, например, в табл. 1. В другом варианте осуществления настоящего изобретения агент РНКи к Beta-ENaC не включает последовательности агента РНКи к Beta-ENaC, описанной в патенте или научной литературе, например, в патентной заявке US 60/346069

5 (PCT/US02/41850), и в работе Hyde и др. в кн.: «The 23rd North American Cystic Fibrosis Conference», Миннеаполис, 2009, 14-17 октября; или которую можно приобрести в качестве продукта sc-42418 (также можно приобрести другие близкие продукты) фирмы Santa Cruz Biotechnology, Санта-Круз, Калифорния.

Специфические варианты агентов РНКи к Beta-ENaC

10 Различные специфические варианты агента РНКи к Beta-ENaC описаны в настоящем изобретении. Примеры дуплексных последовательностей, предусмотренных в настоящем изобретении, представлены, например, в табл.1. Некоторые варианты осуществления настоящего изобретения включают агенты РНКи, которые содержат последовательности, отличающиеся 0, 1, 2 или 3
15 нуклеотидами или парами оснований (например, с 0, 1, 2 или 3 ошибками) относительно агентов РНКи, перечисленных, например, в табл.1.

Несоответствие в настоящем изобретении означает различие между последовательностью оснований или длиной последовательностей, если две последовательности максимально выравнены и сопоставлены. Несоответствие в
20 настоящем изобретении означает положение, при котором основание в одной последовательности несовместимо с основанием в другой последовательности. Таким образом, несоответствием считают, например, если положение в одной последовательности имеет определенное основание (например, А), и соответствующее положение в другой последовательности содержит другое
25 основание (например, G).

Несоответствием также считают, например, если положение в одной последовательности имеет основание (например, А), и соответствующее положение в другой последовательности не содержит основания (например, в этом положении имеется абазический нуклеотид, который включает каркас
30 молекулы в виде фосфата-сахара, но не включает основание). Одноцепочечный ник в каждой последовательности (или в смысловой или антисмысловой цепи) не рассматривается в качестве несоответствия. В качестве неограничительного примера, в котором нельзя определить несоответствие, можно привести

положение, при котором если одна последовательность включает последовательность AG, но другая последовательность включает последовательность AG с одноцепочечным ником между А и G. Модификацию основания также не рассматривают в качестве несоответствия. Таким образом, если одна последовательность включает С, а другая последовательность включает модифицированный С (например, 2'-модификация) в одном и том же положении, ошибка может быть не учтена.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20807 (последовательности SEQ ID NO: 5 и 6, или SEQ ID NO:115 и 116).

В другом конкретном варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2, или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20807.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20807.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20807.

В еще одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2, или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20826 (последовательности SEQ ID NO: 43 и 44 или последовательности SEQ ID NO:153 и 154).

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2, или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20826.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20826.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20626.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20832, который включает последовательности SEQ ID NO: 55 и 56 или последовательности SEQ ID NO:165 и 166.

В еще одном из вариантов осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20832.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20832.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20832.

В еще одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20834, который включает последовательности SEQ ID NO: 59 и 60 или последовательности SEQ ID NO:169 и 170.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20848, который включает

последовательности SEQ ID NO : 87 и 88 или последовательности SEQ ID NO: 197 и 198.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20848.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20848.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательности, состоящую из последовательности AD-20848.

В еще одном из вариантов осуществления настоящего изобретения включает агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20861, который включает последовательности SEQ ID NO: 97 и 98 или последовательности SEQ ID NO: 207 и 208.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20861.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20861.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20861.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, который проявляет нокдаун по меньшей мере примерно на 80% (остаточная активность гена составляет не более примерно 20%) гена Beta-ENaC в концентрации *in vitro* 10 нМ в клетках H441.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрен агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; или AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; или AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; или AD-20834.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; или AD-20834.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение предусматривает агент РНКи, проявляющий по меньшей мере примерно 70% нокдаун (остаточная генная активность составляет примерно 30%) гена Beta-ENaC в концентрации *in vitro* 10 нМ в клетках H441.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, в которой имеется по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2, или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; или AD-20867.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; или AD-20867.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; или AD-20867.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; или AD-20867.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, проявляющий нокдаун по меньшей мере примерно на 60% (остаточная активность гена не превышает примерно 40%) гена Beta-ENaC в концентрации *in vitro* 10 нМ в клетках H441.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; или AD-20827.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также дополнительно включает смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; или AD-20827.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК включает: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; или AD-20827.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет последовательность, состоящую из последовательности AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867;

AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; или AD-20827.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение включает агент РНКи, проявляющий по меньшей мере примерно 50% нокдаун (остаточная
5 активность гена составляет примерно не более 50%) гена Beta-ENaC *in vitro* в концентрации 10 нМ в клетках H441.

Таким образом, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, содержащий антисмысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных
10 нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи:
AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834;
AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835;
AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862;
AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836; или AD-20822.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК также
15 дополнительно включает смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826;
AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811;
20 AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823;
AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812;
AD-20836; или AD-20822.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК
25 включает AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851; AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867; AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827; AD-20828; AD-20812; AD-20836; или AD-20822.

В другом варианте осуществления настоящего изобретения миРНК имеет
30 последовательность, состоящую из последовательности AD-20832; AD-20848;
AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834; AD-20806; AD-20851;
AD-20865; AD-20811; AD-20819; AD-20839; AD-20835; AD-20825; AD-20867;
AD-20813; AD-20823; AD-20805; AD-20831; AD-20862; AD-20808; AD-20827;
AD-20828; AD-20812; AD-20836; или AD-20822.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20805.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20806.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20807.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20808.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20809.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15

меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20815.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20816.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20817.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20818.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20819.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20820.

нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20826.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20827.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 15 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20828.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 20 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20829.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 25 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20830.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 30 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20831.

нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20837.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20838.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 15 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20839.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 20 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20840.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 25 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20841.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 30 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20842.

нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20848.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20849.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 15 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20850.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 20 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20851.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 25 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20852.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение включает агент РНКи, содержащий смысловую цепь, включающую по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по 30 меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20861.

нуклеотидами от смысловой цепи и/или антисмысловой цепи, содержащей по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи AD-20867.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20805, который включает
10 последовательности SEQ ID NO: 111 - 112, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
15 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20806, который включает последовательности SEQ ID NO: 113 - 114, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
20 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20807, который включает последовательности SEQ ID NO: 115 - 116, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
25 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20808, который включает последовательности SEQ ID NO: 117 - 118, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
30

нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20809, который включает последовательности SEQ ID NO: 119 - 120, его модифицированные варианты.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20810, который включает последовательности SEQ ID NO: 121 - 122, и его модифицированные варианты.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20811, который включает последовательности SEQ ID NO: 123 - 124, и его модифицированные варианты.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20812, который включает последовательности SEQ ID NO: 125 - 126, и его модифицированные варианты.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20813, который включает последовательности SEQ ID NO: 127 - 128, и его модифицированные варианты.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20814, который включает последовательности SEQ ID NO: 129 - 130, и его модифицированные варианты.

30

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20815, который включает последовательности SEQ ID NO: 131 - 132, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20816, который включает последовательности SEQ ID NO: 133 - 134, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20817, который включает последовательности SEQ ID NO: 135 - 136, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20818, который включает последовательности SEQ ID NO: 137 - 138, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20819, который включает последовательности SEQ ID NO: 139 - 140, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15

последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20820, который включает последовательности SEQ ID NO: 141 - 142, и его модифицированные варианты.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20821, который включает последовательности SEQ ID NO: 143 - 144, и его модифицированные варианты.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20822, который включает последовательности SEQ ID NO: 145 - 146, и его модифицированные варианты.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20823, который включает последовательности SEQ ID NO: 147 - 148, и его модифицированные варианты.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20824, который включает последовательности SEQ ID NO: 149 - 150, и его модифицированные варианты.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20825, который включает последовательности SEQ ID NO: 151 - 152, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20826, который включает последовательности SEQ ID NO: 153 - 154, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20827, который включает последовательности SEQ ID NO: 155 - 156, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20828, который включает последовательности SEQ ID NO: 157 - 158, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20829, который включает последовательности SEQ ID NO: 159 - 160, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20830, который включает последовательности SEQ ID NO: 161 - 162, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15

последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20831, который включает последовательности SEQ ID NO: 163 - 164, и его модифицированные варианты.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20832, который включает последовательности SEQ ID NO: 165 - 166, и его модифицированные варианты.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20833, который включает последовательности SEQ ID NO: 167 - 168, и его модифицированные варианты.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20834, который включает последовательности SEQ ID NO: 169 - 170, и его модифицированные варианты.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20835, который включает последовательности SEQ ID NO: 171 - 172, и его модифицированные варианты.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20836, который включает последовательности SEQ ID NO: 173 - 174, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20837, который включает последовательности SEQ ID NO: 175 - 176, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20838, который включает последовательности SEQ ID NO: 177 - 178, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20839, который включает последовательности SEQ ID NO: 179 - 180, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20840, который включает последовательности SEQ ID NO: 181 - 182, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20841, который включает последовательности SEQ ID NO: 183 - 184, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15

последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20842, который включает последовательности SEQ ID NO: 185 - 186, и его модифицированные варианты.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20843, который включает последовательности SEQ ID NO: 187 - 188, и его модифицированные варианты.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20844, который включает последовательности SEQ ID NO: 189 - 190, и его модифицированные варианты.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20845, который включает последовательности SEQ ID NO: 191 - 192, и его модифицированные варианты.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20846, который включает последовательности SEQ ID NO: 193 - 194, и его модифицированные варианты.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20847, который включает последовательности SEQ ID NO: 195 - 196, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20848, который включает последовательности SEQ ID NO: 197 - 198, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20849, который включает последовательности SEQ ID NO: 199 - 200, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20850, который включает последовательности SEQ ID NO: 201 - 202, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20851, который включает последовательности SEQ ID NO: 203 - 204, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20852, который включает последовательности SEQ ID NO: 205 - 206, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15

последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20861, который включает последовательности SEQ ID NO: 207 - 208, и его модифицированные варианты.

5 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20862, который включает последовательности SEQ ID NO: 209 - 210, и его модифицированные варианты.

10 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20863, который включает последовательности SEQ ID NO: 211 - 212, и его модифицированные варианты.

15 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20864, который включает последовательности SEQ ID NO: 213 - 214, и его модифицированные варианты.

20 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20865, который включает последовательности SEQ ID NO: 215 - 216, и его модифицированные варианты.

25 В одном из вариантов осуществления настоящее изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20866, который включает последовательности SEQ ID NO: 217 - 218, и его модифицированные варианты.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретение относится к композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: агент AD-20867, который включает последовательности SEQ ID NO: 219 - 220, и его модифицированные варианты.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20805, который включает последовательности SEQ ID NO: 111 и 112.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20806, который включает последовательности SEQ ID NO: 113 и 114

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20807, который включает последовательности SEQ ID NO: 115 и 116.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20808, который включает последовательности SEQ ID NO: 117 и 118.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20809, который включает последовательности SEQ ID NO: 119 и 120.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20810, который включает последовательности SEQ ID NO: 121 и 122.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20811, который включает последовательности SEQ ID NO: 123 и 124.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20812, который включает последовательности SEQ ID NO: 125 и 126.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20813, который включает последовательности SEQ ID NO: 127 и 128.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20814, который включает последовательности SEQ ID NO: 129 и 130.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20815, который включает последовательности SEQ ID NO: 131 и 132.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно

расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20816, который включает последовательности SEQ ID NO: 133 и 134.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20817, который включает последовательности SEQ ID NO: 135 и 136.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20818, который включает последовательности SEQ ID NO: 137 и 138.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20819, который включает последовательности SEQ ID NO: 139 и 140.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20820, который включает последовательности SEQ ID NO: 141 и 142.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20821, который включает последовательности SEQ ID NO: 143 и 144.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20822, который включает последовательности SEQ ID NO: 145 и 146.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20823, который включает последовательности SEQ ID NO: 147 и 148.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20824, который включает последовательности SEQ ID NO: 149 и 150.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20825, который включает последовательности SEQ ID NO: 151 и 152.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20826, который включает последовательности SEQ ID NO: 153 и 154.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20827, который включает последовательности SEQ ID NO: 155 и 156.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20828, который включает последовательности SEQ ID NO: 157 и 158.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно

расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20829, который включает последовательности SEQ ID NO: 159 и 160.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 5 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20830, который включает последовательности SEQ ID NO: 161 и 162.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 10 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20831, который включает последовательности SEQ ID NO: 163 и 164.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 15 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20832, который включает последовательности SEQ ID NO: 165 и 166.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 20 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20833, который включает последовательности SEQ ID NO: 167 и 168.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 25 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20834, который включает последовательности SEQ ID NO: 169 и 170.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 30 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20835, который включает последовательности SEQ ID NO: 171 и 172.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20836, который включает последовательности SEQ ID NO: 173 и 174.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20837, который включает последовательности SEQ ID NO: 175 и 176.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20838, который включает последовательности SEQ ID NO: 177 и 178.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20839, который включает последовательности SEQ ID NO: 179 и 180.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20840, который включает последовательности SEQ ID NO: 181 и 182.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20841, который включает последовательности SEQ ID NO: 183 и 184.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно

расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20842, который включает последовательности SEQ ID NO: 185 и 186.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 5 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20843, который включает последовательности SEQ ID NO: 187 и 188.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 10 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20844, который включает последовательности SEQ ID NO: 189 и 190.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 15 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20845, который включает последовательности SEQ ID NO: 191 и 192.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 20 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20846, который включает последовательности SEQ ID NO: 193 и 194.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 25 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20847, который включает последовательности SEQ ID NO: 195 и 196.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 30 причём антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20848, который включает последовательности SEQ ID NO: 197 и 198.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20849, который включает последовательности SEQ ID NO: 199 и 200.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20850, который включает последовательности SEQ ID NO: 201 и 202.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20851, который включает последовательности SEQ ID NO: 203 и 204.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20852, который включает последовательности SEQ ID NO: 205 и 206.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20861, который включает последовательности SEQ ID NO: 207 и 208.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20862, который включает последовательности SEQ ID NO: 209 и 210.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно

расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20863, который включает последовательности SEQ ID NO: 211 и 212.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 5 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20864, который включает последовательности SEQ ID NO: 213 и 214.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 10 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20865, который включает последовательности SEQ ID NO: 215 и 216.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 15 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20866, который включает последовательности SEQ ID NO: 217 и 218.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает агент РНКи, включающий смысловую цепь и антисмысловую цепь, 20 причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0 нуклеотидов от антисмысловой цепи: AD-20867, который включает последовательности SEQ ID NO: 219 и 220.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция 25 включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20805, который включает последовательности: 1 30 и 2.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает

по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20806, который включает последовательности: 3 и 4.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой
10 последовательности: агент AD-20807, который включает последовательности: 5 и 6.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает
15 по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20808, который включает последовательности: 7 и 8.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция
20 включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20809, который включает последовательности: 9
25 и 10.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
30 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20810, который включает последовательности: 11 и 12.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20811, который включает последовательности: 13 и 14.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20812, который включает последовательности: 15 и 16.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20813, который включает последовательности: 17 и 18.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20814, который включает последовательности: 19 и 20.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой

последовательности: агент AD-20815, который включает последовательности: 21 и 22.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20816, который включает последовательности: 23 и 24.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20817, который включает последовательности: 25 и 26.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20818, который включает последовательности: 27 и 28.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20819, который включает последовательности: 29 и 30.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает

по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20820, который включает последовательности: 31 и 32.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой
10 последовательности: агент AD-20821, который включает последовательности: 33 и 34.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает
15 по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20822, который включает последовательности: 35 и 36.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция
20 включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20823, который включает последовательности: 37
25 и 38.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
30 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20824, который включает последовательности: 39 и 40.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20825, который включает последовательности: 41 и 42.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20826, который включает последовательности: 43 и 44.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20827, который включает последовательности: 45 и 46.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20828, который включает последовательности: 47 и 48.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой

последовательности: агент AD-20829, который включает последовательности: 49 и 50.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20830, который включает последовательности: 51 и 52.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20831, который включает последовательности: 53 и 54.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20832, который включает последовательности: 55 и 56.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20833, который включает последовательности: 57 и 58.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает

по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20834, который включает последовательности: 59 и 60.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой
10 последовательности: агент AD-20835, который включает последовательности: 61 и 62.

 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает
15 по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20836, который включает последовательности: 63 и 64.

 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция
20 включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20837, который включает последовательности: 65
25 и 66.

 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
30 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20838, который включает последовательности: 67 и 68.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
5 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20839, который включает последовательности: 69 и 70.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
10 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20840, который включает последовательности: 71 и 72.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
15 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20841, который включает последовательности: 73 и 74.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
25 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20842, который включает последовательности: 75 и 76.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
30 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой

последовательности: агент AD-20843, который включает последовательности: 77 и 78.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20844, который включает последовательности: 79 и 80.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20845, который включает последовательности: 81 и 82.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20846, который включает последовательности: 83 и 84.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20847, который включает последовательности: 85 и 86.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает

по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20848, который включает последовательности: 87 и 88.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой
10 последовательности: агент AD-20849, который включает последовательности: 89 и 90.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает
15 по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20850, который включает последовательности: 91 и 92.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция
20 включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20851, который включает последовательности: 93
25 и 94.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов,
30 отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20852, который включает последовательности: 95 и 96.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20861, который включает последовательности: 97 и 98.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20862, который включает последовательности: 99 и 100.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20863, который включает последовательности: 101 и 102.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20864, который включает последовательности: 103 и 104.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой

последовательности: агент AD-20865, который включает последовательности: 105 и 106.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20866, который включает последовательности: 107 и 108.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения композиция включает модифицированный вариант агента РНКи, причем вариант содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой последовательности: агент AD-20867, который включает последовательности SEQ ID NO: 109 и 110.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20805 (последовательности SEQ ID NO: 1 и 2 или SEQ ID NO: 111 и 112).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20806 (последовательности SEQ ID NO: 3 и 4 или SEQ ID NO: 113 и 114).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20807 (последовательности SEQ ID NO: 5 и 6 или SEQ ID NO: 115 и 116).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20808 (последовательности SEQ ID NO: 7 и 8 или SEQ ID NO: 117 и 118).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20809 (последовательности SEQ ID NO: 9 и 10 или SEQ ID NO: 119 и 120).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20810 (последовательности SEQ ID NO: 11 и 12 или SEQ ID NO: 121 и 122).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20811 (последовательности SEQ ID NO: 13 и 14 или SEQ ID NO: 123 и 124).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20812 (последовательности SEQ ID NO: 15 и 16 или SEQ ID NO: 125 и 126).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20813 (последовательности SEQ ID NO: 17 и 18 или SEQ ID NO: 127 и 128).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20814 (последовательности SEQ ID NO: 19 и 20 или SEQ ID NO: 129 и 130).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20815 (последовательности SEQ ID NO: 21 и 22 или SEQ ID NO: 131 и 132).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20816 (последовательности SEQ ID NO: 23 и 24 или SEQ ID NO: 133 и 134).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20817 (последовательности SEQ ID NO: 25 и 26 или SEQ ID NO: 135 и 136).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20818 (последовательности SEQ ID NO: 27 и 28 или SEQ ID NO: 137 и 138).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20819 (последовательности SEQ ID NO: 29 и 30 или SEQ ID NO: 139 и 140).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20820 (последовательности SEQ ID NO: 31 и 32 или SEQ ID NO: 141 и 142).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20821 (последовательности SEQ ID NO: 33 и 34 или SEQ ID NO: 143 и 144).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20822 (последовательности SEQ ID NO: 35 и 36 или SEQ ID NO: 145 и 146).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20823 (последовательности SEQ ID NO: 37 и 38 или SEQ ID NO: 147 и 148).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20824 (последовательности SEQ ID NO: 39 и 40 или SEQ ID NO: 149 и 150).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20825 (последовательности SEQ ID NO: 41 и 42 или SEQ ID NO: 151 и 152).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20826 (последовательности SEQ ID NO: 43 и 44 или SEQ ID NO: 153 и 154).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20827 (последовательности SEQ ID NO: 45 и 46 или SEQ ID NO: 155 и 156).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20828 (последовательности SEQ ID NO: 47 и 48 или SEQ ID NO: 157 и 158).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20829 (последовательности SEQ ID NO: 49 и 50 или SEQ ID NO: 159 и 160).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20830 (последовательности SEQ ID NO: 51 и 52 или SEQ ID NO: 161 и 162).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20831 (последовательности SEQ ID NO: 53 и 54 или SEQ ID NO: 163 и 164).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20832 (последовательности SEQ ID NO: 55 и 56 или SEQ ID NO: 165 и 166).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20833 (последовательности SEQ ID NO: 57 и 58 или SEQ ID NO: 167 и 168).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20834 (последовательности SEQ ID NO: 59 и 60 или SEQ ID NO: 169 и 170).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20835 (последовательности SEQ ID NO: 61 и 62 или SEQ ID NO: 171 и 172).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20836 (последовательности SEQ ID NO: 63 и 64 или SEQ ID NO: 173 и 174).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20837 (последовательности SEQ ID NO: 65 и 66 или SEQ ID NO: 175 и 176).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20838 (последовательности SEQ ID NO: 67 и 68 или SEQ ID NO: 177 и 178).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20839 (последовательности SEQ ID NO: 69 и 70 или SEQ ID NO: 179 и 180).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20840 (последовательности SEQ ID NO: 71 и 72 или SEQ ID NO: 181 и 182).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20841 (последовательности SEQ ID NO: 73 и 74 или SEQ ID NO: 183 и 184).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20842 (последовательности SEQ ID NO: 75 и 76 или SEQ ID NO: 185 и 186).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20843 (последовательности SEQ ID NO: 77 и 78 или SEQ ID NO: 187 и 188).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20844 (последовательности SEQ ID NO: 79 и 80 или SEQ ID NO: 189 и 190).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20845 (последовательности SEQ ID NO: 81 и 82 или SEQ ID NO: 191 и 192).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20846 (последовательности SEQ ID NO: 83 и 84 или SEQ ID NO: 193 и 194).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20847 (последовательности SEQ ID NO: 85 и 86 или SEQ ID NO: 195 и 196).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20848 (последовательности SEQ ID NO: 87 и 88 или SEQ ID NO: 197 и 198).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20849 (последовательности SEQ ID NO: 89 и 90 или SEQ ID NO: 199 и 200).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20850 (последовательности SEQ ID NO: 91 и 92 или SEQ ID NO: 201 и 202).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20851 (последовательности SEQ ID NO: 93 и 94 или SEQ ID NO: 203 и 204).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20852 (последовательности SEQ ID NO: 95 и 96 или SEQ ID NO: 205 и 206).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20861 (последовательности SEQ ID NO: 97 и 98 или SEQ ID NO: 207 и 208).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20862 (последовательности SEQ ID NO: 99 и 100 или SEQ ID NO: 209 и 210).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20863 (последовательности SEQ ID NO: 101 и 102 или SEQ ID NO: 211 и 212).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20864 (последовательности SEQ ID NO: 103 и 104 или SEQ ID NO: 213 и 214).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20865 (последовательности SEQ ID NO: 105 и 106 или SEQ ID NO: 215 и 216).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20866 (последовательности SEQ ID NO: 107 и 108 или SEQ ID NO: 217 и 218).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусматривают AD-20867 (последовательности SEQ ID NO: 109 и 110 или SEQ ID NO: 219 и 220).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20805.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20806.

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20807.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20808.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20809.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20862.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20863.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20864.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20865.

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20866.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи представляет антисмысловую цепь, которая по последовательности и длине точно соответствует антисмысловой цепи AD-20867. В этих различных вариантах агент РНКи, включающий антисмысловую цепь, является точную последовательность и длина описанной антисмысловой цепи описанного агента РНКи может включать модифицированные нуклеотиды, кэпы с 3'-конца и/или другие модификации, которые не изменяют последовательность или длину агента РНКи.

Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20805.

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20806.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20807.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20852.

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20861.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20862.

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20863.

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20864.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20865.

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20866.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20867.

25 Различные варианты агента РНКи к Beta-ENaC

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20805, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или число нуклеотидов выбрано из диапазона, например, из 0-1, 1-2, 1-3, 1-4, 1-5, 1-6, 1-7, 1-8, 1-9, 1-10, 2-3, 2-4 или 2-5 нуклеотидов и т.д.).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3

ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20806, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20807, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20808, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20809, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20810, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20811, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20812, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20813, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20814, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20815, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20816, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20817, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20818, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20819, причем антисмысловая

цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
5 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20820, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
10 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20821, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
15 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20822, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
20 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20823, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
25 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20824, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3
30 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20825, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20826, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения, агент РНКи включает an antisense strand consisting of a sequence with 0, 1, 2, или 3 mismatches from that of the antisense strand of AD-20827, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20828, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20829, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20830, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20831, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20832, причем антисмысловая

цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 5 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20833, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 10 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20834, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 15 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20835, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 20 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20836, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 25 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20837, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 30 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20838, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20839, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20840, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20841, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20842, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20843, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20844, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20845, причем антисмысловая

цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

5 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20846, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

10 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20847, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

15 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20848, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

20 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20849, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

25 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20850, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

30 В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20851, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20852, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20861, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20862, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20863, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20864, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20865, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20866, причем антисмысловая

цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения агент РНКи включает антисмысловую цепь, состоящую из последовательности с 0, 1, 2 или 3 ошибками относительно антисмысловой цепи AD-20867, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов (или какой-либо их диапазон).

Дополнительные специфические варианты осуществления настоящего изобретения

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем изобретении.

Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения:

Описание предусматривает агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи какого-либо одного или нескольких из следующих дуплексов или их модифицированных или немодифицированных вариантов: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 или их модифицированных или немодифицированных вариантов.

Дополнительные специфические варианты осуществления настоящего изобретения

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, включающий первую и вторую цепь, причем последовательность первой цепи включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности первой цепи, и последовательность второй цепи включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности второй цепи, какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем изобретении.

Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения:

Настоящее изобретение предусматривает агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем последовательность первой цепи включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности первой цепи, и последовательность второй цепи включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от последовательности второй цепи, какого-либо одного или нескольких из следующих дуплексов или их модифицированных или немодифицированных вариантов: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 или их модифицированных или немодифицированных вариантов.

Дополнительные специфические варианты осуществления настоящего изобретения

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает или состоит из антисмысловой цепи какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем изобретении.

Таким образом, последующее описание представлено в виде примеров разных вариантов осуществления настоящего изобретения.

В настоящем изобретении предусматривают агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает или
5 состоит из антисмысловой цепи: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831,
10 AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 или их модифицированных или немодифицированных вариантов.

15 В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, включающий смысловую и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем
20 изобретении, или его модифицированного или немодифицированного варианта, причем антисмысловая цепь необязательно дополнительно включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более нуклеотидов (или какой-либо их диапазон, например, 0-1, 1-2, 1-3, 1-4 нуклеотида и т.д.).

Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего
25 изобретения предусматривают агент РНКи, включающий смысловую или антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-
30 20809, AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-

20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849, AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867 или их модифицированных или немодифицированных вариантов, причем антисмысловая цепь необязательно
5 включает 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 или более нуклеотидов (или какой-либо из диапазонов, например, из 0-1, 1-2, 1-3, 1-4 нуклеотидов и др.).

В различных вариантах осуществления настоящего изобретения предусматривают агент РНКи, включающий первую и вторую цепь, причем последовательность первой цепи включает или представляет последовательность
10 первой цепи, и последовательность второй цепи включает или представляет последовательность второй цепи какого-либо агента РНКи, описанного в настоящем изобретении, или модифицированные или немодифицированные его варианты.

Таким образом, в различных вариантах осуществления настоящего изобретения описан агент РНКи, включающий первую и вторую цепь, причем последовательность первой цепи включает или представляет последовательность
15 первой цепи, и последовательность второй цепи включает или представляет последовательность второй цепи из: AD-20832; AD-20848; AD-20807; AD-20826; AD-20837; AD-20861; AD-20834, AD-20805, AD-20806, AD-20808, AD-20809,
20 AD-20810, AD-20811, AD-20812, AD-20813, AD-20814, AD-20815, AD-20816, AD-20817, AD-20818, AD-20819, AD-20820, AD-20821, AD-20822, AD-20823, AD-20824, AD-20825, AD-20827, AD-20828, AD-20829, AD-20830, AD-20831, AD-20833, AD-20835, AD-20836, AD-20838, AD-20839, AD-20840, AD-20841, AD-20842, AD-20843, AD-20844, AD-20845, AD-20846, AD-20847, AD-20849,
25 AD-20850, AD-20851, AD-20852, AD-20862, AD-20863, AD-20864, AD-20865, AD-20866, AD-20867.

В одном из вариантов осуществления настоящего изобретения предусмотрены один или несколько агентов РНКи, перечисленных в настоящем изобретении.

30 Перекрывающиеся группы агентов РНКи к Beta-ENaC

В различных вариантах осуществления настоящее изобретение относится к группам агентов РНКи к Beta-ENaC с перекрывающимися последовательностями. Таким образом, настоящее изобретение охватывает

группы агентов РНКи, в которых каждый агент РНКи в группе перекрывается с каждым другим агентом РНКи в той же группе по меньшей мере на 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или более нуклеотидов. В частности в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения выступ составляет по
5 меньшей мере 12 нуклеотидов.

Некоторые из агентов РНКи, перечисленных в настоящем изобретении, перекрывают последовательности друг друга. Табл. 2 представляет объединение некоторых из этих групп перекрывающихся агентов РНКи, причем каждый представитель группы перекрывает каждого представителя этой же группы по
10 меньшей мере на 12 нуклеотидов. Представлены перекрывающиеся части из 12 нуклеотидов смысловой и антисмысловой цепи.

Таким образом, например, согласно представленному в табл. 2, последовательности агентов РНКи AD-20807 и AD-20832 выступают, причем выступ смысловой цепи включает последовательность UGAAGAAGUACC (SEQ
15 ID NO: 223); такие агенты РНКи также перекрываются в последовательности антисмысловой цепи, в которой перекрывание представляет последовательность GGUACUUCUUCA (SEQ ID NO: 224). Агенты РНКи AD-20807, AD-20862 и AD-20832 все перекрываются в смысловой цепи, в которой перекрывание представляет последовательность GAAGAAGUACCU (SEQ ID NO: 225); такие
20 агенты РНКи также перекрываются в антисмысловой цепи, причем перекрывание представляет последовательность AGGUACUUCUUC (SEQ ID NO: 226). Таким образом, эти и другие различные наборы перекрывающихся агентов РНКи, представленных в табл. 2, разделяют общие технические свойства, например, перекрывание в смысловой и антисмысловой цепи.

25 Определенные наборы перекрывающихся агентов РНКи к Beta-ENaC приведены ниже в табл. 2.

Настоящее изобретение также предусматривает какую-либо группу или подгруппу агентов РНКи, разделяющих общие технические свойства, причем общим техническим свойством является перекрывание (например, по меньшей
30 мере из 12 нуклеотидов) последовательности в смысловой или антисмысловой цепи.

Таким образом:

Настоящее изобретение описывает агент РНКи, включающий:

антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательно
расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от
5 антисмысловой цепи, и/или смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15
последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
нуклеотидами от смысловой цепи, из какой-либо из групп: AD-20807 и AD-
20832 (или какой-либо другой группы, представленной в табл. 2).

Настоящее изобретение охватывает агент РНКи, включающий первую и
10 вторую цепь, причем первая цепь включает по меньшей мере 15
последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
нуклеотидами от первой цепи, и/или вторая цепь включает по меньшей мере 15
последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
нуклеотидами от второй цепи, из какой-либо из групп: AD-20807 и AD-20832
15 (или какой-либо другой группы, представленной в табл. 2).

Настоящее изобретение охватывает агент РНКи, включающий первую и
вторую цепь, причем первая цепь включает или состоит из последовательности
первой цепи, и/или вторая цепь включает или состоит из последовательности
какой-либо из групп: AD-20807 и AD-20832 (или какой-либо другой группы,
20 представленной в табл. 2).

Настоящее описание охватывает агент РНКи, включающий первую цепь и
вторую цепь (причем первая и вторая цепи могут необязательно связываться
ковалентно, связываться через петлю или линкер, или могут соприкасаться), в
котором первая и/или вторая цепь включают, в существенной степени состоят,
25 или состоят из последовательностей с 0, 1, 2 или 3 ошибочными нуклеотидами
или п.о. какой-либо из групп из: AD-20807 и AD-20832 (или какой-либо другой
группы, представленной в табл. 2), необязательно дополнительно включая 0-10
нуклеотидов или п.о.

Настоящее описание сходным образом включает различные варианты
30 осуществления, охватывающие группы перекрывающихся агентов РНКи,
представленных в табл. 2.

Дополнительные определения

В контексте настоящего изобретения понятия «агент РНКи», «агенты РНКи», «агент (агенты) РНКи» и другие все относятся без ограничений к одному или нескольким агентам РНКи по настоящему описанию.

5 Определения конкретных примеров дуплексных агентов РНКи к Beta-ENaC, описанных в настоящем изобретении, иногда имеют суффикс «b» после номера. Он означает номер партии. Таким образом, суффикс «b1» означает «партия 1». Таким образом, дуплекс РНКи обозначают, например, «AD-20807-b1»
10 агент РНКи, обозначаемый «AD-20807».

Если не указано иначе, технические и научные термины, применяемые в настоящем изобретении, имеют те же значения, которые обычно подразумеваются специалистами в области, к которой относится данное изобретение.

15 Если не указано иначе, все методы, стадии, способы и манипуляции, которые специально в настоящем изобретении подробно не описываются, могут быть осуществлены и были осуществлены соответствующим образом, известным
20 специалистам в данной области. Ссылки приводятся, например, на стандартные руководства и на общее состояние в данной области, описанное в настоящем изобретении, а также на другие источники, упоминаемые в настоящем изобретении.

Формула настоящего изобретения не ограничивается примерами и приводится ниже.

25 Хотя определенные варианты осуществления настоящего изобретения и пункты формулы настоящего изобретения подробно описаны, примеры приводятся только в качестве иллюстрации и не предназначены для ограничения рамок охвата прилагаемой формулы изобретения или рамок охвата какого-либо соответствующего дальнейшего применения. В частности в настоящем изобретении предусмотрено, что различные замещения, изменения и
30 модификации могут быть получены согласно раскрытию сущности настоящего изобретения, не отклоняясь от духа и области охвата настоящего изобретения, которые отражает формула изобретения. Выбор исходного материала в виде нуклеиновой кислоты, интересующего клона или типа библиотеки представляет

обычную задачу для специалиста в данной области на базе описанных в настоящем изобретении вариантов его осуществления. Другие объекты, преимущества и модификации рассматриваются в рамках формулы настоящего изобретения. Пересмотр области охвата изобретения в позднее поданных соответствующих патентных заявках может произойти из-за ограничений, налагаемых патентным правом разных стран, и их не следует интерпретировать в качестве отказа от сущности данной формулы изобретения.

Другие дополнительные формулировки и очевидные варианты описанных агентов РНК к Beta-ENaC могут быть продуманы специалистами в данной области. Примеры агентов РНК к Beta-ENaC, которыми перечень согласно настоящему изобретению не ограничивается, описаны в примерах ниже, которые не ограничивают рамок охвата настоящего изобретения, ограниченных формулой изобретения.

Примеры

Пример 1. Биоинформатика и последовательности агентов Beta-ENaC (миРНК)

Конструирование олигонуклеотида Beta-ENaC осуществляют для идентификации молекул миРНК, нацеливающихся на ген Beta-ENaC [«натриевый канал, потенциал-независимый канал 1 бета» человека (NCBI человека имеет обозначение «SCNN1B») и ортологические последовательности макаки крабоеда (*Macaca fascicularis*) и крысы (*Rattus norvegicus*)]. В процессе конструирования используют SCNNB1 транскрипты NM_000336.2 человека (NCBI GeneId 6338), NM_012648.1 крысы (NCBI GeneId 24767) и последовательность полной длины макаки крабоеда (описание приводится в настоящем изобретении).

Все дуплексы миРНК разработаны таким образом, чтобы иметь 100% идентичность по отношению ко всем трем транскриптам SCNNB1. Все последовательности из транскрипта NM_000336.

Немодифицированные и модифицированные последовательности перечислены в табл. 1. К немодифицированным последовательностям относятся и смысловая, и антисмысловая последовательности, которые перечислены под номерами SEQ ID NO: 111-220. Соответствующие положения первого остатка по

сравнению с транскриптом Beta-ENaC человека в последовательности SEQ ID NO: 222 также предусмотрены.

Согласно описанному ниже, в табл. 1 также приведены примеры модифицированных вариантов таких последовательностей (SEQ ID NO: 1-110).

5 В колонках табл. 1 «S» означает смысловую цепь, «AS» означает антисмысловую цепь, «Положение» означает положение первого нуклеотида. Модифицированные нуклеотиды, отмеченные строчными буквами (например, «с» и «и»), согласно описанному ниже в табл. 1А.

10 В последовательностях, представленных в табл. 1, модифицированные и немодифицированные последовательности могут необязательно включать последовательность «dTsdT» с 3'-конца. Таким образом, например, AD-20805 необязательно может иметь модифицированную последовательность сAGuGAcuAcAAcAcGAccdTsdT (SEQ ID NO: 429) в смысловой цепи и GGUCGUGUUGuAGUcACUGdTsdT (SEQ ID NO: 430) в антисмысловой цепи.

15 Согласно указанному ниже в табл. 1А, dT означает 2'-дезокс-тимидин-5'-фосфат и sdT означает 2'-дезокс-тимидин 5'-фосфотиоат.

Таблица 1. Последовательности Beta-ENaC.

ID дуплекса		SEQ ID	Модифицированная последовательность	SEQ ID	Немодифицированная последовательность	Положение
AD-20805	S	1	cAGuGAcuAcAAcAcGAcc	111	CAGUGACUACAACACGACC	1298
	AS	2	GGUCGUGUUGuAGUcACUG	112	GGUCGUGUUGUAGUCACUG	1298
AD-20806	S	3	AuGAcAGAGAAGGcAcuuc	113	AUGACAGAGAAGGCACUUC	1011
	AS	4	GAAGUGCCUUCUCUGUcAU	114	GAAGUGCCUUCUCUGUCAU	1011
AD-20807	S	5	GuGAAGAAGuAccuGcuGA	115	GUGAAGAAGUACCUGCUGA	183
	AS	6	UcAGcAGGuACUUCUUCAC	116	UCAGCAGGUACUUCUUCAC	183
AD-20808	S	7	GuGAcuAcAAcAcGAccuA	117	GUGACUACAACACGACCUA	1300
	AS	8	uAGGUCGUGUUGuAGUcAC	118	UAGGUCGUGUUGUAGUCAC	1300
AD-20809	S	9	GGuGGAGGcccAcAccAAc	119	GGUGGAGGCCACACCAAC	1919
	AS	10	GUUGGUGUGGGCCUCcACC	120	GUUGGUGUGGGCCUCCACC	1919
AD-20810	S	11	uGGuGGAGGcccAcAccAA	121	UGGUGGAGGCCACACCAA	1918
	AS	12	UUGGUGUGGGCCUCcACcA	122	UUGGUGUGGGCCUCCACCA	1918
AD-20811	S	13	uuccAAGAccAcAuGAucc	123	UCCAAGACCACAUGAUCC	1347
	AS	14	GGAUcAUGUGGUCUUGGAA	124	GGAUCAUGUGGUCUUGGAA	1347
AD-20812	S	15	AGcuGGGAGGuAcGcGucu	125	AGCUGGGAGGUCAGCGUCU	402
	AS	16	AGACGCUGACCUCcAGCU	126	AGACGCUGACCUCcAGCU	402
AD-20813	S	17	GGGAGAAAUAcuGcAAcAA	127	GGGAGAAAUACUGCAACAA	1408
	AS	18	UUGUUGcAGuAUUUCUCCC	128	UUGUUGCAGUAUUUCUCCC	1408
AD-20814	S	19	ccAGuuuGGcuucuuGGAuG	129	CCAGUUUGGCUUCUGGAUG	1748
	AS	20	cAUCcAGAAGCcAAACUGG	130	CAUCCAGAAGCCAAACUGG	1748

ID дуплекса		SEQ ID	Модифицированная последовательность	SEQ ID	Немодифицированная последовательность	Положение
AD-20815	S	21	AGuGAcuAcAAcAcGAccu	131	AGUGACUACAACACGACCU	1299
	AS	22	AGGUCGUGUUGuAGUcACU	132	AGGUCGUGUUGUAGUCACU	1299
AD-20816	S	23	AAuAucAcccuGAGcAGGA	133	AAUAUCACCCUGAGCAGGA	1626
	AS	24	UCCUGCUcAGGGUGAUuAUU	134	UCCUGCUCAGGGUGAUuAUU	1626
AD-20817	S	25	ccuGcAGGccAccAAcAuc	135	CCUGCAGGCCACCAACAUC	836
	AS	26	GAUGUUGGUGGCCUGcAGG	136	GAUGUUGGUGGCCUGCAGG	836
AD-20818	S	27	AucAcccuGAGcAGGAAGG	137	AUCACCCUGAGCAGGAAGG	1629
	AS	28	CCUUCUGCUcAGGGUGAU	138	CCUUCUGCUCAGGGUGAU	1629
AD-20819	S	29	GcuGGGAGGucAGcGucuc	139	GCUGGGAGGUCAGCGUCUC	403
	AS	30	GAGACGCUGACCUCcAGC	140	GAGACGCUGACCUCcAGC	403
AD-20820	S	31	GAGcuGGGAGGucAGcGuc	141	GAGCUGGGAGGUCAGCGUC	401
	AS	32	GACGCUGACCUCcAGCUC	142	GACGCUGACCUCcAGCUC	401
AD-20821	S	33	GuGGccAGuuuGGcuucug	143	GUGGCCAGUUUGGCUUCUG	1744
	AS	34	cAGAAGCcAAACUGGCcAC	144	CAGAAGCCAACUGGCCAC	1744
AD-20822	S	35	cAGuuuGGcuucugGAuGG	145	CAGUUUGGCUUCUGGAUGG	1749
	AS	36	CcAUCcAGAAGCcAAACUG	146	CCAUCCAGAAGCCAACUG	1749
AD-20823	S	37	GGccAGuuuGGcuucugGA	147	GGCCAGUUUGGCUUCUGGA	1746
	AS	38	UCcAGAAGCcAAACUGGCC	148	UCCAGAAGCCAACUGGCC	1746
AD-20824	S	39	cuGGGuGGccAGuuuGGcu	149	CUGGGUGGCCAGUUUGGCU	1740
	AS	40	AGCcAAACUGGCcACCcAG	150	AGCCAACUGGCCACCCAG	1740
AD-20825	S	41	ucuAcAGuGAcuAcAAcAc	151	UCUACAGUGACUACAACAC	1294
	AS	42	GUGUUGuAGUcACUGuAGA	152	GUGUUGUAGUCACUGUAGA	1294
AD-20826	S	43	GcAuGAcAGAGAAGGcAcu	153	GCAUGACAGAGAAGGCACU	1009
	AS	44	AGUGCCUUCUCUGUcAUGC	154	AGUGCCUUCUCUGUCAUGC	1009
AD-20827	S	45	AuAucAcccuGAGcAGGAA	155	AUAUCACCCUGAGCAGGAA	1627
	AS	46	UUCUGCUcAGGGUGAUuAU	156	UUCUGCUCAGGGUGAUuAU	1627
AD-20828	S	47	cuAcAGuGAcuAcAAcAcG	157	CUACAGUGACUACAACACG	1295
	AS	48	CGUGUUGuAGUcACUGuAG	158	CGUGUUGUAGUCACUGUAG	1295
AD-20829	S	49	uAucAcccuGAGcAGGAAG	159	UAUCACCCUGAGCAGGAAG	1628
	AS	50	CUUCUGCUcAGGGUGAUuA	160	CUUCUGCUCAGGGUGAUuA	1628
AD-20830	S	51	uGcAGGccAccAAcAucuu	161	UGCAGGCCACCAACAUCUU	838
	AS	52	AAGAUGUUGGUGGCCUGcA	162	AAGAUGUUGGUGGCCUGCA	838
AD-20831	S	53	cAuGAcAGAGAAGGcAcuu	163	CAUGACAGAGAAGGCACUU	1010
	AS	54	AAGUGCCUUCUCUGUcAUG	164	AAGUGCCUUCUCUGUCAUG	1010
AD-20832	S	55	uGAAGAAGuAccuGcuGAA	165	UGAAGAAGUACCUGCUGAA	184
	AS	56	UUCAGcAGGuACUUCUUCa	166	UUCAGCAGGUACUUCUUCA	184
AD-20833	S	57	GcuGGuGGAGGcccAcAcc	167	GCUGGUGGAGGCCcACACC	1916
	AS	58	GGUGUGGGCCUCcACcAGC	168	GGUGUGGGCCUCCACCAGC	1916
AD-20834	S	59	uAcAGuGAcuAcAAcAcGA	169	UACAGUGACUACAACACGA	1296
	AS	60	UCGUGUUGuAGUcACUGuA	170	UCGUGUUGUAGUCACUGUA	1296
AD-20835	S	61	AcAGAGAAGGcAcuuccuu	171	ACAGAGAAGGCACUUCUU	1014
	AS	62	AAGGAAGUGCCUUCUCUGU	172	AAGGAAGUGCCUUCUCUGU	1014
AD-20836	S	63	AcAGuGAcuAcAAcAcGAc	173	ACAGUGACUACAACACGAC	1297

ID дуплекса		SEQ ID	Модифицированная последовательность	SEQ ID	Немодифицированная последовательность	Положение
	AS	64	GUCGUGUUGuAGUCACUGU	174	GUCGUGUUGUAGUCACUGU	1297
AD-20837	S	65	uGAGcuGGGAGGucAGcGu	175	UGAGCUGGGAGGUCAGCGU	400
	AS	66	ACGCUGACCUCcAGCUcA	176	ACGCUGACCUCcAGCUcA	400
AD-20838	S	67	uGGccAGuuuGGcuucuGG	177	UGGCCAGUUUGGCUUCUGG	1745
	AS	68	CcAGAAGCcAAACUGGCcA	178	CCAGAAGCCAAACUGGCCA	1745
AD-20839	S	69	uGucucAGGAGcGGGAccA	179	UGUCUCAGGAGCGGGACCA	1600
	AS	70	UGGUCCCGCUCCUGAGAcA	180	UGGUCCCGCUCCUGAGACA	1600
AD-20840	S	71	GuGGAGGcccAcAccAAcu	181	GUGGAGGCCcACACCAACU	1920
	AS	72	AGUUGGUGUGGGCCUCcAC	182	AGUUGGUGUGGGCCUCCAC	1920
AD-20841	S	73	GGGuGGccAGuuuGGcuuc	183	GGGUGGCCAGUUUGGCUUC	1742
	AS	74	GAAGCcAAACUGGCcACCC	184	GAAGCCAAACUGGCCACCC	1742
AD-20842	S	75	GGuGGccAGuuuGGcuucu	185	GGUGGCCAGUUUGGCUUCU	1743
	AS	76	AGAAGCcAAACUGGCcACC	186	AGAAGCCAAACUGGCCACC	1743
AD-20843	S	77	ucAcccuGAGcAGGAAGGG	187	UCACCCUGAGCAGGAAGGG	1630
	AS	78	CCCUUCCUGUCUcAGGGUGA	188	CCCUUCCUGUCUcAGGGUGA	1630
AD-20844	S	79	GccAGuuuGGcuucuGGAu	189	GCCAGUUUGGCUUCUGGAU	1747
	AS	80	AUCcAGAAGCcAAACUGGC	190	AUCCAGAAGCCAAACUGGC	1747
AD-20845	S	81	AGcuGGuGGAGGcccAcAc	191	AGCUGGUGGAGGCCcACAC	1915
	AS	82	GUGUGGGCCUCcACcAGCU	192	GUGUGGGCCUCCACCAGCU	1915
AD-20846	S	83	AucuccAuGGcuGAcuGGc	193	AUCUCCAUGGCUGACUGGC	1545
	AS	84	GCcAGUcAGCcAUGGAGAU	194	GCCAGUCAGCCAUGGAGAU	1545
AD-20847	S	85	GGcAuGAcAGAGAAGGcAc	195	GGCAUGACAGAGAAGGCAC	1008
	AS	86	GUGCCUUCUCUGUcAUGCC	196	GUGCCUUCUCUGUCAUGCC	1008
AD-20848	S	87	GGAGAAuAcuGcAAcAAc	197	GGAGAAUACUGCAACAAC	1409
	AS	88	GUUGUUGcAGuAUUUCUCC	198	GUUGUUGCAGUAAUUCUCC	1409
AD-20849	S	89	uGGGuGGccAGuuuGGcuu	199	UGGGUGGCCAGUUUGGCUU	1741
	AS	90	AAGCcAAACUGGCcACCcA	200	AAGCCAAACUGGCCACCCA	1741
AD-20850	S	91	GAGcuGGuGGAGGcccAcA	201	GAGCUGGUGGAGGCCcACA	1914
	AS	92	UGUGGGCCUCcACcAGCUC	202	UGUGGGCCUCCACCAGCUC	1914
AD-20851	S	93	GAcAGAGAAGGcAcuuccu	203	GACAGAGAAGGCACUCCU	1013
	AS	94	AGGAAGUGCCUUCUCUGUC	204	AGGAAGUGCCUUCUCUGUC	1013
AD-20852	S	95	AGuuuGGcuucuGGAuGGG	205	AGUUUGGCUUCUGGAUGGG	1750
	AS	96	CCcAUCcAGAAGCcAAACU	206	CCCAUCCAGAAGCCAAACU	1750
AD-20861	S	97	uGAcAGAGAAGGcAcuucc	207	UGACAGAGAAGGCACUUC	1012
	AS	98	GGAAGUGCCUUCUCUGUcA	208	GGAAGUGCCUUCUCUGUCA	1012
AD-20862	S	99	GAAGAAGuAccuGcuGAAG	209	GAAGAAGUACCUGCUGAAG	185
	AS	100	CUUcAGcAGGuACUUCUUC	210	CUUCAGCAGGUACUUCUUC	185
AD-20863	S	101	ucuccAuGGcuGAcuGGcc	211	UCUCCAUGGCUGACUGGCC	1546
	AS	102	GGCcAGUcAGCcAUGGAGA	212	GGCCAGUCAGCCAUGGAGA	1546
AD-20864	S	103	cuGGuGGAGGcccAcAccA	213	CUGGUGGAGGCCcACACCA	1917
	AS	104	UGGUGUGGGCCUCcACcAG	214	UGGUGUGGGCCUCCACCAG	1917
AD-20865	S	105	cAGAGAAGGcAcuuccuuc	215	CAGAGAAGGCACUUCUUC	1015
	AS	106	GAAGGAAGUGCCUUCUCUG	216	GAAGGAAGUGCCUUCUCUG	1015

ID дуплекса		SEQ ID	Модифицированная последовательность	SEQ ID	Немодифицированная последовательность	Положение
AD-20866	S	107	cuGcAGGccAccAAcAucu	217	CUGCAGGCCACCAACAUCU	837
	AS	108	AGAUGUUGGUGGCCUGcAG	218	AGAUGUUGGUGGCCUGCAG	837
AD-20867	S	109	GGGcAuGAcAGAGAAGGcA	219	GGGCAUGACAGAGAAGGCA	1007
	AS	110	UGCCUUCUCUGUcAUGCCC	220	UGCCUUCUCUGUCAUGCCC	1007

Модификации последовательностей агентов РНК и SEQ ID NO: 111-220 хорошо известны специалистам в данной области. Примеры и неограничительные модификации, перечисленные в табл. 1, также будут понятны специалистам в данной области, например, смысловая (sense – S) и антисмысловая (antisense – AS) последовательности SEQ ID NO: 1-110.

Некоторые модификации расположены в местах, которые согласно прогнозу могут быть чувствительны к эндонуклеазам. Некоторые модификации разработаны для элиминации иммунного ответа на миРНК, при этом сохраняется активность. В общем смысловая цепь модифицирована интенсивно, а антисмысловая цепь модифицирована легко. Некоторые модификации решают более одной задачи.

Последовательности в табл. 1 и в других последовательностях обозначаются с помощью следующих аббревиатур:

Таблица 1А. Аббревиатуры

Аббревиатуры	Нуклеотид (нуклеотиды)
A	аденозин-5'-фосфат
C	цитидин-5'-фосфат
G	гуанозин-5'-фосфат
dT	2'-дезокситимидин-5'-фосфат
U	уридин-5'-фосфат
c	2'-О-метилцитидин-5'-фосфат
u	2'-О-метилуридин-5'-фосфат
sdT	2'- дезокситимидин-5'-фосфотротиоат

Выбор последовательности миРНК

В целом 55 смысловых и 55 антисмысловых SCNNB1-производных миРНК олигоцепей человека (агенты РНК к Beta-ENaC) синтезируют согласно описанному в примере 2. Смысловые и антисмысловые олигоцепи отжигают в дуплексы.

Пример 1А. Перекрывающиеся группы агентов РНКи к Beta-ENaC

Настоящее изобретение также относится к группам агентов РНКи к Beta-ENaC с перекрывающимися последовательностями. Таким образом, настоящее описание предусматривает группы агентов РНКи, причем каждый агент РНКи в группе перекрывается с каждым другим агентом РНКи в той же группе по меньшей мере на 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или более нуклеотидов. В частности, в одном из вариантов осуществления настоящего изобретения, перекрывание составляет по меньшей мере 12 нуклеотидов.

Некоторые агенты РНКи, перечисленные в настоящем изобретении, перекрывают друг друга по последовательности. В табл. 2 представлено объединение некоторых таких групп перекрывающихся агентов РНКи, причем каждый представитель группы с любым другим представителем той же группы по меньшей мере на 12 нуклеотидов. Представлены перекрывающиеся части из 12 нуклеотидов смысловой и антисмысловой цепи.

Таким образом, показано, например, в табл.2, перекрывание последовательностей агентов РНКи AD-20807 и AD-20832, причем перекрывание в смысловой цепи включает последовательность UGAAGAAGUACC (SEQ ID NO: 223); такие агенты РНКи также перекрываются в последовательности антисмысловой цепи, причем перекрывание включает последовательность GGUACUUCUUCA (SEQ ID NO: 224). Агенты РНКи AD-20807, AD-20862 и AD-20832 все перекрываются в смысловой цепи, причем перекрывание включает последовательность GAAGAAGUACCU (SEQ ID NO: 225); эти агенты РНКи также перекрываются в антисмысловой цепи, причем перекрывание включает последовательность AGGUACUUCUUC (SEQ ID NO: 226). Таким образом, эти и другие различные группы перекрывающихся агентов РНКи, представленные в табл. 2, разделяют общие технические характеристики, например, перекрывание в смысловой и антисмысловой цепи.

Определенные группы перекрывающихся агентов РНКи к Beta-ENaC предусмотрены ниже в табл. 2.

Настоящее изобретение таким образом охватывает какую-либо группу или подгруппу агентов РНКи, представляющую общую техническую характеристику, которой является перекрывание (например, по меньшей мере из 12 нуклеотидов) последовательности в смысловой или антисмысловой цепи.

Таблица 2.

Положение	Перекрытие смысловой цепи	SEQ ID	Перекрытие антисмысловой цепи	SEQID	Перекрытие агентов РНК к Beta-ENaC
183	UGAAGAAGUACC	223	GGUACUUCUUCA	224	AD-20807, AD-20832
184	GAAGAAGUACCU	225	AGGUACUUCUUC	226	AD-20807, AD-20862, AD-20832
185	AAGAAGUACCGUG	227	CAGGUACUUCUU	228	AD-20807, AD-20862, AD-20832
186	AGAAGUACCGUC	229	GCAGGUACUUCU	230	AD-20807, AD-20862, AD-20832
187	GAAGUACCGUCU	231	AGCAGGUACUUC	232	AD-20807, AD-20862, AD-20832
188	AAGUACCGUCUG	233	CAGCAGGUACUU	234	AD-20807, AD-20862, AD-20832
189	AGUACCGUCUGA	235	UCAGCAGGUACU	236	AD-20807, AD-20862, AD-20832
190	GUACCGUCUGAA	237	UUCAGCAGGUAC	238	AD-20862, AD-20832
400	GAGCUGGGAGGU	239	ACCUCCCAGCUC	240	AD-20820, AD-20837
401	AGCUGGGAGGUC	241	GACCUCCCAGCU	242	AD-20820, AD-20812, AD-20837
402	GCUGGGAGGUCA	243	UGACCUCCCAGC	244	AD-20820, AD-20819, AD-20812, AD-20837
403	CUGGGAGGUCAG	245	CUGACCUCCCAG	246	AD-20819, AD-20812, AD-20837
404	UGGGAGGUCAAG	247	GCUGACCUCCCA	248	AD-20820, AD-20819, AD-20837
405	GGGAGGUCAAGC	249	CGCUGACCUCCC	250	AD-20820, AD-20819, AD-20812, AD-20837
406	GGAGGUCAAGCU	251	ACGCUGACCUCC	252	AD-20819, AD-20837
407	GAGGUCAAGCUC	253	GACGCUGACCUCC	254	AD-20820, AD-20819, AD-20812
408	AGGUCAAGCUCU	255	AGACGCUGACCU	256	AD-20819, AD-20812
836	CUGCAGGCCACC	257	GGUGGCCUGCAG	258	AD-20866, AD-20817
837	UGCAGGCCACCA	259	UGGUGGCCUGCA	260	AD-20866, AD-20830, AD-20817
838	GCAGGCCACCAA	261	UUGGUGGCCUGC	262	AD-20866, AD-20830, AD-20817
839	CAGGCCACCAAC	263	GUUGGUGGCCUG	264	AD-20866, AD-20830, AD-20817
840	AGGCCACCAACA	265	UGUUGGUGGCCU	266	AD-20866, AD-20830, AD-20817
841	GGCCACCAACAUC	267	AUGUUGGUGGCC	268	AD-20866, AD-20830, AD-20817
842	GCCACCAACAUC	269	GAUGUUGGUGGC	270	AD-20866, AD-20830, AD-20817
843	CCACCAACAUCU	271	AGAUGUUGGUGG	272	AD-20866, AD-20830
1007	GGCAUGACAGAG	273	CUCUGUCAUGCC	274	AD-20847, AD-20867
1008	GCAUGACAGAGA	275	UCUCUGUCAUGC	276	AD-20826, AD-20867
1009	CAUGACAGAGAA	277	UUCUCUGUCAUG	278	AD-20826, AD-20831, AD-20867
1010	AUGACAGAGAAG	279	CUUCUCUGUCAU	280	AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806
1011	UGACAGAGAAGG	281	CCUUCUCUGUCA	282	AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861
1012	GACAGAGAAGGC	283	GCCUUCUCUGUC	284	AD-20851, AD-20847, AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861
1013	ACAGAGAAGGCA	285	UGCCUUCUCUGU	286	AD-20851, AD-20835, AD-

Положение	Перекрытие смысловой цепи	SEQ ID	Перекрытие антисмысловой цепи	SEQID	Перекрытие агентов РНК к Beta-ENaC
					20847, AD-20826, AD-20831, AD-20867, AD-20806, AD-20861
1014	CAGAGAAGGCAC	287	GUGCCUUCUCUG	288	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20826, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1015	AGAGAAGGCACU	289	AGUGCCUUCUCU	290	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20826, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1016	GAGAAGGCACUU	291	AAGUGCCUUCUC	292	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20831, AD-20806, AD-20861
1017	AGAAGGCACUUC	293	GAAGUGCCUUCU	294	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20806, AD-20861
1018	GAAGGCACUUCC	295	GGAAGUGCCUUC	296	AD-20851, AD-20835, AD-20865, AD-20861
1019	AAGGCACUUCCU	297	AGGAAGUGCCUU	298	AD-20851, AD-20835, AD-20865
1020	AGGCACUUCCUU	299	AAGGAAGUGCCU	300	AD-20835, AD-20865
1294	CUACAGUGACUA	301	UAGUCACUGUAG	302	AD-20828, AD-20825
1295	UACAGUGACUAC	303	GUAGUCACUGUA	304	AD-20834, AD-20825
1296	ACAGUGACUACA	305	UGUAGUCACUGU	306	AD-20828, AD-20834, AD-20825, AD-20836
1297	CAGUGACUACAA	307	UUGUAGUCACUG	308	AD-20834, AD-20805, AD-20825
1298	AGUGACUACAAC	309	GUUGUAGUCACU	310	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20825, AD-20836
1299	GUGACUACAACA	311	UGUUGUAGUCAC	312	AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20825
1300	UGACUACAACAC	313	GUGUUGUAGUCA	314	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20825, AD-20815, AD-20836
1301	GACUACAACACG	315	CGUGUUGUAGUC	316	AD-20828, AD-20834, AD-20805, AD-20808, AD-20836
1302	ACUACAACACGA	317	UCGUGUUGUAGU	318	AD-20834, AD-20805, AD-20808
1303	CUACAACACGAC	319	GUCGUGUUGUAG	320	AD-20805, AD-20808, AD-20815, AD-20836
1304	UACAACACGACC	321	GGUCGUGUUGUA	322	AD-20805, AD-20808
1305	ACAACACGACCU	323	AGGUCGUGUUGU	324	AD-20808, AD-20815
1408	GGAGAAAUACUG	325	CAGUAUUUCUCC	326	AD-20813, AD-20848
1409	GAGAAAUACUGC	327	GCAGUAUUUCUC	328	AD-20813, AD-20848
1410	AGAAAUACUGCA	329	UGCAGUAUUUCU	330	AD-20813, AD-20848
1411	GAAAUACUGCAA	331	UUGCAGUAUUUC	332	AD-20813, AD-20848
1412	AAAUACUGCAAC	333	GUUGCAGUAUUU	334	AD-20813, AD-20848
1413	AAUACUGCAACA	335	UGUUGCAGUAUU	336	AD-20813, AD-20848
1414	AUACUGCAACAA	337	UUGUUGCAGUAU	338	AD-20813, AD-20848
1545	UCUCCAUGGCUG	339	CAGCCAUGGAGA	340	AD-20846, AD-20863
1546	CUCCAUGGCUGA	341	UCAGCCAUGGAG	342	AD-20846, AD-20863
1547	UCCAUGGCUGAC	343	GUCAGCCAUGGA	344	AD-20846, AD-20863
1548	CCAUGGCUGACU	345	AGUCAGCCAUGG	346	AD-20846, AD-20863
1549	CAUGGCUGACUG	347	CAGUCAGCCAUG	348	AD-20846, AD-20863
1550	AUGGCUGACUGG	349	CCAGUCAGCCAU	350	AD-20846, AD-20863

Положение	Перекрытие смысловой цепи	SEQ ID	Перекрытие антисмысловой цепи	SEQID	Перекрытие агентов РНК к Beta-ENaC
1551	UGGCUGACUGGC	351	GCCAGUCAGCCA	352	AD-20846, AD-20863
1626	AUAUCACCCUGA	353	UCAGGGUGAUAU	354	AD-20816, AD-20827
1627	UAUCACCCUGAG	355	CUCAGGGUGAUA	356	AD-20816, AD-20827, AD-20829
1628	AUCACCCUGAGC	357	GCUCAGGGUGAU	358	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20818
1629	UCACCCUGAGCA	359	UGCUCAGGGUGA	360	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1630	CACCCUGAGCAG	361	CUGCUCAGGGUG	362	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1631	ACCCUGAGCAGG	363	CCUGCUCAGGGU	364	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1632	CCCUGAGCAGGA	365	UCCUGCUCAGGG	366	AD-20816, AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1633	CCUGAGCAGGAA	367	UCCUGCUCAGG	368	AD-20827, AD-20829, AD-20843, AD-20818
1634	CUGAGCAGGAAG	369	CUCCUGCUCAG	370	AD-20829, AD-20843, AD-20818
1635	UGAGCAGGAAGG	371	CCUCCUGCUCUA	372	AD-20843, AD-20818
1740	UGGGUGGCCAGU	373	ACUGGCCACCCA	374	AD-20824, AD-20849
1741	GGGUGGCCAGUU	375	AACUGGCCACCC	376	AD-20824, AD-20841, AD-20849
1742	GGUGGCCAGUUU	377	AAACUGGCCACC	378	AD-20824, AD-20842, AD-20841, AD-20849
1743	GUGGCCAGUUUG	379	CAAACUGGCCAC	380	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20841, AD-20849
1744	UGGCCAGUUUGG	381	CAAACUGGCCA	382	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20849
1745	GGCCAGUUUGGC	383	GCCAAACUGGCC	384	AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-20849
1746	GCCAGUUUGGCU	385	AGCCAAACUGGC	386	AD-20844, AD-20824, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-20849
1747	CCAGUUUGGCUU	387	AAGCCAAACUGG	388	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20823, AD-20849
1748	CAGUUUGGCUUC	389	GAAGCCAAACUG	390	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20838, AD-20841, AD-20822, AD-20823
1749	AGUUUGGCUUCU	391	AGAAGCCAAACU	392	AD-20814, AD-20844, AD-20842, AD-20821, AD-20852, AD-20838, AD-20822, AD-20823
1750	GUUUGGCUUCUG	393	CAGAAGCCAAAC	394	AD-20814, AD-20844, AD-20821, AD-20852, AD-20838, AD-20822, AD-20823
1751	UUUGGCUUCUGG	395	CCAGAAGCCAAA	396	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20838, AD-

Положение	Перекрытие смысловой цепи	SEQ ID	Перекрытие антисмысловой цепи	SEQID	Перекрытие агентов РНК к Beta-ENaC
					20822, AD-20823
1752	UUGGCUUCUGGA	397	UCCAGAAGCCAA	398	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20822, AD-20823
1753	UGGCUUCUGGAU	399	AUCCAGAAGCCA	400	AD-20814, AD-20844, AD-20852, AD-20822
1754	GGCUUCUGGAUG	401	CAUCCAGAAGCC	402	AD-20814, AD-20852, AD-20822
1755	GCUUCUGGAUGG	403	CCAUCCAGAAGC	404	AD-20852, AD-20822
1914	AGCUGGUGGAGG	405	CCUCCACCAGCU	406	AD-20850, AD-20845
1915	GCUGGUGGAGGC	407	GCCUCCACCAGC	408	AD-20850, AD-20845, AD-20833
1916	CUGGUGGAGGCC	409	GGCCUCCACCAG	410	AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1917	UGGUGGAGGCC	411	GGGCCUCCACCA	412	AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1918	GGUGGAGGCCCA	413	UGGGCCUCCACC	414	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864
1919	GUGGAGGCCCAC	415	GUGGGCCUCCAC	416	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1920	UGGAGGCCACACA	417	UGUGGGCCUCCA	418	AD-20809, AD-20810, AD-20850, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1921	GGAGGCCACAC	419	GUGUGGGCCUCC	420	AD-20809, AD-20810, AD-20845, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1922	GAGGCCACACC	421	GGUGUGGGCCUC	422	AD-20809, AD-20810, AD-20833, AD-20864, AD-20840
1923	AGGCCACACCA	423	UGGUGUGGGCCU	424	AD-20809, AD-20810, AD-20864, AD-20840
1924	GGCCACACCAA	425	UUGGUGUGGGCC	426	AD-20809, AD-20810, AD-20840
1925	GCCACACCAAC	427	GUUGGUGUGGGC	428	AD-20809, AD-20840

Положение означает локализацию в NM_000336.2. Показаны примеры 12 перекрывающихся нуклеотидов в смысловой и антисмысловой цепи; во многих случаях в действительности перекрытие длиннее.

5 Пример 2. Синтез последовательностей агента РНК к Beta-ENaC

Модифицированные последовательности агентов РНК к Beta-ENaC, перечисленные в виде последовательностей SEQ ID NO: 1-110 в табл. 1, синтезированы на синтезаторе MerMade 192 в количестве 1 мкМ.

10 Для всех последовательностей в перечне применяют «внутреннюю легкую» химию, подробно описанную ниже.

Все пиримидины (цитозин и уридин) в смысловой цепи содержат 2'-О-метильные основания (2' О-метил-С и 2'-О-метил-У).

В антисмысловой цепи пиримидины, присоединенные (по направлению к 5'-положению) к рибо А нуклеозиду, замещены на соответствующие 2-О-метил нуклеозиды.

Внедрено удлинение из двух нуклеотидов dTsdT с 3'-конца и смысловой, и антисмысловой цепи.

Файл последовательности преобразуют в текстовый файл для получения совместимости для загрузки в программу синтезатора MerMade 192.

10 Синтез, расщепление и снятие защиты:

Для синтеза последовательностей Beta-ENaC используют твердофазный синтез олигонуклеотидов, применяя химию фосфорамидита.

Синтез указанных выше последовательностей проводят в пределе 1 мкМ в 96-луночных планшетах. Растворы амидита получают в концентрации 0,1 М, этилтиотетразол (0,6 М в ацетонитриле) применяют в качестве активатора.

Синтезированные последовательности расщепляют и снимают защиту в 96-луночных планшетах, используя метиламин на первой стадии и фторидный реагент на второй стадии. Неочищенные последовательности осаждают, используя смесь ацетон:этанол (80:20), и осадки ресуспендируют в буфере 0,2 М натрия ацетата. Образцы из каждой последовательности анализируют с помощью жидкостной хроматографии – масс-спектрометрии для подтверждения идентичности, УФ для количественной оценки и отобранную группу образцов – с помощью ионообменной хроматографии для определения чистоты.

25 Очистка и обессоливание:

Последовательности Beta-ENaC очищают в системе очистки АКТА explorer с колонкой Source 15Q. Температуру колонки 65°C поддерживают на протяжении всей очистки. Закалывание и сбор образцов проводят в 96-луночном планшете (глубина лунок 1,8 мл). Единственный пик, соответствующий последовательности полной доины, отбирают в элюенте. Очищенные последовательности обессоливают в колонке Sephadex G25, используя систему очистки АКТА. Обессоленные последовательности Beta-ENaC исследуют, определяя концентрацию (путем УФ-измерения при A260) и чистоту (с помощью ионообменной ВЭЖХ).

Отдельные цепочки затем исследуют путем отжига.

Подробный перечень отдельных цепей и дуплексов Beta-ENaC представлены выше в табл. 1. Дуплексы применяют для скрининга *in vitro* для анализа их способности вызывать нокдаун уровня гена Beta-ENaC.

5 Пример 3. *In vitro* скрининг агентов РНКи к Beta-ENaC

Агенты РНКи к Beta-ENaC подвергают скринингу *in vitro* для определения их способности вызывать нокдаун уровня гена Beta-ENaC.

Культуры клеток и трансфекция:

10 Клетки H441 (фирма ATCC, Manassas, Вирджиния) выращивают почти до полного слияния при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в среде RPMI 1640 (фирма ATCC), обогащенной 10% ФСТ, стрептомицином и глутамином (фирма ATCC) перед высвобождением из планшета путем трипсинизации. Обратную трансфекцию проводят путем добавления 5 мкл Opti-MEM к 5 мкл дуплексов миРНК на лунку в 96-луночном планшете наряду с 10 мкл Opti-MEM плюс 0,2
15 мкл Lipofectamine RNAiMax на лунку (фирма Invitrogen, Carlsbad, Калифорния, номер в каталоге 13778-150) и инкубируют при комнатной температуре в течение 15 мин. Затем добавляют 80 мкл полноценной культуральной среды без антибиотика, содержащей $2,0 \times 10^4$ клеток H441. Клетки инкубируют в течение 24 ч до очистки РНК. Эксперименты проводят при конечной концентрации
20 дуплекса 0,1 или 10 нМ для отдельных доз скрининга с каждым из 55 Beta-ENaC дуплексов. Каждую миРНК трансфецируют трижды в каждой из исследуемых доз. Результаты приведены в табл. 3.

25 Подгруппа дуплексов, которые показывают четкое глушение при анализе 10 нМ и 0,1 нМ, изучают в диапазоне концентраций от 10 нМ до 10 фМ, используя серийные разведения для определения величин IC₅₀. Результаты приведены в табл. 4.

Выделение суммарной РНК:

30 Клетки собирают и лизируют в 140 мкл лизирующего/связывающего раствора, затем перемешивают в течение 1 мин в режиме 850 об/мин, используя термомиксер Eppendorf (скорость перемешивания постоянна на протяжении процесса).

Набор для выделения суммарной РНК MagMAX-96 (фирма Applied Biosystem, Foster City, Калифорния, партия AM1830) применяют для выделения

суммарной РНК. 20 мкл магнитных гранул и смесь для усиления лизиса/связывания добавляют к клеткам-лизату и перемешивают в течение 5 мин. Магнитные гранулы захватывают, используя магнитную подставку, и супернатант удаляют, не взбалтывая гранулы. После удаления супернатанта магнитные гранулы промывают раствором для промывки 1 (добавленный пропанол) и перемешивают в течение 1 мин. Гранулы захватывают еще раз и удаляют супернатант. Затем гранулы промывают с помощью 150 мкл раствора для промывки 2 (добавленный этанол), захватывают и удаляют супернатант. Затем к гранулам добавляют 50 мкл смеси ДНазы (буфер MagMax turbo DNase Buffer и Turbo DNase) и перемешивают в течение 10-15 мин. После перемешивания добавляют 100 мкл раствора для повторного связывания РНК и перемешивают в течение 3 мин. Супернатант удаляют и магнитные гранулы промывают еще раз с помощью 150 мкл раствора для промывки 2 и перемешивают в течение 1 мин, супернатант полностью удаляют. Магнитные гранулы перемешивают в течение 2 мин для высушивания перед элюцией РНК с помощью 50 мкл воды.

Синтез кДНК:

Набор обратной транскрипции кДНК высокой емкости ABI (фирма Applied Biosystems, Foster City, Калифорния, номер в каталоге 4368813) применяют для синтеза кДНК. Основную смесь, включающую 2 мкл 10X буфера, 0,8 мкл 25X дезоксирибонуклеотидтрифосфатот (dNTP), 2 мкл случайных праймеров, 1 мкл обратной транскриптазы, 1 мкл ингибитора РНазы и 3,2 мкл H₂O на реакцию добавляют к 10 мкл суммарной РНК. Получают кДНК, используя термальный цикл Bio-Rad C-1000 или S-1000 (фирма Hercules, Калифорния) из следующих стадий: 25°C 10 мин, 37°C 120 мин, 85°C 5 сек, выдержка при 4°C.

ПЦР реального времени:

2 мкл кДНК добавляют к мастер-микс, содержащей 0,5 мкл GAPDH TaqMan Probe (фирма Applied Biosystems, номер в каталоге 4326317E), 0,5 мкл Beta-ENaC TaqMan Probe (фирма Applied Biosystems, номер в каталоге Hs00165722_m1) и 5 мкл мастер-микса Roche Probes Master Mix (фирма Roche, номер в каталоге 04887301001) в общем объеме 10 мкл на лунку в 384-луночный планшет LightCycler 480 (фирма Roche, номер в каталоге 0472974001). ПЦР реального времени проводят в приборе LightCycler 480 ПЦР реального времени

(фирма Roche). Каждый дуплекс исследуют в двух независимых трансфекциях и каждую трансфекцию исследуют в двух повторах.

Данные ПЦР реального времени анализируют, используя метод $\Delta\Delta C_t$. Каждый образец нормализуют по экспрессии GAPDH, и нокдаун оценивают относительно клеток, трансфецированных не нацеливающимся на мишень дуплексом AD-1955. Величины IC50 обозначают, используя модель выравнивания по 4 параметрам по программе XLfit.

Результаты приведены ниже. Табл. 3 показывает результаты экспериментов, проведенных с итоговыми дуплексами в концентрации 0,1 нМ или 10 нМ для скрининга отдельных доз с каждым из 55 дуплексов Beta-ENaC. Понятие «сохранение информации по фракциям» показывает остаточный генный уровень при дозе 10 нМ или 0,1 нМ. Таким образом, величина «0,17» во второй колонке для AD-20832-b1 означает, что в концентрации 10 нМ имеется остаточный генный уровень 17% или нокдаун экспрессии на 83%. Следует отметить, что суффикс «b1» означает «партию 1». Таким образом, например, агент РНКи с обозначением «AD-20832-b1» имеет ту же последовательность, что и агент РНКи, обозначенный «AD-20832».

Таблица 3. Нокдаун Beta-ENaC дозами 10 нМ и 0,1 нМ.

	Сохранение информации по фракциям в дозе 10 нМ	Сохранение информации по фракциям в дозе 0,1 нМ	Стандартное отклонение в дозе 10 нМ	Стандартное отклонение в дозе 0,1 нМ
AD-20832-b1	0,17	0,33	0,04	0,03
AD-20848-b1	0,17	0,49	0,01	0,04
AD-20807-b1	0,18	0,26	0,02	0,05
AD-20826-b1	0,19	0,49	0,02	0,22
AD-20837-b1	0,19	0,51	0,04	0,04
AD-20861-b1	0,19	0,71	0,02	0,29
AD-20834-b1	0,20	0,34	0,06	0,05
AD-20806-b1	0,22	0,60	0,02	0,15
AD-20851-b1	0,23	0,55	0,04	0,07
AD-20865-b1	0,24	0,64	0,02	0,05
AD-20811-b1	0,25	0,52	0,17	0,23
AD-20819-b1	0,27	0,60	0,01	0,07
AD-20839-b1	0,27	0,55	0,06	0,05
AD-20835-b1	0,28	0,63	0,07	0,21
AD-20825-b1	0,30	0,72	0,11	0,15
AD-20867-b1	0,30	0,68	0,00	0,20

	Сохранение информации по фракциям в дозе 10 нМ	Сохранение информации по фракциям в дозе 0,1 нМ	Стандартное отклонение в дозе 10 нМ	Стандартное отклонение в дозе 0,1 нМ
AD-20813-b1	0,34	0,56	0,17	0,36
AD-20823-b1	0,34	0,75	0,05	0,05
AD-20805-b1	0,36	0,86	0,02	0,09
AD-20831-b1	0,36	0,60	0,01	0,21
AD-20862-b1	0,38	0,93	0,02	0,29
AD-20808-b1	0,40	0,81	0,13	0,16
AD-20827-b1	0,40	2,55	0,07	1,44
AD-20828-b1	0,42	0,89	0,11	0,25
AD-20812-b1	0,47	0,74	0,32	0,36
AD-20836-b1	0,48	1,07	0,11	0,27
AD-20822-b1	0,49	0,94	0,11	0,09
AD-20810-b1	0,53	0,87	0,25	0,20
AD-20824-b1	0,54	1,12	0,08	0,33
AD-20844-b1	0,55	0,98	0,07	0,28
AD-20814-b1	0,60	1,30	0,09	0,12
AD-20838-b1	0,65	1,18	0,07	0,18
AD-20816-b1	0,66	1,38	0,05	0,17
AD-20845-b1	0,72	1,18	0,01	0,27
AD-20820-b1	0,75	0,89	0,06	0,14
AD-20830-b1	0,75	0,94	0,04	0,24
AD-20866-b1	0,77	1,24	0,03	0,57
AD-20809-b1	0,78	1,05	0,05	0,03
AD-20833-b1	0,79	0,99	0,01	0,35
AD-20821-b1	0,80	0,99	0,07	0,14
AD-20846-b1	0,83	1,13	0,10	0,15
AD-20818-b1	0,88	1,36	0,04	0,62
AD-20817-b1	0,89	1,11	0,11	0,19
AD-20843-b1	0,92	1,64	0,11	0,16
AD-20840-b1	0,93	1,13	0,15	0,30
AD-20847-b1	0,94	0,99	0,64	0,12
AD-20815-b1	0,96	2,06	0,23	0,99
AD-20842-b1	0,96	1,37	0,16	0,28
AD-20852-b1	0,96	1,30	0,17	0,17
AD-20863-b1	0,99	0,84	0,24	0,11
AD-20864-b1	0,99	1,36	0,05	0,74
AD-20850-b1	1,00	1,22	0,14	0,14
AD-20829-b1	1,08	1,39	0,26	0,70
AD-20849-b1	1,11	1,31	0,27	0,17
AD-20841-b1	1,12	1,37	0,10	0,48

Все агенты РНКи к Beta-ENaC, применяемые в этих экспериментах, являются модифицированными последовательностями (SEQ ID NO: 1-110), перечисленными в табл. 1.

5 Табл. 4 показывает результаты экспериментов, причем подгруппа дуплексов, которые проявляют сильное глушение при скрининге в дозах 10 нМ и 0,1 нМ, исследуют в диапазоне концентраций от 10 нМ до 10 фМ, используя серийные разведения для определения величин IC50.

Таблица 4. Поиск дозового ответа Beta-ENaC.

Дуплекс_ID	H441 новые (средняя величина по 4 повторам)		H441 старые (средняя величина по 8 повторам)	
	IC50 нМ	IC50 стандартное отклонение	IC50 нМ	IC50 стандартное отклонение
AD-20807	0,05	0,03	0,04	0,06
AD-20826	0,14	0,05	0,05	0,07
AD-20832	0,05	0,02	0,04	0,05
AD-20834	0,06	0,03	0,03	0,06
AD-20848	0,25	0,14	0,13	0,17
AD-20861	0,13	0,08	0,09	0,06

10

Пример 4. *In vivo* анализ агентов РНКи к Beta-ENaC AD-20807 и AD-20832

В экспериментах *in vivo* исследуют два агента РНКи к Beta-ENaC, AD-20807 и AD-20832, на способность вызывать нокдаун уровня гена Beta-ENaC в целых легких у крыс. Цель заключается в определении дозового ответа. Также исследуют иммуностимуляцию.

15

Используют крыс линии Sprague-Dawley; примерная масса особей составляет 280-300 г. Крыс дозируют раз в сутки на протяжении двух суток. Затем их умерщвляют примерно через 24 ч после второй дозы. Левое легкое измельчают для определения уровней бета-ENaC методом количественной ПЦР; правое легкое замораживают и хранят.

20

Таблица 5.

Группа	Номера крыс	Состав	Концентрация	Число крыс в группе
1	1-5	D5W	-	5
2	6-10	AD1955	10 мг/кг	5
3	11-15	AD20191	10 мг/кг	5
4	16-20	AD20807	10 мг/кг	5
5	12-25	AD20807	3 мг/кг	5

Группа	Номера крыс	Состав	Концентрация	Число крыс в группе
6	26-30	AD20807	1 мг/кг	5
7	31-35	AD20832	10 мг/кг	4*
8	36-40	AD20832	3 мг/кг	5
9	41-45	AD20832	1 мг/кг	5

*В группе 4, 5 крысам в начальной стадии вводят дозы, но 1 крысу в этой группе не используют в эксперименте и данные по этому животному не включают в заключительные результаты.

5 Оба агента РНКи к Beta-ENaC, AD20807 и AD20832, демонстрируют снижение уровней Beta-ENaC дозозависимым способом. В случае AD20807 уровень Beta-ENaC снижается примерно на 30%, 40% и 50% в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, соответственно.

10 Напротив, агенты РНКи к Beta-ENaC (bENaC) не снижают уровня Alpha-ENaC (aENaC). Однако наблюдают повышение уровня Alpha-ENaC при введении AD20832.

К отрицательным контролям относятся:

15 D5W: раствор 5% декстрозы в воде; этот растворитель применяют для разведения миРНК при дозировании; AD1955: миРНК, которая специфически не нацеливается ни на Alpha-, ни на Beta-ENaC, но нацеливается на люциферазу светлячка; и AD20191: миРНК, которая специфически не связывается с Beta-ENaC, но нацеливается на Alpha-ENaC крысы; и агент AD-9201, который нацеливается на Alpha-ENaC (не применяют в этом конкретном примере).

20 Таким образом, специфический нокдаун Beta-ENaC отмечают в данном эксперименте с агентами РНКи AD20807 и AD20832.

Пример 5. *In vivo* анализ Beta-ENaC AD-20834

25 В экспериментах *in vivo* агент РНКи к Beta-ENaC AD20834 исследуют на способность вызывать нокдаун уровня гена Beta-ENaC в целых легких у крыс. Цель заключается в определении дозового ответа. Также исследуют иммуностимуляцию.

Используют крыс линии Sprague-Dawley; примерная масса особей составляет 280-300 г. Крыс дозируют раз в сутки на протяжении двух суток. Затем их умерщвляют примерно через 24 ч после второй дозы. Левое легкое

удаляют и измельчают для определения уровней бета-ENaC методом количественной ПЦР; правое легкое замораживают и хранят.

Таблица 6.

Группа	Номера крыс	Состав	Концентрация	Число крыс в группе
1	1-5	D5W	-	5
2	6-10	AD1955	10 мг/кг	4*
3	11-15	AD20191	10 мг/кг	5
4	16-20	AD20834	10 мг/кг	5
5	21-25	AD20834	1 мг/кг	5
6	26-30	AD20834	3 мг/кг	4*

5 *В группе 4, 5 крысам в начальной стадии вводят дозы, но 1 крысу в этой группе не используют в эксперименте и данные по этому животному не включают в заключительные результаты.

Оба агента РНКи к Beta-ENaC, AD20807 и AD20832, демонстрируют снижение уровней Beta-ENaC дозозависимым способом. В случае AD20807
10 уровень Beta-ENaC снижается примерно на 30%, 40% и 50% в дозах 1, 3 и 10 мг/кг, соответственно.

Напротив, агенты РНКи к Beta-ENaC (bENaC) не снижают уровня Alpha-ENaC (aENaC). Однако наблюдают повышение уровня Alpha-ENaC при введении AD20832.

15 При массе тела 300 г (0,3 кг) проводят следующие разведения:

10 мг/кг = 3 мг миРНК в объеме 200 мкл = 15 мг/мл

3 мг/кг = 1 мг миРНК в объеме 200 мкл = 5 мг/мл

1 мг/кг = 0,3 мг миРНК в объеме 200 мкл = 1,5 мг/мл

20 Данные нормализуют по гену PPIB [ген Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase B – ген пептидилпропил-цис-транс-изомеразы B, применяемый в качестве гена housekeeping (нормализация)].

Эти эксперименты показывают, что агент РНКи к Beta-ENaC AD20834 проявляет снижение уровня Beta-ENaC примерно на 40% у крыс линии Sprague-Dawley. Этот эффект специфичен для Beta-ENaC.

25 Применяют следующие контроли: D5W (5% dextrose in water – раствор 5% декстрозы в воде) применяют в качестве отрицательного контроля, не оказывающего воздействия на уровни Alpha-ENaC или Beta-ENaC. AD1955, контрольная миРНК, которая не связывается с Alpha- или Beta-ENaC, также

показывающая слабое воздействие на уровень Alpha- или Beta-ENaC.

Положительный контроль миРНК AD20191, который нацеливается на Alpha-ENaC, но не на Beta-ENaC, показывает примерно 50% снижение уровня Alpha-ENaC, но не уровня Beta-ENaC.

5 Таким образом, доза 10 мг/кг агента РНКи к Beta-ENaC AD20834 показывает по меньшей мере примерно 40% подавление экспрессии гена Beta-ENaC в крысах Sprague-Dawley.

Пример 6. Анализ агентов РНКи к Beta-ENaC

10 Дополнительные эксперименты проводят с агентами РНКи к Beta-ENaC AD20807, AD20832, AD20834, AD20848 и AD20861 *in vivo* в крысах Sprague-Dawley. Крысам вводят дозу 10 мг/кг в D5W на 1 и 2 сутки, на 3 сутки их умерщвляют и берут на анализ легкие.

Результаты показаны на фиг. 1. Результаты показывают данные кПЦР по левому легкому, нормализованные относительно контрольного гена PPIB.

15 Контроли на фиг. 1 следующие: D5W (5% dextrose in water – 5% глюкоза в воде) представляет отрицательный контроль, не показывающий воздействия на уровни Alpha-ENaC или Beta-ENaC. Положительным контролем является агент AD-9201, который нацеливается на Alpha-ENaC (aENaC).

20 Результаты, представленные на фиг. 1, показывают статистическую значимость и специфический нокдаун Beta-ENaC (bENaC) под действием AD20807, AD20832, AD20834, AD20848 и AD20861. Экспрессия гена Beta-ENaC подавляется по меньшей мере примерно на 40% под действием концентрации 10 мг/кг таких агентов РНКи в крысах Sprague-Dawley.

25 Пример 7. *In vitro* эффект агента РНКи к Beta-ENaC AD20832 на действие функционального канала ENaC в бронхиальных эпителиальных клетках человека

30 Клетки бронхиального эпителия человека (Human Bronchial Epithelial Cells – НВЕС) трансфецируют номинальной миРНК, включающей агент РНКи к Beta-ENaC AD20832. Трансфецированные клетки высевают на инсертах клеточной культуры Sparwell и культивируют в течение 24 ч. Затем верхний слой культуральной среды удаляют от каждого инсера и клетки культивируют на разделе воздушной и жидкой сред (ВЖС). Клетки исследуют на действие ENaC и CFTR на 8 сутки пост-ВЖС согласно описанному. Для контроля жизнеспособности клеток функцию ENaC нормализуют по действию CFTR и

полученные данные представляют в виде процента относительно контроля, не подвергавшегося трансфекции (фиг. 2А). В качестве дополнительного контроля жизнеспособности также измеряют трансмембранное сопротивление (фиг. 2Б). Анализ экспрессии иРНК субъединиц alpha и beta ENaC проводят для каждого инсера и нормализуют по экспрессии GAPDH. (Фиг. 2В). Эти данные показывают, что подавление экспрессии иРНК на 70% достаточно для выработки функционального подавления на 50% канала ENaC. Это справедливо для нокдауна или альфа, или бета субъединиц, если каждую сравнивают с нетрансфицированными (neg) и неспецифичными (ns) контролями миРНК. Эти данные также показывают, что миРНК Beta-ENaC не подавляет экспрессию иРНК alpha-ENaC, и наоборот.

Способы: функциональное действие ENaC в клетках бронхиального эпителия человека

Используют клетки бронхиального эпителия человека (Human Bronchial Epithelial Cells – HBEC) фирмы Lonza и один раз пересевают до замораживания в ростовой среде (среда BEGM plus singlequotes фирмы Lonza). Впоследствии клетки оттаивают, размножают до слияния и расщепляют 1:10 для трансфекции. При достижении 80% слияния каждый флакон с клетками трансфицируют соответствующей миРНК в концентрации 30нМ, используя 2 мкл/мл Lipofectamine 2000 в общем объеме 30 мл среды для трансфекции (смесь 1:1 BEGM (фирма Lonza) и DMEM с высоким содержанием глюкозы (фирма Gibco) без добавок). Через 24 ч после трансфекции клетки высевают в 6-луночных инсерах Snapwell (фирма Costar) в количестве 2.5×10^5 клеток/инсерт в среде для дифференциации (смесь 50:50 BEBM и DMEM с высоким содержанием глюкозы с компонентами singlequotes (минус добавки три-идотреонина и ретиноевой кислоты, с отдельно добавленной полностью транс-ретиноевой кислотой в количестве 50 нМ). К клеткам сверху добавляют 0,5 мл дифференцирующей среды и базо-латерально 2,5 мл дифференцирующей среды. Еще через 24 ч культивирования на инсерах базолатеральную среду замещают и апикальную среду удаляют, таким образом клетки становятся культурой на разделе воздушной и жидкой сред (ВЖС). Клетки исследуют на ENaC и CFTR действие на 8 сутки пост-ВЖС. Для оценки фенотипа ионного транспорта у трансфицированных клеток инсера Snapwell выдерживают в камерах

вертикальной диффузии (фирма Costar), постоянно промывают газированным раствором Рингера (5% CO₂ в O₂; pH 7,4) и поддерживают при 37°C, содержащем (мМ): 120 NaCl, 25 NaHCO₃, 3.3 KH₂PO₄, 0.8 K₂HPO₄, 1.2 CaCl₂, 1.2 MgCl₂ и 10 глюкозы (величину осмолярности поддерживают между 280 и 300 мосмол/л). Фиксируют напряжение клеток до 0 мВ (модель EVC4000 фирмы WPI). Трансмембранное сопротивление (TM res) измеряют, применяя импульсы 2-мВ с интервалами 30 сек, и рассчитывают TM res по закону Ома. Данные по току короткого замыкания записывают, используя зарядное устройство PowerLab (фирма ADI Instruments). Действие канала ENaC в каждой группе оценивают по изменению тока короткого замыкания после апикального добавления 10 мкМ блокатора ENaC амилорида (амилорид-чувствительный ток). Секретию хлорида через CFTR оценивают по изменению тока короткого замыкания после апикального и базолатерального добавления 0,6 мкМ форсколина, о котором известно, что он активирует CFTR (форсколиновый ответ). Для каждого инсерта амилорид-чувствительный ток нормализуют по форсколиновому ответу, и данные представляют в виде процента относительно нетрансфецированного контроля. К концу исследования каждый инсерт лизируют для анализа РНК (300 мкл буфера RLT фирмы Qiagen) и образцы оставляют для последующего анализа нокдауна иРНК методом рв-ПЦР согласно описанному.

Аббревиатуры:

ВЖС	Раздел воздушной и жидкой сред
BEGM	(Bronchial Epithelial Growth Medium) Среда для роста бронхиального эпителия
D6, D8	(Day 6, Day 8) Шестые сутки, восьмые сутки
DMEM	(Dulbecco's Modified Eagle Medium) Модифицированная среда Дульбекко-Игла
HBEC	(Human Bronchial Epithelial Cells) Клетки бронхиального эпителия человека
TM res	(Trans-membrane resistance) Трансмембранное сопротивление

Эквиваленты

[1]. Композиция, включающая агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, предусмотренного в табл. 1.

Композиция по параграфу [1], которая дополнительно включает второй агент РНКи к Beta-ENaC.

Композиция по параграфу [1], в которой антисмысловая цепь имеет в длину 30 или менее нуклеотидов.

Композиция по параграфу [1], в которой смысловая цепь и антисмысловая цепь формируют область дуплекса из 15-30 пар нуклеотидов в длину.

Композиция по параграфу [1], в которой антисмысловая цепь и смысловая цепь независимо имеют 19-23 нуклеотида в длину.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи включает модификацию, которая повышает стабильность агента РНКи в биологическом образце или в среде.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи включает по меньшей мере один модифицированный каркас молекулы и/или по меньшей мере один 2'-модифицированный нуклеотид.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи включает:

а) по меньшей мере один 5'-уридин-аденин-3' (5'-ua-3') динуклеотид, в котором уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или

б) по меньшей мере один 5'-уридин-гуанин-3' (5'-ug-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или

в) по меньшей мере один 5'-цитидин-аденин-3' (5'-ca-3') динуклеотид, в котором 5'-цитидин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или

г) по меньшей мере один 5'-уридин-уридин-3' (5'-uu-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи включает 2'-модификацию, выбранную из группы, состоящей из: 2'-дезоксидезокси-2'-фтор, 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил (2'-О-АП), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP),

2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-O-DMAЕОЕ), и 2'-О-N-метилацетамидо (2'-O-NMA).

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи содержит тупой конец.

5 4 4 неспаренных нуклеотидов.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи включает выступ с 3'-конца антисмысловой цепи агента РНКи.

10 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи лигирован с одним или несколькими агентами, выбранными из: диагностического соединения, репортерной группы, агента перекрестного связывания, определяющей резистентность к нуклеазе части молекулы, природного или необычного нуклеинового основания, липофильной молекулы, холестерина, липида, лектина, стероида, уваола, гецигенина, диосгенина, терпена, тритерпена, сарсасапогенина, фрайделина, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислоты, витамина, углевода, декстрана, пуллулана, хитина, хитозана, синтетического углевода, 15-мерным олиголактата, природного полимера, низкомолекулярного полимера или полимера средней молекулярной массы, инулина, циклодекстрина, гиалуроновой кислоты, белка, белок-связывающего агента, интегрин-нацеливающей молекулы, поликатионного агента, пептида, полиамина, пептидного миметика и/или трансферина.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 60% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 70% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 80% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

Композиция по параграфу [1], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 90% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

Композиция по параграфу [1], в которой величина EC50 РНКи не превышает примерно 0,1 нМ.

Композиция по параграфу [1], в которой величина EC50 РНКи не превышает примерно 0,01 нМ.

5 Композиция по параграфу [1], в котором величина EC50 у РНКи составляет примерно не более 0,001 нМ.

10 [2]. Композиция, включающая агент РНКи, содержащий первую цепь и вторую цепь, причем первая цепь и вторая цепь включают по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от первой и второй цепи, соответственно, агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, предусмотренного в табл.1.

Композиция по параграфу [2], в котором композиция включает второй агент РНКи к Beta-ENaC.

15 Композиция по параграфу [2], в которой вторая цепь содержит 30 или менее нуклеотидов в длину.

Композиция по параграфу [2], в которой первая цепь и вторая цепь формирует область дуплекса из 15-30 пар нуклеотидов в длину.

Композиция по параграфу [2], в которой первая цепь и вторая цепь независимо содержат 19-23 нуклеотидов в длину.

20 Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи включает: модификацию, которая придает агенту РНКи повышенную стабильность в биологическом образце или в среде.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи включает: фосфоротиоат и/или 2'-модифицированный нуклеотид.

25 Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи включает: по меньшей мере один 5'-уридин-аденин-3' (5'-ua-3') динуклеотид, в котором уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом; и/или по меньшей мере один 5'-уридин-гуанин-3' (5'-ug-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом;

30 и/или по меньшей мере один 5'-цитидин-аденин-3' (5'-ca-3') динуклеотид, wherein the 5'-цитидин является 2'-модифицированным нуклеотидом;

и/или по меньшей мере один 5'-уридин-уридин-3' (5'-uu-3') динуклеотид, в котором 5'-уридин является 2'-модифицированным нуклеотидом.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи включает: одну или несколько 2'-модификаций, выбранных из группы, состоящей из фрагментов молекулы: 2'-дезокси, 2'-дезокси-2'-фтор, 2'-О-метил, 2'-О-метоксиэтил (2'-О-МОЕ), 2'-О-аминопропил (2'-О-АР), 2'-О-диметиламиноэтил (2'-О-DMAOE), 2'-О-диметиламинопропил (2'-О-DMAP), 2'-О-диметиламиноэтилоксиэтил (2'-О-DMAEOE) и 2'-О-N-метилацетида (2'-О-NMA).

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи содержит тупой конец.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи содержит выступ из 1-4 неспаренных нуклеотидов.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи содержит выступ с 3'-конца антисмысловой цепи.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи лигирован с одним или несколькими агентами, выбранными из: диагностического соединения, репортерной группы, агента перекрестного связывания, определяющей резистентность к нуклеазе части молекулы, природного или необычного нуклеинового основания, липофильной молекулы, холестерина, липида, лектина, стероида, уваола, гецигенина, диосгенина, терпена, тритерпена, сарсасапогенина, фрайделина, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислоты, витамина, углевода, декстрана, пуллулана, хитина, хитозана, синтетического углевода, 15-мерного олиголактата, природного полимера, низкомолекулярного полимера или полимера средней молекулярной массы, инулина, циклодекстрина, гиалуроновой кислоты, белка, белок-связывающего агента, интегрин-нацеливающей молекулы, поликатионного агента, пептида, полиамина, пептидного миметика и/или трансферина.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 60% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 70% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 80% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

Композиция по параграфу [2], в которой агент РНКи способен ингибировать экспрессию гена Beta-ENaC по меньшей мере примерно на 90% в концентрации 10 нМ в клетках H441 *in vitro*.

5 Композиция по параграфу [2], в которой величина EC50 РНКи не превышает примерно 0,1 нМ.

Композиция по параграфу [2], в которой величина EC50 РНКи не превышает примерно 0,01 нМ.

Композиция по параграфу [2], в которой величина EC50 РНКи не превышает примерно 0,001 нМ.

10 [3]. Способ лечения заболевания, связанного с Beta-ENaC, у индивидуума, включающий стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции, содержащей агент РНКи, который включает смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или
15 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, предусмотренного в табл. 1.

Способ по параграфу [3], в котором заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1, синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертонии, связанная с ожирением.

20 Способ по параграфу [3], в котором заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз.

Способ по параграфу [3], который дополнительно включает стадию введения дополнительного лекарственного средства для лечения муковисцидоза, псевдогипоальдостеронизма типа 1 (ПГА1), синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза, гипокалиемии и/или гипертонии, связанной с ожирением.

25 Способ по параграфу [3], в котором композиция включает второй агент РНКи к Beta-ENaC.

Способ по параграфу [3], который дополнительно включает стадию введения дополнительного агента РНКи к Beta-ENaC.

30 Способ по параграфу [3], дополнительно включающий введение дополнительного лекарственного средства.

Способ по параграфу [3], в котором дополнительное лечение представляет композицию.

Способ по параграфу [3], в котором дополнительное лечение представляет способ.

Способ по параграфу [3], в котором проведение дополнительного лечения и введение агента РНКи могут осуществляться в любом порядке.

5 [4]. Способ подавления экспрессии гена Beta-ENaC у индивидуума, включающий стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
10 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, приведенного в табл.1.

Способ по параграфу [4], в котором у индивидуума имеется заболевание, связанное с Beta-ENaC, или индивидуум чувствителен к этому заболеванию.

15 Способ по параграфу [4], в котором заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1 (ПГА1), синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертония, связанная с ожирением.

[5]. Способ по параграфу [4], в котором заболеванием, связанным с Beta-ENaC, является муковисцидоз.

20 [6]. Способ по параграфу [5], включающий дополнительное лечение.

Способ по параграфу [6], в котором дополнительным лечением является введение композиции.

Способ по параграфу [6], в котором дополнительным лечением является способ.

25 Способ по параграфу [6], в котором дополнительное лечение и агент РНКи могут применяться в каком-либо порядке.

30 Лекарственное средство для применения в составе РНКи, включающее агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, предусмотренного в табл.1.

Какая-либо указанная выше композиция в фармацевтически эффективном составе.

5 Композиция по параграфу 0, для применения в способе лечения индивидуума с заболеванием, связанным с Beta-EnaC; указанный способ включает стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции по параграфу 0.

0 Применение композиции по параграфу 0, для получения лекарственного средства для лечения заболеваний, связанных с Beta-ENaC.

10 Применение по параграфу [7], в котором заболевание, связанное с Beta-ENaC, является муковисцидозом, псевдогипоальдостеронизмом типа 1 (ПГА РНА1), синдромом Лиддла, гипертонией, алкалозом, гипокалиемией и/или гипертонией, связанной с ожирением.

Композиция по параграфу [1], в которой все пиримидины являются 2'-О-метил-модифицированными нуклеотидами.

15 Композиция по параграфу [2], в которой все пиримидины являются 2'-О-метил-модифицированными нуклеотидами.

ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

	<110>	Новартис АГ	
5	<120>	ОРГАНИЧЕСКИЕ КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ЗАБОЛЕВАНИЙ, СВЯЗАННЫХ С БЕТА-СУБЪЕДИНИЦЕЙ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ НАТРИЕВЫХ КАНАЛОВ	
	<130>	54121	
10	<160>	430	
	<170>	PatentIn version 3.5	
15	<210>	1	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
20	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	1	
		сагидасиас аасасгасс	19
25	<210>	2	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
30	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
35	<400>	2	
		ггдигдигииг иагисасиг	19
40	<210>	3	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
45	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	3	
		аугасагага аггсасиус	19
50	<210>	4	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
55	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	4	
		гаагигсси иисигисаи	19
60	<210>	5	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
65	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
70	<400>	5	
		гигаагааги ассигсига	19
75	<210>	6	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	6 усагсаггуа сиусиисас	19
10	<210>	7	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
15	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	7 гугасиасаа сасгассиа	19
20	<210>	8	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
25	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
30	<400>	8 иаггисгиги игуагисас	19
35	<210>	9	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
40	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	9 ггугггггсс сасассаас	19
45	<210>	10	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
50	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
55	<400>	10 ггуггггггг гссиссасс	19
60	<210>	11	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
65	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	11 иггугггггсс ссасассаа	19
70	<210>	12	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
75	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	12	

	uugguigugg ssussassa	19
5	<210> 13 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 13 uissaaagass asaugauss	19
15	<210> 14 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 14 ggausaugug gisuugaa	19
30	<210> 15 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 15 agcugggagg usagcgusi	19
40	<210> 16 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 16 agacgugac sissagasi	19
55	<210> 17 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 17 ggagaaaia sigsaasa	19
65	<210> 18 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 18 uiguugagui auiisicss	19
75	<210> 19 <211> 19	

	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
5	<220>		
	<223> Агент РНКи		
	<400> 19		
	ссадиуиггс иисиггауг		19
10	<210> 20		
	<211> 19		
	<212> РНК		
15	<213> Искусственная		
	<220>		
	<223> Агент РНКи		
20	<400> 20		
	сауссагааг ссаасигг		19
	<210> 21		
25	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
	<220>		
30	<223> Агент РНКи		
	<400> 21		
	агугасиаса асасгасси		19
35	<210> 22		
	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
40	<220>		
	<223> Агент РНКи		
	<400> 22		
45	аггисгидии гуагисаси		19
	<210> 23		
50	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
	<220>		
	<223> Агент РНКи		
55	<400> 23		
	ааиаусассс угагсагга		19
60	<210> 24		
	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
	<220>		
65	<223> Агент РНКи		
	<400> 24		
	иссигсисаг гдугаиаии		19
70	<210> 25		
	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
75	<220>		
	<223> Агент РНКи		

5	<400> 25 ссигсаggсс ассаасаис	19
10	<210> 26 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 26 гауиуигуиг gссигсаgg	19
20	<210> 27 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 27 аисасссига gсаggааgg	19
30	<210> 28 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 28 ссииссиgси саggуигаи	19
40	<210> 29 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 29 гсигggаggи саgсgисис	19
50	<210> 30 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 30 гаgасгсига ссисссагс	19
60	<210> 31 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 31 гагсигggаg гисаgсgис	19
70		
75		

5	<210> 32 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 32 gасgсugасс исссаgсис	19
15	<210> 33 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 33 guggссаgии ugгсиисиг	19
25	<210> 34 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 34 сагааgссаа асиггссас	19
40	<210> 35 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 35 саgииugгси исиггаигг	19
50	<210> 36 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 36 ссаиссагаа gссааасиг	19
60	<210> 37 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 37 ggссаgиииг gсиисигга	19
70	<210> 38 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
75		

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	38 уссагаагсс ааасиггсс	19
	<210>	39	
10	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
15	<223>	Агент РНКи	
	<400>	39 сигггиггсс агуииггси	19
	<210>	40	
20	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
25	<223>	Агент РНКи	
	<400>	40 агссaaасиг гссасссаг	19
30			
	<210>	41	
	<211>	19	
35	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
40	<400>	41 усиасагуга суасаасас	19
	<210>	42	
45	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
50	<223>	Агент РНКи	
	<400>	42 гигуигуаги сасигуага	19
55			
	<210>	43	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
60	<213>	Искусственная	
	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	43 гсаугасага гааггсаси	19
65			
	<210>	44	
	<211>	19	
70	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
75	<400>	44 агигссииси сигисаугс	19

5	<210> 45 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 45 аиаасассси гагсаггаа	19
15	<210> 46 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи <400> 46 ииссигсиса гдгдгааи	19
25	<210> 47 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 47 сиасагигас иасаасг	19
40	<210> 48 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи <400> 48 сгдгдгдгаг иасдгдгаг	19
50	<210> 49 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 49 иаасасссиг агсаггааг	19
65	<210> 50 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 50 сииссигсис агдгдгаи	19
75	<210> 51 <211> 19 <212> РНК	

	<213> Искусственная	
	<220>	
5	<223> Агент РНКи	
	<400> 51	
	ugcaggccac caacaucuu	19
10	<210> 52	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 52	
20	aaauuuugg uggcuuca	19
	<210> 53	
	<211> 19	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
30	<400> 53	
	caucasagag aaggcaci	19
	<210> 54	
35	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
40	<223> Агент РНКи	
	<400> 54	
	aauugccuuc ucugucaug	19
45	<210> 55	
	<211> 19	
	<212> РНК	
50	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 55	
	ugaagaaua ccugcugaa	19
	<210> 56	
60	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 56	
	uucagcaggu acuuuucua	19
70	<210> 57	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

	<400> 57 gсиггиггag gсссacacc	19
5	<210> 58 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 58 ggиггигggсс uссaccagc	19
20	<210> 59 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 59 uaccagigacc асаaccacc	19
30	<210> 60 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 60 ucгиггиггua gaccagigua	19
45	<210> 61 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 61 accagaccagг accиucсиu	19
55	<210> 62 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 62 accgaccagгc сиucсигиu	19
65	<210> 63 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 63 accagaccacc саaccacc	19
	<210> 64	

	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 64	
10	гисгигиуиуи агисасигу	19
	<210> 65	
	<211> 19	
	<212> РНК	
15	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 65	
	игасигигга гисасигу	19
	<210> 66	
	<211> 19	
	<212> РНК	
25	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 66	
	асгигигга ссасигу	19
35		
	<210> 67	
	<211> 19	
	<212> РНК	
40	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 67	
	иггсигиуиуи гсигигигу	19
	<210> 68	
	<211> 19	
	<212> РНК	
50	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 68	
	сгасигигга аасигигга	19
	<210> 69	
	<211> 19	
	<212> РНК	
60	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
65		
	<400> 69	
	игисигигга гсгигга	19
70		
	<210> 70	
	<211> 19	
	<212> РНК	
75	<213> Искусственная	
	<220>	

	<223> Агент РНКи	
5	<400> 70 ugguccssgu ccugadaca	19
	<210> 71	
	<211> 19	
10	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
15	<400> 71 guggagggcc acaccaacu	19
	<210> 72	
20	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
25	<223> Агент РНКи	
	<400> 72 aguuggugug ggcscacc	19
30	<210> 73	
	<211> 19	
	<212> РНК	
35	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
40	<400> 73 ggguggccag uuugguuc	19
	<210> 74	
45	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
50	<223> Агент РНКи	
	<400> 74 gaagccaaac ugccacc	19
55	<210> 75	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
60	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 75 gguggccagu uuugguuc	19
65	<210> 76	
	<211> 19	
	<212> РНК	
70	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
75	<400> 76 agaagccaaa cuugccacc	19

5	<210> 77 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 77 усасссигаг саггааггг	19
15	<210> 78 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 78 сссииссигс исагггига	19
25	<210> 79 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 79 гсссагшиггг сииссиггаи	19
35	<210> 80 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 80 ауссагаагс сааасиггс	19
45	<210> 81 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 81 агсигггига гдсссасас	19
55	<210> 82 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 82 гигггггсси ссассагси	19
65	<210> 83 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 83	
75	<210> 83 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	83 аусиссаугг сугасуггс	19
10	<210>	84	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
15	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	84 гссасугасг сауггагау	19
20	<210>	85	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
25	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
30	<400>	85 ггсаугасг агааггсас	19
35	<210>	86	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
40	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	86 гугссиисис угисаугсс	19
45	<210>	87	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
50	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
55	<400>	87 ггагаааиас угсаасаас	19
60	<210>	88	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
65	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	88 гуиугугсг иаиисисс	19
70	<210>	89	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
75	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	89	

	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 96	
	сссауссага агссаааси	19
10	<210> 97	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 97	
	угасагагаа угсасиусс	19
25	<210> 98	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
30	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 98	
	ггаагигсси исисигуса	19
35	<210> 99	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 99	
	гаагаагуас сигсигааг	19
50	<210> 100	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
55	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 100	
	сиисагсагг иасиисиис	19
60	<210> 101	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
65	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 101	
	исиссауггс угасиггсс	19
70	<210> 102	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

5	<400> 102 ggccagucag ccauggaga	19
10	<210> 103 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 103 cugdugdagg cccasassa	19
20	<210> 104 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 104 ugdugugggc ciccassag	19
30	<210> 105 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 105 cagagaaggc асицссиц	19
40	<210> 106 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 106 gaaggaug ccciccicug	19
50	<210> 107 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 107 cugcaggcca ccaacaucu	19
60	<210> 108 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 108 agauguggu ggccugcag	19
70		
75		

5	<210> 109 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 109 gggcaugaca gagaaggca	19
15	<210> 110 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 110 ugssuucucu giscaugccc	19
25	<210> 111 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 111 cagugacuaa aacacgacc	19
40	<210> 112 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 112 ggucgugucg uagucacug	19
50	<210> 113 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 113 augacagaca aggcacuc	19
60	<210> 114 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
65	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 114 gaagugssuu cucugacuu	19
75	<210> 115 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	115 гугаагаагу ассигсуга	19
	<210>	116	
10	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
15	<223>	Агент РНКи	
	<400>	116 усагсагуа суусуусас	19
	<210>	117	
20	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
25	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	117 гугасуасаа сасгассуа	19
30			
	<210>	118	
35	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
40	<223>	Агент РНКи	
	<400>	118 уагдусугуи угуагусас	19
	<210>	119	
45	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
50	<223>	Агент РНКи	
	<400>	119 гугугаггсс сасассаас	19
55			
	<210>	120	
60	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
65	<223>	Агент РНКи	
	<400>	120 гуугдугугг гссиссасс	19
	<210>	121	
70	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
	<220>		
75	<223>	Агент РНКи	
	<400>	121 угугдугаггс ссасассаа	19

5	<210> 122 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 122 uugguguggg ssussassa	19
15	<210> 123 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи <400> 123 uussaagass asaugauss	19
25	<210> 124 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи <400> 124 ggausaugug gisuugaa	19
35	<210> 125 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи <400> 125 agsuggaggg usagsugsu	19
45	<210> 126 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи <400> 126 agagsugagc sussesagcu	19
55	<210> 127 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 127 gggagaaaia sigsaasa	19
65	<210> 128 <211> 19 <212> РНК	
70		
75		

	<213> Искусственная	
	<220>	
5	<223> Агент РНКи	
	<400> 128	
	иигиигсаги аииисиссс	19
10	<210> 129	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 129	
20	ссагииииггс иисиггаиг	19
	<210> 130	
	<211> 19	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
30	<400> 130	
	сауссагааг ссааасигг	19
35	<210> 131	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 131	
	агугасиаса асасгасси	19
45	<210> 132	
	<211> 19	
	<212> РНК	
50	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 132	
	аггисгигии гуагисаси	19
60	<210> 133	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 133	
	ааиаисассс игагсагга	19
70	<210> 134	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

	<400> 134 иссигсисаг гдигаиаиш	19
5	<210> 135 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 135 ссигсаггсс ассаасаис	19
20	<210> 136 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 136 гадигиугдиг гссигсагг	19
30	<210> 137 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 137 аисасссига гсаггаагг	19
45	<210> 138 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 138 ссииссигси саггдигаи	19
55	<210> 139 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 139 гсигггагди сагсдигис	19
65	<210> 140 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 140 гадасдсига ссиссагс	19
	<210> 141	

	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 141	
10	gagcugggag gicagcgic	19
	<210> 142	
	<211> 19	
15	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 142	
	gacgugagac ucscagcic	19
	<210> 143	
25	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 143	
35	guggcaguu ugscucic	19
	<210> 144	
	<211> 19	
40	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 144	
	сagaagcсаа acuggcсac	19
	<210> 145	
50	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
55	<223> Агент РНКи	
	<400> 145	
	сaguuuggcи ucuggaugg	19
	<210> 146	
60	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 146	
70	ссаucсagаа gссаacuc	19
	<210> 147	
	<211> 19	
75	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	

5	<223> Агент РНКи <400> 147 ggccaguuug gcuucugga	19
10	<210> 148 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи <400> 148 uaccagaagcc aaacuggcc	19
20	<210> 149 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи <400> 149 cuggguggcc aguucugcu	19
30	<210> 150 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 150 agccaaacug gccaccag	19
40	<210> 151 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи <400> 151 ucuaaguga cuacaacac	19
50	<210> 152 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи <400> 152 gugucguga cacuguga	19
60	<210> 153 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
65	<220> <223> Агент РНКи <400> 153 gcaugacaga gaagccacu	19
70	<210> 153 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи <400> 153 gcaugacaga gaagccacu	19

5	<210> 154 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 154 аgигссигси сигисагс	19
15	<210> 155 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 155 аиаисассси гaгсагaa	19
25	<210> 156 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 156 ииссигсиса гggигаиаи	19
35	<210> 157 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 157 сиасагигас иасаасгс	19
45	<210> 158 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 158 сгигиигиаг иасигиаг	19
55	<210> 159 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 159 иаисасссиг агсаггаг	19
65	<210> 160 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 160	
75	<210> 160 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	160 суиссуис аггуиуа	19
10	<210>	161	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
15	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	161 уисаггссас саасуису	19
20	<210>	162	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
25	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
30	<400>	162 аагауиуууу угуиссуа	19
35	<210>	163	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
40	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	163 сауасагау ааггсасу	19
45	<210>	164	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
50	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
55	<400>	164 аауиссуис усигуау	19
60	<210>	165	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
65	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	165 уаааауа ссигуаа	19
70	<210>	166	
	<211>	19	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
75	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	166	

	иисагсагду асиисиуса	19
5	<210> 167 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 167 гсигдигдаг гссасас	19
20	<210> 168 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 168 гдигдиггсс иссасас	19
35	<210> 169 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 169 иасагдигаси асаасасга	19
50	<210> 170 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 170 исдигдиуиуа гисасигуа	19
65	<210> 171 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 171 асагагаагг сасиисии	19
80	<210> 172 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
85	<220> <223> Агент РНКи	
90	<400> 172 ааггаагигс сиисиги	19
95	<210> 173 <211> 19	

	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 173	
	асагугасиа саасасгас	19
10	<210> 174	
	<211> 19	
	<212> РНК	
15	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 174	
	гисгугиуги агисасиги	19
	<210> 175	
25	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 175	
	угагсиггга ггисагсги	19
35	<210> 176	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 176	
45	асгсигасси сссагсиса	19
	<210> 177	
	<211> 19	
50	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 177	
	уггссагиии ггсиисигг	19
	<210> 178	
60	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 178	
	ссагагсса аасиггсса	19
70	<210> 179	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

5	<400> 179 ugucisagga gsggassa	19
10	<210> 180 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 180 uggusscgci ccugagasa	19
20	<210> 181 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 181 guggaggccc acassaauci	19
30	<210> 182 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 182 aguugguug ggcscissac	19
40	<210> 183 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 183 gguggssag uucggsiuc	19
50	<210> 184 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 184 gaagssaaac uggscassc	19
60	<210> 185 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 185 gguggssagi uicggsiuci	19
70		
75		

5	<210> 186 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 186 агаагссaaa суггссасс	19
15	<210> 187 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 187 уcасссигаг саггааггг	19
25	<210> 188 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 188 сссиуcсигс усагггига	19
35	<210> 189 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 189 гссагггггг сииcсггаи	19
45	<210> 190 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 190 ауcсагаагс сааасиггс	19
55	<210> 191 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 191 агсиггггга ггсссасас	19
65	<210> 192 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 192	

	<220> <223> Агент РНКи	
5	<400> 192 gugugggssu ssassagcu	19
10	<210> 193 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 193 ausissaugg sigasiggc	19
20	<210> 194 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 194 gssagucagc sauggagau	19
35	<210> 195 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 195 ggsaugasag agaaggcac	19
45	<210> 196 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 196 gugssuucis ucugaugcc	19
55	<210> 197 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 197 ggaagaaauc ucgaacaac	19
70	<210> 198 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 198 guugugcag uauuciscc	19

5	<210> 199 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 199 uggguggssa guuuggsu	19
15	<210> 200 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи <400> 200 aagssaaasu gssasssa	19
25	<210> 201 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 201 gaguggugg agssasasa	19
40	<210> 202 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи <400> 202 ugugggssuc sassagsuc	19
50	<210> 203 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 203 gasaagaag gsasiussu	19
65	<210> 204 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 204 aggaagugss uucisuguc	19
75	<210> 205 <211> 19 <212> РНК	

	<213> Искусственная	
	<220>	
5	<223> Агент РНКи	
	<400> 205	
	адиуиггсиу сиггауigg	19
10	<210> 206	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 206	
20	сссауссаса агссаааси	19
	<210> 207	
	<211> 19	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
30	<400> 207	
	угасагагаа ггсасиусс	19
35	<210> 208	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 208	
	ггаагигсси исисигуса	19
45	<210> 209	
	<211> 19	
	<212> РНК	
50	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 209	
	гаагаагуас сигсигааг	19
60	<210> 210	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 210	
	сиуцагсагг уасиуисиу	19
70	<210> 211	
	<211> 19	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

	<400> 211 усиссаuggс ugасиггсс	19
5	<210> 212 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 212 ggссаgисаg ссаигггаgа	19
20	<210> 213 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 213 сиггигггаgg сссасасса	19
30	<210> 214 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 214 uggигггггс сиссассаg	19
45	<210> 215 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 215 саgаgаaggс асииссиис	19
55	<210> 216 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 216 gаaggааgиг ссиисиг	19
65	<210> 217 <211> 19 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 217 сигсаggсса ссаасаиси	19
	<210> 218	

	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
5	<220>		
	<223> Агент РНКи		
	<400> 218		
10	agauguuggu ggccugca		19
	<210> 219		
	<211> 19		
	<212> РНК		
15	<213> Искусственная		
	<220>		
	<223> Агент РНКи		
20	<400> 219		
	gggcaugaca gagaaggca		19
	<210> 220		
25	<211> 19		
	<212> РНК		
	<213> Искусственная		
	<220>		
30	<223> Агент РНКи		
	<400> 220		
	ugccuucucu gucaugccc		19
35			
	<210> 221		
	<211> 2280		
	<212> ДНК		
40	<213> Synomolgus		
	<400> 221		
	ggtaccacagc ttgcttggtc tttttgcaga agctcagaat aaacgctcaa ctttggcaga		60
	tcaattcccc ggggatccga attcgccacc atgcacgtga agaagtaoct gctgaagtgc		120
45	ctgcaccggc tgcagaaggg ccccggtac acgtacaagg agctgctggg gtggtactgc		180
	gataacacca acaccacgg cccaagcgt atcatctgcg aggggcccaa gaagaaagcc		240
50	gtgtggttcc tgctcaccct gctcttcaact gctctcgtct gctggcagtg gggcatcttc		300
	atcaggacct acttgagctg ggaggtcagc gtctccctct ccgtaggctt caagaccatg		360
	gacttccccg ccgtcaccat ctgcaatgct agccccttca agtattccaa agtcaagcat		420
55	ttgctgaagg acctggatga gctgatggaa gctgtcctgg agagaatcct ggctcctgag		480
	ctaagccatg ccaatgccac caggaccctg aactcttcca tctggaacca cacaccactg		540
60	gtccttattg atgaacggaa ccccaccac cccatggtcc tcgatctctt tggagataac		600
	cacaatggct taacaacag ctacagatca gaaaagatct gtaatgcca tgggtgcaaa		660
	atggccatga gactatgtag cctcaacggg acccagtgca ccttccggaa cttcaccagc		720
65	gctaccacag cagtgcacaga gtggtacagc ctgcaggcca ccaacatctt tgcgcaggtg		780
	ccgcagcagg agctggtgga gatgagctac cccggcgagc agatgatcct ggcctgectg		840
70	tttgagctg agccctgcaa ctaccggaac ttcacgtcca tcttctacc tcaactatggc		900
	aactgttaca tcttcaactg gggcatgaca gagaaggcac ttccttcggc caaccctgga		960
	cctgaatttg gcctgaagtt gatcctggac ataggccagg aagactacgt ccccttctc		1020
75	gcgtccacgg ctggggtcag gctgatgctt cacgagcaga ggtcataccc cttcatcaga		1080

gacgagggca tctatgccat gtcggggaca gagacgtcca tcgggggtact cgtggacaag 1140
cttcagcgca tgggggagcc ctacagcccg tgcaccgtga atggctccga ggtccccgtc 1200
5 caaaacttct acagtgacta caacacgacc taçtccatcc aggcctgtct tcgctcctgc 1260
ttccaagacc acatgatccg tagctgcaag tgtgggact acctctaccc actgccccgt 1320
10 ggggagaaat actgcaacaa ccgggacttc ccagactggg cccattgcta ctçagatctg 1380
cagatgagcg tggcgçagag agagacctgc attggcatgt gcaaggaatc ctgcaatgac 1440
accçagtaca agatgactat ctccatgggt gactggcctt ctgaggcctc tgaggactgg 1500
15 attttccacg tcttgtctca ggagcgggac caaagcacca atatcacct gagcaggaag 1560
ggaattgtca agctcaacat ctacttccaa gaatttaact atcgacçat tgaagaatca 1620
20 gcagccaata acctçgtctg gctgctctca aatctgggtg gccagtttg çttctggatg 1680
gggggçtctg tgctgtgçct çatçgagttt ggggagatca tçatçgactt tgtgtggatc 1740
accatçatca agctggtggc çttggçcaag agcctccggc agçggçgagc çcaagççagc 1800
25 tactccggcc çaccgçccac ggtggçtgag ctgggtggagg çccacacçaa çttçggçtac 1860
çagçctgaca çggççççççg çagççççaac accgggçcct accççagtgç gçagggççctg 1920
çççatçççg çgççççççç ççççactat gactçççtgc gtctgçagçç actggagçtc 1980
30 atçgagtgctg açagtgaggg tgatgççatc taagçggççg çtagaçaata gçttgatçtg 2040
gttaccacta aaccagçctc aagaacacçç gaatggagtc tçtaagçtac ataataççaa 2100
35 çttacacttt açaçaatggt gtççççççaaa atgtagççat tçgtatçtgc tççtaataaa 2160
aagaagttt çttçacattc taàààààààà àààààààà àààààààà ààààççççç 2220
40 ççççççççç çççtçgagag atçtgçtagc ttgagttatc tatagagtcç ççtaaatact 2280

<210> 222
<211> 2597
45 <212> ДНК
<213> Homo sapien

<400> 222
gtgçttçççç gççççtgaac ctgçtçççtç ççagtcggtc tçgçççgçgt çgççgggtgt 60
50 çççagtgçca ççaacactçg gççgççgççg ççagçttggc gçgçacçççç gççtççgççç 120
ççgççgacag çgçgçatççt ççgtgtçççç gçtççgçççç ççgagçaggt gççactatgç 180
55 açgtgaagaa gtacçtçtçg aagggççtçg atçggçtgçç gaagggçççç ggçtacacgt 240
açagggagçt gçtggtgtgg tactgçgaca açacçaacac ççacggçççç aagçgçatca 300
tçtgçgaggg gççççagaag aaagççatgt ggttççtçgt çççççtçtçç ttçgççgççç 360
60 tçgtçtçtçg gçagtggggç atçttçatca ggacçactt gagçtgggag gtcagçgtçt 420
çççtççççg aggçttççag aççatggact tçççtçççgt ççççatçtçç aatgçtagçç 480
ççttççagta ttççççççatc aagçatttçg tgaaggaççt ggatgagçtç atggagçtçg 540
65 tççtgagagag aatççtggçt ççtgagçtaa gççatgççaa tgççacçaggg açççtgaact 600
tçtççatçtçg gaacçacaca ççççtggçtç ttattgagta açggaaçççç ççççççççç 660
70 tggtçççttga tçtççtttggg gacaacçççç atggçttaac aagçagçtçç gçatçagaaa 720
agatçtçgtaa tgççççççggg tgççççççatgg ççatgagact atgtagçççç aççagggççç 780
75 agtgçtacçtt ççggaaççtç accagtgçta çççagggçatt gacagagtgçg tacatççtçgç 840
aggççççççç çatççtttçgç çaggtgçççç agçagggagçt agtagagatg agçtçççççç 900

	gcgagcagat gatcctggcc tgcctattcg gagctgagcc ctgcaactac cggaacttca	960
	cgtcacatctt ctaccctcac tatggcaact gttacatctt caactggggc atgacagaga	1020
5	aggcacttcc ttcggccaac cctggaactg aattcggcct gaagttgatc ctggacatag	1080
	gccaggaaga ctacgtcccc ttccttgctt ccacggccgg ggtcaggctg atgcttcacg	1140
10	agcagaggtc atacccttc atcagagatg agggcatcta cgccatgtcg gggacagaga	1200
	cgtcacatcgg ggtactcgtg gacaagcttc agcgcacatg ggagccctac agcccgtgca	1260
	ccgtgaatgg ttctgaggtc cccgtccaaa acttctacag tgactacaac acgacctact	1320
15	ccatccaggc ctgtcttcgc tctgtcttc aagaccacat gatccgtaac tgcaactgtg	1380
	gccactacct gtaccactg ccccgctgggg agaaatactg caacaaccgg gacttcccag	1440
20	actgggcca ttgtactca gatctacaga tgagcgtggc gcagagagag acctgcattg	1500
	gcatgtgcaa ggagtcctgc aatgacaccc agtacaagat gaccatctcc atggctgact	1560
	ggccttctga ggctccgag gactggattt tccacgtctt gtctcaggag cgggacccaaa	1620
25	gcaccaatat caccctgagc aggaagggaa ttgtcaagct caacatctac ttccaagaat	1680
	ttaactatcg caccattgaa gaatcagcag ccaataacat cgtctggctg ctctcgaatc	1740
30	tgggtggcca gtttgcttc tggatggggg gctctgtgct gtgcctcacc gagtttgggg	1800
	agatcatcat cgactttgtg tggatcacca tcatcaagct ggtggccttg gccaaagacc	1860
	tacggcagcg gcgagcccaa gccagctacg ctggcccacc gccaccctg gccgagctgg	1920
35	tggaggcca caccaacttt ggcttccagc ctgacacggc ccccgccagc cccaactg	1980
	ggcctacct cagtgagcag gccctgcca tcccaggcac cccgcccc aactatgact	2040
40	ccctgctct gcagccgctg gacgtcatcg agtctgacag tgagggtgat gccatctaac	2100
	cctgcccctg cccaccccg gcggtgaaa ctactgagc agccaagact gttgcccag	2160
	gcctcactgt atggtgccct ctccaaaggg tggggagggt agctctccag gccagagctt	2220
45	gtgtccttca acagagaggc cagcggcaac tggctcgta ctggccaagg gctctgtaga	2280
	atcacggtgc tggtagagga tgcaggaata aattgtatct tcacctggtt cctaccctcg	2340
50	tccctacctg tctgatcct ggtcctgaag acccctcgga acaccctctc ctggtggcag	2400
	gccacttccc tcccagtgcc agtctccatc caccacagag aggaacaggc ggggtggcca	2460
	tgtggtttc tcttctctgg ccttggctgg cctctggggc aggggtggtg gagagatgga	2520
55	agggcatcag gtgtagggac cctgccaagt ggcacctgat ttactctaga aaataaaagt	2580
	agaaaatact gagtcca	2597
60	<210> 223 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
65	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 223 ugaagaagua cc	12
75	<210> 224 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220>	

	<223> Агент РНКи	
5	<400> 224 gguasiuui sa	12
10	<210> 225 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 225 gaagaaguac su	12
20	<210> 226 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 226 agguasiuui uc	12
35	<210> 227 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 227 aagaaguass ug	12
45	<210> 228 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 228 sagguasiuui uu	12
55	<210> 229 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 229 agaaguassu gc	12
70	<210> 230 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 230 gsagguasiuui su	12

5	<210> 231 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 231 гаагуассиг си	12
15	<210> 232 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 232 агсагуасси ус	12
25	<210> 233 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 233 аагуассигс уг	12
35	<210> 234 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 234 сагсагуасси уи	12
45	<210> 235 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 235 агуассигси га	12
55	<210> 236 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 236 усагсагуа си	12
65	<210> 237 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 237	
75	<210> 231 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220> <223> Агент РНКи	
5	<400> 237 guassugsig aa	12
10	<210> 238 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 238 uucagcaggu ac	12
20	<210> 239 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 239 gagcugggag gu	12
35	<210> 240 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 240 accusscagc uc	12
45	<210> 241 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 241 agcugggagg uc	12
60	<210> 242 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 242 gaccusscag cu	12
70	<210> 243 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 243	

	gsuggaggu sa	12
5	<210> 244 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 244 ugassusssa gc	12
15	<210> 245 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 245 suggaggu ag	12
30	<210> 246 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 246 sugassusss ag	12
40	<210> 247 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 247 uggaggu sa gc	12
55	<210> 248 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 248 gsugassusss sa	12
65	<210> 249 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 249 ggaggu sa gc	12
75	<210> 250 <211> 12	

	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 250	
	сгсигассис сс	12
10	<210> 251	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 251	
	гггггисагс гу	12
25	<210> 252	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
30	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 252	
	асгсигасси сс	12
35	<210> 253	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 253	
	гагггисагсг ис	12
50	<210> 254	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
55	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 254	
	гасгсигасс ис	12
60	<210> 255	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
65	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 255	
	агггисагсгу си	12
70	<210> 256	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

5	<400> 256 agacsgsigac cu	12
10	<210> 257 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 257 sigcagggcca cc	12
20	<210> 258 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 258 ggugggccigc ag	12
30	<210> 259 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 259 ugcagggccac ca	12
45	<210> 260 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 260 ugggggccig ca	12
55	<210> 261 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 261 gcagggccacc aa	12
65	<210> 262 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 262 uugggggccu gc	12

5	<210> 263 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 263 саggссасса ас	12
15	<210> 264 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 264 guugguggсс ug	12
25	<210> 265 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 265 aggссассаа са	12
40	<210> 266 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 266 uguugguggс су	12
50	<210> 267 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 267 ggссассаас ау	12
65	<210> 268 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 268 аугуuggugg сс	12
75	<210> 269 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220> <223> Агент РНКи	
5	<400> 269 гссассааса ус	12
10	<210> 270 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 270 гаугуугдуг гс	12
20	<210> 271 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 271 ссассаасау су	12
35	<210> 272 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 272 агаугууггу гг	12
45	<210> 273 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 273 ггсаугасаг аг	12
55	<210> 274 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 274 сисигусауг сс	12
70	<210> 275 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 275 гсаугасага га	12

5	<210> 276 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 276 исисигисаи гс	12
15	<210> 277 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи <400> 277 саугасагаг аа	12
25	<210> 278 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи <400> 278 иисисигиса иг	12
35	<210> 279 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи <400> 279 аугасагада аг	12
45	<210> 280 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи <400> 280 сиисисигис ау	12
55	<210> 281 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 281 угасагадаа гг	12
65	<210> 282 <211> 12 <212> РНК	
70		
75		

	<213> Искусственная	
	<220>	
5	<223> Агент РНКи	
	<400> 282	
	ссиисисиги са	12
10	<210> 283	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
15	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 283	
20	гасагагааг гс	12
	<210> 284	
	<211> 12	
25	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
30	<400> 284	
	гссиисисиг ис	12
	<210> 285	
35	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
40	<223> Агент РНКи	
	<400> 285	
	асагагаагг са	12
45	<210> 286	
	<211> 12	
	<212> РНК	
50	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 286	
	игссиисисиги ги	12
	<210> 287	
60	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 287	
	сагагааггс ас	12
70	<210> 288	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

	<400> 288 gugssuucug ug	12
5	<210> 289 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 289 agagaaggca cu	12
20	<210> 290 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 290 agugssuucu cu	12
30	<210> 291 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 291 gagaaggcac uu	12
45	<210> 292 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 292 aagugssuuc uc	12
55	<210> 293 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 293 agaaggcacu uc	12
65	<210> 294 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 294 gaagugssuuc cu	12
	<210> 295	

	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 295	
10	gaaggsasiu cc	12
	<210> 296	
	<211> 12	
15	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 296	
	ggaagugssu uc	12
	<210> 297	
25	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 297	
	aaggsasiuc su	12
35	<210> 298	
	<211> 12	
	<212> РНК	
40	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 298	
	aggaagugss uu	12
	<210> 299	
50	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
55	<223> Агент РНКи	
	<400> 299	
	aggsasiuss uu	12
60	<210> 300	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
65	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 300	
70	aaaggaagugc su	12
	<210> 301	
	<211> 12	
	<212> РНК	
75	<213> Искусственная	
	<220>	

	<223> Агент РНКи	
5	<400> 301 суасагугас ua	12
10	<210> 302 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 302 уагусасуги аг	12
25	<210> 303 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 303 уасагугасу ас	12
40	<210> 304 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 304 гуагусасуг ua	12
55	<210> 305 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 305 асагугасиа са	12
70	<210> 306 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 306 угуагусасу гу	12
	<210> 307 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 307 сагугасуас аа	12

5	<210> 308 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 308 uiguagucas ug	12
15	<210> 309 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 309 agudacuaa ac	12
25	<210> 310 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 310 guiguagusa cu	12
35	<210> 311 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 311 gudacuaaa ca	12
45	<210> 312 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 312 uguiguaguc ac	12
55	<210> 313 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 313 ugacuaaas ac	12
65	<210> 314 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 314	
75	<210> 314 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
5	<400>	314 giguiguagu sa	12
10	<210>	315	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
15	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	315 gасиасааса сg	12
20	<210>	316	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
25	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
30	<400>	316 сgигиигуаg uc	12
35	<210>	317	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
40	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	317 асиасаасас gа	12
45	<210>	318	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
50	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
55	<400>	318 ucгигиигуа gи	12
60	<210>	319	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
65	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	319 сиасаасасg ac	12
70	<210>	320	
	<211>	12	
	<212>	РНК	
	<213>	Искусственная	
75	<220>		
	<223>	Агент РНКи	
	<400>	320	

	гиссгигуигу аг	12
5	<210> 321 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 321 уасаасасга сс	12
15	<210> 322 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 322 ггиссгигуиг уа	12
30	<210> 323 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 323 асаасасгас су	12
40	<210> 324 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 324 аггиссгигуигу гу	12
55	<210> 325 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 325 ггагааауас уг	12
65	<210> 326 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 326 сагуаууусу сс	12
75	<210> 327 <211> 12	

	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 327	
	gаgааааиаси gс	12
10	<210> 328	
	<211> 12	
	<212> РНК	
15	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 328	
	gсаgаиаииис ис	12
	<210> 329	
25	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 329	
	аgааааиасиг са	12
35	<210> 330	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 330	
45	иgсаgаиаии си	12
	<210> 331	
	<211> 12	
50	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 331	
	gааааиасигс аа	12
60	<210> 332	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 332	
	ииgсаgаиаи ис	12
70	<210> 333	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

5	<400> 333 аааиасигса ас	12
10	<210> 334 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 334 гуигсагуаи ии	12
20	<210> 335 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 335 ааиасигсаа са	12
30	<210> 336 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 336 игуигсагуа ии	12
45	<210> 337 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 337 аиасигсаас аа	12
55	<210> 338 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 338 иигуигсагу аи	12
65	<210> 339 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 339 иуиссаиггс иг	12

5	<210> 340 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 340 сагссаугга га	12
15	<210> 341 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 341 сиссауггси га	12
25	<210> 342 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 342 усагссаугг аг	12
35	<210> 343 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 343 иссауггсиг ас	12
45	<210> 344 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 344 гисагссауг га	12
55	<210> 345 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 345 ссауггсига си	12
65	<210> 346 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70		
75		

	<220> <223> Агент РНКи	
5	<400> 346 агисагссаи гг	12
	<210> 347 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10		
	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 347 сауггсигас иг	12
	<210> 348 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20		
	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 348 сагисагсса иг	12
	<210> 349 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
30		
	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 349 ауггсигаси гг	12
	<210> 350 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40		
	<220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 350 ссагисагсса аи	12
	<210> 351 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50		
	<220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 351 иггсигасиг гс	12
	<210> 352 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60		
	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 351 гссагисагс са	12
	<210> 352 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70		
	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 352 гссагисагс са	12

5	<210> 353 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 353 аиааасассси га	12
15	<210> 354 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи <400> 354 усагггугаи аи	12
25		
30	<210> 355 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 355 иаасасссиу аг	12
40	<210> 356 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи <400> 356 сисагггуга иа	12
50		
55	<210> 357 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 357 аасасссида гс	12
65	<210> 358 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 358 гсисагггуг аи	12
75	<210> 359 <211> 12 <212> РНК	

5	<213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи <400> 359 usacccugag ca	12
10	<210> 360 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи <400> 360 ugcucagggg ga	12
20	<210> 361 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи <400> 361 cacccugagc ag	12
30	<210> 362 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 362 cugcucaggg ug	12
40	<210> 363 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи <400> 363 accucagaca gg	12
50	<210> 364 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи <400> 364 ccugcucagg gu	12
60	<210> 365 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
65	<220> <223> Агент РНКи <400> 364 ccugcucagg gu	12
70	<210> 365 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	

	<400> 365 сссигарсаг га	12
5	<210> 366 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 366 иисигсисаг гг	12
20	<210> 367 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 367 ссигарсагг аа	12
30	<210> 368 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 368 иисигсиса гг	12
45	<210> 369 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 369 сигарсагга аг	12
55	<210> 370 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 370 сиисигсис аг	12
65	<210> 371 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 371 игарсаггаа гг	12
	<210> 372	

	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 372	
10	ссuиуссигсу са	12
	<210> 373	
	<211> 12	
	<212> РНК	
15	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 373	
	uggguggсса gu	12
	<210> 374	
25	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 374	
	асuggссасс са	12
35		
	<210> 375	
	<211> 12	
	<212> РНК	
40	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
45	<400> 375	
	ggguggссаg uu	12
	<210> 376	
50	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
55	<223> Агент РНКи	
	<400> 376	
	аасuggссас сс	12
60	<210> 377	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
65	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 377	
70	gguggссаgu uu	12
	<210> 378	
	<211> 12	
	<212> РНК	
75	<213> Искусственная	
	<220>	

	<223> Агент РНКи	
5	<400> 378 ааасуггсса сс	12
10	<210> 379 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 379 гуггссагги уг	12
20	<210> 380 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 380 сааасуггсс ас	12
35	<210> 381 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 381 уггссаггиуу гг	12
45	<210> 382 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 382 ссааасуггс са	12
55	<210> 383 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 383 ггссаггиуу гс	12
70	<210> 384 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 384 гссааасугг сс	12

5	<210> 385 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 385 gссaгuиuгg cu	12
15	<210> 386 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 386 aгссaaасuг gc	12
25	<210> 387 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
30	<220> <223> Агент РНКи	
35	<400> 387 ссaгuиuггс uи	12
40	<210> 388 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 388 aaгссaaасu гg	12
50	<210> 389 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 389 сагuиuггсu uc	12
65	<210> 390 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 390 гаaгссaaас ug	12
75	<210> 391 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	

	<220> <223> Агент РНКи	
5	<400> 391 агуууггсуу су	12
10	<210> 392 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
15	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 392 агаагссааа су	12
20	<210> 393 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 393 гуууггсуус уг	12
35	<210> 394 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 394 сагаагссаа ас	12
45	<210> 395 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
50	<220> <223> Агент РНКи	
55	<400> 395 уууггсуусу гг	12
60	<210> 396 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
	<220> <223> Агент РНКи	
65	<400> 396 ссагаагсса аа	12
70	<210> 397 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
75	<220> <223> Агент РНКи	
	<400> 397	

	ууггсиусиг га	12
5	<210> 398 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи <400> 398 уссагаагсс аа	12
15	<210> 399 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
20	<220> <223> Агент РНКи	
25	<400> 399 ууггсиусигг аа	12
30	<210> 400 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
35	<220> <223> Агент РНКи <400> 400 ауссагаагс са	12
40	<210> 401 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
45	<220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 401 ггсиусигга уг	12
55	<210> 402 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
60	<220> <223> Агент РНКи <400> 402 сауссагааг сс	12
65	<210> 403 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи <400> 403 гсиусиггау гг	12
75	<210> 404 <211> 12	

	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
5	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 404	
	ссауссагаа gc	12
10	<210> 405	
	<211> 12	
	<212> РНК	
15	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
20	<400> 405	
	агсиггугга gg	12
	<210> 406	
25	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
30	<223> Агент РНКи	
	<400> 406	
	ссуссагаг си	12
35	<210> 407	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
40	<220>	
	<223> Агент РНКи	
	<400> 407	
45	гсиггуггаг gc	12
	<210> 408	
50	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
	<223> Агент РНКи	
55	<400> 408	
	гссуссага gc	12
60	<210> 409	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
	<220>	
65	<223> Агент РНКи	
	<400> 409	
	сиггуггагг cc	12
70	<210> 410	
	<211> 12	
	<212> РНК	
	<213> Искусственная	
75	<220>	
	<223> Агент РНКи	

	<400> 410 ggssussass ag	12
5	<210> 411 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
10	<220> <223> Агент РНКи	
15	<400> 411 uggugaggс сс	12
20	<210> 412 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
25	<220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 412 ggssussac ca	12
35	<210> 413 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
40	<220> <223> Агент РНКи	
45	<400> 413 ggugaggсс са	12
50	<210> 414 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
55	<220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 414 uggssussa сс	12
65	<210> 415 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
70	<220> <223> Агент РНКи	
75	<400> 415 guggaggсс ас	12
80	<210> 416 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	
85	<220> <223> Агент РНКи	
90	<400> 416 gugggссuss ас	12

5	<210> 417 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
10	<400> 417 uggaggssca ca	12
15	<210> 418 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
20	<400> 418 ugugggssuc ca	12
25	<210> 419 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
30	<400> 419 ggaggssac ac	12
35	<210> 420 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
40	<400> 420 gugugggssu cc	12
45	<210> 421 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
50	<400> 421 gaggssaca cc	12
55	<210> 422 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
60	<400> 422 ggugugggss uc	12
65	<210> 423 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная <220> <223> Агент РНКи	
70	<400> 423	
75	<210> 423 <211> 12 <212> РНК <213> Искусственная	

<220>
<223> Агент РНКи

5 <400> 423
aggssasas sa 12

10 <210> 424
<211> 12
<212> РНК
<213> Искусственная

15 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 424
ugguguggs cu 12

20 <210> 425
<211> 12
<212> РНК
<213> Искусственная

25 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 425
ggssasass aa 12

30 <210> 426
<211> 12
<212> РНК
<213> Искусственная

35 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 426
ugguguggg cc 12

40 <210> 427
<211> 12
<212> РНК
<213> Искусственная

45 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 427
gssasassa ac 12

50 <210> 428
<211> 12
<212> РНК
<213> Искусственная

55 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 428
guugguigg gc 12

60 <210> 429
<211> 19
<212> РНК
<213> Искусственная

65 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 429
cagugasuac aasacgass 12

70 <220>
<223> Агент РНКи
<400> 429
cagugasuac aasacgass 19

5 <210> 430
<211> 19
<212> РНК
<213> Искусственная

10 <220>
<223> Агент РНКи

<400> 430
ggucgugucg uagucacucg

19

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, включающая агент РНКи, который содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, представленного в табл. 1.
5
2. Композиция по п. 1, которая дополнительно включает второй агент РНКи к Beta-ENaC.
10
3. Композиция по п. 1, в которой агент РНКи включает по меньшей мере один модифицированный каркас молекулы и/или по меньшей мере один 2'-модифицированный нуклеотид.
15
4. Композиция по п. 1, в которой агент РНКи лигирован с одним или несколькими агентами, выбранными из: диагностического соединения, репортерной группы, агента перекрестного связывания, части молекулы, определяющей резистентность к нуклеазе, природного или необычного нуклеинового основания, липофильной молекулы, холестерина, липида, лектина, стероида, уваола, гецигенина, диосгенина, терпена, тритерпена, сарсасапогенина, фрайделина, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислоты, витамина, углевода, декстрана, пуллулана, хитина, хитозана, синтетического углевода, 15-мерного олиголактата, природного полимера, низкомолекулярного полимера или полимера средней молекулярной массы, инулина, циклодекстрина, гиалуроновой кислоты, белка, белок-связывающего агента, интегрин-нацеливающей молекулы, поликатионного агента, пептида, полиамина, пептидного миметика и/или трансферина.
20
25
5. Композиция, включающая агент РНКи, который содержит первую цепь и вторую цепь, причем первая цепь и вторая цепь включают по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
30

нуклеотидами от первой и второй цепи, соответственно, специфичного к Beta-ENaC агента РНКи, представленного в табл.1.

6. Композиция по п. 1, включающая второй агент РНКи к Beta-ENaC.

5

7. Композиция по п. 1, в которой агент РНКи включает фосфоротиоат и/или а 2'-модифицированный нуклеотид.

8. Композиция по п. 1, в которой агент РНКи лигирован с одним или несколькими агентами, выбранными из: диагностического соединения, репортерной группы, агента перекрестного связывания, части молекулы, определяющей резистентность к нуклеазе, природного или необычного нуклеинового основания, липофильной молекулы, холестерина, липида, лектина, стероида, уваола, гецигенина, диосгенина, терпена, тритерпена, сарсасапогенина, фрайделина, дериватизированной эпифрайделанолом литохолиевой кислоты, витамина, углевода, декстрана, пуллулана, хитина, хитозана, синтетического углевода, 15-мерного олиголактата, природного полимера, низкомолекулярного полимера или полимера средней молекулярной массы, инулина, циклодекстрина, гиалуроновой кислоты, белка, белок-связывающего агента, интегрин-нацеливающей молекулы, поликатионного агента, пептида, полиамина, пептидного миметика и/или трансферина.

10

15

20

9. Способ лечения связанного с Beta-ENaC заболевания у индивидуума, включающий стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции, включающей агент РНКи, содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC, представленного в табл.1.

25

30

10. Способ по п. 9, в котором связанным с Beta-ENaC заболеванием является муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1, синдром Лиддла, гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертония, связанная с ожирением.

11. Способ по п. 9, дополнительно включающий стадию введения
дополнительного средства для лечения муковисцидоза,
псевдогипоальдостеронизма типа 1, синдрома Лиддла, гипертонии, алкалоза,
5 гипокалиемии и/или ожирения, связанного с гипертонией.

12. Способ по п. 11, который дополнительно включает стадию введения
дополнительного агента РНКи к Beta-ENaC.

10 13. Способ подавления экспрессии гена Beta-ENaC у индивидуума,
включающий стадию введения индивидууму терапевтически эффективного
количества композиции, содержащей агент РНКи, включающий смысловую цепь
и антисмысловую цепь, причем антисмысловая цепь включает по меньшей мере
15 последовательно расположенных нуклеотидов, отличающихся 0, 1, 2 или 3
15 нуклеотидами от антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного к Beta-ENaC,
предусмотренного в табл.1.

14. Способ по п. 13, в котором связанным с Beta-ENaC заболеванием
является муковисцидоз, псевдогипоальдостеронизм типа 1, синдром Лиддла,
20 гипертония, алкалоз, гипокалиемия и/или гипертония, связанная с ожирением.

15. Лекарственное средства для применения в РНКи составе, включающем
агент РНКи, который содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, причем
антисмысловая цепь включает по меньшей мере 15 последовательно
25 расположенных нуклеотидов отличающихся 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от
антисмысловой цепи агента РНКи, специфичного в Beta-ENaC, представленного
в табл.1.

16. Какая-либо из указанных выше композиций в фармацевтически
30 эффективном составе.

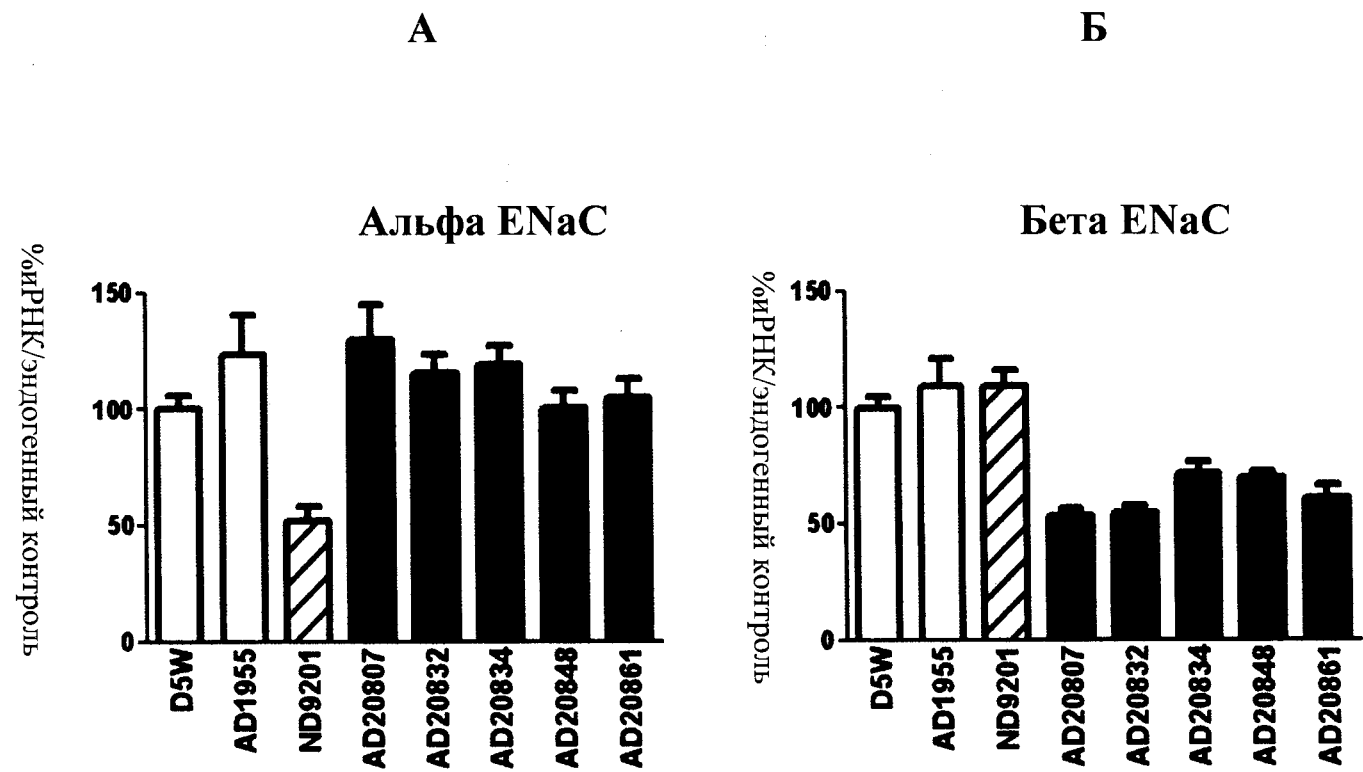
17. Композиция по п. 1 для применения в способе лечения у индивидуума связанного с Beta-ENaC заболевания, включающего стадию введения индивидууму терапевтически эффективного количества композиции по п. 1.

5 18. Применение композиции по п. 1 для получения лекарственного средства для лечения заболевания, ассоциированного с бета-ENaC.

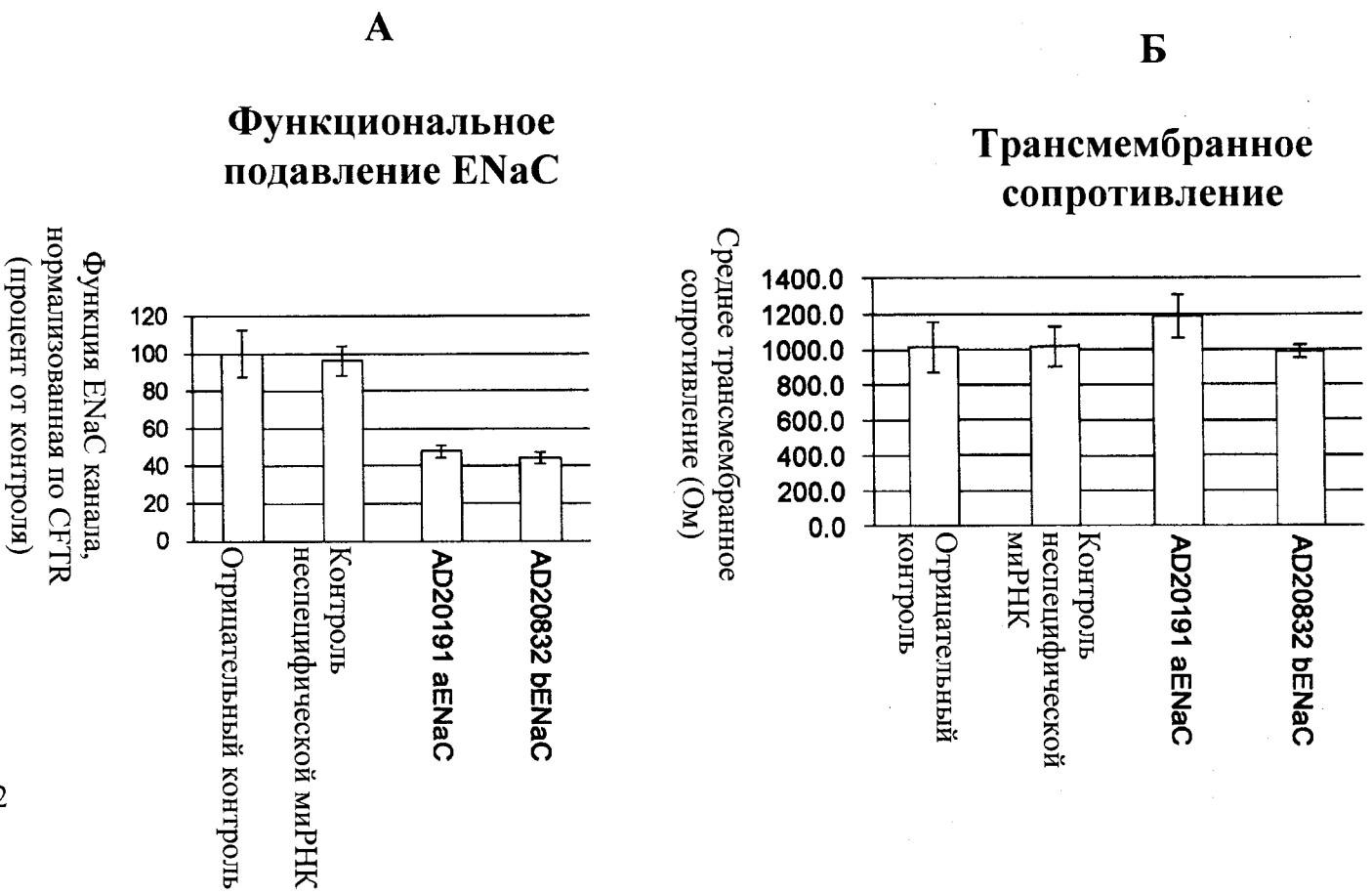
19. Композиция по п. 1, в которой все пиримидины являются 2'-О-метил-модифицированными нуклеотидами.

10

20. Композиция по п. 5, в которой все пиримидины являются 2'-О-метил-модифицированными нуклеотидами.



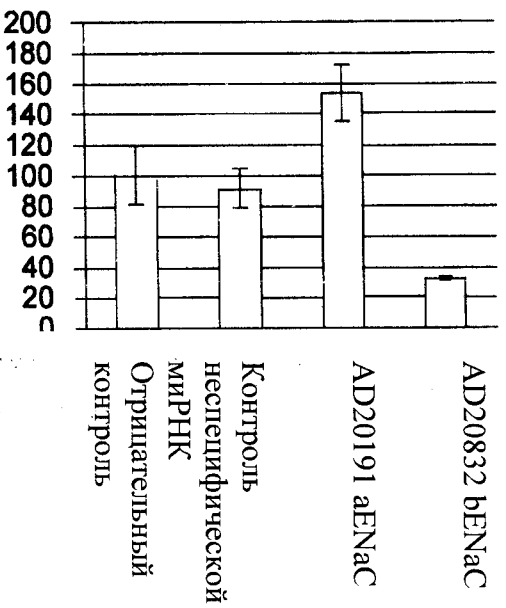
Фиг. 1



Фиг. 2

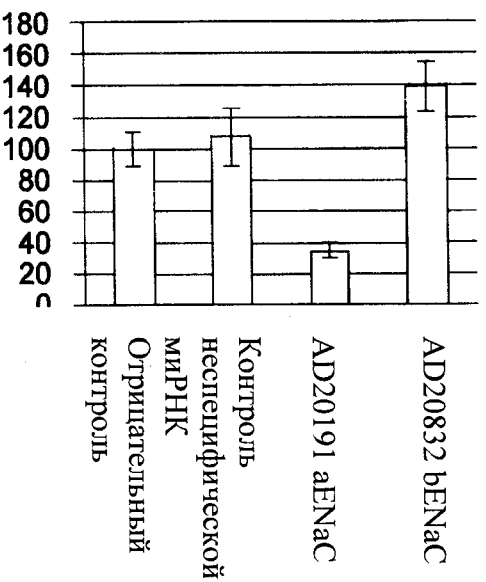
иРНК бета ENaC

Экспрессия бета ENaC (процент от контроля)



иРНК альфа ENaC

Экспрессия альфа ENaC (процент от контроля)



Фиг. 2