

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202393000** (13) **A1**

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

(43) Дата публикации заявки  
2023.12.19

(22) Дата подачи заявки  
2022.04.25

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)  
*A61K 31/713* (2006.01)  
*A61K 47/54* (2017.01)  
*A61P 7/00* (2006.01)

---

(54) **КОМПОЗИЦИИ иРНК ПРОТИВ ТРАНСМЕМБРАННОЙ СЕРИНОВОЙ ПРОТЕАЗЫ 6 (TMPRSS6) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ**

---

(31) 63/179,607; 63/278,227

(32) 2021.04.26; 2021.11.11

(33) US

(86) PCT/US2022/026097

(87) WO 2022/231999 2022.11.03

(71) Заявитель:  
ЭЛНИЛЭМ ФАРМАСЬЮТИКАЛЗ,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:  
Дитон Эйми М., Гэнснер Джон Майкл,  
Макинич Джеймс Д., Шлегель  
Марк К., Гарфинкл Бенджамин П.  
(US)

(74) Представитель:  
Медведев В.Н. (RU)

---

(57) Настоящее изобретение относится к агентам РНКи, например агентам на основе двухцепочечной РНК (дцРНК), нацеленным на ген трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6). Настоящее изобретение также относится к способам применения таких агентов РНКи для ингибирования экспрессии гена TMPRSS6 и к способам предотвращения и лечения TMPRSS6-ассоциированного нарушения, например нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом, например наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии (например, большой  $\beta$ -талассемии и промежуточной  $\beta$ -талассемии), истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера или атаксии Фридрейха.

**A1**

**202393000**

**202393000**

**A1**

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-579433EA/061

### КОМПОЗИЦИИ мРНК ПРОТИВ ТРАНСМЕМБРАННОЙ СЕРИНОВОЙ ПРОТЕАЗЫ 6 (TMPRSS6) И СПОСОБЫ ИХ ПРИМЕНЕНИЯ

#### Родственные заявки

Настоящая заявка испрашивает приоритет согласно предварительной заявке на патент США № 63/179607, поданной 26 апреля 2021 г., и предварительной заявке на патент США № 63/278227, поданной 11 ноября 2021 г. Полное содержание каждой из вышеупомянутых заявок включено в настоящий документ посредством ссылки.

#### Перечень последовательностей

Настоящая заявка включает перечень последовательностей, который был подан в электронном виде в формате ASCII и содержание которого полностью включено в настоящий документ посредством ссылки. Указанная копия в формате ASCII, созданная 18 апреля 2022 г., названа 121301\_15420\_SL.TXT и имеет размер 673291 байт.

#### Уровень техники

TMPRSS6 (трансмембранная сериновая протеаза 6), также известная как матриптаза-2, представляет собой сериновую протеазу II типа. Она экспрессируется в основном в печени, хотя высокие уровни мРНК TMPRSS6 также обнаруживаются в почках с более низкими уровнями в матке и гораздо меньшие количества детектируются во многих других тканях (Beliveau *et al.*, 2019, *Cell Chemical Biology* 26, 1559-1572). TMPRSS6 играет ключевую роль в гомеостазе железа посредством модуляции экспрессии гепсидина. Гепсидин, продуцируемый печенью пептидный гормон, известен как центральный регулятор системного гомеостаза железа, и его несбалансированное продуцирование способствует патогенезу ряда нарушений, связанных с железом. Гепсидин функционирует путем блокирования всасывания пищевого железа из кишечника и высвобождения железа из макрофагов и гепатоцитов (Ganz T. 2011, *Blood*, vol. 117, 17, 4425-4433). Экспрессия гена гепсидина может стимулироваться в ответ на железо посредством BMP/SMAD-зависимого каскада передачи сигналов, опосредуемого корцептором BMP гомоювелином (HJV). TMPRSS6 ингибирует BMP-опосредуемую положительную регуляцию гепсидина путем расщепления корцептора BMP HJV, предотвращая тем самым передачу сигнала BMP, транслокацию SMAD в ядро и транскрипционную активацию гепсидина, что вызывает отрицательную регуляцию уровней гепсидина (Finberg, K.E., *et al.*, 2010, *Blood* 115, 3817-3826; Wang, C.Y., *et al.*, 2014 *Front. Pharmacol.* 5, 114).

Таким образом, ингибирование TMPRSS6 приводит к повышению уровней гепсидина, что делает его привлекательной фармакологической мишенью для лечения нарушений, ассоциированных с перегрузкой железом и нефизиологически низкими уровнями гепсидина, или для лечения нарушений, при которых желательное ограничение уровня железа. Множество нарушений, таких как талассемии, гемохроматоз и определенные типы миелодиспластических синдромов (MDS), ассоциированы с перегрузкой железом, состоянием, которое характеризуется повышенными уровнями

железа. Перегрузка железом может привести к избыточному отложению железа в различных тканях и в конечном итоге может привести к повреждению тканей и органов. Кроме того, ограничение уровней железа является желательным при определенных нарушениях, таких как истинная полицитемия.

Современные способы лечения нарушений, ассоциированных с перегрузкой железом, и нарушений, при которых желательно ограничение уровней железа (например, истинной полицитемии), включают флеботомию или венесекцию, лечение для удаления обогащенной железом крови из организма; спленэктомия; терапию хелаторами железа; и диету. Однако эти способы лечения не всегда эффективны. Соответственно, в данной области техники существует потребность в альтернативных способах лечения субъектов, имеющих нарушения, ассоциированные с перегрузкой железом.

#### Краткое описание изобретения

Согласно настоящему изобретению предложены композиции иРНК (интерферирующих РНК), которые влияют на опосредуемое РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена, кодирующего трансмембранную сериновую протеазу 6 (TMPRSS6). Ген TMPRSS6 может находиться внутри клетки, например, клетки в организме субъекта, такого как субъект-человек. Согласно настоящему изобретению также предложены способы применения композиций иРНК согласно настоящему изобретению для ингибирования экспрессии гена TMPRSS6 и/или для лечения субъекта, который может получить пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена TMPRSS6, например, субъекта, страдающего или предрасположенного к развитию TMPRSS6-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом, такого как талассемия, например,  $\beta$ -талассемия, гемохроматоза, миелодиспластического синдрома (MDS) или истинной полицитемии.

Соответственно, согласно одному аспекту настоящего изобретения предложена двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, причем указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом указанная антисмысловая цепь содержит область комплементарности мРНК, кодирующей TMPRSS6, и при этом указанная область комплементарности содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую непрерывную нуклеотидную последовательность, которая имеет по меньшей мере 85%, например, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, идентичность нуклеотидной последовательности по всей своей длине с любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую непрерывную нуклеотидную последовательность,

которая имеет по меньшей мере 85%, например, 85%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или 100%, идентичность нуклеотидной последовательности по всей своей длине с любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем двумя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем двумя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем одним нуклеотидом от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем одним нуклеотидом от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую или состоящую из нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую или состоящую из нуклеотидной последовательности, выбранной из группы, состоящей из любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложена двухцепочечная рибонуклеиновая кислота (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, причем указанная дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0,



нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 187-210; 227-254; 322-363; 362-390; 398-420; 404-429; 410-435; 439-461; 443-467; 448-474; 460-483; 466-488; 496-519; 519-542; 526-548; 557-593; 641-671; 652-676; 687-713; 725-762; 757-794; 886-908; 921-951; 956-987; 1051-1082; 1233-1269; 1279-1313; 1313-1341; 1327-1351; 1415-1439; 1447-1480; 1464-1486; 1486-1509; 1559-1589; 1571-1595; 1579-1609; 1707-1735; 1738-1764; 1806-1828; 1864-1886; 1934-1966; 1967-1991; 2008-2031; 2015-2043; 2042-2072; 2287-2311; 2297-2354; 2336-2361; 2360-2384; 2416-2438; 2481-2510; 2496-2527; 2526-2558; 2665-2693; 2693-2719; 2707-2729; 2799-2821; 2851-2874; 2971-2999; 2981-3006 и 3155-3195 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, причем указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 230-252, 324-346, 560-578, 560-582, 2338-2360, 3163-3185, 3169-3191 и 3172-3194 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, причем указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 560-578, 2338-2360 и 3169-3191 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1556360, AD-1571158, AD-1571033, AD-1554875, AD-1571160, AD-1555117, AD-1554911 и AD-1556915.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, например, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или 21, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя, например, 3, 2, 1 или 0, нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1556360, AD-1571158 и AD-1571033.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

Согласно одному варианту реализации по существу все нуклеотиды смысловой цепи; по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды смысловой цепи и по существу все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

Согласно одному варианту реализации все нуклеотиды смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды смысловой цепи и все нуклеотиды антисмысловой цепи содержат модификацию.

Согласно одному варианту реализации по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 3'-концевого дезокситимидинового (dT) нуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, блокированного нуклеотида, неблокированного нуклеотида, конформационно ограниченного нуклеотида, ограниченного этилнуклеотида, нуклеотида без азотистого основания, 2'-амин-модифицированного нуклеотида, 2'-О-аллил-модифицированного нуклеотида, 2'-С-алкил-модифицированного нуклеотида, 2'-гидрокси-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модифицированного нуклеотида, 2'-О-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолинового нуклеотида, фосфорамидата, нуклеотида, содержащего неприродное основание, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогекситол-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего фосфотиоатную группу, нуклеотида, содержащего метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат, нуклеотида, содержащего миметик 5'-фосфата, термически дестабилизирующего нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), нуклеотида, содержащего 2'-фосфат, и 2-О-(N-метилацетамид)-модифицированного нуклеотида; и их комбинаций.

Согласно одному варианту реализации модификации на нуклеотидах выбраны из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтил, 2'-О-алкил, 2'-О-аллил, 2'-С-аллил, 2'-фтор, 2'-дезоксид, 2'-гидрокси и гликоля; и их комбинаций.

Согласно одному варианту реализации по меньшей мере один из модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), например, Ggn, Cgn, Tgn или Agn, нуклеотида с 2' фосфатом, например, G2p, C2p, A2p или

U2p, и винилфосфонатного нуклеотида; и их комбинаций.

Согласно некоторым вариантам реализации модифицированный нуклеотид содержит короткую последовательность из 3'-концевых дезокситимидиновых нуклеотидов (dT).

Согласно некоторым вариантам реализации агент на основе дцРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную межнуклеотидную связь. Согласно некоторым вариантам реализации агент на основе дцРНК содержит 6-8 фосфотиоатных межнуклеотидных связей. Согласно одному варианту реализации фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи. Необязательно указанная цепь представляет собой бессмысловую цепь. Согласно другому варианту реализации указанная цепь представляет собой смысловую цепь. В связанном варианте реализации фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи. Необязательно указанная цепь представляет собой бессмысловую цепь. Согласно другому варианту реализации указанная цепь представляет собой смысловую цепь. Согласно другому варианту реализации фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-конце, так и на 3'-конце одной цепи. Необязательно указанная цепь представляет собой бессмысловую цепь. Согласно другому варианту реализации указанная цепь представляет собой смысловую цепь.

Двухцепочечная область может иметь 19-30 нуклеотидных пар в длину; 19-25 нуклеотидных пар в длину; 19-23 нуклеотидные пары в длину; 23-27 нуклеотидных пар в длину; или 21-23 нуклеотидные пары в длину.

Согласно одному варианту реализации каждая цепь независимо представляет собой не более 30 нуклеотидов в длину.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь представляет собой 21 нуклеотид в длину и бессмысловая цепь представляет собой 23 нуклеотида в длину.

Область комплементарности может представлять собой по меньшей мере 17 нуклеотидов в длину; от 19 до 23 нуклеотидов в длину; или 19 нуклеотидов в длину.

Согласно одному варианту реализации по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 1 нуклеотида. Согласно другому варианту реализации по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК дополнительно содержит лиганд.

Согласно одному варианту реализации лиганд конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи агента на основе дцРНК.

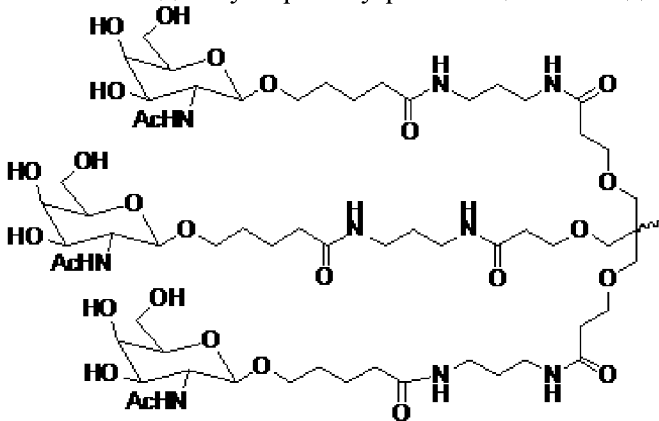
Согласно одному варианту реализации лиганд конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи агента на основе дцРНК.

Согласно одному варианту реализации лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

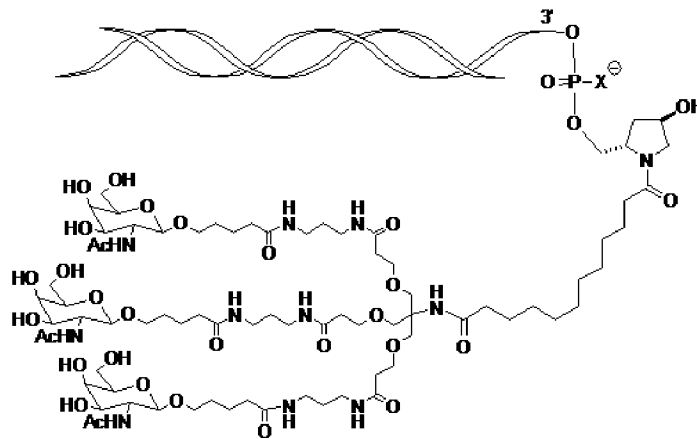
Согласно одному варианту реализации лиганд представляет собой одно или более

производных GalNAc, присоединенных посредством одновалентного, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

Согласно одному варианту реализации лиганд представляет собой



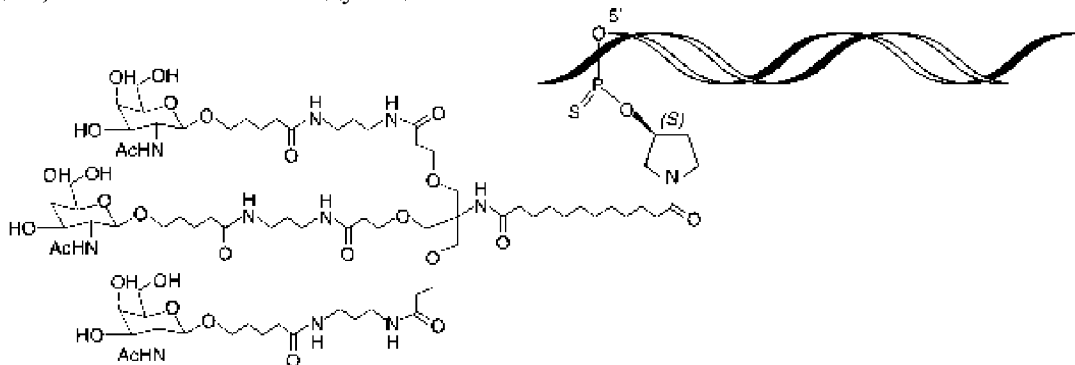
Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме



и где X представляет собой O или S.

Согласно одному варианту реализации X представляет собой O.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме



Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

Согласно одному варианту реализации фосфотиоатная или метилфосфонатная

межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

Согласно другому варианту реализации фосфотионатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи, например, антисмысловой цепи или смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации фосфотионатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-конце, так и на 3'-конце одной цепи. Согласно одному варианту реализации цепь представляет собой антисмысловую цепь.

Согласно одному варианту реализации пара оснований в положении 1 5'-конца антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 21 последовательный нуклеотид, отличающийся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

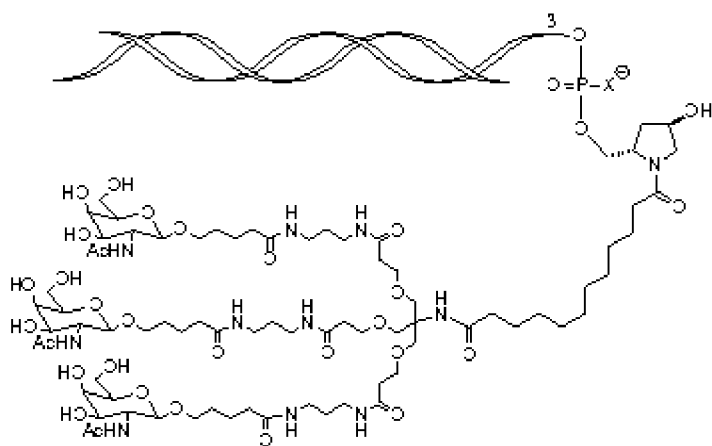
Согласно одному варианту реализации смысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2 или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO:371), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2, или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO: 371), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcuguguguL96-3' (SEQ ID NO: 371), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; s представляет собой фосфотиоатную связь, и L96 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканол]-4-гидроксипролин.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO: 371), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь, где 3'-конец смысловой цепи конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме:



и где X представляет собой O.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 21 последовательный нуклеотид, отличающийся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-

AAGGCAGCUUUUAUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2 или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; и s представляет собой фосфотионатную связь.

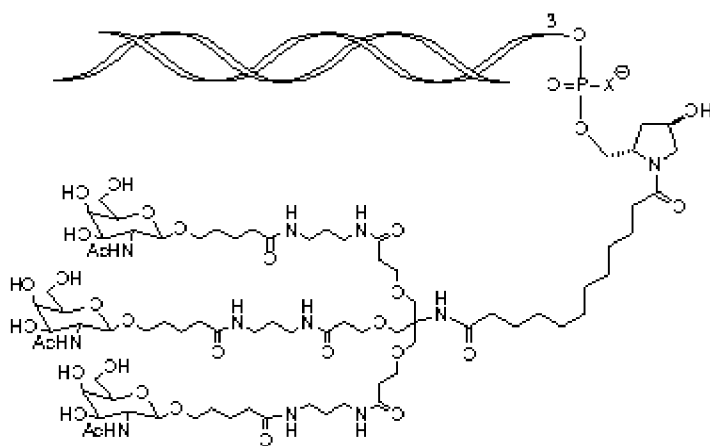
Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2 или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaagggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; и s представляет собой фосфотионатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaagggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; и s представляет собой фосфотионатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuuL96-3' (SEQ ID NO: 2095), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaagggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; s представляет собой фосфотионатную связь, и L96 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканол]-4-гидроксипролин.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaagggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат, s представляет собой фосфотионатную связь, и где 3'-конец смысловой цепи конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме:





и где X представляет собой O.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит или состоит из нуклеотидной последовательности 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

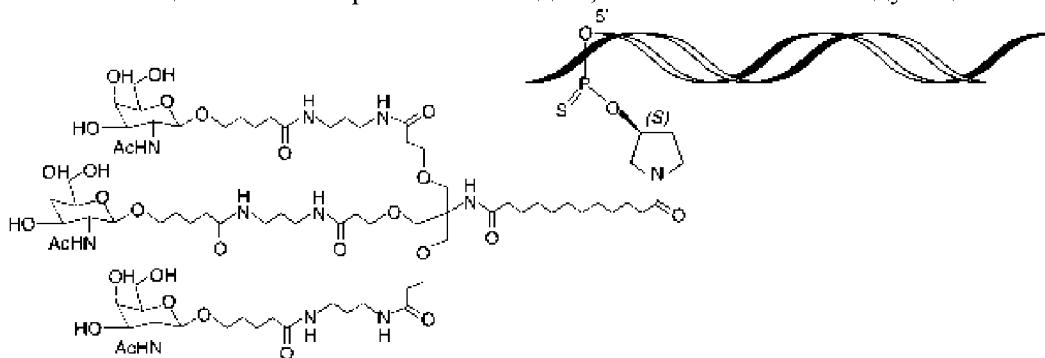
Согласно одному варианту реализации смысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2 или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), где a, g, c и u представляют собой 2'-O-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь отличается не более чем 3, например, 0, 1, 2 или 3, модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asApscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: ), где a, g, c и u представляют собой 2'-O-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 2203), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: ), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-Q191sUfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; s представляет собой фосфотиоатную связь, и Q191 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканойл]-(S)-пирролидин-3-ол-фосфотиоат (p-C12-(GalNAc-алкил)3).

Согласно одному варианту реализации смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), и антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь, где 5'-конец смысловой цепи конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме:



Согласно другому варианту реализации агент РНКи представляет собой его фармацевтически приемлемую соль. «Фармацевтически приемлемые соли» каждого из агентов РНКи в настоящем документе включают, но не ограничиваются перечисленными, натриевую соль, кальциевую соль, литиевую соль, калиевую соль, аммониевую соль, магниевую соль, их смеси. Специалист в данной области техники поймет, что агент РНКи, если он предложен в виде поликатионной соли, имеет одну катионную группу на свободную кислотную группу необязательно модифицированного фосфодиэфирного остова и/или любые другие кислотные модификации (например, 5'-концевые фосфонатные группы). Например, олигонуклеотид из «n» нуклеотидов в длину содержит n-1 необязательно модифицированных фосфодиэфиров так, что олигонуклеотид из 21 нуклеотида в длину может быть предложен в виде соли, содержащей до 20 катионов

(например, 20 катионов натрия). Аналогичным образом, агенты РНКи, имеющие смысловую цепь из 21 нуклеотида в длину и антисмысловую цепь из 23 нуклеотидов в длину, могут быть предложены в виде соли, содержащей до 42 катионов (например, 42 катиона натрия). В предыдущем примере, в котором агент РНКи также включает 5'-концевой фосфат или 5'-концевую винилфосфонатную группу, агент РНКи может быть предложен в виде соли, содержащей до 44 катионов (например, 44 катиона натрия).

Согласно настоящему изобретению также предложены клетки, содержащие любой из агентов на основе дцРНК согласно настоящему изобретению, и фармацевтические композиции, содержащие любой из агентов на основе дцРНК согласно настоящему изобретению.

Фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может включать агент на основе дцРНК в незабуференном растворе, например, физиологическом растворе или воде, или фармацевтическая композиция согласно настоящему изобретению может включать агент на основе дцРНК в буферном растворе, например, буферном растворе, содержащем ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат, или любую их комбинацию; или в фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБ).

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ ингибирования экспрессии гена трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке. Способ включает приведение клетки в контакт с любой из дцРНК согласно настоящему изобретению или любой из фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению, что ингибирует экспрессию гена TMPRSS6 в клетке.

Согласно одному варианту реализации клетка находится в организме субъекта, например, субъекта-человека, например, субъекта, имеющего нарушение, ассоциированное с трансмембранной сериновой протеазой 6 (TMPRSS6), такое как нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическую порфирию, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксию Фридрейха.

Согласно некоторым вариантам реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой  $\beta$ -талассемию. Согласно одному варианту реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой большую  $\beta$ -талассемию. Согласно другому варианту реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой промежуточную  $\beta$ -талассемию. Согласно некоторым вариантам реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой истинную полицитемию.

Согласно определенным вариантам реализации экспрессия TMPRSS6 ингибируется по меньшей мере примерно на 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%. Согласно одному варианту реализации ингибирование экспрессии TMPRSS6 уменьшает уровень белка TMPRSS6 в сыворотке крови субъекта по меньшей мере на 30%, 40%, 50%, 60%, 70%,

80%, 90% или 95%.

Согласно определенным вариантам реализации приведение клетки в контакт с агентом на основе дцРНК повышает экспрессию гепсидина по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%. Согласно одному варианту реализации повышение экспрессии гепсидина повышает уровень белка гепсидина в сыворотке крови субъекта по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложен способ лечения субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6). Способ включает введение субъекту терапевтически эффективного количества любой из дцРНК согласно настоящему изобретению или любой из фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению, что обеспечивает лечение субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии TMPRSS6.

Согласно другому аспекту настоящего изобретения предложен способ предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6). Способ включает введение субъекту профилактически эффективного количества любой из дцРНК согласно настоящему изобретению или любой из фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению, что предотвращает по меньшей мере один симптом у субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии TMPRSS6.

Согласно определенным вариантам реализации нарушение представляет собой нарушение, ассоциированное с трансмембранной сериновой протеазой 6 (TMPRSS6), например, нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропозом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическую порфирию, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксию Фридрейха.

Согласно некоторым вариантам реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой  $\beta$ -талассемию. Согласно одному варианту реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой большую  $\beta$ -талассемию. Согласно другому варианту реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой промежуточную  $\beta$ -талассемию. Согласно некоторым вариантам реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой истинную полицитемию.

Согласно определенным вариантам реализации введение дцРНК субъекту вызывает уменьшение уровня железа, уровня ферритина и/или уровня насыщения трансферрина и/или уменьшение накопления белка TMPRSS6 у субъекта. Согласно некоторым вариантам реализации введение дцРНК субъекту вызывает повышение уровня гемоглобина и/или уровня гематокрита у субъекта.

Согласно дополнительному аспекту настоящего изобретения также предложены способы ингибирования экспрессии TMPRSS6 у субъекта. Способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества любой из дцРНК, предложенных в настоящем документе, что ингибирует экспрессию TMPRSS6 у субъекта.

Согласно одному варианту реализации субъект представляет собой человека.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК вводят субъекту в дозе от примерно 0,01 мг/кг до примерно 50 мг/кг.

Согласно одному варианту реализации агент на основе дцРНК вводят субъекту подкожно или внутривенно.

Согласно одному варианту реализации способы согласно настоящему изобретению включают дополнительное определение уровня TMPRSS6 в образце(ах) от субъекта.

Согласно одному варианту реализации уровень TMPRSS6 в образце(ах) от субъекта представляет собой уровень белка TMPRSS6 в образце(ах) крови, сыворотки крови или печени.

Согласно одному варианту реализации способы согласно настоящему изобретению включают дополнительное определение уровня железа и/или гепсидина в образце(ах) от субъекта.

Согласно определенным вариантам реализации способы согласно настоящему изобретению дополнительно включают введение субъекту дополнительного терапевтического агента. Согласно одному варианту реализации способы согласно настоящему изобретению дополнительно включают введение субъекту хелатора железа, например, деферипрона, дефероксамина и деферазирокса.

Согласно настоящему изобретению также предложены наборы, содержащие любую из дцРНК согласно настоящему изобретению или любую из фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению и необязательно инструкции по применению. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения предложен набор для выполнения способа ингибирования экспрессии гена TMPRSS6 в клетке путем приведения клетки в контакт с двухцепочечным агентом РНКи согласно настоящему изобретению в количестве, эффективном для ингибирования экспрессии TMPRSS6 в клетке. Набор содержит агент РНКи и инструкции по применению и необязательно средства для введения агента РНКи субъекту.

Согласно настоящему изобретению также предложен РНК-индуцированный комплекс сайленсинга (RISC), содержащий антисмысловую цепь любого из агентов на основе дцРНК согласно настоящему изобретению.

Краткое описание чертежей

Фигура 1 представляет собой схематическое изображение плана исследования для определения эффективности агентов на основе дцРНК, раскрытых в настоящем документе, *in vivo* у яванских макаков.

Фигура 2 представляет собой график, показывающий процент мРНК TMPRSS6 в сыворотке крови, оставшейся у яванских макаков (n=3 на группу), которым подкожно

вводили однократную дозу 3 мг/кг или 10 мг/кг указанных дуплексов дцРНК в Дни 21, 22, 57 и 85 после введения дозы. Уровни мРНК TMPRSS6 показаны относительно контрольных уровней, полученных у яванских макаков, которым в качестве контроля вводили ФСБ.

Фигура 3 представляет собой график, показывающий уровни железа в плазме крови в виде процента от уровней до введения дозы у яванских макаков (n=3 на группу), которым подкожно вводили однократную дозу 3 мг/кг или 10 мг/кг указанных дуплексов дцРНК в Дни 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 и 85 после введения дозы.

Фигура 4 представляет собой график, показывающий уровни насыщения трансферрина в виде процента у яванских макаков (n=3 на группу), которым подкожно вводили однократную дозу 3 мг/кг или 10 мг/кг указанных дуплексов дцРНК в Дни 1, 8, 15, 22, 29, 36, 43, 50, 57, 64, 71, 78 и 85 после введения дозы.

#### Подробное описание изобретения

Согласно настоящему изобретению предложены композиции иРНК, с помощью которых осуществляют опосредуемое РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6). Ген может находиться внутри клетки, например, клетки в организме субъекта, такого как человек. Применение указанных иРНК обеспечивает нацеленную деградацию мРНК соответствующего гена (TMPRSS6) у млекопитающих.

иРНК согласно настоящему изобретению сконструированы для нацеливания на ген трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) человека, включая части гена, которые являются консервативными в ортологах TMPRSS6 других видов млекопитающих. Не ограничиваясь теорией, полагают, что комбинация или подкомбинация указанных выше свойств и конкретных целевых сайтов или конкретные модификации в указанных иРНК придают иРНК согласно настоящему изобретению улучшенную эффективность, стабильность, активность, долговечность и безопасность.

Соответственно, согласно настоящему изобретению предложены способы лечения и предотвращения нарушения, ассоциированного с трансмембранной сериновой протеазой 6 (TMPRSS6), например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропозом, например, наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии (например, большой  $\beta$ -талассемии и промежуточной  $\beta$ -талассемии), истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, с применением композиций иРНК, с помощью которых осуществляют опосредуемое РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена TMPRSS6.

иРНК согласно настоящему изобретению включают цепь РНК (антисмысловую цепь), имеющую область, длина которой составляет до примерно 30 нуклеотидов или меньше, например, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину, причем указанная область по существу комплементарна по меньшей мере части транскрипта мРНК гена TMPRSS6.

Согласно определенным вариантам реализации длина одной или обеих цепей двухцепочечных агентов РНК согласно настоящему изобретению составляет до 66 нуклеотидов, например, 36-66, 26-36, 25-36, 31-60, 22-43, 27-53 нуклеотида в длину с областью из по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, которая по существу комплементарна по меньшей мере части транскрипта мРНК гена TMPRSS6. Согласно некоторым вариантам реализации такие агенты иРНК, имеющие антисмысловые цепи большей длины, могут включать, например, вторую цепь РНК (смысловую цепь) из 20-60 нуклеотидов в длину, причем указанная смысловая и антисмысловая цепи образуют дуплекс из 18-30 последовательных нуклеотидов.

Применение иРНК согласно настоящему изобретению обеспечивает нацеленную деградацию мРНК соответствующего гена (гена TMPRSS6) у млекопитающих. С помощью анализов *in vitro* авторы настоящего изобретения продемонстрировали, что иРНК, нацеленные на ген TMPRSS6, могут эффективно опосредовать РНКи, что приводит к значительному ингибированию экспрессии гена TMPRSS6. Таким образом, способы и композиции, включающие данные иРНК, можно применять для лечения субъекта, который имеет TMPRSS6-ассоциированное нарушение, например, нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическую порфирию, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксию Фридрейха.

Соответственно, согласно настоящему изобретению предложены способы и виды комбинированной терапии для лечения субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена TMPRSS6, например, заболевание, ассоциированное с трансмембранной сериновой протеазой 6 (TMPRSS6), такое как нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, с применением композиций иРНК, с помощью которых осуществляют опосредуемое РНК-индуцированным комплексом сайленсинга (RISC) расщепление транскриптов РНК гена TMPRSS6.

Согласно настоящему изобретению также предложены способы предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от ингибирования или снижения экспрессии гена TMPRSS6, например, нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические

анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическую порфирию, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксию Фридрейха.

В следующем подробном описании раскрыты способы получения и применения композиций, содержащих иРНК, для ингибирования экспрессии гена *TMPRSS6*, а также композиции, варианты применения и способы для лечения субъектов, которые могут получить пользу от ингибирования и/или снижения экспрессии гена *TMPRSS6*, например, субъектов, которые подвержены развитию или у которых диагностировано *TMPRSS6*-ассоциированное нарушение.

#### I. Определения

Чтобы облегчить понимание настоящего изобретения, сначала приведены определения некоторых терминов. Кроме того, следует отметить, что при указании значения или диапазона значений параметра, предполагается, что значения и диапазоны, промежуточные по отношению к указанным значениям, также являются частью настоящего изобретения.

Неопределенные артикли (соотв., «а» и «an» в исходном тексте на английском языке) используются в настоящем документе для обозначения одного или более чем одного (то есть, по меньшей мере одного) грамматического объекта артикля. В качестве примера, «элемент» означает один элемент или более одного элемента, например, множество элементов.

Термин «включая» используется в настоящем документе для обозначения выражения «включая без ограничения» и используется взаимозаменяемо с ним.

Термин «или» используется в настоящем документе для обозначения термина «и/или» и используется взаимозаменяемо с ним, если контекст явно не указывает на иное. Например, «смысловая цепь или антисмысловая цепь» понимается как «смысловая цепь или антисмысловая цепь или смысловая цепь и антисмысловая цепь».

Термин «примерно» используется в настоящем документе для обозначения нахождения в пределах типичных диапазонов допусков в данной области техники. Например, «примерно» можно понимать как примерно 2 стандартных отклонения от среднего значения. Согласно определенным вариантам реализации «примерно» означает  $\pm 10\%$ . Согласно определенным вариантам реализации «примерно» означает  $\pm 5\%$ . Если «примерно» предшествует ряду чисел или диапазону, следует понимать, что «примерно» может модифицировать каждое из чисел в ряду или диапазоне.

Под термином «по меньшей мере», «не менее чем» или «или более» перед числом или рядом чисел понимается включение числа, смежного с термином «по меньшей мере», и всех последующих чисел или целых чисел, которые могут быть логически включены, как ясно из контекста. Например, число нуклеотидов в молекуле нуклеиновой кислоты должно быть целым числом. Например, «по меньшей мере 19 нуклеотидов 21-нуклеотидной молекулы нуклеиновой кислоты» означает, что 19, 20 или 21 нуклеотид имеет указанное свойство. Если «по меньшей мере» предшествует ряду чисел или диапазону, следует понимать, что «по меньшей мере» может модифицировать каждое из чисел в ряду или



диапазоне.

В настоящем документе «не более чем» или «или менее» понимается как значение, относящееся к выражению и логическим более низким значениям или целым числам, как логически следует из контекста, до нуля. Например, дуплекс с липким концом из «не более чем 2 нуклеотидов» имеет липкий конец из 2, 1 или 0 нуклеотидов. Если «не более чем» предшествует ряду чисел или диапазону, следует понимать, что «не более чем» может модифицировать каждое из чисел в ряду или диапазоне. В настоящем документе диапазоны включают как верхний, так и нижний предел.

В настоящем документе способы детектирования могут включать определение того, что количество присутствующего аналита находится ниже уровня детектирования способа.

В случае противоречия между указанным сайтом-мишенью и нуклеотидной последовательностью для смысловой или антисмысловой цепи указанная последовательность имеет приоритет.

В случае противоречия между последовательностью и ее указанным сайтом на транскрипте или другой последовательностью нуклеотидная последовательность, приведенная в описании, имеет приоритет.

В настоящем документе термин «трансмембранная сериновая протеаза б», используемый взаимозаменяемо с термином «TMPRSS6», относится к гену или белку сериновой протеазы плазматической мембраны II типа (TTSP). TMPRSS6 также известен как матриптаза-2, IRIDA (рефрактерная к железу железodefицитная анемия), трансмембранная протеаза серин б, трансмембранная сериновая протеаза б типа II и связанная с мембраной мозаичная сериновая протеиназа матриптаза-2. TMPRSS6 представляет собой трансмембранный белок сериновой протеазы II типа длиной приблизительно 899 аминокислот. TMPRSS6 содержит несколько доменов, например, короткий эндодомен, трансмембранный домен, домен белка спермы морского ежа/энтеропептидазы/агрина (SEA), два домена фактора комплемента/эмбрионального фактора роста морского ежа/BMP (CUB), три домена класса LDL-R (LDLa) и домен трипсиноподобной сериновой протеазы с консервативной триадой His-Asp-Ser (HDS).

Последовательность транскрипта мРНК TMPRSS6 человека можно найти, например, под номером доступа GenBank GI: 1755203660 (NM\_153609.4; SEQ ID NO:1; обратнoкомплементарная последовательность SEQ ID NO: 2). Последовательность мРНК TMPRSS6 мыши можно найти, например, под номером доступа GenBank GI: 125656151 (NM\_027902.2; SEQ ID NO:3; обратнoкомплементарная последовательность SEQ ID NO: 4). Последовательность мРНК TMPRSS6 крысы можно найти, например, под номером доступа GenBank GI: 194474097 (NM\_001130556.1; SEQ ID NO:5; обратнoкомплементарная последовательность SEQ ID NO: 6). Последовательность мРНК TMPRSS6 *Mascas fascicularis* можно найти, например, под номером доступа в GenBank GI: 982272225 (XM\_005567384.2; SEQ ID NO: 7; обратнoкомплементарная последовательность SEQ ID NO: 8). Последовательность мРНК TMPRSS6 *Mascas mulatta* можно найти, например, под номером доступа в GenBank GI: 1622838152 (XM\_015150283.2; SEQ ID NO: 9;

обратнокомплементарная последовательность SEQ ID NO: 10).

Дополнительные примеры последовательностей мРНК TMPRSS6 легко доступны через общедоступные базы данных, например, GenBank, UniProt, OMIM и веб-сайт проекта генома макака.

Дополнительную информацию о TMPRSS6 можно найти, например, по адресу [www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=TMPRSS6](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=TMPRSS6).

Полное содержание каждого из вышеуказанных номеров доступа в GenBank и номеров базы данных генов включено в настоящий документ посредством ссылки на дату подачи данной заявки.

Термин TMPRSS6 в контексте настоящего документа также относится к вариациям гена TMPRSS6, включая варианты, представленные в базе данных SNP. Были идентифицированы многочисленные вариации последовательности в гене TMPRSS6, и их можно найти, например, в NCBI dbSNP и UniProt (см., например, [www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=TMPRSS6](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/?term=TMPRSS6), полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки на дату подачи настоящей заявки).

В настоящем документе «целевая последовательность» относится к непрерывной части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной во время транскрипции гена TMPRSS6, включая мРНК, которая представляет собой продукт процессинга РНК первичного транскрипционного продукта. Согласно одному варианту реализации целевая часть последовательности будет по меньшей мере достаточно длинной, чтобы служить в качестве субстрата для иРНК-направленного расщепления в этой части нуклеотидной последовательности молекулы мРНК, образованной во время транскрипции гена TMPRSS6, или вблизи нее.

Целевая последовательность может иметь примерно 19-36 нуклеотидов в длину, например, примерно 19-30 нуклеотидов в длину. Например, целевая последовательность может иметь примерно 19-30 нуклеотидов, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину. Согласно определенным вариантам реализации целевая последовательность представляет собой 19-23 нуклеотида в длину, необязательно 21-23 нуклеотида в длину. Диапазоны и длины, которые являются промежуточными для указанных выше диапазонов и длин, также предусмотрены как часть настоящего изобретения.

В настоящем документе термин «цепь, содержащая последовательность» относится к олигонуклеотиду, содержащему цепь нуклеотидов, которая описана последовательностью, описанной с применением стандартной номенклатуры нуклеотидов.

Каждый из «G», «C», «A», «T» и «U» обычно обозначает нуклеотид, который содержит гуанин, цитозин, аденин, тимидин и урацил в качестве основания, соответственно. Однако будет понятно, что термин «рибонуклеотид» или «нуклеотид» также может относиться к модифицированному нуклеотиду, как более подробно описано ниже, или суррогатному заменяющему фрагменту (см., например, Таблицу 1). Специалисту

в данной области техники будет хорошо известно, что гуанин, цитозин, аденин и урацил могут быть заменены другими фрагментами без существенного изменения свойств спаривания оснований олигонуклеотида, содержащего нуклеотид, несущий такой заменяющий фрагмент. Например, без ограничения, нуклеотид, содержащий инозин в качестве его основания, может образовывать пару оснований с нуклеотидами, содержащими аденин, цитозин или урацил. Следовательно, нуклеотиды, содержащие урацил, гуанин или аденин, могут быть заменены в нуклеотидных последовательностях дцРНК, охарактеризованных в настоящем изобретении, нуклеотидом, содержащим, например, инозин. В другом примере аденин и цитозин в любом месте олигонуклеотида могут быть заменены гуанином и урацилом, соответственно, с образованием неоднозначной пары оснований G-U с целевой мРНК. Последовательности, содержащие такие заменяющие фрагменты, подходят для композиций и способов, охарактеризованных в настоящем изобретении.

Термины «иРНК», «агент РНКи», «иРНК-агент», «агент РНК-интерференции», используемые в настоящем документе взаимозаменяемо, относятся к агенту, который содержит РНК, в соответствии с определением этого термина в настоящем документе, и который опосредует нацеленное расщепление транскрипта РНК посредством пути РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC). иРНК направляет специфичную в отношении последовательности деградацию мРНК посредством процесса, известного как РНК-интерференция (РНКи). иРНК модулирует, например, ингибирует, экспрессию гена *TMPRSS6* в клетке, например, в клетке в организме субъекта, такого как субъект-млекопитающее.

Согласно одному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению включает одноцепочечную РНК, которая взаимодействует с последовательностью целевой РНК, например, последовательностью целевой мРНК *TMPRSS6*, для направления расщепления целевой РНК. Не ограничиваясь теорией, полагают, что длинная двухцепочечная РНК, введенная в клетки, расщепляется эндонуклеазой типа III, известной как Dicer, на киРНК (Sharp *et al.* (2001) *Genes Dev.* 15:485). Dicer, подобный рибонуклеазе-III фермент, процессирует дцРНК на короткие интерферирующие РНК из 19-23 пар оснований с характерными 3'-липкими концами из двух оснований (Bernstein, *et al.*, (2001) *Nature* 409:363). Затем киРНК встраиваются в РНК-индуцированный комплекс сайленсинга (RISC), в котором одна или более геликаз разматывают дуплекс киРНК, что позволяет комплементарной антисмысловой цепи направлять распознавание мишени (Nykanen, *et al.*, (2001) *Cell* 107:309). После связывания с подходящей целевой мРНК одна или более эндонуклеаз в RISC расщепляют мишень, чтобы индуцировать сайленсинг (Elbashir, *et al.*, (2001) *Genes Dev.* 15:188). Таким образом, согласно одному аспекту настоящее изобретение относится к одноцепочечной РНК (киРНК), образованной в клетке, которая способствует образованию RISC-комплекса для осуществления сайленсинга целевого гена, т. е. гена *TMPRSS6*. Соответственно, термин «киРНК» также используется в настоящем документе для обозначения иРНК, как описано

выше.

Согласно определенным вариантам реализации агент РНКи может представлять собой одноцепочечную киРНК (оцРНКи), которую вводят в клетку или организм для ингибирования целевой мРНК. Одноцепочечные агенты РНКи связываются с эндонуклеазой RISC, Argonaute 2, которая затем расщепляет целевую мРНК. Одноцепочечные киРНК обычно представляют собой 15-30 нуклеотидов и являются химически модифицированными. Дизайн и тестирование одноцепочечных киРНК описаны в патенте США № 8101348 и в Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Любая из антисмысловых нуклеотидных последовательностей, описанных в настоящем документе, может применяться в качестве одноцепочечной киРНК, описанной в настоящем документе, или как химически модифицированная с помощью способов, описанных в Lima *et al.*, (2012) *Cell* 150:883-894.

Согласно определенным вариантам реализации «иРНК» для применения в композициях, вариантах применения и способах согласно настоящему изобретению представляет собой двухцепочечную РНК и в настоящем документе называется «агентом на основе двухцепочечной РНК», «двухцепочечной молекулой РНК (дцРНК)», «агентом на основе дцРНК» или «дцРНК». Термин «дцРНК» относится к комплексу молекул рибонуклеиновой кислоты, имеющему дуплексную структуру, содержащую две антипараллельные и по существу комплементарные цепи нуклеиновой кислоты, называемые «смысловой» и «антисмысловой» ориентациями по отношению к целевой РНК, т. е. гену TMPRSS6. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения двухцепочечная РНК (дцРНК) запускает деградацию целевой РНК, например, мРНК, посредством посттранскрипционного механизма сайленсинга генов, называемого в настоящем документе РНК-интерференцией или РНКи.

В целом, большинство нуклеотидов каждой цепи молекулы дцРНК представляют собой рибонуклеотиды, но, как подробно описано в настоящем документе, каждая или обе цепи также могут включать один или более нерибонуклеотидов, например, дезоксирибонуклеотид или модифицированный нуклеотид. Кроме того, в данном описании «иРНК» может включать рибонуклеотиды с химическими модификациями; иРНК может включать значительные модификации в нескольких нуклеотидах. В настоящем документе термин «модифицированный нуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему независимо модифицированный сахарный фрагмент, модифицированную межнуклеотидную связь или модифицированное нуклеиновое основание или любую их комбинацию. Таким образом, термин модифицированный нуклеотид охватывает замены, добавления или удаления, например, функциональной группы или атома, в межнуклеозидных связях, сахарных фрагментах или нуклеиновых основаниях. Модификации, подходящие для применения в агентах согласно настоящему изобретению, включают все типы модификаций, раскрытых в настоящем документе или известных из уровня техники. Любые такие модификации, используемые в молекуле типа киРНК, включены в термин «иРНК» или «агент РНКи» для

целей настоящего описания и формулы изобретения.

Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения включение дезоксирибонуклеотида, если он присутствует в агенте РНКи, можно считать представляющим собой модифицированный нуклеотид.

Дуплексная область может иметь любую длину, которая обеспечивает специфичную деградацию желаемой целевой РНК посредством пути RISC, и может находиться в диапазоне примерно 19-36 пар оснований в длину, например, примерно 19-30 пар оснований в длину, например, примерно 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 пар оснований в длину, например, примерно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований в длину. Согласно определенным вариантам реализации дуплексная область представляет собой 19-21 пару оснований в длину, например, 21 пару оснований в длину. Диапазоны и длины, которые являются промежуточными для указанных выше диапазонов и длин, также предусмотрены как часть настоящего изобретения.

Две цепи, образующие дуплексную структуру, могут представлять собой различные части одной более крупной молекулы РНК, или они могут представлять собой отдельные молекулы РНК. Если две цепи являются частью одной более крупной молекулы и, следовательно, соединены непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующих дуплексную структуру, то соединяющая цепь РНК называется «петлей шпильки». Петля шпильки может содержать по меньшей мере один неспаренный нуклеотид. Согласно некоторым вариантам реализации петля шпильки может содержать по меньшей мере 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 20, 23 или более неспаренных нуклеотидов. Согласно некоторым вариантам реализации петля шпильки может представлять собой 10 или менее нуклеотидов. Согласно некоторым вариантам реализации петля шпильки может представлять собой 8 или менее неспаренных нуклеотидов. Согласно некоторым вариантам реализации петля шпильки может представлять собой 4-10 неспаренных нуклеотидов. Согласно некоторым вариантам реализации петля шпильки может представлять собой 4-8 нуклеотидов.

Если две по существу комплементарные цепи дцРНК состоят из отдельных молекул РНК, эти молекулы не обязательно должны быть соединены, но могут быть ковалентно соединены. Если две цепи ковалентно соединены путем, отличным от непрерывной цепи нуклеотидов, между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи, образующих дуплексную структуру, соединяющую структуру называют «линкером». Цепи РНК могут иметь одинаковое или различное число нуклеотидов. Максимальное число пар оснований представляет собой число нуклеотидов в самой короткой цепи дцРНК за вычетом любых липких концов, которые присутствуют в дуплексе. В дополнение к дуплексной структуре РНКи может содержать один или более нуклеотидных липких концов. Согласно одному варианту реализации агента РНКи по меньшей мере одна цепь

содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 1 нуклеотида. Согласно другому варианту реализации по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. Согласно другим вариантам реализации по меньшей мере одна цепь агента РНКи содержит 5'-липкий конец по меньшей мере из 1 нуклеотида. Согласно определенным вариантам реализации по меньшей мере одна цепь содержит 5'-липкий конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов, например, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11, 12, 13, 14 или 15 нуклеотидов. Согласно другим вариантам реализации как 3'-конец, так и 5'-конец одной цепи агента РНКи содержат липкий конец по меньшей мере из 1 нуклеотида.

Согласно определенным вариантам реализации агент иРНК согласно настоящему изобретению представляет собой дцРНК, каждая цепь которой содержит 19-23 нуклеотида, которая взаимодействует с последовательностью целевой РНК, например, геном TMPRSS6, для направления расщепления целевой РНК.

Согласно некоторым вариантам реализации иРНК согласно настоящему изобретению представляет собой дцРНК из 24-30 нуклеотидов, которая взаимодействует с целевой последовательностью РНК, например, последовательностью целевой мРНК TMPRSS6, для направления расщепления целевой РНК.

В настоящем документе термин «нуклеотидный липкий конец» относится по меньшей мере к одному неспаренному нуклеотиду, который выступает из дуплексной структуры двухцепочечной иРНК. Например, если 3'-конец одной цепи дцРНК выходит за пределы 5'-конца другой цепи, или наоборот, существует нуклеотидный липкий конец. дцРНК может содержать липкий конец по меньшей мере из одного нуклеотида; в качестве альтернативы, липкий конец может содержать по меньшей мере два нуклеотида, по меньшей мере три нуклеотида, по меньшей мере четыре нуклеотида, по меньшей мере пять нуклеотидов или более. Нуклеотидный липкий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Липкий(ие) конец(концы) может(могут) находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотид(ы) липкого конца может(могут) присутствовать на 5'-конце, 3'-конце или на обоих концах антисмысловой или смысловой цепи дцРНК.

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь дцРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, которые являются липкими на 3'-конце или 5'-конце. Согласно одному варианту реализации смысловая цепь дцРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, которые являются липкими на 3'-конце или 5'-конце. Согласно другому варианту реализации один или более нуклеотидов в липком конце заменены нуклеозидтиофосфатом.

Согласно определенным вариантам реализации антисмысловая цепь дцРНК содержит 1-10 нуклеотидов, например, 0-3, 1-3, 2-4, 2-5, 4-10, 5-10, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, которые являются липкими на 3'-конце или 5'-конце. Согласно одному варианту реализации смысловая цепь дцРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1,

2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, которые являются липкими на 3'-конце или 5'-конце. Согласно другому варианту реализации один или более нуклеотидов в липком конце заменены нуклеозидтиофосфатом.

Согласно определенным вариантам реализации антисмысловая цепь дцРНК имеет 1-10 нуклеотидов, например, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов, которые являются липкими на 3'-конце или 5'-конце. Согласно определенным вариантам реализации липкий конец на смысловой цепи или антисмысловой цепи, или на обеих цепях, может иметь большую длину, превышающую 10 нуклеотидов, например, 1-30 нуклеотидов, 2-30 нуклеотидов, 10-30 нуклеотидов, 10-25 нуклеотидов, 10-20 нуклеотидов или 10-15 нуклеотидов в длину. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец находится на смысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец присутствует на 3'-конце смысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец присутствует на 5'-конце смысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец находится на антисмысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец присутствует на 3'-конце антисмысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации удлиненный липкий конец присутствует на 5'-конце антисмысловой цепи дуплекса. Согласно определенным вариантам реализации один или более нуклеотидов в удлиненном липком конце заменены нуклеозидтиофосфатом. Согласно определенным вариантам реализации липкий конец включает самокомплементарную часть таким образом, что липкий конец способен образовывать шпильчатую структуру, которая является стабильной в физиологических условиях.

«Тупой» или «тупой конец» означает, что на этом конце агента на основе двухцепочечной РНК отсутствуют неспаренные нуклеотиды, т. е. отсутствует нуклеотидный липкий конец. Агент на основе двухцепочечной РНК с «тупыми концами» является двухцепочечным по всей своей длине, т. е. не имеет нуклеотидного липкого конца ни на одном конце молекулы. Агенты РНКи согласно настоящему изобретению включают агенты РНКи без нуклеотидного липкого конца на одном конце (т.е. агенты с одним липким концом и одним тупым концом) или без нуклеотидных липких концов на любом конце. Чаще всего такая молекула будет иметь двухцепочечную структуру по всей своей длине.

Термин «антисмысловая цепь» или «направляющая цепь» относится к цепи иРНК, например, дцРНК, которая включает область, которая по существу комплементарна целевой последовательности, например, мРНК TMPRSS6.

В настоящем документе термин «область комплементарности» относится к области на антисмысловой цепи, которая по существу комплементарна последовательности, например, целевой последовательности, например, нуклеотидной последовательности TMPRSS6, определенной в настоящем документе. Если область комплементарности не полностью комплементарна целевой последовательности, несовпадения могут находиться во внутренних или концевых областях молекулы. Обычно наиболее переносимые

несоответствия находятся в концевых областях, например, в пределах 5, 4 или 3 нуклеотидов 5'- или 3'-конца иРНК. Согласно некоторым вариантам реализации агент на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включает несовпадение нуклеотидов в антисмысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь агента на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включает не более 4 несовпадений с целевой мРНК, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений с целевой мРНК. Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь агента на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включает не более 4 несовпадений со смысловой цепью, например, антисмысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений со смысловой цепью. Согласно некоторым вариантам реализации агент на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включает несовпадение нуклеотидов в смысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации смысловая цепь агента на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включает не более 4 несовпадений с антисмысловой цепью, например, смысловая цепь включает 4, 3, 2, 1 или 0 несовпадений с антисмысловой цепью. Согласно некоторым вариантам реализации несовпадение нуклеотидов находится, например, в пределах 5, 4, 3 нуклеотидов от 3'-конца иРНК. Согласно другому варианту реализации несовпадение нуклеотидов находится, например, в 3'-концевом нуклеотиде агента иРНК. Согласно некоторым вариантам реализации несовпадение(я) не присутствует(ют) в затравочной области.

Таким образом, агент РНКи, описанный в настоящем документе, может содержать одно или более несовпадений с целевой последовательностью. Согласно одному варианту реализации агент РНКи, описанный в настоящем документе, содержит не более 3 несовпадений (т. е. 3, 2, 1 или 0 несовпадений). Согласно одному варианту реализации агент РНКи, описанный в настоящем документе, содержит не более 2 несовпадений. Согласно одному варианту реализации агент РНКи, описанный в настоящем документе, содержит не более 1 несовпадения. Согласно одному варианту реализации агент РНКи, описанный в настоящем документе, содержит 0 несовпадений. Согласно определенным вариантам реализации, если антисмысловая цепь агента РНКи содержит несовпадения с целевой последовательностью, несовпадение необязательно может быть ограничено нахождением в пределах последних 5 нуклеотидов либо 5'-конца, либо 3'-конца области комплементарности. Например, в таких вариантах реализации для 23-нуклеотидного агента РНКи цепь, которая комплементарна области гена TMPRSS6, обычно не содержит какого-либо несовпадения в пределах 13 центральных нуклеотидов. Способы, описанные в настоящем документе, или способы, известные в данной области техники, можно применять для определения того, является ли агент РНКи, содержащий несовпадение с целевой последовательностью, эффективным в ингибировании экспрессии гена TMPRSS6. Рассмотрение эффективности агентов РНКи с несовпадениями в ингибировании экспрессии гена TMPRSS6 является важным, в частности, если известно, что конкретная область комплементарности в гене TMPRSS6 имеет полиморфную вариацию



последовательности в популяции.

Термин «смысловая цепь» или «пассажирская цепь» в контексте настоящего документа относится к цепи иРНК, которая включает область, которая по существу комплементарна области антисмысловой цепи, в соответствии с определением этого термина в настоящем документе.

В настоящем документе термин «по существу все нуклеотиды модифицированы» означает в значительной степени, но не полностью, модифицированы и могут включать не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированного нуклеотида.

В настоящем документе термин «область расщепления» относится к области, которая расположена непосредственно рядом с сайтом расщепления. Сайт расщепления представляет собой сайт на мишени, в котором происходит расщепление. Согласно некоторым вариантам реализации область расщепления содержит три основания на любом конце сайта расщепления и непосредственно рядом с ним. Согласно некоторым вариантам реализации область расщепления содержит два основания на любом конце сайта расщепления и непосредственно рядом с ним. Согласно некоторым вариантам реализации сайт расщепления конкретно находится в сайте, связываемом нуклеотидами 10 и 11 антисмысловой цепи, и область расщепления содержит нуклеотиды 11, 12 и 13.

В настоящем документе, и если не указано иное, термин «комплементарный» при использовании для описания первой нуклеотидной последовательности по отношению ко второй нуклеотидной последовательности относится к способности олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, гибридизироваться и образовывать дуплексную структуру при определенных условиях с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, как будет понятно специалисту в данной области техники. Такие условия могут представлять собой, например, строгие условия, причем указанные строгие условия могут включать: 400 мМ NaCl, 40 мМ PIPES, pH 6,4, 1 мМ ЭДТА, 50°C или 70°C в течение 12-16 часов с последующим промыванием (см., например, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Sambrook, *et al.* (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press). Могут применяться другие условия, такие как физиологически уместные условия, которые могут встречаться внутри организма. Специалист в данной области техники сможет определить набор условий, наиболее подходящих для теста комплементарности двух последовательностей в соответствии с конечным применением гибридизованных нуклеотидов.

Комплементарные последовательности в пределах иРНК, например, в пределах дцРНК, описанной в настоящем документе, включают спаривание оснований олигонуклеотида или полинуклеотида, содержащего первую нуклеотидную последовательность, с олигонуклеотидом или полинуклеотидом, содержащим вторую нуклеотидную последовательность, по всей длине одной или обеих нуклеотидных последовательностей. В настоящем документе такие последовательности могут называться «полностью комплементарными» по отношению друг к другу. Однако, если в настоящем

документе первая последовательность называется «по существу комплементарной» по отношению ко второй последовательности, две последовательности могут быть полностью комплементарными или они могут образовывать одну или более, но обычно не более 5, 4, 3 или 2 несовпадающих пар оснований после гибридизации для дуплекса до 30 пар оснований, сохраняя при этом способность к гибридизации в условиях, наиболее соответствующих их конечному применению, например, ингибированию экспрессии гена *in vitro* или *in vivo*. Однако если два олигонуклеотида сконструированы, чтобы образовывать при гибридизации один или более одноцепочечных липких концов, такие липкие концы не должны рассматриваться как несовпадения в отношении определения комплементарности. Например, дцРНК, содержащая один олигонуклеотид из 21 нуклеотида в длину и другой олигонуклеотид из 23 нуклеотидов в длину, в которой более длинный олигонуклеотид содержит последовательность из 21 нуклеотида, которая полностью комплементарна более короткому олигонуклеотиду, все еще может называться «полностью комплементарной» для целей, описанных в настоящем документе.

«Комплементарные» последовательности в контексте настоящего документа также могут включать или могут быть полностью образованы из пар оснований, отличных от пар по Уотсону-Крику, или пар оснований, образованных из неприродных и модифицированных нуклеотидов, в той степени, в которой выполняются вышеуказанные требования в отношении их способности к гибридизации. Такие пары оснований, отличные от пар по Уотсону-Крику, включают, но не ограничиваются этим, неоднозначное спаривание оснований G:U или спаривание по Хугстину.

Термины «комплементарный», «полностью комплементарный» и «по существу комплементарный» в настоящем документе можно применять в отношении совпадения оснований между смысловой цепью и антисмысловой цепью дцРНК или между двумя олигонуклеотидами или полинуклеотидами, например, антисмысловой цепью агента на основе двухцепочечной РНК и целевой последовательностью, как будет понятно из контекста их применения.

В настоящем документе полинуклеотид, который «по существу комплементарен по меньшей мере части» матричной РНК (мРНК), относится к полинуклеотиду, который по существу комплементарен непрерывной части представляющей интерес мРНК (например, мРНК, кодирующей ген TMPRSS6). Например, полинуклеотид является комплементарным по меньшей мере части мРНК TMPRSS6, если последовательность является по существу комплементарной непрерывной части мРНК, кодирующей ген TMPRSS6.

Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, являются полностью комплементарными целевой последовательности TMPRSS6. Согласно другим вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, по существу комплементарны целевой последовательности TMPRSS6 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине эквивалентной области нуклеотидной

последовательности любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 или 9, или фрагменту любой из SEQ ID NO: 1, 3, 5, 7 или 9, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98% или примерно 99%.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности TМPRSS6 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине фрагменту SEQ ID NO:1, выбранному из группы нуклеотидов 187-210; 227-254; 322-363; 362-390; 398-420; 404-429; 410-435; 439-461; 443-467; 448-474; 460-483; 466-488; 496-519; 519-542; 526-548; 557-593; 641-671; 652-676; 687-713; 725-762; 757-794; 886-908; 921-951; 956-987; 1051-1082; 1233-1269; 1279-1313; 1313-1341; 1327-1351; 1415-1439; 1447-1480; 1464-1486; 1486-1509; 1559-1589; 1571-1595; 1579-1609; 1707-1735; 1738-1764; 1806-1828; 1864-1886; 1934-1966; 1967-1991; 2008-2031; 2015-2043; 2042-2072; 2287-2311; 2297-2354; 2336-2361; 2360-2384; 2416-2438; 2481-2510; 2496-2527; 2526-2558; 2665-2693; 2693-2719; 2707-2729; 2799-2821; 2851-2874; 2971-2999; 2981-3006; и 3155-3195 SEQ ID NO: 1, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98% или примерно 99%.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности TМPRSS6 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине фрагменту SEQ ID NO:1, выбранному из группы нуклеотидов 230-252, 324-346, 560-578, 560-582, 2338-2360, 3163-3185, 3169-3191 и 3172-3194 SEQ ID NO: 1, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98% или примерно 99%.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, по существу комплементарны фрагменту целевой последовательности TМPRSS6 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на 80% комплементарна по всей своей длине фрагменту SEQ ID NO:1, выбранному из группы нуклеотидов 560-578, 2338-2360 и 3169-3191 SEQ ID NO: 1, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98% или примерно 99%.

Согласно другим вариантам реализации антисмысловые полинуклеотиды, раскрытые в настоящем документе, по существу комплементарны целевой последовательности TМPRSS6 и содержат непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на примерно 80% комплементарна по всей

своей длине любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из Таблиц 2-7, или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей смысловой цепи в любой из Таблиц 2-7, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98%, примерно 99% или 100%.

Согласно одному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению включает смысловую цепь, которая по существу комплементарна антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, аналогичен целевой последовательности TМPRSS6, и причем указанный полинуклеотид смысловой цепи содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на примерно 80% комплементарна по всей своей длине эквивалентной области нуклеотидной последовательности SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 или 10, или фрагменту любой из SEQ ID NO: 2, 4, 6, 8 или 10, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98%, примерно 99% или 100%.

Согласно некоторым вариантам реализации иРНК согласно настоящему изобретению включает смысловую цепь, которая по существу комплементарна антисмысловому полинуклеотиду, который, в свою очередь, комплементарен целевой последовательности TМPRSS6, и причем указанный полинуклеотид смысловой цепи содержит непрерывную нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере на примерно 80% комплементарна по всей своей длине любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из Таблиц 2-7 или фрагменту любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из Таблиц 2-7, например, комплементарна на примерно 85%, примерно 90%, примерно 91%, примерно 92%, примерно 93%, примерно 94%, примерно 95%, примерно 96%, примерно 97%, примерно 98%, примерно 99% или 100%.

Согласно определенным вариантам реализации смысловая и антисмысловая цепи выбраны из любого из дуплексов AD-1556360, AD-1571158, AD-1571033, AD-1554875, AD-1571160, AD-1555117, AD-1554911 и AD-1556915.

Согласно определенным вариантам реализации смысловая и антисмысловая цепи выбраны из любого из дуплексов AD-1556360, AD-1571158 и AD-1571033.

В целом, «иРНК» включает рибонуклеотиды с химическими модификациями. Такие модификации могут включать все типы модификаций, раскрытых в настоящем документе или известных из уровня техники. Любые такие модификации, используемые в молекуле дцРНК, включены в термин «иРНК» для целей настоящего описания и формулы изобретения.

Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения включение дезокси-нуклеотида, если он присутствует в агенте РНКи, можно считать представляющим собой модифицированный нуклеотид.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения агент для применения в способах

и композициях согласно настоящему изобретению представляет собой молекулу одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида, которая ингибирует целевую мРНК посредством механизма антисмыслового ингибирования. Молекула одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида комплементарна последовательности в целевой мРНК. Одноцепочечные антисмысловые олигонуклеотиды могут ингибировать трансляцию стехиометрическим способом путем спаривания оснований с мРНК и физического затруднения механизма трансляции, см. Dias, N. *et al.*, (2002) *Mol Cancer Ther* 1:347-355. Молекула одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида может представлять собой от примерно 14 до примерно 30 нуклеотидов в длину и может иметь последовательность, комплементарную целевой последовательности. Например, молекула одноцепочечного антисмыслового олигонуклеотида может содержать последовательность, которая представляет собой по меньшей мере примерно 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 или более непрерывных нуклеотидов из любой из антисмысловых последовательностей, описанных в настоящем документе.

Выражение «приведение клетки в контакт с иРНК», такой как дцРНК, в контексте настоящего документа включает приведение клетки в контакт с помощью любых возможных средств. Приведение клетки в контакт с иРНК включает приведение клетки в контакт *in vitro* с иРНК или приведение клетки в контакт *in vivo* с иРНК. Приведение в контакт может быть выполнено непосредственно или опосредованно. Таким образом, например, иРНК может быть приведена в физический контакт с клеткой индивидуумом, выполняющим способ, или, в качестве альтернативы, иРНК можно поместить в ситуацию, которая позволит или вынудит ее впоследствии вступить в контакт с клеткой.

Контакт с клеткой *in vitro* можно осуществлять, например, путем инкубации клетки с иРНК. Контакт с клеткой *in vivo* можно осуществлять, например, путем инъекции иРНК в ткань или вблизи нее, где расположена клетка, или путем инъекции иРНК в другую область, например, в кровоток или подкожное пространство, таким образом, что агент впоследствии достигнет ткани, где находится клетка, подлежащая приведению в контакт. Например, иРНК может содержать или может быть связана с лигандом, например, GalNAc, который направляет иРНК в представляющий интерес сайт, например, в печень. Также возможны комбинации способов приведения в контакт *in vitro* и *in vivo*. Например, клетку также можно приводить в контакт *in vitro* с иРНК и впоследствии трансплантировать субъекту.

Согласно определенным вариантам реализации приведение клетки в контакт с иРНК включает «введение» или «доставку иРНК в клетку» путем облегчения или осуществления поглощения или всасывания в клетку. Всасывание или поглощение иРНК может происходить посредством пассивной диффузии или активных клеточных процессов или с помощью вспомогательных агентов или устройств. Введение иРНК в клетку можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Например, для введения *in vivo* иРНК можно вводить путем инъекции в участок ткани или вводить системно. Введение *in vitro* в клетку включает способы, известные в данной области техники, такие как электропорация и липофекция. Дополнительные подходы описаны в настоящем документе ниже или известны в данной

области техники.

Термин «липидная наночастица» или «LNP» представляет собой везикулу, содержащую липидный слой, инкапсулирующий фармацевтически активную молекулу, такую как молекула нуклеиновой кислоты, например, иРНК или плазмиду, из которой транскрибируется иРНК. LNP описаны, например, в патентах США №№ 6858225, 6815432, 8158601 и 8058069, полное содержание которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

В настоящем документе «субъект» представляет собой животное, такое как млекопитающее, включая примата (такого как человек, отличный от человека примат, например, обезьяна и шимпанзе), отличное от примата животное (такое как корова, свинья, лошадь, коза, кролик, овца, хомяк, морская свинка, кошка, собака, крыса или мышь), или птица, которое экспрессирует целевой ген эндогенно или гетерологично. Согласно варианту реализации субъект представляет собой человека, такого как человек, которого лечат или оценивают на наличие заболевания или нарушения, при котором может быть получена польза от снижения экспрессии TMPRSS6; человек, подверженный риску развития заболевания или нарушения, при котором может быть получена польза от снижения экспрессии TMPRSS6; человек, имеющий заболевание или нарушение, при котором может быть получена польза от снижения экспрессии TMPRSS6; или человек, у которого лечат заболевание или нарушение, при котором может быть получена польза от снижения экспрессии TMPRSS6, как описано в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации субъект представляет собой женщину. Согласно другим вариантам реализации субъект представляет собой мужчину. Согласно одному варианту реализации субъект представляет собой взрослого субъекта. Согласно другому варианту реализации субъект представляет собой педиатрического субъекта.

В настоящем документе термины «осуществлять лечение» или «лечение» относятся к благоприятному или желаемому результату, такому как уменьшение по меньшей мере одного признака или симптома TMPRSS6-ассоциированного нарушения у субъекта. Лечение также включает уменьшение одного или более признаков или симптомов, ассоциированных с нежелательной экспрессией TMPRSS6; уменьшение степени нежелательной активации TMPRSS6 или стабилизацию; уменьшение или облегчение нежелательной активации TMPRSS6 или стабилизацию. «Лечение» также может означать продление выживаемости по сравнению с ожидаемой выживаемостью при отсутствии лечения. Термин «более низкий» в контексте уровня TMPRSS6 у субъекта или маркера или симптома заболевания относится к статистически достоверному уменьшению такого уровня. Уменьшение может представлять собой, например, по меньшей мере 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, %, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или более. Согласно определенным вариантам реализации уменьшение составляет по меньшей мере 20%. Согласно определенным вариантам реализации уменьшение представляет собой по меньшей мере 50% уменьшение маркера заболевания, например, уровня экспрессии белка или гена. «Более низкий» в контексте уровня TMPRSS6 у субъекта представляет

собой уменьшение до уровня, который принят как находящийся в пределах нормального диапазона для индивидуума без такого нарушения. Согласно определенным вариантам реализации «более низкий» представляет собой уменьшение различия между уровнем маркера или симптома у субъекта, страдающего заболеванием, и уровнем, который принят как находящийся в пределах нормального диапазона для индивидуума, например, уровень уменьшения веса тела между индивидуумом с ожирением и индивидуумом, имеющим вес, принятый как находящийся в пределах нормального диапазона.

В настоящем документе «предотвращение» или «осуществлять предотвращение» при использовании в отношении заболевания, нарушения или состояния, которое можно лечить или облегчать путем снижения экспрессии гена *TMPRSS6*, относится к снижению вероятности развития у субъекта симптома, ассоциированного с таким заболеванием, нарушением или состоянием, например, симптома нежелательной или чрезмерной экспрессии *TMPRSS6*, такого как повышенные уровни железа или нарушение регуляции железа. Вероятность развития повышенных уровней железа или нарушения регуляции железа снижается, например, когда у индивидуума, имеющего один или более факторов риска развития повышенных уровней железа или нарушения регуляции железа, либо не развиваются повышенные уровни железа или нарушение регуляции железа, либо развиваются повышенные уровни железа или нарушение регуляции железа с меньшей степенью тяжести по сравнению с популяцией, имеющей те же факторы риска и не получающей лечения, как описано в настоящем документе. Невозможность развития заболевания, нарушения или состояния или снижение вероятности развития симптома, связанного с таким заболеванием, нарушением или состоянием (например, по меньшей мере примерно на 10% по клинически приемлемой шкале для этого заболевания или нарушения), или появление отсроченных симптомов (например, на дни, недели, месяцы или годы) считается эффективным предотвращением.

В настоящем документе термин «ассоциированное с трансмембранной сериновой протеазой 6 заболевание» или «*TMPRSS6*-ассоциированное заболевание» представляет собой заболевание или нарушение, которое вызвано или ассоциировано с экспрессией гена *TMPRSS6* или продукцией белка *TMPRSS6*. Термин «*TMPRSS6*-ассоциированное заболевание» включает заболевание, нарушение или состояние, при котором может быть получена польза в результате уменьшения экспрессии, репликации гена *TMPRSS6* или активности белка *TMPRSS6*.

Согласно некоторым вариантам реализации *TMPRSS6*-ассоциированное заболевание представляет собой нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, состояние, характеризующееся повышенными уровнями железа, или нарушение регуляции железа. Перегрузка железом может быть вызвана, например, наследственными состояниями, повышенным поглощением железа из пищи или избытком железа, вводимого парентерально, что включает внутривенную инъекцию избытка железа и перегрузку железом при переливании.

Согласно некоторым вариантам реализации *TMPRSS6*-ассоциированное

заболевание представляет собой нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом. Неэффективный эритропоэз представляет собой патологическое повышение числа эритроидных прогениторных клеток с непродуктивным синтезом безъядерных эритроцитов, что приводит к анемии и гипоксии. В частности, увеличение числа эритроидных клеток не приводит к соответствующему увеличению числа эритроцитов. Как следствие, всасывание железа все еще повышается в ответ на стресс, но железо откладывается в органах, а не используется для образования большего числа эритроцитов.

Согласно некоторым вариантам реализации Tmprss6-ассоциированные нарушения включают, но не ограничиваются перечисленными, наследственный гемохроматоз, идиопатический гемохроматоз, первичный гемохроматоз, вторичный гемохроматоз, тяжелый ювенильный гемохроматоз, неонатальный гемохроматоз, сидеробластную анемию, гемолитическую анемию, дизэритропоэтическую анемию, серповидноклеточную анемию, гемоглобинопатию, талассемию (например,  $\beta$ -талассемию и  $\alpha$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, хронические заболевания печени, позднюю кожную порфирию, эритропоэтическую порфирию, атрансферринемия, наследственную тирозинемия, цереброгепаторенальный синдром, идиопатический гемосидероз легких, гемосидероз почек.

Согласно некоторым вариантам реализации Tmprss6-ассоциированные нарушения включают нарушения, ассоциированные с пероральным введением избытка железа, перегрузкой железом при переливании и внутривенной инъекцией избытка железа.

Согласно другим вариантам реализации Tmprss6-ассоциированные нарушения также включают нарушения с симптомами, которые ассоциированы с перегрузкой железом или могут быть вызваны ею. Такие симптомы включают повышенный риск развития заболевания печени (цирроза, рака), сердечного приступа или сердечной недостаточности, сахарного диабета, остеоартрита, остеопороза, метаболического синдрома, гипотиреоза, гипогонадизма и в некоторых случаях преждевременной смерти. Согласно одному варианту реализации Tmprss6-ассоциированные нарушения включают нейродегенеративные нарушения, ассоциированные с перегрузкой железом и/или нарушением регуляции железа, такие как болезнь Альцгеймера, болезнь Паркинсона, болезнь Хантингтона, атаксию Фридрейха, эпилепсию и рассеянный склероз. С помощью введения иРНК, нацеленной на Tmprss6, например, иРНК, описанной в любой из Таблиц 2-7, можно осуществлять лечение одного или более из этих симптомов или предотвращать развитие или прогрессирование заболевания или нарушения, которое усугубляется повышенными уровнями железа.

Согласно одному варианту реализации Tmprss6-ассоциированное нарушение представляет собой  $\beta$ -талассемию.  $\beta$ -талассемия является представителем группы наследственных нарушений, характеризующихся генетическим дефицитом в синтезе цепей бета-глобина. В гомозиготном состоянии бета-талассемия («большая талассемия») вызывает тяжелую, зависимую от переливания крови анемию. В гетерозиготном состоянии



признак бета-талассемии («малая талассемия») вызывает микроцитарную анемию легкой или умеренной степени тяжести. «Промежуточная талассемия» представляет собой  $\beta$ -талассемию, при которой клиническая степень тяжести заболевания у субъектов находится примерно между симптомами легкой степени тяжести малой  $\beta$ -талассемии и большой  $\beta$ -талассемией. Несколько лабораторных тестов могут быть использованы для облегчения детектирования и диагностики талассемии, например, общий анализ крови для определения числа эритроцитов и количества гемоглобина, анализ мазка крови, электрофорез гемоглобина, секвенирование генов или тесты на железо для исследования уровня железа, ферритина, ненасыщенной железосвязывающей способности, общей железосвязывающей способности или уровня насыщения трансферрина. Тип и относительное количество гемоглобина, присутствующего в эритроцитах, являются еще одним показателем талассемии.  $\beta$ -талассемия нарушает баланс образования бета- и альфа-цепей гемоглобина и вызывает повышение уровня неосновных компонентов гемоглобина. Таким образом, индивидуумы с большой  $\beta$ -талассемией обычно имеют большую долю Hb F. У индивидуумов с малой  $\beta$ -талассемией обычно повышена доля Hb A<sub>2</sub>.

Согласно одному варианту реализации  $\beta$ -талассемия представляет собой большую талассемию. Согласно другому варианту реализации  $\beta$ -талассемия представляет собой промежуточную талассемию.

Согласно некоторым вариантам реализации TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой истинную полицитемию. Истинная полицитемия представляет собой тип рака крови, который приводит к тому, что костный мозг вырабатывает избыток эритроцитов. Эти избыточные клетки обычно утолщают кровеносные сосуды, что делает пациентов более склонными к образованию кровяных тромбов и другим осложнениям, таким как инсульт или сердечный приступ. Несколько тестов могут быть выполнены для облегчения детектирования и диагностики истинной полицитемии, например, общий анализ крови, анализ мазка крови, тест на уровень эритропоэтина, аспирация или биопсия костного мозга или секвенирование генов.

«Терапевтически эффективное количество» в контексте настоящего документа подразумевает включение количества агента РНКи, которое при введении субъекту, имеющему TMPRSS6-ассоциированное заболевание, является достаточным для осуществления лечения заболевания (например, путем ослабления, облегчения или поддержания существующего заболевания или одного или более симптомов заболевания). «Терапевтически эффективное количество» может варьироваться в зависимости от агента РНКи, способа введения агента, заболевания и его тяжести, а также анамнеза, возраста, массы тела, семейного анамнеза, генетического фона, типов предшествующих или сопутствующих видов лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных характеристик субъекта, подлежащего лечению.

«Профилактически эффективное количество» в контексте настоящего документа подразумевает включение количества агента РНКи, которое при введении субъекту, имеющему TMPRSS6-ассоциированное нарушение, является достаточным для

предотвращения или облегчения заболевания или одного или более симптомов заболевания. Облегчение заболевания включает замедление течения заболевания или снижение тяжести заболевания с более поздним началом. «Профилактически эффективное количество» может варьироваться в зависимости от агента РНКи, способа введения агента, степени риска развития заболевания и анамнеза, возраста, массы тела, семейного анамнеза, генетического фона, типов предшествующих или сопутствующих видов лечения, если таковые имеются, и других индивидуальных характеристик пациента, подлежащего лечению.

«Терапевтически эффективное количество» или «профилактически эффективное количество» также включает количество агента РНКи, которое обеспечивает некоторый желаемый эффект при разумном соотношении польза/риск, применимом к любому лечению. иРНК, применяемую в способах согласно настоящему изобретению, можно вводить в достаточном количестве для получения разумного соотношения польза/риск, применимого к такому лечению.

Выражение «фармацевтически приемлемый» применяется в настоящем документе для обозначения тех соединений, материалов (включая соли), композиций или лекарственных форм, которые, в рамках обоснованного медицинского суждения, подходят для применения в контакте с тканями субъектов-людей и субъектов-животных без чрезмерной токсичности, раздражения, аллергической реакции или другой проблемы или осложнения, соразмерно разумному соотношению польза/риск.

Выражение «фармацевтически приемлемый носитель» в контексте настоящего документа означает фармацевтически приемлемый материал, композицию или носитель, такой как жидкий или твердый наполнитель, разбавитель, вспомогательное вещество, производственное вспомогательное вещество (например, смазывающее вещество, тальк, стеарат магния, кальция или цинка или стеариновую кислоту) или инкапсулирующий растворитель материал, участвующий в переносе или транспортировке рассматриваемого соединения из одного органа или части тела в другой орган или часть тела. Каждый носитель должен быть «приемлемым» в смысле совместимости с другими ингредиентами состава и не должен быть вредным для субъекта, которого лечат. Такие носители известны из уровня техники. Фармацевтически приемлемые носители включают носители для введения путем инъекции.

Термин «образец» в контексте настоящего документа включает набор сходных жидкостей, клеток или тканей, выделенных у субъекта, а также жидкостей, клеток или тканей, присутствующих в организме субъекта. Примеры биологических жидкостей включают кровь, сыворотку крови и серозные жидкости, плазму, спинномозговую жидкость, глазные жидкости, лимфу, мочу, слюну и т. п. Образцы тканей могут включать образцы из тканей, органов или локализованных областей. Например, образцы могут быть получены из конкретных органов, частей органов или жидкостей или клеток в этих органах. Согласно определенным вариантам реализации образцы могут быть получены из печени (например, всей печени или определенных сегментов печени или определенных типов

клеток в печени, таких как, например, гепатоциты). Согласно некоторым вариантам реализации «образец, полученный от субъекта» относится к моче, полученной от субъекта. «Образец, полученный от субъекта» может относиться к крови или полученной из крови сыворотке или плазме крови субъекта.

## II. иРНК согласно настоящему изобретению

Согласно настоящему изобретению предложены иРНК, которые ингибируют экспрессию гена *TMPRSS6*. Согласно определенным вариантам реализации иРНК включает молекулы двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии гена *TMPRSS6* в клетке, такой как клетка в организме субъекта, например, млекопитающего, такого как человек, подверженный развитию *TMPRSS6*-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом, например, наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии (например, большой  $\beta$ -талассемии и промежуточной  $\beta$ -талассемии), истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера или атаксии Фридрейха. Агент дцРНК включает антисмысловую цепь, имеющую область комплементарности, которая комплементарна по меньшей мере части мРНК, образованной при экспрессии гена *TMPRSS6*. Область комплементарности составляет примерно 19-30 нуклеотидов в длину (например, примерно 30, 29, 28, 27, 26, 25, 24, 23, 22, 21, 20 или 19 нуклеотидов в длину).

При контакте с клеткой, экспрессирующей ген *TMPRSS6*, иРНК ингибирует экспрессию гена *TMPRSS6* (например, гена *TMPRSS6* человека, примата, животного, отличного от примата, или крысы) по меньшей мере на примерно 50% по данным анализа с помощью, например, ПЦР или способа на основе разветвленной ДНК (bDNA) или способа на основе белка, например, иммунофлуоресцентного анализа, с использованием, например, методик Вестерн-блоттинга или проточной цитометрии. Согласно определенным вариантам реализации ингибирование экспрессии определяют с помощью способа кПЦР, предусмотренного в примерах в настоящем документе, с иРНК в концентрации, например, 10 нМ, в линии клеток соответствующего организма, предложенной в настоящем документе. Согласно определенным вариантам реализации ингибирование экспрессии *in vivo* определяют путем нокдауна гена человека у грызуна, экспрессирующего ген человека, например, у мыши или мыши, инфицированной ААВ, экспрессирующей целевой ген человека, например, при введении в виде однократной дозы, например, при 3 мг/кг при наименьшей величине экспрессии РНК.

дцРНК включает две цепи РНК, которые комплементарны и гибридизуются с образованием дуплексной структуры в условиях, в которых будет применяться дцРНК. Одна цепь дцРНК (антисмысловая цепь) включает область комплементарности, которая по существу комплементарна и обычно полностью комплементарна целевой последовательности. Целевая последовательность может быть получена из последовательности мРНК, образованной во время экспрессии гена *TMPRSS6*. Другая цепь

(смысловая цепь) включает область, которая комплементарна антисмысловой цепи так, что две цепи гибридизуются и образуют дуплексную структуру при объединении в подходящих условиях. Как описано в другом месте настоящего документа и как известно в данной области техники, комплементарные последовательности дцРНК также могут содержаться в качестве самокомплементарных областей одной молекулы нуклеиновой кислоты, в отличие от нахождения на отдельных олигонуклеотидах.

Обычно дуплексная структура представляет собой 15-30 пар оснований в длину, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пары оснований в длину. Согласно определенным вариантам реализации дуплексная структура представляет собой 18-25 пар оснований в длину, например, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-25, 21-24, 21-23, 21-22, 22-25, 22-24, 22-23, 23-25, 23-24 или 24-25 пар оснований в длину, например, 19-21 пару оснований в длину. Диапазоны и длины, которые являются промежуточными для указанных выше диапазонов и длин, также предусмотрены как часть настоящего изобретения.

Сходным образом, область комплементарности целевой последовательности представляет собой 15-30 нуклеотидов в длину, например, 15-29, 15-28, 15-27, 15-26, 15-25, 15-24, 15-23, 15-22, 15-21, 15-20, 15-19, 15-18, 15-17, 18-30, 18-29, 18-28, 18-27, 18-26, 18-25, 18-24, 18-23, 18-22, 18-21, 18-20, 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 нуклеотида в длину, например, 19-23 нуклеотида в длину или 21-23 нуклеотида в длину. Диапазоны и длины, которые являются промежуточными для указанных выше диапазонов и длин, также предусмотрены как часть настоящего изобретения.

Согласно некоторым вариантам реализации дуплексная структура представляет собой от 19 до 30 пар оснований в длину. Сходным образом, область комплементарности целевой последовательности представляет собой от 19 до 30 нуклеотидов в длину.

Согласно некоторым вариантам реализации дцРНК представляет собой от примерно 19 до примерно 23 нуклеотидов в длину или от примерно 25 до примерно 30 нуклеотидов в длину. Обычно дцРНК является достаточно длинной, чтобы служить в качестве субстрата для фермента Dicer. Например, из уровня техники хорошо известно, что дцРНК длиннее примерно 21-23 нуклеотидов в длину могут служить в качестве субстратов Dicer. Обычный специалист в данной области техники также поймет, что область РНК, которая является мишенью для расщепления, чаще всего будет являться частью более крупной молекулы РНК, часто молекулы мРНК. В соответствующих случаях «часть» целевой мРНК представляет собой непрерывную последовательность целевой мРНК, имеющую достаточную длину, чтобы она могла быть субстратом для РНКи-направленного

расщепления (т. е. расщепления посредством пути RISC).

Специалист в данной области техники также поймет, что дуплексная область представляет собой основную функциональную часть дцРНК, например, дуплексная область из примерно 19-30 пар оснований, например, примерно 19-30, 19-29, 19-28, 19-27, 19-26, 19-25, 19-24, 19-23, 19-22, 19-21, 19-20, 20-30, 20-29, 20-28, 20-27, 20-26, 20-25, 20-24, 20-23, 20-22, 20-21, 21-30, 21-29, 21-28, 21-27, 21-26, 21-25, 21-24, 21-23 или 21-22 пар оснований. Таким образом, согласно одному варианту реализации, в той степени, в которой она(он) подвергается процессингу в функциональный дуплекс, например, из 15-30 пар оснований, который нацелен на желаемую РНК для расщепления, молекула РНК или комплекс молекул РНК, имеющий дуплексную область из более чем 30 пар оснований, представляет собой дцРНК. Таким образом, обычный специалист в данной области техники поймет, что согласно одному варианту реализации миРНК представляет собой дцРНК. Согласно другому варианту реализации дцРНК не представляет собой встречающуюся в природе миРНК. Согласно другому варианту реализации агент иРНК, который можно применять для нацеливания на экспрессию гена TMPRSS6, не образуется в целевой клетке путем расщепления более крупной дцРНК.

ДцРНК, описанная в настоящем документе, может дополнительно включать один или более одноцепочечных нуклеотидных липких концов, например, 1-4, 2-4, 1-3, 2-3, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида. дцРНК, имеющие по меньшей мере один нуклеотидный липкий конец, могут обладать превосходными ингибирующими свойствами по сравнению с их аналогами с тупыми концами. Нуклеотидный липкий конец может содержать или состоять из аналога нуклеотида/нуклеозида, включая дезоксинуклеотид/нуклеозид. Липкий(ие) конец(концы) может(могут) находиться на смысловой цепи, антисмысловой цепи или любой их комбинации. Кроме того, нуклеотид(ы) липкого конца может(могут) присутствовать на 5'-конце, 3'-конце или на обоих концах антисмысловой или смысловой цепи дцРНК.

ДцРНК может быть синтезирована с помощью стандартных способов, известных в данной области техники. Двухцепочечные соединения РНКи согласно настоящему изобретению можно получить с использованием двухэтапной процедуры. Сначала отдельные цепи двухцепочечной молекулы РНК получают по отдельности. Затем цепь-компоненты ренатурируют. Отдельные цепи соединения киРНК могут быть получены с использованием органического синтеза в жидкой фазе или в твердой фазе или и того, и другого. Преимуществом органического синтеза является легкое получение олигонуклеотидных цепей, содержащих неприродные или модифицированные нуклеотиды. Сходным образом, одноцепочечные олигонуклеотиды согласно настоящему изобретению могут быть получены с использованием органического синтеза в жидкой фазе или в твердой фазе или и того, и другого.

Согласно аспекту дцРНК согласно настоящему изобретению включает по меньшей мере две нуклеотидные последовательности, смысловую последовательность и антисмысловую последовательность. Смысловая цепь выбрана из группы последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-7, и соответствующая

антисмысловая цепь для смысловой цепи выбрана из группы последовательностей в любой из Таблиц 2-7. В этом аспекте одна из двух последовательностей комплементарна другой из двух последовательностей, при этом одна из последовательностей по существу комплементарна последовательности мРНК, образованной при экспрессии гена TMPRSS6. Таким образом, в данном аспекте дцРНК будет включать два олигонуклеотида, причем один олигонуклеотид описан в качестве смысловой цепи в любой из Таблиц 2-7, и второй олигонуклеотид описан в качестве соответствующей антисмысловой цепи для смысловой цепи в любой из Таблиц 2-7.

Согласно определенным вариантам реализации по существу комплементарные последовательности дцРНК содержатся в отдельных олигонуклеотидах. Согласно другим вариантам реализации по существу комплементарные последовательности дцРНК содержатся в одном олигонуклеотиде.

Согласно одному варианту реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15, **например**, 15, 16, 17, 18, 19 или 20, последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 0, 1, 2 или 3 нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи в любой из Таблиц 2-7.

Следует понимать, что, хотя последовательности, например, в Таблицах 3 или 5, не описаны как модифицированные или конъюгированные последовательности, РНК в случае иРНК согласно настоящему изобретению, например, дцРНК согласно настоящему изобретению, может содержать любую из последовательностей, изложенных в любой из Таблиц 2-7, которая является немодифицированной, неконъюгированной или модифицированной или конъюгированной отличным образом от последовательностей, описанных в таблицах. Другими словами, настоящее изобретение включает дцРНК из Таблиц 2-7, которые являются немодифицированными, неконъюгированными, модифицированными или конъюгированными, как описано в настоящем документе.

Специалисту в данной области техники будет хорошо известно, что дцРНК, имеющие дуплексную структуру из примерно 20-23 пар оснований, например, 21 пару оснований, были хорошо приняты как особенно эффективные в индукции РНК-интерференции (Elbashir *et al.*, *EMBO* 2001, 20:6877-6888). Однако другие обнаружили, что более короткие или более длинные дуплексные структуры РНК также могут быть эффективными (Chu and Rana (2007) *RNA* 14:1714-1719; Kim *et al.* (2005) *Nat Biotech* 23:222-226). В вариантах реализации, описанных выше, в силу природы олигонуклеотидных последовательностей, предложенных в любой из Таблиц 2-7, дцРНК, описанные в настоящем документе, могут включать по меньшей мере одну цепь длиной минимум 21 нуклеотид. Можно обоснованно ожидать, что более короткие дуплексы, имеющие любую из последовательностей в любой из Таблиц 2-7, за исключением только нескольких нуклеотидов на одном или обоих концах, могут обладать близкой эффективностью в сравнении с дцРНК, описанными выше. Следовательно, предусмотрено, что дцРНК, имеющие последовательность из по меньшей мере 19, 20 или более последовательных нуклеотидов, полученных из любой из последовательностей в любой из Таблиц 2-7, и

отличающиеся по своей способности ингибировать экспрессию гена *TMPRSS6* не более чем на примерно 5, 10, 15, 20, 25 или 30% от ингибирования дцРНК, содержащей полную последовательность, включены в объем настоящего изобретения.

Кроме того, РНК, приведенные в Таблицах 2-7, идентифицируют сайт(ы) в транскрипте *TMPRSS6*, который(ые) является(являются) восприимчивым(и) к RISC-опосредуемому расщеплению. Таким образом, согласно настоящему изобретению дополнительно охарактеризованы иРНК, которые нацелены в пределах одного из этих сайтов. В настоящем документе считается, что иРНК нацелена в пределах конкретного сайта транскрипта РНК, если иРНК способствует расщеплению транскрипта в любом месте в пределах данного конкретного сайта. Такая иРНК обычно будет включать по меньшей мере примерно 19 последовательных нуклеотидов из любой из последовательностей, представленных в любой из Таблиц 2-7, соединенных с дополнительными нуклеотидными последовательностями, взятыми из области, смежной с выбранной последовательностью в гене *TMPRSS6*.

### III. Модифицированные иРНК согласно настоящему изобретению

Согласно определенным вариантам реализации РНК в случае иРНК согласно настоящему изобретению, например, дцРНК, не модифицирована и не содержит, например, химических модификаций или конъюгаций, известных в данной области техники и описанных в настоящем документе. Согласно другим вариантам реализации РНК в случае иРНК согласно настоящему изобретению, например, дцРНК, химически модифицирована для повышения стабильности или других благоприятных характеристик. Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения по существу все нуклеотиды иРНК согласно настоящему изобретению модифицированы. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения все нуклеотиды иРНК или по существу все нуклеотиды иРНК модифицированы, т. е. в цепи иРНК присутствует не более 5, 4, 3, 2 или 1 немодифицированного нуклеотида.

Нуклеиновые кислоты, охарактеризованные в настоящем изобретении, можно синтезировать или модифицировать с помощью способов, хорошо установленных в данной области техники, таких как описанные в источнике «Current protocols in nucleic acid chemistry», Beaucage, S.L. *et al.* (Edrs.), John Wiley & Sons, Inc., New York, NY, USA, который включен в настоящий документ посредством ссылки. Модификации включают, например, концевые модификации, например, 5'-концевые модификации (фосфорилирование, конъюгацию, инвертированные связи) или 3'-концевые модификации (конъюгацию, ДНК-нуклеотиды, инвертированные связи и т. д.); модификации оснований, например, замену стабилизирующими основаниями, дестабилизирующими основаниями, или основаниями, которые спариваются с расширенным репертуаром партнеров, удаление оснований (лишенные азотистого основания нуклеотиды), или конъюгированные основания; модификации сахара (например, в 2'-положении или 4'-положении) или замену сахара; или модификации остова, включая модификацию или замену фосфодиэфирных связей. Конкретные примеры соединений иРНК, которые можно применять в вариантах

реализации, описанных в настоящем документе, включают, но не ограничиваются этим, РНК, содержащие модифицированные остовы или не содержащие природных межнуклеозидных связей. РНК, имеющие модифицированные остовы, включают, помимо прочего, РНК, не содержащие атома фосфора в остове. Для целей настоящего описания и как иногда упоминается в данной области техники, модифицированные РНК, которые не имеют атома фосфора в их межнуклеозидном остове, также можно считать олигонуклеозидами. Согласно некоторым вариантам реализации модифицированная иРНК будет иметь атом фосфора в своем межнуклеозидном остове.

Модифицированные остовы РНК включают, например, фосфотиоаты, хиральные фосфотиоаты, фосфодитиоаты, фосфотриэфиры, аминокилфосфотриэфиры, метил- и другие алкилфосфонаты, включая 3'-алкиленфосфонаты и хиральные фосфонаты, фосфинаты, фосфорамидаты, включая 3'-аминофосфорамидаты и аминокилфосфорамидаты, тионофосфорамидаты, тиоалкилфосфонаты, тиоалкилфосфотриэфиры, и боранофосфаты, имеющие нормальные 3'-5'-связи, их 2'-5'-связанные аналоги, и те, которые имеют инвертированную полярность, при которой смежные пары нуклеозидных звеньев соединены 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. Также включены различные соли, смешанные соли и формы свободной кислоты. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения агенты на основе дцРНК согласно настоящему изобретению находятся в форме свободной кислоты. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения агенты на основе дцРНК согласно настоящему изобретению находятся в форме соли. Согласно одному варианту реализации агенты на основе дцРНК согласно настоящему изобретению находятся в форме соли натрия. Согласно определенным вариантам реализации, если агенты на основе дцРНК согласно настоящему изобретению находятся в форме соли натрия, ионы натрия присутствуют в указанном агенте в качестве противоионов по существу для всех фосфодизфирных и/или фосфотиоатных групп, присутствующих в указанном агенте. Агенты, в которых по существу все из фосфодизфирных и/или фосфотиоатных связей имеют противоион натрия, включают не более 5, 4, 3, 2 или 1 фосфодизфирной и/или фосфотиоатной связи без противоиона натрия. Согласно некоторым вариантам реализации, если агенты на основе дцРНК согласно настоящему изобретению находятся в форме соли натрия, ионы натрия присутствуют в указанном агенте в качестве противоионов для всех фосфодизфирных и/или фосфотиоатных групп, присутствующих в указанном агенте.

Типичные патенты США, в которых раскрыто получение упомянутых выше фосфоросодержащих связей, включают, но не ограничиваются перечисленными, патенты США №№ 3687808; 4469863; 4476301; 5023243; 5177195; 5188897; 5264423; 5276019; 5278302; 5286717; 5321131; 5399676; 5405939; 5453496; 5455233; 5466677; 5476925; 5519126; 5536821; 5541316; 5550111; 5563253; 5571799; 5587361; 5625050; 6028188; 6124445; 6160109; 6169170; 6172209; 6239265; 6277603; 6326199; 6346614; 6444423; 6531590; 6534639; 6608035; 6683167; 6858715; 6867294; 6878805; 7015315; 7041816; 7273933; 7321029; и патент США RE39464, полное содержание каждого из которых



включено в настоящий документ посредством ссылки.

Модифицированные остовы РНК, которые не включают в себя атом фосфора, имеют остовы, которые образованы короткоцепочечными алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями, смешанными гетероатомными и алкильными или циклоалкильными межнуклеозидными связями или одной или более короткоцепочечными гетероатомными или гетероциклическими межнуклеозидными связями. К ним относятся те, которые имеют морфолиновые связи (частично образованные из сахарной части нуклеозида); силоксановые остовы; сульфидные, сульфоксидные и сульфоновые остовы; формацетильные и тиоформацетильные остовы; метиленформацетильные и тиоформацетильные остовы; содержащие алкены остовы; сульфаматные остовы; метилениминовые и метиленгидразиновые остовы; сульфонатные и сульфонамидные остовы; амидные остовы; и другие, имеющие смешанные составные части N, O, S и CH<sub>2</sub>.

Типичные патенты США, в которых раскрыто получение упомянутых выше олигонуклеозидов, включают, но не ограничиваются перечисленными, патенты США №№ 5034506; 5166315; 5185444; 5214134; 5216141; 5235033; 564562; 5264564; 5405938; 5434257; 5466677; 5470967; 5489677; 5541307; 5561225; 5596086; 5602240; 5608046; 5610289; 5618704; 5623070; 5663312; 5633360; 5677437; и 5677439, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Для применения в иРНК, предложенных в настоящем документе, предусмотрены подходящие миметики РНК, в которых как сахар, так и межнуклеозидная связь, т. е. остов, нуклеотидных звеньев заменены новыми группами. Звенья оснований сохраняют для гибридизации с подходящим целевым соединением нуклеиновой кислоты. Одно такое олигомерное соединение, в котором имеется миметик РНК, которое, как было показано, обладает отличными свойствами гибридизации, называется пептидной нуклеиновой кислотой (PNA). В соединениях PNA сахарный остов РНК заменен амидосодержащим остовом, в частности, аминоксилглициновым остовом. Нуклеиновые основания сохранены и связаны, непосредственно или опосредованно, с аза-атомами азота амидной части остова. Типичные патенты США, в которых раскрыто получение соединений PNA, включают, но не ограничиваются перечисленными, патенты США №№ 5539082; 5714331; и 5719262, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки. Дополнительные соединения PNA, подходящие для применения в иРНК согласно настоящему изобретению, описаны, например, в Nielsen *et al.*, *Science*, 1991, 254, 1497-1500.

Некоторые варианты реализации, охарактеризованные в настоящем изобретении, включают РНК с фосфотиоатными остовами и олигонуклеозиды с гетероатомными остовами, и, в частности, --CH<sub>2</sub>--NH--CH<sub>2</sub>--, --CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--O--CH<sub>2</sub>-- [известный как метиленовый (метиимино) остов или остов ММІ], --CH<sub>2</sub>--O--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--, --CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)--N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>-- и --N(CH<sub>3</sub>)--CH<sub>2</sub>--CH<sub>2</sub>-- из упомянутого выше патента США № 5489677, и амидные остовы из упомянутого выше патента США № 5602240. Согласно некоторым вариантам реализации РНК, охарактеризованные в настоящем документе, имеют структуры морфолинового остова из вышеупомянутого патента США № 5034506.

Нативный фосфодиэфирный остов может быть представлен как O-P(O)(OH)-OCH<sub>2</sub>-.

Модифицированные РНК также могут содержать один или более замещенных сахарных фрагментов. иРНК, например, дцРНК, охарактеризованные в настоящем документе, могут включать одно из следующих в 2'-положении: OH; F; O-, S- или N-алкил; O-, S- или N-алкенил; O-, S- или N-алкинил; или O-алкил-O-алкил, где алкил, алкенил и алкинил могут представлять собой замещенный или незамещенный C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> алкил или C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> алкенил и алкинил. Примерные подходящие модификации включают O[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>O]<sub>m</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>OCH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>NH<sub>2</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>, O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ONH<sub>2</sub> и O(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>ON[(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CH<sub>3</sub>]<sub>2</sub>, где n и m находятся в диапазоне от 1 до примерно 10. Согласно другим вариантам реализации дцРНК включают одно из следующих в 2'-положении: C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> низший алкил, замещенный низший алкил, алкарил, аралкил, O-алкарил или O-аралкил, SH, SCH<sub>3</sub>, OCN, Cl, Br, CN, CF<sub>3</sub>, OCF<sub>3</sub>, SOCH<sub>3</sub>, SO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, ONO<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, гетероциклоалкил, гетероциклоалкарил, аминокламино, полиалкиламино, замещенный силил, РНК-расщепляющую группу, репортерную группу, интеркалятор, группу для улучшения фармакокинетических свойств иРНК, или группу для улучшения фармакодинамических свойств иРНК, и другие заместители, имеющие подобные свойства. Согласно некоторым вариантам реализации модификация включает 2'-метоксиэтокси (2'-O--CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, также известный как 2'-O-(2-метоксиэтил) или 2'-МОЕ) (Martin *et al.*, *Helv. Chim. Acta*, 1995, 78:486-504), т. е. группу алкокси-алкокси. Другая примерная модификация представляет собой 2'-диметиламинооксиэтокси, т. е. группу O(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>ON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, также известную как 2'-DMAOE, описанную в примерах в настоящем документе ниже, и 2'-диметиламиноэтоксиэтокси (также известную в данной области техники как 2'-O-диметиламиноэтоксиэтил или 2'-DMAEOE), т.е. 2'-O--CH<sub>2</sub>--O--CH<sub>2</sub>--N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>. Дополнительные примерные модификации включают: 5'-Me-2'-F-нуклеотиды, 5'-Me-2'-OMe-нуклеотиды, 5'-Me-2'-дезоксинуклеотиды (как R-изомеры, так и S-изомеры в этих трех семействах); 2'-алкоксиалкил; и 2'-NMA (N-метилацетамид).

Другие модификации включают 2'-метокси (2'-OCH<sub>3</sub>), 2'-аминопропокси (2'-OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>) и 2'-фтор (2'-F). Подобные модификации также можно вносить в других положениях на РНК в случае иРНК, в частности, в 3'-положении сахара на 3'-концевом нуклеотиде или в 2'-5'-связанных дцРНК и в 5'-положении 5'-концевого нуклеотида. иРНК также могут иметь миметики сахара, такие как циклобутиловые фрагменты, вместо пентофуранозилового сахара. Типичные патенты США, в которых раскрыто получение таких модифицированных структур сахара, включают, но не ограничиваются перечисленными, патенты США №№ 4981957; 5118800; 5319080; 5359044; 5393878; 5446137; 5466786; 5514785; 5519134; 5567811; 5576427; 5591722; 5597909; 5610300; 5627053; 5639873; 5646265; 5658873; 5670633; и 5700920, некоторые из которых находятся в общем владении с настоящей заявкой. Полное содержание каждого из упомянутых выше документов тем самым включено в настоящий документ посредством ссылки.

иРНК также может включать модификации или замены нуклеинового основания (часто называемого в данной области техники просто как «основание»). В настоящем

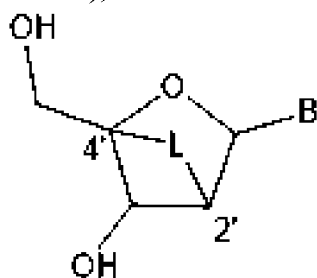
документе «немодифицированные» или «природные» нуклеиновые основания включают пуриновые основания аденин (A) и гуанин (G), и пиримидиновые основания тимин (T), цитозин (C) и урацил (U). Модифицированные нуклеиновые основания включают другие синтетические и природные нуклеиновые основания, такие как дезокситимидин (dT), 5-метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, ксантин, гипоксантин, 2-аминоаденин, 6-метил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-пропил и другие алкильные производные аденина и гуанина, 2-тиоурацил, 2-тиотимин и 2-тиоцитозин, 5-галоурацил и -цитозин, 5-пропинилурацил и -цитозин, 6-азоурацил, -цитозин и -тимин, 5-урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-гало, 8-амино, 8-тиол, 8-тиоалкил, 8-гидроксил и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-гало, в частности, 5-бром, 5-трифторметил и другие 5-замещенные урацилы и цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-деазагуанин и 7-деазааденин, 3-деазагуанин и 3-деазааденин. Дополнительные нуклеиновые основания включают раскрытые в патенте США № 3687808, раскрытые в *Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine*, Herdewijn, P. ed. Wiley-VCH, 2008; раскрытые в *The Concise Encyclopedia Of Polymer Science And Engineering*, pages 858-859, Kroschwitz, J. L., ed. John Wiley & Sons, 1990, раскрытые Englisch *et al.*, *Angewandte Chemie, International Edition*, 1991, 30, 613, и раскрытые Sanghvi, Y S., Chapter 15, *dsRNA Research and Applications*, pages 289-302, Crooke, S. T. and Lebleu, B., Ed., CRC Press, 1993. Некоторые из этих нуклеиновых оснований особенно применимы для повышения аффинности связывания олигомерных соединений, охарактеризованных в настоящем изобретении. Они включают 5-замещенные пиримидины, 6-азапиримидины и N-2, N-6 и 0-6 замещенные пурины, включая 2-аминопропиладенин, 5-пропинилурацил и 5-пропинилцитозин. Было показано, что 5-метилцитозиновые замены увеличивают стабильность дуплекса нуклеиновых кислот на 0,6-1,2°C (Sanghvi, Y. S., Crooke, S. T. and Lebleu, B., Eds., *dsRNA Research and Applications*, CRC Press, Boca Raton, 1993, pp. 276-278) и представляют собой примерные замены оснований, еще более конкретно при комбинировании с 2'-O-метоксиэтильными модификациями сахара.

Типичные патенты США, в которых раскрыто получение некоторых из упомянутых выше модифицированных нуклеиновых оснований, а также других модифицированных нуклеиновых оснований, включают, но не ограничиваются перечисленными, упомянутые выше патенты США №№ 3687808, 4845205; 513030; 5134066; 5175273; 5367066; 5432272; 5457187; 5459255; 5484908; 5502177; 5525711; 5552540; 5587469; 5594121, 5596091; 5614617; 5681941; 5750692; 6015886; 6147200; 6166197; 6222025; 6235887; 6380368; 6528640; 6639062; 6617438; 7045610; 7427672; и 7495088, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению также можно модифицировать для включения одного или более бициклических сахарных фрагментов. «Бициклический сахар» представляет собой фуранозильное кольцо, модифицированное кольцом, образованным путем образования мостика между двумя углеродами, будь то смежными или не смежными. «Бициклический

нуклеозид» («BNA») представляет собой нуклеозид, содержащий сахарный фрагмент, содержащий кольцо, образованное путем образования мостика между двумя углеродами, будь то смежными или не смежными, сахарного кольца с образованием тем самым бициклической кольцевой системы. Согласно определенным вариантам реализации мостик соединяет 4'-углерод и 2'-углерод сахарного кольца, необязательно посредством 2'-ациклического атома кислорода. Таким образом, согласно некоторым вариантам реализации агент согласно настоящему изобретению может включать одну или более блокированных нуклеиновых кислот (LNA). Блокированная нуклеиновая кислота представляет собой нуклеотид, имеющий модифицированный фрагмент рибозы, в котором фрагмент рибозы содержит дополнительный мостик, соединяющий 2'- и 4'-углероды. Другими словами, LNA представляет собой нуклеотид, содержащий бициклический сахарный фрагмент, содержащий мостик 4'-CH<sub>2</sub>-O-2'. Эта структура эффективно «блокирует» рибозу в 3'-эндо структурной конформации. Было показано, что добавление блокированных нуклеиновых кислот к кРНК повышает стабильность кРНК в сыворотке крови и снижает нецелевые эффекты (Elmen, J. *et al.*, (2005) *Nucleic Acids Research* 33(1):439-447; Mook, OR. *et al.*, (2007) *Mol Canc Ther* 6(3):833-843; Grunweller, A. *et al.*, (2003) *Nucleic Acids Research* 31(12):3185-3193). Примеры бициклических нуклеозидов для применения в полинуклеотидах согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются ими, нуклеозиды, содержащие мостик между 4'- и 2'-атомами рибозильного кольца. Согласно определенным вариантам реализации антисмысловые полинуклеотидные агенты согласно настоящему изобретению включают один или более бициклических нуклеозидов, содержащих мостик 4'-2'.

Блокированный нуклеозид может быть представлен структурой (не учитывая стереохимию),



где В представляет собой нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание, и L представляет собой связывающую группу, которая соединяет 2'-углерод с 4'-углеродом рибозного кольца. Примеры таких 4'-2'-мостиковых бициклических нуклеозидов, включают, но не ограничиваются перечисленными, 4'-(CH<sub>2</sub>)-O-2' (LNA); 4'-(CH<sub>2</sub>)-S-2'; 4'-(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-O-2' (ENA); 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' (также называемый «ограниченным этилом» или «сEt») и 4'-CH(CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>)-O-2' (и его аналоги; см. например, патент США № 7399845); 4'-C(CH<sub>3</sub>)(CH<sub>3</sub>)-O-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278283); 4'-CH<sub>2</sub>-N(OCH<sub>3</sub>)-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278425); 4'-CH<sub>2</sub>-O-N(CH<sub>3</sub>)-2' (см., например, публикацию патента США № 2004/0171570); 4'-CH<sub>2</sub>-N(R)-O-2', где R представляет собой H, C1-C12-алкил, или защитную группу для атома азота (см.,

например, патент США № 7427672); 4'-CH<sub>2</sub>-C(H)(CH<sub>3</sub>)-2' (см., например, Chattopadhyaya *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2009, 74, 118-134); и 4'-CH<sub>2</sub>-C(=CH<sub>2</sub>)-2' (и его аналоги; см., например, патент США № 8278426). Полное содержание каждого из упомянутых выше документов тем самым включено в настоящий документ посредством ссылки.

Дополнительные типичные патенты США и публикации патентов США, в которых раскрыто получение блокированных нуклеотидов нуклеиновой кислоты, включают, но не ограничиваются перечисленными, следующие: патенты США №№ 6268490; 6525191; 6670461; 6770748; 6794499; 6998484; 7053207; 7034133; 7084125; 7399845; 7427672; 7569686; 7741457; 8022193; 8030467; 8278425; 8278426; 8278283; US 2008/0039618; и US 2009/0012281, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Может быть получен любой из вышеупомянутых бициклических нуклеозидов, имеющий одну или более стереохимических конфигураций сахара, включая, например, α-L-рибофуранозу и β-D-рибофуранозу (см. WO 99/14226).

РНК в случае иРНК также может быть модифицирована для включения одного или более ограниченных этилнуклеотидов. В настоящем документе термин «ограниченный этилнуклеотид» или «сEt» представляет собой блокированную нуклеиновую кислоту, содержащую бициклический сахарный фрагмент, содержащий мостик 4'-CH(CH<sub>3</sub>)-O-2' (т. е. L в предыдущей структуре). Согласно одному варианту реализации ограниченный этилнуклеотид находится в S-конформации, называемой в настоящем документе «S-cEt».

иРНК согласно настоящему изобретению также может включать один или более «конформационно ограниченных нуклеотидов» («CRN»). CRN представляют собой аналоги нуклеотидов с линкером, соединяющим C2' и C4'-углероды рибозы или C3 и C5'-углероды рибозы. CRN блокируют рибозное кольцо в стабильной конформации и повышают аффинность гибридизации с мРНК. Линкер имеет достаточную длину для размещения кислорода в оптимальном положении для стабильности и аффинности, что приводит к меньшему «сморщиванию» рибозного кольца.

Типичные публикации, в которых раскрыто получение некоторых из упомянутых выше CRN, включают, но не ограничиваются перечисленными, публикацию патента США № 2013/0190383; и PCT публикацию WO 2013/036868, полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно некоторым вариантам реализации иРНК согласно настоящему изобретению содержит один или более мономеров, которые представляют собой нуклеотиды UNA (неблокированные нуклеиновые кислоты). UNA представляет собой неблокированную ациклическую нуклеиновую кислоту, в которой любая из связей сахара была удалена с образованием неблокированного «сахарного» остатка. В одном примере UNA также включает мономер, в котором удалены связи между C1'-C4' (т. е. ковалентная связь углерод-кислород-углерод между C1'- и C4'-углеродами). В другом примере связь C2'-C3' сахара (т. е. ковалентная связь углерод-углерод между C2'- и C3'-углеродами) была удалена (см. *Nuc. Acids Symp. Series*, 52, 133-134 (2008) и *Fluiter et al.*, *Mol. Biosyst.*, 2009, 10,

1039, которые включены в настоящий документ посредством ссылки).

Типичные публикации США, в которых раскрыто получение UNA, включают, но не ограничиваются перечисленными, патент США № 8314227; и публикации патентов США №№ 2013/0096289; 2013/0011922; и 2011/0313020, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Потенциально стабилизирующие модификации на концах молекул РНК могут включать N-(ацетиламинокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-NHAc), N-(капроил-4-гидроксипролинол (Нур-С6), N-ацетил-4-гидроксипролинол (Нур-NHAc), тимидин-2'-О-дезокситимидин (простой эфир), N-(аминокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-амино), 2-докозаноилуридин-3'-фосфат, инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид, такой как инвертированный dT (idT), инвертированный dA (idA) и инвертированный лишенный азотистого основания 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид (iAb) и другие. Раскрытие этой модификации можно найти в WO 2011/005861.

В одном примере 3'- или 5'-конец олигонуклеотида связан с инвертированным 2'-дезоксидифицированным рибонуклеотидом, таким как инвертированный dT (idT), инвертированный dA (idA) или инвертированный лишенный азотистого основания 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид (iAb). В одном конкретном примере инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид связан с 3'-концом олигонуклеотида, таким как 3'-конец смысловой цепи, описанной в настоящем документе, причем указанная связь происходит посредством 3'-3'-фосфодиэфирной связи или 3'-3'-фосфотиоатной связи.

В другом примере 3'-конец смысловой цепи связан посредством 3'-3'-фосфотиоатной связи с инвертированным лишенным азотистого основания рибонуклеотидом (iAb). В другом примере 3'-конец смысловой цепи связан посредством 3'-3'-фосфотиоатной связи с инвертированным dA (idA).

В одном конкретном примере инвертированный 2'-дезоксидифицированный рибонуклеотид связан с 3'-концом олигонуклеотида, таким как 3'-конец смысловой цепи, описанной в настоящем документе, причем указанная связь происходит посредством 3'-3'-фосфодиэфирной связи или 3'-3'-фосфотиоатной связи.

В другом примере 3'-концевой нуклеотид смысловой цепи представляет собой инвертированный dA (idA) и связан с предыдущим нуклеотидом посредством 3'-3'-связи (например, 3'-3'-фосфотиоатной связи).

Другие модификации нуклеотидов иРНК согласно настоящему изобретению включают 5'-фосфат или миметик 5'-фосфата, например, 5'-концевой фосфат или миметик фосфата на антисмысловой цепи иРНК. Подходящие миметики фосфата раскрыты, например, в публикации патента США № 2012/0157511, полное содержание которой включено в настоящий документ посредством ссылки.

*А. Модифицированные иРНК, содержащие мотивы согласно настоящему изобретению*

Согласно определенным аспектам настоящего изобретения агенты на основе двухцепочечной РНК согласно настоящему изобретению включают агенты с химическими

модификациями, раскрытыми, например, в WO2013/075035, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Как показано в настоящем документе и в WO2013/075035 один или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах могут быть введены в смысловую цепь или антисмысловую цепь агента дцРНКи, в частности, в сайте расщепления или вблизи него. Согласно некоторым вариантам реализации смысловая цепь и антисмысловая цепь агента дцРНКи в ином случае могут быть полностью модифицированы. Введение этих мотивов прерывает профиль модификации смысловой или антисмысловой цепи, если он присутствует. Агент дцРНКи может быть необязательно конъюгирован с таким лигандом как производное GalNAc, например, на смысловой цепи.

Более конкретно, если смысловая цепь и антисмысловая цепь агента на основе двухцепочечной РНК полностью модифицированы так, чтобы иметь один или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления или рядом с ним по меньшей мере одной цепи агента дцРНКи, наблюдали активность сайленсинга гена агента дцРНКи.

Соответственно, согласно настоящему изобретению предложены агенты на основе двухцепочечной РНК, способные ингибировать экспрессию целевого гена (т. е. гена *TMPRSS6*) *in vivo*. Агент РНКи содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь. Каждая цепь агента РНКи может иметь, например, 17-30 нуклеотидов в длину, 25-30 нуклеотидов в длину, 27-30 нуклеотидов в длину, 19-25 нуклеотидов в длину, 19-23 нуклеотида в длину, 19-21 нуклеотид в длину, 21-25 нуклеотидов в длину или 21-23 нуклеотида в длину.

Смысловая цепь и антисмысловая цепь, как правило, образуют дуплексную двухцепочечную РНК («дцРНК»), также называемую в настоящем документе «агент дцРНКи». Дуплексная область агента дцРНКи может представлять собой, например, дуплексную область, которая может иметь 27-30 нуклеотидных пар в длину, 19-25 нуклеотидных пар в длину, 19-23 нуклеотидные пары в длину, 19-21 нуклеотидную пару в длину, 21-25 нуклеотидных пар в длину или 21-23 нуклеотидные пары в длину. В другом примере дуплексная область выбрана из 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 и 27 нуклеотидов в длину.

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи может содержать одну или более областей липких концов или кэпирующих групп на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах одной или обеих цепей. Липкий конец может независимо представлять собой 1-6 нуклеотидов в длину, например, 2-6 нуклеотидов в длину, 1-5 нуклеотидов в длину, 2-5 нуклеотидов в длину, 1-4 нуклеотида в длину, 2-4 нуклеотида в длину, 1-3 нуклеотида в длину, 2-3 нуклеотида в длину или 1-2 нуклеотида в длину. Согласно определенным вариантам реализации липкие концы могут включать удлиненные липкие концы, как предусмотрено выше. Липкие концы могут быть получены в результате того, что одна цепь длиннее другой, или в результате того, что две цепи одинаковой длины расположены в шахматном порядке. Липкий конец может образовывать несовпадение с целевой мРНК или он может быть комплементарным геном последовательностям, которые являются

мишенями, или может представлять собой другую последовательность. Первая и вторая цепи также могут быть соединены, например, с помощью дополнительных оснований с образованием шпильки или с помощью других линкеров, не содержащих оснований.

Согласно определенным вариантам реализации каждый из нуклеотидов в области липкого конца агента дцРНКи может независимо представлять собой модифицированный или немодифицированный нуклеотид, включая, но не ограничиваясь перечисленными, 2'-модифицированный сахар, такой как 2'-F, 2'-O-метил, тимидин (Т), 2'-O-метоксиэтил-5-метилуридин (Тео), 2'-O-метоксиэтиладенозин (Аео), 2'-O-метоксиэтил-5-метилцитидин (m5Ceо) и любые их комбинации.

Например, ТТ может представлять собой последовательность липкого конца для любого конца на любой цепи. Липкий конец может образовывать несовпадение с целевой мРНК или он может быть комплементарным генным последовательностям, которые являются мишенями, или может представлять собой другую последовательность.

5'- или 3'-липкие концы на смысловой цепи, антисмысловой цепи или на обеих цепях агента дцРНКи могут быть фосфорилированы. Согласно некоторым вариантам реализации область(области) липкого конца содержит(ат) два нуклеотида, имеющих фосфотиоат между двумя нуклеотидами, причем указанные два нуклеотида могут быть одинаковыми или разными. Согласно некоторым вариантам реализации липкий конец присутствует на 3'-конце смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей. Согласно некоторым вариантам реализации указанный 3'-липкий конец присутствует в антисмысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации указанный 3'-липкий конец присутствует в смысловой цепи.

Агент дцРНКи может содержать только один липкий конец, который может усиливать интерференционную активность РНКи, не влияя на ее общую стабильность. Например, одноцепочечной липкий конец может быть расположен на 3'-конце смысловой цепи или, в качестве альтернативы, на 3'-конце антисмысловой цепи. РНКи также может иметь тупой конец, расположенный на 5'-конце антисмысловой цепи (т.е. 3'-конце смысловой цепи) или наоборот. Обычно антисмысловая цепь агента дцРНКи имеет нуклеотидный липкий конец на 3'-конце, и 5'-конец является тупым. Не ограничиваясь какой-либо теорией, асимметричный тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи и 3'-концевой липкий конец антисмысловой цепи способствуют загрузке направляющей цепи в процесс RISC.

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи имеет оба тупых конца и содержит 19 нуклеотидов в длину, причем указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 7, 8, 9 с 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-O-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 с 5'-конца.

Согласно другим вариантам реализации агент дцРНКи имеет оба тупых конца и содержит 20 нуклеотидов в длину, причем указанная смысловая цепь содержит по меньшей



мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 8, 9 и 10 с 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 с 5'-конца.

Согласно другим вариантам реализации агент дцРНКи имеет оба тупых конца и содержит 21 нуклеотид в длину, причем указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10 и 11 с 5'-конца. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 с 5'-конца.

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи содержит 21-нуклеотидную смысловую цепь и 23-нуклеотидную антисмысловую цепь, причем указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 9, 10 и 11 с 5'-конца; указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-О-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положениях 11, 12 и 13 с 5'-конца, при этом один конец агента РНКи является тупым, в то время как другой конец содержит 2-нуклеотидный липкий конец. Согласно одному варианту реализации 2-нуклеотидный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи.

Если 2-нуклеотидный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи, могут существовать две фосфотиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, причем два из трех нуклеотидов представляют собой нуклеотиды липкого конца, и третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид рядом с нуклеотидом липкого конца. Согласно одному варианту реализации агент РНКи дополнительно содержит две фосфотиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи. Согласно определенным вариантам реализации каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи агента дцРНКи, включая нуклеотиды, которые являются частью мотивов, представляет собой модифицированный нуклеотид. Согласно определенным вариантам реализации каждый остаток независимо модифицирован с использованием 2'-О-метила или 3'-фтора, например, в чередующемся мотиве. Необязательно агент дцРНКи дополнительно содержит лиганд (такой как GalNAc<sub>3</sub>).

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи содержит смысловую и антисмысловую цепь, причем указанная смысловая цепь представляет собой 25-30 нуклеотидных остатков в длину, причем, начиная с 5'-концевого нуклеотида (положение 1), положения 1-23 первой цепи содержат по меньшей мере 8 рибонуклеотидов; указанная антисмысловая цепь представляет собой 36-66 нуклеотидных остатков в длину и, начиная с 3'-концевого нуклеотида, содержит по меньшей мере 8 рибонуклеотидов в положениях, спаренных с положениями 1-23 смысловой цепи с образованием дуплекса; при этом по меньшей мере 3'-концевой нуклеотид антисмысловой цепи не спарен со смысловой цепью,

и до 6 последовательных 3'-концевых нуклеотидов не спарены со смысловой цепью с образованием тем самым одноцепочечного 3'-липкого конца из 1-6 нуклеотидов; при этом 5'-конец антисмысловой цепи содержит 10-30 последовательных нуклеотидов, которые не спарены со смысловой цепью, с образованием тем самым одноцепочечного 5'-липкого конца из 10-30 нуклеотидов; при этом по меньшей мере 5'-концевые и 3'-концевые нуклеотиды смысловой цепи спарены с нуклеотидами антисмысловой цепи, если смысловая и антисмысловая цепи выравнены для обеспечения максимальной комплементарности, с образованием тем самым по существу дуплексной области между смысловой и антисмысловой цепями; и антисмысловая цепь является достаточно комплементарной целевой РНК вдоль по меньшей мере 19 рибонуклеотидов по длине антисмысловой цепи для снижения экспрессии целевого гена при введении двухцепочечной нуклеиновой кислоты в клетку млекопитающего; и при этом указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-F-модификаций на трех последовательных нуклеотидах, при этом по меньшей мере один из мотивов возникает в сайте расщепления или рядом с ним. Антисмысловая цепь содержит по меньшей мере один мотив из трех 2'-O-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления или рядом с ним.

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи содержит смысловую и антисмысловую цепи, причем указанный агент дцРНКи содержит первую цепь, имеющую длину, которая составляет по меньшей мере 25 и не более 29 нуклеотидов, и вторую цепь, имеющую длину, которая составляет не более 30 нуклеотидов, с по меньшей мере одним мотивом из трех 2'-O-метильных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в положении 11, 12, 13 с 5'-конца; при этом 3'-конец первой цепи и 5'-конец второй цепи образуют тупой конец, и вторая цепь длиннее на 1-4 нуклеотида на своем 3'-конце, чем первая цепь, при этом указанная дуплексная область представляет собой по меньшей мере 25 нуклеотидов в длину, и вторая цепь является достаточно комплементарной целевой мРНК вдоль по меньшей мере 19 нуклеотидов по длине второй цепи для снижения экспрессии целевого гена при введении агента РНКи в клетку млекопитающего, и при этом расщепление Dicer агента дцРНКи приводит к образованию киРНК, содержащей 3'-конец второй цепи, что снижает экспрессию целевого гена у млекопитающего. Необязательно агент дцРНКи дополнительно содержит лиганд.

Согласно определенным вариантам реализации смысловая цепь агента дцРНКи содержит по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, причем один из мотивов возникает в сайте расщепления в смысловой цепи.

Согласно определенным вариантам реализации антисмысловая цепь агента дцРНКи также может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, причем один из мотивов возникает в сайте расщепления или рядом с ним в антисмысловой цепи.

В случае агента дцРНКи, имеющего дуплексную область из 19-23 нуклеотидов в

длину, сайт расщепления антисмысловой цепи, как правило, находится около 10, 11 и 12 положений с 5'-конца. Таким образом, мотивы из трех идентичных модификаций могут возникать в 9, 10, 11 положениях; 10, 11, 12 положениях; 11, 12, 13 положениях; 12, 13, 14 положениях; или 13, 14, 15 положениях антисмысловой цепи, при этом отсчет начинается с первого нуклеотида с 5'-конца антисмысловой цепи, или отсчет начинается с первого спаренного нуклеотида в пределах дуплексной области с 5'-конца антисмысловой цепи. Сайт расщепления в антисмысловой цепи также может изменяться в соответствии с длиной дуплексной области агента дцРНК с 5'-конца.

Смысловая цепь агента дцРНК может содержать по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления указанной цепи; и антисмысловая цепь может иметь по меньшей мере один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в сайте расщепления цепи или рядом с ним указанной цепи. Если смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплекс дцРНК, смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть выравнены так, что один мотив из трех нуклеотидов на смысловой цепи и один мотив из трех нуклеотидов на антисмысловой цепи имеют по меньшей мере однонуклеотидное перекрытие, т. е. по меньшей мере один из трех нуклеотидов мотива в смысловой цепи образует пару оснований по меньшей мере с одним из трех нуклеотидов мотива в антисмысловой цепи. В качестве альтернативы, по меньшей мере два нуклеотида могут перекрываться, или все три нуклеотида могут перекрываться.

Согласно некоторым вариантам реализации смысловая цепь агента дцРНК может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах. Первый мотив может возникать в сайте расщепления цепи или вблизи него, и другие мотивы могут представлять собой модификацию «крыла». Термин «модификация крыла» в настоящем документе относится к мотиву, возникающему в другой части цепи, которая отделена от мотива в сайте расщепления или вблизи него той же цепи. Модификация «крыла» либо прилегает к первому мотиву, либо отделена по меньшей мере одним или более нуклеотидами. Если мотивы являются непосредственно смежными друг с другом, то химические структуры мотивов отличаются друг от друга, и если мотивы разделены одним или более нуклеотидами, химические структуры могут быть одинаковыми или разными. Могут присутствовать две или более модификаций «крыла». Например, при наличии двух модификаций «крыла» каждая модификация «крыла» может возникать на одном конце относительно первого мотива, который находится в сайте расщепления или вблизи него, или по обеим сторонам от основного мотива.

Как и смысловая цепь, антисмысловая цепь агента дцРНК может содержать более одного мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, при этом по меньшей мере один из мотивов возникает в сайте расщепления указанной цепи или вблизи него. Указанная антисмысловая цепь также может содержать одну или более модификаций «крыла», расположение которых сходно с модификациями «крыла», которые могут присутствовать на смысловой цепи.

Согласно некоторым вариантам реализации модификация «крыла» на смысловой цепи или антисмысловой цепи агента дцРНКи, как правило, не включает один или два первых концевых нуклеотида на 3'-конце, 5'-конце или на обоих концах цепи.

Согласно другим вариантам реализации модификация «крыла» на смысловой цепи или антисмысловой цепи агента дцРНКи, как правило, не включает один или два первых спаренных нуклеотида в пределах дуплексной области на 3'-конце, 5'-конце или обоих концах цепи.

Если каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи агента дцРНКи содержит по меньшей мере одну модификацию «крыла», то модификации «крыла» могут попадать на один и тот же конец дуплексной области и могут иметь перекрывание одного, двух или трех нуклеотидов.

Если каждая из смысловой цепи и антисмысловой цепи агента дцРНКи содержит по меньшей мере две модификации «крыла», смысловая цепь и антисмысловая цепь могут быть настолько выравнены, что две модификации, каждая из одной цепи, приходятся на один конец дуплексной области с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации, каждая из одной цепи, приходятся на другой конец дуплексной области с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов; две модификации одной цепи приходятся на каждую сторону основного мотива с перекрыванием одного, двух или трех нуклеотидов в дуплексной области.

Согласно некоторым вариантам реализации каждый нуклеотид в смысловой цепи и антисмысловой цепи агента дцРНКи, включая нуклеотиды, которые являются частью мотивов, может быть модифицирован. Каждый нуклеотид может быть модифицирован одинаковой или разной модификацией, которая может включать одно или более изменений одного или обоих несвязывающих кислородов фосфата или одного или более связывающих кислородов фосфата; изменение компонента рибозного сахара, например, 2'-гидроксила на рибозном сахаре; полную замену фосфатного фрагмента «дефосфо»-линкерами; модификацию или замену встречающегося в природе основания; и замену или модификацию остова рибоза-фосфат.

Поскольку нуклеиновые кислоты представляют собой полимеры из субъединиц, многие из модификаций возникают в положении, которое повторяется в пределах нуклеиновой кислоты, например, модификация основания или фосфатного фрагмента, или несвязывающего О фосфатного фрагмента. В некоторых случаях модификация будет возникать во всех рассматриваемых положениях в нуклеиновой кислоте, но во многих случаях не возникнет. В качестве примера модификация может возникать только в 3'- или 5'-концевом положении, может возникать только в концевой области, например, в положении на концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5 или 10 нуклеотидах цепи. Модификация может возникать в двухцепочечной области, в одноцепочечной области или в обеих областях. Модификация может возникать только в двухцепочечной области РНК или может возникать только в одноцепочечной области РНК. Например, фосфотиоатная модификация в положении несвязывающего О может возникать только на одном или на

обоих концах, может возникать только в концевой области, например, в положении на концевом нуклеотиде или в последних 2, 3, 4, 5 или 10 нуклеотидах цепи, или может возникать в двухцепочечной и одноцепочечной областях, в частности, на концах. 5'-конец или концы могут быть фосфорилированы.

Можно, например, повысить стабильность, включить конкретные основания в липкие концы или включить модифицированные нуклеотиды или суррогаты нуклеотидов в одноцепочечные липкие концы, например, в 5'- или 3'-липкий конец или в оба конца. Например, может быть желательным включение пуриновых нуклеотидов в липкие концы. Согласно некоторым вариантам реализации все или некоторые основания в 3'- или 5'-липком конце могут быть модифицированы, например, с помощью модификации, описанной в настоящем документе. Модификации могут включать, например, применение модификаций в 2'-положении сахара рибозы с модификациями, известными в данной области техники, например, применение дезоксирибонуклеотидов, 2'-дезоксидеокси-2'-фтор- (2'-F) или 2'-О-метил-модифицированных, вместо рибозного сахара нуклеинового основания, и модификаций в фосфатной группе, например, фосфотиоатных модификаций. Липкие концы не обязательно должны быть гомологичны целевой последовательности.

Согласно некоторым вариантам реализации каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием LNA, CRN, сET, UNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтил, 2'-О-метил, 2'-О-аллил, 2'-С-аллил, 2'-дезоксидеокси, 2'-гидроксил или 2'-фтор. Цепи могут содержать более одной модификации. Согласно одному варианту реализации каждый остаток смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием 2'-О-метил или 2'-фтор.

По меньшей мере две различные модификации, как правило, присутствуют на смысловой цепи и антисмысловой цепи. Эти две модификации могут представлять собой 2'-О-метил или 2'-фтор-модификации или другие.

Согласно определенным вариантам реализации  $N_a$  или  $N_b$  содержат модификации в чередующемся порядке. Термин «чередующийся мотив» в контексте настоящего документа относится к мотиву, имеющему одну или более модификаций, при этом каждая модификация возникает на чередующихся нуклеотидах одной цепи. Чередующийся нуклеотид может относиться к одному из каждого второго нуклеотида или к одному из каждых трех нуклеотидов или к подобному порядку. Например, если каждый из А, В и С представляет собой один тип модификации нуклеотида, чередующийся мотив может представлять собой «АВАВАВАВАВАВ...», «ААВВААВВААВВ...», «ААВААВААВААВ...», «АААВВВВВВВВВ...» или «АВСАВСАВСАВС...» и т. д.

Тип модификаций, содержащихся в чередующемся мотиве, может быть одинаковым или различным. Например, если каждый из А, В, С, D представляет собой один тип модификации на нуклеотиде, то порядок чередования, т. е. модификации на каждом втором нуклеотиде, может быть одинаковым, но каждая из смысловой цепи или антисмысловой цепи может быть выбрана из нескольких возможностей модификаций в пределах

чередующегося мотива, такого как «АВАВАВ...», «АСАСАС...», «ВДВДВД...» или «СДСДСД...» и т. д.

Согласно некоторым вариантам реализации агент дцРНКи согласно настоящему изобретению имеет сдвиг профиля модификации для чередующегося мотива на смысловой цепи относительно профиля модификации для чередующегося мотива на антисмысловой цепи. Сдвиг может быть таким, что модифицированная группа нуклеотидов смысловой цепи соответствует по-иному модифицированной группе нуклеотидов антисмысловой цепи и наоборот. Например, при спаривании смысловой цепи с антисмысловой цепью в дуплексе дцРНК чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «АВАВАВ» от 5' к 3' цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВАВАВА» от 5' к 3' цепи в пределах дуплексной области. В качестве другого примера чередующийся мотив в смысловой цепи может начинаться с «ААВВААВВ» от 5' к 3' цепи, и чередующийся мотив в антисмысловой цепи может начинаться с «ВВААВВАА» от 5' к 3' цепи в пределах дуплексной области так, что существует полный или частичный сдвиг профилей модификаций между смысловой цепью и антисмысловой цепью.

Согласно некоторым вариантам реализации агент дцРНКи имеет исходно сдвиг профиля чередующегося мотива 2'-О-метил-модификации и 2'-F-модификации на смысловой цепи относительно профиля чередующегося мотива 2'-О-метил-модификации и 2'-F-модификации на антисмысловой цепи, т. е. 2'-О-метил-модифицированный нуклеотид на смысловой цепи спаривается с 2'-F-модифицированным нуклеотидом на антисмысловой цепи и наоборот. 1 положение смысловой цепи может начинаться с 2'-F-модификации, и 1 положение антисмысловой цепи может начинаться с 2'-О-метил-модификации.

Введение одного или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в смысловую цепь или антисмысловую цепь прерывает исходный профиль модификации, присутствующий в смысловой цепи или антисмысловой цепи. Такое прерывание профиля модификации смысловой или антисмысловой цепи путем введения одного или более мотивов из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах в смысловую или антисмысловую цепь может усиливать активность сайленсинга гена в отношении целевого гена.

Согласно некоторым вариантам реализации, если мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах вводят в любую из цепей, модификация нуклеотида рядом с мотивом представляет собой модификацию, отличную от модификации мотива. Например, часть последовательности, содержащая мотив, представляет собой «...N<sub>a</sub>YYYN<sub>b</sub>...», где «Y» представляет собой модификацию мотива из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах, и «N<sub>a</sub>» и «N<sub>b</sub>» представляют собой модификацию нуклеотида рядом с мотивом «YYY», которая отличается от модификации Y, и где N<sub>a</sub> и N<sub>b</sub> могут представлять собой одни и те же или отличающиеся модификации. В качестве альтернативы, N<sub>a</sub> или N<sub>b</sub> может присутствовать или отсутствовать при наличии модификации крыла.

иРНК может дополнительно содержать по меньшей мере одну фосфотиоатную или

метилфосфонатную межнуклеотидную связь. Фосфотиоатная или метилфосфонатная модификация межнуклеотидной связи может возникать на любом нуклеотиде смысловой цепи, антисмысловой цепи или на обеих цепях в любом положении цепи. Например, модификация межнуклеотидной связи может возникать на каждом нуклеотиде в смысловой цепи или антисмысловой цепи; каждая модификация межнуклеотидной связи может возникать в чередующемся порядке на смысловой цепи или антисмысловой цепи; либо смысловая цепь или антисмысловая цепь могут обе содержать модификации межнуклеотидных связей в чередующемся порядке. Порядок чередования модификации межнуклеотидной связи на смысловой цепи может быть одинаковым или отличным от антисмысловой цепи, и порядок чередования модификации межнуклеотидной связи на смысловой цепи может иметь сдвиг относительно порядка чередования модификации межнуклеотидной связи на антисмысловой цепи. Согласно одному варианту реализации двухцепочечный агент РНКи содержит 6-8 фосфотиоатных межнуклеотидных связей. Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь содержит две фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 5'-конце и две фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 3'-конце, и смысловая цепь содержит по меньшей мере две фосфотиоатные межнуклеотидные связи на 5'-конце или 3'-конце.

Согласно некоторым вариантам реализации агент дцРНКи содержит фосфотиоатную или метилфосфонатную модификацию межнуклеотидной связи в области липкого конца. Например, область липкого конца может содержать два нуклеотида, имеющих фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь между двумя нуклеотидами. Также могут быть выполнены модификации межнуклеотидных связей для связывания нуклеотидов липких концов с концевыми спаренными нуклеотидами в пределах дуплексной области. Например, по меньшей мере 2, 3, 4 или все нуклеотиды липкого конца могут быть связаны посредством фосфотиоатной или метилфосфонатной межнуклеотидной связи, и необязательно могут существовать дополнительные фосфотиоатные или метилфосфонатные межнуклеотидные связи, связывающие нуклеотид липкого конца со спаренным нуклеотидом, который находится рядом с нуклеотидом липкого конца. Например, между тремя концевыми нуклеотидами могут существовать по меньшей мере две фосфотиоатные межнуклеотидные связи, в которых два из трех нуклеотидов являются нуклеотидами липкого конца и третий представляет собой спаренный нуклеотид рядом с нуклеотидом липкого конца. Эти три концевых нуклеотида могут находиться на 3'-конце антисмысловой цепи, 3'-конце смысловой цепи, 5'-конце антисмысловой цепи или 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно некоторым вариантам реализации 2-нуклеотидный липкий конец находится на 3'-конце антисмысловой цепи и присутствуют две фосфотиоатные межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами, причем два из трех нуклеотидов представляют собой нуклеотиды липкого конца, и третий нуклеотид представляет собой спаренный нуклеотид рядом с нуклеотидом липкого конца. Необязательно агент дцРНКи дополнительно может содержать две фосфотиоатные

межнуклеотидные связи между тремя концевыми нуклеотидами как на 5'-конце смысловой цепи, так и на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации агент дцРНКи содержит несовпадение(я) с мишенью, в пределах дуплекса, или их комбинации. Несовпадение может возникать в области липкого конца или в дуплексной области. Пару оснований можно ранжировать на основании ее склонности способствовать диссоциации или плавлению (например, на основании свободной энергии ассоциации или диссоциации конкретной пары, самый простой подход заключается в изучении пар на основе отдельной пары, хотя также можно использовать анализ следующей соседней пары или сходный анализ). С точки зрения содействия диссоциации: A:U предпочтительнее, чем G:C; G:U предпочтительнее, чем G:C; и I:C предпочтительнее, чем G:C (I=инозин). Несовпадения, например, неканонические пары или отличные от канонических пары (как описано в другом месте в настоящем документе) являются предпочтительными по сравнению с каноническими (A:T, A:U, G:C) парами; и пары, которые включают универсальное основание, являются предпочтительными по сравнению с каноническими парами.

Согласно определенным вариантам реализации агент дцРНКи содержит по меньшей мере одну из первых 1, 2, 3, 4 или 5 пар оснований в пределах дуплексных областей с 5'-конца антисмысловой цепи, независимо выбранную из группы: A:U, G:U, I:C, и несовпадающие пары, например, неканонические пары или отличные от канонических пары или пары, которые включают универсальное основание, чтобы способствовать диссоциации антисмысловой цепи, на 5'-конце дуплекса.

Согласно определенным вариантам реализации нуклеотид в положении 1 в пределах дуплексной области с 5'-конца в антисмысловой цепи выбран из A, dA, dU, U и dT. В качестве альтернативы, по меньшей мере одна из первых 1, 2 или 3 пар оснований в пределах дуплексной области с 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU. Например, первая пара оснований в пределах дуплексной области с 5'-конца антисмысловой цепи представляет собой пару оснований AU.

Согласно другим вариантам реализации нуклеотид на 3'-конце смысловой цепи представляет собой дезокситимидин (dT), или нуклеотид на 3'-конце антисмысловой цепи представляет собой дезокситимидин (dT). Например, имеется короткая последовательность дезокситимидиновых нуклеотидов, например, два нуклеотида dT на 3'-конце смысловой цепи, антисмысловой цепи или обеих цепей.

Согласно определенным вариантам реализации последовательность смысловой цепи может быть представлена формулой (I):



где:

каждый  $i$  и  $j$  независимо представляет собой 0 или 1;

каждый  $p$  и  $q$  независимо представляет собой 0-6;

каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, при этом каждая



последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый  $n_p$  и  $n_q$  независимо представляет собой нуклеотид липкого конца;

причем  $N_b$  и  $Y$  не имеют одинаковой модификации; и

каждый XXX, YYY и ZZZ независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах. Согласно одному варианту реализации все YYY представляют собой 2'-F-модифицированные нуклеотиды.

Согласно некоторым вариантам реализации  $N_a$  или  $N_b$  содержит модификации в чередующемся порядке.

Согласно некоторым вариантам реализации мотив YYY возникает в сайте расщепления смысловой цепи или вблизи него. Например, если агент дцРНКи имеет дуплексную область из 17-23 нуклеотидов в длину, то мотив YYY может возникать в сайте расщепления или в непосредственной близости от него (например: может возникать в положениях 6, 7, 8; 7, 8, 9; 8, 9, 10; 9, 10, 11; 10, 11, 12; или 11, 12, 13) смысловой цепи, начиная отсчет с первого нуклеотида с 5'-конца; или необязательно начиная отсчет с первого спаренного нуклеотида в пределах дуплексной области с 5'-конца.

Согласно одному варианту реализации  $i$  представляет собой 1 и  $j$  представляет собой 0, или  $i$  представляет собой 0 и  $j$  представляет собой 1, или как  $i$ , так и  $j$  представляют собой 1. Таким образом, смысловая цепь может быть представлена следующими формулами:

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

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

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

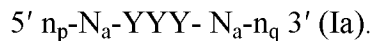
Если смысловая цепь представлена формулой (Ib),  $N_b$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  может независимо представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если смысловая цепь представлена формулой (Ic),  $N_b$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  может независимо представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если смысловая цепь представлена формулой (Id), каждый  $N_b$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Согласно одному варианту реализации  $N_b$  представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6. Каждый  $N_a$  может независимо представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

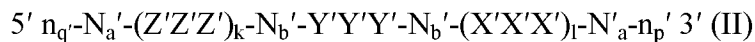
Каждый из X, Y и Z может быть одинаковым или отличающимся друг от друга.

Согласно другим вариантам реализации  $i$  представляет собой 0 и  $j$  представляет собой 0, и смысловая цепь может быть представлена формулой:



Если смысловая цепь представлена формулой (Ia), каждый  $N_a$  независимо может представлять собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Согласно одному варианту реализации последовательность антисмысловой цепи РНКи может быть представлена формулой (II):



где:

каждый  $k$  и  $l$  независимо представляет собой 0 или 1;

каждый  $p'$  и  $q'$  независимо представляет собой 0-6;

каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, при этом каждая последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

каждый  $n_p'$  и  $n_q'$  независимо представляет собой нуклеотид липкого конца;

причем  $N_b'$  и  $Y'$  не имеют одинаковой модификации; и

каждый  $X'X'X'$ ,  $Y'Y'Y'$  и  $Z'Z'Z'$  независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах.

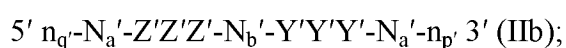
Согласно некоторым вариантам реализации  $N_a'$  или  $N_b'$  содержит модификации в чередующемся порядке.

Мотив  $Y'Y'Y'$  возникает в сайте расщепления антисмысловой цепи или вблизи него. Например, если агент дцРНКи имеет дуплексную область из 17-23 нуклеотидов в длину, то мотив  $Y'Y'Y'$  может возникать в положениях 9, 10, 11; 10, 11, 12; 11, 12, 13; 12, 13, 14; или 13, 14, 15 антисмысловой цепи, при этом отсчет начинается с первого нуклеотида с 5'-конца; или необязательно отсчет начинается с первого спаренного нуклеотида в пределах дуплексной области с 5'-конца. Согласно одному варианту реализации мотив  $Y'Y'Y'$  возникает в положениях 11, 12, 13.

Согласно определенным вариантам реализации мотив  $Y'Y'Y'$  представляет собой все 2'-ОМе-модифицированные нуклеотиды.

Согласно определенным вариантам реализации  $k$  представляет собой 1 и  $l$  представляет собой 0, или  $k$  представляет собой 0 и  $l$  представляет собой 1, или как  $k$ , так и  $l$  представляют собой 1.

Таким образом, антисмысловая цепь может быть представлена следующими формулами:



$5' n_q-N_a'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-n_p' 3'$  (IIc); или

$5' n_q-N_a'-Z'Z'Z'-N_b'-Y'Y'Y'-N_b'-X'X'X'-N_a'-n_p' 3'$  (IIId).

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIb),  $N_b'$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIc),  $N_b'$  представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIId), каждый  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Согласно одному варианту реализации  $N_b'$  представляет собой 0, 1, 2, 3, 4, 5 или 6.

Согласно другим вариантам реализации  $k$  представляет собой 0 и 1 представляет собой 0, и антисмысловая цепь может быть представлена формулой:

$5' n_p-N_a'-Y'Y'Y'-N_a'-n_q' 3'$  (Ia).

Если антисмысловая цепь представлена формулой (IIa), каждый  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Каждый из  $X'$ ,  $Y'$  и  $Z'$  может быть одинаковым или отличающимся друг от друга.

Каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи может быть независимо модифицирован с использованием LNA, CRN, UNA, cEt, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтил, 2'-О-метил, 2'-О-аллил, 2'-С-аллил, 2'-гидроксил или 2'-фтор. Например, каждый нуклеотид смысловой цепи и антисмысловой цепи независимо модифицирован с использованием 2'-О-метил или 2'-фтор. Каждый  $X$ ,  $Y$ ,  $Z$ ,  $X'$ ,  $Y'$  и  $Z'$ , в частности, может представлять собой 2'-О-метил-модификацию или 2'-фтор-модификацию.

Согласно некоторым вариантам реализации смысловая цепь агента дцРНКи может содержать мотив  $YYY$ , возникающий в 9, 10 и 11 положениях цепи, если дуплексная область представляет собой 21 нуклеотид, начиная отсчет от первого нуклеотида с 5'-конца, или необязательно начиная отсчет от первого спаренного нуклеотида в пределах дуплексной области с 5'-конца; и  $Y$  представляет собой 2'-F-модификацию. Смысловая цепь может дополнительно содержать мотив  $XXX$  или мотивы  $ZZZ$  в качестве модификаций «крыла» на противоположном конце дуплексной области; и каждый  $XXX$  и  $ZZZ$  независимо представляет собой 2'-ОМе-модификацию или 2'-F-модификацию.

Согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь может содержать

мотив  $Y'Y'Y'$ , возникающий в положениях 11, 12, 13 цепи, начиная отсчет от первого нуклеотида с 5'-конца, или необязательно начиная отсчет от первого спаренного нуклеотида в пределах дуплексной области с 5'-конца; и  $Y'$  представляет собой 2'-О-метильную модификацию. Антисмысловая цепь может дополнительно содержать мотив  $X'X'X'$  или мотивы  $Z'Z'Z'$  в качестве модификаций «крыла» на противоположном конце дуплексной области; и каждый  $X'X'X'$  и  $Z'Z'Z'$  независимо представляет собой 2'-О-М-модификацию или 2'-F-модификацию.

Смысловая цепь, представленная любой из упомянутых выше формул (Ia), (Ib), (Ic) и (Id), образует дуплекс с антисмысловой цепью, представленной любой из формул (IIa), (IIb), (IIc) и (IId), соответственно.

Соответственно, агенты дцРНК для применения в способах согласно настоящему изобретению могут содержать смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом каждая цепь имеет от 14 до 30 нуклеотидов, при этом указанный дуплекс иРНК представлен формулой (III):

смысловая цепь:  $5' n_p - N_a - (X X X)_i - N_b - Y Y Y - N_b - (Z Z Z)_j - N_a - n_q 3'$

антисмысловая цепь:  $3' n_p' - N_a' - (X'X'X')_k - N_b' - Y'Y'Y' - N_b' - (Z'Z'Z')_l - N_a' - n_q' 5'$

(III)

где:

каждый  $i, j, k$  и  $l$  независимо представляет собой 0 или 1;

каждый  $p, p', q$  и  $q'$  независимо представляет собой 0-6;

каждый  $N_a$  и  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-25 модифицированных нуклеотидов, при этом каждая последовательность содержит по меньшей мере два по-разному модифицированных нуклеотида;

каждый  $N_b$  и  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10 модифицированных нуклеотидов;

причем каждый  $n_p', n_p, n_q'$  и  $n_q$ , каждый из которых может присутствовать или может не присутствовать, независимо представляет собой нуклеотид липкого конца; и

каждый  $XXX, YYY, ZZZ, X'X'X', Y'Y'Y'$  и  $Z'Z'Z'$  независимо представляет собой один мотив из трех идентичных модификаций на трех последовательных нуклеотидах.

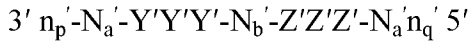
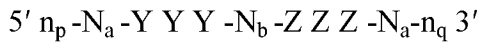
Согласно одному варианту реализации  $i$  представляет собой 0 и  $j$  представляет собой 0; или  $i$  представляет собой 1 и  $j$  представляет собой 0; или  $i$  представляет собой 0 и  $j$  представляет собой 1; или как  $i$ , так и  $j$  представляют собой 0; или как  $i$ , так и  $j$  представляют собой 1. Согласно другому варианту реализации  $k$  представляет собой 0 и  $l$  представляет собой 0; или  $k$  представляет собой 1 и  $l$  представляет собой 0;  $k$  представляет собой 0 и  $l$  представляет собой 1; или как  $k$ , так и  $l$  представляют собой 0; или как  $k$ , так и  $l$  представляют собой 1.

Примерные комбинации смысловой цепи и антисмысловой цепи, образующих дуплекс иРНК, включают формулы ниже:

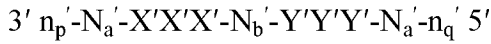
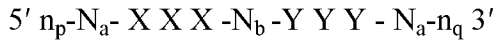
$5' n_p - N_a - Y Y Y - N_a - n_q 3'$



(IIIa)



(IIIb)



(IIIc)



(III d)

Если агент дцРНКи представлен формулой (IIIa), каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если агент дцРНКи представлен формулой (IIIb), каждый  $N_b$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 1-10, 1-7, 1-5 или 1-4 модифицированных нуклеотида. Каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если агент дцРНКи представлен формулой (IIIc), каждый  $N_b$ ,  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов.

Если агент дцРНКи представлен формулой (III d), каждый  $N_b$ ,  $N_b'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 0-10, 0-7, 0-10, 0-7, 0-5, 0-4, 0-2 или 0 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$ ,  $N_a'$  независимо представляет собой олигонуклеотидную последовательность, содержащую 2-20, 2-15 или 2-10 модифицированных нуклеотидов. Каждый  $N_a$ ,  $N_a'$ ,  $N_b$  и  $N_b'$  независимо содержит модификации в чередующемся порядке.

Каждый из X, Y и Z в формулах (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (III d) может быть одинаковым или отличающимся друг от друга.

Если агент дцРНКи представлен формулой (III), (IIIa), (IIIb), (IIIc) и (III d), по меньшей мере один из нуклеотидов Y может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов Y'. В качестве альтернативы, по меньшей мере два из нуклеотидов Y образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'; или все три из нуклеотидов Y образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами Y'.

Если агент дцРНКи представлен формулой (IIIb) или (III d), по меньшей мере один из нуклеотидов Z может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов Z'. В качестве альтернативы, по меньшей мере два из нуклеотидов Z образуют пары оснований с

соответствующими нуклеотидами  $Z'$ ; или все три из нуклеотидов  $Z$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $Z'$ .

Если агент дцРНКи представлен в виде формулы (IIIc) или (IIIд), по меньшей мере один из нуклеотидов  $X$  может образовывать пару оснований с одним из нуклеотидов  $X'$ . В качестве альтернативы, по меньшей мере два из нуклеотидов  $X$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $X'$ ; или все три из нуклеотидов  $X$  образуют пары оснований с соответствующими нуклеотидами  $X'$ .

Согласно определенным вариантам реализации модификация на нуклеотиде  $Y$  отличается от модификации на нуклеотиде  $Y'$ , модификация на нуклеотиде  $Z$  отличается от модификации на нуклеотиде  $Z'$  или модификация на нуклеотиде  $X$  отличается от модификации на нуклеотиде  $X'$ .

Согласно определенным вариантам реализации, если агент дцРНКи представлен формулой (IIIд), модификации  $N_a$  представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор. Согласно другим вариантам реализации, если агент РНКи представлен формулой (IIIд), модификации  $N_a$  представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор, и  $n_p' > 0$  и по меньшей мере один  $n_p'$  связан с соседним нуклеотидом посредством фосфотиоатной связи. Согласно другим вариантам реализации, если агент РНКи представлен формулой (IIIд), модификации  $N_a$  представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор,  $n_p' > 0$  и по меньшей мере один  $n_p'$  связан с соседним нуклеотидом посредством фосфотиоатной связи, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера (описанного ниже). Согласно другим вариантам реализации, если агент РНКи представлен формулой (IIIд), модификации  $N_a$  представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор,  $n_p' > 0$  и по меньшей мере один  $n_p'$  связан с соседним нуклеотидом посредством фосфотиоатной связи, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

Согласно некоторым вариантам реализации, если агент дцРНКи представлен формулой (IIIа), модификации  $N_a$  представляют собой модификации 2'-О-метил или 2'-фтор,  $n_p' > 0$  и по меньшей мере один  $n_p'$  связан с соседним нуклеотидом посредством фосфотиоатной связи, смысловая цепь содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную связь, и смысловая цепь конъюгирована с одним или более производными GalNAc, присоединенными посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

Согласно некоторым вариантам реализации агент дцРНКи представляет собой мультимер, содержащий по меньшей мере два дуплекса, представленных формулой (III), (IIIа), (IIIб), (IIIс) и (IIIд), причем указанные дуплексы соединены линкером. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может нацеливать на один и тот же ген или на два

разных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных целевых сайтах.

Согласно некоторым вариантам реализации агент дцРНКи представляет собой мультимер, содержащий три, четыре, пять, шесть или более дуплексов, представленных формулой (Ш), (Ша), (Шб), (Шс) и (Шд), причем указанные дуплексы соединены линкером. Линкер может быть расщепляемым или нерасщепляемым. Необязательно мультимер дополнительно содержит лиганд. Каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген или на два разных гена; или каждый из дуплексов может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных целевых сайтах.

Согласно одному варианту реализации два агента дцРНКи, представленные по меньшей мере одной из формул (Ш), (Ша), (Шб), (Шс) и (Шд), связаны друг с другом на 5'-конце и одним или обоим из 3'-концов и необязательно конъюгированы с лигандом. Каждый из агентов может нацеливаться на один и тот же ген или на два разных гена; или каждый из агентов может нацеливаться на один и тот же ген в двух различных целевых сайтах.

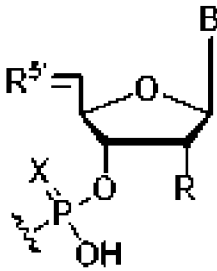
Согласно определенным вариантам реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению может содержать небольшое число нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию, например, 10 или меньше нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. Например, агент РНКи может содержать 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1 или 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. Согласно конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит 10 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией, например, 4 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 6 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи. Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит 6 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией, например, 4 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи.

Согласно другим вариантам реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению может содержать крайне небольшое число нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию, например, 2 или меньше нуклеотидов, содержащих 2'-фтор-модификацию. Например, агент РНКи может содержать 2, 1 из 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией. Согласно конкретному варианту реализации агент РНКи может содержать 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией, например, 0 нуклеотидов с 2'-фтор-модификацией в смысловой цепи и 2 нуклеотида с 2'-фтор-модификацией в антисмысловой цепи.

В различных публикациях описаны мультимерные иРНК, которые можно применять в способах согласно настоящему изобретению. Такие публикации включают WO2007/091269, патент США № 7858769, WO2010/141511, WO2007/117686, WO2009/014887 и WO2011/031520, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Согласно определенным вариантам реализации композиции и способы согласно настоящему изобретению включают винилфосфонатную (VP) модификацию агента РНКи, описанного в настоящем документе. Согласно примерным вариантам реализации

модифицированный 5'-винилфосфонатом нуклеотид согласно настоящему изобретению имеет структуру:



где X представляет собой O или S;

R представляет собой водород, гидроксильную группу, фтор или C<sub>1-20</sub>алкокси (например, метокси или н-гексадецилокси);

R<sup>5'</sup> представляет собой =C(H)-P(O)(OH)<sub>2</sub> и двойная связь между C5'-углеродом и R<sup>5'</sup> находится в ориентации E или Z (например, ориентации E); и

B представляет собой нуклеиновое основание или модифицированное нуклеиновое основание, где B необязательно представляет собой аденин, гуанин, цитозин, тимин или урацил.

Винилфосфонат согласно настоящему изобретению может быть присоединен либо к антисмысловой, либо к смысловой цепи дцРНК согласно настоящему изобретению. Согласно определенным вариантам реализации винилфосфонат согласно настоящему изобретению присоединен к антисмысловой цепи дцРНК, необязательно на 5'-конце антисмысловой цепи дцРНК.

Модификации винилфосфонатом также предусмотрены для композиций и способов согласно настоящему изобретению. Примерная структура винилфосфоната включает предшествующую структуру, где R<sup>5'</sup> представляет собой =C(H)-OP(O)(OH)<sub>2</sub>, и двойная связь между C5'-углеродом и R<sup>5'</sup> находится в ориентации E или Z (например, ориентации E).

Как более подробно описано ниже, иРНК, которая содержит конъюгаты одного или более углеводных фрагментов с иРНК, может оптимизировать одно или более свойств иРНК. Во многих случаях углеводный фрагмент будет присоединен к модифицированной субъединице иРНК. Например, рибозный сахар одной или более рибонуклеотидных субъединиц иРНК может быть заменен другим фрагментом, например, неуглеводным (например, циклическим) носителем, к которому присоединен углеводный лиганд. Рибонуклеотидная субъединица, в которой рибозный сахар субъединицы был заменен таким образом, называется в настоящем документе модифицированной субъединицей с заменой рибозы (RRMS). Циклический носитель может представлять собой карбоциклическую кольцевую систему, т. е. все атомы кольца представляют собой атомы углерода, или гетероциклическую кольцевую систему, т. е. один или более атомов кольца могут представлять собой гетероатом, например, азот, кислород, серу. Циклический носитель может представлять собой моноциклическую кольцевую систему или может содержать два или более колец, например, конденсированные кольца. Циклический



носитель может представлять собой полностью насыщенную кольцевую систему, или он может содержать одну или более двойных связей.

Лиганд может быть присоединен к полинуклеотиду посредством носителя. Носители включают (i) по меньшей мере одну «точку присоединения к остову», например, две «точки присоединения к остову» и (ii) по меньшей мере одну «связывающую точку присоединения». «Точка присоединения к остову» в контексте настоящего документа относится к функциональной группе рибонуклеиновой кислоты, например, гидроксильной группе, или обычно к связи, доступной и подходящей для включения носителя в остов, например, фосфатный или модифицированный фосфатный, например, содержащий серу, остов. «Связывающая точка присоединения» (ТАР) в некоторых вариантах реализации относится к составному атому кольца циклического носителя, например, атому углерода или гетероатому (отличному от атома, который обеспечивает точку присоединения к остову), который соединяет выбранный фрагмент. Фрагмент может представлять собой, например, углевод, например, моносахарид, дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид. Необязательно выбранный фрагмент соединен посредством промежуточной связки с циклическим носителем. Таким образом, циклический носитель часто будет включать функциональную группу, например, аминогруппу, или обычно обеспечивает связь, которая подходит для включения или связывания другого химического соединения, например, лиганда с составным кольцом.

иРНК может быть конъюгирована с лигандом посредством носителя, причем указанный носитель может представлять собой циклическую группу или ациклическую группу. Согласно одному варианту реализации циклическая группа выбрана из пирролидинила, пиразолинила, пиразолидинила, имидазолинила, имидазолидинила, пиперидинила, пиперазинила, [1,3]диоксолана, оксазолидинила, изоксазолидинила, морфолинила, тиазолидинила, изотиазолидинила, хиноксалинила, пиридазинонила, тетрагидрофурила и декалина. Согласно одному варианту реализации ациклическая группа представляет собой сериновый остов или диэтаноламиновый остов.

#### *i. Термически дестабилизирующие модификации*

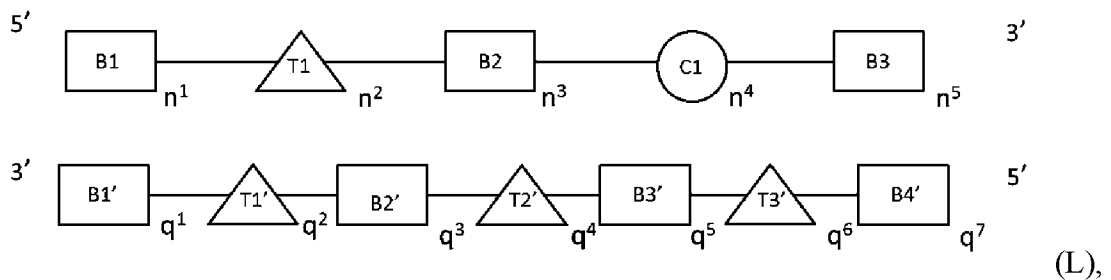
Согласно определенным вариантам реализации молекулу дцРНК можно оптимизировать для РНК-интерференции путем включения термически дестабилизирующих модификаций в затравочной области антисмысловой цепи. В настоящем документе «затравочная область» означает в положениях 2-9 5'-конца референсной цепи или в положениях 2-8 5'-конца референсной цепи. Например, в затравочную область антисмысловой цепи можно включать термически дестабилизирующие модификации для снижения или ингибирования сайленсинга нецелевого гена.

Термин «термически дестабилизирующая модификация(ии)» включает модификацию(ии), которая приведет к получению дцРНК с более низкой общей температурой плавления ( $T_m$ ), чем  $T_m$  дцРНК без такой модификации(ий). Например, термически дестабилизирующая модификация(ии) может(могут) снижать  $T_m$  дцРНК на 1-

4°C, например, на один, два, три или четыре градуса Цельсия. Также термин «термически дестабилизирующий нуклеотид» относится к нуклеотиду, содержащему одну или более термически дестабилизирующих модификаций.

Было обнаружено, что дцРНК с антисмысловой цепью, содержащей по меньшей мере одну термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 нуклеотидных положений, отсчитывая от 5'-конца, антисмысловой цепи, обладают сниженной активностью сайленсинга нецелевого гена. Соответственно, согласно некоторым вариантам реализации антисмысловая цепь содержит по меньшей мере одну (например, одну, две, три, четыре, пять или более) термически дестабилизирующую модификацию дуплекса в пределах первых 9 нуклеотидных положений 5'-области антисмысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации одна или более термически дестабилизирующих модификаций дуплекса расположены в положениях 2-9, например, в положениях 4-8, с 5'-конца антисмысловой цепи. Согласно некоторым дополнительным вариантам реализации термически дестабилизирующая(ие) модификация(ии) дуплекса расположена(ы) в положении 6, 7 или 8 с 5'-конца антисмысловой цепи. Согласно некоторым дополнительным вариантам реализации термически дестабилизирующая модификация дуплекса расположена в положении 7 с 5'-конца антисмысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации термически дестабилизирующая модификация дуплекса расположена в положении 2, 3, 4, 5 или 9 с 5'-конца антисмысловой цепи.

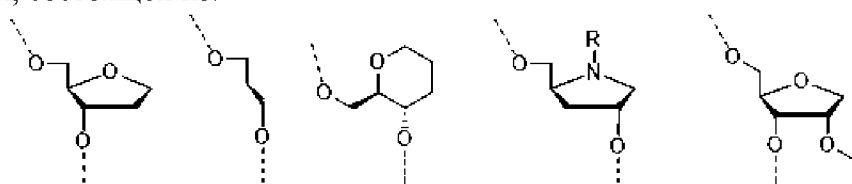
Агент иРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом каждая цепь содержит от 14 до 40 нуклеотидов. Агент РНКи может быть представлен формулой (L):



В формуле (L) каждый B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, выбранную из группы, состоящей из 2'-О-алкила, 2'-замещенного алкокси, 2'-замещенного алкила, 2'-галогена, ENA и BNA/LNA. Согласно одному варианту реализации каждый B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе-модификации. Согласно одному варианту реализации каждый B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-ОМе- или 2'-F-модификации. Согласно одному варианту реализации по меньшей мере один из B1, B2, B3, B1', B2', B3' и B4' содержит 2'-О-N-метилацетамидную модификацию (2'-О-NMA, 2'-О-CH<sub>2</sub>C(O)N(Me)H).

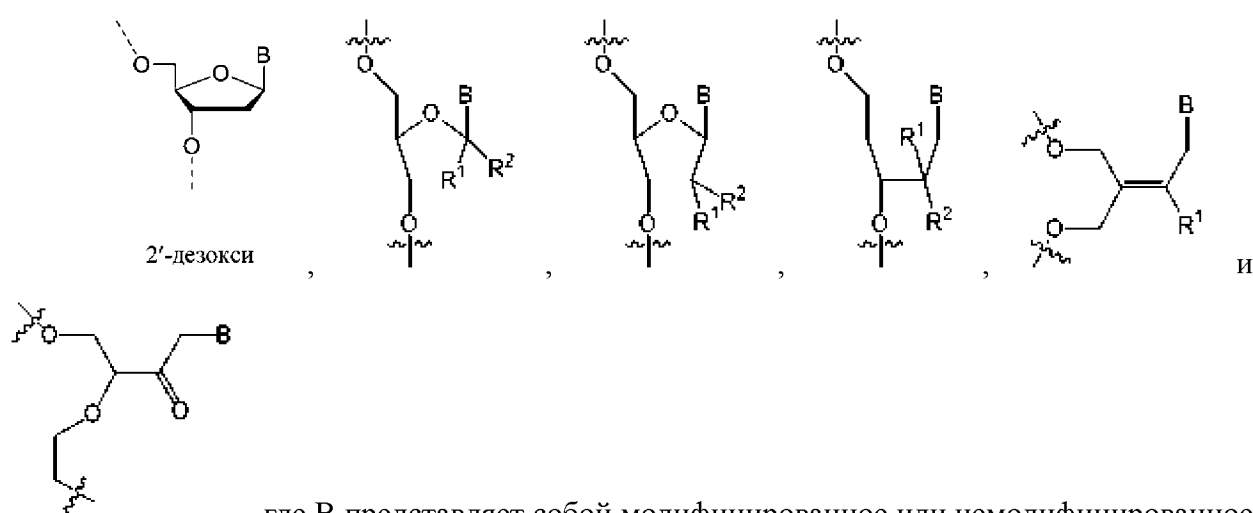
C1 представляет собой термически дестабилизирующий нуклеотид, размещенный в сайте, противоположном затравочной области антисмысловой цепи (т. е. в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи или в положениях 2-9 5'-конца антисмысловой цепи).

Например, C1 находится в положении смысловой цепи, которое спаривается с нуклеотидом в положениях 2-8 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере C1 находится в положении 15 от 5'-конца смысловой цепи. Нуклеотид C1 несет термически дестабилизирующую модификацию, которая может включать модификацию путем удаления азотистого основания; несовпадение с противоположным нуклеотидом в дуплексе; и модификацию сахара, такую как 2'-дезоксимо-модификация или ациклический нуклеотид, например, неблокированные нуклеиновые кислоты (UNA) или глицериновая нуклеиновая кислота (GNA), или 2'-5'-связанные рибонуклеотиды («3'-РНК»). Согласно одному варианту реализации C1 имеет термически дестабилизирующую модификацию, выбранную из группы, состоящей из: i) несовпадения с противоположным нуклеотидом в антисмысловой цепи; ii) модификации путем удаления азотистого основания, выбранной из группы, состоящей из:

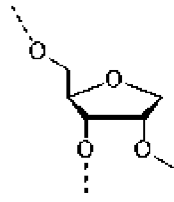


; и iii) модификации

сахара, выбранной из группы, состоящей из:



, где B представляет собой модифицированное или немодифицированное нуклеиновое основание,  $R^1$  и  $R^2$  независимо представляют собой H, галоген,  $OR_3$  или алкил; и  $R_3$  представляет собой H, алкил, циклоалкил, арил, аралкил, гетероарил или сахар. Согласно одному варианту реализации термически дестабилизирующая модификация в C1 представляет собой несовпадение, выбранное из группы, состоящей из G:G, G:A, G:U, G:T, A:A, A:C, C:C, C:U, C:T, U:U, T:T и U:T; и необязательно по меньшей мере одно нуклеиновое основание в несовпадающей паре представляет собой 2'-дезоксинуклеиновое основание. В одном примере термически дестабилизирующая модификация в C1



представляет собой GNA или

Каждый T1, T1', T2' и T3' независимо представляет собой нуклеотид, содержащий модификацию, обеспечивающую нуклеотиду стерический объем, который меньше или равен стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Стерический объем относится к сумме стерических эффектов модификации. Способы определения стерических эффектов модификации нуклеотида известны специалисту в данной области техники. Модификация может быть в 2'-положении рибозного сахара нуклеотида или может представлять собой модификацию нерибозного нуклеотида, ациклического нуклеотида или остова нуклеотида, которая подобна или эквивалентна 2'-положению рибозного сахара, и придает нуклеотиду стерический объем, который меньше или равен стерическому объему 2'-ОМе-модификации. Например, каждый T1, T1', T2' и T3' независимо выбран из ДНК, РНК, LNA, 2'-F и 2'-F-5'-метила. Согласно одному варианту реализации T1 представляет собой ДНК. Согласно одному варианту реализации T1' представляет собой ДНК, РНК или LNA. Согласно одному варианту реализации T2' представляет собой ДНК или РНК. Согласно одному варианту реализации T3' представляет собой ДНК или РНК.

$n^1$ ,  $n^3$  и  $q^1$  независимо представляют собой от 4 до 15 нуклеотидов в длину.

$n^5$ ,  $q^3$  и  $q^7$  независимо представляют собой 1-6 нуклеотидов в длину.

$n^4$ ,  $q^2$  и  $q^6$  независимо представляют собой 1-3 нуклеотида в длину; в качестве альтернативы,  $n^4$  представляет собой 0.

$q^5$  независимо представляет собой 0-10 нуклеотидов в длину.

$n^2$  и  $q^4$  независимо представляют собой 0-3 нуклеотида в длину.

В качестве альтернативы,  $n^4$  представляет собой 0-3 нуклеотида в длину.

Согласно одному варианту реализации  $n^4$  может представлять собой 0. В одном примере  $n^4$  представляет собой 0, и  $q^2$  и  $q^6$  представляют собой 1. В другом примере  $n^4$  представляет собой 0, и  $q^2$  и  $q^6$  представляют собой 1 с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Согласно одному варианту реализации каждый из  $n^4$ ,  $q^2$  и  $q^6$  представляет собой 1.

Согласно одному варианту реализации каждый из  $n^2$ ,  $n^4$ ,  $q^2$ ,  $q^4$  и  $q^6$  представляет собой 1.

Согласно одному варианту реализации C1 находится в положении 14-17 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь представляет собой 19-22 нуклеотида в длину, и  $n^4$  представляет собой 1. Согласно одному варианту реализации C1 находится в положении 15

5'-конца смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации T3' начинается в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^6$  равняется 1.

Согласно одному варианту реализации T1' начинается в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^2$  равняется 1.

Согласно примерному варианту реализации T3' начинается от положения 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и T1' начинается от положения 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T3' начинается от положения 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^6$  равняется 1, и T1' начинается от положения 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^2$  равняется 1.

Согласно одному варианту реализации T1' и T3' разделены 11 нуклеотидами в длину (т. е. не учитывая нуклеотиды T1' и T3').

Согласно одному варианту реализации T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^2$  равняется 1, и модификация находится в положении 2' или положениях в нерибозной группе, ациклической группе или остове, которые обеспечивают меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза.

Согласно одному варианту реализации T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^6$  равняется 1, и модификация находится в положении 2' или положениях в нерибозной группе, ациклической группе или остове, которые обеспечивают стерический объем, который меньше или равен таковому 2'-ОМе-рибозы.

Согласно одному варианту реализации T1 находится в сайте расщепления смысловой цепи. В одном примере T1 находится в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь представляет собой 19-22 нуклеотида в длину, и  $n^2$  равняется 1. Согласно примерному варианту реализации T1 находится в сайте расщепления смысловой цепи в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь представляет собой 19-22 нуклеотида в длину, и  $n^2$  представляет собой 1.

Согласно одному варианту реализации T2' начинается в положении 6 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^4$  представляет собой 1.

Согласно примерному варианту реализации T1 находится в сайте расщепления смысловой цепи, например, в положении 11 от 5'-конца смысловой цепи, если смысловая цепь представляет собой 19-22 нуклеотида в длину, и  $n^2$  представляет собой 1; T1' находится в положении 14 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^2$  равняется 1, и модификация T1' находится в положении 2' рибозного сахара или в положениях в нерибозной группе, ациклической группе или остове, которые обеспечивают меньший стерический объем, чем 2'-ОМе-рибоза; T2' находится в положениях 6-10 от 5'-конца

антисмысловой цепи, и  $q^4$  представляет собой 1; и T3' находится в положении 2 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^6$  равняется 1, и модификация T3' находится в положении 2' или в положениях в нерибозной группе, ациклической группе или остове, которые обеспечивают стерической объем меньший или равный таковому 2'-ОМе-рибозы.

Согласно одному варианту реализации T2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T2' начинается в положении 8 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^4$  представляет собой 2.

Согласно одному варианту реализации T2' начинается в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи. В одном примере T2' находится в положении 9 от 5'-конца антисмысловой цепи, и  $q^4$  представляет собой 1.

Согласно одному варианту реализации B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 1, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 6, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Согласно одному варианту реализации  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 1, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 6, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе и  $q^7$  представляет собой 1.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$





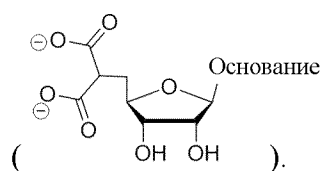




собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F и  $q^7$  представляет собой 1.

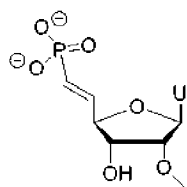
Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи).

Агент РНКи может содержать фосфоросодержащую группу на 5'-конце смысловой цепи или антисмысловой цепи. 5'-концевая фосфоросодержащая группа может представлять собой 5'-концевой фосфат (5'-P), 5'-концевой фосфотиоат (5'-PS), 5'-концевой фосфодитиоат (5'-PS<sub>2</sub>), 5'-концевой винилфосфонат (5'-VP), 5'-концевой метилфосфонат



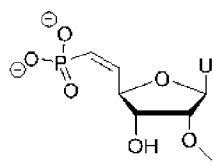
(MePhos) или 5'-дезоксидезокси-5'-C-малонил

Если 5'-концевая фосфоросодержащая группа представляет собой 5'-концевой винилфосфонат (5'-VP), 5'-VP может представлять собой либо изомер 5'-E-VP (т. е. *транс*-



винилфосфонат,

), либо изомер 5'-Z-VP (т. е. *цис*-винилфосфонат,



) или их смеси.

Согласно одному варианту реализации агент РНКи содержит фосфоросодержащую группу на 5'-конце смысловой цепи. Согласно одному варианту реализации агент РНКи



2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-Р.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой



2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-Р.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент на основе дцРНК, также содержит 5'-PS.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-



представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-C-малонил.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup>







1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-VP. 5'-VP может представлять собой 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезокси-5'-C-малонил.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F и q<sup>7</sup> представляет собой 1. Агент РНКи также содержит 5'-P.





собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub>.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксигуанидин-5'-С-малонил.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-

ОМе,  $n^5$  представляет собой 3,  $B1'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9,  $T1'$  представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1,  $B2'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $T2'$  представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2,  $B3'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5,  $T3'$  представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1,  $B4'$  представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации  $B1$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8,  $T1$  представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3,  $B2$  представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0,  $B3$  представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3,  $B1'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9,  $T1'$  представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1,  $B2'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $T2'$  представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2,  $B3'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5,  $T3'$  представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1,  $B4'$  представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд.

Согласно одному варианту реализации 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации  $B1$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8,  $T1$  представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3,  $B2$  представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0,  $B3$  представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3,  $B1'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9,  $T1'$  представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1,  $B2'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $T2'$  представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2,  $B3'$  представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5,  $T3'$  представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1,  $B4'$  представляет собой 2'-ОМе, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой

цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-дезоксидезокси-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-



ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, ТЗ' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup>

представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-ОМе, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации B1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными

модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, Т2' представляет собой 2'-F, q<sup>4</sup> представляет собой 2, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 5, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-

ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4, T2' представляет собой 2'-F,  $q^4$  представляет собой 2, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 5, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-дезоксигуанозин-5'-С-малонил находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-Р и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-Р находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $n^1$  представляет собой 8, T1 представляет собой 2'-F,  $n^2$  представляет собой 3, B2 представляет собой 2'-ОМе,  $n^3$  представляет собой 7,  $n^4$  представляет собой 0, B3 представляет собой 2'-ОМе,  $n^5$  представляет собой 3, B1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^1$  представляет собой 9, T1' представляет собой 2'-F,  $q^2$  представляет собой 1, B2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^3$  представляет собой 4,  $q^4$  представляет собой 0, B3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F,  $q^5$  представляет собой 7, T3' представляет собой 2'-F,  $q^6$  представляет собой 1, B4' представляет собой 2'-F, и  $q^7$  представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и

нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-VP (например, 5'-E-VP, 5'-Z-VP или их комбинацию) и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-VP находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-PS<sub>2</sub> и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-PS<sub>2</sub> находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно одному варианту реализации В1 представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, n<sup>1</sup> представляет собой 8, Т1 представляет собой 2'-F, n<sup>2</sup> представляет собой 3, В2 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>3</sup> представляет собой 7, n<sup>4</sup> представляет собой 0, В3 представляет собой 2'-ОМе, n<sup>5</sup> представляет собой 3, В1' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>1</sup> представляет собой 9, Т1' представляет собой 2'-F, q<sup>2</sup> представляет собой 1, В2' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>3</sup> представляет собой 4, q<sup>4</sup> представляет собой 0, В3' представляет собой 2'-ОМе или 2'-F, q<sup>5</sup> представляет собой 7, Т3' представляет собой 2'-F, q<sup>6</sup> представляет собой 1, В4' представляет собой 2'-F, и q<sup>7</sup> представляет собой 1; с двумя фосфотиоатными

модификациями межнуклеотидных связей в пределах положения 1-5 смысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца смысловой цепи), и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в положениях 1 и 2 и двумя фосфотиоатными модификациями межнуклеотидных связей в пределах положений 18-23 антисмысловой цепи (отсчитывая от 5'-конца антисмысловой цепи). Агент РНКи также содержит 5'-дезоксипентановую кислоту и нацеливающий лиганд. Согласно одному варианту реализации 5'-дезоксипентановая кислота находится на 5'-конце антисмысловой цепи, и нацеливающий лиганд находится на 3'-конце смысловой цепи.

Согласно конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера; и

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 17, 19 и 21 и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14-16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 9, 11-13, 15, 17, 19, 21 и 23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 6-8, 10, 14, 16, 18, 20 и 22 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты на основе дцРНК имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11, 13, 15, 17, 19 и 21 и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12, 14, 16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9, 11-13, 15, 17, 19 и 21-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 10 и 12-21, 2'-F-модификации в положениях 7 и 9 и дезоксинуклеотид (например, dT) в положении 11 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 7, 9, 11, 13, 15, 17 и 19-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 4-6, 8, 10, 12, 14, 16 и 18 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 10, 12, 14, 16-21 и 2'-F-модификации в положениях 7, 9, 11, 13 и 15; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19 и 21-23 и 2'-F-модификации в положениях 2-4, 6, 8, 10, 12, 14, 16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-9 и 12-21 и 2'-F-модификации в положениях 10 и 11; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9, 11-13, 15, 17, 19 и 21-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 10, 14, 16, 18 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-F-модификации в положениях 1, 3, 5, 7, 9-11 и 13 и 2'-ОМе-модификации в положениях 2, 4, 6, 8, 12 и 14-21; и



(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3, 5-7, 9, 11-13, 15, 17-19 и 21-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 4, 8, 10, 14, 16 и 20 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 2, 4, 6, 8, 12, 14, 15, 17 и 19-21 и 2'-F-модификации в положениях 3, 5, 7, 9-11, 13, 16 и 18; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 25 нуклеотидов в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 4, 6, 7, 9, 11-13, 15, 17 и 19-23, 2'-F-модификации в положениях 2, 3, 5, 8, 10, 14, 16 и 18 и дезоксинуклеотиды (например, dT) в положениях 24 и 25 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют четырехнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного

разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 12-21 и 2'-F-модификации в положениях 7 и 9-11; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 8, 10-13, 15, 17-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 9, 14 и 16 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-6, 8, 12-21 и 2'-F-модификации в положениях 7 и 9-11; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 23 нуклеотида в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 10-13, 15 и 17-23 и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 21 и 22 и между нуклеотидными положениями 22 и 23 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно другому конкретному варианту реализации агент РНКи согласно настоящему изобретению содержит:

(a) смысловую цепь, имеющую:

(i) 19 нуклеотидов в длину;

(ii) лиганд ASGPR, присоединенный к 3'-концу, причем указанный лиганд ASGPR содержит три производных GalNAc, присоединенных посредством трехвалентного разветвленного линкера;

(iii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1-4, 6 и 10-19 и 2'-F-модификации в положениях 5 и 7-9; и

(iv) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2 и между нуклеотидными положениями 2 и 3 (отсчитывая от 5'-конца);

и

(b) антисмысловую цепь, имеющую:

(i) 21 нуклеотид в длину;

(ii) 2'-ОМе-модификации в положениях 1, 3-5, 7, 10-13, 15 и 17-21 и 2'-F-модификации в положениях 2, 6, 8, 9, 14 и 16 (отсчитывая от 5'-конца); и

(iii) фосфотиоатные межнуклеотидные связи между нуклеотидными положениями 1 и 2, между нуклеотидными положениями 2 и 3, между нуклеотидными положениями 19 и 20 и между нуклеотидными положениями 20 и 21 (отсчитывая от 5'-конца);

причем указанные агенты РНКи имеют двухнуклеотидный липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи и тупой конец на 5'-конце антисмысловой цепи.

Согласно определенным вариантам реализации иРНК для применения в способах согласно настоящему изобретению представляет собой агент, выбранный из агентов, перечисленных в любой из Таблиц 2-7. Указанные агенты могут дополнительно содержать лиганд.

### **III. иРНК, конъюгированные с лигандами**

Другая модификация РНК в случае иРНК согласно настоящему изобретению включает химическое связывание иРНК с одним или более лигандами, фрагментами или конъюгатами, которые повышают активность, клеточное распределение или клеточное поглощение указанной иРНК, например, в клетку. Такие фрагменты включают, но не ограничиваются перечисленными, липидные фрагменты, такие как фрагмент холестерина (Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86: 6553-6556). Согласно другим вариантам реализации лиганд представляет собой холевую кислоту (Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053-1060), простой тиозфир, например, берил-S-третилтиол (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306-309; Manoharan *et al.*, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765-2770), тиохолестерин (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533-538), алифатическую цепь, например, додекандиоловые или ундециловые остатки (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J*, 1991, 10:1111-1118; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327-330; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49-54), фосфолипид, например, дигексадецил-рац-глицерин или триэтиламмоний 1,2-ди-О-гексадецил-рац-глицеро-3-фосфонат (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777-3783), цепь полиамина или полиэтиленгликоля (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969-973), или адамантануксусную кислоту (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651-3654), пальмитильный фрагмент (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995,

1264:229-237) или фрагмент октадециламина или гексиламинокарбонилноксихолестерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923-937).

Согласно определенным вариантам реализации лиганд изменяет распределение, нацеливание или время жизни агента иРНК, в который он включен. Согласно некоторым вариантам реализации лиганд обеспечивает повышенную аффинность в отношении выбранной мишени, например, молекулы, клетки или типа клеток, компартмента, например, клеточного или органного компартмента, ткани, органа или участка тела, по сравнению, например, с соединением, не имеющим такого лиганда. Согласно некоторым вариантам реализации лиганды не принимают участия в дуплексном спаривании в дуплексной нуклеиновой кислоте.

Лиганды могут включать встречающееся в природе вещество, такое как белок (например, сывороточный альбумин человека (HSA), липопротеин низкой плотности (ЛПНП) или глобулин); углевод (например, декстран, пуллулан, хитин, хитозан, инулин, циклодекстрин, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин или гиалуроновую кислоту); или липид. Лиганд также может представлять собой рекомбинантную или синтетическую молекулу, такую как синтетический полимер, например, синтетическую полиаминокислоту. Примеры полиаминокислот включают полиаминокислоту, представляющую собой полилизин (PLL), поли-L-аспарагиновую кислоту, поли-L-глутаминовую кислоту, сополимер стирола и ангидрида малеиновой кислоты, сополимер поли-L-лактида и гликолида, сополимер дивинилового эфира и малеинового ангидрида, сополимер N-(2-гидроксипропил)метакриламида (НМРА), полиэтиленгликоль (PEG), поливиниловый спирт (PVA), полиуретан, поли-2-этилакриловую кислоту, полимеры N-изопропилакриламида или полифосфазин. Примерные полиамины включают: полиэтиленимин, полилизин (PLL), спермин, спермидин, полиамин, псевдопептид-полиамин, пептидомиметический полиамин, дендримерный полиамин, аргинин, амидин, протамин, катионный липид, катионный порфирин, четвертичную соль полиамина или альфа-спиральный пептид.

Лиганды также могут включать нацеливающие группы, например, нацеливающий на клетки или ткани агент, например, лектин, гликопротеин, липид или белок, например, антитело, который связывается с указанным типом клеток, таким как клетка почки. Нацеливающая группа может представлять собой тиротропин, меланотропин, лектин, гликопротеин, поверхностно-активный белок А, углевод муцина, поливалентную лактозу, поливалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, поливалентную маннозу, поливалентную фукозу, гликозилированные полиаминокислоты, поливалентную галактозу, трансферрин, бисфосфонат, полиглутамат, полиаспартат, липид, холестерин, стероид, желчную кислоту, фолат, витамин В12, витамин А, биотин или пептид RGD или миметик пептида RGD. Согласно определенным вариантам реализации лиганд представляет собой поливалентную галактозу, например, N-ацетилгалактозамин.

Другие примеры лигандов включают красители, интеркалирующие агенты (например, акридины), сшивающие линкеры (например, псорален, митомицин С),

порфирины (TPPC4, тексафирин, сапфирин), полициклические ароматические углеводороды (например, феназин, дигидрофеназин), искусственные эндонуклеазы (например, EDTA), липофильные молекулы, например, холестерин, холевую кислоту, адамантануксусную кислоту, пирен-1-масляную кислоту, дигидротестостерон, 1,3-бис-О(гексадецил)глицерин, геранилоксигексильную группу, гексадецилглицерин, борнеол, ментол, 1,3-пропандиол, гептадецильную группу, пальмитиновую кислоту, миристиновую кислоту, ОЗ-(олеоил)литохолевую кислоту, ОЗ-(олеоил)холеновую кислоту, диметокситритил, или феноксазин) и пептидные конъюгаты (например, пептид antennapedia, пептид Tat), алкилирующие агенты, фосфат, аминок, меркапто, PEG (например, PEG-40K), MPEG, [MPEG]<sub>2</sub>, полиамино, алкил, замещенный алкил, меченные радиоактивной меткой маркеры, ферменты, гаптены (например, биотин), усилители транспорта/всасывания (например, аспирин, витамин Е, фолиевую кислоту), синтетические рибонуклеазы (например, имидазол, бисимидазол, гистамин, кластеры имидазола, конъюгаты акридина и имидазола, комплексы Eu<sup>3+</sup> тетраазамакроциклов), динитрофенил, HRP или AP.

Лиганды могут представлять собой белки, например, гликопротеины, или пептиды, например, молекулы, обладающие специфичной аффинностью в отношении ко-лиганда, или антитела, например, антитело, которое связывается с указанным типом клеток, таким как клетка печени. Лиганды также могут включать гормоны и рецепторы гормонов. Они также могут включать непептидные соединения, такие как липиды, лектины, углеводы, витамины, кофакторы, поливалентную лактозу, поливалентную галактозу, N-ацетилгалактозамин, N-ацетилглюкозамин, поливалентную маннозу или поливалентную фукозу. Лиганд может представлять собой, например, липополисахарид, активатор киназы p38 MAP или активатор NF- $\kappa$ B.

Лиганд может представлять собой вещество, например, лекарственное средство, которое может увеличивать поглощение агента иРНК в клетку, например, путем разрушения цитоскелета клетки, например, путем разрушения микротрубочек, микрофиламентов или промежуточных филаментов клетки. Лекарственное средство может представлять собой, например, таксол, винкристин, винбластин, цитохалазин, нокодазол, яплакинолид, латрункулин А, фаллоидин, свинголид А, инданоцин или миосервин.

Согласно некоторым вариантам реализации лиганд, присоединенный к иРНК, описанной в настоящем документе, действует в качестве модулятора фармакокинетики (модулятора ФК). Модуляторы ФК включают липофильные соединения, желчные кислоты, стероиды, аналоги фосфолипидов, пептиды, связывающие белки агенты, PEG, витамины и т. д. Примерные модуляторы ФК включают, но не ограничиваются перечисленными, холестерин, жирные кислоты, холевую кислоту, литохоловую кислоту, диалкилглицериды, диацилглицериды, фосфолипиды, сфинголипиды, напроксен, ибупрофен, витамин Е, биотин. Известно, что олигонуклеотиды, которые содержат ряд фосфотиоатных связей, также связываются с сывороточным белком, таким образом, короткие олигонуклеотиды, например, олигонуклеотиды, состоящие из примерно 5 оснований, 10 оснований, 15

оснований или 20 оснований, содержащие несколько фосфотиоатных связей в остове, также приемлемы для настоящего изобретения в качестве лигандов (например, в качестве ФК-модулирующих лигандов). Кроме того, аптамеры, которые связывают сывороточные компоненты (например, сывороточные белки), также подходят для применения в качестве ФК-модулирующих лигандов в вариантах реализации, описанных в настоящем документе.

Конъюгированные с лигандами иРНК согласно настоящему изобретению можно синтезировать с использованием олигонуклеотида, который несет боковую реакционноспособную функциональную группу, например, полученную в результате присоединения связывающей молекулы на олигонуклеотид (описано ниже). Указанный реактивный олигонуклеотид может быть подвергнут непосредственной реакции с коммерчески доступными лигандами, лигандами, которые синтезируются как несущие любую из множества защитных групп, или лигандами, которые имеют присоединенный к ним связывающий фрагмент.

Олигонуклеотиды, применяемые в конъюгатах согласно настоящему изобретению, могут быть получены удобным и рутинным образом с помощью хорошо известной методики твердофазного синтеза. Оборудование для такого синтеза продается несколькими поставщиками, включая, например, Applied Biosystems® (Фостер-Сити, Калифорния). Для такого синтеза можно дополнительно или альтернативно использовать любые другие способы, известные в данной области техники. Также известно, что подобные методики применяют для получения других олигонуклеотидов, таких как фосфотиоаты и алкилированные производные.

В конъюгированных с лигандом иРНК и несущих молекулу лиганда специфичных в отношении последовательности связанных нуклеозидах согласно настоящему изобретению олигонуклеотиды и олигонуклеозиды могут быть собраны на подходящем синтезаторе ДНК с использованием стандартных нуклеотидных или нуклеозидных предшественников, или нуклеотидных или нуклеозидных конъюгированных предшественников, которые уже несут связывающий фрагмент, предшественников лиганд-нуклеотид или нуклеозид-конъюгат, которые уже несут молекулу лиганда, или ненуклеозидных несущих лиганд строительных блоков.

При использовании предшественников нуклеотид-конъюгат, которые уже несут связывающий фрагмент, синтез специфичных в отношении последовательности связанных нуклеозидов, как правило, завершают, а затем проводят реакцию молекулы лиганда со связывающим фрагментом с образованием конъюгированного с лигандом олигонуклеотида. Согласно некоторым вариантам реализации олигонуклеотиды или связанные нуклеозиды согласно настоящему изобретению синтезируют с помощью автоматического синтезатора с применением фосфорамидитов, полученных из конъюгатов лиганд-нуклеозид, в дополнение к стандартным фосфорамидитам и нестандартным фосфорамидитам, которые являются коммерчески доступными и обычно используются в синтезе олигонуклеотидов.

*Липидные конъюгаты*

Согласно определенным вариантам реализации лиганд или конъюгат представляет собой липид или основанную на липиде молекулу. Согласно одному варианту реализации такой липид или основанная на липиде молекула связывает сывороточный белок, например, сывороточный альбумин человека (HSA). Связывающий HSA лиганд обеспечивает возможность распределения конъюгата в целевую ткань, например, в отличную от почки целевую ткань организма. Например, целевая ткань может представлять собой печень, включая паренхимальные клетки печени. Другие молекулы, которые могут связываться с HSA, также можно применять в качестве лигандов. Например, можно применять напроксен или аспирин. Липид или основанный на липиде лиганд может (а) повышать устойчивость к деградации конъюгата, (b) увеличивать нацеливание или транспорт в целевую клетку или клеточную мембрану, или (с) может применяться для корректировки связывания с сывороточным белком, например, HSA.

Лиганд на основе липида можно применять для ингибирования, например, контроля связывания конъюгата с целевой тканью. Например, липид или лиганд на основе липида, который сильнее связывается с HSA, будет менее вероятно нацелен на почку и, следовательно, менее вероятно, будет выведен из организма. Липид или лиганд на основе липида, который менее сильно связывается с HSA, можно применять для нацеливания конъюгата на почку.

Согласно определенным вариантам реализации лиганд на основе липида связывает HSA. Согласно одному варианту реализации он связывается с HSA с достаточной аффинностью так, что конъюгат будет распределяться в ткань, отличную от ткани почки. Однако предпочтительно аффинность не настолько сильная, чтобы связывание HSA и лиганда невозможно было обратить вспять.

Согласно другим вариантам реализации лиганд на основе липида слабо или совсем не связывается с HSA. Согласно одному варианту реализации конъюгат будет распределяться в почку. Другие фрагменты, которые нацелены в клетки почки, также можно применять вместо лиганда на основе липида или в дополнение к нему.

В другом аспекте лиганд представляет собой фрагмент, например, витамин, который поглощается целевой клеткой, например, пролиферирующей клеткой. Они особенно применимы для лечения нарушений, характеризующихся нежелательной пролиферацией клеток, например, злокачественного или незлокачественного типа, например, раковых клеток. Примерные витамины включают витамины А, Е и К. Другие примерные витамины включают витамин В, например, фолиевую кислоту, В12, рибофлавин, биотин, пиридоксаль или другие витамины или питательные вещества, поглощаемые целевыми клетками, такими как клетки печени. Также включены HSA и липопротеин низкой плотности (ЛПНП).

#### *В. Агенты для проникновения в клетки*

В другом аспекте лиганд представляет собой агент для проникновения в клетку, такой как спиральный агент для проникновения в клетку. Согласно одному варианту реализации агент является амфипатическим. Примерный агент представляет собой пептид,

такой как tat или antennopedia. Если агент представляет собой пептид, он может быть модифицирован, включая пептидилмиметик, инвертомеры, непептидные или псевдопептидные связи и применение D-аминокислот. Согласно одному варианту реализации спиральный агент представляет собой альфа-спиральный агент, который имеет липофильную и липофобную фазу.

Лиганд может представлять собой пептид или пептидомиметик. Пептидомиметик (также называемый в настоящем документе олигопептидомиметиком) представляет собой молекулу, способную укладываться в определенную трехмерную структуру, сходную с природным пептидом. Присоединение пептида и пептидомиметиков к агентам иРНК может влиять на фармакокинетическое распределение иРНК, например, посредством усиления клеточного распознавания и всасывания. Пептид или фрагмент пептидомиметика может иметь примерно 5-50 аминокислот в длину, например, примерно 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 или 50 аминокислот в длину.

Пептид или пептидомиметик может представлять собой, например, пептид для проникновения в клетки, катионный пептид, амфипатический пептид или гидрофобный пептид (например, состоящий главным образом из Tug, Tgr или Phe). Пептидный фрагмент может представлять собой дендримерный пептид, ограниченный пептид или сшитый пептид. В другом альтернативном варианте пептидный фрагмент может включать гидрофобную последовательность мембранной транслокации (MTS). Примерный гидрофобный MTS-содержащий пептид представляет собой RFGF, имеющий аминокислотную последовательность AAVALLPAVLLALLAP (SEQ ID NO: 14). Аналог RFGF (например, аминокислотная последовательность AALLPVLLAAP (SEQ ID NO:15)), содержащий гидрофобную MTS, также может представлять собой нацеливающий фрагмент. Пептидный фрагмент может представлять собой пептид для «доставки», который может переносить большие полярные молекулы, включая пептиды, олигонуклеотиды и белок, через клеточные мембраны. Например, было обнаружено, что последовательности из белка Tat ВИЧ (GRKKRRQRRRPPQ (SEQ ID NO: 16)) и белка Antennapedia дрозофил (RQIKIWFQNRRMKWKK (SEQ ID NO: 17)) способны функционировать в качестве пептидов для доставки. Пептид или пептидомиметик могут кодироваться случайной последовательностью ДНК, такой как пептид, идентифицированный из библиотеки фагового дисплея или комбинаторной библиотеки «одна гранула-одно соединение» (ОВОС) (Lam *et al.*, Nature, 354:82-84, 1991). Пример пептида или пептидомиметика, присоединенного к агенту на основе дцРНК посредством включенного мономерного звена, для нацеливания на клетку представляет собой пептид аргинин-глицин-аспарагиновая кислота (RGD) или миметик RGD. Длина пептидного фрагмента может находиться в диапазоне от примерно 5 аминокислот до примерно 40 аминокислот. Пептидные фрагменты могут иметь структурную модификацию, например, для повышения стабильности или направления конформационных свойств. Можно применять любую из структурных модификаций, описанных ниже.

Пептид RGD для применения в композициях и способах согласно настоящему



изобретению может быть линейным или циклическим и может быть модифицирован, например, гликозилирован или метилирован, чтобы облегчить нацеливание на конкретную ткань(и). RGD-содержащие пептиды и пептидомиметики могут включать D-аминокислоты, а также синтетические RGD-миметики. В дополнение к RGD можно применять другие фрагменты, которые нацелены на лиганд интегрин, например, PECAM-1 или VEGF.

«Пептид для проникновения в клетку» способен проникать в клетку, например, в микробную клетку, такую как бактериальная или грибковая клетка, или в клетку млекопитающего, такую как клетка человека. Проникающий в микробную клетку пептид может представлять собой, например,  $\alpha$ -спиральный линейный пептид (например, LL-37 или Secorin P1), пептид, содержащий дисульфидную связь (например,  $\alpha$ -дефензин,  $\beta$ -дефензин или бактенецин), или пептид, содержащий только одну или две преобладающие аминокислоты (например, PR-39 или индолицидин). Пептид для проникновения в клетку также может включать сигнал ядерной локализации (NLS). Например, пептид для проникновения в клетку может представлять собой двусоставной амфипатический пептид, такой как MPG, который получен из домена пептида слияния gp41 ВИЧ-1 и NLS большого T-антигена SV40 (Simeoni *et al.*, Nucl. Acids Res. 31:2717-2724, 2003).

### *С. Конъюгаты углеводов*

Согласно некоторым вариантам реализации композиций и способов согласно настоящему изобретению иРНК дополнительно содержит углеводов. Конъюгированная с углеводов иРНК является предпочтительной для доставки нуклеиновых кислот *in vivo*, а также композиций, подходящих для терапевтического применения *in vivo*, описанных в настоящем документе. В настоящем документе «углевод» относится к соединению, которое представляет собой либо углеводов как таковой, состоящий из одного или более моносахаридных звеньев, содержащих по меньшей мере 6 атомов углерода (который может быть линейным, разветвленным или циклическим) с атомом кислорода, азота или серы, связанным с каждым атомом углерода; либо соединение, имеющее в качестве своей части углеводный фрагмент, состоящий из одного или более моносахаридных звеньев, каждое из которых содержит по меньшей мере шесть атомов углерода (который может быть линейным, разветвленным или циклическим) с атомом кислорода, азота или серы, связанным с каждым атомом углерода. Типичные углеводы включают сахара (моно-, ди-, три- и олигосахариды, содержащие примерно 4, 5, 6, 7, 8 или 9 моносахаридных звеньев) и полисахариды, такие как крахмалы, гликоген, целлюлоза и полисахаридные камеди. Конкретные моносахариды включают C5 и выше (например, C5, C6, C7 или C8) сахара; ди- и трисахариды включают сахара, содержащие два или три моносахаридных звена (например, C5, C6, C7 или C8).

Согласно определенным вариантам реализации углеводный конъюгат для применения в композициях и способах согласно настоящему изобретению представляет собой моносахарид.

Согласно определенным вариантам реализации моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин (GalNAc). Конъюгаты GalNAc, которые содержат одно или более

производных N-ацетилгалактозамина (GalNAc), описаны, например, в US 8106022, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc служит в качестве лиганда, который нацеливает иРНК на конкретные клетки. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc нацеливает иРНК на клетки печени, например, играя роль лиганда для асиалогликопротеинового рецептора клеток печени (например, гепатоцитов).

Согласно некоторым вариантам реализации углеводный конъюгат содержит одно или более производных GalNAc. Производные GalNAc могут быть присоединены посредством линкера, например, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc конъюгирован с 3'-концом смысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc конъюгирован с агентом иРНК (например, с 3'-концом смысловой цепи) посредством линкера, например, линкера, описанного в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи. Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат GalNAc конъюгирован с агентом иРНК (например, с 5'-концом смысловой цепи) посредством линкера, например, линкера, описанного в настоящем документе.

Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством одновалентного линкера. Согласно некоторым вариантам реализации GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством двухвалентного линкера. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством трехвалентного линкера. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством четырехвалентного линкера.

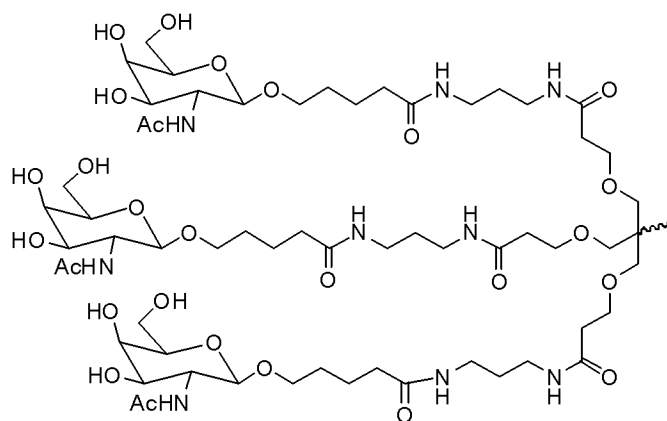
Согласно определенным вариантам реализации двухцепочечные агенты РНКи согласно настоящему изобретению содержат один GalNAc или производное GalNAc, присоединенное к агенту иРНК. Согласно определенным вариантам реализации двухцепочечные агенты РНКи согласно настоящему изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждое из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечного агента РНКи посредством множества одновалентных линкеров.

Согласно некоторым вариантам реализации, например, если две цепи агента иРНК согласно настоящему изобретению являются частью одной более крупной молекулы и соединены непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное посредством

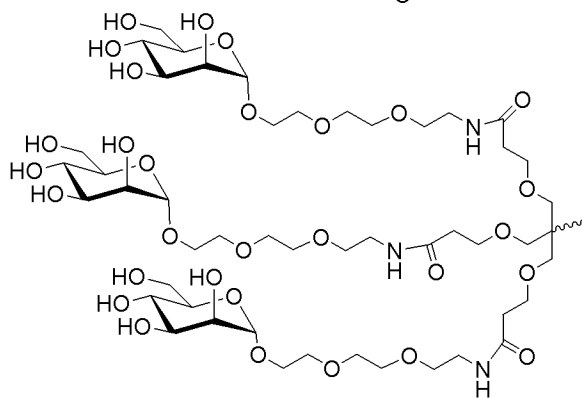
одновалентного линкера. Петля шпильки также может быть образована удлиненным липким концом в одной цепи дуплекса.

Согласно некоторым вариантам реализации, например, если две цепи агента иРНК согласно настоящему изобретению являются частью одной более крупной молекулы и соединены непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное посредством одновалентного линкера. Петля шпильки также может быть образована удлиненным липким концом в одной цепи дуплекса.

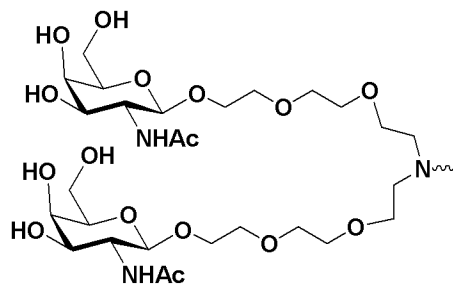
Согласно одному варианту реализации углеводный конъюгат для применения в композициях и способах согласно настоящему изобретению выбран из группы, состоящей из:



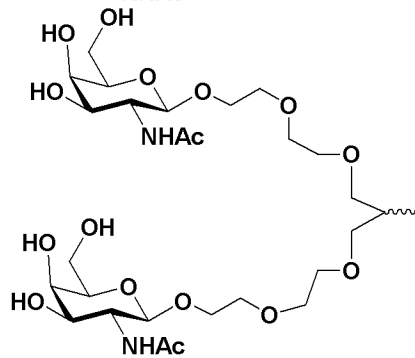
Формула II,



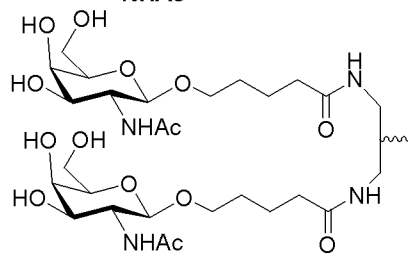
Формула III,



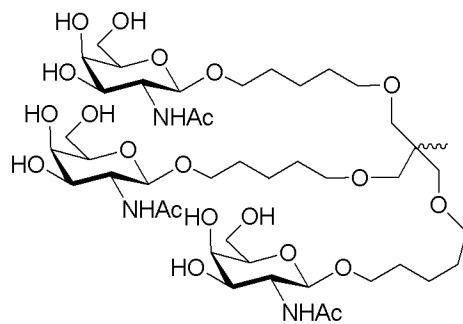
Формула IV,



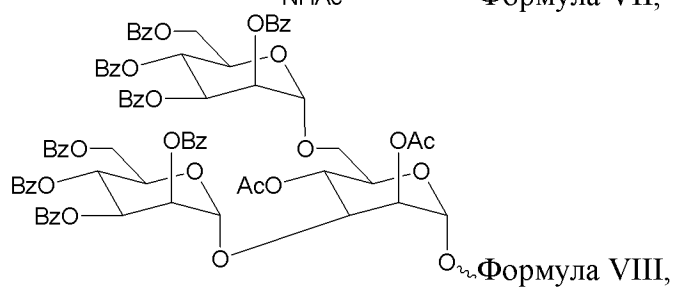
Формула V,



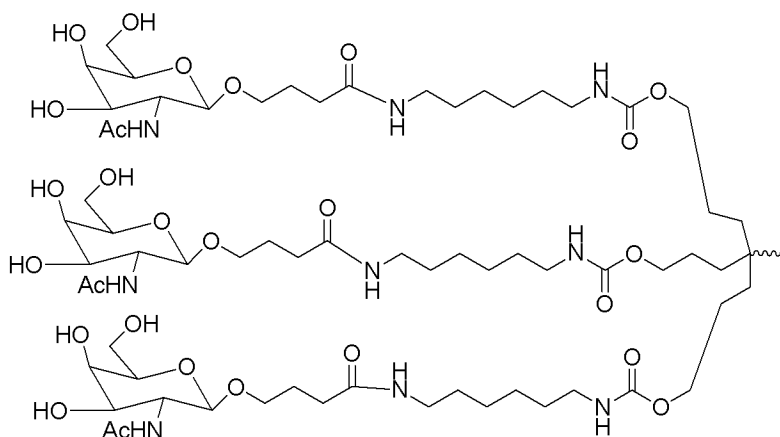
Формула VI,



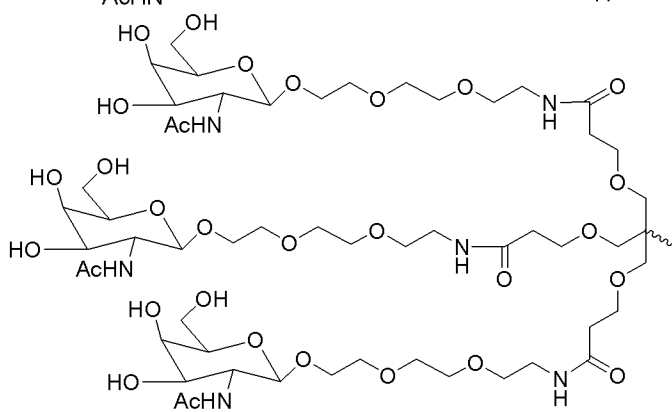
Формула VII,



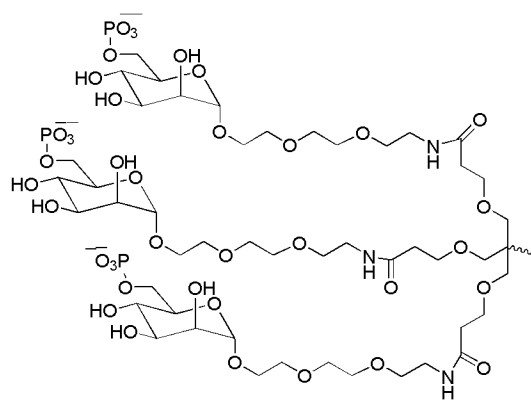
Формула VIII,



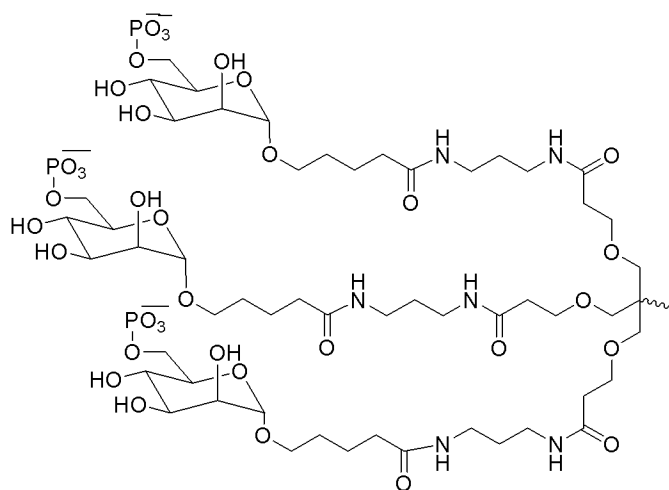
Формула IX,



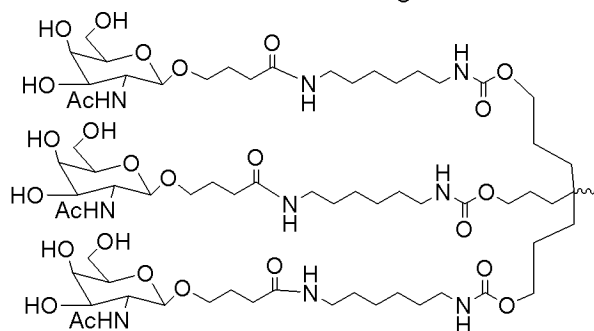
Формула X,



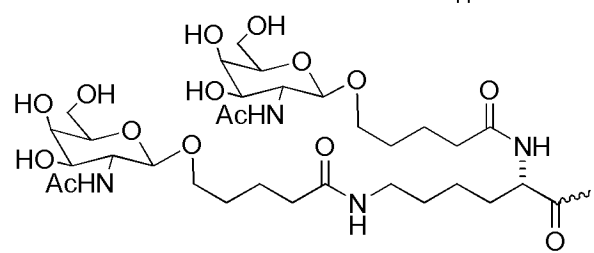
Формула XI,



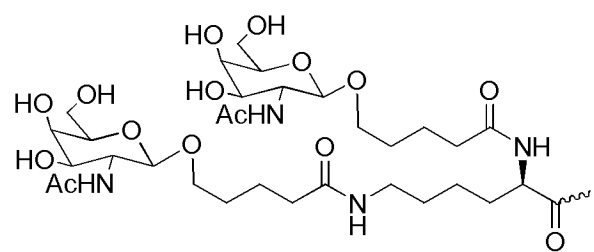
Формула XII,



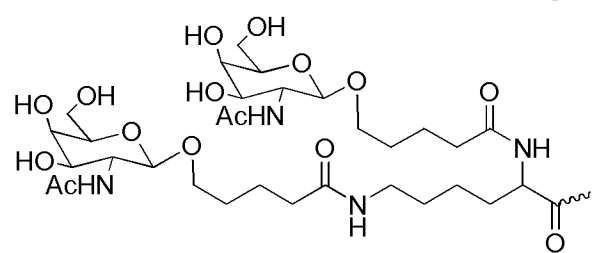
Формула XIII,



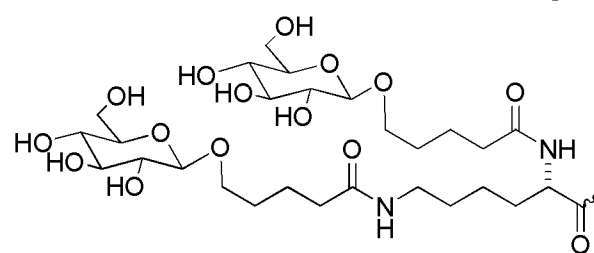
Формула XIV,



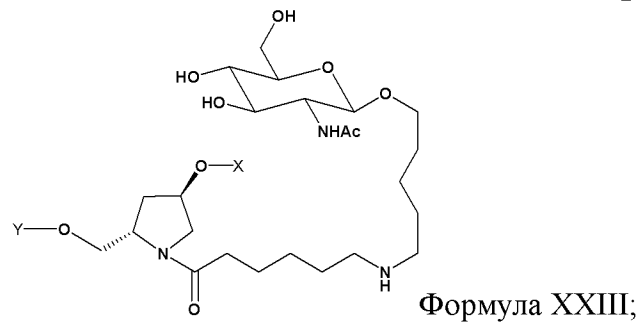
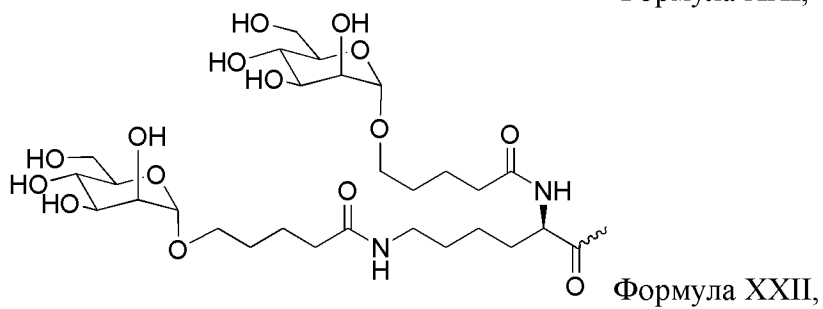
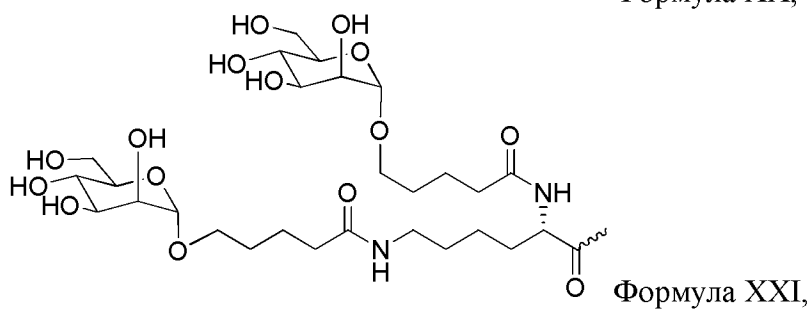
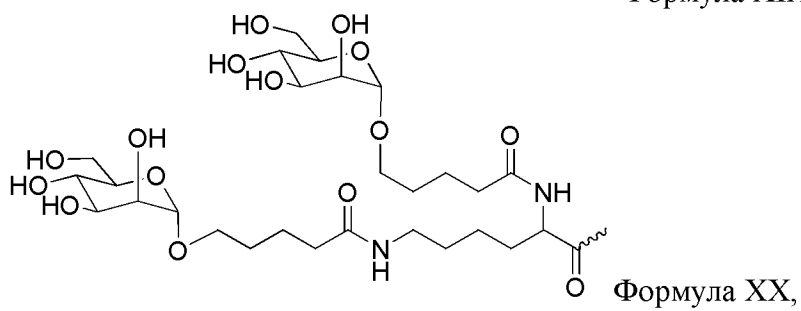
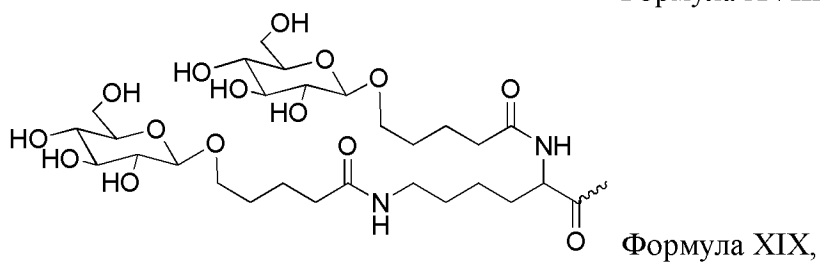
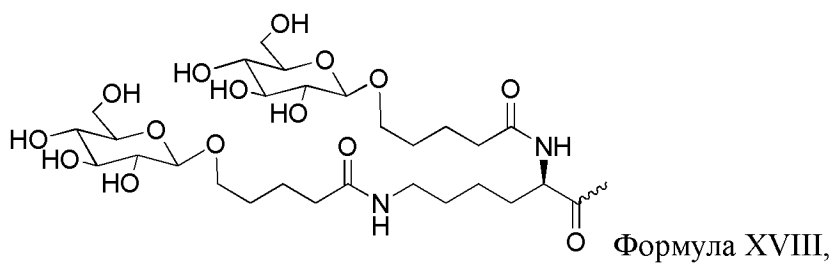
Формула XV,

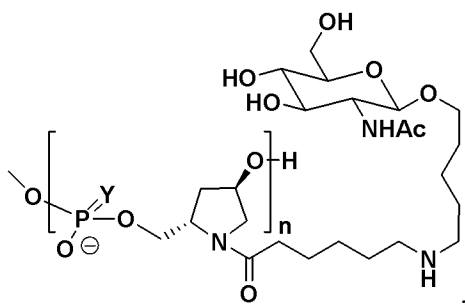


Формула XVI,

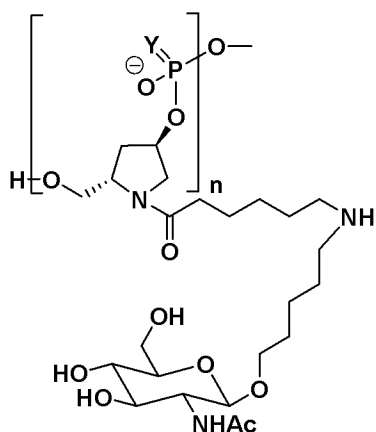


Формула XVII,

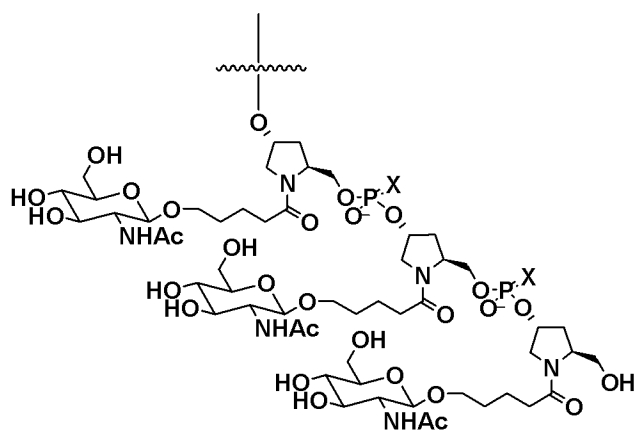
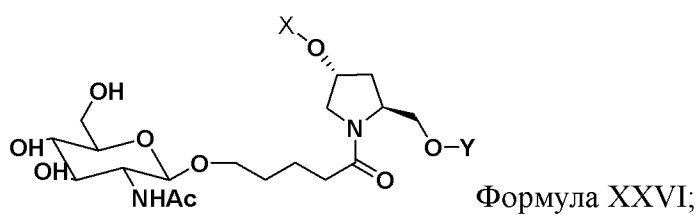




где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (Формула XXIV);

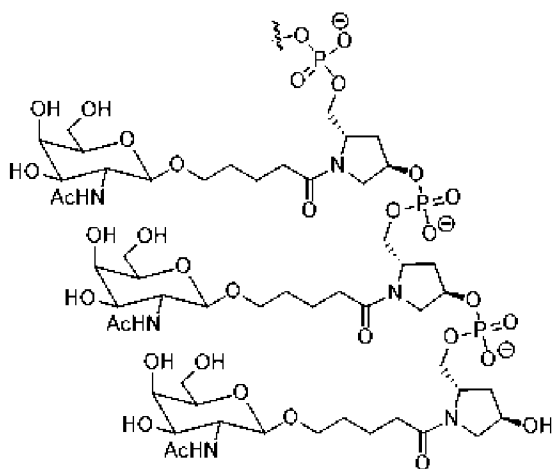
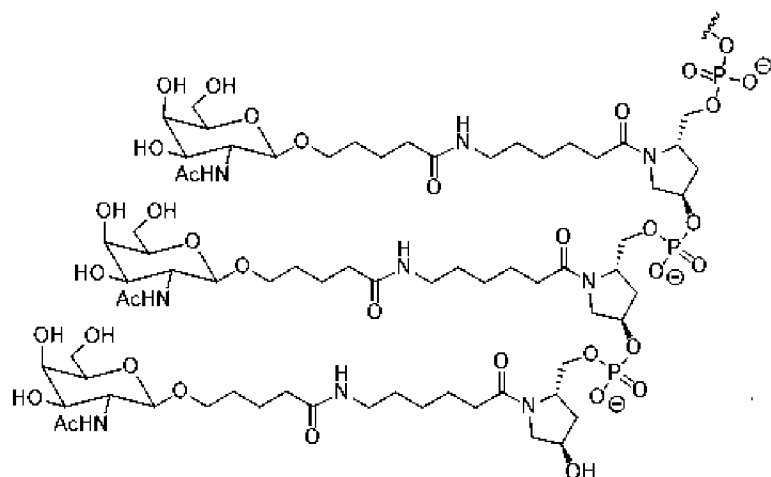


где Y представляет собой O или S, и n представляет собой 3-6 (Формула XXV);

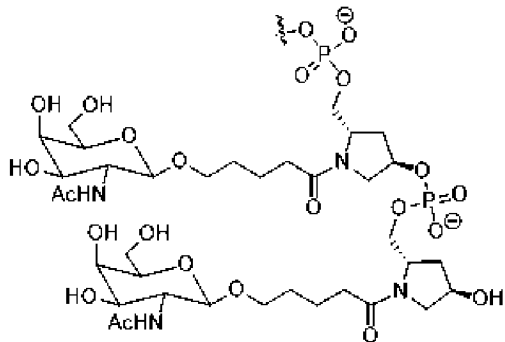
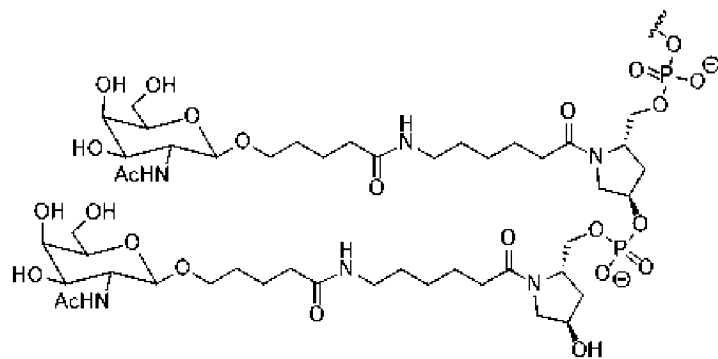


где X представляет собой O или S (Формула XXVII);

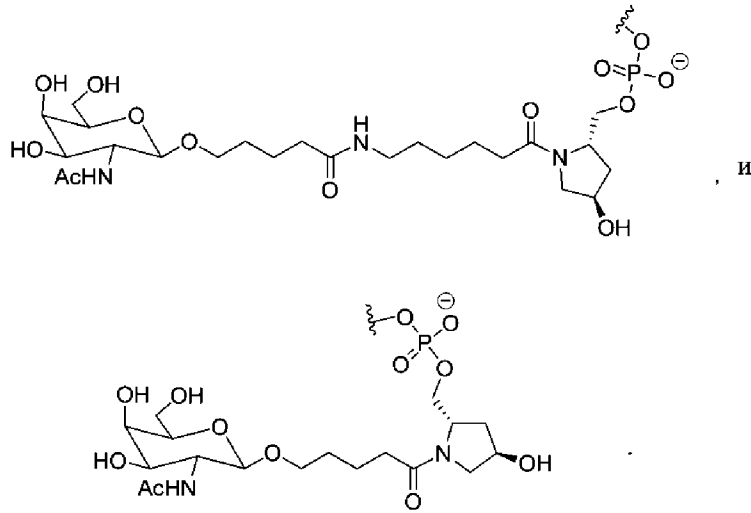




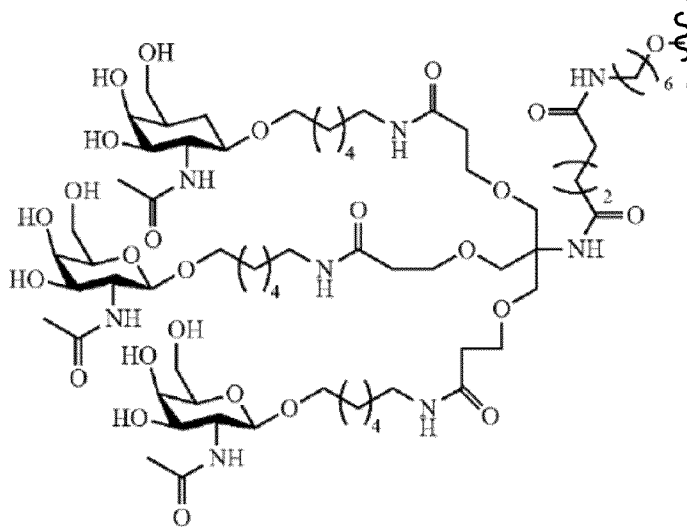
Формула XXVII; Формула XXIX;



Формула XXX; Формула XXXI;

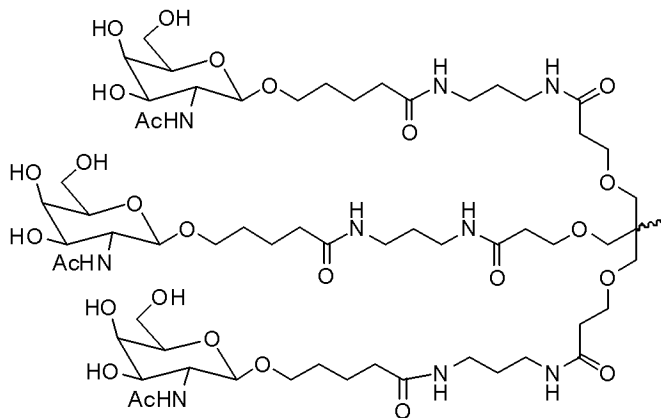


Формула XXXII; Формула XXXIII.



Формула XXXIV.

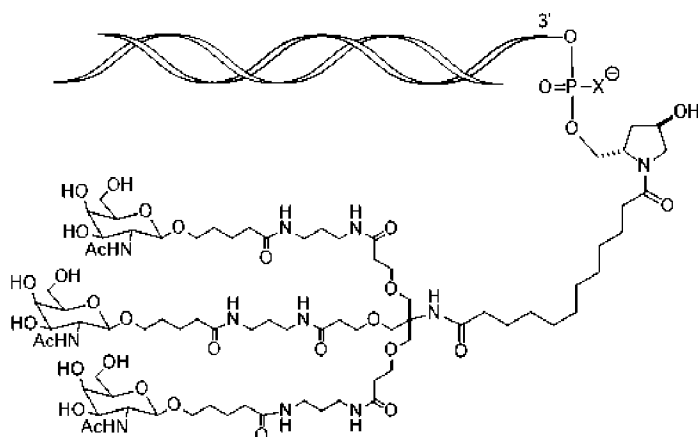
Согласно другому варианту реализации углеводный конъюгат для применения в композициях и способах согласно настоящему изобретению представляет собой моносахарид. Согласно одному варианту реализации моносахарид представляет собой N-ацетилгалактозамин, такой как



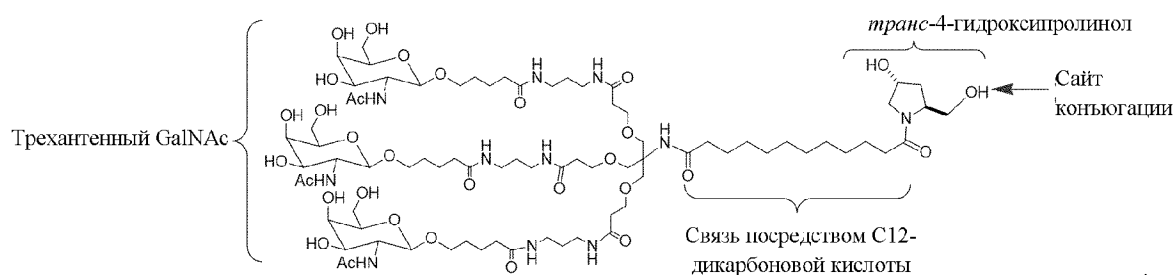
Формула II.

Согласно некоторым вариантам реализации агент РНКи присоединен к углеводному

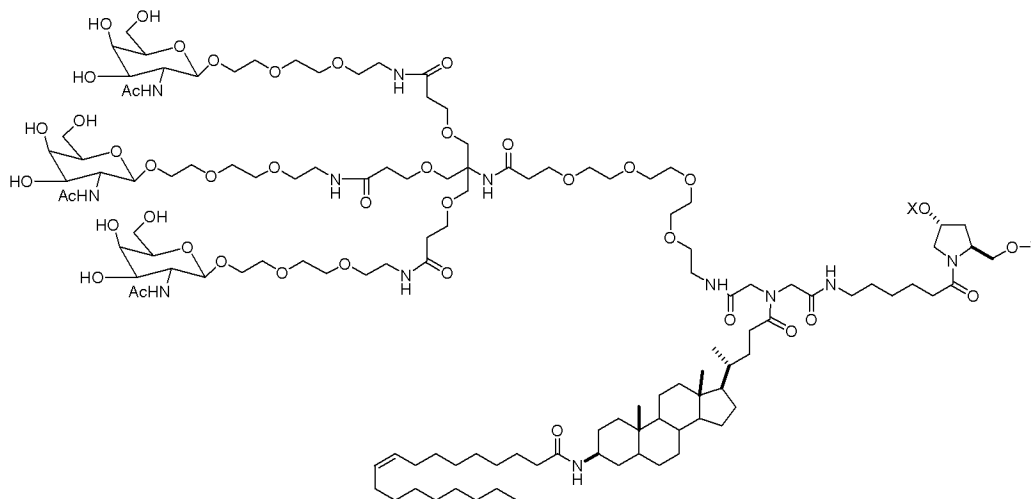
конъюгату посредством линкера, как показано на следующей схеме, где X представляет собой O или S



Согласно некоторым вариантам реализации агент РНКи конъюгирован с L96, как определено в Таблице 1 и показано ниже:

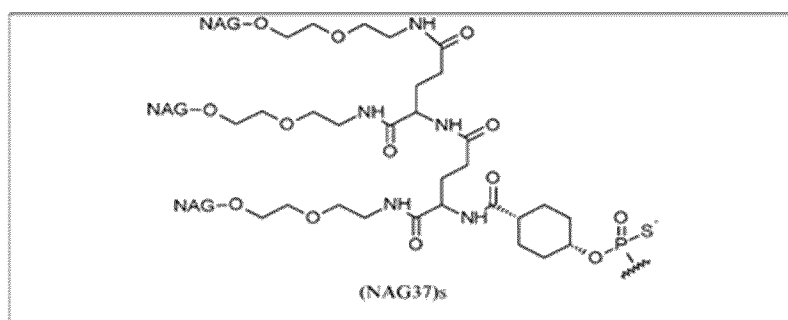


Другой типичный углеводный конъюгат для применения в вариантах реализации, описанных в настоящем документе, включает, но не ограничивается этим,



(Формула XXXVI), если один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, другой представляет собой водород.

Согласно некоторым вариантам реализации подходящий лиганд представляет собой лиганд, раскрытый в WO 2019/055633, полное содержание которого включено в настоящий документ посредством ссылки. Согласно одному варианту реализации лиганд содержит структуру, представленную ниже:



Согласно определенным вариантам реализации настоящего изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством одновалентного линкера. Согласно некоторым вариантам реализации GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством двухвалентного линкера. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения GalNAc или производное GalNAc присоединено к агенту иРНК согласно настоящему изобретению посредством трехвалентного линкера.

Согласно одному варианту реализации двухцепочечные агенты РНКи согласно настоящему изобретению содержат один или более GalNAc или производных GalNAc, присоединенных к агенту иРНК. GalNAc может быть присоединен к любому нуклеотиду посредством линкера на смысловой цепи или антисмысловой цепи. GalNAc может быть присоединен к 5'-концу смысловой цепи, 3'-концу смысловой цепи, 5'-концу антисмысловой цепи или 3'-концу антисмысловой цепи. Согласно одному варианту реализации GalNAc присоединен к 3'-концу смысловой цепи, например, посредством трехвалентного линкера.

Согласно другим вариантам реализации двухцепочечные агенты РНКи согласно настоящему изобретению содержат множество (например, 2, 3, 4, 5 или 6) GalNAc или производных GalNAc, каждое из которых независимо присоединено к множеству нуклеотидов двухцепочечного агента РНКи посредством множества линкеров, например, одновалентных линкеров.

Согласно некоторым вариантам реализации, например, если две цепи агента иРНК согласно настоящему изобретению являются частью одной более крупной молекулы и соединены непрерывной цепью нуклеотидов между 3'-концом одной цепи и 5'-концом соответствующей другой цепи с образованием петли шпильки, содержащей множество неспаренных нуклеотидов, каждый неспаренный нуклеотид в петле шпильки может независимо содержать GalNAc или производное GalNAc, присоединенное посредством одновалентного линкера.

Согласно некоторым вариантам реализации углеводный конъюгат дополнительно содержит один или более дополнительных лигандов, описанных выше, таких как, но не ограничиваясь этим, модулятор ФК или пептид для проникновения в клетку.

Дополнительные углеводные конъюгаты и линкеры, подходящие для применения в настоящем изобретении, включают те, которые описаны в РСТ публикации №№ WO

2014/179620 и WO 2014/179627, полное содержание каждой из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

#### *D. Линкеры*

Согласно некоторым вариантам реализации конъюгат или лиганд, описанный в настоящем документе, может быть присоединен к олигонуклеотиду иРНК с помощью различных линкеров, которые могут быть расщепляемыми или нерасщепляемыми.

Термин «линкер» или «связывающая группа» означает органический фрагмент, который соединяет две части соединения, например, ковалентно соединяет две части соединения. Линкеры, как правило, содержат непосредственную связь или атом, такой как кислород или сера, звено, такое как NR<sub>8</sub>, C(O), C(O)NH, SO, SO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH, или цепь атомов, таких как, но не ограничиваясь перечисленными, замещенный или незамещенный алкил, замещенный или незамещенный алкенил, замещенный или незамещенный алкинил, арилалкил, арилалкенил, арилалкинил, гетероарилалкил, гетероарилалкенил, гетероарилалкинил, гетероциклилалкил, гетероциклилалкенил, гетероциклилалкинил, арил, гетероарил, гетероциклил, циклоалкил, циклоалкенил, алкиларилалкил, алкиларилалкенил, алкиларилалкинил, алкениларилалкил, алкениларилалкенил, алкениларилалкинил, алкиниларилалкил, алкиниларилалкенил, алкиниларилалкинил, алкилгетероарилалкил, алкилгетероарилалкенил, алкилгетероарилалкинил, алкенилгетероарилалкил, алкенилгетероарилалкенил, алкенилгетероарилалкинил, алкинилгетероарилалкил, алкинилгетероарилалкенил, алкинилгетероарилалкинил, алкилгетероциклилалкил, алкилгетероциклилалкенил, алкилгетероциклилалкинил, алкенилгетероциклилалкил, алкенилгетероциклилалкенил, алкенилгетероциклилалкинил, алкинилгетероциклилалкил, алкинилгетероциклилалкенил, алкинилгетероциклилалкинил, алкиларил, алкениларил, алкиниларил, алкилгетероарил, алкенилгетероарил, алкинилгетероарил, в которых один или более метиленов могут быть прерваны или оканчиваются O, S, S(O), SO<sub>2</sub>, N(R<sub>8</sub>), C(O), замещенный или незамещенный арил, замещенный или незамещенный гетероарил, или замещенный или незамещенный гетероцикл; где R<sub>8</sub> представляет собой водород, ацил, алифатическую или замещенную алифатическую группу. Согласно одному варианту реализации линкер представляет собой примерно 1-24 атома, 2-24, 3-24, 4-24, 5-24, 6-24, 6-18, 7-18, 8-18, 7-17, 8-17, 6-16, 7-17 или 8-16 атомов.

Расщепляемая связывающая группа представляет собой группу, которая является достаточно стабильной за пределами клетки, но которая при попадании в целевую клетку расщепляется с высвобождением двух частей, которые линкер удерживал вместе. Согласно примерному варианту реализации расщепляемая связывающая группа расщепляется по меньшей мере примерно в 10 раз, 20 раз, 30 раз, 40 раз, 50 раз, 60 раз, 70 раз, 80 раз, 90 раз или более, или по меньшей мере в 100 раз быстрее в целевой клетке или в первом референсном условии (которое может быть выбрано, например, для имитации или представления внутриклеточных условий), чем в крови субъекта, или во втором референсном условии (которое может быть выбрано, например, для имитации или

представления условий, обнаруженных в крови или сыворотке крови).

Расщепляемые связывающие группы восприимчивы к расщепляющим агентам, например, рН, окислительно-восстановительному потенциалу или присутствию разрушающих молекул. Обычно расщепляющие агенты более распространены или обнаруживаются на более высоких уровнях или более активны внутри клеток, чем в сыворотке или крови. Примеры таких разрушающих агентов включают: окислительно-восстановительные агенты, которые выбраны для конкретных субстратов или которые не обладают субстратной специфичностью, включая, например, окисляющие или восстанавливающие ферменты или восстанавливающие агенты, такие как меркаптаны, присутствующие в клетках, которые могут разрушать расщепляемую в окислительно-восстановительных условиях связывающую группу путем восстановления; эстеразы; эндосомы или агенты, которые могут создавать кислую среду, например, те, которые приводят к рН, составляющему пять или ниже; ферменты, которые могут гидролизовать или разрушать расщепляемую кислотой связывающую группу, действуя в качестве общей кислоты, пептидазы (которые могут быть субстрат-специфичными) и фосфатазы.

Расщепляемая линкерная группа, такая как дисульфидная связь, может быть восприимчивой к рН. рН сыворотки крови человека составляет 7,4, тогда как средний внутриклеточный рН немного ниже в диапазоне от примерно 7,1 до 7,3. Эндосомы имеют более кислый рН в диапазоне 5,5-6,0, и лизосомы имеют еще более кислый рН примерно 5,0. Некоторые линкеры будут иметь расщепляемую связывающую группу, которая расщепляется при выбранном рН, что высвобождает катионный липид из лиганда внутри клетки или в желаемый компартмент клетки.

Линкер может включать расщепляемую связывающую группу, которая может расщепляться конкретным ферментом. Тип расщепляемой связывающей группы, включенной в линкер, может зависеть от клетки, которая будет мишенью. Например, лиганд, нацеливающий на печень, может быть связан с катионным липидом посредством линкера, который включает сложноэфирную группу. Клетки печени богаты эстеразами, и поэтому линкер будет расщепляться более эффективно в клетках печени, чем в типах клеток, которые не богаты эстеразами. Другие типы клеток, богатые эстеразами, включают клетки легкого, коры почек и яичек.

Линкеры, которые содержат пептидные связи, можно применять при нацеливании на типы клеток, богатые пептидазами, такие как клетки печени и синовиоциты.

В целом, пригодность кандидатной расщепляемой связывающей группы можно оценить путем тестирования способности разрушающего агента (или условия) расщеплять кандидатную связывающую группу. Также будет желательным тестирование кандидатной расщепляемой связывающей группы на способность противостоять расщеплению в крови или при контакте с другой нецелевой тканью. Таким образом, можно определить относительную восприимчивость к расщеплению между первым и вторым условиями, где первое условие выбрано, как указывающее на расщепление в целевой клетке, а второе условие выбрано, как указывающее на расщепление в других тканях или биологических

жидкостях, например, в крови или сыворотке. Оценки можно проводить в бесклеточных системах, в клетках, в культуре клеток, в органной или тканевой культуре или у интактных животных. Может быть полезным проводить первоначальные оценки в бесклеточных или культуральных условиях и подтверждать путем дальнейших оценок у интактных животных. Согласно определенным вариантам реализации пригодные кандидатные соединения расщепляются по меньшей мере примерно в 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или в 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) по сравнению с кровью или сывороткой (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внеклеточных условий).

*i. Расщепляемые в окислительно-восстановительных условиях связывающие группы*

Согласно определенным вариантам реализации расщепляемая связывающая группа представляет собой расщепляемую в окислительно-восстановительных условиях связывающую группу, которая расщепляется при восстановлении или окислении. Примером расщепляемой в восстанавливающих условиях связывающей группы является дисульфидная связывающая группа (-S-S-). Чтобы определить, является ли кандидатная расщепляемая связывающая группа подходящей «расщепляемой в восстанавливающих условиях связывающей группой» или, например, подходит ли она для применения с конкретным фрагментом иРНК и конкретным нацеливающим агентом, можно обратить внимание на способы, описанные в настоящем документе. Например, кандидата можно оценить путем инкубации с дитиотреитолом (DTT) или другим восстанавливающим агентом с применением реагентов, известных в данной области техники, которые имитируют скорость расщепления, которая будет наблюдаться в клетке, например, целевой клетке. Кандидатов также можно оценивать в условиях, которые выбраны для имитации условий крови или сыворотки. В одном варианте кандидатные соединения расщепляются в крови не более чем примерно на 10%. Согласно другим вариантам реализации пригодные кандидатные соединения разрушаются по меньшей мере примерно в 2, 4, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 или примерно в 100 раз быстрее в клетке (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внутриклеточных условий) по сравнению с кровью (или в условиях *in vitro*, выбранных для имитации внеклеточных условий). Скорость расщепления кандидатных соединений можно определить с помощью стандартных анализов ферментативной кинетики в условиях, выбранных для имитации внутриклеточной среды, и по сравнению с условиями, выбранными для имитации внеклеточной среды.

*ii. Расщепляемые связывающие группы на основе фосфата*

Согласно другим вариантам реализации расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе фосфата. Расщепляемая связывающая группа на основе фосфата расщепляется агентами, которые разрушают или гидролизуют фосфатную группу. Примером агента, который расщепляет фосфатные группы в клетках, являются ферменты, такие как фосфатазы в клетках. Примерами связывающих групп на основе фосфата являются -O-P(O)(ORk)-O-, -O-P(S)(ORk)-O-, -O-P(S)(SRk)-O-, -S-P(O)(ORk)-O-, -O-P(O)(ORk)-S-, -S-P(O)(ORk)-S-, -O-P(S)(ORk)-S-, -S-P(S)(ORk)-O-, -O-

$P(O)(Rk)-O-$ ,  $-O-P(S)(Rk)-O-$ ,  $-S-P(O)(Rk)-O-$ ,  $-S-P(S)(Rk)-O-$ ,  $-S-P(O)(Rk)-S-$ ,  $-O-P(S)(Rk)-S-$ , где Rk в каждом случае может независимо представлять собой C1-C20 алкил, C1-C20 галогеналкил, C6-C10 арил или C7-C12 аралкил. Примерные варианты реализации включают  $-O-P(O)(OH)-O-$ ,  $-O-P(S)(OH)-O-$ ,  $-O-P(S)(SH)-O-$ ,  $-S-P(O)(OH)-O-$ ,  $-O-P(O)(OH)-S-$ ,  $-S-P(O)(OH)-S-$ ,  $-O-P(S)(OH)-S-$ ,  $-S-P(S)(OH)-O-$ ,  $-O-P(O)(H)-O-$ ,  $-O-P(S)(H)-O-$ ,  $-S-P(O)(H)-O-$ ,  $-S-P(S)(H)-O-$ ,  $-S-P(O)(H)-S-$  и  $-O-P(S)(H)-S-$ . Согласно определенным вариантам реализации связывающая группа на основе фосфата представляет собой  $-O-P(O)(OH)-O-$ . Указанных кандидатов можно оценивать с применением способов, аналогичных тем, которые описаны выше.

### *iii. Расщепляемые кислотой связывающие группы*

Согласно другим вариантам реализации расщепляемый линкер содержит расщепляемую кислотой связывающую группу. Расщепляемая кислотой связывающая группа представляет собой связывающую группу, которая расщепляется в кислотных условиях. Согласно определенным вариантам реализации расщепляемые кислотой связывающие группы расщепляются в кислой среде с pH примерно 6,5 или ниже (например, примерно 6,0, 5,5, 5,0 или ниже), или агентами, такими как ферменты, которые могут действовать в качестве общей кислоты. В клетке специфические органеллы с низким pH, такие как эндосомы и лизосомы, могут обеспечивать среду расщепления для расщепляемых кислотой связывающих групп. Примеры расщепляемых кислотой связывающих групп включают, но не ограничиваются перечисленными, гидразоны, сложные эфиры и сложные эфиры аминокислот. Расщепляемые кислотой группы могут иметь общую формулу  $-C=NN-$ ,  $C(O)O$  или  $-OC(O)$ . В примерном варианте реализации углерод, присоединенный к кислороду сложного эфира (алкоксигруппа), представляет собой арильную группу, замещенную алкильную группу или третичную алкильную группу, такую как диметилпентил или трет-бутил. Указанных кандидатов можно оценивать с применением способов, аналогичных тем, которые описаны выше.

### *iv. Связывающие группы на основе сложного эфира*

Согласно другим вариантам реализации расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе сложного эфира. Расщепляемая связывающая группа на основе сложного эфира расщепляется ферментами, такими как эстеразы и амидазы в клетках. Примеры расщепляемых связывающих групп на основе сложного эфира включают, но не ограничиваются перечисленными, сложные эфиры алкиленовых, алкениленовых и алкиниленовых групп. Расщепляемые связывающие группы на основе сложного эфира имеют общую формулу  $-C(O)O-$  или  $-OC(O)-$ . Указанных кандидатов можно оценивать с применением способов, аналогичных тем, которые описаны выше.

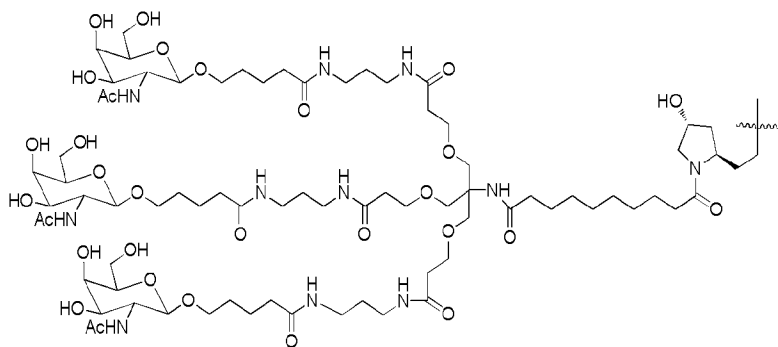
### *v. Расщепляемые группы на основе пептида*

Согласно еще одному варианту реализации расщепляемый линкер содержит расщепляемую связывающую группу на основе пептида. Расщепляемая связывающая группа на основе пептида расщепляется ферментами, такими как пептидазы и протеазы в

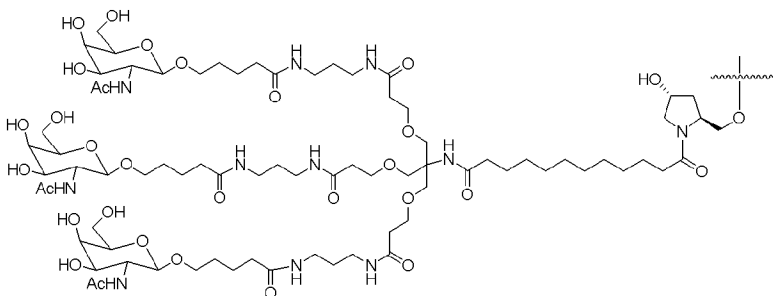


клетках. Расщепляемые связывающие группы на основе пептида представляют собой пептидные связи, образованные между аминокислотами с получением олигопептидов (например, дипептидов, трипептидов и т. д.) и полипептидов. Расщепляемые группы на основе пептида не включают амидную группу (-C(O)NH-). Амидная группа может быть образована между любым алкиленом, алкениленом или алкинеленом. Пептидная связь представляет собой особый тип амидной связи, образующейся между аминокислотами с получением пептидов и белков. Расщепляемая группа на основе пептида обычно ограничена пептидной связью (т. е. амидной связью), образованной между аминокислотами с получением пептидов и белков, и не включает полную амидную функциональную группу. Расщепляемые связывающие группы на основе пептида имеют общую формулу -NHCHRAC(O)NHCHRBC(O)-, где RA и RB представляют собой группы R двух смежных аминокислот. Указанных кандидатов можно оценивать с применением способов, аналогичных тем, которые описаны выше.

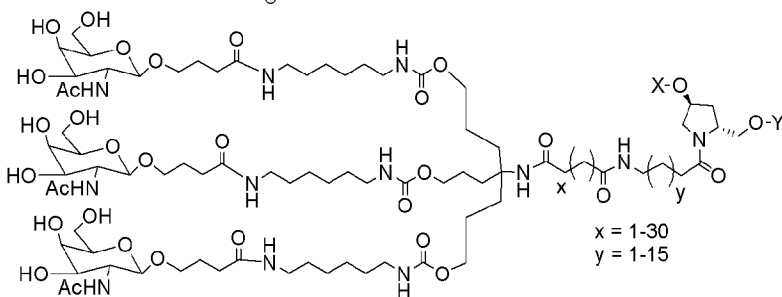
Согласно некоторым вариантам реализации иРНК согласно настоящему изобретению конъюгирована с углеводом посредством линкера. Неограничивающие примеры конъюгатов иРНК-углевод с линкерами композиций и способов согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются перечисленными,



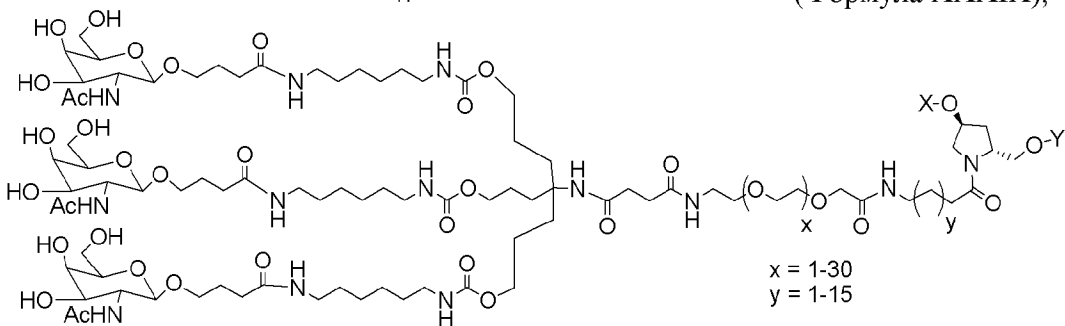
(Формула XXXVII),



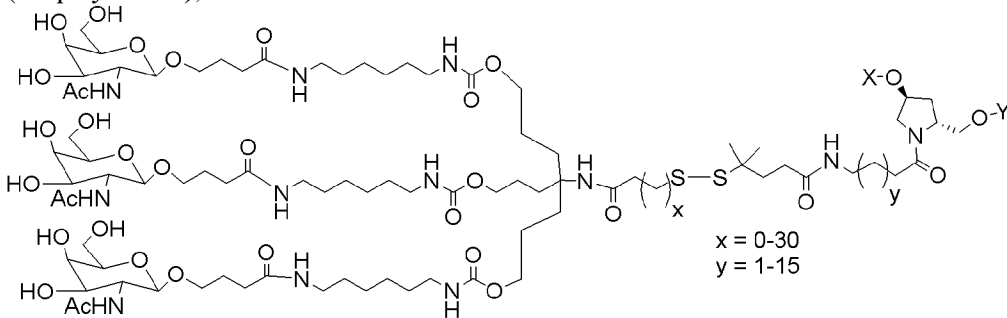
(Формула XXXVIII),



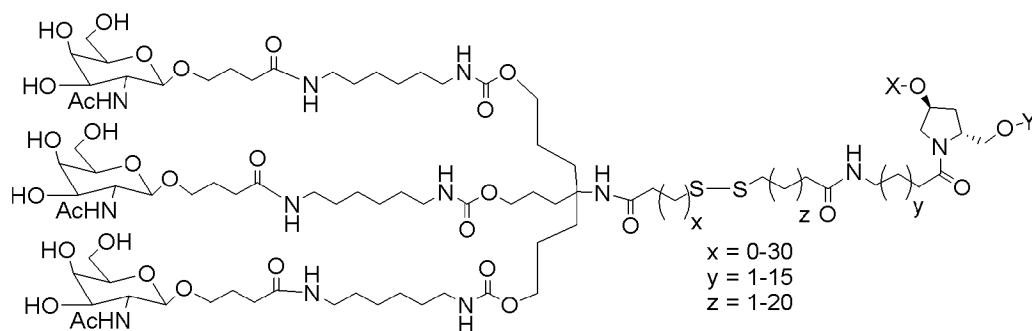
(Формула XXXIX),



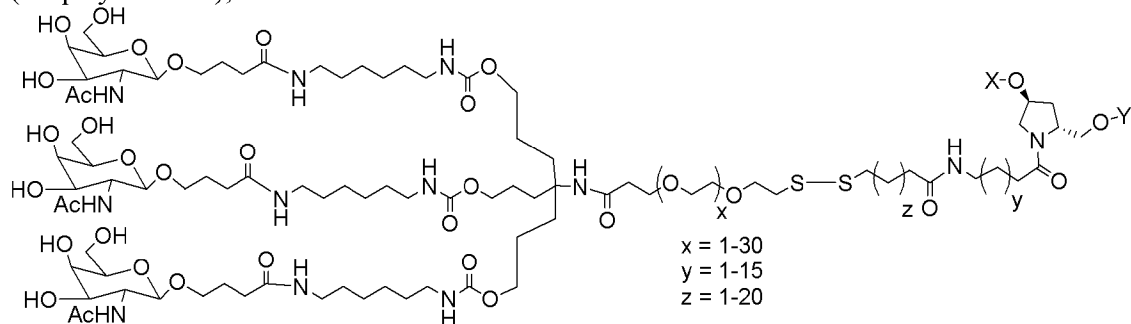
(Формула XL),



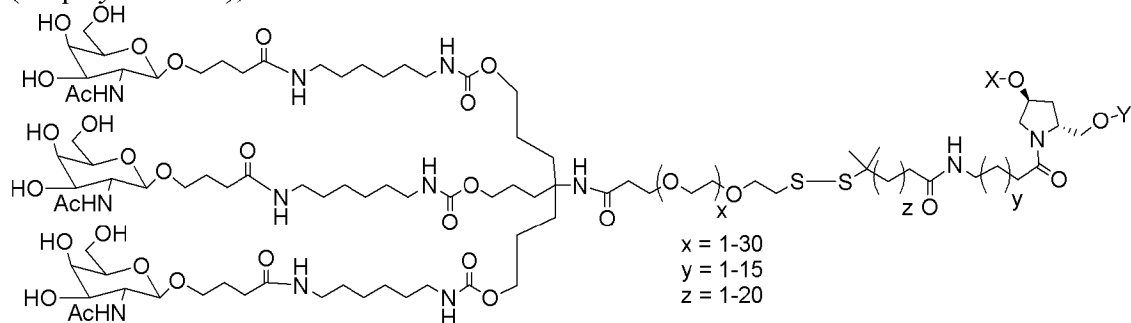
(Формула XLI),



(Формула XLII),



(Формула XLIII), и

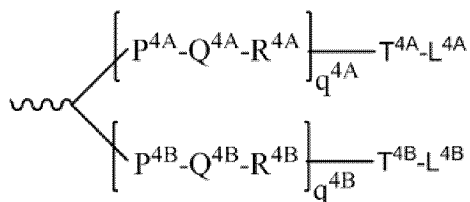
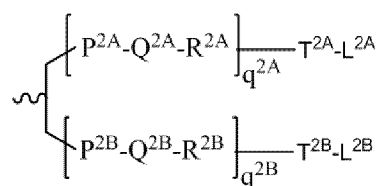


(Формула XLIV), если один из X или Y представляет собой олигонуклеотид, другой представляет собой водород.

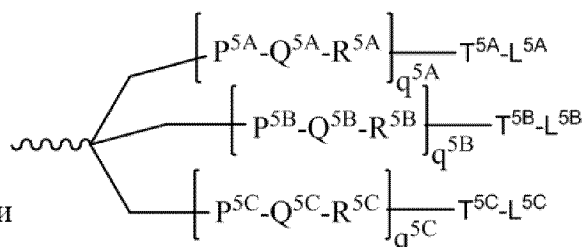
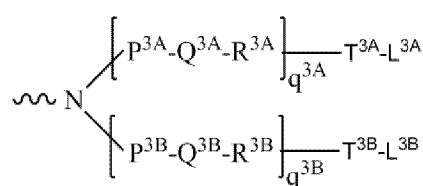
Согласно определенным вариантам реализации композиций и способов согласно настоящему изобретению лиганд представляет собой одно или более производных «GalNAc» (N-ацетилгалактозамина), присоединенных посредством двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

Согласно одному варианту реализации дцРНК согласно настоящему изобретению конъюгирована с двухвалентным или трехвалентным разветвленным линкером, выбранным из группы структур, показанных в любой из формул (XLV) - (XLVI):

Формула XXXV



Формула XLVI



Формула XLVII

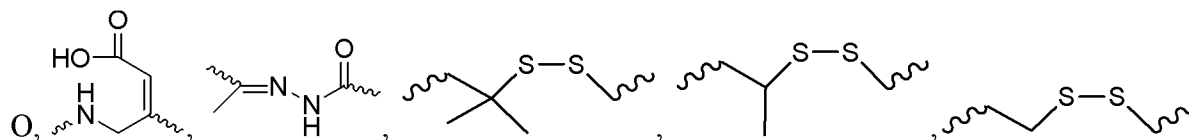
где:

$q^{2A}$ ,  $q^{2B}$ ,  $q^{3A}$ ,  $q^{3B}$ ,  $q^{4A}$ ,  $q^{4B}$ ,  $q^{5A}$ ,  $q^{5B}$  и  $q^{5C}$  представляют собой независимо для каждого случая 0-20, и где повторяющееся звено может быть одинаковым или отличающимся;

$R^{2A}$ ,  $R^{2B}$ ,  $R^{3A}$ ,  $R^{3B}$ ,  $R^{4A}$ ,  $R^{4B}$ ,  $R^{5A}$ ,  $R^{5B}$ ,  $R^{5C}$ ,  $T^{2A}$ ,  $T^{2B}$ ,  $T^{3A}$ ,  $T^{3B}$ ,  $T^{4A}$ ,  $T^{4B}$ ,  $T^{5A}$ ,  $T^{5B}$ ,  $T^{5C}$  каждый независимо для каждого случая отсутствует, CO, NH, O, S, OC(O), NHC(O), CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>NH или CH<sub>2</sub>O;

$Q^{2A}$ ,  $Q^{2B}$ ,  $Q^{3A}$ ,  $Q^{3B}$ ,  $Q^{4A}$ ,  $Q^{4B}$ ,  $Q^{5A}$ ,  $Q^{5B}$ ,  $Q^{5C}$  независимо для каждого случая отсутствуют, алкилен, замещенный алкилен, в котором один или более метиленов могут быть прерваны или терминированы одним или более из O, S, S(O), SO<sub>2</sub>, N(R<sup>N</sup>), C(R')=C(R''), C≡C или C(O);

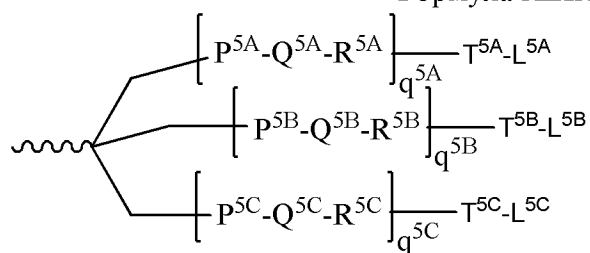
$R^{2A}$ ,  $R^{2B}$ ,  $R^{3A}$ ,  $R^{3B}$ ,  $R^{4A}$ ,  $R^{4B}$ ,  $R^{5A}$ ,  $R^{5B}$ ,  $R^{5C}$  каждый независимо для каждого случая отсутствует, NH, O, S, CH<sub>2</sub>, C(O)O, C(O)NH, NHCH(R<sup>a</sup>)C(O), -C(O)-CH(R<sup>a</sup>)-NH-, CO, CH=NO



или гетероцикл;

$L^{2A}$ ,  $L^{2B}$ ,  $L^{3A}$ ,  $L^{3B}$ ,  $L^{4A}$ ,  $L^{4B}$ ,  $L^{5A}$ ,  $L^{5B}$  и  $L^{5C}$  представляют лиганд; т. е. каждый независимо для каждого случая представляет собой моносахарид (такой как GalNAc), дисахарид, трисахарид, тетрасахарид, олигосахарид или полисахарид; и R<sup>a</sup> представляет собой H или боковую цепь аминокислоты. Трехвалентные конъюгирующие производные GalNAc особенно полезны для применения с агентами РНКи для ингибирования экспрессии целевого гена, например, те, которые имеют формулу (XLIX):

Формула XLIX



где  $L^{5A}$ ,  $L^{5B}$  и  $L^{5C}$  представляют собой моносахарид, такой как производное GalNAc.

Примеры подходящих двухвалентных и трехвалентных разветвленных линкерных групп, конъюгирующих производные GalNAc, включают, но не ограничиваются перечисленными, структуры, приведенные выше как формулы II, VII, XI, X и XIII.

Типичные патенты США, в которых раскрыто получение конъюгатов РНК, включают, но не ограничиваются перечисленными, патенты США №№ 4828979; 4948882; 5218105; 5525465; 5541313; 5545730; 5552538; 5578717, 5580731; 5591584; 5109124; 5118802; 5138045; 5414077; 5486603; 5512439; 5578718; 5608046; 4587044; 4605735; 4667025; 4762779; 4789737; 4824941; 4835263; 4876335; 4904582; 4958013; 5082830; 5112963; 5214136; 5082830; 5112963; 5214136; 5245022; 5254469; 5258506; 5262536; 5272250; 5292873; 5317098; 5371241, 5391723; 5416203, 5451463; 5510475; 5512667; 5514785; 5565552; 5567810; 5574142; 5585481; 5587371; 5595726; 5597696; 5599923; 5599928; 5688941; 6294664; 6320017; 6576752; 6783931; 6900297; 7037646; и 8106022, полное содержание каждого из которых включено в настоящий документ посредством ссылки.

Не требуется, чтобы все положения в конкретном соединении были одинаково модифицированы, и в сущности более чем одна из вышеупомянутых модификаций может быть включена в одно соединение или даже в один нуклеозид в пределах иРНК. Настоящее изобретение также включает соединения иРНК, которые представляют собой химерные соединения.

«Химерные» соединения иРНК или «химеры» в контексте настоящего изобретения представляют собой соединения иРНК, такие как агенты дцРНКи, которые содержат две или более химически отличающихся областей, каждая из которых состоит из по меньшей мере одного мономерного звена, т. е. нуклеотида в случае соединения дцРНК. Указанные иРНК, как правило, содержат по меньшей мере одну область, в которой РНК модифицирована так, чтобы придать иРНК повышенную устойчивость к деградации нуклеазой, повышенное клеточное поглощение или повышенную аффинность связывания с целевой нуклеиновой кислотой. Дополнительная область иРНК может служить субстратом для ферментов, способных расщеплять гибриды РНК:ДНК или РНК:РНК. В качестве примера, РНКазы Н представляют собой клеточную эндонуклеазу, которая расщепляет цепь РНК дуплекса РНК:ДНК. Таким образом, активация РНКазы Н приводит к расщеплению целевой РНК, значительно повышая тем самым эффективность ингибирования иРНК экспрессии генов. Следовательно, сопоставимые результаты часто

могут быть получены с более короткими иРНК при использовании химерных дцРНК по сравнению с гибридизацией фосфотиоатных дезокси-дцРНК с той же целевой областью. Расщепление целевой РНК можно рутинно детектировать с помощью гель-электрофореза и, при необходимости, связанных методик гибридизации нуклеиновых кислот, известных в данной области техники.

В определенных случаях РНК в случае иРНК может быть модифицирована группой, отличной от лиганда. Ряд молекул, отличных от лигандов, конъюгировали с иРНК с целью повышения активности, клеточного распределения или клеточного поглощения иРНК, и процедуры для выполнения таких конъюгаций доступны в научной литературе. Такие фрагменты, отличные от лигандов, включали липидные фрагменты, такие как холестерин (Kubo, T. *et al.*, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 2007, 365(1):54-61; Letsinger *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1989, 86:6553), холевую кислоту (Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1994, 4:1053), простой тиозфир, например, гексил-S-тримилтиол (Manoharan *et al.*, *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 1992, 660:306; Manoharan *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1993, 3:2765), тиохолестерин (Oberhauser *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1992, 20:533), алифатическую цепь, например, додекандиоловый или ундецильный остаток (Saison-Behmoaras *et al.*, *EMBO J.*, 1991, 10:111; Kabanov *et al.*, *FEBS Lett.*, 1990, 259:327; Svinarchuk *et al.*, *Biochimie*, 1993, 75:49), фосфолипид, например, дигексадецил-рац-глицерин или триэтиламмоний 1,2-ди-О-гексадецил-рац-глицеро-3-Н-фосфонат (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651; Shea *et al.*, *Nucl. Acids Res.*, 1990, 18:3777), цепь полиамина или полиэтиленгликоля (Manoharan *et al.*, *Nucleosides & Nucleotides*, 1995, 14:969) или адамантануксусную кислоту (Manoharan *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1995, 36:3651), пальмитильный фрагмент (Mishra *et al.*, *Biochim. Biophys. Acta*, 1995, 1264:229) или фрагмент октадециламина или гексиламинокарбонилноксистерина (Crooke *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 1996, 277:923). Типичные патенты Соединенных Штатов Америки, в которых раскрыто получение таких конъюгатов РНК, перечислены выше. Типичные протоколы конъюгации включают синтез РНК, несущих аминоклипер в одном или более положениях последовательности. Затем проводят реакцию аминоклипера с конъюгируемой молекулой с использованием соответствующих реагентов для связывания или активации. Реакцию конъюгации можно выполнять либо с РНК, которая все еще связана с твердой подложкой, либо после отщепления РНК в фазе раствора. Очистка конъюгата РНК с помощью ВЭЖХ, как правило, обеспечивает получение чистого конъюгата.

#### IV. Доставка иРНК согласно настоящему изобретению

Доставка иРНК согласно настоящему изобретению в клетку, например, в клетку в организме субъекта, такого как субъект-человек (например, субъект, нуждающийся в этом, такой как субъект, который подвержен развитию или у которого диагностировано TMPRSS6-ассоциированное нарушение, например, нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоезом), может быть достигнута с помощью ряда путей. Например, доставку можно выполнять путем приведения клетки в контакт с иРНК согласно настоящему изобретению как *in vitro*,

так и *in vivo*. Доставку *in vivo* также можно выполнять непосредственно путем введения субъекту композиции, содержащей иРНК, например, дцРНК. В качестве альтернативы, доставку *in vivo* можно выполнять опосредованно путем введения одного или более векторов, которые кодируют и управляют экспрессией иРНК. Эти альтернативы более подробно обсуждаются ниже.

В целом, любой способ доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*) можно адаптировать для применения с иРНК согласно настоящему изобретению (см., например, Akhtar S. and Julian RL. (1992) *Trends Cell. Biol.* 2(5):139-144 и WO94/02595, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки). Для доставки *in vivo* факторы, которые необходимо учитывать для доставки молекулы иРНК, включают, например, биологическую стабильность доставляемой молекулы, предотвращение неспецифических эффектов и накопление доставляемой молекулы в целевой ткани. Также было показано, что РНК-интерференция является успешной при локальной доставке в ЦНС с помощью прямой инъекции (Dorn, G., *et al.* (2004) *Nucleic Acids* 32:e49; Tan, PH., *et al* (2005) *Gene Ther.* 12:59-66; Makimura, H., *et al* (2002) *BMC Neurosci.* 3:18; Shishkina, GT., *et al* (2004) *Neuroscience* 129:521-528; Thakker, ER., *et al* (2004) *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 101:17270-17275; Akaneya, Y., *et al* (2005) *J. Neurophysiol.* 93:594-602). Модификация РНК или фармацевтического носителя также может обеспечить нацеливание иРНК на ткань-мишень и избегание нежелательных нецелевых эффектов. Молекулы иРНК можно модифицировать путем химической конъюгации с липофильными группами, такими как холестерин, для повышения клеточного поглощения и предотвращения деградации. Например, иРНК, направленная против ApoB, конъюгированная с липофильным фрагментом холестерина, была инъецирована системно мышам и привела к нокдауну мРНК apoB как в печени, так и в тощей кишке (Soutschek, J., *et al* (2004) *Nature* 432:173-178).

Согласно альтернативному варианту реализации иРНК может быть доставлена с применением систем доставки лекарственных средств, таких как наночастица, дендример, полимер, липосомы или катионная система доставки. Положительно заряженные катионные системы доставки облегчают связывание молекулы иРНК (отрицательно заряженной), а также усиливают взаимодействия в отрицательно заряженной клеточной мембране, чтобы обеспечить эффективное поглощение иРНК клеткой. Катионные липиды, дендримеры или полимеры могут быть либо связаны с иРНК, либо индуцированы с образованием везикулы или мицеллы (см., например, Kim SH, *et al* (2008) *Journal of Controlled Release* 129(2):107-116), в которой заключена иРНК. Образование везикул или мицелл дополнительно предотвращает деградацию иРНК при системном введении. Способы получения и введения комплексов катионное соединение-иРНК находятся в пределах возможностей специалиста в данной области техники (см., например, Sorensen, DR, *et al* (2003) *J. Mol. Biol* 327:761-766; Verma, UN, *et al* (2003) *Clin. Cancer Res.* 9:1291-1300; Arnold, AS *et al* (2007) *J. Hypertens.* 25:197-205, которые полностью включены в настоящий документ посредством ссылки). Некоторые неограничивающие примеры систем доставки лекарственных средств, пригодных для системной доставки иРНК, включают

DOTAP (Sorensen, DR., *et al* (2003), выше; Verma, UN, *et al* (2003), выше), «твердые частицы нуклеиновая кислота-липид» (Zimmermann, TS, *et al* (2006) *Nature* 441:111-114), кардиолипид (Chien, PY, *et al* (2005) *Cancer Gene Ther.* 12:321-328; Pal, A, *et al* (2005) *Int J. Oncol.* 26:1087-1091), полиэтиленимин (Bonnet ME, *et al* (2008) *Pharm. Res.* Aug 16 Epub ahead of print; Aigner, A. (2006) *J. Biomed. Biotechnol.* 7:1659), пептиды Arg-Gly-Asp (RGD) (Liu, S. (2006) *Mol. Pharm.* 3:472-487) и полиамидоамины (Tomalia, DA, *et al* (2007) *Biochem. Soc. Trans.* 35:61-67; Yoo, H., *et al* (1999) *Pharm. Res.* 16:1799-1804). Согласно некоторым вариантам реализации иРНК образует комплекс с циклодекстрином для системного введения. Способы введения и фармацевтические композиции иРНК и циклодекстринов можно найти в патенте США № 7427605, который полностью включен в настоящий документ посредством ссылки.

*Кодируемые вектором иРНК согласно настоящему изобретению*

иРНК, нацеленная на ген TMPRSS6, может экспрессироваться из единиц транскрипции, встроенных в векторы ДНК или РНК (см., например, Couture, A, *et al.*, *TIG.* (1996), 12:5-10; Skillern, A, *et al.*, PCT международную публикацию № WO 00/22113, Congrad, PCT международную публикацию № WO 00/22114, и Congrad, патент США № 6054299). Экспрессия может быть кратковременной (порядка часов или недель) или устойчивой (от нескольких недель до нескольких месяцев или дольше) в зависимости от конкретной используемой конструкции и типа целевой ткани или клетки. Эти трансгены могут быть введены в виде линейной конструкции, кольцевой плазмиды или вирусного вектора, который может представлять собой интегрирующийся или неинтегрирующийся вектор. Трансген также может быть сконструирован таким образом, чтобы обеспечить его наследование в качестве внехромосомной плазмиды (Gassmann, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1995) 92:1292).

Вирусные векторные системы, которые можно применять со способами и композициями, описанными в настоящем документе, включают, но не ограничиваются перечисленными, (a) аденовирусные векторы; (b) ретровирусные векторы, включая, но не ограничиваясь перечисленными, лентивирусные векторы, вирус лейкоза мышей Молони, и т.д.; (c) векторы на основе аденоассоциированного вируса; (d) векторы на основе вируса простого герпеса; (e) векторы SV 40; (f) векторы на основе вируса полиомы; (g) векторы на основе вируса папилломы; (h) пикорнавирусные векторы; (i) векторы на основе поксвируса, такого как ортопоксвирус, например, векторы на основе вируса осповакцины или оспы птиц, например, оспы канареек или оспы птиц; и (j) хелпер-зависимый или «выпотрошенный» аденовирус. Дефектные по репликации вирусы также могут быть предпочтительными. Различные векторы будут включены в геном клеток, но не обязательно. При необходимости конструкции могут включать вирусные последовательности для трансфекции. В качестве альтернативы, конструкция может быть включена в векторы, способные к эписомальной репликации, например, векторы EPV и EBV. Конструкции для рекомбинантной экспрессии иРНК обычно будут требовать регуляторных элементов, например, промоторов, энхансеров и т. д., для обеспечения



экспрессии иРНК в целевых клетках. Другие аспекты, которые следует учитывать для векторов и конструкций, известны в данной области техники.

#### V. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению

Настоящее изобретение также включает фармацевтические композиции и составы, которые включают иРНК согласно настоящему изобретению. Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения предложены фармацевтические композиции, содержащие иРНК, описанную в настоящем документе, и фармацевтически приемлемый носитель. Фармацевтические композиции, содержащие иРНК, можно применять для предотвращения или лечения TMPRSS6-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом. Такие фармацевтические композиции изготавливают, исходя из способа доставки. Одним примером являются композиции, которые изготовлены для системного введения посредством парентеральной доставки, например, путем подкожной (SC), внутримышечной (IM) или внутривенной (IV) доставки. Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена TMPRSS6.

Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению являются стерильными. Согласно другому варианту реализации фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению не содержат пирогенов.

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению можно вводить в дозах, достаточных для ингибирования экспрессии гена TMPRSS6. В целом, подходящая доза иРНК согласно настоящему изобретению будет находиться в диапазоне от примерно 0,001 до примерно 200,0 миллиграммов на килограмм массы тела реципиента в сутки, обычно в диапазоне от примерно 1 до 50 мг на килограмм массы тела в сутки. Как правило, подходящая доза иРНК согласно настоящему изобретению будет находиться в диапазоне от примерно 0,1 мг/кг до примерно 5,0 мг/кг, например, примерно 0,3 мг/кг и примерно 3,0 мг/кг. Режим с повторными дозами может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, ежемесячно, каждые 3-6 месяцев или один раз в год. Согласно определенным вариантам реализации иРНК вводят от примерно одного раза в месяц до примерно одного раза в шесть месяцев.

После начального режима лечения средства лечения можно вводить менее часто. Продолжительность лечения может быть определена на основании тяжести заболевания.

Согласно другим вариантам реализации однократная доза фармацевтических композиций может обладать длительным действием так, что дозы вводят с интервалами не более 1, 2, 3 или 4 месяцев. Согласно некоторым вариантам реализации настоящего изобретения однократную дозу фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению вводят примерно один раз в месяц. Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения однократную дозу фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению вводят ежеквартально (т. е. примерно каждые три месяца).

Согласно другим вариантам реализации настоящего изобретения однократную дозу фармацевтических композиций согласно настоящему изобретению вводят дважды в год (т. е. примерно один раз в шесть месяцев).

Специалист в данной области техники поймет, что на дозировку и временные рамки, необходимые для эффективного лечения субъекта, могут влиять определенные факторы, включая, но не ограничиваясь перечисленными, мутации, присутствующие у субъекта, предыдущие виды лечения, общее состояние здоровья или возраст субъекта, а также другие присутствующие заболевания. Более того, лечение субъекта профилактически или терапевтически эффективным количеством композиции, в зависимости от ситуации, может включать однократное введение или ряд введений.

иРНК могут быть доставлены таким образом, чтобы нацеливаться на конкретную ткань (например, гепатоциты).

Фармацевтические композиции согласно настоящему изобретению включают, но не ограничиваются перечисленными, растворы, эмульсии и составы, содержащие липосомы. Указанные композиции могут быть созданы из множества компонентов, которые включают, но не ограничиваются перечисленными, предварительно образованные жидкости, самоэмульгирующиеся твердые вещества и самоэмульгирующиеся полутвердые вещества. Составы включают те, которые нацелены на печень.

Фармацевтические составы согласно настоящему изобретению, которые могут быть удобно представлены в единичной лекарственной форме, могут быть получены в соответствии с общепринятыми методиками, хорошо известными в фармацевтической отрасли. Такие методики включают этап соединения активных ингредиентов с фармацевтическим(и) носителем(ями) или вспомогательным(и) веществом(ами). В целом, составы получают путем равномерного и тщательного соединения активных ингредиентов с жидким носителями.

#### *A. Дополнительные составы*

##### *i. Эмульсии*

Композиции согласно настоящему изобретению могут быть получены и изготовлены в виде эмульсий. Эмульсии, как правило, представляют собой гетерогенные системы одной жидкости, диспергированной в другой в виде капель, обычно превышающих 0,1 мкм в диаметре (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199; Rosoff, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., Volume 1, p. 245; Block в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 2, p. 335; Higuchi *et al.*, в Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1985, p. 301). Эмульсии часто представляют собой двухфазные системы, содержащие две несмешиваемые жидкие фазы, тщательно смешанные и диспергированные друг с другом. В целом, эмульсии могут быть

типа «вода-в-масле» (в/м) или «масло-в-воде» (м/в). Если водная фаза тщательно распределена и диспергирована в виде мельчайших капель в объемной масляной фазе, полученная композиция называется эмульсией «вода-в-масле» (в/м). В качестве альтернативы, если масляная фаза тщательно распределена и диспергирована в виде мельчайших капель в объемной водной фазе, полученная композиция называется эмульсией «масло-в-воде» (м/в). Эмульсии могут содержать дополнительные компоненты в дополнение к диспергированным фазам, и активное лекарственное средство, которое может присутствовать в виде раствора либо в водной фазе, либо в масляной фазе, либо в виде отдельной фазы само по себе. Фармацевтические вспомогательные вещества, такие как эмульгаторы, стабилизаторы, красители и антиоксиданты, также при необходимости могут присутствовать в эмульсиях. Фармацевтические эмульсии также могут представлять собой множественные эмульсии, которые состоят более чем из двух фаз, такие как, например, эмульсии типа «масло-в-воде-в-масле» (м/в/м) и «вода-в-масле-в-воде» (в/м/в). Такие сложные составы часто обеспечивают определенные преимущества, которых не обеспечивают простые бинарные эмульсии. Множественные эмульсии, в которых отдельные масляные капли эмульсии м/в заключают мелкие капли воды, представляют собой эмульсию в/м/в. Подобным образом, система масляных капель, заключенная в глобулы воды, стабилизированные в масляной непрерывной фазе, обеспечивает эмульсию м/в/м.

Эмульсии характеризуются незначительной термодинамической стабильностью или ее отсутствием. Часто диспергированная или прерывистая фаза эмульсии хорошо диспергирована во внешней или непрерывной фазе и поддерживается в этой форме посредством эмульгаторов или вязкости состава. Другие способы стабилизации эмульсий предусматривают применение эмульгаторов, которые могут быть включены в любую из фаз эмульсии. Эмульгаторы в широком смысле можно разделить на четыре категории: синтетические поверхностно-активные вещества, встречающиеся в природе эмульгаторы, абсорбирующие основы и мелкодисперсные твердые вещества (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Синтетические поверхностно-активные вещества, также известные как поверхностно-активные агенты, нашли широкое применение при изготовлении эмульсий и рассмотрены в литературе (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., 1988, volume 1, p. 199). Поверхностно-активные вещества, как правило, являются амфифильными и содержат гидрофильную и гидрофобную часть. Соотношение

гидрофильного и гидрофобного характера поверхностно-активного вещества называется гидрофильно-липофильным балансом (HLB) и является ценным инструментом для классификации и отбора поверхностно-активных веществ при получении составов. Поверхностно-активные вещества можно разделить на различные классы в зависимости от характера гидрофильной группы: неионогенные, анионные, катионные и амфотерные (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rieger, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 285).

Большой ряд неэмульгирующих материалов также включен в эмульсионные составы и вносит вклад в свойства эмульсий. К ним относятся жиры, масла, воски, жирные кислоты, жирные спирты, сложные эфиры жирных кислот, увлажнители, гидрофильные коллоиды, консерванты и антиоксиданты (Block, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 335; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

Применение эмульсионных составов посредством дерматологического, перорального и парентерального путей и способы их изготовления рассмотрены в литературе (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Idson, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 199).

#### *ii. Микроэмульсии*

Согласно одному варианту реализации настоящего изобретения композиции иРНК и нуклеиновых кислот изготовлены в виде микроэмульсий. Микроэмульсия может быть определена как система воды, масла и амфифильного соединения, которая представляет собой единый оптически изотропный и термодинамически стабильный жидкий раствор (см., например, Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Allen, LV., Popovich NG., and Ansel HC., 2004, Lippincott Williams & Wilkins (8th ed.), New York, NY; Rosoff, в Pharmaceutical Dosage Forms, Lieberman, Rieger and Banker (Eds.), 1988, Marcel Dekker, Inc., New York, N.Y., volume 1, p. 245). Как правило, микроэмульсии представляют собой системы, которые получают путем сначала диспергирования масла в водном растворе поверхностно-активного вещества, а затем добавления достаточного количества четвертого компонента, обычно среднецепочечного спирта с образованием прозрачной системы. Таким образом, микроэмульсии также описаны как термодинамически стабильные, изотропно чистые дисперсии двух несмешиваемых жидкостей, которые стабилизированы с помощью межфазных пленок поверхностно-активных молекул (Leung and Shah, в: Controlled Release of Drugs: Polymers and Aggregate Systems, Rosoff, M., Ed., 1989, VCH Publishers, New York, pages 185-215).

#### *iii. Микрочастицы*

иРНК согласно настоящему изобретению может быть включена в частицу, например, микрочастицу. Микрочастицы могут быть получены путем высушивания распылением, но также могут быть получены с помощью других способов, включающих лиофилизацию, выпаривание, высушивание в псевдооживленном слое, высушивание в вакууме или комбинацию этих методик.

*iv. Усилители проникновения*

Согласно одному варианту реализации в настоящем изобретении применяют различные усилители проникновения для обеспечения эффективной доставки нуклеиновых кислот, в частности, иРНК, в кожу животных. Большинство лекарственных средств присутствует в растворе как в ионизированной, так и в неионизированной формах. Однако обычно только липидорастворимые или липофильные лекарственные средства легко пересекают клеточные мембраны. Было обнаружено, что даже нелипофильные лекарственные средства могут пересекать клеточные мембраны, если мембрану, подлежащую пересечению, обрабатывают усилителем проникновения. Помимо содействия диффузии нелипофильных лекарственных средств через клеточные мембраны усилители проникновения также усиливают проникновение липофильных лекарственных средств.

Усилители проникновения могут быть классифицированы по принадлежности к одной из пяти широких категорий, т.е., поверхностно-активные вещества, жирные кислоты, соли желчных кислот, хелатирующие агенты и нехелатирующие вещества, отличные от ПАВ (см., например, Malmsten, M. *Surfactants and polymers in drug delivery*, Informa Health Care, New York, NY, 2002; Lee *et al.*, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 1991, p.92). Каждый из упомянутых выше классов усилителей проникновения и их применение для изготовления фармацевтических композиций и доставки фармацевтических агентов хорошо известен в данной области техники.

*v. Вспомогательные вещества*

В отличие от соединения-носителя «фармацевтический носитель» или «вспомогательное вещество» представляет собой фармацевтически приемлемый растворитель, суспендирующий агент или любой другой фармакологически инертный носитель для доставки одной или более нуклеиновых кислот животному. Вспомогательное вещество может быть жидким или твердым и выбрано с учетом планируемого способа введения с тем, чтобы обеспечить желаемый объем, консистенцию и т. д. при комбинировании с нуклеиновой кислотой и другими компонентами данной фармацевтической композиции. Такой агент хорошо известен в данной области техники.

*vi. Другие компоненты*

Композиции согласно настоящему изобретению могут дополнительно содержать другие вспомогательные компоненты, обычно встречающиеся в фармацевтических композициях, с их уровнями использования, установленными в данной области техники. Таким образом, например, композиции могут содержать дополнительные совместимые фармацевтически активные материалы, такие как, например, противозудные средства, вяжущие средства, локальные анестетики или противовоспалительные агенты, или могут

содержать дополнительные материалы, подходящие для физического изготовления различных лекарственных форм композиций согласно настоящему изобретению, такие как красители, вкусоароматические агенты, консерванты, антиоксиданты, замутнители, загущающие агенты и стабилизаторы. Однако такие материалы при добавлении не должны чрезмерно мешать разным видам биологической активности компонентов композиций согласно настоящему изобретению. Составы можно стерилизовать и, при необходимости, смешивать со вспомогательными агентами, например, смазывающими веществами, консервантами, стабилизаторами, смачивающими агентами, эмульгаторами, солями для корректировки осмотического давления, буферами, красителями, вкусоароматическими веществами или ароматическими веществами и т. п., которые не вступают во вредные взаимодействия с нуклеиновой кислотой(кислотами) состава.

Водные суспензии могут содержать вещества, которые увеличивают вязкость суспензии, включая, например, карбоксиметилцеллюлозу натрия, сорбит или декстран. Суспензия также может содержать стабилизаторы.

Согласно некоторым вариантам реализации фармацевтические композиции, охарактеризованные в настоящем изобретении, включают (a) одну или более иРНК и (b) один или более агентов, которые функционируют посредством механизма, отличного от иРНК, и которые можно применять при лечении TMPRSS63-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом, например, наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии (например, большой  $\beta$ -талассемии и промежуточной  $\beta$ -талассемии), истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера или атаксии Фридрейха.

Токсичность и профилактическую эффективность таких соединений можно определить с помощью стандартных фармацевтических процедур на культурах клеток или экспериментальных животных, например, для определения ЛД<sub>50</sub> (доза, летальная для 50% популяции) и ЭД<sub>50</sub> (доза, профилактически эффективная у 50% популяции). Соотношение доз между токсическим и терапевтическим эффектами представляет собой терапевтический индекс и может быть выражено как соотношение ЛД<sub>50</sub>/ЭД<sub>50</sub>. Соединения, для которых наблюдаются высокие терапевтические индексы, являются предпочтительными.

Данные, полученные из анализов клеточных культур и исследований на животных, могут быть использованы при установлении диапазона дозировки для применения у людей. Дозировка композиций, охарактеризованных в настоящем документе, обычно находится в диапазоне циркулирующих концентраций, которые включают ЭД<sub>50</sub>, такую как ЭД<sub>80</sub> или ЭД<sub>90</sub>, с незначительной токсичностью или без нее. Дозировка может варьироваться в пределах указанного диапазона в зависимости от применяемой лекарственной формы и используемого пути введения. Для любого соединения, применяемого в способах, охарактеризованных в настоящем изобретении, профилактически эффективную дозу можно первоначально оценить на основании анализов клеточной культуры. Доза может

быть установлена в моделях на животных для достижения некоторого диапазона циркулирующих концентраций соединения в плазме или, при необходимости, полипептидного продукта целевой последовательности (например, для достижения уменьшенной концентрации полипептида), который включает ИК50 (т. е. концентрацию тестируемого соединения, которая обеспечивает полумаксимальное ингибирование симптомов) или более высокие уровни ингибирования, как определено в культуре клеток. Такая информация может быть использована для более точного определения полезных доз у людей. Уровни в плазме можно измерить, например, с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

В дополнение к их введению, как обсуждалось выше, иРНК, охарактеризованные в настоящем изобретении, можно вводить в комбинации с другими известными агентами, используемыми для предотвращения или лечения TMPRSS6-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом. В любом случае, врач, проводящий введение, может регулировать количество и время введения иРНК на основании результатов, наблюдаемых при применении стандартных показателей эффективности, известных в данной области техники или описанных в настоящем документе.

#### VI. Способы ингибирования экспрессии TMPRSS6

Согласно настоящему изобретению также предложены способы ингибирования экспрессии гена TMPRSS6 в клетке. Способы включают приведение клетки в контакт с агентом РНКи, например, агентом на основе двухцепочечной РНК, в количестве, эффективном для ингибирования экспрессии TMPRSS6 в клетке, что ингибирует экспрессию TMPRSS6 в клетке.

Приведение клетки в контакт с иРНК, например, агентом на основе двухцепочечной РНК, можно осуществлять *in vitro* или *in vivo*. Приведение клетки в контакт с иРНК *in vivo* включает приведение клетки или группы клеток в организме субъекта, например, субъекта-человека, в контакт с иРНК. Также возможны комбинации способов приведения клетки в контакт *in vitro* и *in vivo*. Приведение клетки в контакт может быть прямым или опосредованным, как обсуждалось выше. Кроме того, приведение клетки в контакт может быть выполнено посредством нацеливающего лиганда, включая любой лиганд, описанный в настоящем документе или известный в данной области техники. Согласно некоторым вариантам реализации нацеливающий лиганд представляет собой углеводный фрагмент, например, лиганд GalNAc<sub>3</sub> или любой другой лиганд, который направляет агент РНКи к представляющему интерес сайту.

Термин «ингибирование» в контексте настоящего документа используется взаимозаменяемо со «снижением», «сайленсингом», «отрицательной регуляцией», «подавлением» и другими подобными терминами и включает любой уровень ингибирования.

Выражение «ингибирование экспрессии TMPRSS6» предназначено для обозначения ингибирования экспрессии любого гена TMPRSS6 (такого как, например, ген TMPRSS6 3

мышь, ген *TMPRSS6* крысы, ген *TMPRSS6* обезьяны или ген *TMPRSS6* человека), а также вариантов или мутантов гена *TMPRSS6*. Таким образом, ген *TMPRSS6* может представлять собой ген *TMPRSS6* дикого типа, мутантный ген *TMPRSS6* или трансгенный ген *TMPRSS6* в контексте подвергнутой генетическим манипуляциям клетки, группы клеток или организма.

«Ингибирование экспрессии гена *TMPRSS6*» включает любой уровень ингибирования гена *TMPRSS6*, например, по меньшей мере частичное подавление экспрессии гена *TMPRSS6*. Экспрессию гена *TMPRSS6* можно оценить на основании уровня или изменения уровня любой переменной, ассоциированной с экспрессией гена *TMPRSS6*, например, уровня мРНК *TMPRSS6* или уровня белка *TMPRSS6*. Экспрессию *TMPRSS6* также можно оценить опосредованно на основании уровня мРНК гепсидина, уровня белка гепсидина или уровней железа в тканях или сыворотке крови. Этот уровень можно оценить в отдельной клетке или в группе клеток, включая, например, образец, полученный от субъекта. Понятно, что *TMPRSS6* экспрессируется преимущественно в печени.

Ингибирование можно оценить по уменьшению абсолютного или относительного уровня одной или более переменных, которые ассоциированы с экспрессией *TMPRSS6*, по сравнению с контрольным уровнем. Контрольный уровень может представлять собой любой тип контрольного уровня, который используется в данной области техники, например, исходный уровень до введения дозы или уровень, определенный у подобного субъекта, в клетке или образце, который не подвергают обработке или обрабатывают с помощью контроля (такого как, например, только контрольный буфер или контрольный неактивный агент).

Согласно некоторым вариантам реализации способов согласно настоящему изобретению экспрессия гена *TMPRSS6* ингибируется по меньшей мере на 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90% или 95% или ниже уровня детектирования анализа. Согласно некоторым вариантам реализации экспрессия гена *TMPRSS6* ингибируется по меньшей мере на 70%. Также понятно, что может быть желательным ингибирование экспрессии *TMPRSS6* в определенных тканях, например, в печени, без значительного ингибирования экспрессии в других тканях, например, мозге. Согласно некоторым вариантам реализации уровень экспрессии определяют с применением способа анализа, предусмотренного в примере 2, с концентрацией кРНК 10 нМ в линии клеток, подходящей для соответствующего вида.

Согласно определенным вариантам реализации ингибирование экспрессии *in vivo* определяют по нокдауну гена человека у грызуна, экспрессирующего ген человека, например, мышь, инфицированной ААВ, экспрессирующей целевой ген человека (т.е. *TMPRSS6*), например, при введении в виде однократной дозы, например, при 3 мг/кг при наименьшей величине экспрессии РНК. Нокдаун экспрессии эндогенного гена в модельной системе на животных также может быть определен, например, после введения однократной дозы, например, 3 мг/кг при наименьшей величине экспрессии РНК. Такие системы



применимы, если последовательности нуклеиновых кислот гена человека и гена модельного животного достаточно близки, так что иРНК человека обеспечивает эффективный нокдаун гена модельного животного. Экспрессию РНК в печени определяют с применением способов ПЦР, представленных в Примере 2.

Ингибирование экспрессии гена TMPRSS6 может проявляться снижением количества мРНК, экспрессируемой первой клеткой или группой клеток (такие клетки могут присутствовать, например, в образце, полученном от субъекта), в которой ген TMPRSS6 транскрибируется и которая была обработана (например, путем приведения клетки или клеток в контакт с иРНК согласно настоящему изобретению или путем введения иРНК согласно настоящему изобретению субъекту, у которого клетки присутствуют или присутствовали) таким образом, что экспрессия гена TMPRSS6 ингибируется по сравнению со второй клеткой или группой клеток, по существу идентичной первой клетке или группе клеток, но не подвергшейся такой обработке (контрольная(ые) клетка(и), не обработанная(ые) иРНК или не обработанная(ые) иРНК, нацеленной на представляющий интерес ген). Согласно некоторым вариантам реализации ингибирование оценивают с помощью способа, представленного в Примере 2, с применением концентрации киРНК 10 нМ в линии клеток, соответствующей виду, и выражают уровень мРНК в обработанных клетках как процент от уровня мРНК в контрольных клетках с использованием следующей формулы:

$$\frac{(\text{мРНК в контрольных клетках}) - (\text{мРНК в обработанных клетках})}{(\text{мРНК в контрольных клетках})} \cdot 100\%$$

Согласно другим вариантам реализации ингибирование экспрессии гена TMPRSS6 можно оценить по уменьшению параметра, который функционально связан с экспрессией гена TMPRSS6, например, уровня белка TMPRSS6 в крови или сыворотке крови от субъекта. Сайленсинг гена TMPRSS6 можно определить в любой клетке, экспрессирующей TMPRSS6, будь то эндогенный или гетерологичный из конструкции для экспрессии, и с помощью любого анализа, известного в данной области техники.

Ингибирование экспрессии белка TMPRSS6 может проявляться снижением уровня белка TMPRSS6, который экспрессируется клеткой или группой клеток или в образце от субъекта (например, уровня белка в образце крови, полученном от субъекта). Как объясняется выше, для оценки подавления мРНК ингибирование уровней экспрессии белка в обработанной клетке или группе клеток может быть аналогично выражено в виде процента от уровня белка в контрольной клетке или группе клеток или изменения уровня белка в образце от субъекта, например, в крови или сыворотке крови, полученной из него.

Контрольная клетка, группа клеток или образец от субъекта, которые можно применять для оценки ингибирования экспрессии гена TMPRSS6, включает клетку, группу клеток или образец от субъекта, которая(ый) еще не была(был) приведена(приведен) в контакт с агентом РНКи согласно настоящему изобретению. Например, контрольную клетку, группу клеток или образец от субъекта можно получить от отдельного субъекта

(например, субъекта-человека или субъекта-животного) до лечения субъекта агентом РНКи, или контрольную популяцию, сопоставленную соответствующим образом.

Уровень мРНК TMPRSS6, которая экспрессируется клеткой или группой клеток, можно определить с помощью любого способа, известного в данной области техники для оценки экспрессии мРНК. Согласно одному варианту реализации уровень экспрессии TMPRSS6 в образце определяют путем детектирования транскрибированного полинуклеотида или его части, например, мРНК гена TMPRSS6. РНК может быть экстрагирована из клеток с применением методик экстракции РНК, включая, например, применение кислотной экстракции фенолом/гуанидинизотиоцианатом (RNAzol B; Biogenesis), с помощью наборов для получения РНК RNeasy™ (Qiagen®) или PAXgene™ (PreAnalytix™, Швейцария). Типичные форматы анализа, в которых применяется гибридизация рибонуклеиновых кислот, включают ядерные кинетические анализы, ОТ-ПЦР, анализы с защитой от РНКаз, Нозерн-блоттинг, гибридизацию *in situ* и анализ с использованием микромассива.

Согласно некоторым вариантам реализации уровень экспрессии TMPRSS6 определяют с применением зонда на основе нуклеиновой кислоты. Термин «зонд» в контексте настоящего документа относится к любой молекуле, которая способна селективно связываться с конкретным TMPRSS6. Зонды могут быть синтезированы специалистом в данной области техники или получены из соответствующих биологических препаратов. Зонды могут быть намеренно сконструированы так, чтобы содержать метку. Примеры молекул, которые можно применять в качестве зондов, включают, но не ограничиваются ими, РНК, ДНК, белки, антитела и органические молекулы.

Выделенную мРНК можно применять в анализах гибридизации или амплификации, которые включают, но не ограничиваются перечисленными, Саузерн- и Нозерн-анализы, анализы методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) и массивы зондов. Один способ определения уровней мРНК включает приведение выделенной мРНК в контакт с молекулой нуклеиновой кислоты (зондом), которая может гибридизоваться с мРНК TMPRSS6. Согласно одному варианту реализации мРНК иммобилизуют на твердой поверхности и приводят в контакт с зондом, например, путем прогона выделенной мРНК на агарозном геле и переноса мРНК из геля в мембрану, такую как нитроцеллюлоза. Согласно альтернативному варианту реализации зонд(ы) иммобилизуют на твердой поверхности и мРНК приводят в контакт с зондом(ами), например, в генном чиповом массиве Affymetrix®. Специалист в данной области техники может легко адаптировать известные способы детектирования мРНК для применения в определении уровня мРНК TMPRSS6.

Альтернативный способ определения уровня экспрессии TMPRSS6 в образце включает процесс амплификации нуклеиновой кислоты или применение обратной транскриптазы (для получения кДНК), например, для мРНК в образце, например, с помощью ОТ-ПЦР (экспериментальный вариант реализации, изложенный в Mullis, 1987, патент США № 4683202), цепную лигазную реакцию (Barany (1991) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 88:189-193), самоподдерживаемую репликацию последовательности (Guatelli *et al.*

(1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:1874-1878), систему транскрипционной амплификации (Kwoh *et al.* (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:1173-1177), Q-бета репликазы (Lizardi *et al.* (1988) *Bio/Technology* 6:1197), репликацию по типу катящегося кольца (Lizardi *et al.*, патент США № 5854033) или любой другой способ амплификации нуклеиновых кислот с последующим детектированием амплифицированных молекул с применением методик, хорошо известных специалистам в данной области техники. Эти схемы детектирования особенно полезны для детектирования молекул нуклеиновых кислот, если такие молекулы присутствуют в очень небольшом количестве. Согласно конкретным аспектам настоящего изобретения уровень экспрессии TMPRSS6 определяют с помощью количественной флуорогенной ОТ-ПЦР (т. е. системы TaqMan™). Согласно некоторым вариантам реализации уровень экспрессии определяют с помощью способа, предусмотренного в Примере 2, с использованием, например, концентрации кРНК 10 нМ, в линии клеток, соответствующей виду.

Уровни экспрессии мРНК TMPRSS6 можно отслеживать с применением мембранного блоттинга (например, используемого в гибридизационном анализе, таком как Нозерн-, Саузерн-, дот-блот и т. п.), или микролунок, пробирок для образцов, гелей, гранул или волокон (или любой твердой подложки, содержащей связанные нуклеиновые кислоты). См. патенты США №№ 5770722, 5874219, 5744305, 5677195 и 5445934, которые включены в настоящий документ посредством ссылки. Определение уровня экспрессии TMPRSS6 также может включать применение зондов на основе нуклеиновых кислот в растворе.

Согласно некоторым вариантам реализации уровень экспрессии мРНК оценивают с помощью анализов разветвленной ДНК (bDNA) или ПЦР в режиме реального времени (кПЦР). Применение этих способов описано и проиллюстрировано в примерах, представленных в настоящем документе. Согласно некоторым вариантам реализации уровень экспрессии определяют с помощью способа, предусмотренного в Примере 2, с использованием концентрации кРНК 10 нМ в линии клеток, соответствующей виду.

Уровень экспрессии белка TMPRSS6 можно определить с применением любого способа, известного в данной области техники для измерения уровней белка. Такие способы включают, например, электрофорез, капиллярный электрофорез, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), тонкослойную хроматографию (ТСХ), гипердиффузионную хроматографию, реакции преципитации в жидкости или геле, абсорбционную спектроскопию, колориметрические анализы, спектрофотометрические анализы, проточную цитометрию, иммунодиффузию (одинарную или двойную), иммуноэлектрофорез, Вестерн-блоттинг, радиоиммуноанализ (RIA), твердофазные иммуноферментные анализы (ИФА), иммунофлуоресцентные анализы, электрохемилюминесцентные анализы и т.п.

Согласно некоторым вариантам реализации эффективность способов согласно настоящему изобретению оценивают по уменьшению уровня мРНК TMPRSS6 или белка TMPRSS6 (например, при биопсии печени).

Согласно некоторым вариантам реализации способов согласно настоящему

изобретению иРНК вводят субъекту таким образом, что иРНК доставляется в конкретный сайт в организме субъекта. Ингибирование экспрессии TMPRSS6 можно оценить с помощью измерений уровня или изменения уровня мРНК TMPRSS6 или белка TMPRSS6 в образце, полученном из жидкости или ткани из конкретного места в организме субъекта (например, печени или крови).

В настоящем документе термины, относящиеся к детектированию или определению уровня аналита, следует понимать, как означающие выполнение этапов для определения присутствия материала, например, белка, РНК. В настоящем документе способы детектирования или определения включают детектирование или определение уровня аналита, который ниже уровня детектирования для используемого способа.

VII. Профилактические и терапевтические способы согласно настоящему изобретению

Согласно настоящему изобретению также предложены способы применения иРНК согласно настоящему изобретению или композиции, содержащей иРНК согласно настоящему изобретению, для ингибирования экспрессии TMPRSS6, что обеспечивает предотвращение или лечение TMPRSS6-ассоциированного нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом. В способах согласно настоящему изобретению клетка может быть приведена в контакт с киРНК *in vitro* или *in vivo*, т. е. клетка может находиться в организме субъекта.

Клетка, подходящая для обработки с применением способов согласно настоящему изобретению, может представлять собой любую клетку, которая экспрессирует ген TMPRSS6, например, клетку печени. Клетка, подходящая для применения в способах согласно настоящему изобретению, может представлять собой клетку млекопитающего, например, клетку примата (такую как клетка человека, включая клетку человека у химерного животного, отличного от человека, или клетку примата, отличного от человека, например, клетку обезьяны или клетку шимпанзе), или клетку, отличную от клетки примата. Согласно определенным вариантам реализации клетка представляет собой клетку человека, например, клетку печени человека. В способах согласно настоящему изобретению экспрессия TMPRSS6 ингибируется в клетке по меньшей мере на 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 или 95 или до уровня, который ниже уровня детектирования анализа.

Способы *in vivo* согласно настоящему изобретению могут включать введение субъекту композиции, содержащей иРНК, причем указанная иРНК включает нуклеотидную последовательность, которая комплементарна по меньшей мере части транскрипта РНК гена TMPRSS6 млекопитающего, которому должен быть введен агент РНКи. Композицию можно вводить с помощью любых способов, известных в данной области техники, включая, но не ограничиваясь перечисленными, пероральный, внутривенный или парентеральный пути, включая внутривенное (например, интравентрикулярное, внутривенное и интратекальное), внутримышечное, подкожное, трансдермальное, воздушное (аэрозольное), назальное, ректальное и местное (включая

буккальное и подъязычное) введение. Согласно определенным вариантам реализации композиции вводят путем внутривенной инфузии или инъекции. Согласно определенным вариантам реализации композиции вводят путем подкожной инъекции. Согласно определенным вариантам реализации композиции вводят путем внутримышечной инъекции.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения также предложены способы ингибирования экспрессии гена *TMPRSS6* у млекопитающего. Способы включают введение млекопитающему композиции, содержащей дцРНК, которая нацелена на ген *TMPRSS6* в клетке млекопитающего и поддерживается у млекопитающего в течение времени, достаточного для деградации транскрипта мРНК гена *TMPRSS6*, ингибируя тем самым экспрессию гена *TMPRSS6* в клетке. Снижение экспрессии гена можно оценить с помощью любых способов, известных в данной области техники, и способов, например, кОТ-ПЦР, описанных в настоящем документе, например, в Примере 2. Снижение продукции белка можно оценить с помощью любых способов, известных в данной области техники, например, ИФА. Согласно определенным вариантам реализации образец пункционной биопсии печени служит в качестве тканевого материала для отслеживания снижения экспрессии гена или белка *TMPRSS6*. Согласно другим вариантам реализации образец крови служит в качестве образца от субъекта для отслеживания снижения экспрессии белка *TMPRSS6*.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложены способы лечения субъекта, нуждающегося в этом, например, субъекта, у которого диагностировано *TMPRSS6*-ассоциированное нарушение, такое как нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемия (например, большая  $\beta$ -талассемия и промежуточная  $\beta$ -талассемия), истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическая порфирия, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксия Фридрейха. Согласно одному варианту реализации субъект, у которого имеется *TMPRSS6*-ассоциированное нарушение, имеет наследственный гемохроматоз. Согласно другому варианту реализации субъект, у которого имеется *TMPRSS6*-ассоциированное нарушение, имеет  $\beta$ -талассемию. Согласно другому варианту реализации субъект, у которого имеется *TMPRSS6*-ассоциированное нарушение, имеет истинную полицитемию.

Согласно настоящему изобретению дополнительно предложены способы профилактики у субъекта, нуждающегося в этом. Способы лечения согласно настоящему изобретению включают введение иРНК согласно настоящему изобретению субъекту, например, субъекту, который может получить пользу от снижения экспрессии *TMPRSS6*, в профилактически эффективном количестве дцРНК, нацеленной на ген *TMPRSS6*, или фармацевтической композиции, содержащей дцРНК, нацеленную на ген *TMPRSS6*.

Согласно одному аспекту настоящего изобретения предложены способы лечения субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии

TMPRSS6, например, TMPRSS6-ассоциированное заболевание, такое как нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемию (например, большую  $\beta$ -талассемию и промежуточную  $\beta$ -талассемию), истинную полицитемию, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическую порфирию, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксию Фридрейха. Лечение субъекта, который может получить пользу от снижения и/или ингибирования экспрессии гена TMPRSS6, включает терапевтическое лечение (например, субъект имеет повышенные уровни железа) и профилактическое лечение (например, субъект не имеет повышенных уровней железа или субъект может быть подвержен риску развития повышенных уровней железа).

иРНК согласно настоящему изобретению можно вводить в виде «свободной иРНК». Свободную иРНК вводят в отсутствие фармацевтической композиции. «Голая» иРНК может находиться в подходящем буферном растворе. Буферный раствор может содержать ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую их комбинацию. Согласно одному варианту реализации буферный раствор представляет собой фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ). pH и осмолярность буферного раствора, содержащего иРНК, можно регулировать таким образом, чтобы он подходил для введения субъекту.

В качестве альтернативы, иРНК согласно настоящему изобретению можно вводить в виде фармацевтической композиции, такой как липосомальный состав дцРНК.

Субъекты, которые могут получить пользу от ингибирования экспрессии гена TMPRSS6, представляют собой субъектов, которые подвержены развитию или у которых диагностировано TMPRSS6-ассоциированное нарушение, такое как нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом, например, наследственный гемохроматоз,  $\beta$ -талассемия (например, большая  $\beta$ -талассемия и промежуточная  $\beta$ -талассемия), истинная полицитемия, миелодиспластический синдром, врожденные дизэритропоэтические анемии, дефицит пируваткиназы, эритропоэтическая порфирия, болезнь Паркинсона, болезнь Альцгеймера или атаксия Фридрейха. Согласно одному варианту реализации способ включает введение композиции, охарактеризованной в настоящем документе, таким образом, что экспрессия целевого гена TMPRSS6 уменьшается, например, в течение примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 1-6, 1-3 или 3-6 месяцев на дозу. Согласно определенным вариантам реализации композицию вводят один раз в 3-6 месяцев.

Согласно одному варианту реализации иРНК, пригодные для способов и композиций, охарактеризованных в настоящем документе, специфично нацелены на РНК (первичную или процессированную) целевого гена TMPRSS6. Композиции и способы ингибирования экспрессии этих генов с применением иРНК можно получать и выполнять, как описано в настоящем документе.

Введение иРНК в соответствии со способами согласно настоящему изобретению может приводить к предотвращению или лечению TMPRSS6-ассоциированного

нарушения, например, нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом, и/или нарушения, ассоциированного с неэффективным эритропоэзом, например, наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии (например, большой  $\beta$ -талассемии и промежуточной  $\beta$ -талассемии), истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера или атаксии Фридрейха. Субъектам можно вводить терапевтическое количество иРНК, такое как от примерно 0,01 мг/кг до примерно 200 мг/кг.

Согласно одному варианту реализации иРНК вводят подкожно, т. е. путем подкожной инъекции. Согласно другому варианту реализации иРНК вводят внутривенно, т. е. посредством внутривенной инъекции. Одну или более инъекций можно применять для доставки субъекту желаемой дозы иРНК. Инъекции можно повторять в течение некоторого периода времени.

Введение можно повторять на регулярной основе. Согласно определенным вариантам реализации после начального режима лечения средства лечения можно вводить менее часто. Режим с повторными дозами может включать введение терапевтического количества иРНК на регулярной основе, например, от одного раза в месяц до одного раза в год. Согласно определенным вариантам реализации иРНК вводят от примерно одного раза в месяц до примерно одного раза в три месяца или от примерно одного раза в три месяца до примерно одного раза в шесть месяцев.

Согласно настоящему изобретению также предложены способы и варианты применения агента иРНК или его фармацевтической композиции для лечения субъекта, который может получить пользу от снижения и/или ингибирования экспрессии гена *TMPRSS6*, например, субъекта, имеющего *TMPRSS6*-ассоциированное заболевание, в комбинации с другими фармацевтическими средствами и/или другими терапевтическими способами, например, с известными фармацевтическими средствами и/или известными терапевтическими способами, такими как, например, те, которые в настоящее время применяются для лечения этих нарушений.

Соответственно, согласно некоторым аспектам настоящего изобретения способы, которые включают любой отдельный агент иРНК согласно настоящему изобретению, дополнительно включают введение субъекту одного или более дополнительных терапевтических агентов.

Например, в определенных вариантах реализации иРНК, нацеленную на *TMPRSS6*, вводят в комбинации, например, с агентом, который можно применять в лечении нарушения, ассоциированного с перегрузкой железом. Например, дополнительные агенты, подходящие для лечения субъекта, который может получить пользу от снижения экспрессии *TMPRSS6*, например, субъекта, имеющего нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, могут включать хелаторы железа (например, десфероксамин), фолиевую кислоту, переливание крови, флеботомию, агенты для лечения язв, агенты для повышения уровня фетального гемоглобина (например, гидроксимочевину), агенты для

борьбы с инфекцией (например, антибиотики и противовирусные препараты), агенты для лечения тромботических состояний, или трансплантат стволовых клеток или костного мозга. В трансплантате стволовых клеток могут использоваться стволовые клетки из пуповины, например, от родственника, например, от брата или сестры. Примерные хелаторы железа включают десфероксамин, деферазирокс (Exjade), деферипрон, витамин E, масло зародышей пшеницы, токоферсолан и индикаксантин.

Агент иРНК и дополнительный терапевтический агент и/или средство лечения можно вводить одновременно и/или в одной и той же комбинации, например, парентерально, или дополнительный терапевтический агент можно вводить как часть отдельной композиции или в отдельные моменты времени и/или с помощью другого способа, известного в данной области техники или описанного в настоящем документе.

### **VIII. Наборы**

Согласно определенным аспектам настоящего изобретения предложены наборы, которые включают подходящий контейнер, содержащий фармацевтический состав соединения киРНК, например, двухцепочечного соединения киРНК, или соединение киРНК, (например, предшественника, например, более крупного соединения киРНК, которое может быть процессировано в соединение киРНК, или ДНК, которая кодирует соединение киРНК, например, двухцепочечное соединение киРНК или соединение оциРНК, или его предшественника).

Такие наборы включают один или более агентов на основе дцРНК и инструкции по применению, например, инструкции по введению профилактически или терапевтически эффективного количества агента(ов) на основе дцРНК. Агент на основе дцРНК, может находиться во флаконе или предварительно заполненном шприце. Наборы могут необязательно дополнительно содержать средства для введения агента на основе дцРНК (например, устройство для инъекции, такое как предварительно заполненный шприц), или средства для измерения ингибирования TMPRSS6 (например, средства для измерения ингибирования мРНК TMPRSS6, белка TMPRSS6 и/или активности TMPRSS6). Такие средства для измерения ингибирования TMPRSS6 могут включать средства для получения образца от субъекта, такого как, например, образец плазмы крови. Наборы согласно настоящему изобретению необязательно могут дополнительно содержать средства для определения терапевтически эффективного или профилактически эффективного количества.

Согласно определенным вариантам реализации отдельные компоненты фармацевтического состава могут быть обеспечены в одном контейнере, например, во флаконе или в предварительно заполненном шприце. В качестве альтернативы, может быть желательным обеспечение компонентов фармацевтического состава по отдельности в двух или более контейнерах, например, один контейнер для препарата соединения киРНК, и по меньшей мере другой для соединения-носителя. Набор может быть упакован в виде нескольких различных конфигураций, таких как один или более контейнеров в одной коробке. Разные компоненты можно объединять, например, в соответствии с



инструкциями, прилагаемыми к набору. Компоненты можно объединять в соответствии со способом, описанным в настоящем документе, например, для приготовления и введения фармацевтической композиции. Набор также может включать устройство для доставки.

Настоящее раскрытие дополнительно проиллюстрировано следующими примерами, которые не следует рассматривать как ограничение. Полное содержание всех ссылок, патентов и опубликованных заявок на патент, цитируемых в настоящей заявке, а также составленного без соблюдения формальных требований Перечня последовательностей и Фигур, включено тем самым в данный документ посредством ссылки.

#### ПРИМЕРЫ

##### Пример 1. Синтез иРНК

##### Источник реагентов

Если источник реагента конкретно не указан в настоящем документе, такой реагент может быть получен от любого поставщика реагентов для молекулярной биологии при стандарте качества/чистоты для применения в молекулярной биологии.

##### Конструкция киРНК

киРНК, нацеленные на ген человеческой трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) (человек: NCBI refseqID NM\_153609.4, NCBI GeneID: 164656), конструировали с применением пользовательских скриптов R и Python. Человеческая мРНК NM\_153609.4 REFSEQ имеет длину 3197 оснований.

Подробные перечни немодифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей против TMPRSS6 показаны в Таблицах 2, 4 и 6. Подробные перечни модифицированных нуклеотидных последовательностей смысловой и антисмысловой цепей против TMPRSS6 показаны в Таблицах 3, 5 и 7.

Следует понимать, что по всей заявке название дуплекса без десятичного разделителя эквивалентно названию дуплекса с десятичным разделителем, которое просто ссылается на номер партии дуплекса. Например, AD-959917 является эквивалентом AD-959917.1.

##### Синтез киРНК

киРНК конструировали, синтезировали и получали с применением способов, известных в данной области техники.

В общих чертах, последовательности киРНК синтезировали в масштабе 1 мкмоль с применением синтезатора Mermade 192 (BioAutomation) с использованием химии фосфорамидитов на твердых подложках. Твердая подложка представляла собой стекло с контролируемым размером пор (500-1000 Å), загруженное пользовательским лигандом GalNAc (конъюгаты 3'-GalNAc), универсальную твердую подложку (AM Chemicals) или первый нуклеотид, представляющий интерес. Вспомогательные синтетические реагенты и стандартные 2-цианоэтилфосфорамидитные мономеры (2'-дезоксидезокси-2'-фтор, 2'-О-метил, РНК, ДНК) получали от Thermo-Fisher (Милуоки, Висконсин), HONGGENE (Китай) или Chemgenes (Уилмингтон, Массачусетс, США). Дополнительные фосфорамидитные мономеры закупали у коммерческих поставщиков, получали на месте или закупали с

использованием пользовательского синтеза у различных субподрядных производственных организаций (СМО). Фосфорамидиты получали в концентрации 100 мМ либо в ацетонитриле, либо в ацетонитриле:DMF 9:1 и связывали с применением 5-этилтио-1Н-тетразола (ЕТТ, 0,25 М в ацетонитриле) со временем реакции 400 с. Фосфотиоатные связи создавали с использованием 100 мМ раствора 3-((диметиламинометилен)амино)-3Н-1,2,4-дитиазол-3-тиона (DDTT, полученного от Chemgenes (Уилмингтон, Массачусетс, США)) в безводном ацетонитриле/пиридине (9:1 об./об.). Время окисления было 5 минут. Все последовательности синтезировали с окончательным удалением группы DMT («DMT-Off»).

После завершения твердофазного синтеза олигорибонуклеотиды на твердой подложке обрабатывали 300 мкл метиламина (40% водный) при комнатной температуре в 96-луночных планшетах в течение приблизительно 2 часов, чтобы обеспечить отщепление от твердой подложки и последующие удаление всех дополнительных основолабильных защитных групп. Для последовательностей, содержащих любые природные рибонуклеотидные связи (2'-ОН), защищенные трет-бутилдиметилсилиловой группой (TBDMS), проводили вторую стадию удаления защитной группы с применением TEA.3HF (тригидрофторида триэтиламина). К раствору каждого олигонуклеотида в водном растворе метиламина добавляли 200 мкл диметилсульфоксида (DMSO) и 300 мкл TEA.3HF, и раствор инкубировали в течение приблизительно 30 минут при 60°C. После инкубации оставляли планшет остыть до комнатной температуры, и неочищенные олигонуклеотиды осаждали путем добавления 1 мл ацетонитрила:этанола в соотношении 9:1 или этанола:изопропанола в соотношении 1:1. Затем планшеты центрифугировали при 4°C в течение 45 минут и надосадочную жидкость осторожно декантировали с помощью многоканальной пипетки. Осадок олигонуклеотидов ресуспендировали в 20 мМ NaOAc и затем обессоливали с использованием колонки для исключения по размеру HiTrap (5 мл, GE Healthcare) на системе для ЖХ от Agilent, оснащенной устройством автоматической подачи проб, УФ-детектором, измерителем электропроводности и коллектором фракции. Обессоленные образцы собирали в 96-луночные планшеты, а затем анализировали с помощью ЖХ-МС и УФ-спектрометрии для подтверждения идентичности и количественного определения количества материала, соответственно.

Дуплексирование отдельных цепей выполняли с помощью робота Tecan для работы с жидкими средами. Смысловые и антисмысловые отдельные цепи объединяли в эквимольном соотношении до конечной концентрации 10 мкМ в 1х ФСБ в 96-луночных планшетах, планшет запечатывали, инкубировали при 100°C в течение 10 минут, а затем позволяли медленно остыть до комнатной температуры в течение 2-3 часов. Концентрацию и идентичность каждого дуплекса подтверждали, а затем использовали для скрининговых анализов *in vitro*.

Пример 2. Способы скрининга *in vitro*

#### Культивирование и трансфекции клеток в 384-луночных планшетах

Для трансфекций клетки Нер3b (АТСС, Манассас, Виржиния) выращивали почти до

конфлюентности при 37°C в атмосфере 5% CO<sub>2</sub> в минимальной питательной среде Игла (Gibco), дополненной 10% ФБС (ATCC), перед отделением от планшета путем трипсинизации. Трансфекцию проводили путем добавления 7,5 мкл Opti-MEM плюс 0,1 мкл липофектамина RNAiMax на лунку (Invitrogen, Карлсбад, Калифорния, № по каталогу 13778-150) к 2,5 мкл каждой дуплексной киРНК в отдельную лунку в 384-луночном планшете. Смесь затем инкубировали при комнатной температуре в течение 15 минут. Сорок мкл полной среды для роста без антибиотика, содержащей ~1,5×10<sup>4</sup> клеток, затем добавляли к смеси киРНК. Клетки инкубировали в течение 24 часов до очистки РНК. Эксперименты с введением однократной дозы выполняли при конечной концентрации дуплекса 10 нМ, 1 нМ и 0,1 нМ.

Выделение общей РНК с помощью набора для выделения мРНК DYNABEADS (Invitrogen™, часть №: 610-12)

Клетки лизировали в 75 мкл буфера для лизиса/связывающего буфера, содержащего 3 мкл гранул, на лунку и перемешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере. Этапы промывания автоматизировали на Biotek EL406 с применением магнитной подложки для планшетов. Гранулы промывали (в 90 мкл) один раз в буфере А, один раз в буфере В и два раза в буфере Е с этапами аспирации между ними. После окончательной аспирации полную смесь 10 мкл при КТ добавляли в каждую лунку, как описано ниже.

Синтез кДНК с использованием набора для обратной транскрипции кДНК высокой емкости ABI (Applied Biosystems, Фостер-сити, Калифорния, США, № по каталогу 4368813)

На лунку добавляли мастер-смесь из 1 мкл 10X буфера, 0,4 мкл 25X дНТФ, 1 мкл случайных праймеров, 0,5 мкл обратной транскриптазы, 0,5 мкл ингибитора РНКазы и 6,6 мкл H<sub>2</sub>O на реакцию. Планшеты запечатывали, содержимое перемешивали в течение 10 минут на электростатическом шейкере, а затем инкубировали при 37 градусах Цельсия в течение 2 часов. После этого содержимое планшетов перемешивали при 80 градусах Цельсия в течение 8 минут.

ПЦР в режиме реального времени

Два микролитра (мкл) кДНК добавляли к мастер-смеси, содержащей 0,5 мкл зонда GAPDH человека TaqMan (4326317E), 0,5 мкл TMPRSS6 человека, 2 мкл воды, не содержащей нуклеаз, и 5 мкл мастер-смеси зонда Lightcycler 480 (Roche, № по каталогу 04887301001), на лунку в 384-луночных планшетах (Roche, № по каталогу 04887301001). ПЦР в режиме реального времени выполняли в системе для ПЦР в режиме реального времени LightCycler480 (Roche).

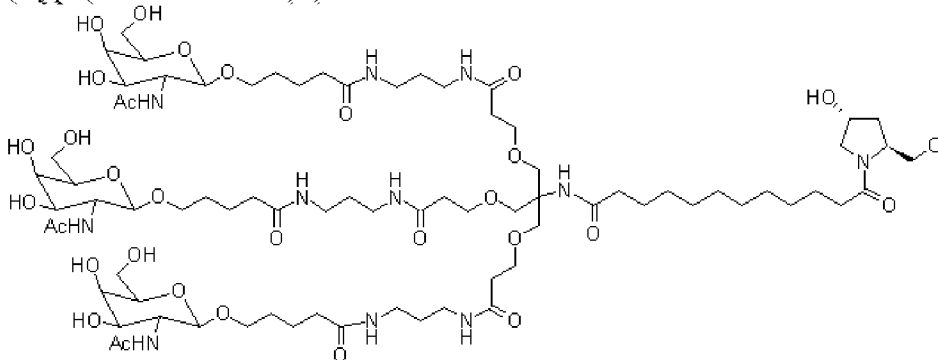
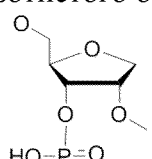
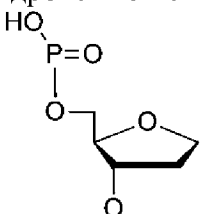
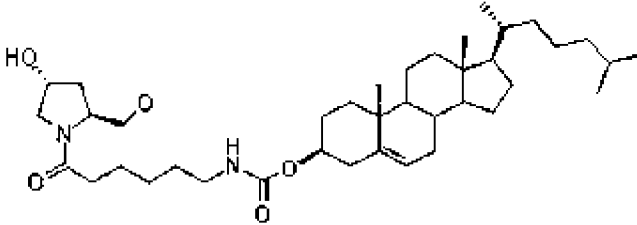
Для расчета относительного кратного изменения данные анализировали с использованием метода  $\Delta\Delta C_t$  и нормировали к анализам, выполненным с клетками, трансфицированными 10 нМ AD-1955, или ложнотрансфицированными клетками. ИК<sub>50</sub> рассчитывали с использованием 4-параметрической аппроксимационной модели с использованием XLFit и нормировали к клеткам, трансфицированным AD-1955, или ложнотрансфицированным клеткам. Смысловая и антисмысловая последовательности AD-

1955 представляют собой: смысловую последовательность cuuAcGcuGAGuAcuucGAdTsdT (SEQ ID NO: 18) и антисмысловую последовательность UCGAAGuACUcAGCGuAAGdTsdT (SEQ ID NO: 19).

Результаты скрининга однократной дозы агентов в Таблицах 2, 3, 6 и 7 в клетках Нер3b показаны в Таблице 8.

**Таблица 1.** Сокращения нуклеотидных мономеров, используемые в представлении последовательности нуклеиновой кислоты. Следует понимать, что мономеры, присутствующие в олигонуклеотиде, взаимно связаны 5'-3'-фосфодиэфирными связями; и следует понимать, что если нуклеотид содержит 2'-фтор-модификацию, то фтор заменяет гидроксильную группу в этом положении в исходном нуклеотиде (т. е. это 2'-дезоксид-2'-фторнуклеотид).

Сокращение	Нуклеотид(ы)
A	Аденозин-3'-фосфат
Ab	бета-L-аденозин-3'-фосфат
Abs	бета-L-аденозин-3'-фосфотиоат
Af	2'-фтораденозин-3'-фосфат
Afs	2'-фтораденозин-3'-фосфотиоат
As	аденозин-3'-фосфотиоат
C	цитидин-3'-фосфат
Cb	бета-L-цитидин-3'-фосфат
Cbs	бета-L-цитидин-3'-фосфотиоат
Cf	2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs	2'-фторцитидин-3'-фосфотиоат
Cs	цитидин-3'-фосфотиоат
G	гуанозин-3'-фосфат
Gb	бета-L-гуанозин-3'-фосфат
Gbs	бета-L-гуанозин-3'-фосфотиоат
Gf	2'-фторгуанозин-3'-фосфат
Gfs	2'-фторгуанозин-3'-фосфотиоат
Gs	гуанозин-3'-фосфотиоат
T	5'-метилуридин-3'-фосфат
Tf	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфат
Tfs	2'-фтор-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
Ts	5-метилуридин-3'-фосфотиоат
U	Уридин-3'-фосфат
Uf	2'-фторуридин-3'-фосфат
Ufs	2'-фторуридин-3'-фосфотиоат
Us	уридин-3'-фосфотиоат
N	любой нуклеотид, модифицированный или немодифицированный
a	2'-О-метиладенозин-3'-фосфат
as	2'-О-метиладенозин-3'-фосфотиоат
c	2'-О-метилцитидин-3'-фосфат
cs	2'-О-метилцитидин-3'-фосфотиоат
g	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат
gs	2'-О-метилгуанозин-3'-фосфотиоат
t	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат
ts	2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфотиоат
u	2'-О-метилуридин-3'-фосфат
us	2'-О-метилуридин-3'-фосфотиоат

s	фосфотиоатная связь
L10	N-(холестеринкарбоксамидокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-Chol)
L96	N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеcanoил]-4-гидроксипролинол (Нур-(GalNAc-алкил)3) 
Y34	2-гидроксиметилтетрагидрофуран-4-метокси-3-фосфат (лишенная азотистого основания 2'-ОМе фураноза) 
Y44	инvertированная лишенная азотистых оснований ДНК (2-гидроксиметилтетрагидрофуран-5-фосфат) 
L10	N-(холестеринкарбоксамидокапроил)-4-гидроксипролинол (Нур-С6-Chol) 
(Agn)	S-изомер аденозингликолевой нуклеиновой кислоты (GNA)
(Cgn)	S-изомер цитидингликолевой нуклеиновой кислоты (GNA)
(Ggn)	S-изомер гуанозингликолевой нуклеиновой кислоты (GNA)
(Tgn)	S-изомер тимидингликолевой нуклеиновой кислоты (GNA)
P	Фосфат
VP	Винилфосфат
dA	2'-дезоксаденозин-3'-фосфат
dAs	2'-дезоксаденозин-3'-фосфотиоат
dC	2'-дезоксцитидин-3'-фосфат
dCs	2'-дезоксцитидин-3'-фосфотиоат
dG	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат
dGs	2'-дезоксигуанозин-3'-фосфотиоат
dT	2'-дезокситимидин-3'-фосфат
dTs	2'-дезокситимидин-3'-фосфотиоат

dU	2'-дезоксиуридин
dUs	2'-дезоксиуридин-3'-фосфотиоат
(C2p)	цитидин-2'-фосфат
(G2p)	гуанозин-2'-фосфат
(U2p)	уридин-2'-фосфат
(A2p)	аденозин-2'-фосфат
(Chd)	2'-О-гексадецилцитидин-3'-фосфат
(Ahd)	2'-О-гексадециладенозин-3'-фосфат
(Ghd)	2'-О-гексадецилгуанозин-3'-фосфат
(Uhd)	2'-О-гексадецилуридин-3'-фосфат
Q191s	<p>N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодедеканоил]-(S)-пирролидин-3-ол-фосфотиоат (p-C12-(GalNAc-алкил)3)</p>

**Таблица 2. Немодифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе дцРНК против TMPRSS6**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1554875	GCCUGUGAGGACUCCAAGAGU	20	232-252	ACUCTUGGAGUCCUCACAGGCCU	146	230-252
AD-1554909	GGUGCUACUCUGGUAUUUCCU	21	324-344	AGGAAATACCAGAGUAGCACCCC	147	322-344
AD-1554910	GUGCUACUCUGGUAUUUCCU	22	325-345	AAGGAAAUACCAGAGUAGCACCC	148	323-345
AD-1554911	UGCUCUCUGGUAUUUCCUAU	23	326-346	ATAGGAAAUACCAGAGUAGCACCC	149	324-346
AD-1554912	GCUACUCUGGUAUUUCCUAGU	24	327-347	ACUAGGAAAUACCAGAGUAGCAC	150	325-347
AD-1554913	CUACUCUGGUAUUUCCUAGGU	25	328-348	ACCUAGGAAAUACCAGAGUAGCA	151	326-348
AD-1554914	UACUCUGGUAUUUCCUAGGGU	26	329-349	ACCCTAGGAAATACCAGAGUAGC	152	327-349
AD-1554915	ACUCUGGUAUUUCCUAGGGUU	27	330-350	AACCCUAGGAAAUACCAGAGUAG	153	328-350
AD-1554916	CUCUGGUAUUUCCUAGGGUAU	28	331-351	ATACCCTAGGAAAUACCAGAGUA	154	329-351
AD-1554917	UCUGGUAUUUCCUAGGGUACU	29	332-352	AGUACCCUAGGAAAUACCAGAGU	155	330-352
AD-1554923	AUUUCCUAGGGUACAAGGCGU	30	338-358	ACGCCUTGUACCCUAGGAAAUAC	156	336-358
AD-1554951	GGUCAGCCAGGUGUACUCAGU	31	366-386	ACUGAGTACACCUGGCUGACCAU	157	364-386
AD-1554955	AGCCAGGUGUACUCAGGCAGU	32	370-390	ACUGCCTGAGUACACCUGGCUGA	158	368-390
AD-1554992	GCCACUUCUCCCAGGAUCUUU	33	407-427	AAAGAUCCUGGGAGAAGUGGCGA	159	405-427
AD-1554997	UUCUCCCAGGAUCUUACCCGU	34	412-432	ACGGGUAAGAUCUGGGAGAAGU	160	410-432
AD-1555000	UCCCAGGAUCUUACCCGCCGU	35	415-435	ACGGCGGGUAAGAUCUGGGAGA	161	413-435
AD-1555030	GCCUCCGCAGUGAAACCGCU	36	445-465	AGCGGUTUACTGCGGAAGGCAC	162	443-465
AD-1555106	CAACUCCAGCUCCGUCUAUUU	37	522-542	AAAUAGACGGAGCUGGAGUUGUA	163	520-542
AD-1555112	CAGCUCCGUCUAUCCUUUGU	38	528-548	ACAAAGGAUAGACGGAGCUGGA	164	526-548
AD-1555114	CUCACCUGCUUCUUCUGGUUU	39	559-579	AAACCAGAAGAAGCAGGUGAGGG	165	557-579
AD-1555115	UCACCUGCUUCUUCUGGUUCU	40	560-580	AGAACCAGAAGAAGCAGGUGAGG	166	558-580
AD-1555117	ACCUGCUUCUUCUGGUUCAUU	41	562-582	AAUGAACCAAGAAGAAGCAGGUGA	167	560-582
AD-1555118	CCUGCUUCUUCUGGUUCAUUU	42	563-583	AAUGAACCAAGAAGAAGCAGGUG	168	561-583
AD-1555120	UGCUCUUCUGGUUCAUUCUU	43	565-585	AAGAAUGAACCAAGAAGAAGCAGG	169	563-585
AD-1555121	GCUUCUUCUGGUUCAUUCUCU	44	566-586	AGAGAATGAACCAAGAAGAAGCAG	170	564-586

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1555122	CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCU	45	567-587	AGGAGAAUGAACCAGAAGAAGCA	171	565-587
AD-1555123	UUCUUCUGGUUCAUUCUCCAU	46	568-588	ATGGAGAAUGAACCAGAAGAAGC	172	566-588
AD-1555128	CUGGUUCAUUCUCCAAAUCU	47	573-593	AGGATUTGGAGAAUGAACCAGAA	173	571-593
AD-1555184	ACAGGGCCGAGUACGAAGUGU	48	689-709	ACACTUCGUACTCGGCCUGUAG	174	687-709
AD-1555185	CAGGGCCGAGUACGAAGUGGU	49	690-710	ACCACUTCGUACUCGGCCUGUA	175	688-710
AD-1555212	CCAGUGUGAAAGACAUAGCUU	50	737-757	AAGCTATGUCUTUCACACUGGCU	176	735-757
AD-1555213	CAGUGUGAAAGACAUAGCUGU	51	738-758	ACAGCUAUGUCTUUCACACUGGC	177	736-758
AD-1555234	AUUGAAUCCACGCUGGGUUU	52	759-779	AAACCCAGCGUGGAAUUCAAUGC	178	757-779
AD-1555235	UUGAAUCCACGCUGGGUUGU	53	760-780	ACAACCCAGCGTGGAUUCAAUG	179	758-780
AD-1555236	UGAAUCCACGCUGGGUUGUU	54	761-781	AACAACCCAGCGUGGAAUUCAAU	180	759-781
AD-1555238	AAUCCACGCUGGGUUGUUAU	55	763-783	ATAACAACCCAGCGUGGAAUUCA	181	761-783
AD-1555241	UCCACGCUGGGUUGUUACCGU	56	766-786	ACGGTAACAACCCAGCGUGGAAU	182	764-786
AD-1555242	CCACGCUGGGUUGUUACCGCU	57	767-787	AGCGGUAACAACCCAGCGUGGAA	183	765-787
AD-1555243	CACGCUGGGUUGUUACCGCUU	58	768-788	AAGCGGTAACAACCCAGCGUGGA	184	766-788
AD-1555247	CUGGGUUGUUACCGCUACAGU	59	772-792	ACUGTAGCGGUAACAACCCAGCG	185	770-792
AD-1555342	GGGACCGACUGGCCAUGUAUU	60	923-943	AAUACATGGCCAGUCGGUCCCGG	186	921-943
AD-1555343	GGACCGACUGGCCAUGUAUGU	61	924-944	ACAUACAUGGCCAGUCGGUCCCG	187	922-944
AD-1555345	ACCGACUGGCCAUGUAUGACU	62	926-946	AGUCAUACAUGGCCAGUCGGUCC	188	924-946
AD-1555346	CCGACUGGCCAUGUAUGACGU	63	927-947	ACGUCATACAUGGCCAGUCGGUC	189	925-947
AD-1555348	GACUGGCCAUGUAUGACGUGU	64	929-949	ACACGUCAUACAUGGCCAGUCGG	190	927-949
AD-1555349	ACUGGCCAUGUAUGACGUGGU	65	930-950	ACCACGTCAUACAUGGCCAGUCG	191	928-950
AD-1555350	CUGGCCAUGUAUGACGUGGCU	66	931-951	AGCCACGUCAUACAUGGCCAGUC	192	929-951
AD-1555366	AGGCUCAUACCUCGGUGUAU	67	967-987	ATACACCGAGGTGAUGAGCCUCU	193	965-987
AD-1555428	GCCUGCACAGCUACUACGACU	68	1061-1081	AGUCGUAGUAGCUGUGCAGGCC	194	1059-1081
AD-1555429	CCUGCACAGCUACUACGACCU	69	1062-1082	AGGUCGTAGUAGCUGUGCAGGCC	195	1060-1082



Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1555535	CCUCUCUGGACUACGGCUUGU	70	1235-1255	ACAAGCCGUAGTCCAGAGAGGGC	196	1233-1255
AD-1555537	UCUCUGGACUACGGCUUGGCU	71	1237-1257	AGCCAAGCCGUAGUCCAGAGAGG	197	1235-1257
AD-1555546	UACGGCUUGGCCUCUGGUUU	72	1246-1266	AAACCAGAGGGCCAAGCCGUAGU	198	1244-1266
AD-1555547	ACGGCUUGGCCUCUGGUUUU	73	1247-1267	AAAACCAGAGGGCCAAGCCGUAG	199	1245-1267
AD-1555548	CGGCUUGGCCUCUGGUUUGU	74	1248-1268	ACAAACCAGAGGGCCAAGCCGUA	200	1246-1268
AD-1555549	GGCUUGGCCUCUGGUUUGAU	75	1249-1269	ATCAAACCAGAGGGCCAAGCCGU	201	1247-1269
AD-1555581	GAGGAGGCAGAAGUAUGAUUU	76	1281-1301	AAAUCATACUUCUGCCUCCUCAG	202	1279-1301
AD-1555583	GGAGGCAGAAGUAUGAUUUGU	77	1283-1303	ACAAAUCAUACTUCUGCCUCCUC	203	1281-1303
AD-1555584	GAGGCAGAAGUAUGAUUUGCU	78	1284-1304	AGCAAATCAUACUUCUGCCUCCU	204	1282-1304
AD-1555585	AGGCAGAAGUAUGAUUUGCCU	79	1285-1305	AGGCAAUAUCAUACUUCUGCCUCC	205	1283-1305
AD-1555586	GGCAGAAGUAUGAUUUGCCGU	80	1286-1306	ACGGCAAUAUCAUACUUCUGCCUC	206	1284-1306
AD-1555587	GCAGAAGUAUGAUUUGCCGUU	81	1287-1307	AACGGCAAUAUCAUACUUCUGCCU	207	1285-1307
AD-1555588	CAGAAGUAUGAUUUGCCGUGU	82	1288-1308	ACACGGCAAUAUCAUACUUCUGCC	208	1286-1308
AD-1555589	AGAAGUAUGAUUUGCCGUGCU	83	1289-1309	AGCACGGCAAATCAUACUUCUGC	209	1287-1309
AD-1555590	GAAGUAUGAUUUGCCGUGCAU	84	1290-1310	ATGCACGGCAAUAUCAUACUUCUG	210	1288-1310

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1555615	CAGUGGACGAUCCAGAACAGU	85	1318-1338	ACUGTUCUGGATCGUCCACUGGC	211	1316-1338
AD-1555616	AGUGGACGAUCCAGAACAGGU	86	1319-1339	ACCUGUTCUGGAUCGUCCACUGG	212	1317-1339
AD-1555626	CCAGAACAGGAGGCUGUGUGU	87	1329-1349	ACACACAGCCUCCUGUUCUGGAU	213	1327-1349
AD-1555628	AGAACAGGAGGCUGUGUGGCU	88	1331-1351	AGCCACACAGCCUCCUGUUCUGG	214	1329-1351
AD-1555706	UGUGCGGGUGCACUAUGGCUU	89	1449-1469	AAGCCATAGUGCACCCGCACACC	215	1447-1469
AD-1555707	GUGCGGGUGCACUAUGGCUUU	90	1450-1470	AAAGCCAUAGUGCACCCGCACAC	216	1448-1470
AD-1555709	GCGGGUGCACUAUGGCUUGUU	91	1452-1472	AACAAGCCAUAGUGCACCCGCAC	217	1450-1472
AD-1555711	GGGUGCACUAUGGCUUGUACU	92	1454-1474	AGUACAAGCCATAGUGCACCCGC	218	1452-1474
AD-1555717	ACUAUGGCUUGUACAACCAGU	93	1460-1480	ACUGGUTGUACAAGCCAUAGUGC	219	1458-1480
AD-1555723	GCUUGUACAACCAGUCGGACU	94	1466-1486	AGUCCGACUGGTUGUACAAGCCA	220	1464-1486
AD-1555725	CUGCCUGGAGAGUUCUCUU	95	1488-1508	AAGAGGAACUCTCCAGGGCAGGG	221	1486-1508
AD-1555768	GCCUGGAUGAGAGAAACUGCU	96	1565-1585	AGCAGUTUCTCAUCCAGGCCG	222	1563-1585
AD-1555771	UGGAUGAGAGAAACUGCGUUU	97	1568-1588	AAACGCAGUUUCUCUCAUCCAGG	223	1566-1588
AD-1555772	GGAUGAGAGAAACUGCGUUUU	98	1569-1589	AAAACGCAGUUTCUCUCAUCCAG	224	1567-1589
AD-1555776	GAGAGAAACUGCGUUUGCAGU	99	1573-1593	ACUGCAAACGCAGUUUCUCUCAU	225	1571-1593

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1555789	UUUGCAGAGCCACAUCCAGU	100	1586-1606	ACUGGAAUGUGGCUCUGCAAACG	226	1584-1606
AD-1555894	GUGGGACAUUCACCUUCCAGU	101	1709-1729	ACUGGAAGGUGAAUGUCCCACAU	227	1707-1729
AD-1555895	UGGGACAUUCACCUUCCAGUU	102	1710-1730	AACUGGAAGGUGAAUGUCCCACA	228	1708-1730
AD-1555897	GGACAUUCACCUUCCAGUGUU	103	1712-1732	AACACUGGAAGGUGAAUGUCCCA	229	1710-1732
AD-1555898	GACAUUCACCUUCCAGUGUGU	104	1713-1733	ACACACTGGAAGGUGAAUGUCCC	230	1711-1733
AD-1555899	ACAUUCACCUUCCAGUGUGAU	105	1714-1734	ATCACACUGGAAGGUGAAUGUCC	231	1712-1734
AD-1555900	CAUUCACCUUCCAGUGUGAGU	106	1715-1735	ACUCACACUGGAAGGUGAAUGUC	232	1713-1735
AD-1556052	AUCGCUGACCGCUGGGUGAUU	107	1936-1956	AAUCACCCAGCGGUCAGCGAUGA	233	1934-1956
AD-1556057	UGACCGCUGGGUGAUAACAGU	108	1941-1961	ACUGTUAUCACCCAGCGGUCAGC	234	1939-1961
AD-1556126	CGUGUUCCUGGGCAAGGUGUU	109	2010-2030	AACACCTUGCCCAGGAACACGGU	235	2008-2030
AD-1556127	GUGUUCCUGGGCAAGGUGUGU	110	2011-2031	ACACACCUUGCCCAGGAACACGG	236	2009-2031
AD-1556137	GCAAGGUGUGGCAGAACUCGU	111	2021-2041	ACGAGUTCUGCCACACCUUGCCC	237	2019-2041
AD-1556139	AAGGUGUGGCAGAACUCGCGU	112	2023-2043	ACGCGAGUUCUGCCACACCUUGC	238	2021-2043
AD-1556163	CUGGAGAGGUGUCCUUCAAGU	113	2048-2068	ACUUGAAGGACACCUCUCCAGGC	239	2046-2068
AD-1556164	UGGAGAGGUGUCCUUCAAGGU	114	2049-2069	ACCUUGAAGGACACCUCUCCAGG	240	2047-2069

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1556166	GAGAGGUGUCCUUCAAGGUGU	115	2051-2071	ACACCU TGAAGGACACCUCUCCA	241	2049-2071
AD-1556167	AGAGGUGUCCUUCAAGGUGAU	116	2052-2072	ATCACCTUGAAGGACACCUCUCC	242	2050-2072
AD-1556319	AUCCACAGGACCUGUGCAGU	117	2299-2319	ACUGCACAGGUCCUGUGGGAUCA	243	2297-2319
AD-1556359	UGACGCCACGCAUGCUGUGUU	118	2339-2359	AACACAGCAUGCGUGGCGUCACC	244	2337-2359
AD-1556360	GACGCCACGCAUGCUGUGUGU	119	2340-2360	ACACACAGCAUGCGUGGCGUCAC	245	2338-2360
AD-1556382	GCUACCGCAAGGGCAAGAAGU	120	2363-2383	ACUUCUTGCCCTUGCGGUAGCCG	246	2361-2383
AD-1556383	CUACCGCAAGGGCAAGAAGGU	121	2364-2384	ACCUTCTUGCCCUUGCGGUAGCC	247	2362-2384
AD-1556465	GGCCUAACUACUUCGGCGUCU	122	2483-2503	AGACGCCGAAGTAGUUAGGCCGG	248	2481-2503
AD-1556466	GCCUAACUACUUCGGCGUCUU	123	2484-2504	AAGACGCCGAAGUAGUUAGGCCG	249	2482-2504
AD-1556484	CUACACCCGCAUCACAGGUGU	124	2502-2522	ACACCUGUGAUGC GGGUGUAGAC	250	2500-2522
AD-1556510	GCUGGAUCCAGCAAGUGGUGU	125	2528-2548	ACACCACUUGCTGGAUCCAGCUG	251	2526-2548
AD-1556584	UGGCAGGAGGUGGCAUCUUGU	126	2670-2690	ACAAGATGCCACCUCCUGCCACC	252	2668-2690
AD-1556585	GGCAGGAGGUGGCAUCUUGUU	127	2671-2691	AACAAGAUGCCACCUCCUGCCAC	253	2669-2691
AD-1556586	GCAGGAGGUGGCAUCUUGUCU	128	2672-2692	AGACAAGAUGCCACCUCCUGCCA	254	2670-2692
AD-1556587	CAGGAGGUGGCAUCUUGUCUU	129	2673-2693	AAGACAAGAUGCCACCUCCUGCC	255	2671-2693

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1556613	UGAUGUCUGCUCCAGUGAUGU	130	2699-2719	ACAUCACUGGAGCAGACAUCAGG	256	2697-2719
AD-1556677	CAAUUCUCUCUCCUCCGUCCU	131	2801-2821	AGGACGGAGGAGAGAGAAUUGGG	257	2799-2821
AD-1556709	GGCUCAGCAGCAAGAAUGCUU	132	2853-2873	AAGCAUTCUUGCUGCUGAGCCAC	258	2851-2873
AD-1556710	GCUCAGCAGCAAGAAUGCUGU	133	2854-2874	ACAGCATUCUUGCUGCUGAGCCA	259	2852-2874
AD-1556789	CUGGUCUAACUUGGGAUCUGU	134	2973-2993	ACAGAUCCAAGUUAGACCAGGG	260	2971-2993
AD-1556790	UGGUCUAACUUGGGAUCUGGU	135	2974-2994	ACCAGATCCCAAGUUAGACCAGG	261	2972-2994
AD-1556791	GGUCUAACUUGGGAUCUGGGU	136	2975-2995	ACCCAGAUSCCAAGUUAGACCAG	262	2973-2995
AD-1556795	UAACUUGGGAUCUGGGAAUGU	137	2979-2999	ACAUTCCCAGATCCCAAGUUAGA	263	2977-2999
AD-1556799	UUGGGAUCUGGGAAUGGAAGU	138	2983-3003	ACUUCCAUUSCCAGAUSCCAAGU	264	2981-3003
AD-1556802	GGAUCUGGGAAUGGAAGGUGU	139	2986-3006	ACACCUUSCAUTUSCCAGAUSCCA	265	2984-3006
AD-1556908	UGAGCUCAGCUGCCCUUUGGU	140	3158-3178	ACCAAAGGGCAGCUGAGCUCACC	266	3156-3178
AD-1556909	GAGCUCAGCUGCCCUUUGGAU	141	3159-3179	ATCCAAAGGGCAGCUGAGCUCAC	267	3157-3179
AD-1556911	GCUCAGCUGCCCUUUGGAAUU	142	3161-3181	AAUUSCAAAGGGCAGCUGAGCUC	268	3159-3181
AD-1556915	AGCUGCCCUUUGGAAUAAAGU	143	3165-3185	ACUUTATUSCAAAGGGCAGCUGA	269	3163-3185
AD-1556917	CUGCCCUUUGGAAUAAAGCUU	144	3167-3187	AAGCTUTAUUSCAAAGGGCAGCU	270	3165-3187

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153 609.4
AD-1556918	UGCCCUUUGGAAUAAAGCUGU	145	3168-3188	ACAGCUTUAUUCCAAAGGGCAGC	271	3166-3188

Таблица 3. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе дцРНК против

**TMPRSS6**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO.	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO.	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO.
AD-1554875	gscscugugaGfGfAfcuccaagaguL96	272	asdCsudTudGgagudCcUfcacaggcscsu	398	AGGCCUGUGAGGACUCCAAGAG A	524
AD-1554909	gsgsugcuacUfCfUfgguauuuuccuL96	273	asdGsgadAadTaccadGaGfuagcaccscs	399	GGGGUGCUACUCUGGUAUUUCCU	525
AD-1554910	gsusgcuacuCfUfGfguauuuuccuL96	274	asdAsggdAadAuaccdAgAfguagcaesc	400	GGGUGCUACUCUGGUAUUUCCU A	526
AD-1554911	usgscuacucUfGfGfuauuuuccuauL96	275	asdTsagdGadAauacdCaGfaguagcasc	401	GGUGCUACUCUGGUAUUUCCUA G	527
AD-1554912	gscsuacucuGfGfUfauuuuccuaguL96	276	asdCsuadGgdAaauadCcAfgaguagcsa	402	GUGCUACUCUGGUAUUUCCUAG G	528
AD-1554913	csusacucugGfUfAfuuuuccuagguL96	277	asdCscudAgdGaaudAcCfagaguagscsa	403	UGCUACUCUGGUAUUUCCUAGG G	529
AD-1554914	usascucuggUfAfUfuuccuagggguL96	278	asdCscddTadGgaaadTaCfcagaguasgs	404	GCUACUCUGGUAUUUCCUAGGG U	530
AD-1554915	ascsucugguAfUfUfuccuagggguL96	279	asdAscddCudAggaadAuAfccagagusa	405	CUACUCUGGUAUUUCCUAGGGU A	531
AD-1554916	csuscugguaUfUfUfccuagggguauL96	280	asdTsacdCcdTaggadAaUfaccagagsus	406	UACUCUGGUAUUUCCUAGGGU AC	532
AD-1554917	uscsugguauUfUfCfcuagggguacuL96	281	asdGsuadCcdCuaggdAaAfuaccagasg	407	ACUCUGGUAUUUCCUAGGGUAC A	533
AD-1554923	asusuuccuaGfGfGfuacaaggcguL96	282	asdCsgcdCudTguacdCcUfaggaausasc	408	GUAUUUCCUAGGGUACAAGGC GG	534

AD-1554951	gsgsucagccAfGfGfuguacucaguL96	283	asdCsugdAgdTacacdCuGfgcugaccsas409	u	AUGGUCAGCCAGGUGUACUCAGG	535
AD-1554955	asgscagguGfUfAfcucaggcaguL96	284	asdCsugdCcdTgagudAcAfccuggcug410	sa	UCAGCCAGGUGUACUCAGGCAGU	536
AD-1554992	gscscacuucUfCfCfcaggauuuL96	285	asdAsagdAudCcuggdGaGfaaguggcsg411	sa	UCGCCACUUCUCCCAGGAUCUU	537
AD-1554997	ususcuccaGfGfAfucuuaccguL96	286	asdCsggdGudAagaudCcUfgggagaasg412	su	ACUUCUCCCAGGAUCUUACCCG	538
AD-1555000	uscscaggaUfCfUfuaccgceguL96	287	asdCsggdCgdGguaadGaUfccugggasg413	sa	UCUCCCAGGAUCUUACCCGCCG	539
AD-1555030	gscscuuccgCfAfGfugaaaccguL96	288	asdGscgdGudTucacdTgCfpgaagcsas414	c	GUGCCUCCGCAGUGAAACCGC	540
AD-1555106	csasacuccaGfCfUfccgucuauuuL96	289	asdAsaudAgdAcggadGcUfggaguugsu415	sa	UACAACUCCAGCUCCGUCUAUU	541
AD-1555112	csasgcuccgUfCfUfauuccuuuguL96	290	asdCsaadAgdGaauadGaCfaggcugsg416	sa	UCCAGCUCCGUCUAUUCUUUG	542
AD-1555114	csuscaccugCfUfUfcuucugguuuL96	291	asdAsacdCadGaagadAgCfaggugagsg417	sg	CCCUCACCUGCUUCUUCUGGUU	543
AD-1555115	uscscaccugCfUfUfcuucugguuuL96	292	asdGsaadCcdAgaagdAaGfcaggugasg418	sg	CCUCACCUGCUUCUUCUGGUUC	544
AD-1555117	ascscugcuuUfUfUfcugguucauuL96	293	asdAsugdAadCcagadAgAfagcaggusg419	sa	UCACCUGCUUCUUCUGGUUCAU	545
AD-1555118	cscsugcuuUfUfUfcugguucauuL96	294	asdAsaudGadAccagdAaGfaagcaggsu420	sg	CACCUGCUUCUUCUGGUUCAUU	546
AD-1555120	usgsuucuuCfUfGfguucuuuuL96	295	asdAsgadAudGaaccdAgAfagaagcasg421	sg	CCUGCUUCUUCUGGUUCAUUCU	547
AD-1555121	gscsuucuuUfGfGfuucuuuuL96	296	asdGsagdAadTgaacdCaGfaagaagsas422	g	CUGCUUCUUCUGGUUCAUUCUC	548
AD-1555122	csusucuuUfGfUfucuuuccuL96	297	asdGsgadGadAugaadCcAfgaagaagsc423	sa	UGCUUCUUCUGGUUCAUUCUCC	549
AD-1555123	ususcuuUfGfUfucuuuccuL96	298	asdTsggdAgdAugadAcCfagaagaasg424	sc	GCUUCUUCUGGUUCAUUCUCCA	550
AD-1555123	csusgguucaUfUfUfuccaaauccuL96	299	asdGsgadTudTggagdAaUfgaaccagsas425		UUCUGGUUCAUUCUCCAAAUCC	551

1555128	6		a		C	
AD-1555184	ascsgggccGfAfGfuacgaaguguL96	300	asdCsacdTudCguacdTcGfgcccugusasg	426	CUACAGGGCCGAGUACGAAGUGG	552
AD-1555185	csasgggcccGfGfUfacgaagugguL96	301	asdCscadCudTcguaCuCfggcccugsusa	427	UACAGGGCCGAGUACGAAGUGGA	553
AD-1555212	cscsagugugAfAfAfgacauagcuuL96	302	asdAsgcdTadTgucudTuCfacacuggscsu	428	AGCCAGUGUGAAAGACAUAGCUG	554
AD-1555213	csasgugugaAfAfGfacauagcuguL96	303	asdCsagdCudAugucdTuUfcacacugsgsc	429	GCCAGUGUGAAAGACAUAGCUGC	555
AD-1555234	asusugaauuCfCfAfcgucggguuuL96	304	asdAsacdCcdAgcgudGgAfauucaausgsc	430	GCAUUGAAUUCCACGCUGGGUUG	556
AD-1555235	ususgaauucCfAfCfcgucggguuguL96	305	asdCsaadCcdCagcgdTgGfaauucaasug	431	CAUUGAAUUCCACGCUGGGUUGU	557
AD-1555236	usgsaaauccAfCfGfcgucggguuguL96	306	asdAscadAcdCcagcdGuGfgaaauucasau	432	AUUGAAUUCCACGCUGGGUUGUU	558
AD-1555238	asasuuccacGfCfUfgguuguuuauL96	307	asdTsaadCadAcccadGcGfuggaauscsa	433	UGAAUUCCACGCUGGGUUGUUAC	559
AD-1555241	uscscacgcuGfGfGfuuguuaccguL96	308	asdCsggdTadAcaacdCcAfcgucggasau	434	AUUCCACGCUGGGUUGUUACCGC	560
AD-1555242	cscsacgcuGfGfUfuguuaccguL96	309	asdGscgdGudAcaacdCcCfagcugggasau	435	UUCCACGCUGGGUUGUUACCGCU	561
AD-1555243	csascgcuGfUfUfuguuaccguL96	310	asdAsgcdGgdTaacadAcCfcagcugggasau	436	UCCACGCUGGGUUGUUACCGCUA	562
AD-1555247	csusggguugUfUfAfcgcuacaguL96	311	asdCsugdTadGcggudAaCfaaccagscsg	437	CGCUGGGUUGUUACCGCUACAGC	563
AD-1555342	gsgsgaccgaCfUfGfgccauguauuL96	312	asdAsuadCadTggccdAgUfcgguccsgsg	438	CCGGGACCGACUGGCCAUGUAUG	564
AD-1555343	gsgsaccgacUfGfGfccauguauuL96	313	asdCsaudAcdAuggcdCaGfucgguccscsg	439	CGGGACCGACUGGCCAUGUAUGA	565
AD-1555345	ascscgacugGfCfCfauguauacuL96	314	asdGsucdAudAcaugdGcCfagucgguscsc	440	GGACCGACUGGCCAUGUAUGACG	566
AD-1555346	cscsgacuggCfCfAfuguauacuL96	315	asdCsgudCadTacaudGgCfcagucgguscsc	441	GACCGACUGGCCAUGUAUGACGU	567



AD-1555348	gsascuggccAfUfGfuaugacguguL96	316	asdCsacdGudCauacdAuGfgccagucsgsg	442	CCGACUGGCCAUGUAUGACGUGG	568
AD-1555349	ascuggccaUfGfUfaugacgugguL96	317	asdCscadCgdTcauadCaUfggcccaguscsg	443	CGACUGGCCAUGUAUGACGUGGC	569
AD-1555350	csusggccauGfUfAfugacguggcuL96	318	asdGscddAcGucaudAcAfuggcccagsusc	444	GACUGGCCAUGUAUGACGUGGCC	570
AD-1555366	asgsgcucacuCfAfCfcucgguguauL96	319	asdTsacdAcCgaggdTgAfugagccuscsg	445	AGAGGCUCAUCACCUCGGUGUA	571
AD-1555428	gscscugcacAfGfCfuacuacgacuL96	320	asdGsudGudAguagdCuGfugcaggcscsc	446	GGCCUGCACAGCUACUACGACC	572
AD-1555429	cscsugcacaGfCfUfacuacgaccuL96	321	asdGsgudCgdTaguadGcUfgugcaggcsc	447	GGCCUGCACAGCUACUACGACC	573
AD-1555535	cscsucucugGfAfCfuacggcuuguL96	322	asdCsaadGcdCguagdTcCfagagaggsgsc	448	GCCCUCUCUGGACUACGGCUUGG	574
AD-1555537	uscucuggaCfUfAfccgcuuggcuL96	323	asdGscddAadGccgudAgUfccagagagsg	449	CCUCUCUGGACUACGGCUUGGC	575
AD-1555546	usascggcuuGfGfCfccucugguuuL96	324	asdAsacdCadGaggdCcAfagccguasgsu	450	ACUACGGCUUGGCCUCUGGUUU	576
AD-1555547	ascsggcuugGfCfCfcucugguuuuL96	325	asdAaadCcdAgaggdGcCfaagccgusag	451	CUACGGCUUGGCCUCUGGUUU	577
AD-1555548	csgsgcuuggCfCfCfucugguuuuL96	326	asdCsaadAcCagagdGgCfcaagccgsusa	452	UACGGCUUGGCCUCUGGUUUUG	578
AD-1555549	gsgscuuggcCfCfUfcugguuuugauL96	327	asdTscadAadCagadGgGfccaagccsgsu	453	ACGGCUUGGCCUCUGGUUUUGA	579
AD-1555581	gsasggaggcAfGfAfaguaugauuuL96	328	asdAsaudCadTacuudCuGfccuccucsg	454	CUGAGGAGGCAGAAGUAUGAUUU	580
AD-1555583	gsgsaggcagAfAfGfuaugauuuuL96	329	asdCsaadAudCauacdTuCfugccuccsc	455	GAGGAGGCAGAAGUAUGAUUU	581
AD-1555584	gsasggcagaAfGfUfaugauuuugcuL96	330	asdGscadAadTcauadCuUfcugccucsc	456	AGGAGGCAGAAGUAUGAUUUUG	582
AD-1555585	asgsgcagaaGfUfAfugauuuugcuL96	331	asdGsgcdAadAucaudAcUfucugccusc	457	GGAGGCAGAAGUAUGAUUUUGC	583
AD-	gsgscagaagUfAfUfgauuuugccguL	332	asdCsggdCadAaucadTaCfuucugccsc	458	GAGGCAGAAGUAUGAUUUUGCC	584

1555586	96		c		GU	
AD-1555587	gscsagaaguAfUfGfauuugccguuL96	333	asdAsgcdGcdAaaucdAuAfcuucugcscsu	459	AGGCAGAAGUAUGAUUUGCCGUG	585
AD-1555588	csasgaaguaUfGfAfuugccguguL96	334	asdCsacdGgdCaaudCaUfacuucugscsc	460	GGCAGAAGUAUGAUUUGCCGUGC	586
AD-1555589	asgsaaguauGfAfUfuugccgugcuL96	335	asdGscadCgdGcaaadTcAfuacuucusgsc	461	GCAGAAGUAUGAUUUGCCGUGCA	587
AD-1555590	gsasaguaugAfUfUfugccgugcauL96	336	asdTsgcdAcdGgcaadAuCfauacuucsusg	462	CAGAAGUAUGAUUUGCCGUGCAC	588
AD-1555615	csasguggacGfAfUfccagaacaguL96	337	asdCsugdTudCuggadTcGfuccacugsgsc	463	GCCAGUGGACGAUCCAGAACAGG	589
AD-1555616	asgsuggacgAfUfCfcagaacagguL96	338	asdCscudGudTcuggdAuCfguccacusgsg	464	CCAGUGGACGAUCCAGAACAGGA	590
AD-1555626	cscsagaacaGfGfAfggcuguguguL96	339	asdCsacdAcdAgccudCcUfguucugsgasu	465	AUCCAGAACAGGAGGCUGUGUG	591
AD-1555628	asgsaacaggAfGfGfcuguguggcuL96	340	asdGscddAcdAcagcdCuCfcuguucusgsg	466	CCAGAACAGGAGGCUGUGUGGCCU	592
AD-1555706	usgsugcgggUfGfCfacuauggcuuL96	341	asdAsgcdCadTagugdCaCfccgcacascsc	467	GGUGUGCGGGUGCACUAUGGCCUU	593
AD-1555707	gsusgcggguGfCfAfcuauggcuuuL96	342	asdAsagdCcdAuagudGcAfcccgcacsasc	468	GUGUGCGGGUGCACUAUGGCCUUG	594
AD-1555709	gscsgggugcAfCfUfauggcuuguuL96	343	asdAscadAgdCcaudGuGfcaccgcscsc	469	GUGCGGGUGCACUAUGGCCUUGUA	595
AD-1555711	gsgsgugcacUfAfUfgguuguacuL96	344	asdGsuadCadAgccadTaGfugcaccscsgsc	470	GCGGGUGCACUAUGGCCUUGUACA	596
AD-1555717	ascsuauggcUfUfGfuacaaccaguL96	345	asdCsugdGudTguacdAaGfccauagusgsc	471	GCACUAUGGCCUUGUACAACCAGU	597
AD-1555723	gscsuuguacAfAfCfcagucggacuL96	346	asdGsucdCgdAcuggdTcGfuacaagcscsa	472	UGGCUUGUACAACCAGUCGGAC	598
AD-1555725	csusgccugGfAfGfaguuccucuL96	347	asdAsgadGgdAacudTcCfaggcagsgsg	473	CCCUGCCCUGGAGAGUUCUCU	599
AD-1555768	gscscuggauGfAfGfagaaacugcuL96	348	asdGscadGudTucudTcAfuccaggcscsg	474	CGGCCUGGAUGAGAGAAACUGCG	600

AD-1555771	usgsgaugagAfGfAfaacugcguuuL96	349	asdAsacdGcdAguuudCuCfucauccasgsg	475	CCUGGAUGAGAGAAACUGCGU UU	601
AD-1555772	gsgsaugagaGfAfAfacugcguuuL96	350	asdAsaadCgdCaguudTcUfcucauccsasg	476	CUGGAUGAGAGAAACUGCGUU UG	602
AD-1555776	gsasgagaaaCfUfGfcguuugcaguL96	351	asdCsugdCadAacgcdAgUfuucucusa su	477	AUGAGAGAAACUGCGUUUGCA GA	603
AD-1555789	ususgcagaGfCfCfacauuccaguL96	352	asdCsugdGadAugugdGcUfcugcaaasc sg	478	CGUUUGCAGAGCCACAUUCCAG U	604
AD-1555894	gsusgggacaUfUfCfaccuuccaguL96	353	asdCsugdGadAggugdAaUfguccacsasu	479	AUGUGGGACAUUCACCUUCCAG U	605
AD-1555895	usgsggacauUfCfAfccuuccaguL96	354	asdAscudGgdAaggudGaAfuguccasc sa	480	UGUGGGACAUUCACCUUCCAGU G	606
AD-1555897	gsgsacauucAfCfCfuuccaguguL96	355	asdAscudCudGgaagdGuGfaauguccsc sa	481	UGGGACAUUCACCUUCCAGUGU G	607
AD-1555898	gsascauucAfCfUfuccaguguguL96	356	asdCsacdAcdTggaadGgUfgaaugucscs c	482	GGGACAUUCACCUUCCAGUGUG A	608
AD-1555899	ascsauucacCfUfUfccagugugauL96	357	asdTscadCadCuggadAgGfugaaugusc sc	483	GGACAUUCACCUUCCAGUGUGA G	609
AD-1555900	csasuucaccUfUfCfcagugugaguL96	358	asdCsucdAcdAcuggdAaGfgugaaugsu sc	484	GACAUUCACCUUCCAGUGUGAG G	610
AD-1556052	asuscgcugaCfCfGfcugggugauL96	359	asdAsucdAcdCcagcdGgUfcagcgau sa	485	UCAUCGCUGACCGCUGGGUGAU A	611
AD-1556057	usgsaccgcuGfGfGfugauaacaguL96	360	asdCsugdTudAucacdCcAfgcggucasg sc	486	GCUGACCGCUGGGUGAUAAACAG C	612
AD-1556126	csgsuguuccUfGfGfcaagguguuL96	361	asdAscudCcdTugccdCaGfgaacacgsgs u	487	ACCGUGUUCUGGGCAAGGUGU G	613
AD-1556127	gsusguuccuGfGfGfcaagguguguL96	362	asdCsacdAcdCuugcdCcAfggaacacsgs g	488	CCGUGUUCUGGGCAAGGUGUG G	614
AD-1556137	gscsaaggugUfGfGfcagaacucguL96	363	asdCsgadGudTcugcdCaCfaccuugcscs c	489	GGGCAAGGUGUGGCAGAACUC GC	615
AD-1556139	asasggugugGfCfAfgaacucgcuL96	364	asdCsgcdGadGuucudGcCfacaccuusg sc	490	GCAAGGUGUGGCAGAACUCGCG C	616
AD-1556139	csusggagagGfUfGfuccuuaaguL96	365	asdCsuudGadAggacdAcCfucuccasg sc	491	GCCUGGAGAGGUGUCCUUCAAG C	617

1556163	96		sc		G	
AD-1556164	usgsgagaggUfGfUfccuuaagguL96	366	asdCscudTgdAaggadCaCfcucuccasgs	492	CCUGGAGAGGUGUCCUUCAAGGU	618
AD-1556166	gsasgaggugUfCfCfuucaagguguL96	367	asdCsacdCudTgaagdGaCfaccucucscs	493	UGGAGAGGUGUCCUUCAAGGU	619
AD-1556167	asgsagguguCfCfUfucaaggugauL96	368	asdTscadCcdTugaadGgAfcaccucucscs	494	GGAGAGGUGUCCUUCAAGGUG	620
AD-1556319	asuscccacaGfGfAfccugugcaguL96	369	asdCsugdCadCaggudCcUfgugggausc	495	UGAUCCCACAGGACCUUGUGCAG	621
AD-1556359	usgsacgccaCfGfCfaugcuguguuL96	370	asdAscadCadGcaugdCgUfggcgucasc	496	GGUGACGCCACGCAUGCUGUGU	622
AD-1556360	gsascgccacGfCfAfugcuguguguL96	371	asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsa	497	GUGACGCCACGCAUGCUGUGUG	623
AD-1556382	gscsuaccgcAfAfGfggcaagaaguL96	372	asdCsuudCudTgcccTuGfcgguagcscs	498	CGGCUACCGCAAGGGCAAGAAG	624
AD-1556383	csusaccgcaAfGfGfgcaagaagguL96	373	asdCscudTedTugccdCuUfgcgguagcscs	499	GGCUACCGCAAGGGCAAGAAGG	625
AD-1556465	gsgscuaacUfAfCfuucggcgucuL96	374	asdGsacdGcdCgaagdTaGfuuaggccsgs	500	CCGGCCUAACUACUUCGGCGUC	626
AD-1556466	gscscuaacuAfCfUfucggcgucuuL96	375	asdAsgadCgdCcgaadGuAfguuaggcsc	501	CGGCCUAACUACUUCGGCGUCU	627
AD-1556484	csusacaccGfCfAfucacagguguL96	376	asdCsacdCudGugaudGcGfgguguagsa	502	GUCUACACCCGCAUCACAGGUG	628
AD-1556510	gscsuggaucCfAfGfcaagugguguL96	377	asdCsacdCadCuugdTGfauccagsus	503	CAGCUGGAUCCAGCAAGUGGUG	629
AD-1556584	usgsgcaggaGfGfUfggcaucuuguL96	378	asdCsaadGadTgccadCcUfccugccascs	504	GGUGGCAGGAGGUGGCAUCUU	630
AD-1556585	gsgscaggagGfUfGfcaucuuguuL96	379	asdAscadAgdAugccdAcCfuccugccsa	505	GUGGCAGGAGGUGGCAUCUUG	631
AD-1556586	gscsaggaggUfGfGfcaucuugucuL96	380	asdGsacdAadGaugcdCaCfuccugcscs	506	UGGCAGGAGGUGGCAUCUUGU	632
AD-1556587	csasggagguGfGfCfaucuugucuuL96	381	asdAsgadCadAgaugdCcAfcuccugsc	507	GGCAGGAGGUGGCAUCUUGUC	633

AD-1556613	usgsaugucuGfCfUfccagugauguL96	382	asdCsaudCadCuggadGcAfgacaucasgsg	508	CCUGAUGUCUGCUCCAGUGAUGG	634
AD-1556677	csasauucucUfCfUfccuccguccuL96	383	asdGsgadCgdGaggadGaGfagaauugsg	509	CCCAAUUCUCUCUCCUCCGUCC	635
AD-1556709	gsgscucagcAfGfCfaagaauugcuL96	384	asdAsgcdAudTcuugdCuGfcugagccsa	510	GUGGCUCAGCAGCAAGAAUGCU	636
AD-1556710	gscsucagcaGfCfAfagaauugcuguL96	385	asdCsagdCadTucuudGcUfgcugagcscs	511	UGGCUCAGCAGCAAGAAUGCUG	637
AD-1556789	csusggucuaAfCfUfugggaucuguL96	386	asdCsagdAudCccaadGuUfagaccagsg	512	CCUGGUCUAACUUGGGAUCUG	638
AD-1556790	usgsgucuaaCfUfUfgggaucugguL96	387	asdCscadGadTcccadAgUfuagaccasg	513	CCUGGUCUAACUUGGGAUCUGG	639
AD-1556791	gsgsucuaacUfUfGfggaucuggguL96	388	asdCscadAgdAuuccdAaGfuuagaccsas	514	CUGGUCUAACUUGGGAUCUGG	640
AD-1556795	usasacuuggGfAfUfcugggaauuguL96	389	asdCsaudTcdCcgadTcCfcaaguuasg	515	UCUAACUUGGGAUCUGGGAAU	641
AD-1556799	ususgggaucUfGfGfgaauggaaguL96	390	asdCsuudCcdAuuccdCaGfauccaasg	516	ACUUGGGAUCUGGGAAUGGAA	642
AD-1556802	gsgsaucuggGfAfAfuggaagguguL96	391	asdCsacdCudTccaudTcCfcagaucscs	517	UGGGAUCUGGGAAUGGAAGGU	643
AD-1556908	usgsagcucaGfCfUfgccuuugguL96	392	asdCscadAadGggcadGcUfgagcucasc	518	GGUGAGCUCAGCUGCCCUUUGG	644
AD-1556909	gsasgcucagCfUfGfcccuuuggauL96	393	asdTscadAadAgggcdAgCfugagcucsa	519	GUGAGCUCAGCUGCCCUUUGGA	645
AD-1556911	gscsucagcuGfCfCfcuuuggaauuL96	394	asdAsuudCcdAaaggdGcAfgcugagesu	520	GAGCUCAGCUGCCCUUUGGAAU	646
AD-1556915	asgscugcccUfUfUfggaauaaaguL96	395	asdCsuudTadTuccadAaGfggcagcusg	521	UCAGCUGCCCUUUGGAAUAAAG	647
AD-1556917	csusgcccuuUfGfGfaauaaagcuL96	396	asdAsgcdTudTauucdCaAfagggcagscs	522	AGCUGCCCUUUGGAAUAAAGCU	648
AD-1556918	usgsccuuuGfGfAfaauaaagcuguL96	397	asdCsagdCudTuauudCcAfaagggcagsc	523	GCUGCCCUUUGGAAUAAAGCUG	649

**Таблица 4. Немодифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе диРНК против**

## TMPRSS6

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1557376	CGGAGGUGAUGGCGAGGAAGU	650	189-209	ACUUCCTCGCCAUCACCUCCGUC	848	187-209
AD-1557377	GGAGGUGATGGCGAGGAAGCU	651	190-210	AGCUUCCUCGCCATCACCUCCGU	849	188-210
AD-1557396	AAGGCCUGTGAGGACUCCA AU	652	229-249	ATUGGAGUCCUCACAGGCCUUGA	850	227-249
AD-1557398	GGCCUGUGAGGACUCCAAGA U	653	231-251	ATCUUGGAGUCCUCACAGGCCU U	851	229-251
AD-1557399	GCCUGUGAGGACUCCAAGAG U	20	232-252	ACUCUUGGAGUCCTCACAGGCCU	852	230-252
AD-1557400	CCUGUGAGGACUCCAAGAGA U	654	233-253	ATCUCUTGGAGTCCUCACAGGCC	853	231-253
AD-1557401	CUGUGAGGACTCCAAGAGAAU	655	234-254	ATUCUCTUGGAGUCCUCACAGGC	854	232-254
AD-1557437	CUACUCUGGUUUUCCUAGG U	25	328-348	ACCUAGGAAAUACCAGAGUAGC A	151	326-348
AD-1557440	CUCUGGUATUTCCUAGGGU AU	656	331-351	ATACCCTAGGAAATACCAGAGUA	855	329-351
AD-1557441	UCUGGUAUTUCCUAGGGUACU	657	332-352	AGUACCCUAGGAAAUACCAGAG U	155	330-352
AD-1557442	CUGGUAUUTCCUAGGGUACA U	658	333-353	ATGUACCCUAGGAAAUACCAGAG	856	331-353
AD-1557443	UGGUAUUUCCTAGGGUACAA U	659	334-354	ATUGUACCCUAGGAAAUACCAGA	857	332-354
AD-1557444	GGUAUUUCCUAGGGUACAAG U	660	335-355	ACUUGUACCCUAGGAAAUACCA G	858	333-355
AD-1557445	GUAUUUCCTAGGGUACAAGG U	661	336-356	ACCUUGTACCCTAGGAAAUACCA	859	334-356
AD-1557452	CUAGGGUACAAGGCGGAGGU U	662	343-363	AACCUCCGCCUTGTACCCUAGGA	860	341-363

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1557473	AUGGUCAGCCAGGUGUACUCU	663	364-384	AGAGUACACCUGGCUGACCAUCA	861	362-384
AD-1557475	GGUCAGCCAGGUGUACUCAGU	31	366-386	ACUGAGTACACCUGGCUGACCAU	157	364-386
AD-1557476	GUCAGCCAGGTGUACUCAGGU	664	367-387	ACCUGAGUACACCTGGCUGACCA	862	365-387
AD-1557477	UCAGCCAGGUGUACUCAGGCU	665	368-388	AGCCUGAGUACACCUGGCUGACC	863	366-388
AD-1557478	CAGCCAGGTGTACUCAGGCAU	666	369-389	ATGCCUGAGUACACCUGGCUGAC	864	367-389
AD-1557479	AGCCAGGUGUACUCAGGCAGU	32	370-390	ACUGCCTGAGUACACCUGGCUGA	158	368-390
AD-1557509	CUCAAUCGCCACUUCUCCCAU	667	400-420	ATGGGAGAAGUGGCGAUUGAGU A	865	398-420
AD-1557515	CGCCACUUCUCCCAGGAUCUU	668	406-426	AAGAUCCUGGGAGAAGUGGCGA U	866	404-426
AD-1557516	GCCACUUCTCCCAGGAUCUUU	669	407-427	AAAGAUCUGGGAGAAGUGGCG A	159	405-427
AD-1557518	CACUUCUCCCAGGAUCUUACU	670	409-429	AGUAAGAUCUGGGAGAAGUGG C	867	407-429
AD-1557522	UCUCCCAGGATCUUACCCGCU	671	413-433	AGCGGGTAAGATCCUGGGAGAAG	868	411-433
AD-1557523	CUCCCAGGAUCUUACCCGCCU	672	414-434	AGGCGGGUAAGAUCUGGGAGA A	869	412-434
AD-1557524	UCCCAGGATCTUACCCGCCGU	673	415-435	ACGGCGGGUAAGATCCUGGGAG A	870	413-435
AD-1557550	UAGUGCCUTCCGCAGUGAAAU	674	441-461	ATUUCACUGCGGAAGGCACUAGA	871	439-461
AD-1557554	GCCUCCGCAGUGAAACCGCU	36	445-465	AGCGGUTUCACTGCGGAAGGCAC	162	443-465
AD-	CCUCCGCAGTGAAACCGCCU	675	446-466	AGGCGGTUUCACUGCGGAAGGCA	872	444-466

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1557555						
AD-1557556	CUUCCGCAGUGAAACCGCCAU	676	447-467	ATGGCGGUUUCACTGCGGAAGGC	873	445-467
AD-1557559	CCGCAGUGAAACCGCCAAAGU	677	450-470	ACUUUGGCGGUTUCACUGCGGAA	874	448-470
AD-1557560	CGCAGUGAAACCGCCAAAGCU	678	451-471	AGCUUUGGCGGTUTCACUGCGGA	875	449-471
AD-1557561	GCAGUGAAACCGCCAAAGCCU	679	452-472	AGGCUUTGGCGGUTUCACUGCGG	876	450-472
AD-1557562	CAGUGAAACCGCCAAAGCCCU	680	453-473	AGGGCUTUGGCGGTUUCACUGCG	877	451-473
AD-1557563	AGUGAAACCGCCAAAGCCCAU	681	454-474	ATGGGCTUUGGCGGUUUCACUGC	878	452-474
AD-1557571	CGCCAAAGCCCAGAAGAUGCU	682	462-482	AGCAUCTUCUGGGCUUUGGCGGU	879	460-482
AD-1557572	GCCAAAGCCCAGAAGAUGCUU	683	463-483	AAGCAUCUUCUGGGCUUUGGCG G	880	461-483
AD-1557577	AGCCCAGAAGAUGCUCAAGG U	684	468-488	ACCUUGAGCAUCUTCUGGGCUUU	881	466-488
AD-1557606	CAGCACCCGCCUGGGAACUUU	685	498-518	AAAGUUCCCAGGCGGGUGCUGG U	882	496-518
AD-1557607	AGCACCCGCCTGGGAACUUAU	686	499-519	ATAAGUTCCCAGGCGGGUGCUGG	883	497-519
AD-1557629	ACAACUCCAGCUCCGUCUAUU	687	521-541	AAUAGACGGAGCUGGAGUUGUA G	884	519-541
AD-1557630	CAACUCCAGCTCCGUCUAUUU	688	522-542	AAAUAGACGGAGCTGGAGUUGU A	885	520-542
AD-1557639	UCACCUGCTUCUUCUGGUUCU	689	560-580	AGAACCAGAAGAAGCAGGUGAG G	166	558-580
AD-1557640	CACCUGCUTCTUCUGGUUCAU	690	561-581	ATGAACCAGAAGAAGCAGGUGA G	886	559-581



Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1557642	CCUGCUUCTUCUGGUUCAUUU	691	563-583	AAAUGAACCCAGAAGAAGCAGGU G	168	561-583
AD-1557643	CUGCUUCUTCTGGUUCAUUCU	692	564-584	AGAAUGAACCCAGAAGAAGCAGG U	887	562-584
AD-1557644	UGCUCUUCUGGUUCAUUCU U	43	565-585	AAGAAUGAACCCAGAAGAAGCAG G	169	563-585
AD-1557646	CUUCUUCUGGTUCAUUCUCCU	693	567-587	AGGAGAAUGAACCCAGAAGAAGC A	171	565-587
AD-1557647	UUCUUCUGGUTCAUUCUCCA	694	568-588	ATGGAGAAUGAACCCAGAAGAAG C	172	566-588
AD-1557648	UCUUCUGGTUCAUUCUCCAAU	695	569-589	ATUGGAGAAUGAACCCAGAAGAA G	888	567-589
AD-1557649	CUUCUGGUTCAUUCUCCAAA	696	570-590	ATUUGGAGAAUGAACCCAGAAGA A	889	568-590
AD-1557650	UUCUGGUUCATUCUCCAAA	697	571-591	AAUUUGGAGAATGAACCAGAAG A	890	569-591
AD-1557651	UCUGGUUCAUTCUCCAAAUCU	698	572-592	AGAUUUGGAGAAUGAACCCAGAA G	891	570-592
AD-1557652	CUGGUUCATUCUCCAAAUCCU	699	573-593	AGGAUUTGGAGAATGAACCAGA A	892	571-593
AD-1557682	GUGGAGGAGCTGCUGUCCACU	700	643-663	AGUGGACAGCAGCTCCUCCACCA	893	641-663
AD-1557685	GAGGAGCUGCTGUCCACAGUU	701	646-666	AACUGUGGACAGCAGCUCCUCCA	894	644-666
AD-1557689	AGCUGCUGTCCACAGUCAACU	702	650-670	AGUUGACUGUGGACAGCAGCUC C	895	648-670
AD-1557690	GCUGCUGUCCACAGUCAACAU	703	651-671	ATGUUGACUGUGGACAGCAGCUC	896	649-671
AD-1557693	GCUGUCCACAGUCAACAGCUU	704	654-674	AAGCUGTUGACTGTGGACAGCAG	897	652-674
AD-	CUGUCCACAGTCAACAGCUCU	705	655-675	AGAGCUGUUGACUGUGGACAGC	898	653-675

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1557694				A		
AD-1557695	UGUCCACAGUCAACAGCUCGU	706	656-676	ACGAGCTGUUGACTGUGGACAGC	899	654-676
AD-1557708	ACAGGGCCGAGUACGAAGUGU	48	689-709	ACACUUCGUACTCGGCCUCGUAG	900	687-709
AD-1557711	GGGCCGAGTACGAAGUGGACU	707	692-712	AGUCCACUUCGTACUCGGCCUG	901	690-712
AD-1557712	GGCCGAGUACGAAGUGGACC U	708	693-713	AGGUCCACUUCGUACUCGGCCCU	902	691-713
AD-1557726	AUCCUGGAAGCCAGUGUGAA U	709	727-747	ATUCACACUGGCUTCCAGGAUCA	903	725-747
AD-1557727	UCCUGGAAGCCAGUGUGAAA U	710	728-748	ATUUCACACUGGCTUCCAGGAUC	904	726-748
AD-1557728	CCUGGAAGCCAGUGUGAAAG U	711	729-749	ACUUUCACACUGGCUUCCAGGAU	905	727-749
AD-1557729	CUGGAAGCCAGUGUGAAAGA U	712	730-750	ATCUUUCACACTGGCUUCCAGGA	906	728-750
AD-1557730	UGGAAGCCAGTGUGAAAGAC U	713	731-751	AGUCUUTCACACUGGCUUCCAGG	907	729-751
AD-1557731	GGAAGCCAGUGUGAAAGACA U	714	732-752	ATGUCUTUCACACTGGCUUCCAG	908	730-752
AD-1557732	GAAGCCAGTGTGAAAGACA U	715	733-753	AAUGUCTUUCACACUGGCUUCCA	909	731-753
AD-1557733	AAGCCAGUGUGAAAGACA U	716	734-754	ATAUGUCUUUCACACUGGCUUCC	910	732-754
AD-1557734	AGCCAGUGTGAAAGACA U	717	735-755	ACUAUGTCUUUCACACUGGCUUC	911	733-755
AD-1557735	GCCAGUGUGAAAGACA U	718	736-756	AGCUAUGUCUUTCACACUGGCUU	912	734-756
AD-1557736	CCAGUGUGAAAGACA U	50	737-757	AAGCUATGUCUTUCACACUGGCU	913	735-757

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1557738	AGUGUGAAAGACAUAGCUGC U	719	739-759	AGCAGCTAUGUCUTUCACACUGG	914	737-759
AD-1557739	GUGUGAAAGACAUAGCUGCA U	720	740-760	ATGCAGCUAUGTCTUUCACACUG	915	738-760
AD-1557740	UGUGAAAGACAUAGCUGCAU U	721	741-761	AAUGCAGCUAUGUCUUUCACAC U	916	739-761
AD-1557741	GUGAAAGACATAGCUGCAUU U	722	742-762	AAAUGCAGCUATGTCCUUUCACAC	917	740-762
AD-1557758	AUUGAAUCCACGCUGGGUU U	52	759-779	AAACCCAGCGUGGAAUUCAUG C	178	757-779
AD-1557762	AAUCCACGCTGGGUUGUUU U	723	763-783	ATAACAACCCAGCGUGGAAUUC A	181	761-783
AD-1557767	CACGCUGGGUTGUUACCGCU U	724	768-788	AAGCGGTAACAACCCAGCGUGG A	184	766-788
AD-1557768	ACGCUGGGTUGUUACCGCUA U	725	769-789	ATAGCGGUAACAACCCAGCGUG G	918	767-789
AD-1557769	CGCUGGGUTGTUACCGCUAC U	726	770-790	AGUAGCGGUAACAACCCAGCGU G	919	768-790
AD-1557770	GCUGGGUUGUTACCGCUACA U	727	771-791	ATGUAGCGGUAACAACCCAGCGU	920	769-791
AD-1557771	CUGGGUUGTUACCGCUACAG U	728	772-792	ACUGUAGCGGUAACAACCCAGCG	921	770-792
AD-1557772	UGGGUUGUTACCGCUACAGC U	729	773-793	AGCUGUAGCGGTAACAACCCAGC	922	771-793
AD-1557773	GGGUUGUUACCGCUACAGC U	730	774-794	AAGCUGTAGCGGUAACAACCCAG	923	772-794
AD-1557836	CAAACUCCGGCUGGAGUGGA U	731	888-908	ATCCACTCCAGCCGGAGUUUGAG	924	886-908
AD-1557866	GGGACCGACUGGCCAUGUAU U	60	923-943	AAUACATGGCCAGTCGGUCCCGG	925	921-943
AD-	CGACUGGCCATGUAUGACGU U	732	928-948	AACGUCAUACATGGCCAGUCGGU	926	926-948

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1557871						
AD-1557881	CUGGAGAAGAGGCUCAUCACU	733	958-978	AGUGAUGAGCCTCTUCUCCAGGG	927	956-978
AD-1557882	UGGAGAAGAGGCUCAUCACC	734	959-979	AGGUGATGAGCCUCUUCUCCAGG	928	957-979
AD-1557883	GGAGAAGAGGCUCAUCACCU	735	960-980	AAGGUGAUGAGCCTCUUCUCCAG	929	958-980
AD-1557884	GAGAAGAGGCTCAUCACCUCU	736	961-981	AGAGGUGAUGAGCCUCUUCUCC A	930	959-981
AD-1557886	GAAGAGGCTCAUCACCUCGGU	737	963-983	ACCGAGGUGAUGAGCCUCUUCUC	931	961-983
AD-1557890	AGGCUCAUCACCUCGGUGUAU	67	967-987	ATACACCGAGGTGAUGAGCCUCU	193	965-987
AD-1557944	GAAGAAGGGCCUGCACAGCU	738	1053-1073	AAGCUGTGCAGGCCCUUCUCCA	932	1051-1073
AD-1557945	AAGAAGGGCCTGCACAGCUAU	739	1054-1074	ATAGCUGUGCAGGCCCUUCUCC	933	1052-1074
AD-1557948	AAGGGCCUGCACAGCUACU	740	1057-1077	ATAGUAGCUGUGCAGGCCCUUCU	934	1055-1077
AD-1557949	AGGGCCUGCACAGCUACUACU	741	1058-1078	AGUAGUAGCUGTGCAGGCCCUUC	935	1056-1078
AD-1557953	CCUGCACAGCTACUACGACCU	742	1062-1082	AGGUCGTAGUAGCTGUGCAGGCC	936	1060-1082
AD-1558059	CCUCUCUGGACUACGGCUUGU	70	1235-1255	ACAAGCCGUAGTCCAGAGAGGGC	196	1233-1255
AD-1558061	UCUCUGGACUACGGCUUGGCU	71	1237-1257	AGCCAAGCCGUAGTCCAGAGAGG	937	1235-1257
AD-1558065	UGGACUACGGCUUGGCCUCU	743	1241-1261	AGAGGGCCAAGCCGUAGUCCAG A	938	1239-1261
AD-1558066	GGACUACGGCTUGGCCUCUU	744	1242-1262	AAGAGGGCCAAGCCGUAGUCCA G	939	1240-1262

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1558105	GAGGAGGCAGAAGUAUGAUU U	76	1281-1301	AAAUCATACUUCUGCCUCCUCAG	202	1279-1301
AD-1558106	AGGAGGCAGAAGUAUGAUUU U	745	1282-1302	AAAAUCAUACUTCTGCCUCCUCA	940	1280-1302
AD-1558113	AGAAGUAUGATUUGCCGUGC U	746	1289-1309	AGCACGGCAAATCAUACUUCUGC	209	1287-1309
AD-1558114	GAAGUAUGAUTUGCCGUGCA U	747	1290-1310	ATGCACGGCAAUCAUACUUCUG	210	1288-1310
AD-1558115	AAGUAUGATUTGCCGUGCACU	748	1291-1311	AGUGCACGGCAAATCAUACUUCU	941	1289-1311
AD-1558116	AGUAUGAUTUGCCGUGCACCU	749	1292-1312	AGGUGCACGGCAAUCAUACUU C	942	1290-1312
AD-1558117	GUAUGAUUTGCCGUGCACCCU	750	1293-1313	AGGGUGCACGGCAAUCAUACU U	943	1291-1313
AD-1558136	GGCCAGUGGACGAUCCAGAA U	751	1315-1335	ATUCUGGAUCGTCCACUGGCCU	944	1313-1335
AD-1558137	GCCAGUGGACGAUCCAGAACU	752	1316-1336	AGUUCUGGAUCGUCCACUGGCC	945	1314-1336
AD-1558138	CCAGUGGACGAUCCAGAACAU	753	1317-1337	ATGUUCTGGAUCGTCCACUGGCC	946	1315-1337
AD-1558139	CAGUGGACGATCCAGAACAGU	754	1318-1338	ACUGUUCUGGATCGUCCACUGGC	947	1316-1338
AD-1558142	UGGACGAUCCAGAACAGGAG U	755	1321-1341	ACUCCUGUUCUGGAUCGUCCACU	948	1319-1341
AD-1558150	CCAGAACAGGAGGCUGUGUG U	87	1329-1349	ACACACAGCCUCCTGUUCUGGAU	949	1327-1349
AD-1558152	AGAACAGGAGGCUGUGUGGC U	88	1331-1351	AGCCACACAGCCUCCUGUUCUGG	214	1329-1351
AD-1558211	ACUUCACCTCCCAGAUCUCCU	756	1415-1435	AGGAGATCUGGGAGGUGAAGUU G	950	1413-1435
AD-	CACCUCCAGAUCUCCUCAU	757	1419-1439	ATGAGGGAGAUCUGGGAGGUGA	951	1417-1439

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1558215				A		
AD-1558230	UGUGCGGGTGCACUAUGGCUU	758	1449-1469	AAGCCATAGUGCACCCGCACACC	215	1447-1469
AD-1558231	GUGCGGGUGCACUAUGGCUU U	90	1450-1470	AAAGCCAUAUGUGCACCCGCACAC	216	1448-1470
AD-1558232	UGC GGGUGCACUAUGGCUUG U	759	1451-1471	ACAAGCCAUAAGTGCACCCGCACA	952	1449-1471
AD-1558233	GCGGGUGCACTAUGGCUUGUU	760	1452-1472	AACAAGCCAUAUGUGCACCCGCAC	217	1450-1472
AD-1558234	CGGGUGCACUAUGGCUUGUA U	761	1453-1473	ATACAAGCCAUAAGTGCACCCGCA	953	1451-1473
AD-1558235	GGGUGCACTATGGCUUGUACU	762	1454-1474	AGUACAAGCCATAGUGCACCCGC	218	1452-1474
AD-1558236	GGUGCACUAUGGCUUGUACA U	763	1455-1475	ATGUACAAGCCAUAUGUGCACCCG	954	1453-1475
AD-1558238	UGCACUAUGGCUUGUACAAC U	764	1457-1477	AGUUGUACAAGCCAUAUGUGCAC C	955	1455-1477
AD-1558239	GCACUAUGGCTUGUACAACCU	765	1458-1478	AGGUUGTACAAGCCAUAUGUGCAC	956	1456-1478
AD-1558249	CUGCCCUGGAGAGUUCCUCUU	95	1488-1508	AAGAGGAACUCTCCAGGGCAGGG	221	1486-1508
AD-1558250	UGCCUGGAGAGUUCCUCUGU	766	1489-1509	ACAGAGGAACUCUCCAGGGCAG G	957	1487-1509
AD-1558288	AACGGCCUGGAUGAGAGAAA U	767	1561-1581	ATUUCUCUCAUCCAGGCCGUUG	958	1559-1581
AD-1558289	ACGGCCUGGATGAGAGAAACU	768	1562-1582	AGUUUCTCUCATCCAGGCCGUUG	959	1560-1582
AD-1558290	CGGCCUGGAUGAGAGAAACU U	769	1563-1583	AAGUUUCUCUCAUCCAGGCCGUU	960	1561-1583
AD-1558292	GCCUGGAUGAGAGAAACUGC U	96	1565-1585	AGCAGUTUCUCTCAUCCAGGCCG	222	1563-1585

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1558293	CCUGGAUGAGAGAAACUGCGU	770	1566-1586	ACGCAGTUUCUCUCAUCCAGGCC	961	1564-1586
AD-1558301	AGAGAAACTGCGUUUGCAGAU	771	1574-1594	ATCUGCAAACGCAGUUUCUCUCA	962	1572-1594
AD-1558302	GAGAAACUGCGUUUGCAGAGU	772	1575-1595	ACUCUGCAAACGCAGUUUCUCUC	963	1573-1595
AD-1558308	CUGCGUUUGCAGAGCCACAUAU	773	1581-1601	AAUGUGGCUCUGCAAACGCAGU U	964	1579-1601
AD-1558309	UGCGUUUGCAGAGCCACAUAU U	774	1582-1602	AAAUGUGGCUCTGCAAACGCAGU	965	1580-1602
AD-1558310	GCGUUUGCAGAGCCACAUAUCU	775	1583-1603	AGAAUGTGGCUCUGCAAACGCAG	966	1581-1603
AD-1558311	CGUUUGCAGAGCCACAUAUCCU	776	1584-1604	AGGAAUGUGGCTCTGCAAACGCA	967	1582-1604
AD-1558316	GCAGAGCCACAUCCAGUGCU	777	1589-1609	AGCACUGGAAUGUGGCUCUGCA A	968	1587-1609
AD-1558419	UGGGACAUTCACCUUCCAGUU	778	1710-1730	AACUGGAAGGUGAAUGUCCCAC A	228	1708-1730
AD-1558420	GGGACAUUCACCUUCCAGUGU	779	1711-1731	ACACUGGAAGGTGAAUGUCCCAC	969	1709-1731
AD-1558421	GGACAUUCACCUUCCAGUGUU	103	1712-1732	AACACUGGAAGGUGAAUGUCCC A	229	1710-1732
AD-1558423	ACAUUCACCUUCCAGUGUGAU	780	1714-1734	ATCACACUGGAAGGUGAAUGUCC	231	1712-1734
AD-1558449	GAGCUGCGTGAAGAAGCCCAU	781	1740-1760	ATGGGCTUCUUCACGCAGCUCCG	970	1738-1760
AD-1558450	AGCUGCGUGAAGAAGCCCAA U	782	1741-1761	ATUGGGCUUCUTCACGCAGCUCC	971	1739-1761
AD-1558451	GCUGCGUGAAGAAGCCCAACU	783	1742-1762	AGUUGGGCUUCTUCACGCAGCUC	972	1740-1762
AD-	CUGCGUGAAGAAGCCCAACCU	784	1743-1763	AGGUUGGGCUUCUTCACGCAGCU	973	1741-1763

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1558452						
AD-1558453	UGCGUGAAGAAGCCCAACCCU	785	1744-1764	AGGGUUGGGCUTCTUCACGCAGC	974	1742-1764
AD-1558508	AGCACUGUGACUGUGGCCUCU	786	1808-1828	AGAGGCCACAGTCACAGUGCUC	975	1806-1828
AD-1558546	CUCCGAGGGUGAGUGGCCAU U	787	1866-1886	AAUGGCCACUCACCCUCGGAGGA	976	1864-1886
AD-1558576	AUCGCUGACCGCUGGGUGAU U	107	1936-1956	AAUCACCCAGCGGTCAGCGAUGA	977	1934-1956
AD-1558577	UCGCUGACCGCUGGGUGAUA U	788	1937-1957	ATAUCACCCAGCGGUCAGCGAUG	978	1935-1957
AD-1558578	CGCUGACCGCTGGGUGAUAAU	789	1938-1958	ATUAUCACCCAGCGGUCAGCGAU	979	1936-1958
AD-1558579	GCUGACCGCUGGGUGAUAAU U	790	1939-1959	AGUUAUCACCCAGCGGUCAGCGA	980	1937-1959
AD-1558586	GCUGGGUGAUAAUACAGCUGCC U	791	1946-1966	AGGCAGCUGUUAUCACCCAGCGG	981	1944-1966
AD-1558609	UGCUUCCAGGAGGACAGCAU U	792	1969-1989	AAUGCUGUCCUCCTGGAAGCAGU	982	1967-1989
AD-1558610	GCUUCCAGGAGGACAGCAUG U	793	1970-1990	ACAUGCTGUCCTCCUGGAAGCAG	983	1968-1990
AD-1558611	CUUCCAGGAGGACAGCAUGG U	794	1971-1991	ACCAUGCUGUCCUCCUGGAAGCA	984	1969-1991
AD-1558650	CGUGUUCCTGGGCAAGGUGUU	795	2010-2030	AACACCTUGCCCAGGAACACGGU	235	2008-2030
AD-1558657	CUGGGCAAGGTGUGGCAGAA U	796	2017-2037	ATUCUGCCACACCTUGCCCAGGA	985	2015-2037
AD-1558658	UGGGCAAGGUGUGGCAGAAC U	797	2018-2038	AGUUCUGCCACACCUUGCCCAGG	986	2016-2038
AD-1558659	GGGCAAGGTGTGGCAGAACUU	798	2019-2039	AAGUUCTGCCACACCUUGCCCAG	987	2017-2039



Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1558660	GGCAAGGUGUGGCAGAACUCU	799	2020-2040	AGAGUUCUGCCACACCUUGCCCA	988	2018-2040
AD-1558661	GCAAGGUGTGCCAGAACUCGU	800	2021-2041	ACGAGUTCUGCCACACCUUGCCC	237	2019-2041
AD-1558662	CAAGGUGUGGCAGAACUCGCU	801	2022-2042	AGCGAGTUCUGCCACACCUUGCC	989	2020-2042
AD-1558683	UGGCCUGGAGAGGUGUCCUU	802	2044-2064	AAAGGACACCUCUCCAGGCCAGC	990	2042-2064
AD-1558684	GGCCUGGAGAGGUGUCCUUCU	803	2045-2065	AGAAGGACACCTCTCCAGGCCAG	991	2043-2065
AD-1558685	GCCUGGAGAGGUGUCCUUCAU	804	2046-2066	ATGAAGGACACCUCUCCAGGCCA	992	2044-2066
AD-1558686	CCUGGAGAGGTGUCCUUCAAU	805	2047-2067	ATUGAAGGACACCTCUCCAGGCC	993	2045-2067
AD-1558687	CUGGAGAGGUGUCCUUCAAGU	113	2048-2068	ACUUGAAGGACACCUCUCCAGGC	239	2046-2068
AD-1558691	AGAGGUGUCCTUCAAGGUGAU	806	2052-2072	ATCACCTUGAAGGACACCUCUCC	242	2050-2072
AD-1558833	UGUGCAGUTGAUCCCACAGGU	807	2289-2309	ACCUGUGGGAUCAACUGCACAUC	994	2287-2309
AD-1558835	UGCAGUUGAUCCCACAGGACU	808	2291-2311	AGUCCUGUGGGAUCAACUGCAC A	995	2289-2311
AD-1558843	AUCCCACAGGACCUGUGCAGU	117	2299-2319	ACUGCACAGGUCCTGUGGGAUCA	996	2297-2319
AD-1558845	CCCACAGGACCUGUGCAGCGU	809	2301-2321	ACGCUGCACAGGUCCUGUGGGA U	997	2299-2321
AD-1558846	CCACAGGACCTGUGCAGCGAU	810	2302-2322	ATCGCUGCACAGGTCCUGUGGGA	998	2300-2322
AD-1558878	CCAGGUGACGCCACGCAUGCU	811	2334-2354	AGCAUGCGUGGCGTCACCUGGUA	999	2332-2354
AD-	GUGACGCCACGCAUGCUGUGU	812	2338-2358	ACACAGCAUGCGUGGCGUCACCU	1000	2336-2358

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1558882						
AD-1558883	UGACGCCACGCAUGCUGUGUU	118	2339-2359	AACACAGCAUGC GTGGCGUCACC	1001	2337-2359
AD-1558885	ACGCCACGCATGCUGUGUGCU	813	2341-2361	AGCACACAGCATGCGUGGCGUCA	1002	2339-2361
AD-1558905	GGCUACCGCAAGGGCAAGAAU	814	2362-2382	ATUCUUGCC CUTGCGGUAGCCGG	1003	2360-2382
AD-1558906	GCUACCGCAAGGGCAAGAAGU	120	2363-2383	ACUUCUTGCCCTUGCGGUAGCCG	246	2361-2383
AD-1558907	CUACCGCAAGGGCAAGAAGGU	121	2364-2384	ACCUUCTUGCC CUTGCGGUAGCC	1004	2362-2384
AD-1558961	GUGCAAGGCACUCAGUGGCCU	815	2418-2438	AGGCCACUGAGTGCCUUGCACAC	1005	2416-2438
AD-1558992	CUAACUACTUCGGCGUCUACU	816	2486-2506	AGUAGACGCCGAAGUAGUUAGGC	1006	2484-2506
AD-1558995	ACUACUUCGGCGUCUACACCU	817	2489-2509	AGGUGUAGACGCCGAAGUAGUU	1007	2487-2509
AD-1558996	CUACUUCGGCGUCUACACCCU	818	2490-2510	AGGGUGTAGACGCCGAAGUAGUU	1008	2488-2510
AD-1559004	GCGUCUACACCCGCAUCACAU	819	2498-2518	ATGUGATGCGGGUGUAGACGCCG	1009	2496-2518
AD-1559005	CGUCUACACCCGCAUCACAGU	820	2499-2519	ACUGUGAUGC GGGTGUAGACGCC	1010	2497-2519
AD-1559008	CUACACCCGCAUCACAGGUGU	124	2502-2522	ACACCUGUGAUGC GGGUGUAGA	250	2500-2522
AD-1559012	ACCCGCAUCACAGGUGUGAUU	821	2506-2526	AAUCACACCU GTGAUGC GGGUGU	1011	2504-2526
AD-1559013	CCCGCAUCACAGGUGUGAUCU	822	2507-2527	AGAUCACACCU GUGAUGC GGGU	1012	2505-2527
AD-1559036	UGGAUCCAGCAAGUGGUGACU	823	2530-2550	AGUCACCACUUGCTGGAUCCAGC	1013	2528-2550

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
AD-1559038	GAUCCAGCAAGUGGUGACCU U	824	2532-2552	AAGGUCACCACTUGCUGGAUCCA	1014	2530-2552
AD-1559039	AUCCAGCAAGTGGUGACCUGU	825	2533-2553	ACAGGUCACCACUTGCUGGAUCC	1015	2531-2553
AD-1559041	CCAGCAAGTGGUGACCUGAGU	826	2535-2555	ACUCAGGUCACCACUUGCUGGAU	1016	2533-2555
AD-1559042	CAGCAAGUGGTGACCUGAGGU	827	2536-2556	ACCUCAGGUCACCACUUGCUGGA	1017	2534-2556
AD-1559044	GCAAGUGGTGACCUGAGGAA U	828	2538-2558	ATUCCUCAGGUCACCACUUGCUG	1018	2536-2558
AD-1559105	UGGUGGCAGGAGGUGGCAUC U	829	2667-2687	AGAUGCCACCUCCTGCCACCACA	1019	2665-2687
AD-1559106	GGUGGCAGGAGGUGGCAUCU U	830	2668-2688	AAGAUGCCACCTCCUGCCACCAC	1020	2666-2688
AD-1559107	GUGGCAGGAGGUGGCAUCUU U	831	2669-2689	AAAGAUGCCACCUCUGCCACCA	1021	2667-2689
AD-1559109	GGCAGGAGGUGGCAUCUUGU U	127	2671-2691	AACAAGAUGCCACCUCUGCCAC	253	2669-2691
AD-1559133	UCCUGAUGUCUGCUCCAGUU	832	2695-2715	AACUGGAGCAGACAUCAGGGAC G	1022	2693-2715
AD-1559136	CUGAUGUCTGCUCCAGUGAUU	833	2698-2718	AAUACTGGAGCAGACAUCAGGG	1023	2696-2718
AD-1559147	UCCAGUGATGGCAGGAGGAU U	834	2709-2729	AAUCCUCUGCCATCACUGGAGC	1024	2707-2729
AD-1559233	GGCUCAGCAGCAAGAAUGCU U	132	2853-2873	AAGCAUTCUUGCUGCUGAGCCAC	258	2851-2873
AD-1559318	CUAACUUGGGAUCUGGGAAU U	835	2978-2998	AAUUCCCAGAUCCCAAGUUAGAC	1025	2976-2998
AD-1559323	UUGGGAUCTGGGAAUGGAAG U	836	2983-3003	ACUCCAUCUCCAGAUCCCAAGU	264	2981-3003
AD-	GUGAGCUCAGCUGCCCUUGU	837	3157-3177	ACAAAGGGCAGCUGAGCUCACCU	1026	3155-3177

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO:	Диапазон в NM_153609.4
1559431						
AD-1559436	CUCAGCUGCCCUUUGGAAUUAU	838	3162-3182	ATAUUCCAAAGGGCAGCUGAGCU	1027	3160-3182
AD-1559437	UCAGCUGCCCTUUGGAAUAAU	839	3163-3183	ATUAUUCCAAAGGGCAGCUGAGC	1028	3161-3183
AD-1559438	CAGCUGCCCUTUGGAAUAAAU	840	3164-3184	ATUUAUTCCAAAGGGCAGCUGAG	1029	3162-3184
AD-1559441	CUGCCCUUTGGAAUAAAGCUU	841	3167-3187	AAGCUUTAUUCCAAAGGGCAGCU	1030	3165-3187
AD-1559443	GCCCUUUGGAAUAAAGCUGC U	842	3169-3189	AGCAGCTUUAUTCCAAAGGGCAG	1031	3167-3189
AD-1559444	CCCUUUGGAATAAAGCUGCCU	843	3170-3190	AGGCAGCUUUATUCCAAAGGGCA	1032	3168-3190
AD-1559445	CCUUUGGAAUAAAGCUGCCU U	844	3171-3191	AAGGCAGCUUUAUTCCAAAGGGC	1033	3169-3191
AD-1559447	UUUGGAAUAAAGCUGCCUGA U	845	3173-3193	ATCAGGCAGCUTUAUUCCAAAGG	1034	3171-3193
AD-1559448	UUGGAAUAAAGCUGCCUGAU U	846	3174-3194	AAUCAGGCAGCTUTAUUCCAAAG	1035	3172-3194
AD-1559449	UGGAAUAAAGCUGCCUGAUC U	847	3175-3195	AGAUCAGGCAGCUTUAUUCCAA	1036	3173-3195

**Таблица 5. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе дцРНК против TMPRSS6**

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
AD-1557376	csgsgaggugdAudGgcg aggaaguL96	1037	asdCsuucc(Tgn)cgcdAu dCaccuccgsusc	1264	GACGGAGGUGAUGGCGAGGAAGC	1491
AD-1557377	gsgsaggugadTgdGcga	1038	asdGscuuc(C2p)ucgcdCa	1265	ACGGAGGUGAUGGCGAGGAAGCG	1492

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	ggaagcuL96		dTcaccuccsgsu			
AD-1557396	asasggccugdTgdAggacuccaauL96	1039	asdTsugga(G2p)uccudCadCaggccuusgsa	1266	UCAAGGCCUGUGAGGACUCCAAG	1493
AD-1557398	gsgscugugdAgdGacuccaagauL96	1040	asdTscuug(G2p)agucdCudCacaggccsusu	1267	AAGGCCUGUGAGGACUCCAAGAG	1494
AD-1557399	gscscugugdGgdAcuccaagaguL96	1041	asdCsucuu(G2p)gagudCcdTcacaggcscsu	1268	AGGCCUGUGAGGACUCCAAGAGA	524
AD-1557400	cscsugugdGadCuccaagagauL96	1042	asdTscucu(Tgn)ggagdTcdCucacaggscsc	1269	GGCCUGUGAGGACUCCAAGAGAA	1495
AD-1557401	csusgugaggdAcdTccagagaauL96	1043	asdTsucuc(Tgn)uggadGudCucacagsgsc	1270	GCCUGUGAGGACUCCAAGAGAAA	1496
AD-1557437	csusacucugdGudAuuuccuagguL96	1044	asdCscuag(G2p)aaudAcdCagaguagscsa	1271	UGCUCUCUGGUAUUUCCUAGGG	529
AD-1557440	csuscugguadTudTccuagguauL96	1045	asdTsacc(Tgn)aggadAadTaccagagsusa	1272	UACUCUGGUAUUUCCUAGGGUAC	532
AD-1557441	uscugguaudTudCcuagguacuL96	1046	asdGsuacc(C2p)uaggdAadAuaccagasgsu	1273	ACUCUGGUAUUUCCUAGGGUACA	533
AD-1557442	csusgguauudTcdCuagguacauL96	1047	asdTsguac(C2p)cuagdGadAauaccagsasg	1274	CUCUGGUAUUUCCUAGGGUACAA	1497
AD-1557443	usgsguauudCcdTagguacaauL96	1048	asdTsugua(C2p)ccuadGgdAauaccagsa	1275	UCUGGUAUUUCCUAGGGUACAAG	1498
AD-1557444	gsgsuauuudCudAgguacaaguL96	1049	asdCsuuu(G2p)ccudAagdGaaauaccsasg	1276	CUGGUAUUUCCUAGGGUACAAGG	1499
AD-1557445	gsusauuuccdTadGgguacaagguL96	1050	asdCscuug(Tgn)accdTadGgaaauacscsa	1277	UGGUAUUUCCUAGGGUACAAGGC	1500
AD-1557452	csusagguadCadAggaggagguL96	1051	asdAsccuc(C2p)gccudTgdTaccuagsgsa	1278	UCCUAGGGUACAAGGCGGAGGUG	1501
AD-1557473	asusggucagdCcdAgguacuL96	1052	asdGsagua(C2p)accudGgdCugaccauscsa	1279	UGAUGGUCAGCCAGGUGUACUCA	1502
AD-1557475	gsgsucagccdAgdGugu	1053	asdCsugag(Tgn)acacdCu	1280	AUGGUCAGCCAGGUGUACUCAGG	535

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	acucaguL96		dGgcugaccsas			
AD-1557476	gsuscagccadGgdTgua cucagguL96	1054	asdCscuga(G2p)uacadC dTggcugacscsa	1281	UGGUCAGCCAGGUGUACUCAGGC	1503
AD-1557477	uscagccagdGudGuac ucagguL96	1055	asdGscug(Agn)guacdA cdCuggcugascsc	1282	GGUCAGCCAGGUGUACUCAGGCA	1504
AD-1557478	csasgccaggdTgdTacuc aggcauL96	1056	asdTsgccu(G2p)aguadCa dCuggcugsasc	1283	GUCAGCCAGGUGUACUCAGGCAG	1505
AD-1557479	asgscaggudGudAcuc aggcaguL96	1057	asdCsugcc(Tgn)gagudAc dAccuggcusgsa	1284	UCAGCCAGGUGUACUCAGGCAGU	536
AD-1557509	csuscaaucgdCcdAcuu cuccauL96	1058	asdTsggga(G2p)aagudG gdCgauugagsusa	1285	UACUCAAUCGCCACUUCUCCCAG	1506
AD-1557515	esgscacuudCudCccag gaucuL96	1059	asdAsgauc(C2p)ugggdA gdAaguggcgsasu	1286	AUCGCCACUUCUCCCAGGAUCUU	1507
AD-1557516	gscscacuudTcdCcagg aucuuL96	1060	asdAsagau(C2p)cuggdG adGaaguggcgsa	1287	UCGCCACUUCUCCCAGGAUCUUA	537
AD-1557518	csascuucudCcdAgga ucuuacuL96	1061	asdGsuaag(Agn)uccudG gdGagaagugsgsc	1288	GCCACUUCUCCCAGGAUCUUACC	1508
AD-1557522	uscsuccagdGadTcuua cccguL96	1062	asdGscggg(Tgn)aagadTc dCugggagasasg	1289	CUUCUCCCAGGAUCUUACCCGCC	1509
AD-1557523	csuscccaggdAudCuua cccguL96	1063	asdGsgcgg(G2p)uaagdA udCugggagsasa	1290	UUCUCCCAGGAUCUUACCCGCCG	1510
AD-1557524	uscscaggadTcdTuacc cgccguL96	1064	asdCsgcgg(G2p)guaadG adTccugggagsa	1291	UCUCCCAGGAUCUUACCCGCCGG	539
AD-1557550	usasgugccudTcdCgca gugaaauL96	1065	asdTsuuca(C2p)ugcgdGa dAggcacuasgsa	1292	UCUAGUGCCUCCGCAGUGAAAC	1511
AD-1557554	gscscuuccgdCadGuga aacgcuL96	1066	asdGscggu(Tgn)ucacdTg dCggaaggcsasc	1293	GUGCCUCCGCAGUGAAACCGCC	540
AD-1557555	cscsuuccgdAgdTgaaa ccgcuL96	1067	asdGsgcgg(Tgn)uucadCu dGcgaaggscsa	1294	UGCCUCCGCAGUGAAACCGCCA	1512
AD-1557556	csusccgcadGudGaaa	1068	asdTsgcgg(G2p)uuucdA	1295	GCCUCCGCAGUGAAACCGCCAA	1513

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	ccgccauL96		cdTgcggaagsgsc			
AD-1557559	cscsgcagugdAadAccg cсааагуL96	1069	asdCsuuug(G2p)cggudT udCacugcggsasa	1296	UCCGCAGUGAAACCGCCAAAGC	1514
AD-1557560	csgscagugadAadCcg caagcuL96	1070	asdGscuuu(G2p)gcggdT udTcacugcgsgsa	1297	UCCGCAGUGAAACCGCCAAAGCC	1515
AD-1557561	gscsagugaadAcdCg caagccuL96	1071	asdGsgcuu(Tgn)ggcgdT udTucacugcsgsg	1298	CCGCAGUGAAACCGCCAAAGCCC	1516
AD-1557562	csasgugaaadCcdGc caagccuL96	1072	asdGsggcu(Tgn)uggcdG gdTuucacugscsg	1299	CGCAGUGAAACCGCCAAAGCCCA	1517
AD-1557563	asgsugaaacdCgdC caagccuL96	1073	asdTsgggc(Tgn)uuggdT gdGuuucacugsc	1300	GCAGUGAAACCGCCAAAGCCCAG	1518
AD-1557571	csgscaaagdCcdCag aagcuL96	1074	asdGsauc(Tgn)ucugdG gdCuuuggcsgsu	1301	ACCGCCAAAGCCCAGAAGAUGCU	1519
AD-1557572	gscscaaagdCcdAga augcuL96	1075	asdAsgcau(C2p)uucdT gdGcuuuggcsgsg	1302	CCGCCAAAGCCCAGAAGAUGCUC	1520
AD-1557577	asgscccagadAgdAug ucaagguL96	1076	asdCscuug(Agn)gcaudC udTcugggacusuu	1303	AAAGCCCAGAAGAUGCUCUAAGGA	1521
AD-1557606	csasgcacccdGcdC ggaacuuL96	1077	asdAsagu(C2p)ccagdT gdGggugcugsgsu	1304	ACCAGCACCCGCCUGGGAACUUA	1522
AD-1557607	asgsacccgdCcdTg ggaacuuL96	1078	asdTsaagu(Tgn)ccadG gdCgggugcugsgsg	1305	CCAGCACCCGCCUGGGAACUUA	1523
AD-1557629	ascsaacuccdAgdC uccgucuuL96	1079	asdAsuaga(C2p)ggagdT udGgaguugusag	1306	CUACAACUCCAGCUCGUCUAUU	1524
AD-1557630	csasacuccadGcdT ccgucuuL96	1080	asdAsauag(Agn)cggadG cdTggaguugsusa	1307	UACAACUCCAGCUCGUCUAUUC	541
AD-1557639	uscaccugcdTudCu ucugguL96	1081	asdGsaacc(Agn)gaagdT udGcaggugasgsg	1308	CCUCACCUGCUUCUUCUGGUUCA	544
AD-1557640	csascugcdTcdTuc gucuuL96	1082	asdTsgaac(C2p)agaadG dAgcaggugasgsg	1309	CUCACCUGCUUCUUCUGGUUCAU	1525
AD-1557642	cscsugcuucdTudC ugguL96	1083	asdAsauga(Agn)ccagdT Aa	1310	CACCUGCUUCUUCUGGUUCAUUC	546

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	uucauuuL96		dGaagcaggsusg			
AD-1557643	csusgcuucudTcdTgguucauuuL96	1084	asdGsaaug(Agn)accadGadAgaagcagsgsu	1311	ACCUGCUUCUUCUGGUUCAUUCU	1526
AD-1557644	usgscuuuudCudGguucauuuL96	1085	asdAsgaau(G2p)aaccdAgdAgaagcasgsg	1312	CCUGCUUCUUCUGGUUCAUUCUC	547
AD-1557646	csusucuucudGgdTucauucuccuL96	1086	asdGsgaga(Agn)ugaadCcdAgaagaagscsa	1313	UGCUCUUCUGGUUCAUUCUCCA	549
AD-1557647	ususcuucugdGudTcauucuccauL96	1087	asdTsggag(Agn)augadAcCdCagaagaasgsc	1314	GCUUCUUCUGGUUCAUUCUCCAA	550
AD-1557648	uscsuucuggdTudCauucuccaauL96	1088	asdTsugga(G2p)aaugdAadCcagaagasag	1315	CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCAAA	1527
AD-1557649	csusucuggudTcdAuucuccaaauL96	1089	asdTsuugg(Agn)gaudGadAccagaagsasa	1316	UUCUUCUGGUUCAUUCUCCAAAU	1528
AD-1557650	ususcugguudCadTucuccaaauuL96	1090	asdAsuuug(G2p)agaadTgdAaccagaasgsa	1317	UCUUCUGGUUCAUUCUCCAAAUC	1529
AD-1557651	uscsugguucdAudTcuccaaauL96	1091	asdGsauuu(G2p)gagadAudGaaccagasag	1318	CUUCUGGUUCAUUCUCCAAAUCC	1530
AD-1557652	csusgguucadTudCuccaaauL96	1092	asdGsgauu(Tgn)ggagdAdTgaaccagsasa	1319	UUCUGGUUCAUUCUCCAAAUCCC	551
AD-1557682	gsusggaggadGcdTgcu guccacuL96	1093	asdGsugga(C2p)agcadGcdTccuccacscsa	1320	UGGUGGAGGAGCUGCUGUCCACA	1531
AD-1557685	gsasggagcudGcdTgucacaguuL96	1094	asdAscugu(G2p)gacadGcdAgcuccucscsa	1321	UGGAGGAGCUGCUGUCCACAGUC	1532
AD-1557689	asgscugcugdTcdCacag ucaacuL96	1095	asdGsuuga(C2p)ugugdGadCagcagcuscsc	1322	GGAGCUGCUGUCCACAGUCAACA	1533
AD-1557690	gscsugcugudCcdAcag ucaacuL96	1096	asdTsguug(Agn)cugudGgdAcagcagcsusc	1323	GAGCUGCUGUCCACAGUCAACAG	1534
AD-1557693	gcsuguccadCadGucaacagcuuL96	1097	asdAsgcug(Tgn)ugacdTgdTggacagcsasg	1324	CUGCUGUCCACAGUCAACAGCUC	1535
AD-1557694	csusguccacdAgdTcaac	1098	asdGsagcu(G2p)uugadC	1325	UGCUGUCCACAGUCAACAGCUCG	1536



Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	agcucuL96		udGuggacagscsa			
AD-1557695	usgsuccacadGudCaacagcucguL96	1099	asdCsgagc(Tgn)guugdAc dTguggacasgsc	1326	GCUGUCCACAGUCAACAGCUCGG	1537
AD-1557708	asc sagggcc dGadGuac gaaguguL96	1100	asdCsacuu(C2p)guacdTc dGgcccugusag	1327	CUACAGGGCCGAGUACGAAGUGG	552
AD-1557711	gsgsgccgagdTadCgaaguggacuL96	1101	asdGsucca(C2p)uucgdTadCucggcccsusg	1328	CAGGGCCGAGUACGAAGUGGACC	1538
AD-1557712	gsgscgagudAc dGaauggaccuL96	1102	asdGsgucc(Agn)cuuc dGudAcucggcccsu	1329	AGGGCCGAGUACGAAGUGGACCC	1539
AD-1557726	asuscuggadAgdCcagugugaauL96	1103	asdTsucac(Agn)cugg dCu dTccaggauscsa	1330	UGAUCCUGGAAGCCAGUGUGAAA	1540
AD-1557727	uscscuggaadGcdCagugugaaauL96	1104	asdTsuuca(C2p)acugdGcdTuccaggasusc	1331	GAUCCUGGAAGCCAGUGUGAAAG	1541
AD-1557728	cscsuggaagdCcdAgugugaaaguL96	1105	asdCsuuuc(Agn)cacudGgdCuuccaggsasu	1332	AUCCUGGAAGCCAGUGUGAAAGA	1542
AD-1557729	csusggaagcdCadGugugaaagauL96	1106	asdTscuuu(C2p)acacdTgdGcuuccagsgsa	1333	UCCUGGAAGCCAGUGUGAAAGAC	1543
AD-1557730	usgsaagccdAgdTgugaagacuL96	1107	asdGsucuu(Tgn)cacadCu dGgcuuccasgsg	1334	CCUGGAAGCCAGUGUGAAAGACA	1544
AD-1557731	gsgsaagccadGudGugaagacauL96	1108	asdTsgucu(Tgn)ucacdAc dTggcuuccsasg	1335	CUGGAAGCCAGUGUGAAAGACAU	1545
AD-1557732	gsasagccagdTgdTgaagacauL96	1109	asdAsuguc(Tgn)uucadCadCuggcuuccsa	1336	UGGAAGCCAGUGUGAAAGACAU	1546
AD-1557733	asagccagudGudGaaagacauauL96	1110	asdTsaugu(C2p)uuuc dAc dAcuggcuuscsc	1337	GGAAGCCAGUGUGAAAGACAUAG	1547
AD-1557734	asgscagugdTgdAaagacauaguL96	1111	asdCsuau(Tgn)cuuudCadCacuggcususc	1338	GAAGCCAGUGUGAAAGACAUAGC	1548
AD-1557735	gscscagugudGadAagaacauagcuL96	1112	asdGscuau(G2p)uc uudTcdAcacuggcsusu	1339	AAGCCAGUGUGAAAGACAUAGCU	1549
AD-1557736	cscsagugugdAadAgac	1113	asdAsgcua(Tgn)gucudTu	1340	AGCCAGUGUGAAAGACAUAGCUG	554

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	auagcuuL96		dCacacuggscsu			
AD-1557738	asgsugugaadAgdAcauagcugcuL96	1114	asdGscagc(Tgn)augudCudTucacacusgsg	1341	CCAGUGUGAAAGACAUAGCUGCA	1550
AD-1557739	gsusgugaaadGadCauaagcugcauL96	1115	asdTsgcag(C2p)uaugdTcdTuucacacsusg	1342	CAGUGUGAAAGACAUAGCUGCAU	1551
AD-1557740	usgsugaagadAcdAuagcugcauuL96	1116	asdAsugca(G2p)cuaudGudCuuucacascsu	1343	AGUGUGAAAGACAUAGCUGCAUU	1552
AD-1557741	gsusgaaagadCadTagcugcauuuL96	1117	asdAsaugc(Agn)gcuadTgdTcuuucacsasc	1344	GUGUGAAAGACAUAGCUGCAUUG	1553
AD-1557758	asusugaauudCcdAcgcuuggguuuL96	1118	asdAsacc(Agn)gcuadGgdAuuucaausgsc	1345	GCAUUGAAUUCACGCUGGGUUG	556
AD-1557762	asasuuccacdGcdTggguuuuauL96	1119	asdTsaaca(Agn)cccadGcdGuggaauuscsa	1346	UGAAUUCACGCUGGGUUGUAC	559
AD-1557767	csascgcuggdGudTguuaccgcuuL96	1120	asdAsgcgg(Tgn)aacadAcdCcagcgugsgsa	1347	UCCACGCUGGGUUGUUACCGCUA	562
AD-1557768	ascsgcugggdTudGuuaccgcuauL96	1121	asdTsagcg(G2p)uaacdAadCccagcgusgsg	1348	CCACGCUGGGUUGUUACCGCUAC	1554
AD-1557769	csgscugggdTgdTuaccgcuacuL96	1122	asdGsuagc(G2p)guaadCadAccagcgsusg	1349	CACGCUGGGUUGUUACCGCUACA	1555
AD-1557770	gscsuggguudGudTaccgcuacauL96	1123	asdTsguag(C2p)gguadAcdAaccagcgsu	1350	ACGCUGGGUUGUUACCGCUACAG	1556
AD-1557771	csusggguugdTudAccgcuacaguL96	1124	asdCsugua(G2p)cggudAadCaaccagcsg	1351	CGCUGGGUUGUUACCGCUACAGC	563
AD-1557772	usgsnguugdTadCcgcuacagcuL96	1125	asdGscugu(Agn)gcggdTadAcaaccasgsc	1352	GCUGGGUUGUUACCGCUACAGCU	1557
AD-1557773	gsgsguugudAcdCgcuacagcuL96	1126	asdAsgcug(Tgn)agcgdGudAcaaccsasg	1353	CUGGGUUGUUACCGCUACAGCUA	1558
AD-1557836	csasaacuccdGgdCuggaguggauL96	1127	asdTscac(Tgn)ccagdCcdGgaguuugsasg	1354	CUCAAACUCCGGCUGGAGUGGAC	1559
AD-1557866	gsgsgaccgadCudGgcc	1128	asdAsuaca(Tgn)ggccdAg	1355	CCGGGACCGACUGGCCAUGUAUG	564

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	auguaauL96		dTcggucccsgsg			
AD-1557871	csgsacuggcdCadTguaugacguuL96	1129	asdAscguc(Agn)uacadTgdGccagucgsgsu	1356	ACCGACUGGCCAUGUAUGACGUG	1560
AD-1557881	csusggagaadGadGgcucaucacuL96	1130	asdGsugau(G2p)agccdTcdTucuccagsgsg	1357	CCCUGGAGAAGAGGCCUCAUCACC	1561
AD-1557882	usgsgagaagdAgdGcucaucaccuL96	1131	asdGsguga(Tgn)gagcdCudCuuccasgsg	1358	CCUGGAGAAGAGGCCUCAUCACCU	1562
AD-1557883	gsgsagaagadGgdCucaucaccuuL96	1132	asdAsggug(Agn)ugagdCcdTcuuccsasg	1359	CUGGAGAAGAGGCCUCAUCACCUC	1563
AD-1557884	gsasgaagagdGcdTcaucaccucuL96	1133	asdGsaggu(G2p)augadGcdCucuucscsa	1360	UGGAGAAGAGGCCUCAUCACCUCG	1564
AD-1557886	gsasagaggcdTcdAucacucgguL96	1134	asdCscgag(G2p)ugaudGadGccucuusc	1361	GAGAAGAGGCCUCAUCACCUCGGU	1565
AD-1557890	asgsgcucaudCadCucgguguauL96	1135	asdTsacac(C2p)gaggdTgdAugagccuscsu	1362	AGAGGCCUCAUCACCUCGGUGUAC	571
AD-1557944	gsasagaaggdGcdCugcacagcuuL96	1136	asdAsgcug(Tgn)gcagdGcdCcuucucscsa	1363	UGGAAGAAGGGCCUGCACAGCUA	1566
AD-1557945	asasgaaggdCcdTgcacagcuauL96	1137	asdTsagcu(G2p)ugcadGgdCcuucucsc	1364	GGAAGAAGGGCCUGCACAGCUAC	1567
AD-1557948	asasgggccudGcdAcagcuacuauL96	1138	asdTsagua(G2p)cugudGcdAggcccuscsu	1365	AGAAGGGCCUGCACAGCUACUAC	1568
AD-1557949	asgsggccugdCadCagcuacuacuL96	1139	asdGsuagu(Agn)gcugdTgdCaggcccusc	1366	GAAGGGCCUGCACAGCUACUACG	1569
AD-1557953	cscsugcacadGcdTacuacgaccuL96	1140	asdGsgucg(Tgn)aguadGcdTgugcaggscsc	1367	GGCCUGCACAGCUACUACGACCC	573
AD-1558059	cscsucucugdGadCuacggcuuguL96	1141	asdCsaagc(C2p)guagdTcdCagagagsgsc	1368	GCCCUCUCUGGACUACGGCUUGG	574
AD-1558061	uscsucuggadCudAcgguugcuL96	1142	asdGsccaa(G2p)ccgudAgdTccagagasgsg	1369	CCUCUCUGGACUACGGCUUGGCC	575
AD-1558065	usgsgacuacdGgdCuug	1143	asdGsaggg(C2p)caagdCc	1370	UCUGGACUACGGCUUGGCCUCU	1570

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	gcccucuL96		dGuaguccasgsa			
AD-1558066	gsgsacuacgdGcdTuggcccucuL96	1144	asdAsgagg(G2p)ccaadGcdCguaguccsasg	1371	CUGGACUACGGCUUGGCCUCUG	1571
AD-1558105	gsasggaggcdAgdAaguaugauuuL96	1145	asdAsauca(Tgn)acuudCudGccuccsasg	1372	CUGAGGAGGCAGAAGUAUGAUUU	580
AD-1558106	asgsgaggcadGadAguaugauuuL96	1146	asdAsaau(Agn)uacudTcdTgccuccsca	1373	UGAGGAGGCAGAAGUAUGAUUUG	1572
AD-1558113	asgsaaguaudGadTuugccgugcuL96	1147	asdGscacg(G2p)caaadTcdAuacuucsgsc	1374	GCAGAAGUAUGAUUUGCCGUGCA	587
AD-1558114	gsasaguaudGadTuugccgugcuL96	1148	asdTsgcac(G2p)gcaadAudCauacuucsusg	1375	CAGAAGUAUGAUUUGCCGUGCAC	588
AD-1558115	asasguaugadTudTgccgugcacuL96	1149	asdGsugca(C2p)ggcadAadTcauacuucsu	1376	AGAAGUAUGAUUUGCCGUGCACC	1573
AD-1558116	asgsuaugaudTudGccgugcaccuL96	1150	asdGsguge(Agn)cggcdAadAucacuucsusc	1377	GAAGUAUGAUUUGCCGUGCACCC	1574
AD-1558117	gsusaugauudTgdCcgugcaccuL96	1151	asdGsggug(C2p)acggdCadAucacuucsusu	1378	AAGUAUGAUUUGCCGUGCACCCA	1575
AD-1558136	gsgscagugdGadCgaucagaaL96	1152	asdTsucug(G2p)aucgdTcdCacuggccscsu	1379	AGGGCCAGUGGACGAUCCAGAAC	1576
AD-1558137	gscscaguggdAcdGaucagaaL96	1153	asdGsuucu(G2p)gaucdGudCcacuggccscsc	1380	GGGCCAGUGGACGAUCCAGAACAA	1577
AD-1558138	cscsaguggadCgdAuccagaacauL96	1154	asdTsguuc(Tgn)ggaudCgdTccacuggccscsc	1381	GGCCAGUGGACGAUCCAGAACAG	1578
AD-1558139	csasguggacdGadTccagaaacaguL96	1155	asdCsuguu(C2p)uggadTcdGuccacugsgsc	1382	GCCAGUGGACGAUCCAGAACAGG	589
AD-1558142	usgsgacgaudCcdAgaacaggaguL96	1156	asdCsuccu(G2p)uucudGgdAucguccascsu	1383	AGUGGACGAUCCAGAACAGGAGG	1579
AD-1558150	cscsagaacadGgdAggcuuguguguL96	1157	asdCsacac(Agn)gccudCcdTguucuggsasuu	1384	AUCCAGAACAGGAGGCUGUGUGG	591
AD-1558152	asgsaacaggdAgdGcug	1158	asdGscac(Agn)cagcdCu	1385	CCAGAACAGGAGGCUGUGUGGCU	592

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	uguggcuL96		dCcuguucusgsg			
AD-1558211	ascsuucacdTcdCcagaucuccuL96	1159	asdGsgaga(Tgn)cuggdGadGgugaagususg	1386	CAACUUCACCUCUCCAGAUUCUCCC	1580
AD-1558215	csascucccdAgdAuccuccuL96	1160	asdTsgagg(G2p)agaudCudGggaggugsasa	1387	UUCACCUCCCAGAUUCUCCCUCAC	1581
AD-1558230	usgsugcgggdTgdCacuauggcuL96	1161	asdAsgcca(Tgn)agugdCacdCccgcacascsc	1388	GGUGUGCGGGUGCACUAUGGCUU	593
AD-1558231	gsusgcgggdGcdAcuauggcuL96	1162	asdAsagcc(Agn)uagudGcdAccgcacsasc	1389	GUGUGCGGGUGCACUAUGGCUUG	594
AD-1558232	usgscgggdCadCuauggcuL96	1163	asdCsaagc(C2p)auagdTgdCaccgcacsca	1390	UGUGCGGGUGCACUAUGGCUUGU	1582
AD-1558233	gscsgggugdAcdTauggcuL96	1164	asdAscaag(C2p)caudGudGcaccgcsasc	1391	GUGCGGGUGCACUAUGGCUUGUA	595
AD-1558234	csgsggugcadCudAuggcuL96	1165	asdTscaa(G2p)ccaudAgdTgcaccgcsca	1392	UGCGGGUGCACUAUGGCUUGUAC	1583
AD-1558235	gsgsgugcadTadTggcuL96	1166	asdGsuaca(Agn)gccadTadGugcaccsgsc	1393	GCGGGUGCACUAUGGCUUGUACA	596
AD-1558236	gsgsugcacudAudGgcuL96	1167	asdTsguac(Agn)agccdAudAgugcaccsgsc	1394	CGGGUGCACUAUGGCUUGUACAA	1584
AD-1558238	usgscacuaudGgdCuuguaL96	1168	asdGsuugu(Agn)caagdCcdAuagugcascsc	1395	GGUGCACUAUGGCUUGUACAACC	1585
AD-1558239	gscsacuaugdGcdTuguaL96	1169	asdGsguug(Tgn)acaadGcdCauagugcascsc	1396	GUGCACUAUGGCUUGUACAACCA	1586
AD-1558249	csusgcccgudGadGaguccuL96	1170	asdAsgagg(Agn)acudTcdCagggcagsgsg	1397	CCCUGCCCUGGAGAGUUCUUCUG	599
AD-1558250	usgscuccgdAgdAguccuL96	1171	asdCsagag(G2p)aacudCudCcagggcagsgsg	1398	CCUGCCCUGGAGAGUUCUUCUGU	1587
AD-1558288	asascggccudGgdAugagaaL96	1172	asdTsuucu(C2p)ucaudCcdAggcccguusgsg	1399	CCAACGGCCUGGAUGAGAGAAAC	1588
AD-1558289	ascsggccugdGadTgag	1173	asdGsuuuc(Tgn)cucadTc	1400	CAACGGCCUGGAUGAGAGAAACU	1589

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	agaaacuL96		dCaggccgususg			
AD-1558290	csgsgccuggdAudGaga gaaacuuL96	1174	asdAsguuu(C2p)ucucdA udCaggccgsusu	1401	AACGGCCUGGAUGAGAGAAACUG	1590
AD-1558292	gscscuggaudGadGaga aacugcuL96	1175	asdGscagu(Tgn)ucucdTc dAuccaggcscsg	1402	CGGCCUGGAUGAGAGAAACUGCG	600
AD-1558293	cscsuggaugdAgdAga aacugcuL96	1176	asdCsgcag(Tgn)uucudCu dCauccaggscsc	1403	GGCCUGGAUGAGAGAAACUGCGU	1591
AD-1558301	asgsagaaacdTgdCguu ugcagauL96	1177	asdTscugc(Agn)aacgdCa dGuuucucscsa	1404	UGAGAGAAACUGCGUUUGCAGAG	1592
AD-1558302	gsasgaaacudGcdGuuu gcagaguL96	1178	asdCsucug(C2p)aaacdGc dAguuucuscusc	1405	GAGAGAAACUGCGUUUGCAGAGC	1593
AD-1558308	csusgcguuudGcdAgag ccacauuL96	1179	asdAsugug(G2p)cucudG cdAaacgcagsusu	1406	AACUGCGUUUGCAGAGCCACAUI	1594
AD-1558309	usgscguuugdCadGagc cacauuuL96	1180	asdAsaugu(G2p)gcucdT gdCaaacgcagsu	1407	ACUGCGUUUGCAGAGCCACAUI	1595
AD-1558310	gscsguuugdAgdAgcc acauucuL96	1181	asdGsaau(Tgn)ggcudCu dGcaaacgsasg	1408	CUGCGUUUGCAGAGCCACAUI	1596
AD-1558311	csgsuuugcadGadGcca cauuccuL96	1182	asdGsgaau(G2p)uggcdTc dTgcaaacgsasa	1409	UGCGUUUGCAGAGCCACAUI	1597
AD-1558316	gscsagagccdAcdAuuc cagugcuL96	1183	asdGscacu(G2p)gaaudG udGgcucugcsasa	1410	UUGCAGAGCCACAUI	1598
AD-1558419	usgsggacaudTcdAccu uccaguuL96	1184	asdAscugg(Agn)aggudG adAuguccascsa	1411	UGUGGGACAUI	606
AD-1558420	gsgsgacauidCadCcuu ccaguguL96	1185	asdCsacug(G2p)aaggdTg dAuguccsasc	1412	GUGGGACAUI	1599
AD-1558421	gsgsacauucdAcdCuuc caguguuL96	1186	asdAscacu(G2p)gaagdG udGaauguccsasa	1413	UGGGACAUI	607
AD-1558423	ascsauucacdCudTccag ugugauL96	1187	asdTscaca(C2p)uggadAg dGugaauguscsc	1414	GGACAUI	609
AD-1558449	gsasgcugcgdTgdAaga	1188	asdTsgggc(Tgn)ucuudCa	1415	CGGAGCUGCGUGAAGAAGCCCAA	1600

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	agcccauL96		dCgcagcucscsg			
AD-1558450	asgscugcgudGadAgaagccaauL96	1189	asdTsuggg(C2p)uucudTcdAcgcagcuscsc	1416	GGAGCUGCGUGAAGAAGCCCAAC	1601
AD-1558451	gscsugcgugdAadGaagccaacuL96	1190	asdGsuugg(G2p)cuucdTudCacgcagcsusc	1417	GAGCUGCGUGAAGAAGCCCAACC	1602
AD-1558452	csusgcgugadAgdAagccaaccuL96	1191	asdGsguug(G2p)gcuudCudTcacgcagscsu	1418	AGCUGCGUGAAGAAGCCCAACCC	1603
AD-1558453	usgscgugaadGadAgccaaccuL96	1192	asdGsgguu(G2p)ggcudTcdTucacgcasgsc	1419	GCUGCGUGAAGAAGCCCAACCCG	1604
AD-1558508	asgscacugudGadCuguggccucuL96	1193	asdGsaggc(C2p)acagdTcdAcagucuscsc	1420	GGAGCACUGUGACUGUGGCCUCC	1605
AD-1558546	csusccgaggdGudGauggccauuL96	1194	asdAsuggc(C2p)acucdAc dCcucggagsgsa	1421	UCCUCCGAGGGUGAGUGGCCAUG	1606
AD-1558576	asuscgcugadCcdGcuggugauuL96	1195	asdAsucac(C2p)cagcdGgdTcagcgausgsa	1422	UCAUCGCUGACCGCUGGGUGAUA	611
AD-1558577	uscsgcugacdCgdCuggugauauL96	1196	asdTsauca(C2p)ccagdCgdGucagcgasusg	1423	CAUCGCUGACCGCUGGGUGAUAA	1607
AD-1558578	csgscugaccdGcdTgggugauauL96	1197	asdTsuauc(Agn)cccadGcdGgucagcgsasu	1424	AUCGCUGACCGCUGGGUGAUAAC	1608
AD-1558579	gscsugaccgdCudGggugauaacuL96	1198	asdGsuuau(C2p)accdAgdCggucagcsgsa	1425	UCGCUGACCGCUGGGUGAUAAACA	1609
AD-1558586	gscsugggugdAudAacagcugccuL96	1199	asdGsgcag(C2p)uguudAudCaccagcsgsg	1426	CCGCUGGGUGAUAAACAGCUGCCC	1610
AD-1558609	usgsuuccadGgdAggacagcauuL96	1200	asdAsugcu(G2p)uccudCcdTggaagcasgsu	1427	ACUGCUUCCAGGAGGACAGCAUG	1611
AD-1558610	gscsuuccagdGadGgacagcauguL96	1201	asdCsaugc(Tgn)gucddTcdCuggaagcsasg	1428	CUGCUUCCAGGAGGACAGCAUGG	1612
AD-1558611	csusuccaggdAgdGacagcaugguL96	1202	asdCsaugc(C2p)ugucdCudCuggaagcsasa	1429	UGCUIUCCAGGAGGACAGCAUGGC	1613
AD-1558650	csgsuguuccdTgdGgca	1203	asdAscacc(Tgn)ugccdCa	1430	ACCGUGUUCCUGGGCAAGGUGUG	613

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	agguguuL96		dGgaacacgsgsu			
AD-1558657	csusgggcaadGgdTguggcagaauL96	1204	asdTsucug(C2p)cacadCcdTugcccagsgsa	1431	UCCUGGGCAAGGUGUGGCAGAAC	1614
AD-1558658	usgsggcaagdGudGuggcagaacuL96	1205	asdGsuucu(G2p)ccacdAc dCuugcccagsgg	1432	CCUGGGCAAGGUGUGGCAGAACU	1615
AD-1558659	gsgsgcaaggdTgdTggcagaacuuL96	1206	asdAsguuc(Tgn)gccadCa dCcuugcccsasg	1433	CUGGGCAAGGUGUGGCAGAACUC	1616
AD-1558660	gsgscaaggudGudGgca gaacucuL96	1207	asdGsaguu(C2p)ugccdA cdAccuugccscsa	1434	UGGGCAAGGUGUGGCAGAACUCG	1617
AD-1558661	gscsaaggugdTgdGcag aacucguL96	1208	asdCsgagu(Tgn)cugcdCa dCaccuugcscsc	1435	GGGCAAGGUGUGGCAGAACUCGC	615
AD-1558662	csasaggugudGgdCaga acucguL96	1209	asdGscgag(Tgn)ucugdCc dAcaccuugscsc	1436	GGCAAGGUGUGGCAGAACUCGCG	1618
AD-1558683	usgsgccuggdAgdAggu guccuuuL96	1210	asdAsagga(C2p)accudCu dCcaggccasgsc	1437	GCUGGCCUGGAGAGGUGUCCUUC	1619
AD-1558684	gsgsccuggadGadGgug uccuucuL96	1211	asdGsaagg(Agn)caccdTc dTccaggccsasg	1438	CUGGCCUGGAGAGGUGUCCUUCA	1620
AD-1558685	gscscuggagdAgdGugu ccuucauL96	1212	asdTsgaag(G2p)acacdCu dCuccaggcscsa	1439	UGGCCUGGAGAGGUGUCCUUCAA	1621
AD-1558686	cscsuggagadGgdTguc cuucaauL96	1213	asdTsugaa(G2p)gacadCc dTuccaggscsc	1440	GGCCUGGAGAGGUGUCCUUCAAG	1622
AD-1558687	csusggagagdGudGucc uucaaguL96	1214	asdCsuuga(Agn)ggacdA cdCucuccagsgsc	1441	GCCUGGAGAGGUGUCCUUCAAGG	617
AD-1558691	asgsaggugudCcdTuca aggugauL96	1215	asdTscacc(Tgn)ugaadGg dAcaccucuscsc	1442	GGAGAGGUGUCCUUCAAGGUGAG	620
AD-1558833	usgsugcagudTgdAucc cacagguL96	1216	asdCscugu(G2p)ggaudC adAcugcacasusc	1443	GAUGUGCAGUUGAUCCACAGGA	1623
AD-1558835	usgscaguugdAudCcca caggacuL96	1217	asdGsuccu(G2p)ugggdA udCaacugcascsa	1444	UGUGCAGUUGAUCCACAGGACC	1624
AD-1558843	asuscccacadGgdAccu	1218	asdCsugca(C2p)aggudCc	1445	UGAUCCACAGGACCUGUGCAGC	621



Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	gugcaguL96		dTgugggauscsa			
AD-1558845	cscscacaggdAcdCugugcagcguL96	1219	asdCsgcug(C2p)acagdGudCcugugggsasu	1446	AUCCACAGGACCUGUGCAGCGA	1625
AD-1558846	cscsacaggadCcdTgugcagcgauL96	1220	asdTscgcu(G2p)cacadGgdTccuguggsgsa	1447	UCCCACAGGACCUGUGCAGCGAG	1626
AD-1558878	cscsaggugadCgdCcaacgaugcuL96	1221	asdGscaug(C2p)guggdCgdTcaccuggsusa	1448	UACCAGGUGACGCCACGCAUGCU	1627
AD-1558882	gsusgacgccdAcdGcaugcuguguL96	1222	asdCsacag(C2p)augcdGudGgcgucacscsu	1449	AGGUGACGCCACGCAUGCUGUGU	1628
AD-1558883	usgsacgccadCgdCaugcuguguuL96	1223	asdAscaca(G2p)caugdCgdTggcgucascsc	1450	GGUGACGCCACGCAUGCUGUGUG	622
AD-1558885	ascsgccacgdCadTgcugugugcuL96	1224	asdGscaca(C2p)agcadTgdCguggcguscsa	1451	UGACGCCACGCAUGCUGUGUGCC	1629
AD-1558905	gsgscuaccgdCadAgggcaagaauL96	1225	asdTsucuu(G2p)cccudTgdCgguagccsgsg	1452	CCGGCUACCGCAAGGGCAAGAAG	1630
AD-1558906	gscsuaccgcdAadGggcaagaaguL96	1226	asdCsuucu(Tgn)gcccdTudGcgguagcscsg	1453	CGGCUACCGCAAGGGCAAGAAGG	624
AD-1558907	csusaccgadAgdGgcaagaagguL96	1227	asdCscuuc(Tgn)ugccdCudTgcgguagcscsc	1454	GGCUACCGCAAGGGCAAGAAGGA	625
AD-1558961	gsusgcaaggdCadCucaugggcuL96	1228	asdGsgcca(C2p)ugagdTgdCcuugcacsasc	1455	GUGUGCAAGGCACUCAGUGGCCG	1631
AD-1558992	csusaacuacdTudCggcgucuacuL96	1229	asdGsuaga(C2p)gccgdAadGuaguagsgsc	1456	GCCUAACUACUUCGGCGUCUACA	1632
AD-1558995	ascsuacuucdGgdCgucuaaccuL96	1230	asdGsgugu(Agn)gacgdCcdGaaguagususa	1457	UAACUACUUCGGCGUCUACACCC	1633
AD-1558996	csusacuucgdGcdGucuaacccuL96	1231	asdGsggug(Tgn)agacdGcdCgaaguagsusu	1458	AACUACUUCGGCGUCUACACCCG	1634
AD-1559004	gscsgucuacdAcdCcgcaucacauL96	1232	asdTsguga(Tgn)gcggdGudGuagacgcscsg	1459	CGGCGUCUACACCCGCAUCACAG	1635
AD-1559005	csgsucuacadCcdCgcau	1233	asdCsugug(Agn)ugcgdG	1460	GGCGUCUACACCCGCAUCACAGG	1636

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	cacaguL96		gdTguagacgscsc			
AD-1559008	csusacaccedGcdAucacagguguL96	1234	asdCsaccu(G2p)ugaudGcdGgguguagsasc	1461	GUCUACACCCGCAUCACAGGUGU	628
AD-1559012	ascscgcaudCadCaggugugauuL96	1235	asdAsucac(Agn)ccugdTgdAugcgggusgsu	1462	ACACCCGCAUCACAGGUGUGAUC	1637
AD-1559013	cscscgcaudAcdAggugugaucuL96	1236	asdGsauca(C2p)accudGudGaugcgggsusg	1463	CACCCGCAUCACAGGUGUGAUC	1638
AD-1559036	usgsgaucadGcdAaggugacuL96	1237	asdGsucac(C2p)acuudGcdTggauccasgsc	1464	GCUGGAUCCAGCAAGUGGUGACC	1639
AD-1559038	gsasuccagcdAadGuggugaccuuL96	1238	asdAsgguc(Agn)ccacdTudGcuggaucscsa	1465	UGGAUCCAGCAAGUGGUGACCUG	1640
AD-1559039	asusccagcadAgdTggugaccuguL96	1239	asdCsaggu(C2p)accadCudTgcuggauscsc	1466	GGAUCCAGCAAGUGGUGACCUGA	1641
AD-1559041	cscsagcaagdTgdGugacugaguL96	1240	asdCsucag(G2p)ucacdCacdCuugcuggsasu	1467	AUCCAGCAAGUGGUGACCUGAGG	1642
AD-1559042	csasgcaagudGgdTgaccugagguL96	1241	asdCscuca(G2p)gucadCcdAcuugcugsgsa	1468	UCCAGCAAGUGGUGACCUGAGGA	1643
AD-1559044	gcsaaguggdTgdAccugaggaauL96	1242	asdTsuccu(C2p)aggudCacdCcacuugcsusg	1469	CAGCAAGUGGUGACCUGAGGAAC	1644
AD-1559105	usgsguggcadGgdAgguggcaucuL96	1243	asdGsaugc(C2p)accudCcdTgccaccscsa	1470	UGUGGUGGCAGGAGGUGGCAUCU	1645
AD-1559106	gsgsuggcagdGadGguggcaucuL96	1244	asdAsgaug(C2p)caccdTcdCugccaccsasc	1471	GUGGUGGCAGGAGGUGGCAUCUU	1646
AD-1559107	gsusggcaggdAgdGuggcaucuuuL96	1245	asdAsagau(G2p)ccacdCudCugccaccscsa	1472	UGGUGGCAGGAGGUGGCAUCUUG	1647
AD-1559109	gsgscaggagdGudGgcaucuuguuL96	1246	asdAscaag(Agn)ugccdAcdCuccugccsasc	1473	GUGGCAGGAGGUGGCAUCUUGUC	631
AD-1559133	uscscgcaudGudCugcuccaguL96	1247	asdAscugg(Agn)gcagdAcdAucagggascsg	1474	CGUCCUGAUGUCUGCUCCAGUG	1648
AD-1559136	csusgaugucdTgdCucc	1248	asdAsucac(Tgn)ggagdCa	1475	CCCUGAUGUCUGCUCCAGUGAUG	1649

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	agugauuL96		dGacaucagsgsg			
AD-1559147	uscscagugadTgdGcag gaggauuL96	1249	asdAsuccu(C2p)cugcdCa dTcacuggasgsc	1476	GCUCCAGUGAUGGCAGGAGGAUG	1650
AD-1559233	gsgscucagcdAgdCaag aaugcuuL96	1250	asdAsgcau(Tgn)cuugdCu dGcugagccsasc	1477	GUGGCUCAGCAGCAAGAAUGCUG	636
AD-1559318	csusaacuugdGgdAucu gggaauuL96	1251	asdAsuucc(C2p)agaudCc dCaaguagsasc	1478	GUCUAACUUGGGAUCUGGGAAUG	1651
AD-1559323	ususgggaucdTgdGgaa uggaaguL96	1252	asdCsuucc(Agn)uuccdCa dGaucccaasgsu	1479	ACUUGGGAUCUGGGAAUGGAAGG	642
AD-1559431	gsusgagcucdAgdCugc ccuuuguL96	1253	asdCsaag(G2p)gcagdCu dGagcucacscsu	1480	AGGUGAGCUCAGCUGCCCUUUGG	1652
AD-1559436	csuscagcugdCcdCuuu ggauuauL96	1254	asdTsauc(C2p)aaagdGg dCagcugagscsu	1481	AGCUCAGCUGCCCUUUGGAAUAA	1653
AD-1559437	uscscagcugdCcdTuug gaauauuL96	1255	asdTsuauu(C2p)caaadGg dGcagcugasgsc	1482	GCUCAGCUGCCCUUUGGAAUAAA	1654
AD-1559438	csasgcugccdCudTugg aauaaauL96	1256	asdTsuauu(Tgn)ccaadAg dGgcagcugsasg	1483	CUCAGCUGCCCUUUGGAAUAAAG	1655
AD-1559441	csusgcccudTgdGaau aaagcuuL96	1257	asdAsgcuu(Tgn)auucdCa dAagggcagscsu	1484	AGCUGCCCUUUGGAAUAAAGCUG	648
AD-1559443	gscscuuugdGadAuaa agcugcuL96	1258	asdGscagc(Tgn)uuaudTc dCaaagggsasg	1485	CUGCCCUUUGGAAUAAAGCUGCC	1656
AD-1559444	cscscuuuggdAadTaaa gcugccuL96	1259	asdGsgcag(C2p)uuuadTu dCcaaagggsasa	1486	UGCCCUUUGGAAUAAAGCUGCCU	1657
AD-1559445	cscsuuuggadAudAaag cugccuuL96	1260	asdAsggca(G2p)cuuudA udTcaaaggsgsc	1487	GCCCUUUGGAAUAAAGCUGCCUG	1658
AD-1559447	ususuggaauadAadAgcu gccugauL96	1261	asdTscagg(C2p)agcudTu dAuuccaaasgsg	1488	CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUGAU	1659
AD-1559448	ususggaauadAadGcug ccugauuL96	1262	asdAsucag(G2p)cagcdTu dTauuccaasasg	1489	CUUUGGAAUAAAGCUGCCUGAUC	1660
AD-1559449	usgsaauaadAgdCugc	1263	asdGsauca(G2p)gcagdCu	1490	UUUGGAAUAAAGCUGCCUGAUCC	1661

Название дуплекса	Смысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Антисмысловая последовательность от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SEQ ID NO
	cugaucuL96		dTuauuccasasa			

**Таблица 6. Немодифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе дцРНК против TMPRSS6**

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1570929.1	CGGAGGUGAUGGCGAGGAAGU	189-209	650	ACUUCCTCGCCAUCACCUCCGUC	187-209	848
AD-1570930.1	CCUGUGAGGACUCCAAGAGAU	233-253	654	AUCUCUTGGAGUCCUCACAGGCC	231-253	1726
AD-1570931.1	CUGUGAGGACUCCAAGAGAAU	234-254	1662	AUUCTCTUGGAGUCCUCACAGGC	232-254	1727
AD-1570932.1	CUCUGGUAUUUCCUAGGGGUAU	331-351	28	AUACCCTAGGAAAUACCAGAGUA	329-351	1728
AD-1570933.1	GGUAUUUCCUAGGGUACAAGU	335-355	660	ACUUGUACCCUAGGAAAUACCAG	333-355	858
AD-1570934.1	GUAUUUCCUAGGGUACAAGGU	336-356	1663	ACCUTGTACCCUAGGAAAUACCA	334-356	1729
AD-1570935.1	GGUCAGCCAGGUGUACUCAGU	366-386	31	ACUGAGTACACCUGGCUGACCAU	364-386	157
AD-1570936.1	UCAGCCAGGUGUACUCAGGCU	368-388	665	AGCCTGAGUACACCUGGCUGACC	366-388	1730
AD-1570937.1	AGCCAGGUGUACUCAGGCAGU	370-390	32	ACUGCCTGAGUACACCUGGCUGA	368-390	158
AD-1570938.1	CACUUCUCCCAGGAUCUUACU	409-429	670	AGUAAGAUCUCCUGGGAGAAGUGGC	407-429	867
AD-1570939.1	UCUCCCAGGAUCUUACCCGCU	413-433	1664	AGCGGGTAAGAUCUCCUGGGAGAA	411-433	1731

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1570940.1	GCCUCCGCAGUGAAACCGCU	445-465	36	AGCGGUTUCACUGCGGAAGGCAC	443-465	1732
AD-1570941.1	CCUCCGCAGUGAAACCGCCU	446-466	1665	AGGCGGTUUCACUGCGGAAGGCA	444-466	872
AD-1570942.1	GCAGUGAAACCGCCAAAGCCU	452-472	679	AGGCTUTGGCGGUUCACUGCGG	450-472	1733
AD-1570943.1	CAGUGAAACCGCCAAAGCCCU	453-473	680	AGGGCUTUGGCGGUUCACUGCG	451-473	1734
AD-1570944.1	AGUGAAACCGCCAAAGCCCAU	454-474	681	AUGGGCTUUGGCGGUUCACUGC	452-474	1735
AD-1570945.1	CGCCAAAGCCCAGAAGAUGCU	462-482	682	AGCATCTUCUGGGCUUUGGCGGU	460-482	1736
AD-1570946.1	AGCCCAGAAGAUGCUC AAGG U	468-488	684	ACCUTGAGCAUCUUCUGGGCUUU	466-488	1737
AD-1570947.1	AGCACCCGCCUGGGAACUUAU	499-519	1666	AUAAGUTCCCAGGCGGGUGCUGG	497-519	1738
AD-1570948.1	CAACUCCAGCUCCGUCUAUUU	522-542	37	AAAUAGACGGAGCUGGAGUUGU A	520-542	163
AD-1570949.1	UCACCUGCUUCUUCUGGUUCU	560-580	40	AGAACCAGAAGAAGCAGGUGAG G	558-580	166
AD-1570950.1	CCUGCUUCUUCUGGUUCAUUU	563-583	42	AAAUGAACCAGAAGAAGCAGGU G	561-583	168
AD-1570951.1	CUGCUUCUUCUGGUUCAUUCU	564-584	1667	AGAATGAACCAGAAGAAGCAGG U	562-584	1739
AD-1570952.1	CUUCUUCUGGUUCAUUCUCCU	567-587	45	AGGAGAAUGAACCAGAAGAAGC A	565-587	171
AD-1570953.1	UUCUUCUGGUUCAUUCUCCA U	568-588	46	AUGGAGAAUGAACCAGAAGAAG C	566-588	1740
AD-1570954.1	CUUCUGGUUCAUUCUCCAAA U	570-590	1668	AUUUGGAGAAUGAACCAGAAGA A	568-590	1741

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1570955.1	CUGGUUCAUUCUCCAAAUCCU	573-593	47	AGGATUTGGAGAAUGAACCAGAA	571-593	173
AD-1570956.1	GCUGCUGUCCACAGUCAACAU	651-671	703	AUGUTGACUGUGGACAGCAGCUC	649-671	174 2
AD-1570957.1	GCUGUCCACAGUCAACAGCUU	654-674	704	AAGCTGTUGACUGUGGACAGCAG	652-674	174 3
AD-1570958.1	UGUCCACAGUCAACAGCUCGU	656-676	706	ACGAGCTGUUGACUGUGGACAGC	654-676	174 4
AD-1570959.1	GGCCGAGUACGAAGUGGACC U	693-713	708	AGGUCCACUUCGUACUCGGCCCU	691-713	902
AD-1570960.1	AUCCUGGAAGCCAGUGUGAA U	727-747	709	AUUCACACUGGCUUCCAGGAUCA	725-747	174 5
AD-1570961.1	CCUGGAAGCCAGUGUGAAAG U	729-749	711	ACUUTCACACUGGCUUCCAGGAU	727-749	174 6
AD-1570962.1	UGGAAGCCAGUGUGAAAGAC U	731-751	166 9	AGUCTUTCACACUGGCUUCCAGG	729-751	174 7
AD-1570963.1	GGAAGCCAGUGUGAAAGACA U	732-752	714	AUGUCUTUCACACUGGCUUCCAG	730-752	174 8
AD-1570964.1	GAAGCCAGUGUGAAAGACAU U	733-753	167 0	AAUGTCTUUCACACUGGCUUCCA	731-753	174 9
AD-1570965.1	AGCCAGUGUGAAAGACAUAG U	735-755	167 1	ACUATGTCUUUCACACUGGCUUC	733-755	175 0
AD-1570966.1	CCAGUGUGAAAGACAUAGCU U	737-757	50	AAGCTATGUCUUUCACACUGGCU	735-757	175 1
AD-1570967.1	AGUGUGAAAGACAUAGCUGC U	739-759	719	AGCAGCTAUGUCUUUCACACUGG	737-759	175 2
AD-1570968.1	GUGAAAGACAUAGCUGCAUU U	742-762	167 2	AAAUGCAGCUAUGUCUUUCACAC	740-762	175 3
AD-1570969.1	AUUGAAUCCACGCUGGGUU U	759-779	52	AAACCCAGCGUGGAAUUCA AUGC	757-779	178
AD-1570970.1	AAUUCCACGCUGGGUUGUUA	763-783	55	AUAACAACCCAGCGUGGAAUUCA	761-783	175

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
	U					4
AD-1570971.1	CACGCUGGGUUGUUACCGCUU	768-788	58	AAGCGGTAACAACCCAGCGUGGA	766-788	184
AD-1570972.1	UGGGUUGUUACCGCUACAGC U	773-793	167 3	AGCUGUAGCGGUAACAACCCAGC	771-793	175 5
AD-1570973.1	GGGUUGUUACCGCUACAGCU U	774-794	730	AAGCTGTAGCGGUAACAACCCAG	772-794	175 6
AD-1570974.1	CAAACUCCGGCUGGAGUGGA U	888-908	731	AUCCACTCCAGCCGGAGUUUGAG	886-908	175 7
AD-1570975.1	GGGACCGACUGGCCAUGUAU U	923-943	60	AAUACATGGCCAGUCGGUCCCGG	921-943	186
AD-1570976.1	CGACUGGCCAUGUAUGACGU U	928-948	167 4	AACGTCAUACAUGGCCAGUCGGU	926-948	175 8
AD-1570977.1	UGGAGAAGAGGCUCAUCACC U	959-979	734	AGGUGATGAGCCUCUUCUCCAGG	957-979	928
AD-1570978.1	GGAGAAGAGGCUCAUCACCU U	960-980	735	AAGGTGAUGAGCCUCUUCUCCAG	958-980	175 9
AD-1570979.1	GAAGAAGGGCCUGCACAGCU U	1053-1073	738	AAGCTGTGCAGGCCCUUCUCCA	1051-1073	176 0
AD-1570980.1	AGGGCCUGCACAGCUACUACU	1058-1078	741	AGUAGUAGCUGUGCAGGCCCUUC	1056-1078	176 1
AD-1570981.1	CCUGCACAGCUACUACGACCU	1062-1082	69	AGGUCGTAGUAGCUGUGCAGGCC	1060-1082	195
AD-1570982.1	GAGGAGGCAGAAGUAUGAUU U	1281-1301	76	AAAUCATACUUCUGCCUCCUCAG	1279-1301	202
AD-1570983.1	AGGAGGCAGAAGUAUGAUUU U	1282-1302	745	AAAATCAUACUUCUGCCUCCUCA	1280-1302	176 2
AD-1570984.1	AGUAUGAUUUGCCGUGCACC U	1292-1312	167 5	AGGUGCACGGCAAUAUACUUC	1290-1312	942
AD-1570985.1	CCAGUGGACGAUCCAGAACAU	1317-1337	753	AUGUTCTGGAUCGUCCACUGGCC	1315-1337	176 3

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1570986.1	CCAGAACAGGAGGCUGUGUGU	1329-1349	87	ACACACAGCCUCCUGUUCUGGAU	1327-1349	213
AD-1570987.1	AGAACAGGAGGCUGUGUGGCU	1331-1351	88	AGCCACACAGCCUCCUGUUCUGG	1329-1351	214
AD-1570988.1	ACUUCACCUCCCAGAUCUCCU	1415-1435	1676	AGGAGATCUGGGAGGUGAAGUU	1413-1435	950
AD-1570989.1	UGUGCGGGUGCACUAUGGCUU	1449-1469	89	AAGCCATAGUGCACCCGCACACC	1447-1469	215
AD-1570990.1	GUGC GGGUGCACUAUGGCUU	1450-1470	90	AAAGCCAUAGUGCACCCGCACAC	1448-1470	216
AD-1570991.1	GGGUGCACUAUGGCUUGUACU	1454-1474	92	AGUACAAGCCAUAGUGCACCCGC	1452-1474	1764
AD-1570992.1	GGUGCACUAUGGCUUGUACA	1455-1475	763	AUGUACAAGCCAUAGUGCACCCG	1453-1475	1765
AD-1570993.1	UGCACUAUGGCUUGUACAACU	1457-1477	764	AGUUGUACAAGCCAUAGUGCACC	1455-1477	955
AD-1570994.1	GCACUAUGGCUUGUACAACCU	1458-1478	1677	AGGUTGTACAAGCCAUAGUGCAC	1456-1478	1766
AD-1570995.1	CUGCCUGGAGAGUUCCUCUU	1488-1508	95	AAGAGGAACUCUCCAGGGCAGG	1486-1508	1767
AD-1570996.1	ACGGCCUGGAUGAGAGAAACU	1562-1582	1678	AGUUTCTCUCAUCCAGGCCGUUG	1560-1582	1768
AD-1570997.1	GCCUGGAUGAGAGAAACUGCU	1565-1585	96	AGCAGUTUCUCUCAUCCAGGCCG	1563-1585	1769
AD-1570998.1	CCUGGAUGAGAGAAACUGCGU	1566-1586	770	ACGCAGTUUCUCUCAUCCAGGCC	1564-1586	961
AD-1570999.1	AGAGAAACUGCGUUUGCAGAU	1574-1594	1679	AUCUGCAAACGCAGUUUCUCUCA	1572-1594	1770
AD-1571000.1	GCGUUUGCAGAGCCACAUUCU	1583-1603	775	AGAATGTGGCUCUGCAAACGCAG	1581-1603	1771



Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571001.1	UGGGACAUCACCUUCCAGUU	1710-1730	102	AACUGGAAGGUGAAUGUCCCAC A	1708-1730	228
AD-1571002.1	GAGCUGCGUGAAGAAGCCCA U	1740-1760	168 0	AUGGGCTUCUUCACGCAGCUCCG	1738-1760	177 2
AD-1571003.1	CGCUGACCGCUGGGUGAUAA U	1938-1958	168 1	AUUATCACCCAGCGGUCAGCGAU	1936-1958	177 3
AD-1571004.1	GCUUCCAGGAGGACAGCAUG U	1970-1990	793	ACAUGCTGUCCUCCUGGAAGCAG	1968-1990	177 4
AD-1571005.1	CGUGUUCCUGGGCAAGGUGU U	2010-2030	109	AACACCTUGCCCAGGAACACGGU	2008-2030	235
AD-1571006.1	GGGCAAGGUGUGGCAGAACU U	2019-2039	168 2	AAGUTCTGCCACACCUUGCCCAG	2017-2039	177 5
AD-1571007.1	GCAAGGUGUGGCAGAACUCG U	2021-2041	111	ACGAGUTCUGCCACACCUUGCCC	2019-2041	237
AD-1571008.1	CAAGGUGUGGCAGAACUCGC U	2022-2042	801	AGCGAGTUCUGCCACACCUUGCC	2020-2042	989
AD-1571009.1	GGCCUGGAGAGGUGUCCUUC U	2045-2065	803	AGAAGGACACCUCUCCAGGCCAG	2043-2065	177 6
AD-1571010.1	CUGGAGAGGUGUCCUUCAAG U	2048-2068	113	ACUUGAAGGACACCUCUCCAGGC	2046-2068	239
AD-1571011.1	AGAGGUGUCCUUCAAGGUGA U	2052-2072	116	AUCACCTUGAAGGACACCUCUCC	2050-2072	177 7
AD-1571012.1	GCUACCGCAAGGGCAAGAAG U	2363-2383	120	ACUUCUTGCCCUUGCGGUAGCCG	2361-2383	177 8
AD-1571013.1	CUACCGCAAGGGCAAGAAGG U	2364-2384	121	ACCUTCTUGCCCUUGCGGUAGCC	2362-2384	247
AD-1571014.1	ACUACUUCGGCGUCUACACCU	2489-2509	817	AGGUGUAGACGCCGAAGUAGUU A	2487-2509	100 7
AD-1571015.1	CUACUUCGGCGUCUACACCCU	2490-2510	818	AGGGTGTAGACGCCGAAGUAGUU	2488-2510	177 9

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571016.1	GCGUCUACACCCGCAUCACAU	2498-2518	819	AUGUGATGCGGGUGUAGACGCCG	2496-2518	1780
AD-1571017.1	CGUCUACACCCGCAUCACAGU	2499-2519	820	ACUGTGAUGC GGGUGUAGACGCC	2497-2519	1781
AD-1571018.1	ACCCGCAUCACAGGUGUGAUU	2506-2526	821	AAUCACACCUGUGAUGC GGGUGU	2504-2526	1782
AD-1571019.1	GAUCCAGCAAGUGGUGACCUU	2532-2552	824	AAGGTCACCACUUGCUGGAUCCA	2530-2552	1783
AD-1571020.1	GGCAGGAGGUGGCAUCUUGUU	2671-2691	127	AACAAGAUGCCACCUCUGCCAC	2669-2691	253
AD-1571021.1	UCCCUGAUGUCUGCUCCAGUU	2695-2715	832	AACUGGAGCAGACAUCAGGGACG	2693-2715	1022
AD-1571022.1	CUGAUGUCUGCUCCAGUGAUU	2698-2718	1683	AAUACTGGAGCAGACAUCAGGG	2696-2718	1023
AD-1571023.1	GGCUCAGCAGCAAGAAUGCUU	2853-2873	132	AAGCAUTCUUGCUGCUGAGCCAC	2851-2873	258
AD-1571024.1	UUGGGAUCUGGGAAUGGAAGU	2983-3003	138	ACUCCAUAUCCAGAUCCCAAGU	2981-3003	264
AD-1571025.1	CAGCUGCCCUUGGAAUAAAUU	3164-3184	1684	AUUUAUTCCAAAGGGCAGCUGAG	3162-3184	1784
AD-1571026.1	CUGCCCUUGGAAUAAAGCUU	3167-3187	144	AAGCTUTAUAUCCAAAGGGCAGCU	3165-3187	270
AD-1571027.1	GCCCUUGGAAUAAAGCUGCUU	3169-3189	842	AGCAGCTUUAUCCAAGGGCAG	3167-3189	1785
AD-1571028.1	CCUCACCUGCUUCUUCUGGUU	558-578	1685	AACCAGAAGAAGCAGGUGAGGGG	556-578	1786
AD-1571029.1	CCUCACCUGCUUCUUCUGGUU	558-578	1685	AACCAGAAGAAGCAGGUGAGGCCU	556-578	1787
AD-1571030.1	UCACCUGCUUCUUCUGGUU	560-578	1686	AACCAGAAGAAGCAGGUGAGGG	558-578	1788

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571031.1	UCACCUGCUUCUUCUGGUU	560-578	1686	AACCAGAAGAAGCAGGUGACU	558-578	1789
AD-1571032.1	ACCUGCUUCUUCUGGUU	562-578	1687	AACCAGAAGAAGCAGGUGA	560-578	1790
AD-1571033.1	UCACCUGCUUCUUCUGGUU	560-578	1686	AACCAGAAGAAGCAGGUGA	560-578	1790
AD-1571034.1	GGAGGUGAUGGCGAGGAAGCU	190-210	1688	AGCUTCCUCGCCAUCACCUCCGU	188-210	1791
AD-1571035.1	AAGGCCUGUGAGGACUCCAAU	229-249	1689	AUUGGAGUCCUCACAGGCCUUGA	227-249	1792
AD-1571036.1	GGCCUGUGAGGACUCCAAGAU	231-251	653	AUCUTGGAGUCCUCACAGGCCUU	229-251	1793
AD-1571037.1	GCCUGUGAGGACUCCAAGAGU	232-252	20	ACUCTUGGAGUCCUCACAGGCCU	230-252	146
AD-1571038.1	CUACUCUGGUAAUUUCCUAGGU	328-348	25	ACCUAGGAAAUACCAGAGUAGCA	326-348	151
AD-1571039.1	UCUGGUAAUUUCCUAGGGUACU	332-352	29	AGUACCCUAGGAAAUACCAGAGU	330-352	155
AD-1571040.1	CUGGUAAUUUCCUAGGGUACA	333-353	1690	AUGUACCCUAGGAAAUACCAGAG	331-353	1794
AD-1571041.1	UGGUAAUUUCCUAGGGUACAAU	334-354	1691	AUUGTACCCUAGGAAAUACCAGAG	332-354	1795
AD-1571042.1	CUAGGGUACAAGGCGGAGGUU	343-363	662	AACCTCCGCCUUGUACCCUAGGA	341-363	1796
AD-1571043.1	AUGGUCAGCCAGGUGUACUCU	364-384	663	AGAGTACACCUGGCUGACCAUCA	362-384	1797
AD-1571044.1	GUCAGCCAGGUGUACUCAGGU	367-387	1692	ACCUGAGUACACCUGGCUGACCA	365-387	1798
AD-1571045.1	CAGCCAGGUGUACUCAGGCAU	369-389	1693	AUGCCUGAGUACACCUGGCUGAC	367-389	1799

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571046.1	CUCAAUCGCCACUUCUCCCAU	400-420	667	AUGGGAGAAGUGGCGAUUGAGU A	398-420	1800
AD-1571047.1	CGCCACUUCUCCCAGGAUCUU	406-426	668	AAGATCCUGGGAGAAGUGGCGA U	404-426	1801
AD-1571048.1	GCCACUUCUCCCAGGAUCUUU	407-427	33	AAAGAUCCUGGGAGAAGUGGCG A	405-427	159
AD-1571050.1	UCCCAGGAUCUUACCCGCCGU	415-435	35	ACGGCGGGUAAGAUCUGGGAG A	413-435	161
AD-1571051.1	UAGUGCCUUCGCGAGUGAAA U	441-461	1694	AUUUCACUGCGGAAGGCACUAG A	439-461	1802
AD-1571052.1	CUUCCGCGAGUGAAACCGCCA	447-467	676	AUGGCGGUUCACUGCGGAAGG C	445-467	1803
AD-1571053.1	CCGCAGUGAAACCGCCAAAGU	450-470	677	ACUUTGGCGGUUCACUGCGGAA	448-470	1804
AD-1571054.1	CGCAGUGAAACCGCCAAAGCU	451-471	678	AGCUTUGGCGGUUCACUGCGGA	449-471	1805
AD-1571055.1	GCCAAAGCCCAGAAGAUGCUU	463-483	683	AAGCAUCUUCUGGGCUUUGGCG G	461-483	880
AD-1571056.1	CAGCACCCGCCUGGGAACUUU	498-518	685	AAAGTUCCCAGGCGGGUGCUGGU	496-518	1806
AD-1571057.1	ACAACUCCAGCUCGUCUAUU	521-541	687	AAUAGACGGAGCUGGAGUUGUA G	519-541	884
AD-1571058.1	CACCUGCUUCUUCUGGUUCAU	561-581	1695	AUGAACCAGAAGAAGCAGGUGA G	559-581	1807
AD-1571059.1	UGCUUCUUCUGGUUCAUUCU U	565-585	43	AAGAAUGAACCAGAAGAAGCAG G	563-585	169
AD-1571060.1	UCUUCUGGUUCAUUCUCCAAU	569-589	1696	AUUGGAGAAUGAACCAGAAGAA G	567-589	1808
AD-1571061.1	UUCUGGUUCAUUCUCCAAAU U	571-591	1697	AAUUTGGAGAAUGAACCAGAAG A	569-591	1809

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571062.1	UCUGGUUCAUUCUCCAAAUCU	572-592	1698	AGAUTUGGAGAAUGAACCAGAA G	570-592	1810
AD-1571063.1	GUGGAGGAGCUGCUGUCCAC U	643-663	1699	AGUGGACAGCAGCUCCUCCACCA	641-663	1811
AD-1571064.1	GAGGAGCUGCUGUCCACAGU U	646-666	1700	AACUGUGGACAGCAGCUCCUCCA	644-666	894
AD-1571065.1	AGCUGCUGUCCACAGUCAACU	650-670	1701	AGUUGACUGUGGACAGCAGCUCC	648-670	895
AD-1571066.1	CUGUCCACAGUCAACAGCUCU	655-675	1702	AGAGCUGUUGACUGUGGACAGC A	653-675	898
AD-1571067.1	ACAGGGCCGAGUACGAAGUG U	689-709	48	ACACTUCGUACUCGGCCCUGUAG	687-709	1812
AD-1571068.1	GGGCCGAGUACGAAGUGGAC U	692-712	1703	AGUCCACUUCGUACUCGGCCCUG	690-712	1813
AD-1571069.1	UCCUGGAAGCCAGUGUGAAA U	728-748	710	AUUUCACACUGGCUUCCAGGAUC	726-748	1814
AD-1571070.1	CUGGAAGCCAGUGUGAAAGA U	730-750	712	AUCUTUCACACUGGCUUCCAGGA	728-750	1815
AD-1571071.1	AAGCCAGUGUGAAAGACAUA U	734-754	716	AUAUGUCUUUCACACUGGCUUCC	732-754	1816
AD-1571072.1	GCCAGUGUGAAAGACAUAGC U	736-756	718	AGCUAUGUCUUUCACACUGGCUU	734-756	1817
AD-1571074.1	UGUGAAAGACAUAGCUGCAU U	741-761	721	AAUGCAGCUAUGUCUUUCACACU	739-761	916
AD-1571075.1	ACGCUGGGUUGUUACCGCUA U	769-789	1704	AUAGCGGUAACAACCCAGCGUGG	767-789	1818
AD-1571076.1	CGCUGGGUUGUUACCGCUACU	770-790	1705	AGUAGCGGUAACAACCCAGCGUG	768-790	919
AD-1571077.1	GCUGGGUUGUUACCGCUACA U	771-791	1706	AUGUAGCGGUAACAACCCAGCGU	769-791	1819

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571078.1	CUGGGUUGUUACCGCUACAGU	772-792	59	ACUGTAGCGGUAACAACCCAGCG	770-792	185
AD-1571079.1	CUGGAGAAGAGGCUCAUCACU	958-978	733	AGUGAUGAGCCUCUUCUCCAGGG	956-978	1820
AD-1571080.1	GAGAAGAGGCUCAUCACCUCU	961-981	1707	AGAGGUGAUGAGCCUCUUCUCCA	959-981	930
AD-1571081.1	GAAGAGGCUCAUCACCUCGGU	963-983	1708	ACCGAGGUGAUGAGCCUCUUCUC	961-983	931
AD-1571082.1	AGGCUCAUCACCUCGGUGUAU	967-987	67	AUACACCGAGGUGAUGAGCCUCU	965-987	1821
AD-1571083.1	AAGAAGGGCCUGCACAGCUAU	1054-1074	1709	AUAGCUGUGCAGGCCCUUCUUC	1052-1074	1822
AD-1571084.1	AAGGGCCUGCACAGCUACUAU	1057-1077	740	AUAGTAGCUGUGCAGGCCCUUCU	1055-1077	1823
AD-1571085.1	CCUCUCUGGACUACGGCUUGU	1235-1255	70	ACAAGCCGUAGUCCAGAGAGGGC	1233-1255	1824
AD-1571086.1	UCUCUGGACUACGGCUUGGCU	1237-1257	71	AGCCAAGCCGUAGUCCAGAGAGG	1235-1257	197
AD-1571087.1	UGGACUACGGCUUGGCCUCU	1241-1261	743	AGAGGGCCAAGCCGUAGUCCAGA	1239-1261	938
AD-1571088.1	GGACUACGGCUUGGCCUCUU	1242-1262	1710	AAGAGGGCCAAGCCGUAGUCCAG	1240-1262	939
AD-1571089.1	AGAAGUAUGAUUUGCCGUGC	1289-1309	83	AGCACGGCAAUAUCAUACUUCUG	1287-1309	1825
AD-1571090.1	GAAGUAUGAUUUGCCGUGCA	1290-1310	84	AUGCACGGCAAUAUCAUACUUCUG	1288-1310	1826
AD-1571091.1	AAGUAUGAUUUGCCGUGCAC	1291-1311	1711	AGUGCACGGCAAUAUCAUACUUCU	1289-1311	1827
AD-1571092.1	GUAUGAUUUGCCGUGCACCCU	1293-1313	1712	AGGGTGCACGGCAAUAUCAUACU	1291-1313	1828
AD-1571093.1	GGCCAGUGGACGAUCCAGAAU	1315-1335	751	AUUCTGGAUCGUCCACUGGCCCU	1313-1335	1829

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
AD-1571094.1	GCCAGUGGACGAUCCAGAACU	1316-1336	752	AGUUCUGGAUCGUCCACUGGCC	1314-1336	945
AD-1571096.1	UGGACGAUCCAGAACAGGAGU	1321-1341	755	ACUCCUGUUCUGGAUCGUCCACU	1319-1341	948
AD-1571097.1	CACCUCCCAGAUCUCCCUCAU	1419-1439	757	AUGAGGGAGAUCUGGGAGGUGA A	1417-1439	1830
AD-1571098.1	UGCGGGUGCACUAUGGCUUGU	1451-1471	759	ACAAGCCAUAUGUGCACCCGCACA	1449-1471	1831
AD-1571099.1	GCGGGUGCACUAUGGCUUGU	1452-1472	91	AACAAGCCAUAUGUGCACCCGCAC	1450-1472	217
AD-1571100.1	CGGGUGCACUAUGGCUUGUAU	1453-1473	761	AUACAAGCCAUAUGUGCACCCGCA	1451-1473	1832
AD-1571102.1	AACGGCCUGGAUGAGAGAAAU	1561-1581	767	AUUUCUCUCAUCCAGGCCGUUGG	1559-1581	1833
AD-1571103.1	CGGCCUGGAUGAGAGAAACU	1563-1583	769	AAGUTUCUCUCAUCCAGGCCGUU	1561-1583	1834
AD-1571104.1	GAGAAACUGCGUUUGCAGAGU	1575-1595	772	ACUCTGCAAACGCAGUUUCUCUC	1573-1595	1835
AD-1571105.1	CUGCGUUUGCAGAGCCACAUAU	1581-1601	773	AAUGTGGCUCUGCAAACGCAGUU	1579-1601	1836
AD-1571106.1	UGCGUUUGCAGAGCCACAUAU	1582-1602	774	AAAUGUGGCUCUGCAAACGCAGU	1580-1602	1837
AD-1571107.1	CGUUUGCAGAGCCACAUAUCCU	1584-1604	776	AGGAAUGUGGCUCUGCAAACGC A	1582-1604	1838
AD-1571108.1	GCAGAGCCACAUAUCCAGUGCU	1589-1609	777	AGCACUGGAAUGUGGCUCUGCA A	1587-1609	968
AD-1571109.1	GGACAUAUACCUUCCAGUGU	1711-1731	779	ACACTGGAAGGUGAAUGUCCCAC	1709-1731	1839
AD-1571110.1	GGACAUAUACCUUCCAGUGUU	1712-1732	103	AACACUGGAAGGUGAAUGUCCC A	1710-1732	229
AD-1571111.1	ACAUAUACCUUCCAGUGUGAU	1714-1734	105	AUCACACUGGAAGGUGAAUGUC	1712-1734	184

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
				C		0
AD-1571112.1	AGCUGCGUGAAGAAGCCCAA U	1741-1761	782	AUUGGGCUUCUUCACGCAGCUCC	1739-1761	184 1
AD-1571113.1	GCUGCGUGAAGAAGCCCAACU	1742-1762	783	AGUUGGGCUUCUUCACGCAGCUC	1740-1762	184 2
AD-1571114.1	CUGCGUGAAGAAGCCCAACCU	1743-1763	784	AGGUTGGGCUUCUUCACGCAGCU	1741-1763	184 3
AD-1571115.1	UGCGUGAAGAAGCCCAACCCU	1744-1764	785	AGGGTUGGGCUUCUUCACGCAGC	1742-1764	184 4
AD-1571116.1	AGCACUGUGACUGUGGCCUCU	1808-1828	786	AGAGGCCACAGUCACAGUGCUC	1806-1828	184 5
AD-1571117.1	CUCCGAGGGUGAGUGGCCAU U	1866-1886	787	AAUGGCCACUCACCCUCGGAGGA	1864-1886	976
AD-1571118.1	AUCGCUGACCGCUGGGUGAU U	1936-1956	107	AAUCACCCAGCGGUCAGCGAUGA	1934-1956	233
AD-1571119.1	UCGCUGACCGCUGGGUGAUA U	1937-1957	788	AUAUCACCCAGCGGUCAGCGAUG	1935-1957	184 6
AD-1571120.1	GCUGACCGCUGGGUGAUAAC U	1939-1959	790	AGUUAUCACCCAGCGGUCAGCGA	1937-1959	980
AD-1571121.1	GCUGGGUGAUAACAGCUGCC U	1946-1966	791	AGGCAGCUGUUAUCACCCAGCGG	1944-1966	981
AD-1571122.1	UGCUUCCAGGAGGACAGCAU U	1969-1989	792	AAUGCUGUCCUCCUGGAAGCAGU	1967-1989	184 7
AD-1571123.1	CUUCCAGGAGGACAGCAUGG U	1971-1991	794	ACCATGCUGUCCUCCUGGAAGCA	1969-1991	184 8
AD-1571124.1	CUGGGCAAGGUGUGGCAGAA U	2017-2037	171 3	AUUCTGCCACACCUUGCCCAGGA	2015-2037	184 9
AD-1571125.1	UGGGCAAGGUGUGGCAGAAC U	2018-2038	797	AGUUCUGCCACACCUUGCCCAGG	2016-2038	986
AD-1571126.1	GGCAAGGUGUGGCAGAACUC	2020-2040	799	AGAGTUCUGCCACACCUUGCCCA	2018-2040	185



Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
	U					0
AD-1571127.1	UGGCCUGGAGAGGUGUCCUU U	2044-2064	802	AAAGGACACCUCUCCAGGCCAGC	2042-2064	990
AD-1571128.1	GCCUGGAGAGGUGUCCUUCA U	2046-2066	804	AUGAAGGACACCUCUCCAGGCCA	2044-2066	185 1
AD-1571129.1	CCUGGAGAGGUGUCCUUCAA U	2047-2067	171 4	AUUGAAGGACACCUCUCCAGGCC	2045-2067	185 2
AD-1571130.1	UGUGCAGUUGAUCCCACAGG U	2289-2309	171 5	ACCUGUGGGAUCAACUGCACAUC	2287-2309	994
AD-1571131.1	UGCAGUUGAUCCCACAGGACU	2291-2311	808	AGUCCUGUGGGAUCAACUGCACA	2289-2311	995
AD-1571132.1	AUCCCACAGGACCUUGUGCAGU	2299-2319	117	ACUGCACAGGUCCUGUGGGAUCA	2297-2319	243
AD-1571133.1	CCCACAGGACCUUGUGCAGCGU	2301-2321	809	ACGCTGCACAGGUCCUGUGGGAU	2299-2321	185 3
AD-1571134.1	CCACAGGACCUUGUGCAGCGAU	2302-2322	171 6	AUCGCUGCACAGGUCCUGUGGGA	2300-2322	185 4
AD-1571135.1	CCAGGUGACGCCACGCAUGCU	2334-2354	811	AGCATGCGUGGCGUCACCUGGUA	2332-2354	185 5
AD-1571136.1	GUGACGCCACGCAUGCUGUGU	2338-2358	812	ACACAGCAUGCUGGCGUCACCU	2336-2358	100 0
AD-1571137.1	UGACGCCACGCAUGCUGUGUU	2339-2359	118	AACACAGCAUGCUGGCGUCACC	2337-2359	244
AD-1571138.1	ACGCCACGCAUGCUGUGUGCU	2341-2361	171 7	AGCACACAGCAUGCUGGCGUCA	2339-2361	185 6
AD-1571139.1	GGCUACCGCAAGGGCAAGAA U	2362-2382	814	AUUCTUGCCCUUGC GGUAGCCGG	2360-2382	185 7
AD-1571140.1	GUGCAAGGCACUCAGUGGCCU	2418-2438	815	AGGCCACUGAGUGCCUUGCACAC	2416-2438	185 8
AD-1571141.1	CUAACUACUUCGGCGUCUACU	2486-2506	171 8	AGUAGACGCCGAAGUAGUUAGG C	2484-2506	100 6
AD-1571142.1	CUACACCCGCAUCACAGGUGU	2502-2522	124	ACACCUGUGAUGC GGGUGUAGA	2500-2522	250

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609.4	SEQ ID NO:
				C		
AD-1571143.1	CCCGCAUCACAGGUGUGAUCU	2507-2527	822	AGAUCACACCUGUGAUGC GGGU	2505-2527	1012
AD-1571144.1	UGGAUCCAGCAAGUGGUGACU	2530-2550	823	AGUACCACUUGCUGGAUCCAGC	2528-2550	1859
AD-1571145.1	AUCCAGCAAGUGGUGACCUGU	2533-2553	1719	ACAGGUCACCACUUGCUGGAUCC	2531-2553	1860
AD-1571146.1	CCAGCAAGUGGUGACCUGAGU	2535-2555	1720	ACUCAGGUCACCACUUGCUGGAU	2533-2555	1016
AD-1571147.1	CAGCAAGUGGUGACCUGAGGU	2536-2556	1721	ACCUCAGGUCACCACUUGCUGGA	2534-2556	1017
AD-1571148.1	GCAAGUGGUGACCUGAGGAAU	2538-2558	1722	AUUCCUCAGGUCACCACUUGCUG	2536-2558	1861
AD-1571149.1	UGGUGGCAGGAGGUGGCAUCU	2667-2687	829	AGAUGCCACCUCUGCCACCACA	2665-2687	1862
AD-1571150.1	GGUGGCAGGAGGUGGCAUCU	2668-2688	830	AAGATGCCACCUCUGCCACCAC	2666-2688	1863
AD-1571151.1	GUGGCAGGAGGUGGCAUCUU	2669-2689	831	AAAGAUGCCACCUCUGCCACCA	2667-2689	1021
AD-1571152.1	UCCAGUGAUGGCAGGAGGAU	2709-2729	1723	AAUCCUCCUGCCAUCACUGGAGC	2707-2729	1864
AD-1571153.1	CUAACUUGGGAUCUGGGAAU	2978-2998	835	AAUUCCAGAUCCAAGUUAGAC	2976-2998	1025
AD-1571154.1	GUGAGCUCAGCUGCCCUUGU	3157-3177	837	ACAAAGGGCAGCUGAGCUCACCU	3155-3177	1026
AD-1571155.1	CUCAGCUGCCCUUGGAAUAU	3162-3182	838	AUAUTCAAAGGGCAGCUGAGCU	3160-3182	1865
AD-1571156.1	UCAGCUGCCCUUGGAAUAAU	3163-3183	1724	AUUATUCCAAAGGGCAGCUGAGC	3161-3183	1866
AD-1571157.1	CCCUUGGAAUAAAGCUGCCU	3170-3190	172	AGGCAGCUUUAUCCAAAGGGC	3168-3190	186

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609. 4	SE Q ID NO:	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	Диапазон в NM_153609. 4	SE Q ID NO:
			5	A		7
AD-1571158.1	CCUUUGGAAUAAAGCUGCCU U	3171-3191	844	AAGGCAGCUUUAUCCAAAGGG C	3169-3191	186 8
AD-1571159.1	UUUGGAAUAAAGCUGCCUGA U	3173-3193	845	AUCAGGCAGCUUUAUCCAAAG G	3171-3193	186 9
AD-1571160.1	UUGGAAUAAAGCUGCCUGAU U	3174-3194	846	AAUCAGGCAGCUUUAUCCAAA G	3172-3194	187 0
AD-1571161.1	UGGAAUAAAGCUGCCUGAUC U	3175-3195	847	AGAUCAGGCAGCUUUAUCCAA A	3173-3195	187 1

**Таблица 7. Модифицированные последовательности смысловой и антисмысловой цепей агентов на основе дцРНК против TMPRSS6**

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1570929.1	csgsgaggUfgAfUfGfgcgaggaaguL96	187 2	asCfsuudCc(Tgn)cgccauCfaCfcuc cgsusc	209 9	GACGGAGGUGAUGGCGAGG AAGC	149 1
AD-1570930.1	cscsugugAfgGfAfCfuccaagagauL96	187 3	asUfscudCu(Tgn)ggagucCfuCfaca ggscsc	210 0	GGCCUGUGAGGACUCCAAG AGAA	149 5
AD-1570931.1	csusgugaGfgAfCfUfccaagagaauL96	187 4	asUfsudCt(Tgn)uggaguCfcUfcac agsgsc	210 1	GCCUGUGAGGACUCCAAGA GAAA	149 6
AD-1570932.1	csuscuggUfaUfUfUfcuagguauL96	187 5	asUfsacdCc(Tgn)aggaaaUfaCfcag agsusa	210 2	UACUCUGGUAUUUCCUAGG GUAC	532
AD-1570933.1	gsgsuauUfcCfUfAfgguacaaguL96	187 6	asCfsuudGu(Agn)cccuagGfaAfaaa ccsag	210 3	CUGGUAUUUCCUAGGGUAC AAGG	149 9
AD-1570934.1	gsusauuuCfcUfAfGfgguacaagguL96	187 7	asCfscudTg(Tgn)accuaGfgAfaau acscsa	210 4	UGGUAUUUCCUAGGGUACA AGGC	150 0
AD-	gsgsucagCfcAfGfGfuguacucaguL96	187	asCfsugdAg(Tgn)acaccuGfgCfuga	210	AUGGUCAGCCAGGUGUACU	535

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1570935.1		8	ccsasu	5	CAGG	
AD-1570936.1	uscsagccAfgGfUfGfuacucaggcL96	1879	asGfscddTg(Agn)guacacCfuGfgcu gascsc	2106	GGUCAGCCAGGUGUACUCA GGCA	1504
AD-1570937.1	asgscagGfuGfUfAfcucaggcaguL96	1880	asCfsugdCc(Tgn)gaguacAfcCfugg cusgsa	2107	UCAGCCAGGUGUACUCAGG CAGU	536
AD-1570938.1	csascuucUfcCfCfAfggaucuuacuL96	1881	asGfsuadAg(Agn)uccuggGfaGfaa gugsgsc	2108	GCCACUUCUCCCAGGAUCU UACC	1508
AD-1570939.1	uscsuccAfgGfAfUfcuuaccgcL96	1882	asGfscgdGg(Tgn)aagaucCfuGfgga gasasg	2109	CUUCUCCCAGGAUCUUACC CGCC	1509
AD-1570940.1	gscscuucCfgCfAfGfugaaccgcL96	1883	asGfscgdGu(Tgn)ucacugCfgGfaag gesasc	2110	GUGCCUCCGCAGUGAAAC CGCC	540
AD-1570941.1	cscsuuccGfcAfGfUfgaaaccgccuL96	1884	asGfsgcdGg(Tgn)uucacuGfcGfgaa ggscsa	2111	UGCCUCCGCAGUGAAACC GCCA	1512
AD-1570942.1	gscsagugAfaAfCfCfGCCaaagccuL96	1885	asGfsgcdTu(Tgn)ggcgguUfuCfacu gcsghg	2112	CCGCAGUGAAACCGCCAAA GCCC	1516
AD-1570943.1	csasgugaAfaCfCfGfccaaagcccuL96	1886	asGfsggdCu(Tgn)uggcggUfuUfca cugscsg	2113	CGCAGUGAAACCGCCAAAG CCA	1517
AD-1570944.1	asgsugaaAfcCfGfCfcaaagcccauL96	1887	asUfsggdGc(Tgn)uuggcgGfuUfuc acusgsc	2114	GCAGUGAAACCGCCAAAGC CCAG	1518
AD-1570945.1	csgsccaaAfgCfCfCfagaagauL96	1888	asGfscadTc(Tgn)ucugggCfuUfugg csggsu	2115	ACCGCCAAAGCCCAGAAGA UGCU	1519
AD-1570946.1	asgscccaGfaAfGfAfugcucaagguL96	1889	asCfscudTg(Agn)gcaucuUfcUfggg cususu	2116	AAAGCCCAGAAGAUGCUCU AGGA	1521
AD-1570947.1	asgscaccCfGfCfUfgggaacuuauL96	1890	asUfsaadGu(Tgn)cccaggCfGfgug cusghg	2117	CCAGCACCCGCCUGGGAAC UUAC	1523
AD-1570948.1	csasacucCfaGfCfUfccgucuauuuL96	1891	asAfsaudAg(Agn)cggagcUfgGfag uugsusa	2118	UACAACUCCAGCUCCGUCU AUUC	541
AD-1570949.1	uscsaccuGfcUfUfCfuucugguucuL96	1892	asGfsaadCc(Agn)gaagaaGfcAfggu gasghg	2119	CCUCACCUGCUUCUUCUGG UUCA	544

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1570950.1	cscsugcuUfcUfUfCfugguucuuuL96	189 3	asAfsaudGa(Agn)ccagaaGfaAfgcaggusug	212 0	CACCUGCUUCUUCUGGUUC AUUC	546
AD-1570951.1	csusgcuuCfuUfCfUfgguucuuuL96	189 4	asGfsaadTg(Agn)accagaAfgAfagcagsgsu	212 1	ACCUGCUUCUUCUGGUUCA UUCU	152 6
AD-1570952.1	csusucuuCfuGfGfUfcauucuccuL96	189 5	asGfsgadGa(Agn)ugaaccAfgAfagaagscsa	212 2	UGCUCUUCUGGUUCAUUC UCCA	549
AD-1570953.1	ususcuucUfgGfUfUfcauucuccauL96	189 6	asUfsggdAg(Agn)augaacCfaGfaagaagsc	212 3	GCUUCUUCUGGUUCAUUCU CCAA	550
AD-1570954.1	csusucugGfuUfCfAfuucuccaaauL96	189 7	asUfsuudGg(Agn)gaaugaAfcCfagaagsasa	212 4	UUCUUCUGGUUCAUUCUCC AAU	152 8
AD-1570955.1	csusgguuCfaUfUfCfuccaaauccuL96	189 8	asGfsgadTu(Tgn)ggagaaUfgAfaceagsasa	212 5	UUCUGGUUCAUUCUCCAAA UCCC	551
AD-1570956.1	gscsugcuGfuCfCfAfcagucaacauL96	189 9	asUfsgudTg(Agn)cuguggAfcAfgcagcsusc	212 6	GAGCUGCUGUCCACAGUCA ACAG	153 4
AD-1570957.1	gscsugucCfaCfAfGfucaacagcuL96	190 0	asAfsgcdTg(Tgn)ugacugUfgGfacegcsasg	212 7	CUGCUGUCCACAGUCAACA GCUC	153 5
AD-1570958.1	usgsuccaCfaGfUfCfaacagcucguL96	190 1	asCfsgadGc(Tgn)guugacUfgUfggacagsgc	212 8	GCUGUCCACAGUCAACAGC UCGG	153 7
AD-1570959.1	gsgsccgaGfuAfCfGfaaguggaccuL96	190 2	asGfsgudCc(Agn)cuucguAfcUfcggccscsu	212 9	AGGGCCGAGUACGAAGUGG ACCC	153 9
AD-1570960.1	asusccugGfaAfGfCfcagugugaauL96	190 3	asUfsucdAc(Agn)cuggcuUfcCfagauscса	213 0	UGAUCCUGGAAGCCAGUGU GAAA	154 0
AD-1570961.1	cscsuggaAfgCfCfAfgugugaaaguL96	190 4	asCfsuudTc(Agn)cacuggCfuUfcaaggсsасu	213 1	AUCCUGGAAGCCAGUGUGA AAGA	154 2
AD-1570962.1	usgsaagCfcAfGfUfgugaaagacuL96	190 5	asGfsudTu(Tgn)cacacuGfgCfuucacsgsg	213 2	CCUGGAAGCCAGUGUGAAA GACA	154 4
AD-1570963.1	gsgsaagcCfaGfUfGfugaaagacauL96	190 6	asUfsgudCu(Tgn)ucacacUfgGfcuuccsасg	213 3	CUGGAAGCCAGUGUGAAAG ACAU	154 5
AD-	gsasagccAfgUfGfUfgaaagacauL96	190	asAfsugdTc(Tgn)uucacaCfuGfgcu	213	UGGAAGCCAGUGUGAAAGA	154

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1570964.1		7	ucscsa	4	CAUA	6
AD-1570965.1	asgscagUfgUfGfAfaagacauaguL96	1908	asCfsuadTg(Tgn)cuuucaCfaCfuggcususc	2135	GAAGCCAGUGUGAAAGACA UAGC	1548
AD-1570966.1	cscsagugUfgAfAfAfgacauagcuuL96	1909	asAfsgcdTa(Tgn)gucuuuCfaCfacuggscsu	2136	AGCCAGUGUGAAAGACAUA GCUG	554
AD-1570967.1	asgsugugAfaAfGfAfcuagcugcuL96	1910	asGfscadGc(Tgn)augucuUfuCfacacugsgg	2137	CCAGUGUGAAAGACAUAGC UGCA	1550
AD-1570968.1	gsusgaaaGfaCfAfUfagcugcauuuL96	1911	asAfsaudGc(Agn)gcuauGufUfuucacsasc	2138	GUGUGAAAGACAUAGCUGC AUUG	1553
AD-1570969.1	asusugaaUfuCfCfAfcgucggguuL96	1912	asAfsacdCc(Agn)gcguggAfaUfucausgsc	2139	GCAUUGAAUCCACGCUGG GUUG	556
AD-1570970.1	asasuuccAfcGfCfUfggguuguuuL96	1913	asUfsaadCa(Agn)cccagcGfuGfgaa uucsa	2140	UGAAUCCACGCUGGGUUG UUAC	559
AD-1570971.1	csascgcuGfgGfUfUfguuaccgcuL96	1914	asAfsgcdGg(Tgn)aacaacCfcAfcgugsgsa	2141	UCCACGCUGGGUUGUUACC GCUA	562
AD-1570972.1	usgsgguuGfuUfAfCfcgcuacagcuL96	1915	asGfscudGu(Agn)gcgguAfcAfac ccasgsc	2142	GCUGGGUUGUUACCGCUAC AGCU	1557
AD-1570973.1	gsgsguugUfuAfCfCfcuacagcuL96	1916	asAfsgcdTg(Tgn)agcggAfaCfaac ccsagsg	2143	CUGGGUUGUUACCGCUACA GCUA	1558
AD-1570974.1	csasaacuCfcGfGfCfuggaguggauL96	1917	asUfscddAc(Tgn)ccagccGfgAfguu ugsasg	2144	CUCAAACUCCGGCUGGAGU GGAC	1559
AD-1570975.1	gsgsgaccGfaCfUfGfgccauguauuL96	1918	asAfsuadCa(Tgn)ggccagUfcGfguc ccsgsg	2145	CCGGGACCGACUGGCAUG UAUG	564
AD-1570976.1	csgsacugGfcCfAfUfguagacguuL96	1919	asAfscgdTc(Agn)uacaugGfcCfagucgsgsu	2146	ACCGACUGGCAUGUAUGA CGUG	1560
AD-1570977.1	usgsgagaAfgAfGfGfcucaucaccuL96	1920	asGfsgudGa(Tgn)gagccuCfuUfcuc casgsg	2147	CCUGGAGAAGAGGCUCAUC ACCU	1562
AD-1570978.1	gsgsagaaGfaGfGfCfucaucaccuL96	1921	asAfsggdTg(Agn)ugagccUfcUfuc uccsagsg	2148	CUGGAGAAGAGGCUCAUCA CCUC	1563

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1570979.1	gsasagaaGfgGfCfCfugcacagcuL96	192 2	asAfsgcdTg(Tgn)gcaggcCfcUfucuucscsa	214 9	UGGAAGAAGGGCCUGCACA GCUA	156 6
AD-1570980.1	asgsggccUfgCfAfCfagcuacuacuL96	192 3	asGfsuadGu(Agn)gcugugCfaGfgccususc	215 0	GAAGGGCCUGCACAGCUAC UACG	156 9
AD-1570981.1	cscsugcaCfaGfCfUfacuacgaccuL96	192 4	asGfsgudCg(Tgn)aguagcUfgUfgcaggscsc	215 1	GGCCUGCACAGCUACUACG ACCC	573
AD-1570982.1	gsasggagGfcAfGfAfaguaugauuuL96	192 5	asAfsaudCa(Tgn)acuucuGfcCfuccucsasg	215 2	CUGAGGAGGCAGAAGUAUG AUUU	580
AD-1570983.1	asgsgaggCfaGfAfAfguaugauuuuL96	192 6	asAfsaadTc(Agn)uacuucUfgCfcucuscscsa	215 3	UGAGGAGGCAGAAGUAUGA UUUG	157 2
AD-1570984.1	asgsuaugAfuUfUfGfccgugcaccuL96	192 7	asGfsgudGc(Agn)cggcaaAfuCfaucuscusc	215 4	GAAGUAUGAUUUGCCGUGC ACCC	157 4
AD-1570985.1	cscsagugGfaCfGfAfuccagaacauL96	192 8	asUfsgudTc(Tgn)ggaucgUfcCfacuggscsc	215 5	GGCCAGUGGACGAUCCAGA ACAG	157 8
AD-1570986.1	cscsagaaCfaGfGfAfggcuguguguL96	192 9	asCfsacdAc(Agn)gccuccUfgUfucuggsasu	215 6	AUCCAGAACAGGAGGCUGU GUGG	591
AD-1570987.1	asgsaacaGfgAfGfGfcuguguggcuL96	193 0	asGfscddAc(Agn)cagccuCfcUfguucsgsg	215 7	CCAGAACAGGAGGCUGUGU GGCU	592
AD-1570988.1	ascsuucaCfcUfCfCfcagaucuccuL96	193 1	asGfsgadGa(Tgn)cugggaGfgUfgaagususg	215 8	CAACUUCACCUCCCAGAUC UCCC	158 0
AD-1570989.1	usgsugcgGfgUfGfCfacuauggcuuL96	193 2	asAfsgcdCa(Tgn)agugcaCfcCfgcacscsc	215 9	GGUGUGCGGGUGCACUAUG GCUU	593
AD-1570990.1	gsusgcccGfuGfCfAfcuauggcuuuL96	193 3	asAfsagdCc(Agn)uagugcAfcCfcgacacsasc	216 0	GUGUGCGGGUGCACUAUGG CUUG	594
AD-1570991.1	gsgsgugcAfcUfAfUfgguuguacuL96	193 4	asGfsuadCa(Agn)gccauaGfuGfcaccsgsc	216 1	GCGGGUGCACUAUGGCUUG UACA	596
AD-1570992.1	gsgsugcaCfuAfUfGfgcuuguacauL96	193 5	asUfsgudAc(Agn)agccauAfgUfgcaccscsg	216 2	CGGGUGCACUAUGGCUUGU ACAA	158 4
AD-	usgscacuAfuGfGfCfuuguacaacuL96	193	asGfsuudGu(Agn)caagccAfuAfgu	216	GGUGCACUAUGGCUUGUAC	158

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1570993.1		6	gcascsc	3	AACC	5
AD-1570994.1	gscsacuaUfgGfCfUfuguacaaccuL96	1937	asGfsgudTg(Tgn)acaagcCfaUfagu gcsasc	2164	GUGCACUAUGGCUUGUACA ACCA	1586
AD-1570995.1	csusgcccUfgGfAfGfaguuccucuuL96	1938	asAfsgadGg(Agn)acucucCfaGfggc agsgsg	2165	CCCUGCCCUGGAGAGUCC UCUG	599
AD-1570996.1	ascsggccUfgGfAfUfgagagaaacuL96	1939	asGfsuudTc(Tgn)cucaucCfaGfgcc gususg	2166	CAACGGCCUGGAUGAGAGA AACU	1589
AD-1570997.1	gscscuggAfuGfAfGfagaaacugcuL96	1940	asGfscadGu(Tgn)ucucucAfuCfcag gscscg	2167	CGGCCUGGAUGAGAGAAAC UGCG	600
AD-1570998.1	cscsuggaUfgAfGfAfgaacugcguL96	1941	asCfsgcdAg(Tgn)uucucuCfaUfcca ggscsc	2168	GGCCUGGAUGAGAGAAACU GCGU	1591
AD-1570999.1	asgsagaaAfcUfGfCfguuugcagauL96	1942	asUfscudGc(Agn)aacgcaGfuUfucu cuscsa	2169	UGAGAGAAACUGCGUUUGC AGAG	1592
AD-1571000.1	gscsguuuGfcAfGfAfgccacauuucL96	1943	asGfsaadTg(Tgn)ggcucuGfcAfaac gcsasg	2170	CUGCGUUUGCAGAGCCACA UCC	1596
AD-1571001.1	usgsggacAfuUfCfAfccuuccaguuL96	1944	asAfscudGg(Agn)aggugaAfuGfuc ccascsa	2171	UGUGGGACAUUCACCUCC AGUG	606
AD-1571002.1	gsasgcugCfgUfGfAfagaagcccauL96	1945	asUfsggdGc(Tgn)ucuucaCfgCfagc ucscsg	2172	CGGAGCUGCGUGAAGAAGC CCAA	1600
AD-1571003.1	csgscugaCfcGfCfUfgggugauauL96	1946	asUfsuadTc(Agn)cccagcGfgUfcag cgsasu	2173	AUCGCUGACCGCUGGGUGA UAAC	1608
AD-1571004.1	gscsuuccAfgGfAfGfagacagcauguL96	1947	asCfsaudGc(Tgn)guccucCfuGfgaa gcsasg	2174	CUGCUUCCAGGAGGACAGC AUGG	1612
AD-1571005.1	csgsuguuCfcUfGfGfcaagguguuL96	1948	asAfscadCc(Tgn)ugcccaGfgAfaca cgsgsu	2175	ACCGUGUCCUGGGCAAGG UGUG	613
AD-1571006.1	gsgsgcaaGfgUfGfUfggcagaacuuL96	1949	asAfsgudTc(Tgn)gccacaCfcUfugc ccsasg	2176	CUGGGCAAGGUGUGGCAGA ACUC	1616
AD-1571007.1	gscsaaggUfgUfGfGfcagaacucguL96	1950	asCfsgadGu(Tgn)cugccaCfaCfcuu gscscsc	2177	GGGCAAGGUGUGGCAGAAC UCGC	615



Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571008.1	csasagguGfuGfGfCfagaacucgcuL96	1951	asGfscgdAg(Tgn)ucugccAfcAfccuugscsc	2178	GGCAAGGUGUGGCAGAACUCGCG	1618
AD-1571009.1	gsgscugGfaGfAfGfguguccuucuL96	1952	asGfsaadGg(Agn)caccucUfcCfaggccsasg	2179	CUGGCCUGGAGAGGUGUCCUUCA	1620
AD-1571010.1	csusggagAfgGfUfGfuccuucaaguL96	1953	asCfsuudGa(Agn)ggacacCfuCfuccagsgsc	2180	GCCUGGAGAGGUGUCCUUC AAGG	617
AD-1571011.1	asgsagguGfuCfCfUfucaaggugauL96	1954	asUfscadCc(Tgn)ugaaggAfcAfccucuscsc	2181	GGAGAGGUGUCCUUCAAGGUGAG	620
AD-1571012.1	gscsuaccGfcAfAfGfggcaagaaguL96	1955	asCfsuudCu(Tgn)gccccuGfcGfguagcscsg	2182	CGGCUACCGCAAGGGCAAG AAGG	624
AD-1571013.1	csusaccgCfaAfGfGfgcaagaagguL96	1956	asCfscudTc(Tgn)ugcccuUfgCfgguagcscsc	2183	GGCUACCGCAAGGGCAAGA AGGA	625
AD-1571014.1	ascsuacuUfcGfGfCfugucuacaccuL96	1957	asGfsgudGu(Agn)gacgccGfaAfguagususa	2184	UAACUACUUCGGCGUCUAC ACCC	1633
AD-1571015.1	csusacuuCfGfCfGfucuacaccuL96	1958	asGfsggdTg(Tgn)agacgcCfGfaguagsusu	2185	AACUACUUCGGCGUCUACA CCG	1634
AD-1571016.1	gscsgucuAfcAfCfCfGcaucacauL96	1959	asUfsgudGa(Tgn)gcggguGfuAfgacgscsg	2186	CGGCGUCUACACCCGCAUC ACAG	1635
AD-1571017.1	csgsucuaCfaCfCfGcaucacaguL96	1960	asCfsugdTg(Agn)ugcgggUfgUfagacgscsc	2187	GGCGUCUACACCCGCAUCA CAGG	1636
AD-1571018.1	ascscgcAfuCfAfCfaggugugauL96	1961	asAfsucdAc(Agn)ccugugAfuGfcggugusgu	2188	ACACCCGCAUCACAGGUGU GAUC	1637
AD-1571019.1	gsasuccaGfcAfAfGfuggugaccuL96	1962	asAfsaggdTc(Agn)ccacuuGfcUfggauccsa	2189	UGGAUCCAGCAAGUGGUGA CCUG	1640
AD-1571020.1	gsgscaggAfgGfUfGfgcaucuuguuL96	1963	asAfsadAg(Agn)ugccacCfuCfugccsasc	2190	GUGGCAGGAGGUGGCAUCU UGUC	631
AD-1571021.1	uscscugAfuGfUfCfugcuccaguL96	1964	asAfsudGg(Agn)gcagacAfuCfagggascsg	2191	CGUCCUGAUGUCUGCUCC AGUG	1648
AD-	csusgaugUfcUfGfCfuccagugauL96	196	asAfsucdAc(Tgn)ggagcaGfaCfauc	219	CCCUGAUGUCUGCUCCAGU	164

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1571022.1		5	agsgsg	2	GAUG	9
AD-1571023.1	gsgscucaGfcAfGfCfaagaaugcuL96	1966	asAfsgcdAu(Tgn)cuugcuGfcUfga gccsasc	2193	GUGGCUCAGCAGCAAGAAU GCUG	636
AD-1571024.1	ususgggaUfcUfGfGfgaauggaaguL96	1967	asCfsuudCc(Agn)uucccaGfaUfcc aasgsu	2194	ACUUGGGAUCUGGGAAUGG AAGG	642
AD-1571025.1	csasgcugCfcCfUfUfuggaauaaauL96	1968	asUfsuudAu(Tgn)ccaagGfgCfagc ugsasg	2195	CUCAGCUGCCCUUUGGAAU AAAG	1655
AD-1571026.1	csusgcccUfuUfGfGfaauaaagcuL96	1969	asAfsgcdTu(Tgn)auuccaAfaGfggc agscsu	2196	AGCUGCCCUUUGGAAUAAA GCUG	648
AD-1571027.1	gscscuuUfgGfAfAfaaaagcugcuL96	1970	asGfscadGc(Tgn)uuauucCfaAfagg gesasg	2197	CUGCCCUUUGGAAUAAAGC UGCC	1656
AD-1571028.1	cscsucacCfuGfCfUfucuucugguuL96	1971	asAfsccaGfaAfGfaagcAfgGfugag gsgsg	2198	CCCCUCACCUGCUUCUUCU GGUU	2328
AD-1571029.1	cscsucacCfuGfCfUfucuucugguuL96	1971	asAfsccaGfaAfGfaagcAfgGfugag gscsu	2199	CCCCUCACCUGCUUCUUCU GGUU	2328
AD-1571030.1	uscsacCfuGfCfUfucuucugguuL96	1972	asAfsccaGfaAfGfaagcAfgGfugasg sg	2200	CCUCACCUGCUUCUUCUGG UU	2329
AD-1571031.1	uscsacCfuGfCfUfucuucugguuL96	1972	asAfsccaGfaAfGfaagcAfgGfugasg su	2201	CCUCACCUGCUUCUUCUGG UU	2329
AD-1571032.1	ascscfuGfCfUfucuucugguuL96	1973	asAfsccaGfaAfGfaagcAfgGfusgsa	2202	UCACCUGCUUCUUCUGGUU	2330
AD-1571033.1	Q191sUfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfg GfsusUf	1974	asAfsccfaGfaAfgAfaGfcAfgGfus Gfsa	2203	UCACCUGCUUCUUCUGGUU	2330
AD-1571034.1	gsgsagguGfaUfGfGfcgaggaagcuL96	1975	asGfscudTc(C2p)ucgccaUfcAfccu ccsgsu	2204	ACGGAGGUGAUGGCGAGGA AGCG	1492
AD-1571035.1	asasggccUfgUfGfAfggacuccaauL96	1976	asUfsugdGa(G2p)uccucaCfaGfgcc uusgsa	2205	UCAAGGCCUGUGAGGACUC CAAG	1493
AD-1571036.1	gsgsccugUfgAfGfGfacuccaagauL96	1977	asUfscudTg(G2p)aguccuCfaCfagg ccusu	2206	AAGGCCUGUGAGGACUCCA AGAG	1494

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571037.1	gscscuguGfaGfGfAfcuccaagaguL96	1978	asCfsucdTu(G2p)gaguccUfcAfcag gcscsu	2207	AGGCCUGUGAGGACUCCAA GAGA	524
AD-1571038.1	csusacucUfgGfUfAfuuuccuagguL96	1979	asCfscudAg(G2p)aaauacCfaGfagu agscsa	2208	UGCUACUCUGGUAUUUCCU AGGG	529
AD-1571039.1	uscsgguAfuUfUfCfcuagguacuL96	1980	asGfsuadCc(C2p)uaggaaAfuAfcca gasgsu	2209	ACUCUGGUAUUUCCUAGGG UACA	533
AD-1571040.1	csusgguaUfuUfCfCfcuagguacauL96	1981	asUfsgudAc(C2p)cuaggaAfaUfacc agsasg	2210	CUCUGGUAUUUCCUAGGGU ACAA	1497
AD-1571041.1	usgsguauUfuCfCfUfagguacauL96	1982	asUfsugdTa(C2p)ccuaggAfaAfuac casgsa	2211	UCUGGUAUUUCCUAGGGUA CAAG	1498
AD-1571042.1	csusagggUfaCfAfAfggaggagguL96	1983	asAfsccdTc(C2p)gccuugUfaCfcu agsgsa	2212	UCCUAGGGUACAAGGCGGA GGUG	1501
AD-1571043.1	asusggucAfgCfCfAfgguguacucuL96	1984	asGfsagdTa(C2p)accuggCfuGfacc auscsa	2213	UGAUGGUCAGCCAGGUGUA CUCA	1502
AD-1571044.1	gsuscagcCfaGfGfUfguacucagguL96	1985	asCfscudGa(G2p)uacaccUfgGfcug acscsa	2214	UGGUCAGCCAGGUGUACUC AGGC	1503
AD-1571045.1	csasgccaGfgUfGfUfacucaggcauL96	1986	asUfsgcdCu(G2p)aguacaCfcUfggc ugsasc	2215	GUCAGCCAGGUGUACUCAG GCAG	1505
AD-1571046.1	csuscaauCfgCfCfAfcuucuccauL96	1987	asUfsggdGa(G2p)aaguggCfgAfu gagsusa	2216	UACUCAAUCGCCACUUCUC CCAG	1506
AD-1571047.1	csgscacUfuCfUfCfccaggauuuL96	1988	asAfsgadTc(C2p)ugggagAfaGfug gcgsasu	2217	AUCGCCACUUCUCCAGGA UCUU	1507
AD-1571048.1	gscscacuUfcUfCfCfcaggauuuL96	1989	asAfsagdAu(C2p)cugggaGfaAfgu ggcgsa	2218	UCGCCACUUCUCCAGGAU CUUA	537
AD-1571050.1	uscscagGfaUfCfUfuaccgccguL96	1990	asCfsggdCg(G2p)gaaagaUfcCfug ggasgsa	2219	UCUCCAGGAUCUUACCCG CCGG	539
AD-1571051.1	usasgucCfuUfCfCfcagugaaauL96	1991	asUfsuudCa(C2p)ugcggaAfgGfcac uasgsa	2220	UCUAGUGCCUCCGCAGUG AAAC	1511
AD-	csusuccgCfaGfUfGfaaccgccauL96	199	asUfsggdCg(G2p)uuucacUfgCfug	222	GCCUCCGCAGUGAAACCG	151

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1571052.1		2	aagsgsc	1	CCAA	3
AD-1571053.1	cscsgcagUfgAfAfAfccgccaaguL96	1993	asCfsuudTg(G2p)cgguuuCfaCfugc ggsasa	2222	UUCCGCAGUGAAACCGCCA AAGC	1514
AD-1571054.1	csgscaguGfaAfAfCfcgccaagcuL96	1994	asGfscudTu(G2p)gcgguuUfcAfcu gcgsgsa	2223	UCCGCAGUGAAACCGCCA AGCC	1515
AD-1571055.1	gscscaaGfcCfCfAfgaagaugcuL96	1995	asAfsgcdAu(C2p)uucuggGfcUfuu ggcsghg	2224	CCGCCAAAGCCCAGAAGAU GCUC	1520
AD-1571056.1	csasgcacCfcGfCfCfugggaacuuL96	1996	asAfsagdTu(C2p)ccaggeGfgGfugc ugsgsu	2225	ACCAGCACCCGCCUGGGAA CUAU	1522
AD-1571057.1	ascsaacuCfcAfGfCfuccgucuauL96	1997	asAfsuadGa(C2p)ggagcuGfgAfgu ugusag	2226	CUACAACUCCAGCUCGUC UAUU	1524
AD-1571058.1	csasccugCfuUfCfUfucugguacauL96	1998	asUfsgadAc(C2p)agaagaAfgCfagg ugsag	2227	CUCACCGUCUUCUUCUGGU UCAU	1525
AD-1571059.1	usgsuucUfuCfUfGfguacuuL96	1999	asAfsgadAu(G2p)aaccagAfaGfaag casghg	2228	CCUGCUUCUUCUGGUUCAU UCUC	547
AD-1571060.1	uscsuucGfgUfUfCfauucuccaauL96	2000	asUfsugdGa(G2p)aaugaaCfcAfgaa gasag	2229	CUUCUUCUGGUUCAUUCUC CAAA	1527
AD-1571061.1	ususcuggUfuCfAfUfucuccaaauL96	2001	asAfsuudTg(G2p)agaauGfaCfcag aasgsa	2230	UCUUCUGGUUCAUUCUCCA AAUC	1529
AD-1571062.1	uscsugguUfcAfUfUfcuccaaauL96	2002	asGfsaudTu(G2p)gagaauGfaAfcca gasag	2231	CUUCUGGUUCAUUCUCCA AUCC	1530
AD-1571063.1	gsusggagGfaGfCfUfgcuguccacuL96	2003	asGfsugdGa(C2p)agcagcUfcCfucc acscsa	2232	UGGUGGAGGAGCUGCUGUC CACA	1531
AD-1571064.1	gsasggagCfuGfCfUfguccacaguL96	2004	asAfsudGu(G2p)gacagcAfgCfucc ucscsa	2233	UGGAGGAGCUGCUGUCCAC AGUC	1532
AD-1571065.1	asgscugcUfgUfCfCfacagucaacuL96	2005	asGfsuudGa(C2p)uguggaCfaGfca gcuscsc	2234	GGAGCUGCUGUCCACAGUC AACA	1533
AD-1571066.1	csusguccAfcAfGfUfcaacagcucuL96	2006	asGfsagdCu(G2p)uugacuGfuGfga cagscsa	2235	UGCUGUCCACAGUCAACAG CUCG	1536

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571067.1	ascsagggCfcGfAfGfuacgaaguguL96	2007	asCfsacdTu(C2p)guacucGfgCfccugusag	2236	CUACAGGGCCGAGUACGAA GUGG	552
AD-1571068.1	gsgsgccgAfgUfAfCfgaaguggacuL96	2008	asGfsucdCa(C2p)uucguaCfuCfggcccsusg	2237	CAGGGCCGAGUACGAAGUG GACC	1538
AD-1571069.1	uscscuggAfaGfCfCfagugugaaauL96	2009	asUfsuudCa(C2p)acuggcUfuCfcag gasusc	2238	GAUCCUGGAAGCCAGUGUG AAAG	1541
AD-1571070.1	csusggaaGfcCfAfGfugugaaagauL96	2010	asUfscudTu(C2p)acacugGfcUfucc agsgsa	2239	UCCUGGAAGCCAGUGUGAA AGAC	1543
AD-1571071.1	asasgccaGfuGfUfGfaagacauauL96	2011	asUfsaudGu(C2p)uuucacAfcUfggcuuscsc	2240	GGAAGCCAGUGUGAAAGAC AUAG	1547
AD-1571072.1	gscscaguGfuGfAfAfagacauagcuL96	2012	asGfscudAu(G2p)ucuuucAfcAfcu ggsusu	2241	AAGCCAGUGUGAAAGACAU AGCU	1549
AD-1571074.1	usgsugaaAfgAfCfAfuagcugcauuL96	2013	asAfsugdCa(G2p)cuauguCfuUfuc acascsu	2242	AGUGUGAAAGACAUAGCUG CAUU	1552
AD-1571075.1	ascsgcugGfgUfUfGfuuaccgcuauL96	2014	asUfsagdCg(G2p)uaacaCfcCfagc gusgsg	2243	CCACGCUGGGUUGUUACCG CUAC	1554
AD-1571076.1	csgscuggGfuUfGfUfuaccgcuacuL96	2015	asGfsuadGc(G2p)guaacaAfcCfcag cgsusg	2244	CACGCUGGGUUGUUACCGC UACA	1555
AD-1571077.1	gscsugggUfuGfUfUfaccgcuacauL96	2016	asUfsgudAg(C2p)gguaacAfaCfcca gcsusu	2245	ACGCUGGGUUGUUACCGCU ACAG	1556
AD-1571078.1	csusggguUfgUfUfAfccgcuacaguL96	2017	asCfsugdTa(G2p)cgguaaCfaAfccc agscsg	2246	CGCUGGGUUGUUACCGCUA CAGC	563
AD-1571079.1	csusggagAfaGfAfGfgcucaucacuL96	2018	asGfsugdAu(G2p)agccucUfuCfuc cagsgsg	2247	CCCUGGAGAAGAGGCUCAU CACC	1561
AD-1571080.1	gsasgaagAfgGfCfUfcaucaccucuL96	2019	asGfsagdGu(G2p)augagcCfuCfuu cucscsa	2248	UGGAGAAGAGGCUCAUCAC CUCG	1564
AD-1571081.1	gsasagagGfcUfCfAfuaccucgguL96	2020	asCfscgdAg(G2p)ugaugaGfcCfuc uucsusc	2249	GAGAAGAGGCUCAUCACCU CGGU	1565
AD-	asgsgcucAfuCfAfCfcucgguguauL96	202	asUfsacdAc(C2p)gaggugAfuGfag	225	AGAGGCUCAUCACCUCGGU	571

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1571082.1		1	ccuscsu	0	GUAC	
AD-1571083.1	asasgaagGfgCfCfUfgcacagcuauL96	202 2	asUfsagdCu(G2p)ugcaggCfcCfuuc uuscsc	225 1	GGAAGAAGGGCCUGCACAG CUAC	156 7
AD-1571084.1	asasgggcCfuGfCfAfcagcuacuauL96	202 3	asUfsagdTa(G2p)cugugcAfgGfccc uuscsc	225 2	AGAAGGGCCUGCACAGCUA CUAC	156 8
AD-1571085.1	cscsucucUfgGfAfCfuacggcuuguL96	202 4	asCfsaadGc(C2p)guagucCfaGfaga ggsgsc	225 3	GCCCUCUCUGGACUACGGC UUGG	574
AD-1571086.1	uscucugGfaCfUfAfcggcuuggcuL96	202 5	asGfscddAa(G2p)ccguagUfcCfaga gasgsg	225 4	CCUCUCUGGACUACGGCUU GGCC	575
AD-1571087.1	usgsgacuAfcGfGfCfuuggcccucuL96	202 6	asGfsagdGg(C2p)caagccGfuAfguc casgsa	225 5	UCUGGACUACGGCUUGGCC CUCU	157 0
AD-1571088.1	gsgsacuaCfgGfCfUfuggcccucuL96	202 7	asAfsagdGg(G2p)ccaagcCfGufagu ccsag	225 6	CUGGACUACGGCUUGGCC UCUG	157 1
AD-1571089.1	asgsaaguAfuGfAfUfuuggccgugcuL96	202 8	asGfscadCg(G2p)caaaucAfuAfcuu cusgsc	225 7	GCAGAAGUAUGAUUUGCCG UGCA	587
AD-1571090.1	gsasaguaUfgAfUfUfugccgugcauL96	202 9	asUfsgcdAc(G2p)gcaaaUcfaUfacu ucsusg	225 8	CAGAAGUAUGAUUUGCCGU GCAC	588
AD-1571091.1	asasguauGfaUfUfUfgccgugcacuL96	203 0	asGfsugdCa(C2p)ggcaaaUfcAfuac uuscsc	225 9	AGAAGUAUGAUUUGCCGUG CACC	157 3
AD-1571092.1	gsusaugaUfuUfGfCfegugcaccuL96	203 1	asGfsggdTg(C2p)acggcaAfaUfcu acsusu	226 0	AAGUAUGAUUUGCCGUGCA CCCA	157 5
AD-1571093.1	gsgsccagUfgGfAfCfgauccagaauL96	203 2	asUfsudTg(G2p)aucgucCfaCfugg ccscsu	226 1	AGGGCCAGUGGACGAUCCA GAAC	157 6
AD-1571094.1	gscscaguGfgAfCfGfauccagaacuL96	203 3	asGfsuudCu(G2p)gaucguCfcAfcu ggscsc	226 2	GGGCCAGUGGACGAUCCAG AACA	157 7
AD-1571096.1	usgsgacgAfuCfCfAfgaacaggaguL96	203 4	asCfsudCu(G2p)uucuggAfuCfgu ccascsu	226 3	AGUGGACGAUCCAGAACAG GAGG	157 9
AD-1571097.1	csasccucCfcAfGfAfucuccuacuL96	203 5	asUfsgadGg(G2p)agaucuGfgGfag gugsasa	226 4	UUCACCUCCAGAUUCUCC UCAC	158 1

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571098.1	usgscgggUfgCfAfCfuauggcuuguL96	2036	asCfsaadGc(C2p)auagugCfaCfccg cascsa	2265	UGUGCGGGUGCACUAUGGC UUGU	1582
AD-1571099.1	gscsggggUfgCfAfCfUfauggcuuguuL96	2037	asAfsadAg(C2p)cauaguGfcAfccc gcsasc	2266	GUGCGGGUGCACUAUGGCU UGUA	595
AD-1571100.1	csgsgggugCfaCfUfAfuggcuuguauL96	2038	asUfsacdAa(G2p)ccaauagUfgCfacc cgsaca	2267	UGCGGGUGCACUAUGGCUU GUAC	1583
AD-1571102.1	asascggcCfuGfGfAfugagagaaauL96	2039	asUfsuudCu(C2p)ucauccAfgGfccg uusgsg	2268	CCAACGGCCUGGAUGAGAG AAC	1588
AD-1571103.1	csgsgccuGfgAfUfGfagagaaacuL96	2040	asAfsugdTu(C2p)ucucuCfcAfggc cgsusu	2269	AACGGCCUGGAUGAGAGAA ACUG	1590
AD-1571104.1	gsasgaaaCfuGfCfGfuugcagaguL96	2041	asCfsudTg(C2p)aaacgcAfgUfuuc ucusuc	2270	GAGAGAAACUGCGUUUGCA GAGC	1593
AD-1571105.1	csusgcuUfuGfCfAfgagccacauL96	2042	asAfsugdTg(G2p)cucugcAfaAfcgc agsusu	2271	AACUGCGUUUGCAGAGCCA CAUU	1594
AD-1571106.1	usgscguUfgCfAfGfagccacauuL96	2043	asAfsaudGu(G2p)gcucugCfaAfac gcasgsu	2272	ACUGCGUUUGCAGAGCCAC AUUC	1595
AD-1571107.1	csgsuuugCfaGfAfGfccacauuccuL96	2044	asGfsgadAu(G2p)uggcucUfgCfaa acgsaca	2273	UGCGUUUGCAGAGCCACAU UCCA	1597
AD-1571108.1	gscsagagCfcAfCfAfuuccagugcuL96	2045	asGfscadCu(G2p)gaauguGfgCfuc ugesasa	2274	UUGCAGAGCCACAUUCCAG UGCA	1598
AD-1571109.1	gsggacaUfuCfAfCfcuuccaguguL96	2046	asCfsacdTg(G2p)aaggugAfaUfguc ccsasc	2275	GUGGGACAUUCACCUUCCA GUGU	1599
AD-1571110.1	gsgsacauUfcAfCfCfuuccaguguuL96	2047	asAfsadCu(G2p)gaagguGfaAfug ucscsa	2276	UGGGACAUUCACCUUCCAG UGUG	607
AD-1571111.1	ascsauucAfcCfUfUfccagugugauL96	2048	asUfsadCa(C2p)uggaagGfuGfaau guscsc	2277	GGACAUUCACCUUCCAGUG UGAG	609
AD-1571112.1	asgscugcGfuGfAfAfgaagcccauL96	2049	asUfsugdGg(C2p)uucuucAfcGfca gcuscsc	2278	GGAGCUGCGUGAAGAAGCC CAAC	1601
AD-	gscsugcgUfgAfAfGfaagcccaacuL96	205	asGfsuudGg(G2p)cuucuuCfaCfgc	227	GAGCUGCGUGAAGAAGCCC	160

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1571113.1		0	agcsusc	9	AACC	2
AD-1571114.1	csusgcguGfaAfGfAfagcccaaccuL96	2051	asGfsgudTg(G2p)gcuucuUfcAfcg cagscsu	2280	AGCUGCGUGAAGAAGCCCA ACCC	1603
AD-1571115.1	usgscgugAfaGfAfAfagcccaaccuL96	2052	asGfsggdTu(G2p)ggcuucUfuCfac gcasgsc	2281	GCUGCGUGAAGAAGCCCAA CCCG	1604
AD-1571116.1	asgscacuGfuGfAfCfuguggccucuL96	2053	asGfsagdGc(C2p)acagucAfcAfgug cuscsc	2282	GGAGCACUGUGACUGUGGC CUCC	1605
AD-1571117.1	csusccgaGfgGfUfGfaguggccauuL96	2054	asAfsugdGc(C2p)acucacCfcUfcgg agsgsa	2283	UCCUCCGAGGGUGAGUGGC CAUG	1606
AD-1571118.1	asuscgcuGfaCfCfGfcugggugauuL96	2055	asAfsucdAc(C2p)cagcggUfcAfcg ausgsa	2284	UCAUCGCUGACCGCUGGGU GAUA	611
AD-1571119.1	uscsgcugAfcCfGfCfugggugauauL96	2056	asUfsaudCa(C2p)ccagcgGfuCfagc gasusg	2285	CAUCGCUGACCGCUGGGUG AUAA	1607
AD-1571120.1	gscsugacCfgCfUfGfugugauaacuL96	2057	asGfsuudAu(C2p)accagCfgGfuca gcsgsa	2286	UCGCUGACCGCUGGGUGAU AACA	1609
AD-1571121.1	gscsugggUfgAfUfAfacagcugccuL96	2058	asGfsgcdAg(C2p)uguuauCfaCfcca gcsghg	2287	CCGCUGGGUGAUAACAGCU GCCC	1610
AD-1571122.1	usgscuucCfaGfGfAfggacagcauuL96	2059	asAfsugdCu(G2p)uccuccUfgGfaa gcasgsu	2288	ACUGCUUCCAGGAGGACAG CAUG	1611
AD-1571123.1	csusuccaGfgAfGfGfacagcaugguL96	2060	asCfscadTg(C2p)uguccuCfcUfgga agscsa	2289	UGCUIUCCAGGAGGACAGCA UGGC	1613
AD-1571124.1	csusgggcAfaGfGfUfugggcagaauL96	2061	asUfsucdTg(C2p)cacaccUfuGfccc agsgsa	2290	UCCUGGGCAAGGUGUGGCA GAAC	1614
AD-1571125.1	usgsggcaAfgGfUfGfugggcagaacuL96	2062	asGfsuudCu(G2p)ccacacCfuUfgcc casghg	2291	CCUGGGCAAGGUGUGGCAG AACU	1615
AD-1571126.1	gsgscaagGfuGfUfGfgcagaacucuL96	2063	asGfsagdTu(C2p)ugccacAfcCfuug ccscsa	2292	UGGGCAAGGUGUGGCAGAA CUCG	1617
AD-1571127.1	usgsgccuGfgAfGfAfgguguccuuuL96	2064	asAfsagdGa(C2p)accucuCfcAfggc casghc	2293	GCUGGCCUGGAGAGGUGUC CUUC	1619



Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571128.1	gscscuggAfgAfGfGfuguccuL96	2065	asUfsgadAg(G2p)acaccuCfuCfcag gcscsa	2294	UGGCCUGGAGAGGUGUCCU UCAA	1621
AD-1571129.1	cscsuggaGfaGfGfUfguccuL96	2066	asUfsugdAa(G2p)gacaccUfcUfcca ggscsc	2295	GGCCUGGAGAGGUGUCCUU CAAG	1622
AD-1571130.1	usgsugcaGfuUfGfAfuccacagguL96	2067	asCfscudGu(G2p)ggaucaAfcUfgca casusc	2296	GAUGUGCAGUUGAUCCCAC AGGA	1623
AD-1571131.1	usgscaguUfgAfUfCfccacaggacuL96	2068	asGfsucdCu(G2p)ugggauCfaAfcu gcascsa	2297	UGUGCAGUUGAUCCCACAG GACC	1624
AD-1571132.1	asuscccaCfaGfGfAfccugugcaguL96	2069	asCfsugdCa(C2p)agguccUfgUfgg gauscsa	2298	UGAUCCCACAGGACCUGUG CAGC	621
AD-1571133.1	cscscacaGfgAfCfCfugugcagcguL96	2070	asCfsgcdTg(C2p)acagguCfcUfgug ggsasu	2299	AUCCCACAGGACCUGUGCA GCGA	1625
AD-1571134.1	cscsacagGfaCfCfUfgugcagcgauL96	2071	asUfscgdCu(G2p)cacaggUfcCfugu ggsgsa	2300	UCCCACAGGACCUGUGCAG CGAG	1626
AD-1571135.1	cscsagguGfaCfGfCfcacgaugcuL96	2072	asGfscadTg(C2p)guggcgUfcAfcu ggsusa	2301	UACCAGGUGACGCCACGCA UGCU	1627
AD-1571136.1	gsusgacgCfcAfCfGfcaugcuguguL96	2073	asCfsacdAg(C2p)augcguGfgCfguc acscsu	2302	AGGUGACGCCACGCAUGCU GUGU	1628
AD-1571137.1	usgsacgcCfaCfGfCfaugcuguguL96	2074	asAfsacdCa(G2p)caugcgUfgGfcgu cascsc	2303	GGUGACGCCACGCAUGCUG UGUG	622
AD-1571138.1	ascsgccaCfgCfAfUfgcugugugcuL96	2075	asGfscadCa(C2p)agcaugCfgUfggc guscscsa	2304	UGACGCCACGCAUGCUGUG UGCC	1629
AD-1571139.1	gsgscuacCfgCfAfAfgggcaagaauL96	2076	asUfsucdTu(G2p)cccuugCfgGfuag ccsgsg	2305	CCGGCUACCGCAAGGGCAA GAAG	1630
AD-1571140.1	gsusgcaaGfgCfAfCfucaguggccuL96	2077	asGfsgcdCa(C2p)ugagugCfcUfguc acsasc	2306	GUGUGCAAGGCACUCAGUG GCCG	1631
AD-1571141.1	csusaacuAfcUfUfCfggcgucacuL96	2078	asGfsuadGa(C2p)gccgaaGfuAfgu uagsgsc	2307	GCCUAACUACUUCGGCGUC UACA	1632
AD-	csusacacCfcGfCfAfucacagguguL96	207	asCfsacdCu(G2p)ugaugcGfgGfug	230	GUCUACACCCGCAUCACAG	628

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
1571142.1		9	uagsasc	8	GUGU	
AD-1571143.1	cscscgcaUfcAfCfAfggugugaucuL96	2080	asGfsaudCa(C2p)accuguGfaUfgcg ggsusg	2309	CACCCGCAUCACAGGUGUG AUCA	1638
AD-1571144.1	usgsgaucCfaGfCfAfguggugacuL96	2081	asGfsucdAc(C2p)acuugcUfgGfauc casgsc	2310	GCUGGAUCCAGCAAGUGGU GACC	1639
AD-1571145.1	asusccagCfaAfGfUfggugaccuguL96	2082	asCfsagdGu(C2p)accacuUfgCfugg auscsc	2311	GGAUCCAGCAAGUGGUGAC CUGA	1641
AD-1571146.1	cscsagcaAfgUfGfGfugaccugaguL96	2083	asCfsucdAg(G2p)ucaccaCfuUfgcu ggsasu	2312	AUCCAGCAAGUGGUGACCU GAGG	1642
AD-1571147.1	csasgcaaGfuGfGfUfgaccugagguL96	2084	asCfscudCa(G2p)gucaccAfcUfugc ugsgsa	2313	UCCAGCAAGUGGUGACCU GAGG	1643
AD-1571148.1	gscsaaguGfgUfGfAfcugaggaauL96	2085	asUfsucdCu(C2p)aggucaCfcAfcuu gcsusg	2314	CAGCAAGUGGUGACCUGAG GAAC	1644
AD-1571149.1	usgsguggCfaGfGfAfgguggcaucuL96	2086	asGfsaudGc(C2p)accuccUfgCfcac cascsa	2315	UGUGGUGGCAGGAGGUGGC AUCU	1645
AD-1571150.1	gsgsuggcAfgGfAfgfuggcaucuuL96	2087	asAfsgadTg(C2p)caccucCfuGfcca ccsasc	2316	GUGGUGGCAGGAGGUGGCA UCUU	1646
AD-1571151.1	gsusggcaGfgAfGfGfuggcaucuuuL96	2088	asAfsagdAu(G2p)ccaccuCfcUfgcc acscsa	2317	UGGUGGCAGGAGGUGGCAU CUUG	1647
AD-1571152.1	uscscaguGfaUfGfGfcaggaggauuL96	2089	asAfsucdCu(C2p)cugccaUfcAfcug gasgsc	2318	GCUCCAGUGAUGGCAGGAG GAUG	1650
AD-1571153.1	csusaacuUfgGfGfAfcugggaauuL96	2090	asAfsuudCc(C2p)agauccCfaAfguu agsasc	2319	GUCUAACUUGGGAUCUGGG AAUG	1651
AD-1571154.1	gsusgagcUfcAfGfCfugccuuuguL96	2091	asCfsaadAg(G2p)gcagcuGfaGfcuc acscsu	2320	AGGUGAGCUCAGCUGCCCU UUGG	1652
AD-1571155.1	csuscagcUfgCfCfCfuuggaauauL96	2092	asUfsaudTc(C2p)aaaggCfaGfcug agscsu	2321	AGCUCAGCUGCCCUUUGGA AUAA	1653
AD-1571156.1	uscscagcuGfcCfCfUfuuggaauauL96	2093	asUfsuadTu(C2p)caaaggGfcAfgcu gasgsc	2322	GCUCAGCUGCCCUUUGGAA UAAA	1654

Название дуплекса	Последовательность смысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Последовательность антисмысловой цепи от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :	Целевая последовательность мРНК от 5'-конца к 3'-концу	SE Q ID NO :
AD-1571157.1	cscscuuuGfgAfAfUfaaagcugccuL96	209 4	asGfsgcdAg(C2p)uuuuuuCfcAfaa gggscsa	232 3	UGCCCUUUGGAAUAAAGCU GCCU	165 7
AD-1571158.1	cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuuL96	209 5	asAfsaggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaa ggsgsc	232 4	GCCCUUUGGAAUAAAGCUG CCUG	165 8
AD-1571159.1	ususuggaAfuAfAfAfgcugccugauL96	209 6	asUfscadGg(C2p)agcuuuAfuUfcca aasgsg	232 5	CCUUUGGAAUAAAGCUGCC UGAU	165 9
AD-1571160.1	ususggaaUfaAfAfGfcugccugauL96	209 7	asAfsucdAg(G2p)cagcuUfaUfuc caasag	232 6	CUUUGGAAUAAAGCUGCCU GAUC	166 0
AD-1571161.1	usgsgaauAfaAfGfCfugccugaucuL96	209 8	asGfsaudCa(G2p)gcagcuUfuAfuu ccasasa	232 7	UUUGGAAUAAAGCUGCCUG AUCC	166 1

Таблица 8. Скрининг однократной дозы в клетках Нер3b

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1570929.1	55	8	73	7	55	8
AD-1571034.1	76	5	94	7	129	8
AD-1571035.1	62	15	73	11	82	8
AD-1571036.1	53	8	75	11	92	4
AD-1554875.1	14	3	21	4	30	5
AD-1571037.1	29	7	44	12	98	9
AD-1570930.1	15	3	22	3	30	2
AD-1570931.1	11	2	14	1	21	8
AD-1554909.1	22	6	39	1	44	8
AD-1554910.1	21	4	30	3	39	7
AD-1554911.1	21	3	32	10	36	5
AD-1554912.1	21	3	46	3	51	5
AD-1554913.1	50	6	71	15	66	13
AD-1571038.1	95	21	96	9	121	9
AD-1554914.1	47	8	74	9	70	9
AD-1554915.1	28	3	51	9	50	7
AD-1554916.1	34	5	54	8	64	8
AD-1570932.1	17	3	34	5	55	8
AD-1554917.1	25	5	47	4	52	8
AD-1571039.1	31	3	55	13	89	10
AD-1571040.1	37	8	43	11	86	11
AD-1571041.1	36	9	61	16	97	32
AD-1570933.1	92	14	109	22	97	3
AD-1570934.1	80	11	103	9	71	9
AD-1554923.1	41	6	79	16	72	7
AD-1571042.1	69	19	70	4	93	5
AD-1571043.1	56	11	81	16	107	8
AD-1554951.1	32	5	59	2	56	7
AD-1570935.1	60	12	79	12	73	7
AD-1571044.1	78	9	64	14	122	21
AD-1570936.1	103	24	105	13	102	22
AD-1571045.1	76	15	99	15	122	22
AD-1554955.1	31	6	48	4	51	6
AD-1570937.1	27	5	54	3	61	3
AD-1571046.1	37	9	60	16	87	16
AD-1571047.1	23	3	28	7	45	9
AD-1554992.1	85	6	99	9	75	2
AD-1571048.1	74	14	98	10	111	20
AD-1570938.1	36	4	71	12	70	11
AD-1554997.1	24	6	43	3	50	4
AD-1570939.1	111	16	117	11	84	8

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1555000.1	30	5	51	4	64	12
AD-1571050.1	51	10	87	6	88	8
AD-1571051.1	44	7	68	18	77	15
AD-1555030.1	30	6	61	7	57	9
AD-1570940.1	27	4	62	6	70	6
AD-1570941.1	103	16	113	11	79	10
AD-1571052.1	23	4	38	1	40	7
AD-1571053.1	31	2	58	14	76	5
AD-1571054.1	28	5	46	5	56	6
AD-1570942.1	47	4	70	5	76	8
AD-1570943.1	27	7	42	3	68	4
AD-1570944.1	38	6	36	4	62	6
AD-1570945.1	52	8	87	7	67	4
AD-1571055.1	43	6	68	12	83	10
AD-1570946.1	80	11	89	11	82	4
AD-1571056.1	44	3	70	13	87	13
AD-1570947.1	54	9	80	14	84	9
AD-1571057.1	43	3	62	6	67	14
AD-1555106.1	16	5	17	2	35	8
AD-1570948.1	26	7	34	6	53	7
AD-1555112.1	33	5	61	4	64	8
AD-1571028.1	65	8	87	6	105	10
AD-1571029.1	69	12	83	4	112	19
AD-1555114.1	25	6	36	3	43	12
AD-1555115.1	26	5	38	4	40	6
AD-1570949.1	29	5	45	3	56	8
AD-1571030.1	37	2	61	12	74	12
AD-1571031.1	46	11	64	14	79	10
AD-1571058.1	34	4	44	3	53	5
AD-1555117.1	23	6	27	5	38	2
AD-1571032.1	54	1	80	14	86	7
AD-1571033.1	44	5	80	11	101	23
AD-1555118.1	30	7	33	3	47	5
AD-1570950.1	31	6	44	5	63	5
AD-1570951.1	28	6	33	7	46	3
AD-1555120.1	24	6	33	4	53	11
AD-1571059.1	28	5	44	6	55	5
AD-1555121.1	36	5	55	4	69	7
AD-1555122.1	22	4	32	5	49	6
AD-1570952.1	25	4	45	6	52	8
AD-1555123.1	35	7	43	1	70	5
AD-1570953.1	93	6	102	14	101	12

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1571060.1	25	4	42	9	53	11
AD-1570954.1	23	6	32	3	72	17
AD-1571061.1	22	3	35	3	43	3
AD-1571062.1	44	7	68	5	87	15
AD-1555128.1	36	7	41	6	63	15
AD-1570955.1	31	8	35	2	48	9
AD-1571063.1	80	10	88	14	89	6
AD-1571064.1	87	8	94	6	123	6
AD-1571065.1	68	4	80	9	93	8
AD-1570956.1	48	9	76	7	93	19
AD-1570957.1	50	11	66	3	82	14
AD-1571066.1	35	5	43	9	82	26
AD-1570958.1	69	12	102	7	92	3
AD-1555184.1	87	13	100	12	99	5
AD-1571067.1	80	18	77	11	93	12
AD-1555185.1	63	15	88	15	100	13
AD-1571068.1	71	10	55	6	73	15
AD-1570959.1	104	13	106	9	85	6
AD-1570960.1	48	9	62	18	79	16
AD-1571069.1	57	5	41	10	81	9
AD-1570961.1	73	12	101	2	94	13
AD-1571070.1	48	5	44	11	78	8
AD-1570962.1	57	11	88	6	82	13
AD-1570963.1	33	6	52	4	50	8
AD-1570964.1	52	10	83	7	92	19
AD-1571071.1	59	4	65	6	85	16
AD-1570965.1	86	17	109	12	100	16
AD-1571072.1	72	6	75	4	120	8
AD-1555212.1	42	11	56	7	71	13
AD-1570966.1	32	5	39	9	58	6
AD-1555213.1	33	6	36	5	47	7
AD-1570967.1	35	8	58	10	52	4
AD-1571074.1	19	3	31	6	33	4
AD-1570968.1	30	6	41	4	44	7
AD-1555234.1	30	6	41	6	56	5
AD-1570969.1	42	8	62	10	61	8
AD-1555235.1	51	9	77	12	72	5
AD-1555236.1	59	7	67	15	68	3
AD-1555238.1	45	8	55	9	58	1
AD-1570970.1	77	10	88	32	74	6
AD-1555241.1	41	6	57	10	39	9
AD-1555242.1	47	6	83	6	71	3

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1555243.1	41	8	65	7	67	4
AD-1570971.1	93	11	108	8	92	14
AD-1571075.1	25	5	37	5	38	3
AD-1571076.1	15	4	33	9	41	8
AD-1571077.1	39	9	43	13	46	11
AD-1555247.1	42	4	51	4	78	8
AD-1571078.1	16	3	40	14	49	4
AD-1570972.1	53	15	67	39	40	18
AD-1570973.1	45	5	35	8	55	8
AD-1570974.1	76	12	81	16	81	9
AD-1555342.1	73	16	69	3	78	18
AD-1570975.1	108	21	84	15	103	13
AD-1555343.1	80	12	92	5	91	9
AD-1555345.1	84	10	97	6	103	13
AD-1555346.1	54	12	71	7	86	3
AD-1570976.1	71	11	70	9	93	5
AD-1555348.1	57	22	64	6	84	12
AD-1555349.1	36	8	50	2	66	7
AD-1555350.1	57	9	58	10	77	10
AD-1571079.1	71	12	77	10	65	11
AD-1570977.1	34	8	68	10	92	8
AD-1570978.1	30	13	53	4	86	5
AD-1571080.1	63	11	70	3	71	14
AD-1571081.1	76	12	79	3	94	16
AD-1555366.1	42	4	48	2	78	2
AD-1571082.1	37	3	54	5	56	11
AD-1570979.1	31	8	54	12	72	10
AD-1571083.1	45	4	54	6	56	8
AD-1571084.1	34	1	53	11	58	11
AD-1570980.1	82	13	81	14	92	9
AD-1555428.1	48	12	75	8	96	4
AD-1555429.1	47	7	66	8	90	4
AD-1570981.1	34	14	66	3	92	6
AD-1555535.1	41	2	65	5	71	6
AD-1571085.1	48	6	77	6	69	8
AD-1555537.1	52	1	63	4	115	12
AD-1571086.1	40	2	54	6	61	3
AD-1571087.1	69	15	76	4	97	13
AD-1571088.1	39	7	63	8	60	7
AD-1555546.1	20	4	30	4	56	7
AD-1555547.1	24	3	47	4	73	11
AD-1555548.1	41	5	55	5	79	7

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1555549.1	61	10	89	7	84	11
AD-1555581.1	35	5	60	9	95	12
AD-1570982.1	55	1	80	11	95	11
AD-1570983.1	61	5	84	10	100	13
AD-1555583.1	40	4	65	3	89	9
AD-1555584.1	50	5	78	11	102	8
AD-1555585.1	49	4	74	13	86	9
AD-1555586.1	48	11	70	5	86	18
AD-1555587.1	34	9	60	6	89	11
AD-1555588.1	40	7	56	7	91	10
AD-1555589.1	34	3	52	11	83	13
AD-1571089.1	32	3	42	6	60	3
AD-1555590.1	46	6	68	16	87	5
AD-1571090.1	40	8	54	10	69	12
AD-1571091.1	39	8	52	7	56	7
AD-1570984.1	77	11	100	10	110	8
AD-1571092.1	39	9	76	6	86	16
AD-1571093.1	71	9	76	7	86	10
AD-1571094.1	66	7	73	18	104	13
AD-1570985.1	25	5	43	10	60	4
AD-1555615.1	43	2	60	7	82	12
AD-1555616.1	60	10	84	22	91	9
AD-1571096.1	90	10	95	12	96	14
AD-1555626.1	69	15	67	11	99	11
AD-1570986.1	71	6	90	10	93	5
AD-1555628.1	81	7	85	11	102	15
AD-1570987.1	119	16	99	14	126	8
AD-1570988.1	82	7	96	8	116	10
AD-1571097.1	43	3	65	11	61	6
AD-1555706.1	60	10	78	16	101	18
AD-1570989.1	59	17	83	12	96	12
AD-1555707.1	34	8	57	5	81	9
AD-1570990.1	63	9	67	8	93	9
AD-1571098.1	48	3	73	3	82	10
AD-1555709.1	44	3	72	12	89	14
AD-1571099.1	50	11	79	12	92	7
AD-1571100.1	24	5	44	3	64	10
AD-1555711.1	49	5	78	4	97	15
AD-1570991.1	77	8	122	9	114	11
AD-1570992.1	78	6	127	24	97	12
AD-1570993.1	28	4	51	1	77	6
AD-1570994.1	67	1	85	18	102	11



Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1555717.1	42	2	57	1	73	8
AD-1555723.1	48	5	70	11	100	13
AD-1555725.1	42	3	71	11	98	17
AD-1570995.1	90	13	110	20	129	15
AD-1571102.1	24	4	37	4	58	5
AD-1570996.1	47	8	87	24	112	13
AD-1571103.1	43	6	68	8	92	14
AD-1555768.1	37	8	66	14	92	18
AD-1570997.1	43	6	85	17	89	20
AD-1570998.1	61	7	91	16	90	23
AD-1555771.1	17	3	34	6	44	5
AD-1555772.1	23	3	43	10	66	17
AD-1555776.1	52	12	82	12	117	23
AD-1570999.1	120	18	120	23	154	33
AD-1571104.1	70	9	56	7	91	16
AD-1571105.1	20	1	40	5	40	5
AD-1571106.1	31	2	47	7	74	14
AD-1571000.1	38	5	94	12	112	16
AD-1571107.1	25	1	52	5	70	6
AD-1555789.1	27	2	55	7	72	9
AD-1571108.1	65	9	87	6	92	21
AD-1555894.1	52	13	65	9	115	5
AD-1555895.1	37	7	58	8	78	17
AD-1571001.1	59	11	96	15	96	16
AD-1571109.1	62	4	83	7	93	10
AD-1555897.1	57	15	88	21	125	13
AD-1571110.1	79	11	109	10	118	10
AD-1555898.1	47	7	87	24	114	24
AD-1555899.1	78	6	109	14	104	4
AD-1571111.1	88	5	95	8	107	17
AD-1555900.1	45	4	99	12	86	5
AD-1571002.1	19	8	61	5	69	6
AD-1571112.1	27	3	50	6	65	11
AD-1571113.1	41	2	64	8	82	16
AD-1571114.1	39	5	62	5	77	15
AD-1571115.1	54	7	70	7	74	13
AD-1571116.1	41	4	70	8	75	13
AD-1571117.1	110	3	108	23	102	14
AD-1556052.1	19	3	42	5	73	17
AD-1571118.1	24	5	60	6	79	3
AD-1571119.1	30	3	55	10	83	13
AD-1571003.1	42	4	87	7	94	11

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1571120.1	44	7	58	11	77	15
AD-1556057.1	33	5	69	12	71	7
AD-1571121.1	69	11	77	6	87	8
AD-1571122.1	46	4	62	13	81	19
AD-1571004.1	106	5	115	12	111	10
AD-1571123.1	90	10	103	6	102	9
AD-1556126.1	43	2	103	18	100	16
AD-1571005.1	40	16	99	10	88	10
AD-1556127.1	38	3	75	14	77	7
AD-1571124.1	44	6	84	11	102	15
AD-1571125.1	54	6	95	16	107	19
AD-1571006.1	35	0	76	9	80	2
AD-1571126.1	49	11	70	10	72	12
AD-1556137.1	40	1	85	17	86	3
AD-1571007.1	66	12	117	20	104	14
AD-1571008.1	55	5	101	25	107	8
AD-1556139.1	48	7	84	15	101	21
AD-1571127.1	60	5	76	6	79	8
AD-1571009.1	23	6	76	19	66	8
AD-1571128.1	42	5	71	11	95	15
AD-1571129.1	47	9	71	11	87	18
AD-1556163.1	27	6	81	14	85	11
AD-1571010.1	61	5	94	11	73	5
AD-1556164.1	52	5	41	7	77	2
AD-1556166.1	55	10	88	7	89	14
AD-1556167.1	43	7	93	13	114	8
AD-1571011.1	44	12	99	12	101	14
AD-1571130.1	48	3	82	12	83	15
AD-1571131.1	54	7	78	10	99	21
AD-1556319.1	34	5	47	15	62	9
AD-1571132.1	75	15	100	25	114	14
AD-1571133.1	96	24	110	24	126	31
AD-1571134.1	52	14	87	14	108	10
AD-1571135.1	47	12	65	4	138	37
AD-1571136.1	93	7	105	14	112	13
AD-1556359.1	31	6	36	1	81	0
AD-1571137.1	59	9	81	10	100	13
AD-1556360.1	26	2	49	15	48	12
AD-1571138.1	85	18	93	18	91	16
AD-1571139.1	51	10	92	15	100	24
AD-1556382.1	38	8	63	6	40	8
AD-1571012.1	58	6	71	10	54	15

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1556383.1	44	7	81	10	70	22
AD-1571013.1	58	12	90	6	86	10
AD-1571140.1	117	32	120	16	131	16
AD-1556465.1	36	2	70	8	68	2
AD-1556466.1	8	2	24	4	41	3
AD-1571141.1	52	11	88	15	97	12
AD-1571014.1	63	13	45	10	91	24
AD-1571015.1	49	6	83	9	80	19
AD-1571016.1	47	4	67	1	59	7
AD-1571017.1	55	5	90	13	90	14
AD-1556484.1	49	13	87	2	79	16
AD-1571142.1	84	11	94	20	97	11
AD-1571018.1	48	9	83	10	94	16
AD-1571143.1	49	5	73	12	95	5
AD-1556510.1	34	6	57	3	68	10
AD-1571144.1	28	7	53	10	74	9
AD-1571019.1	28	2	54	2	75	9
AD-1571145.1	38	7	51	4	77	8
AD-1571146.1	39	3	63	3	81	11
AD-1571147.1	38	6	48	9	77	5
AD-1571148.1	25	1	46	6	68	4
AD-1571149.1	59	7	68	8	72	5
AD-1571150.1	41	11	65	8	88	5
AD-1571151.1	59	1	74	13	94	13
AD-1556584.1	67	5	102	17	89	17
AD-1556585.1	54	3	92	17	91	21
AD-1571020.1	86	13	118	16	114	9
AD-1556586.1	57	7	93	3	103	13
AD-1556587.1	47	8	75	9	94	7
AD-1571021.1	72	1	95	4	117	8
AD-1571022.1	47	3	84	8	97	8
AD-1556613.1	48	9	62	7	88	12
AD-1571152.1	52	4	67	8	92	13
AD-1556677.1	40	5	80	18	94	12
AD-1556709.1	66	16	92	5	91	9
AD-1571023.1	56	8	94	13	85	10
AD-1556710.1	51	6	69	9	91	12
AD-1556789.1	57	4	97	5	93	12
AD-1556790.1	75	5	113	21	107	13
AD-1556791.1	77	13	101	22	99	19
AD-1571153.1	53	9	65	9	95	11
AD-1556795.1	43	4	82	5	99	17

Дуплекс	10 нМ		1 нМ		0,1 нМ	
	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО	Средний % оставшейся мРНК	СО
AD-1556799.1	64	3	87	11	104	7
AD-1571024.1	85	11	113	13	115	7
AD-1556802.1	62	10	95	14	92	14
AD-1571154.1	47	6	67	7	96	7
AD-1556908.1	37	5	82	10	93	11
AD-1556909.1	70	16	101	11	114	24
AD-1556911.1	20	1	39	3	42	8
AD-1571155.1	11	3	24	3	45	6
AD-1571156.1	8	1		0		
AD-1571025.1	40	8	49	4	56	8
AD-1556915.1	29	8	37	8	58	12
AD-1556917.1	22	4	39	6	55	9
AD-1571026.1	30	6	52	6	57	12
AD-1556918.1	18	4	33	9	46	5
AD-1571027.1	45	4	66	6	86	3
AD-1571157.1	18	7	37	8	57	10
AD-1571158.1	10	2	17	3	20	5
AD-1571159.1	18	0	22	5	42	4
AD-1571160.1	16	1	26	4	35	5
AD-1571161.1	27	3	31	10	55	12

Пример 3. Эффективность *in vivo* дуплексов дцРНК у приматов, отличных от человека (NHP)

Отобранные дуплексы, представляющие интерес, идентифицированные в упомянутых выше исследованиях *in vitro*, оценивали *in vivo* у приматов, отличных от человека. На фигуре 1 представлено изображение дизайна исследования.

В частности, 15 самцов яванских макаков разделяли на 5 групп по 3 животных в каждой и подкожно вводили однократную дозу 3 мг/кг AD-1556360, однократную дозу 10 мг/кг AD-1556360, однократную дозу 3 мг/кг AD-1571158 или однократную дозу 3 мг/кг AD-1571033 или ФСБ в качестве контроля (см. Таблицу 9). Для каждого животного собирали по два образца биопсии печени (по одному на долю) примерно по 100 мг каждый после 12 часов голодания на День 22, День 57 и/или День 85. У животных также собирали образцы биопсии печени и сыворотки крови за 21 день до введения дозы. Один мл крови собирали в пробирки без антикоагулянта еженедельно, начиная со Дня 1, для определения уровня гепсидина, уровня железа, уровня насыщения трансферрина и количества эритроцитов (RBC). После свертывания сыворотку крови разделяли на аликвоты и хранили при -80°C.

Тканевую мРНК экстрагировали и анализировали с помощью способа ОТ-кПЦР. Уровни мРНК TMPRSS6 сравнивали с уровнями гена «домашнего хозяйства», GAPDH. Затем значения нормировали к среднему значению для контрольной группы, получавшей

носитель ФСБ. Данные выражали как процент от исходного уровня и представляли в виде среднего значения плюс стандартное отклонение.

Уровни железа и насыщения трансферрина определяли с применением коммерчески доступных наборов от Roche.

Результаты, показанные на Фигурах 2-4, демонстрируют, что все три примерных дуплекса, AD-1556360, AD-1571158 и AD-1571033, сильно и устойчиво ингибируют экспрессию матричной РНК TMPRSS6 *in vivo* (Фигура 2), сильно и устойчиво понижают уровни железа в плазме (Фигура 3) и сильно и устойчиво понижают уровни насыщения трансферрина (Фигура 4). Насыщение трансферрина является мерой количества железа, связанного с сывороточным трансферрином, и соответствует соотношению сывороточного железа и общей железосвязывающей способности.

**Таблица 9. Группы лечения**

Группа №	Дуплекс	Уровень дозы (мг/кг)	Число самцов
1	ФСБ (контроль)	0	3
2	AD-1556360	3	3
3	AD-1556360	10	3
4	AD-1571158	3	3
5	AD-1571033 (эталонный дуплекс для сравнения)	3	3

### **ЭКВИВАЛЕНТЫ**

Специалисты в данной области техники поймут многие эквиваленты конкретных вариантов реализации и способов, описанных в настоящем документе, или будут способны установить такие эквиваленты с использованием только лишь обычных экспериментов. Предполагается, что такие эквиваленты охвачены объемом следующей формулы изобретения.

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, причем указанная антисмысловая цепь содержит область комплементарности мРНК, кодирующей TMPRSS6, и при этом указанная область комплементарности содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от любой из антисмысловых нуклеотидных последовательностей в любой из Таблиц 2-7.

2. Агент на основе дцРНК по п. 1, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

3. Агент на основе дцРНК по п. 1, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем двумя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем двумя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

4. Агент на основе дцРНК по п. 1, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем одним нуклеотидом от любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем одним нуклеотидом от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

5. Агент на основе дцРНК по п. 1, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любой из нуклеотидных последовательностей смысловых цепей в любой из Таблиц 2-7, и антисмысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, выбранную из группы, состоящей из любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловых цепей в любой из Таблиц 2-7.

6. Агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, причем указанная смысловая

цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 187-210; 227-254; 322-363; 362-390; 398-420; 404-429; 410-435; 439-461; 443-467; 448-474; 460-483; 466-488; 496-519; 519-542; 526-548; 557-593; 641-671; 652-676; 687-713; 725-762; 757-794; 886-908; 921-951; 956-987; 1051-1082; 1233-1269; 1279-1313; 1313-1341; 1327-1351; 1415-1439; 1447-1480; 1464-1486; 1486-1509; 1559-1589; 1571-1595; 1579-1609; 1707-1735; 1738-1764; 1806-1828; 1864-1886; 1934-1966; 1967-1991; 2008-2031; 2015-2043; 2042-2072; 2287-2311; 2297-2354; 2336-2361; 2360-2384; 2416-2438; 2481-2510; 2496-2527; 2526-2558; 2665-2693; 2693-2719; 2707-2729; 2799-2821; 2851-2874; 2971-2999; 2981-3006; и 3155-3195 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

7. Агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, при этом указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 230-252, 324-346, 560-578, 560-582, 2338-2360, 3163-3185, 3169-3191 и 3172-3194 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

8. Агент на основе двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты (дцРНК) для ингибирования экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит смысловую цепь и антисмысловую цепь, образующие двухцепочечную область, причем указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой нуклеотидной последовательности из нуклеотидов 560-578, 2338-2360 и 3169-3191 SEQ ID NO: 1, и указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов из соответствующей нуклеотидной последовательности SEQ ID NO:2.

9. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-8, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1556360, AD-1571158, AD-1571033, AD-1554875, AD-1571160, AD-1555117, AD-1554911 и AD-1556915.

10. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-9, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем тремя нуклеотидами от любой из нуклеотидных

последовательностей антисмысловой цепи дуплекса, выбранного из группы, состоящей из AD-1556360, AD-1571158 и AD-1571033.

11. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-10, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК содержит по меньшей мере один модифицированный нуклеотид.

12. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-11, отличающийся тем, что по существу все нуклеотиды указанной смысловой цепи; по существу все нуклеотиды указанной антисмысловой цепи содержат модификацию; или по существу все нуклеотиды указанной смысловой цепи и по существу все нуклеотиды указанной антисмысловой цепи содержат модификацию.

13. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-12, отличающийся тем, что все нуклеотиды указанной смысловой цепи содержат модификацию; все нуклеотиды указанной антисмысловой цепи содержат модификацию; или все нуклеотиды указанной смысловой цепи и все нуклеотиды указанной антисмысловой цепи содержат модификацию.

14. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 11-13, отличающийся тем, что по меньшей мере один из указанных модифицированных нуклеотидов выбран из группы из дезоксинуклеотида, 3'-концевого дезокситимидинового нуклеотида (dT), 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезокси-модифицированного нуклеотида, 2'-5'-связанного рибонуклеотида (3'-РНК), блокированного нуклеотида, неблокированного нуклеотида, конформационно ограниченного нуклеотида, ограниченного этилнуклеотида, нуклеотида без азотистого основания, 2'-амино-модифицированного нуклеотида, 2'-О-аллил-модифицированного нуклеотида, 2'-С-алкил-модифицированного нуклеотида, 2'-метоксиэтил-модифицированного нуклеотида, 2'-О-алкил-модифицированного нуклеотида, морфолинового нуклеотида, фосфорамидата, нуклеотида, содержащего неприродное основание, тетрагидропиран-модифицированного нуклеотида, 1,5-ангидрогекситол-модифицированного нуклеотида, циклогексенил-модифицированного нуклеотида, нуклеотида, содержащего 5'-фосфотиоатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-метилфосфонатную группу, нуклеотида, содержащего 5'-фосфат или миметик 5'-фосфата, нуклеотида, содержащего винилфосфонат, гликолевой нуклеиновой кислоты (GNA), S-изомера гликолевой нуклеиновой кислоты (S-GNA), нуклеотида, содержащего 2-гидроксиметилтетрагидрофуран-5-фосфат, нуклеотида, содержащего 2'-дезокситимидин-3'-фосфат, нуклеотида, содержащего 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат, и концевого нуклеотида, связанного с производным холестерина и бисдециламидной группой додекановой кислоты; и их комбинаций.

15. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 11-13, отличающийся тем, что указанные модификации на нуклеотидах выбраны из группы, состоящей из LNA, HNA, CeNA, 2'-метоксиэтил, 2'-О-алкил, 2'-О-аллил, 2'-С-аллил, 2'-фтор, 2'-дезокси, 2'-гидрокси и гликоля; и их комбинаций.

16. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 11-13, отличающийся тем, что по



меньшей мере один из указанных модифицированных нуклеотидов выбран из группы, состоящей из дезоксинуклеотида, 2'-О-метил-модифицированного нуклеотида, 2'-фтор-модифицированного нуклеотида, 2'-дезоксид-модифицированного нуклеотида, гликоль-модифицированного нуклеотида (GNA), нуклеотида, содержащего 2'-фосфат и винилфосфонатного нуклеотида; и их комбинаций.

17. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-16, отличающийся тем, что указанная двухцепочечная область представляет собой 19-30 нуклеотидных пар в длину.

18. Агент на основе дцРНК по п. 17, отличающийся тем, что указанная двухцепочечная область представляет собой 19-25 нуклеотидных пар в длину.

19. Агент на основе дцРНК по п. 17, отличающийся тем, что указанная двухцепочечная область представляет собой 19-23 нуклеотидные пары в длину.

20. Агент на основе дцРНК по п. 17, отличающийся тем, что указанная двухцепочечная область представляет собой 23-27 нуклеотидных пар в длину.

21. Агент на основе дцРНК по п. 17, отличающийся тем, что указанная двухцепочечная область представляет собой 21-23 нуклеотидные пары в длину.

22. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-21, отличающийся тем, что каждая цепь независимо представляет собой не более 30 нуклеотидов в длину.

23. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-22, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь представляет собой 21 нуклеотид в длину и указанная антисмысловая цепь представляет собой 23 нуклеотида в длину.

24. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-23, отличающийся тем, что указанная область комплементарности представляет собой по меньшей мере 17 нуклеотидов в длину.

25. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-24, отличающийся тем, что указанная область комплементарности представляет собой от 19 до 23 нуклеотидов в длину.

26. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-25, отличающийся тем, что указанная область комплементарности представляет собой 19 нуклеотидов в длину.

27. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-26, отличающийся тем, что по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 1 нуклеотида.

28. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-26, отличающийся тем, что по меньшей мере одна цепь содержит 3'-липкий конец по меньшей мере из 2 нуклеотидов.

29. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-28, дополнительно содержащий лиганд.

30. Агент на основе дцРНК по п. 29, отличающийся тем, что указанный лиганд конъюгирован с 3'-концом указанной смысловой цепи указанного агента на основе дцРНК.

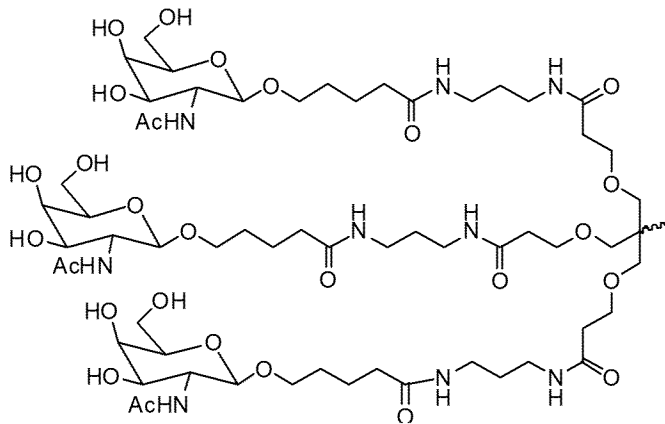
31. Агент на основе дцРНК по п. 29, отличающийся тем, что указанный лиганд конъюгирован с 5'-концом указанной смысловой цепи указанного агента на основе дцРНК.

32. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 29-31, отличающийся тем, что указанный лиганд представляет собой производное N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

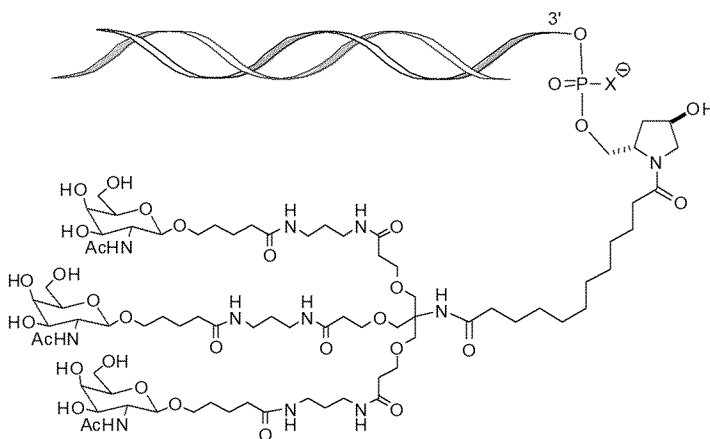
33. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 29-32, отличающийся тем, что указанный лиганд представляет собой одно или более производных GalNAc,

присоединенных посредством одновалентного, двухвалентного или трехвалентного разветвленного линкера.

34. Агент на основе дцРНК по п. 32 или п. 33, отличающийся тем, что указанный лиганд представляет собой



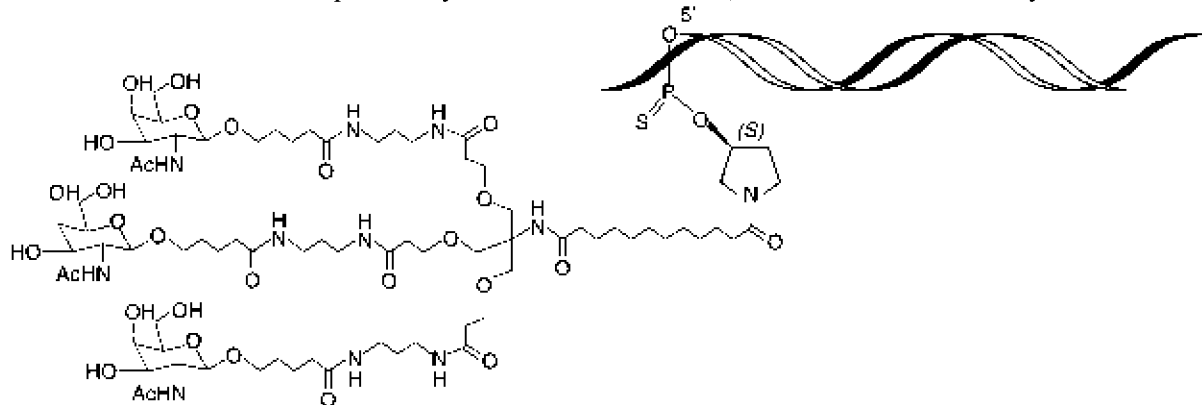
35. Агент на основе дцРНК по п. 34, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК конъюгирован с указанным лигандом, как показано на следующей схеме



и где X представляет собой O или S.

36. Агент на основе дцРНК по п. 35, отличающийся тем, что указанный X представляет собой O.

37. Агент на основе дцРНК по п. 34, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК конъюгирован с указанным лигандом, как показано на следующей схеме



38. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-37, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК дополнительно содержит по меньшей мере одну фосфотиоатную или метилфосфонатную межнуклеотидную связь.

39. Агент на основе дцРНК по п. 38, отличающийся тем, что указанная фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 3'-конце одной цепи.

40. Агент на основе дцРНК по п. 39, отличающийся тем, что указанная цепь представляет собой антисмысловую цепь.

41. Агент на основе дцРНК по п. 39, отличающийся тем, что указанная цепь представляет собой смысловую цепь.

42. Агент на основе дцРНК по п. 39, отличающийся тем, что указанная фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится на 5'-конце одной цепи.

43. Агент на основе дцРНК по п. 42, отличающийся тем, что указанная цепь представляет собой антисмысловую цепь.

44. Агент на основе дцРНК по п. 42, отличающийся тем, что указанная цепь представляет собой смысловую цепь.

45. Агент на основе дцРНК по п. 38, отличающийся тем, что указанная фосфотиоатная или метилфосфонатная межнуклеотидная связь находится как на 5'-конце, так и на 3'-конце одной цепи.

46. Агент на основе дцРНК по п. 45, отличающийся тем, что указанная цепь представляет собой антисмысловую цепь.

47. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-46, содержащий 6-8 фосфотиоатных или метилфосфонатных межнуклеотидных связей.

48. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-47, отличающийся тем, что указанная пара оснований в положении 1 5'-конца указанной антисмысловой цепи дуплекса представляет собой пару оснований AU.

49. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

50. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-49, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

51. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-50, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

52. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-51, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-

GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119).

53. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-52, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

54. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-53, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

55. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-54, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 21 последовательный нуклеотид, отличающийся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

56. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-55, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

57. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-56, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

58. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-57, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-GACGCCACGCAUGCUGUGUGU-3' (SEQ ID NO: 119), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-ACACACAGCAUGCUGGGCGUCAC-3' (SEQ ID NO: 245).

59. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-58, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO: 371), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

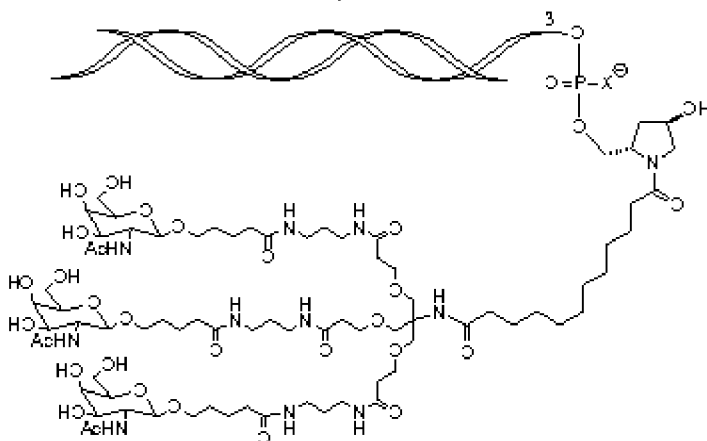
60. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-59, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asdCsacdAcdAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксиаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

61. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-60, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO: 371), и указанная антисмысловая цепь

содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAc dAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

62. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-61, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcuguguguL96-3' (SEQ ID NO: 371), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAc dAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; s представляет собой фосфотиоатную связь, и L96 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканойл]-4-гидроксипролинол.

63. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-61, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-gsascgccacGfCfAfugcugugugu-3' (SEQ ID NO: 371), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asdCsacdAc dAgcaudGcGfuggcgucsasc-3' (SEQ ID NO: 497), где a, g, c и u представляют собой 2'-О-метил (2'-OMe) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; где dA, dG и dC представляют собой 2'-дезоксаденозин-3'-фосфат, 2'-дезоксигуанозин-3'-фосфат и 2'-дезоксцитидин-3'-фосфат, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь, где 3'-конец указанной смысловой цепи конъюгирован с указанным лигандом, как показано на следующей схеме:



и где X представляет собой O.

64. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-

CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

65. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

66. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48, 64 и 65, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

67. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-66, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844).

68. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-67, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

69. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-68, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 19 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

70. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-69, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 21 последовательный нуклеотид, отличающийся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

71. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-70, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

72. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-71, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

73. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-72, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-CCUUUGGAAUAAAGCUGCCUU-3' (SEQ ID NO: 844), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-AAGGCAGCUUUAUUCCAAAGGGC-3' (SEQ ID NO: 1868).

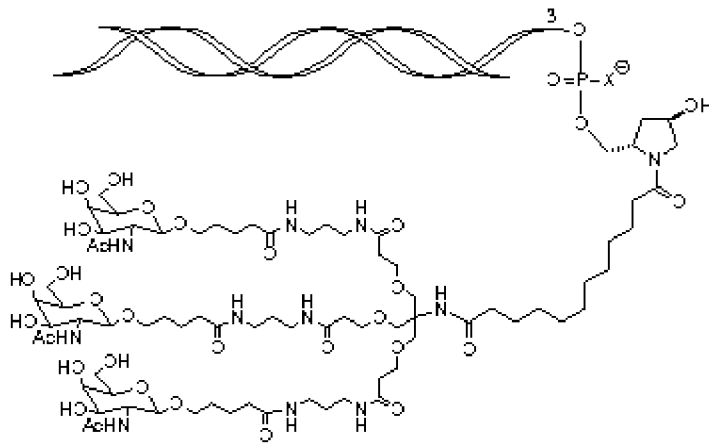
74. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-73, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), где а, г, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

75. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-74, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaaggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

76. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-75, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaaggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

77. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-76, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuuL96-3' (SEQ ID NO: 2095), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaaggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат; s представляет собой фосфотиоатную связь, и L96 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканол]-4-гидроксипролин.

78. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 64-76, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-cscsuuugGfaAfUfAfaagcugccuu-3' (SEQ ID NO: 2095), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfsggdCa(G2p)cuuuauUfcCfaaaggsgsc-3' (SEQ ID NO: 2324), где а, g, с и u представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) А, G, С и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор А, G, С и U, соответственно; где G2p представляет собой гуанозин-2'-фосфат, s представляет собой фосфотиоатную связь, и где 3'-конец указанной смысловой цепи конъюгирован с лигандом, как показано на следующей схеме:



и где X представляет собой O.

79. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686).

80. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686).

81. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48, 79 и 80, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686).

82. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-81, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 17 последовательных нуклеотидов, отличающихся не более чем 3 нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

83. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-82, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

84. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-83, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь состоит из нуклеотидной последовательности 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

85. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-84, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UCACCUGCUUCUUCUGGUU-3' (SEQ ID NO: 1686), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-AACCAGAAGAAGCAGGUGA-3' (SEQ ID NO: 1790).

86. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-85, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), где a, g, c и u представляют собой 2'-O-метил (2'-OMe) A, G, C и U,



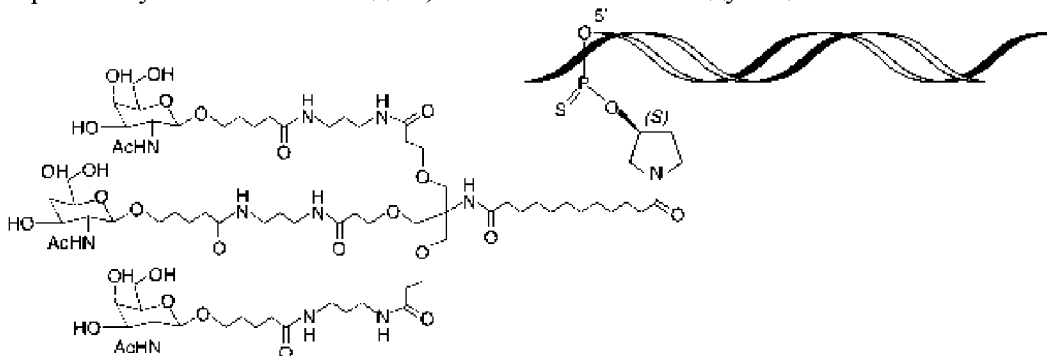
соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

87. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-86, отличающийся тем, что указанная антисмысловая цепь отличается не более чем 3 модифицированными нуклеотидами от нуклеотидной последовательности 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где а, г, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

88. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-87, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где а, г, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь.

89. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-88, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-Q191sUfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где а, г, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; s представляет собой фосфотиоатную связь, и Q191 представляет собой N-[трис(GalNAc-алкил)-амидодеканойл]-(S)-пирролидин-3-ол-фосфотиоат (p-C12-(GalNAc-алкил)3).

90. Агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 и 79-88, отличающийся тем, что указанная смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-UfcAfcCfuGfcUfuCfuUfcUfgGfsusUf-3' (SEQ ID NO: 1974), и указанная антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность 5'-asAfscCfaGfaAfgAfaGfcAfgGfusGfsa-3' (SEQ ID NO: 2203), где а, г, с и и представляют собой 2'-О-метил (2'-ОМе) A, G, C и U, соответственно; Af, Gf, Cf и Uf представляют собой 2'-фтор A, G, C и U, соответственно; и s представляет собой фосфотиоатную связь, где 5'-конец указанной смысловой цепи конъюгирован с указанным лигандом, как показано на следующей схеме:



91. Клетка, содержащая агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-90.
92. Фармацевтическая композиция для ингибирования экспрессии гена, кодирующего трансмембранную сериновую протеазу 6 (TMPRSS6), содержащая агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-90.
93. Фармацевтическая композиция по п. 92, отличающаяся тем, что указанный агент на основе дцРНК находится в незабуференном растворе.
94. Фармацевтическая композиция по п. 93, отличающаяся тем, что указанный незабуференный раствор представляет собой физиологический раствор или воду.
95. Фармацевтическая композиция по п. 92, отличающаяся тем, что указанный агент на основе дцРНК находится в буферном растворе.
96. Фармацевтическая композиция по п. 95, отличающаяся тем, что указанный буферный раствор содержит ацетат, цитрат, проламин, карбонат или фосфат или любую их комбинацию.
97. Фармацевтическая композиция по п. 96, отличающаяся тем, что указанный буферный раствор представляет собой фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ).
98. Способ ингибирования экспрессии гена трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6) в клетке, отличающийся тем, что указанный способ включает приведение указанной клетки в контакт с агентом на основе дцРНК по любому из пп. 1-90 или фармацевтической композицией по любому из пп. 92-97, что ингибирует экспрессию гена TMPRSS6 в указанной клетке.
99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанная клетка находится в организме субъекта.
100. Способ по п. 98, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.
101. Способ по п. 98 или п. 100, отличающийся тем, что указанный субъект имеет TMPRSS6-ассоциированное нарушение.
102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом.
103. Способ по п. 101, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение выбрано из группы, состоящей из наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии, истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и атаксии Фридрейха.
104. Способ по п. 101, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой  $\beta$ -талассемию.
105. Способ по п. 104, отличающийся тем, что указанная  $\beta$ -талассемия представляет собой большую талассемию.
106. Способ по п. 104, отличающийся тем, что указанная  $\beta$ -талассемия представляет собой промежуточную талассемию.

107. Способ по п. 101, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой истинную полицитемию.

108. Способ по любому из пп. 98-107, отличающийся тем, что приведение указанной клетки в контакт с указанным агентом на основе дцРНК ингибирует экспрессию TMPRSS6 по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

109. Способ по любому из пп. 98-108, отличающийся тем, что ингибирование экспрессии TMPRSS6 приводит к уменьшению уровня белка TMPRSS6 в сыворотке крови субъекта по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

110. Способ по любому из пп. 98-109, отличающийся тем, что приведение указанной клетки в контакт с указанным агентом на основе дцРНК повышает экспрессию гепсидина по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

111. Способ по любому из пп. 98-110, отличающийся тем, что повышение экспрессии гепсидина повышает уровень белка гепсидина в сыворотке крови субъекта по меньшей мере на 50%, 60%, 70%, 80%, 90% или 95%.

112. Способ лечения субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6), включающий введение указанному субъекту терапевтически эффективного количества агента на основе дцРНК по любому из пп. 1-58 или фармацевтической композиции по любому из пп. 50-55, что обеспечивает лечение указанного субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии TMPRSS6.

113. Способ предотвращения по меньшей мере одного симптома у субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии трансмембранной сериновой протеазы 6 (TMPRSS6), включающий введение указанному субъекту профилактически эффективного количества агента на основе дцРНК по любому из пп. 1-48 или фармацевтической композиции по любому из пп. 50-55, что предотвращает по меньшей мере один симптом у указанного субъекта, имеющего нарушение, который может получить пользу от снижения экспрессии TMPRSS6.

114. Способ по п. 112 или п. 113, отличающийся тем, что указанное нарушение представляет собой TMPRSS6-ассоциированное нарушение.

115. Способ по п. 114, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой нарушение, ассоциированное с перегрузкой железом, и/или нарушение, ассоциированное с неэффективным эритропоэзом.

116. Способ по п. 115, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение выбрано из группы, состоящей из наследственного гемохроматоза,  $\beta$ -талассемии, истинной полицитемии, миелодиспластического синдрома, врожденных дизэритропоэтических анемий, дефицита пируваткиназы, эритропоэтической порфирии, болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и атаксии Фридрейха.

117. Способ по п. 114, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой  $\beta$ -талассемию.

118. Способ по п. 117, отличающийся тем, что указанная  $\beta$ -талассемия представляет

собой большую талассемию.

119. Способ по п. 117, отличающийся тем, что указанная  $\beta$ -талассемия представляет собой промежуточную талассемию.

120. Способ по п. 114, отличающийся тем, что указанное TMPRSS6-ассоциированное нарушение представляет собой истинную полицитемию.

121. Способ по любому из пп. 112-120, отличающийся тем, что указанный субъект представляет собой человека.

122. Способ по любому из пп. 112-121, отличающийся тем, что введение указанного агента указанному субъекту вызывает уменьшение уровня железа, уменьшение уровня ферритина, уменьшение уровня насыщения трансферрина, повышение уровня гемоглобина, повышение уровня гематокрита и/или уменьшение накопления белка TMPRSS6.

123. Способ по любому из пп. 112-122, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК вводят указанному субъекту в дозе от примерно 0,01 мг/кг до примерно 50 мг/кг.

124. Способ по любому из пп. 112-123, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК вводят субъекту подкожно.

125. Способ по любому из пп. 112-123, отличающийся тем, что указанный агент на основе дцРНК вводят субъекту внутривенно.

126. Способ по любому из пп. 112-125, дополнительно включающий определение уровня TMPRSS6 в образце(ах) от субъекта.

127. Способ по п. 126, отличающийся тем, что указанный уровень TMPRSS6 в образце(ах) от субъекта представляет собой уровень белка TMPRSS6 в образце(ах) крови, сыворотки крови или печени.

128. Способ по любому из пп. 112-127, дополнительно включающий определение уровня железа и/или гепсидина в образце(ах) от субъекта.

129. Способ по любому из пп. 112-128, дополнительно включающий введение указанному субъекту дополнительного терапевтического агента для лечения TMPRSS6-ассоциированного нарушения.

130. Способ по п. 129, отличающийся тем, что указанный дополнительный терапевтический агент представляет собой хелатор железа.

131. Способ по п. 130, отличающийся тем, что указанный хелатор железа выбран из группы, состоящей из деферипрона, дефероксамина и деферазирокса.

132. Набор, содержащий агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-90 или фармацевтическую композицию по любому из пп. 92-97.

133. Флакон, содержащий агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-90 или фармацевтическую композицию по любому из пп. 92-97.

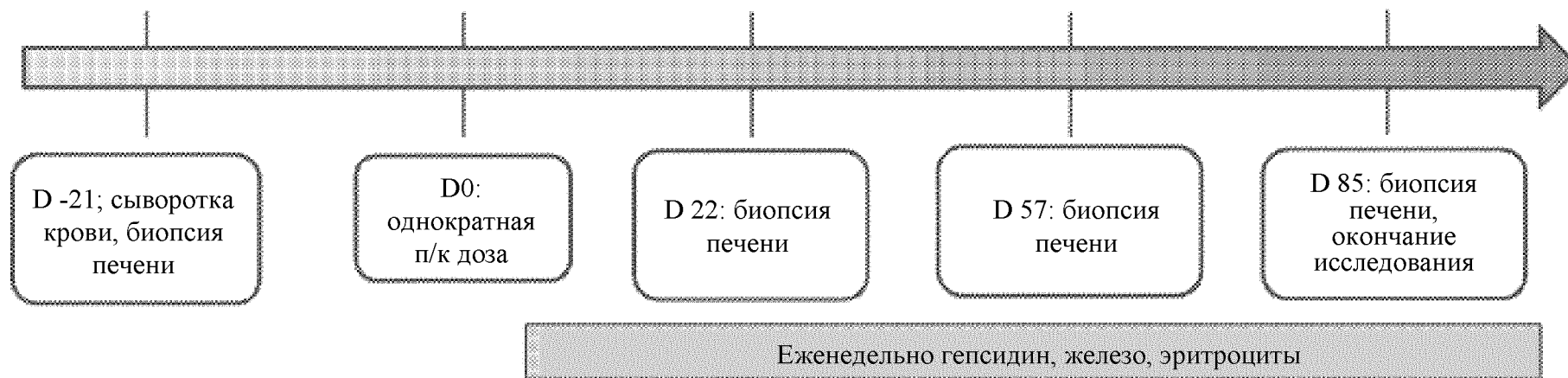
134. Шприц, содержащий агент на основе дцРНК по любому из пп. 1-90 или фармацевтическую композицию по любому из пп. 92-97.

135. РНК-индуцированный комплекс сайленсинга (RISC), содержащий

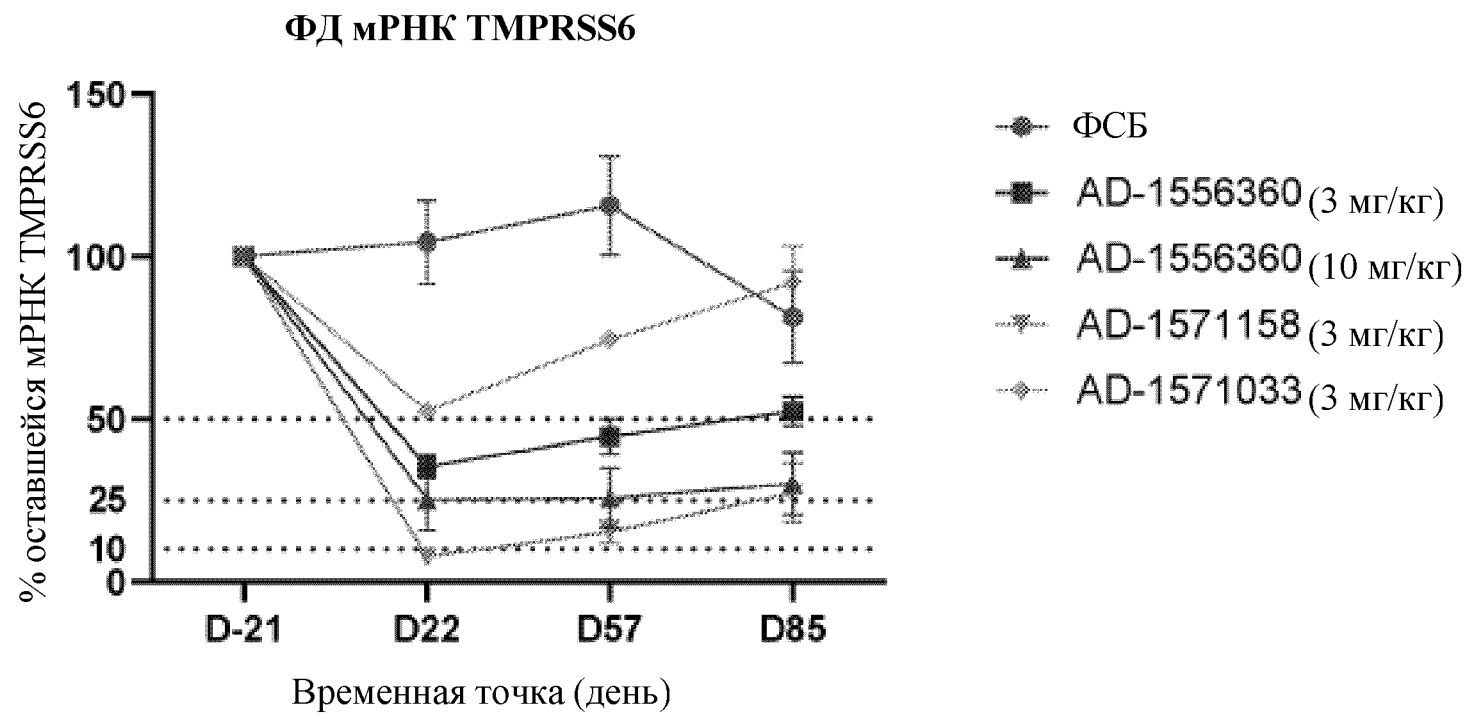
антисмысловую цепь агента на основе дцРНК по любому из пп. 1-90.

По доверенности

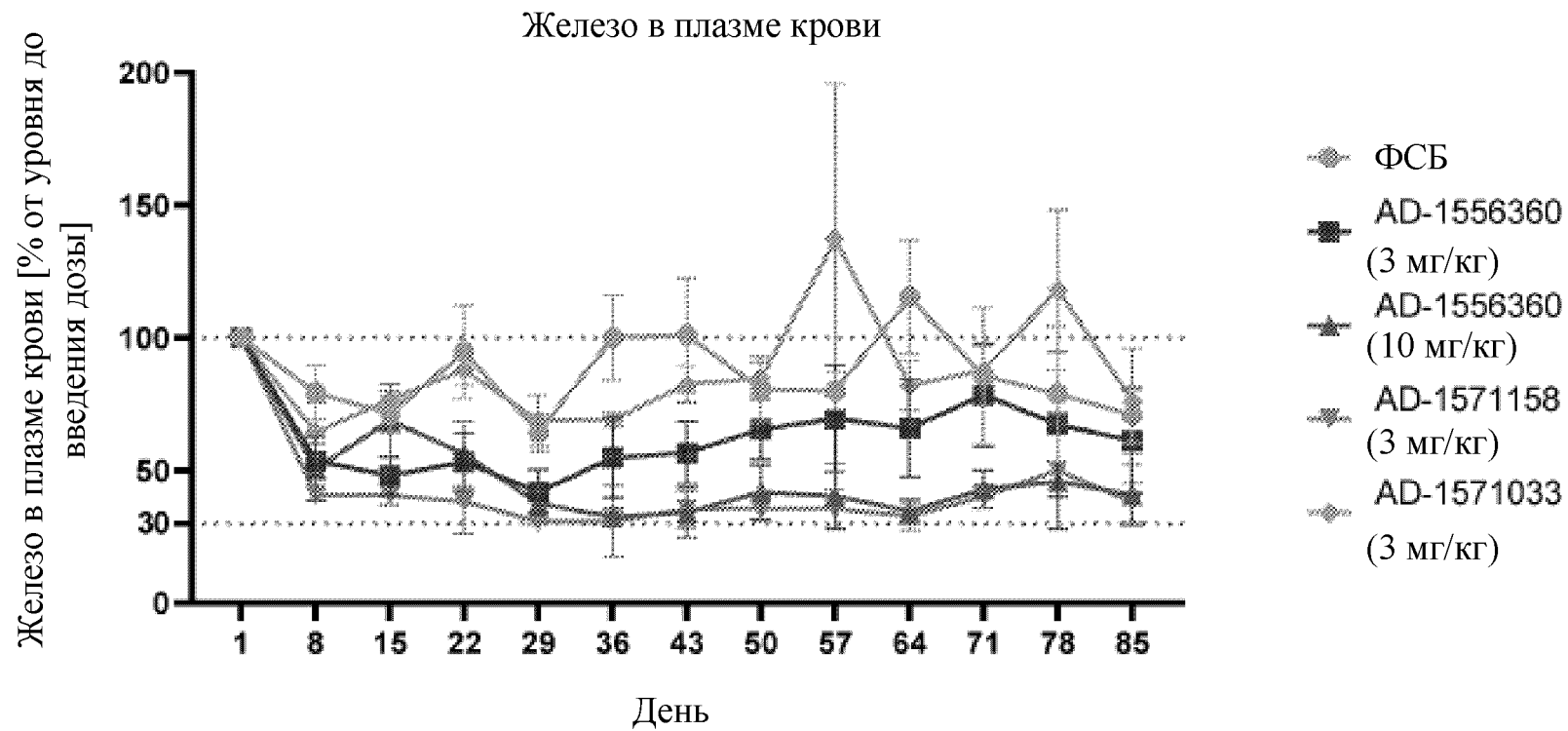
Фигура 1



Фигура 2



Фигура 3





Фигура 4

