

(19)



Евразийское  
патентное  
ведомство

(21) 202490774 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки  
2024.10.01

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)  
*A61K 31/713* (2006.01)  
*A61P 1/16* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2022.12.01

---

(54) КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ АРОС3

---

(31) 63/264,730

(32) 2021.12.01

(33) US

(86) PCT/US2022/080736

(87) WO 2023/102469 2023.06.08

(88) 2023.07.13

(71) Заявитель:

ДИСЕРНА ФАРМАСЬЮТИКАЛС,  
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Браун Боб Дейл, Дудек Хенрик,  
Саксена Утсав, Хань Вэнь (US)

(74) Представитель:

Нилова М.И. (RU)

---

(57) Описаны олигонуклеотиды и композиции, содержащие их, разработанные для ингибирования или снижения экспрессии гена аполипопротеина С-III (АРОС3). Также описаны способы получения и применения олигонуклеотидов, в частности применения, связанные с лечением заболеваний, нарушений и/или патологических состояний, ассоциированных с экспрессией АРОС3.

A1

202490774

202490774

A1

## КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ МОДУЛИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ АРОСЗ

### ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[001] В настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки США № 63/264 730, поданной 1 декабря 2021 г., которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

### ПЕРЕЧЕНЬ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЕЙ

[002] Перечень последовательностей, соответствующий правилам Стандарта WIPO ST.26, полностью включен в данный документ посредством ссылки. Перечень последовательностей был подан в виде электронного документа через EFS-Web в формате ASCII, закодированном в XML. Электронный документ, созданный 29 ноября 2022 года, называется «400930-032WO-194344\_ST26.xml» и имеет размер 2 599 277 байт.

### ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[003] Настоящее изобретение в целом относится к биологии и медицине и, более конкретно, оно относится к олигонуклеотидным композициям и их применению для ингибирования или снижения экспрессии гена аполипопротеина С-III (*APOC3*), а также к их применению для лечения заболеваний, нарушений и/или патологических состояний, ассоциированных с *APOC3*.

### УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[004] *APOC3* представляет собой белок, кодируемый *APOC3*, и при этом является белком, находящимся в липопротеинах, богатых триглицеридами (TRL) и липопротеинах высокой плотности (HDL), обладающий ингибирующей активностью в отношении липопротеинлипазы (LPL) и печеночной липазы (HL), а также является белком, который задерживает печеночный клиренс TRL. Человеческий *APOC3* экспрессируется на высоком уровне в гепатоцитах и тонком кишечнике.

[005] В гене *APOC3* было идентифицировано несколько природных полиморфизмов с усилением функции, которые, как предполагается, являются факторами, способствующими развитию гипертриглицеридемии. Эти полиморфизмы тесно ассоциированы с широким спектром заболеваний, таких как неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), метаболические синдромы (MetS), инсулинорезистентность, острые коронарные заболевания (ACD) и ишемическая болезнь сердца (CHD), возникающие в результате гипертриглицеридемии. Было показано, что несколько полиморфизмов с потерей функции ассоциированы со снижением уровня триглицеридов в плазме и жира в печени,

увеличением концентрации холестерина HDL и АПОА1 в плазме, а также снижением риска ишемической болезни сердца и коронарных артерий.

[006] Известно несколько терапевтических средств на основе РНК, которые могут ингибировать или снижать экспрессию *APOC3*. Например, в международных публикациях заявок на патенты под номерами WO 2010/083615, WO 2012/177947, WO 2016/011123, WO 2016/081444 и WO 2019/051402, а также в публикации заявки на патент CN № 108239644 описывают двухцепочечные (ds) конструкции РНКи для ингибирования или снижения экспрессии *APOC3*, а также способы их применения для лечения или профилактики патологических состояний, заболеваний и/или нарушений липидного обмена, таких как ожирение и кардиометаболические нарушения. Кроме того, в международной публикации заявки на патент № WO 2014/205451 описаны антисмысловые олигонуклеотиды для ингибирования или снижения экспрессии *APOC3*.

[007] Несмотря на то что существуют некоторые терапевтические средства, направленные на *APOC3*, существует потребность в дополнительных терапевтических средствах для ингибирования или снижения экспрессии *APOC3* для лечения заболеваний печени.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[008] Для решения этой задачи в настоящем изобретении описаны композиции и способы лечения заболевания, нарушения и/или патологического состояния, связанного с экспрессией *APOC3*. Настоящее изобретение частично основано на обнаружении и разработке ds олигонуклеотидов (*например*, олигонуклеотидов РНКи) для селективного ингибирования и/или снижения экспрессии *APOC3*, *например*, в печени. Соответственно, были идентифицированы целевые последовательности в *APOC3* и созданы олигонуклеотиды РНКи, которые связываются с этими целевыми последовательностями и ингибируют экспрессию мРНК *APOC3*. Как показано в данном документе, олигонуклеотиды РНКи ингибируют экспрессию *APOC3* человека и приматов, не являющихся человеком (NHP), в печени. Не ограничиваясь какой-либо теорией, олигонуклеотиды РНКи, в контексте данного документа, пригодны для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3* (*например*, гипертриглицеридемии или другой дислипидемии). В общем, описанные в данном документе олигонуклеотиды РНКи применимы для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с aberrантной экспрессией *APOC3* (*например*, полиморфизмами с усилением функции *APOC3*). В частности, олигонуклеотиды РНКи в контексте данного документа применимы для лечения

заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с мутантной экспрессией *APOC3*.

[009] Соответственно, в настоящем изобретении описаны олигонуклеотиды РНКи для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, которые включают смысловую цепь и/или антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь имеет последовательность, указанную в Таблице 2, и при этом антисмысловая цепь имеет последовательность, указанную в Таблице 2.

[0010] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет последовательность, представленную в Таблице 2 (*например*, любую из последовательностей с нечетным номером SEQ ID NO: от 9 до 170), особенно любую из SEQ ID NO: 37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105.

[0011] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеющая последовательность, представленную в Таблице 2 (*например*, любую из последовательностей с четным номером SEQ ID NO: от 9 до 170), особенно любую из SEQ ID NO: 38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106.

[0012] В альтернативном варианте настоящего изобретения описаны олигонуклеотиды РНКи для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, которые включают смысловую цепь и/или антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь имеет последовательность, указанную в Таблице 3, и при этом антисмысловая цепь имеет последовательность, указанную в Таблице 3.

[0013] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет последовательность, представленную в Таблице 3 (*например*, любую из последовательностей с нечетным номером SEQ ID NO: от 171 до 332), особенно любую из SEQ ID NO: 199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267.

[0014] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет последовательность, представленную в Таблице 3 (*например*, любую из последовательностей с четным номером SEQ ID NO: от 171 до 332), особенно любую из SEQ ID NO: 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[0015] В альтернативном варианте описаны олигонуклеотиды РНКи для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, которые включают смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая и антисмысловой цепи образуют дуплексную область и при этом антисмысловая цепь имеет комплементарную область к целевой последовательности мРНК *APOC3* любой из SEQ ID NO: от 334 до 341.

[0016] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет длину от около 15 нуклеотидов до около 50 нуклеотидов. В

некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет длину от около 20 нуклеотидов до около 40 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет длину 36 нуклеотидов.

[0017] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет длину от около 15 нуклеотидов до около 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет длину от около 20 до около 25 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь имеет длину 22 нуклеотида.

[0018] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения дуплексная область имеет длину от около 19 нуклеотидов до около 21 нуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения дуплексная область имеет длину 20 нуклеотидов.

[0019] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения комплементарная область имеет длину по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комплементарная область имеет длину от около 19 смежных нуклеотидов до около 21 смежного нуклеотида. В других вариантах осуществления настоящего изобретения комплементарная область имеет длину 19 смежных нуклеотидов, 20 смежных нуклеотидов или 21 смежный нуклеотид.

[0020] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды РНКи включают на смысловой цепи на ее 3'-конце структуру «стебель-петля», указанную как: S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от около 3 до около 5 нуклеотидов.

[0021] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь, смысловая цепь или обе имеют последовательность липкого конца. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь включает 3'-липкий конец длиной 1 или более нуклеотидов. В других вариантах осуществления настоящего изобретения последовательность 3'-липкого конца имеет длину 2 нуклеотида, такая как, например, GG.

[0022] Также описаны олигонуклеотиды, которые включают антисмысловую цепь и смысловую цепь, при этом антисмысловая цепь может иметь длину от около 21 нуклеотида до около 27 нуклеотидов и имеет комплементарную область к *APOC3*, при этом смысловая цепь включает структуру «стебель-петля» на своем 3'-конце, обозначенную как S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от около 3 нуклеотидов до около 5 нуклеотидов, и при этом антисмысловая цепь и смысловая цепь образуют дуплексную структуру длиной по меньшей мере около 19 нуклеотидов, но

они не связаны ковалентно.

[0023] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения петля L представляет собой трипетлю (triL) или тетрапетлю (L). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения L представляет собой тетрапетлю длиной 4 нуклеотида. В других вариантах осуществления настоящего изобретения L включает последовательность 5'-GAAA-3'.

[0024] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения S1 и S2 имеют длину 1-10 нуклеотидов и имеют одинаковую длину. В других вариантах осуществления настоящего изобретения S1 и S2 имеют длину 1 нуклеотид, 2 нуклеотида, 3 нуклеотида, 4 нуклеотида, 5 нуклеотидов, 6 нуклеотидов, 7 нуклеотидов, 8 нуклеотидов, 9 нуклеотидов или 10 нуклеотидов. В других вариантах осуществления настоящего изобретения S1 и S2 имеют длину 6 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения структура «стебель-петля» содержит последовательность 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO:333).

[0025] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет длину 25 нуклеотидов, а антисмысловая цепь имеет длину 27 нуклеотидов. В других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь имеет длину 36 нуклеотидов, а антисмысловая цепь имеет длину 22 нуклеотида.

[0026] В приведенных выше вариантах осуществления настоящего изобретения дуплексная область включает последовательность 3'-липкого конца в антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения последовательность 3'-липкого конца в антисмысловой цепи имеет длину 2 нуклеотида.

[0027] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения по меньшей мере один нуклеотид в олигонуклеотиде представляет собой модифицированный нуклеотид. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения все нуклеотиды в олигонуклеотиде модифицированы, за исключением нуклеотидов в структуре «стебель-петля» (*m.e.*, S1-L-S2). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения все нуклеотиды в олигонуклеотиде модифицированы, за исключением нуклеотидов в петле (*m.e.*, L).

[0028] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированный нуклеотид включает 2'-модификацию, такую как, например, 2'-аминоэтил (EA), 2'-фтор (2'-F), 2'-О-метил (2'-OMe), 2'-О-метоксиэтил (2'-MOE) и 2'-дезоксидезокси-2'-фтор-β-арабинонуклеиновая кислота (2'-FANA). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения все нуклеотиды в олигонуклеотиде включают 2'-модификацию, такую как, например, 2'-F или 2'-OMe.

[0029] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения по меньшей мере один нуклеотид в олигонуклеотиде включает модифицированную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь.

[0030] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения 4'-углерод сахара 5'-нуклеотида антисмысловой цепи включает аналог фосфата, такой как, например, оксиметилфосфонат, винилфосфонат или малонилфосфонат. В альтернативном или необязательном варианте аналог фосфата представляет собой 4'-фосфатный аналог, включающий 5'-метоксифосфонат-4'-окси.

[0031] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения по меньшей мере один нуклеотид олигонуклеотида может быть конъюгирован с одним или большим количеством нацеливающих лигандов, таких как, например, аминсахара, углеводов, холестерин, липид или полипептид. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающий лиганд представляет собой фрагмент N-ацетилгалактозамина (GalNAc). В других вариантах осуществления настоящего изобретения фрагмент GalNAc представляет собой моновалентный фрагмент GalNAc, двухвалентный фрагмент GalNAc, трехвалентный фрагмент GalNAc или четырехвалентный фрагмент GalNAc.

[0032] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающие лиганды конъюгированы с одним или большим количеством нуклеотидов L структуры «стебель-петля». В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из до 4 нуклеотидов L структуры «стебель-петля» конъюгирован с моновалентным фрагментом GalNAc.

[0033] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения один или большее количество нуклеотидов в положениях 8, 9, 10 или 11 смысловой цепи модифицированы 2'-F. В других вариантах осуществления настоящего изобретения молекула сахара в каждом нуклеотиде в положениях от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36 в смысловой цепи модифицирована 2'-ОМе. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеотиды в положениях с 8 по 11 смысловой цепи модифицированы 2'-F, а положения с 1 по 7, с 12 по 27 и с 31 по 36 модифицированы 2'-ОМе.

[0034] В определенных других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь включает 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях от 8 до 11, 2'-ОМе модифицированный нуклеотид в положениях от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36, нуклеотид, конъюгированный с GalNAc, в положении 28, 29 и 30, и фосфоротиоатную связь

между положениями 1 и 2.

[0035] В определенных других вариантах осуществления настоящего изобретения один или большее количество нуклеотидов в положениях с 2 по 5, 7, 10 и 14 антисмысловой цепи модифицированы 2'-F, и один или большее количество нуклеотидов в положениях 1, 6, 8-9, 11-13 и 15-22 модифицированы 2'-ОМе. В других вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь включает 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях с 2 по 5, 7, 10 и 14, и 2'-ОМе-модифицированный нуклеотид в положениях 1, 6, 8-9, 11-13 и 15-22.

[0036] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь включает 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях с 2 по 5, 7, 10 и 14, 2'-ОМе модифицированный нуклеотид в положениях 1, 6, 8-9, 11-13 и 15-22, и фосфоротиоатную связь между положениями 1 и 2, положениями 2 и 3, положениями 3 и 4, положениями 20 и 21 и положениями 21 и 22.

[0037] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды имеют профиль модификации, как показано на ФИГ. 1А, 1В или 1С.

[0038] На ФИГ. 1А представлен профиль модификации 1, и ниже изображен профиль модификации каждой цепи:

Смысловая цепь: 5' mX-S-mX-fX-mX-mX-mX-mX-fX-fX-fX-mX-fX-fX-mX-mX-mX-fX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-mX-[X-GalNAc]-[X-GalNAc]-[X-GalNAc]-[X-GalNAc]-mX-mX-mX-mX-mX-mX 3'

Гибридизирована с:

Антисмысловая цепь: 5' [MePhosphonate-4O-mX]-S-fX-S-fX-S-mX-fX-mX-fX-fX-mX-fX-mX-fX-mX-fX-mX-mX-fX-mX-S-mX-S-mX 3';

или представлена следующим образом:

Смысловая цепь: 5' [mXs][mX][fX][mX][mX][mX][mX][fX][fX][fX][mX][fX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][X-GalNAc][X-GalNAc][X-GalNAc][X-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX] 3'

Гибридизирована с:

Антисмысловая цепь: 5' [MePhosphonate-4O-mXs][fXs][fXs][mX][fX][mX][fX][fX][mX][fX]





или представлена следующим образом:

Смысловая цепь: 5' [mXs][mX][fX][mX][fX][mX][mX][fX][fX][fX][mX][fX][mX][mX][mX][fX][mX][mX][mX][mX][mX][mX][X-GalNAc][X-GalNAc][X-GalNAc][X-GalNAc][mX][mX][mX][mX][mX][mX] 3'

Гибридизирована с:

Антисмысловая цепь: 5' [MePhosphonate-4O-mXs][fXs][fXs][mX][fX][mX][fX][mX][mX][fX][mX][fX][mX][fX][mX][fX][mX][fX][mXs][mXs][mX] 3'.

Ключ модификации для профилей модификации 1–3 выше:

Символ	Модификация/связь
<b>Ключ 1</b>	
mX	2'-O-метил-модифицированный нуклеотид
fX	2'-фтор-модифицированный нуклеотид
-S-	фосфоротиоатная связь
-	фосфодиэфирная связь
[MePhosphonate-4O-mX]	5'-метоксифосфонат-4'-окси-модифицированный нуклеотид
X-GalNAc	ademX-GalNAc или prgX-peg-GalNAc
<b>Ключ 2</b>	
[mXs]	2'-O-метил-модифицированный нуклеотид с фосфоротиоатной связью с соседним нуклеотидом
[fXs]	2'-O-фтор-модифицированный нуклеотид с фосфоротиоатной связью с соседним нуклеотидом
[mX]	2'-O-метил-модифицированный нуклеотид с фосфодиэфирной связью с соседним нуклеотидом
[fX]	2'-фтор-модифицированный нуклеотид с фосфодиэфирными связями с соседними нуклеотидами

[0041] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид представляет собой олигонуклеотид РНКи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, как указано в Таблице 2, особенно любую из

SEQ ID NO: 37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, как указано в Таблице 3, особенно любую из SEQ ID NO: 199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, как указано в Таблице 2, особенно любую из SEQ ID NO:38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, как указано в Таблице 3, особенно любую из SEQ ID NO: 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[0042] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106.

[0043] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:37, 89 и 101, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 38, 90 и 102.

[0044] В определенных других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь олигонуклеотида РНКи, соответственно, выбраны из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106.

[0045] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[0046] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 199, 251 и 263, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 200, 252 и 264.

[0047] В определенных других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь олигонуклеотида РНКи, соответственно, выбраны из:

- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 206,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f) SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h') SEQ ID NO: 267 и 268.

[0048] Описаны также олигонуклеотиды для ингибирования или снижения экспрессии *APOC3*, которые включают смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом все нуклеотиды смысловой цепи и антисмысловой цепи включают модификацию основания, сахара и/или межнуклеотидную связь, при этом антисмысловая цепь включает область комплементарности целевой последовательности мРНК *APOC3* одной из SEQ ID NO: от 334 до 341, и при этом область комплементарности составляет по меньшей мере около 15 смежных нуклеотидов в длину.

[0049] В других аспектах описаны фармацевтические композиции, которые включают по меньшей мере один описанный в данном документе олигонуклеотид, или его фармацевтически приемлемую соль, и фармацевтически приемлемый носитель, средство доставки или эксципиент. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фармацевтические композиции включают дополнительный терапевтический агент, такой как, например, гипополипидемический агент, противодиабетический агент или агент против ожирения.

[0050] В других аспектах описаны способы снижения экспрессии *APOC3* в клетке, популяции клеток, ткани, органе или организме индивидуума, которые включают по меньшей мере этапа введения/приведения в контакт с клеткой, популяцией клеток, тканью, органом или организмом индивидуума с олигонуклеотидом по настоящему изобретению или фармацевтической композицией по настоящему изобретению. В

некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения снижение экспрессии *APOC3* включает снижение количества или уровня мРНК *APOC3*, количества или уровня белка *APOC3* или того и другого в клетке, популяции клеток, ткани, органе или организме индивидуума. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения клетка, популяция клеток, ткань, орган или индивидуум имеют заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, представляет собой гипертриглицеридемию, высокий уровень холестерина не-HDL, стеатоз печени, резистентность к инсулину или даже атеросклеротическое сердечно-сосудистое заболевание (ASCVD).

[0051] В других аспектах описаны способы лечения индивидуума, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3*. Способы включают по меньшей мере этап введения индивидууму нуждающемуся в этом, эффективного количества олигонуклеотида по настоящему изобретению или фармацевтической композиции по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, представляет собой гипертриглицеридемию, высокий уровень холестерина не-HDL, стеатоз печени, резистентность к инсулину или даже ASCVD. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид или фармацевтическую композицию вводят ежедневно, еженедельно, ежемесячно, ежеквартально, ежегодно *посредством* подкожного (SQ) введения, особенно ежемесячно или ежеквартально.

[0052] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения у индивидуума имеется NAFLD, стеатоз печени, неалкогольный стеатогепатит (NASH), алкогольный гепатит (AH), алкогольная болезнь печени (ALD), холангиокарцинома (CCA), цирроз печени, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), первичный склерозирующий холангит (PSC), гиперлипидемия, диабет и/или ожирение.

[0053] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения способы включают дополнительные этапы, такие как измерение или получение информации о генотипе, экспрессии *APOC3*, уровнях белка *APOC3*, весе индивидуума и/или уровне глюкозы в крови, и/или холестерина, и/или LPL, и/или TG, и затем сравнение таких полученных значений с одним или большим количеством исходных значений или ранее полученными значениями для оценки эффективности приведения в контакт или введения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительный

этап включает подтверждение наличия у индивидуума полиморфизма усиления функции *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дополнительный этап включает подтверждение наличия у индивидуума однонуклеотидного полиморфизма (SNP) rs5128, rs2854116, rs2854117, rs2070666 или мутации 1100C>T, 2845T>G или Gln38Lys.

[0054] В любом из приведенных выше вариантов осуществления настоящего изобретения способы могут включать введение олигонуклеотида РНКи или фармацевтической композиции одновременно, отдельно или последовательно со второй композицией или вторым терапевтическим агентом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вторая композиция или второй терапевтический агент представляет собой антитело к *APOC3* или его фрагмент, гиполипидемический агент, противодиабетический агент или агент против ожирения. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения вторую композицию или второй терапевтический агент вводят с той же частотой, что и олигонуклеотид РНКи (*т. е.* через день, два раза в неделю или даже еженедельно). В других вариантах осуществления настоящего изобретения вторую композицию или второй терапевтический агент вводят с частотой, отличной от частоты введения олигонуклеотида РНКи. Аналогично, в других вариантах осуществления настоящего изобретения вторую композицию или второй терапевтический агент вводят *тем же* путем, что и олигонуклеотид РНКи (*например*, SQ). В других вариантах осуществления настоящего изобретения вторую композицию или второй терапевтический агент вводят способом, *отличным* от пути введения олигонуклеотида РНКи).

[0055] В других аспектах описано применение олигонуклеотидов РНКи по настоящему изобретению для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния, которое ассоциировано с экспрессией *APOC3*, которые необязательно вводят одновременно, отдельно или последовательно (*т. е.* в комбинации) со второй композицией или вторым терапевтическим агентом.

[0056] В других аспектах описано применение олигонуклеотидов РНКи по настоящему изобретению при изготовлении лекарственного препарата для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния, которое ассоциировано с экспрессией *APOC3*, при этом лекарственный препарат необязательно дополнительно включает вторую композицию или второй терапевтический агент.

[0057] В других аспектах описаны наборы, которые включают по меньшей мере один описанный в данном документе олигонуклеотид, необязательный фармацевтически приемлемый носитель и листок-вкладыш, содержащий инструкции по его введению индивидууму, имеющему заболевание, нарушение или патологическое состояние, которое

ассоциировано с экспрессией *АРОС3*.

[0058] Преимущество олигонуклеотидов и композиций по настоящему изобретению заключается в том, что подавление экспрессии *АРОС3* оказывает положительное влияние на весь спектр дислипидемии.

#### КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ГРАФИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ

[0059] Преимущества, эффекты, особенности и объекты, отличные от описанных выше, станут более очевидными при подробном изучении приведенного ниже описания. Такое подробное описание относится к следующим графическим материалам, где:

[0060] На ФИГ. 1А-1С представлены схемы, изображающие структуру и профиль химической модификации 3 типовых олигонуклеотидов *АРОС3*, конъюгированных с GalNAc (M1, M2 и M3, соответственно).

#### ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

##### *Обзор*

[0061] Дислипидемия относится к патологическому уровню одного или большего количества видов липидов (жиров) в крови. Существует три основных типа липидов: липопротеины высокой плотности (HDL), липопротеины низкой плотности (LDL) и TG. Дислипидемию разделяют на первичную и вторичную. Первичная дислипидемия передается по наследству, тогда как вторичная дислипидемия является приобретенным состоянием (*т.е.* развивается вследствие других причин, таких как, например, ожирение или диабет).

[0062] РНК-интерференция (РНКи) представляет собой процесс введения экзогенной РНК в клетку, приводящий к специфической деградации мРНК, кодирующей целевой белок, с последующим снижением экспрессии целевого гена.

[0063] У человека длина *АРОС3* составляет 99 аминокислот (однако остатки 1-20 представляют собой сигнальный пептид, который впоследствии расщепляется) с прогнозируемой молекулярной массой 8,8 кДа. Типовые последовательности нуклеиновой кислоты для *АРОС3* можно найти в под номером эталонной последовательности в GenBank NM\_000040 (человек), под номером эталонной последовательности в GenBank NM\_001289755 (мышь), под номером эталонной последовательности в GenBank NM\_001271053 (крыса), под номером эталонной последовательности в GenBank XM\_005579730 (NHP), под номером эталонной последовательности в GenBank XM\_001090312 (NHP), ссылочный порядковый номер GenBank XM\_008020977 (NHP) и под номером эталонной последовательности в GenBank XM\_035264642 (NHP). Однако

специалист в данной области техники понимает, что дополнительные примеры последовательностей нуклеиновых кислот АРОСЗ легко доступны с использованием общедоступных баз данных, таких как, например, GenBank и UniProt.

### *Определения*

[0064] В настоящем документе термин «около» означает внутри статистически значимого диапазона значения или значений, таких как, например, указанная концентрация, длина, молекулярная масса, рН, сходство последовательностей, временные рамки, температура, объем *и т. д.* Такое значение или диапазон может находиться в пределах порядка величины, обычно в пределах 20%, чаще в пределах 10% и еще чаще в пределах 5% от заданного значения или диапазона. Допустимое изменение, охватываемое словом «около», будет зависеть от исследуемой системы и может быть легко оценено специалистом в данной области техники.

[0065] В контексте данного документа термины «вводить», «осуществление введения», «введение» и т. п. относятся к обеспечению субстанцией (*например*, олигонуклеотидом или композицией по данному изобретению) индивида способом, который является фармакологически пригодным (*например*, для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния у индивидуума).

[0066] В контексте данного документа термин «антисмысловая цепь» означает олигонуклеотид, который комплементарен области целевой последовательности. Аналогичным образом, в данном документе термин «смысловая цепь» означает олигонуклеотид, который комплементарен области антисмысловой цепи.

[0067] В контексте данного документа «АРОСЗ» означает ген аполипопротеина С-III, который кодирует белок липопротеина очень низкой плотности (VLDL) (АРОСЗ), который ингибирует липопротеинлипазу и печеночную липазу.

[0068] В контексте данного документа термин «асиалогликопротеиновый рецептор» или «ASGPR» означает состоящий из двух частей лектин С-типа, образованный основной субъединицей массой 48 кДа (ASGPR-1) и минорной субъединицей массой 40 кДа (ASGPR-2). ASGPR преимущественно экспрессируется на синусоидальной поверхности клеток гепатоцитов и играет важную роль в связывании, интернализации и последующем удалении циркулирующих гликопротеинов, содержащих концевые остатки галактозы или GalNAc (асиалогликопротеины).

[0069] В контексте данного документа термин «ослаблять», «осуществление ослабления», «ослабление» и т. п. относится к уменьшению или эффективному прекращению. В качестве неограничивающего примера, один или большее количество из



описанных в данном документе способов лечения могут уменьшить или эффективно остановить возникновение или прогрессирование АН, АСD, АLД, ССА, СHД, MetS, PSC, цирроза печени, фиброза печени, воспаления печени, НСС, NAFLD и NASH, а также родственных заболеваний, нарушений и патологических состояний у индивидуума, таких как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение. Примером такого ослабления может быть, например, снижение одного или большего количества аспектов (*например*, симптомов, характеристик тканей, клеточной, воспалительной или иммунологической активности и т.д.) АН, АСD, АLД, ССА, СHД, MetS, PSC, цирроза печени, фиброза печени, воспаления печени, НСС, NAFLD, и NASH, а также родственных заболеваний, нарушений и патологических состояний у индивидуума, таких как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение; отсутствие заметного прогрессирования (ухудшения) одного или большего количества аспектов АН, АСD, АLД, ССА, СHД, MetS, PSC, цирроза печени, фиброза печени, воспаления печени, НСС, NAFLD и NASH, а также связанных с ними заболеваний, нарушений и патологических состояний у индивидуума, таких как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение; или отсутствие выявляемых аспектов АН, АСD, АLД, ССА, СHД, MetS, PSC, цирроза печени, фиброза печени, воспаления печени, НСС, NAFLD и NASH, а также связанных с ними заболеваний, нарушений и патологических состояний у индивидуума, таких как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение у индивидуума, когда в противном случае их можно было бы ожидать.

[0070] В контексте данного документа термин «ослаблять», «осуществление ослабления», «ослабление» и т. п. относится к уменьшению или эффективному прекращению. В качестве неограничивающего примера один или большее количество способов лечения, описанных в данном документе, могут уменьшить или эффективно остановить возникновение или прогрессирование дислипидемии/гипертриглицеридемии/гиперлипидемии у индивидуума. Примером такого ослабления может быть, например, снижение одного или большего количества аспектов (*например*, симптомов, характеристик тканей, клеточной, воспалительной или иммунологической активности и т. д.) АН, АСD, АLД, ССА, СHД, MetS, PSC, цирроза печени, фиброза печени, воспаления печени, НСС, NAFLD и NASH, а также родственных заболеваний, нарушений и патологических состояний у индивидуума, таких как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение у индивидуума, когда в противном случае их можно было бы ожидать.

[0071] В контексте данного документа термин «комплементарный» относится к структурной взаимосвязи между нуклеотидами (*например*, двумя нуклеотидами на противоположных нуклеиновых кислотах или на противоположных областях одной цепи

нуклеиновой кислоты), которая позволяет нуклеотидам образовывать пары азотистых оснований друг с другом. Например, пуриновый нуклеотид одной нуклеиновой кислоты, комплементарный пиримидиновому нуклеотиду противоположной нуклеиновой кислоты, может образовывать пары азотистых оснований вместе, образуя водородные связи друг с другом. Комплементарные нуклеотиды могут образовывать пары азотистых оснований по методу Уотсона-Крика или любым другим способом, который позволяет образовывать стабильные дуплексы. Аналогично, две нуклеиновые кислоты могут иметь области из множества нуклеотидов, которые комплементарны друг другу с образованием комплементарных областей, как описано в данном документе.

[0072] В контексте данного документа термины «контакт», «приведение в контакт» и т. п. означают прямое или косвенное введение или доставку олигонуклеотидов РНКи, например, в клетку путем облегчения или осуществления поглощения или абсорбции в клетке.

[0073] В контексте данного документа термин «дезоксирибонуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему водород вместо гидроксила в 2'-положении его пентозного сахара по сравнению с рибонуклеотидом. Модифицированный дезоксирибонуклеотид имеет одну или большее количество модификаций или замен атомов, отличных от 2'-положения, включая модификации или замены нуклеинового основания, сахара или фосфатной группы.

[0074] В контексте данного документа термин «двухцепочечный олигонуклеотид» или «ds олигонуклеотид» относится к олигонуклеотиду, который находится по существу в дуплексной форме. Комплементарное спаривание азотистых оснований дуплексной области(-ей) ds олигонуклеотида может происходить между антипараллельными последовательностями нуклеотидов ковалентно отдельных цепей нуклеиновой кислоты. Аналогичным образом, комплементарное спаривание азотистых оснований дуплексной области(-ей) ds олигонуклеотида может происходить между антипараллельными последовательностями нуклеотидов цепей нуклеиновой кислоты, которые ковалентно связаны. Более того, комплементарное спаривание азотистых оснований дуплексной области(-ей) ds олигонуклеотида может происходить в одной цепи нуклеиновой кислоты, которая свернута (*например, посредством шпильки*) для получения комплементарных антипараллельных последовательностей нуклеотидов, которые соединяются вместе. Ds олигонуклеотид может включать две ковалентно отдельные цепи нуклеиновой кислоты, которые полностью дуплексированы друг с другом. Однако ds олигонуклеотид может включать две ковалентно отдельные цепи нуклеиновой кислоты, которые частично дуплексированы (*например, имеют липкие концы на одном или обоих концах*). Ds олигонуклеотид может включать антипараллельную последовательность нуклеотидов,

которые являются частично комплементарными и, таким образом, могут иметь одно или большее количество несовпадений, которые могут включать внутренние несовпадения или концевые несовпадения.

[0075] В контексте данного документа термин «дуплекс», применительно к нуклеиновым кислотам (*например*, олигонуклеотидам), относится к структуре, образованной посредством комплементарного спаривания оснований двух антипараллельных последовательностей нуклеотидов.

[0076] В контексте данного документа термин «эксципиент» относится к нетерапевтическому агенту, которое может быть включено в фармацевтическую композицию по данному изобретению, например, для обеспечения или достижения необходимой консистенции или стабилизирующего эффекта.

[0077] В контексте данного документа термин «гепатоцит» или «гепатоциты» относится к клеткам паренхиматозных тканей печени. Эти клетки составляют около 70–85% массы печени и продуцируют сывороточный альбумин, фибронектин (FBN) и протромбиновую группу факторов свертывания крови (за исключением Факторов 3 и 4). Маркеры клеток гепатоцитарной линии включают, помимо прочего, транстиретин (Ttr), глутаминсинтетазу (Glul), ядерный фактор гепатоцитов 1a (Hnf1a) и ядерный фактор гепатоцитов 4a (Hnf4a). Маркеры зрелых гепатоцитов могут включать, помимо прочего: цитохром P450 (Cyp3a11), фумарилацетоацетатгидролазу (Fah), глюкозо-6-фосфат (G6p), альбумин (Alb) и OC2-2F8. См., *например*, Huch *et al.* (2013) NATURE 494:247-50.

[0078] В контексте данного документа термин «гепатотоксический агент» относится к химическому соединению, вирусу или другой субстанции, которые сами являются токсичными для печени или могут быть переработаны с образованием метаболита, который является токсичным для печени. Гепатотоксические агенты включать, помимо прочего, четыреххлористый углерод (CCl<sub>4</sub>), ацетаминофен (парацетамол), винилхлорид, мышьяк, хлороформ, нестероидные противовоспалительные лекарственные средства (такие как аспирин и фенилбутазон).

[0079] В контексте данного документа термин «лабильный линкер» означает линкер, который может быть расщеплен (*например*, под действием кислого pH). Аналогично, термин «довольно стабильный линкер» относится к линкеру, который не может быть расщеплен.

[0080] В контексте данного документа термин «воспаление печени» или «гепатит» относится к физическому состоянию, при котором печень становится отекающей, дисфункциональной и/или болезненной, особенно в результате поражения или инфекции, что может быть вызвано воздействием гепатотоксического средства. Симптомы могут

включать желтуху, усталость, слабость, тошноту, рвоту, снижение аппетита и потерю веса. Воспаление печени, если его не лечить, может перейти в фиброз, цирроз, печеночную недостаточность или рак печени.

[0081] В контексте данного документа термин «печеночный фиброз» или «фиброз печени» означает чрезмерное накопление в печени белков внеклеточного матрикса, которые могут включать коллагены (I, III и IV), FBN, ундулин, эластин, ламинин, гиалуронан, и протеогликаны в результате воспаления и гибели клеток печени. Фиброз печени, если его не лечить, может перейти в цирроз, печеночную недостаточность или рак печени.

[0082] В контексте данного документа термин «петля» относится к неспаренной области нуклеиновой кислоты (*например*, олигонуклеотида), фланкированной двумя антипараллельными областями нуклеиновой кислоты, которые в достаточной степени комплементарны друг другу, так что в соответствующих условиях гибридизации (*например*, в фосфатном буфере, в клетках) две антипараллельные области, фланкирующие неспаренную область, гибридизуются с образованием дуплекса (называемого «стеблем»).

[0083] В контексте данного документа термин «модифицированная межнуклеотидная связь» относится к межнуклеотидной связи, имеющей одну или большее количество химических модификаций по сравнению с эталонной межнуклеотидной связью, имеющую фосфодиэфирную связь. Модифицированный нуклеотид может представлять собой связь неприродного происхождения. Как правило, модифицированная межнуклеотидная связь придает одно или большее количество желательных свойств нуклеиновой кислоте, в которой присутствует модифицированная межнуклеотидная связь. Например, модифицированный нуклеотид может улучшить термическую стабильность, устойчивость к разложению, устойчивость к нуклеазам, растворимость, биодоступность, биоактивность, снижение иммуногенности и *т. д.*

[0084] В контексте данного документа термин «модифицированный нуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему одну или большее количество химических модификаций по сравнению с соответствующим контрольным нуклеотидом, выбранным из: аденинового рибонуклеотида, гуанинового рибонуклеотида, цитозинового рибонуклеотида, урацилового рибонуклеотида, аденинового дезоксирибонуклеотида, гуанинового дезоксирибонуклеотида, цитозинового дезоксирибонуклеотида и тимидинового дезоксирибонуклеотида. Модифицированный нуклеотид может представлять собой нуклеотид неприродного происхождения. Модифицированный нуклеотид может иметь, например, одну или большее количество химических модификаций в своем сахаре, нуклеиновом основании и/или фосфатной группе.

Дополнительно или альтернативно модифицированный нуклеотид может иметь один или большее количество химических фрагментов, конъюгированных с соответствующим эталонным нуклеотидом. Обычно модифицированный нуклеотид придает одно или большее количество желаемых свойств нуклеиновой кислоте, в которой присутствует этот модифицированный нуклеотид. Например, модифицированный нуклеотид может улучшить термическую стабильность, устойчивость к разложению, устойчивость к нуклеазам, растворимость, биодоступность, биоактивность, снижение иммуногенности и *т. д.*

[0085] В контексте данного документа термин «структура тетрапетли с одноцепочечными разрывами» относится к структуре олигонуклеотида РНКи, который характеризуется отдельными смысловой (сопровождающей) и антисмысловой (направляющей) цепями, при этом смысловая цепь имеет комплементарную область к антисмысловой цепи, и при этом по меньшей мере одна из цепей, как правило, смысловая цепь, имеет тетрапетлю, выполненную с возможностью стабилизации соседней области стебля, образованной в пределах по меньшей мере одной цепи.

[0086] В данном документе «нуклеотид» означает органическую молекулу, содержащую нуклеозид (азотистое основание, такое как, например, аденин, цитозин, гуанин, тимин или урацил; и пентозный сахар, такой как, например, рибоза или 2'-дезоксирибоза; и фосфатную группу, которая может служить мономерной единицей полимеров нуклеиновых кислот, таких как дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) и рибонуклеиновая кислота (РНК).

[0087] В контексте данного документа термин «олигонуклеотид» относится к короткой нуклеиновой кислоте (*например*, длиной менее чем около 100 нуклеотидов). Олигонуклеотид может быть одноцепочечным (ss) или ds. Олигонуклеотид может иметь или не иметь дуплексные области. В качестве неограничивающих примеров олигонуклеотид может представлять собой, помимо прочего, короткую интерферирующую РНК (siРНК), микроРНК (miРНК), короткую шпилечную РНК (shРНК), дайсер-субстратную интерферирующую РНК (dsiРНК), антисмысловой олигонуклеотид (ASO), короткую siРНК, или ss siРНК. Как правило, ds олигонуклеотид представляет собой олигонуклеотид РНКи.

[0088] В контексте данного документа термин «липкий конец» относится к концевым нуклеотидам, не образующим пары азотистых оснований, возникающим из одной цепи или области, выходящей за пределы конца комплементарной цепи, с которой одна цепь или область образует дуплекс. Липкий конец может включать один или большее количество неспаренных нуклеотидов, отходящих от дуплексной области на 5'-конце или 3'-конце ds олигонуклеотида. Липкий конец может представлять собой 3'- или 5'-липкий конец антисмысловой цепи или смысловой цепи ds олигонуклеотидов.

[0089] В контексте данного документа термин «фосфатный аналог» относится к химическому фрагменту, который имитирует электростатические и/или стерические свойства фосфатной группы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фосфатный аналог расположен на 5'-концевом нуклеотиде олигонуклеотида вместо 5'-фосфата, который часто подвержен ферментативному удалению. 5'-фосфатный аналог может содержать связь, устойчивую к фосфатазе. Примеры фосфатных аналогов включают, помимо прочего, 5'-фосфонаты, такие как 5'-метилфосфонат (5'-MP) и 5'-(Е)-винилфосфонат (5'-VP). Олигонуклеотид может иметь фосфатный аналог в 4'-углеродном положении сахара (называемый «4'-фосфатным аналогом») на 5'-концевом нуклеотиде. Примером 4'-фосфатного аналога является оксиметилфосфонат, в котором атом кислорода оксиметильной группы связан с сахарным фрагментом (*например*, с его 4'-углеродом) или его аналогом. *См., например*, международную публикацию заявки на патент № WO 2018/045317. Для 5'-конца олигонуклеотидов были разработаны другие модификации (*см., например*, международную заявку на патент № WO 2011/133871; патент США № 8927513; и публикацию Prakash *et al.* (2015) NUCLEIC ACIDS RES. 43:2993-3011).

[0090] В контексте данного документа термины «АРОС3-ассоциированное заболевание», «АРОС3-ассоциированное нарушение» или «АРОС3-ассоциированное патологическое состояние» означают патологические состояния, при которых повышена экспрессия АРОС3 и/или присутствует, например, полиморфизм АРОС3. Типовые АРОС3-ассоциированные патологические состояния, заболевания или нарушения включают, помимо прочего, АН, АСД, АЛД, ССА, СНД, MetS, PSC, цирроз печени, фиброз печени, воспаление печени, НСС, NAFLD, и NASH, а также родственные заболевания, нарушения и патологические состояния у индивидуума, такие как, например, гиперлипидемия, диабет и/или ожирение.

[0091] В контексте данного документа термин «сниженная экспрессия» применительно к гену (*например*, АРОС3) означает снижение количества или уровня транскрипта РНК (*например*, мРНК АРОС3) или белка, кодируемого геном, и/или снижение величины или уровня активности гена в клетке, популяции клеток, образце или организме индивидууме по сравнению с соответствующим эталоном (*например*, эталонной клеткой, популяцией клеток, образцом или организмом индивидуумом). Например, приведение в контакт клетки с олигонуклеотидом по настоящему изобретению (*например*, олигонуклеотидом, имеющим антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность, которая комплементарна нуклеотидной последовательности, включая мРНК АРОС3) может привести к снижению количества или уровня мРНК, белка и/или активности (*например*, посредством деградации мРНК АРОС3 по пути РНКи) по сравнению с клеткой, которую

не обрабатывали ds олигонуклеотидом. Аналогичным образом и в контексте данного документа «снижение экспрессии» означает действие, которое приводит к снижению экспрессии гена (*например, АРОС3*). В частности, в контексте данного документа «снижение экспрессии АРОС3» означает снижение количества или уровня мРНК АРОС3, белка АРОС3 и/или активности АРОС3 в клетке, популяции клеток, образце или индивидууме по сравнению с соответствующим эталоном (*например, эталонной клеткой, популяцией клеток, тканью или организмом индивидуума*).

[0092] В контексте данного документа термин «комплементарная область» относится к последовательности нуклеотидов нуклеиновой кислоты (*например, ds олигонуклеотида*), которая в достаточной степени комплементарна антипараллельной последовательности нуклеотидов для обеспечения гибридизации между двумя последовательностями нуклеотидов в соответствующих условиях гибридизации (*например, в фосфатном буфере, в клетке и т. д.*). Олигонуклеотид по настоящему изобретению включает нацеливающую последовательность, имеющую комплементарную область к целевой последовательности мРНК.

[0093] В контексте данного документа термин «рибонуклеотид» относится к нуклеотиду, имеющему рибозу в качестве пентозного сахара, который содержит гидроксильную группу в своем 2'-положении. Модифицированный рибонуклеотид представляет собой рибонуклеотид, имеющий одну или большее количество модификаций или замен атомов, отличных от 2'-положения, включая модификации или замены азотистого основания, сахара или фосфатной группы.

[0094] В контексте данного документа термин «олигонуклеотид РНКи» относится либо к (a) ds олигонуклеотиду, имеющему смысловую цепь (сопровождающую) и антисмысловую цепь (направляющую), в котором антисмысловая цепь или часть антисмысловой цепи используется эндонуклеазой *Argonaute 2* (Ago2) при расщеплении целевой мРНК, или (b) ss олигонуклеотиду, имеющему одну антисмысловую цепь, при этом эта антисмысловая цепь (или часть этой антисмысловой цепи) используется эндонуклеазой Ago2 при расщеплении целевой мРНК.

[0095] В контексте данного документа термин «цепь» относится к одной непрерывной последовательности нуклеотидов, связанных вместе межнуклеотидными связями (*например, фосфодиэфирные связи, фосфоротиоатные связи*). Цепь может иметь два свободных конца (*например, 5'-конец и 3'-конец*).

[0096] В контексте данного документа термин «индивидуум» означает любое млекопитающее, включая кошек, собак, мышей, крыс и приматов, особенно человека. Более того, термины «субъект» или «пациент» могут использоваться как синонимы термина

«индивидуум».

[0097] В контексте данного документа термин «синтетический» относится к нуклеиновой кислоте или другой молекуле, которая синтезирована искусственно (*например*, с использованием такого устройства, как, например, твердотельный синтезатор нуклеиновых кислот) или которая иным образом не получена из природного источника (*например*, клетки или организма), который обычно продуцирует нуклеиновую кислоту или другую молекулу.

[0098] В контексте данного документа «нацеливающий лиганд» означает молекулу (*например*, аминокислот, углеводов, холестерина, липид или полипептид), которая селективно связывается с родственной молекулой (*например*, рецептором) ткани или клетки, представляющих интерес, и которая конъюгируется с другой субстанцией для нацеливания другой субстанции на ткань или клетку, которые представляют интерес. Например, нацеливающий лиганд может быть конъюгирован с олигонуклеотидом, описанным в данном документе, с целью нацеливания олигонуклеотида на конкретную ткань или клетку, которые представляют интерес. Нацеливающий лиганд может селективно связываться с рецептором клеточной поверхности. Соответственно, нацеливающий лиганд, при конъюгировании с олигонуклеотидом, способствует доставке олигонуклеотида в конкретную клетку посредством селективного связывания с рецептором, экспрессируемым на поверхности клетки, и эндосомной интернализации клеткой комплекса, содержащего олигонуклеотид, нацеливающий лиганд и рецептор. Более того, нацеливающий лиганд может быть конъюгирован с олигонуклеотидом *через* линкер, который расщепляется после или во время клеточной интернализации, так что олигонуклеотид высвобождается из нацеливающего лиганда в клетке.

[0099] В контексте данного документа термин «тетрапетля» относится к петле, которая увеличивает стабильность смежного дуплекса, образованного гибридизацией фланкирующих последовательностей нуклеотидов. Повышение стабильности обнаруживается как повышение температуры плавления ( $T_m$ ) смежного дуплекса стебля, которая выше, чем  $T_m$  смежного дуплекса стебля, ожидаемая средняя температура от набора петель сопоставимой длины, состоящих из случайно выбранных последовательностей нуклеотидов. Например, тетрапетля может обеспечивать  $T_m$  по меньшей мере около  $50^\circ\text{C}$ , по меньшей мере около  $55^\circ\text{C}$ , по меньшей мере около  $56^\circ\text{C}$ , по меньшей мере около  $58^\circ\text{C}$ , по меньшей мере около  $60^\circ\text{C}$ , по меньшей мере около  $65^\circ\text{C}$  или по меньшей мере около  $75^\circ\text{C}$  в 10 mM  $\text{NaHPO}_4$  к шпильке, содержащей дуплекс длиной по меньшей мере 2 пары оснований (п.о.). Тетрапетля также может стабилизировать пары азотистых оснований в смежном дуплексе стебля за счет стэкинг-взаимодействий. Кроме того, взаимодействия между нуклеотидами в тетрапетле включают, помимо прочего, спаривание оснований не по



Уотсону-Крику, посредством стэкинг-взаимодействия, водородных связей и контактных взаимодействий (Cheong *et al.* (1990) NATURE 346:680-82; Heus & Pardi (1991) SCIENCE 253:191-94). В данном документе тетрапетля может включать или иметь около от 3 до 6 нуклеотидов и обычно имеет около от 4 до 5 нуклеотидов. Таким образом, тетрапетля может иметь 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов, которые могут быть или не быть модифицированы (*например*, которые могут быть или не быть конъюгированы с нацеливающим фрагментом), особенно 4 нуклеотида. В тетрапетле может применяться любой нуклеотид, а также могут применяться стандартные символы IUPAC-IUB для таких нуклеотидов, как описано в публикации Cornish-Bowden (1985) NUCLEIC ACIDS RES. 13:3021-30. Например, буква «N» может использоваться для обозначения того, что любое основание может находиться в этом положении, буква «R» может использоваться, чтобы продемонстрировать, что A (аденин) или G (гуанин) могут находиться в этом положении, и «B» может использоваться, чтобы продемонстрировать, что C (цитозин), G (гуанин) или T (тимин) могут находиться в этом положении. Примеры тетрапетель включают семейство тетрапетель UNCG (*например*, UUCG), семейство тетрапетель GNRA (*например*, GAAA) и тетрапетлю CUUG (Woese *et al.* (1990) PROC. NATL. ACAD. SCI. USA 87:8467-71; Antao *et al.* (1991) NUCLEIC ACIDS RES. 19:5901-05). Примеры тетрапетель ДНК включают семейство тетрапетель d(GNNA) (*например*, d(GTTA)), семейство тетрапетель d(GNRA), семейство тетрапетель d(GNAB), семейство тетрапетель d(CNNG) и семейство тетрапетель d(TNCG) (*например*, d(TTCG)). См., *например*, публикацию Nakano *et al.* (2002) БЮСНЕМ. 41:4281-92; и Shinji *et al.* (2000) NIPPON KAGAKKAI KOEN YOKOSHU 78:731. В данном документе принято, что тетрапетля может находиться внутри структуры тетрапетли с одноцепочечными разрывами.

[00100] В контексте данного документа термин «лечить» или «осуществление лечения» относится к оказанию помощи индивидууму, который в этом нуждается, например, посредством введения терапевтического агента (*например*, олигонуклеотида, описанного в данном документе) индивиду в целях улучшения здоровья и/или самочувствия индивидуума в отношении существующего патологического состояния (*например*, заболевания, нарушения) или для предупреждения или уменьшения вероятности возникновения патологического состояния. Лечение также может включать снижение частоты или степени тяжести по меньшей мере одного признака, симптома или фактора, способствующего патологическому состоянию (*например*, заболеванию, нарушению), испытываемого индивидуумом.

[00101] В контексте данного документа термины «iРНК», «агент для iРНК», «РНКи», «агент РНКи» и «агент РНК-интерференции» относятся к агенту, который содержит РНК и который опосредует целенаправленное расщепление РНК-контейнер транскрипта *через*

путь РНК-индуцированного комплекса сайленсинга (RISC). РНКи направляет специфичную для последовательности деградацию мРНК *посредством* РНК-интерференции. РНКи модулирует, ингибирует или снижает экспрессию *APOC3* в клетке.

### *Композиции*

[00102] Согласно некоторым аспектам в настоящем изобретении предлагаются олигонуклеотиды (*например*, олигонуклеотиды ds РНКи), которые снижают, модулируют или ингибируют экспрессию *APOC3* в печени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды, представленные в данном документе, применяются для лечения заболеваний, ассоциированных с экспрессией *APOC3*. В некоторых аспектах настоящего изобретения предлагаются способы лечения заболевания, ассоциированного с экспрессией *APOC3*, путем снижения, модуляции или ингибирования экспрессии *APOC3* в печени (*например*, в клетках, составляющих печень).

[00103] Олигонуклеотидные ингибиторы экспрессии *APOC3*

[00104] I. Целевые последовательности *APOC3*: Олигонуклеотиды, описанные в данном документе (*например*, олигонуклеотиды РНКи) нацелены на целевую последовательность, содержащую мРНК *APOC3* (*т.е.* целевую последовательность *APOC3*). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид или его часть, фрагмент или цепь (*например*, антисмысловая цепь или направляющая цепь ds олигонуклеотида РНКи) связывается или отжигается с целевой последовательностью *APOC3*, тем самым ингибируя экспрессию *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид нацелен на целевую последовательность *APOC3* для ингибирования экспрессии *APOC3 in vivo*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения величина или степень ингибирования экспрессии *APOC3* олигонуклеотидом, нацеленным на целевую последовательность *APOC3*, коррелирует с эффективностью олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения величина или степень ингибирования экспрессии *APOC3* олигонуклеотидом, нацеленным на целевую последовательность *APOC3*, коррелирует с величиной или степенью терапевтического эффекта у индивидуума, имеющего или подозреваемого в наличии заболевания, нарушения или патологического состояния, которое ассоциировано с экспрессией *APOC3*, подвергаемого лечению олигонуклеотидом.

[00105] Путем исследования и анализа нуклеотидной последовательности мРНК *APOC3*, включая мРНК множества различных видов (*например*, человека, яванской обезьяны; *см.*, *например*, Пример 1), а также в результате тестирования *in vitro* и *in vivo* (*см.*, *например*, Примеры 2-3), было показано, что определенные нуклеотидные последовательности мРНК

АРОСЗ большей степени, чем другие, поддаются, ингибированию экспрессии АРОСЗ посредством олигонуклеотидов и, таким образом, пригодны в качестве целевых последовательностей для олигонуклеотидов, описанных в данном документе. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь олигонуклеотида (*например*, ds олигонуклеотида РНКи), описанного в данном документе (*например*, в Таблицах 2 или 3), содержит целевую последовательность АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения часть или область смысловой цепи олигонуклеотида, описанного в данном документе (*например*, в Таблицах 2 или 3), содержит целевую последовательность АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения целевая последовательность АРОСЗ содержит или состоит из последовательности любой из SEQ ID NO: от 334 до 341.

[00106] II. Нацеливающие последовательности мРНК АРОСЗ: В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению имеют области, комплементарные мРНК АРОСЗ (*например*, в пределах целевой последовательности мРНК АРОСЗ) для нацеливания на мРНК АРОСЗ в клетках и ингибирования экспрессии АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат нацеленную на АРОСЗ последовательность (*например*, антисмысловую цепь или направляющую цепь ds олигонуклеотида), имеющую комплементарную область, которая связывается или отжигается с целевой последовательностью мРНК АРОСЗ путем комплементарного (по Уотсону-Крику) спаривания азотистых оснований. Нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет подходящую длину и содержание азотистых оснований, чтобы обеспечить возможность связывания или отжига олигонуклеотида (или его цепи) с мРНК АРОСЗ для ингибирования его экспрессии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения длина нацеливающей последовательности или области комплементарности составляет по меньшей мере около 12, по меньшей мере около 13, по меньшей мере около 14, по меньшей мере около 15, по меньшей мере около 16, по меньшей мере около 17, по меньшей мере около 18, по меньшей мере около 19, по меньшей мере около 20, по меньшей мере около 21, по меньшей мере около 22, по меньшей мере около 23, по меньшей мере около 24, по меньшей мере около 25, по меньшей мере около 26, по меньшей мере около 27, по меньшей мере около 28, по меньшей мере около 29 или по меньшей мере около 30 нуклеотидов. В альтернативном варианте нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину от 12 до около 30 (*например*, от 12 до 30, от 12 до 22, от 15 до 25, от 17 до 21, от 18 до 27, от 19 до 27 или от 15 до 30) нуклеотидов. В альтернативном варианте нацеливающая последовательность или

комплементарная область имеет длину около 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 18 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 19 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 20 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 21 нуклеотид. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 22 нуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 23 нуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет длину 24 нуклеотида.

[00107] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область (*например*, антисмысловую цепь или направляющую цепь ds олигонуклеотида), которая полностью комплементарна целевой последовательности АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область частично комплементарна целевой последовательности АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид содержит нацеливающую последовательность или область комплементарности, которая полностью комплементарна последовательности любой из SEQ ID NO: от 334 до 341. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид содержит нацеливающую последовательность или область комплементарности, которая частично комплементарна последовательности любой из SEQ ID NO: от 334 до 341.

[00108] В качестве альтернативы, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, которая комплементарна непрерывной последовательности нуклеотидов, содержащей мРНК АРОСЗ, при этом длина непрерывной последовательности нуклеотидов составляет от около 12 до около 30 нуклеотидов (*например*, от 12 до 30, от 12 до 28, от 12 до 26, от 12 до 24, от 12 до 20, от 12 до 18, от 12

до 16, от 14 до 22, от 16 до 20, от 18 до 20 или от 18 до 19 нуклеотидов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, которая комплементарна непрерывной последовательности нуклеотидов, содержащей мРНК АРОС3, при этом непрерывная последовательность нуклеотидов имеет длину 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 или 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид по настоящему изобретению содержит нацеливающую последовательность или комплементарную область, которые комплементарны непрерывной последовательности нуклеотидов, содержащей мРНК АРОС3, при этом непрерывная последовательность нуклеотидов имеет длину 19 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид по настоящему изобретению содержит нацеливающую последовательность или комплементарную область, которые комплементарны непрерывной последовательности нуклеотидов, содержащей мРНК АРОС3, при этом непрерывная последовательность нуклеотидов имеет длину 20 нуклеотидов. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, которая комплементарна непрерывной последовательности нуклеотидов любой из SEQ ID NO: от 334 до 341, необязательно, при этом непрерывная последовательность нуклеотидов имеет длину 19 нуклеотидов.

[00109] Что касается нацеливающей последовательности или комплементарной области олигонуклеотидов по настоящему изобретению, то она комплементарна смежным нуклеотидам последовательности, указанной в любой из SEQ ID NO: от 334 до 341, и охватывает всю длину антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения комплементарная область олигонуклеотидов комплементарна смежным нуклеотидам последовательности, указанной в любой из SEQ ID NO: 334-341, и охватывает часть всей длины антисмысловой цепи. В некоторых дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды включают комплементарную область (*например*, в антисмысловой цепи ds олигонуклеотида), которая по меньшей мере частично (*например*, полностью) комплементарна непрерывному участку нуклеотидов, охватывающему нуклеотиды 1-20, 1-19, 1-18 и т.д. последовательности, представленной в любой из SEQ ID NO: от 334 до 341.

[00110] В альтернативном варианте олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую одну или большее количество несовпадений пары оснований (п.о.) с соответствующей целевой последовательностью АРОС3. В некоторых вариантах осуществления настоящего

изобретения нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет до около 1, до около 2, до около 3, до около 4, до около 5 и *m. d.* несовпадений с соответствующей целевой последовательностью АРОСЗ при условии сохранения способности нацеливающей последовательности или комплементарной области связываться или отжигать мРНК АРОСЗ в соответствующих условиях гибридизации и/или способности олигонуклеотида снижать или ингибировать экспрессию АРОСЗ. Иными словами, нацеливающая последовательность или комплементарная область имеет не более 1, не более 2, не более 3, не более 4 или не более 5 несовпадений с соответствующей целевой последовательностью АРОСЗ при условии сохранения способности нацеливающей последовательности или комплементарной области связывать или отжигать мРНК АРОСЗ в соответствующих условиях гибридизации и/или способности олигонуклеотидов снижать или ингибировать экспрессию АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую 1 несовпадение с соответствующей целевой последовательностью. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую 2 несовпадения с соответствующей целевой последовательностью. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую 3 несовпадения с соответствующей целевой последовательностью. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую 4 несовпадения с соответствующей целевой последовательностью. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область, имеющую 5 несовпадений с соответствующей целевой последовательностью. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область более чем с одним несовпадением (*например*, 2, 3, 4, 5 или большее количество несовпадений) с соответствующей целевой последовательностью, при этом по меньшей мере 2 (*например*, все) из несовпадений расположены последовательно (*например*, 2, 3, 4, 5 или большее количество несовпадений подряд) или когда несовпадения расположены в любом положении по всей нацеливающей последовательности или комплементарной области. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат нацеливающую последовательность или комплементарную область более чем с одним несовпадением (*например*, 2, 3, 4, 5 или большее количество несовпадений) с

соответствующей целевой последовательностью, при этом по меньшей мере 2 (*например*, все) несовпадения расположены последовательно (*например*, 2, 3, 4, 5 или большее количество несовпадений подряд), или при этом по меньшей мере одна или большее количество несовпадающих пар азотистых оснований расположены между несовпадениями или их комбинацией.

[00111] III. Типы олигонуклеотидов: Различные типы олигонуклеотидов и/или структуры полезны для нацеливания на мРНК АРОСЗ, включая, помимо прочего, олигонуклеотиды РНКи, антисмысловые олигонуклеотиды, miРНК *и т.д.* Любой из типов олигонуклеотидов, описанных в данном документе или в других источниках, может быть использован в качестве основы для включения в него нацеливающей последовательности для ингибирования экспрессии АРОСЗ. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению ингибируют экспрессию АРОСЗ, путем взаимодействия с путями РНКи выше или ниже от включения фермента дайсер. Например, были разработаны олигонуклеотиды РНКи, каждая цепь которых имеет размер около 19-25 нуклеотидов с по меньшей мере одним 3'-липким концом длиной от 1 до 5 нуклеотидов (*см., например*, патент США № 8 372 968). Также были разработаны более длинные олигонуклеотиды, которые процессируются посредством фермента дайсер для создания активных продуктов РНКи (*см., например*, патент США № 8 883 996). В ходе дальнейшей работы были получены удлиненные ds олигонуклеотиды, в которых по меньшей мере один конец по меньшей мере одной цепи удлинен за пределы дуплексной нацеливающей области, включая структуры, в которых одна из цепей включает термодинамически стабилизированную тетрапетлевою структуру (*см., например*, патенты США №№ 8 513 207 и 8 927 705, а также публикацию заявки на патент № WO 2010/033225). Такие структуры включают ss удлинения (с одной или обеих сторон молекулы), а также ds удлинения.

[00112] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению взаимодействуют с путем РНКи ниже от включения фермента дайсер (например, расщепление ферментом дайсер). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды имеют липкий конец (*например*, длиной 1, 2 или 3 нуклеотида) на 3'-конце смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды (*например*, siРНК) включают антисмысловую цепь из 21 нуклеотида, которая является антисмысловой по отношению к целевой мРНК (*например*, мРНК АРОСЗ), и комплементарную смысловую цепь, в которой обе цепи отжигаются с образованием дуплекса длиной 19 п. о. и липких концов из 2 нуклеотидов на одном или обоих 3'-концах. Также рассматриваются более длинные конструкции олигонуклеотидов, включая олигонуклеотиды, имеющие

антисмысловую цепь из 23 нуклеотидов и смысловую цепь из 21 нуклеотида, при этом имеется тупой конец на правой стороне молекулы (3'-конец смысловой цепи/5'-конец антисмысловой цепи) и двухнуклеотидный выступ 3'-антисмысловой цепи на левой стороне молекулы (5'-конец смысловой цепи/3'-конец антисмысловой цепи). В таких молекулах имеется дуплексная область длиной 21 п. о. *См., например*, патенты США № 9 012 138; 9 012 621 и 9 193 753.

[00113] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат смысловую и антисмысловую цепи, каждая из которых имеет длину от около 17 до около 26 (*например*, от 17 до 26, от 20 до 25 или 21-23) нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат смысловую и антисмысловую цепь, длина которых составляет от около 19 до около 22 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая и антисмысловая цепи имеют одинаковую длину. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат смысловую и антисмысловую цепи, так что имеется 3'-липкий конец либо на смысловой цепи, либо на антисмысловой цепи, либо как на смысловой, так и на антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения для олигонуклеотидов, имеющих смысловую и антисмысловую цепи, длина каждой из которых находится в диапазоне от около 21 до около 23 нуклеотидов, 3'-липкий конец на смысловой, антисмысловой или как смысловой, так и антисмысловой цепях имеет длину 1 или 2 нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат антисмысловую цепь из 22 нуклеотидов и смысловую цепь из 20 нуклеотидов, причем на правой стороне молекулы имеется тупой конец (3'-конец смысловой цепи/5'-конец антисмысловой цепи) и 2-нуклеотидный выступ 3'-антисмысловой цепи на левой стороне молекулы (5'-конец смысловой цепи/3'-конец антисмысловой цепи). В таких молекулах имеется дуплексная область длиной 20 п. о.

[00114] Другие конструкции олигонуклеотидов для применения, описанного в данном документе, включают: 16-мерные siРНК (*см., например*, NUCLEIC ACIDS IN CHEMISTRY AND BIOLOGY, Blackburn (ed.), Royal Society of Chemistry, 2006), shРНК (*например*, имеющую стебли из 19 п. о. или короче; *см., например*, Moore *et al.* (2010) METHODS MOL. BIOL. 629:141-58), siРНК с тупыми концами (*например*, длиной 19 п. о.; *см., например*, Kraupack & Baker (2006) RNA 12:163-76), асимметричные siРНК (aiРНК; *см., например*, Sun *et al.* (2008) NAT. BIOTECHNOL. 26:1379-82), асимметричную более короткую дуплексную siРНК (*см., например*, Chang *et al.* (2009) MOL. THER. 17:725-32), разветвленные siРНК (*см., например*, Hohjoh (2004) FEBS LETT. 557:193-98), ss siРНК (*см., например*, Elsner (2012) NAT. BIOTECHNOL 30:1063), гантелеобразные кольцевые siРНК (*см., например*, Abe *et al.* (2007) J.



AM. CHEM. SOC 129:15108-09), и малую внутренне сегментированную интерферирующую РНК (sisiРНК; см., например, Bramsen *et al.* (2007) NUCLEIC ACIDS RES. 35:5886-97). Дополнительными неограничивающими примерами олигонуклеотидных структур, которые можно применить согласно данному документу для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, являются miРНК, shРНК и короткая siРНК (см., например, Hamilton *et al.* (2002) EMBO J. 21:4671-79; см. также патент США № 7 659 389).

[00115] В альтернативном варианте олигонуклеотиды по настоящему изобретению являются одноцепочечными (ss). Такие структуры включают, помимо прочего, одноцепочечные молекулы ss РНКи. Недавние исследования продемонстрировали активность одноцепочечных молекул ss РНКи (см., например, Matsui *et al.* (2016) MOL. THER. 24:946-55). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды представляют собой ASO. ASO представляет собой ss олигонуклеотид, который имеет последовательность нуклеиновых оснований, которая при записи или изображении в направлении от 5' к 3', включает обратную комплементарную цепь целевого сегмента конкретной нуклеиновой кислоты, и соответствующим образом модифицирована (например, в виде гэпмера), для индукции опосредованного РНКазойН расщепления целевой РНК в клетках, или (например, в виде миксмера) для ингибирования трансляции целевой мРНК в клетках. ASO для применения по настоящему изобретению могут быть модифицированы любым подходящим способом, известным в данной области техники, включая, например, как описано в патенте США № 9 567 587 (включая, например, длину, сахарные остатки азотистого основания (пиримидин, пурин) и изменения гетероциклической части азотистого основания). Кроме того, ASO десятилетиями применяли для снижения экспрессии определенных целевых генов (см., например, Bennett *et al.* (2017) ANNU. REV. PHARMACOL. 57:81-105).

[00116] IV. ds олигонуклеотиды РНКи: ds олигонуклеотиды для нацеливания на мРНК *APOC3* и ингибирования экспрессии *APOC3* (например, через путь РНКи), содержащие смысловую цепь (*m.e.* сопровождающую цепь) и антисмысловую цепь (*m.e.* направляющую цепь). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь представляют собой отдельные цепи и не связаны ковалентно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь ковалентно связаны.

[00117] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь содержит первую область (R1) и вторую область (R2), при этом R2 содержит первую субобласть (S1), triL или L, и вторую субобласть (S2), при этом triL или L расположен между S1 и S2, и при этом S1 и S2 образуют второй дуплекс (D2). D2 имеет разную длину. В

некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения D2 имеет длину от около 1 до около 6 п.о. В других вариантах осуществления настоящего изобретения D2 имеет длину 2-6, 3-6, 4-6, 5-6, 1-5, 2-5, 3-5 или 4-5 п.о. В других вариантах осуществления настоящего изобретения D2 имеет длину 1, 2, 3, 4, 5 или 6 п.о. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения D2 имеет длину 6 п.о.

[00118] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения R1 смысловой цепи и антисмысловая цепь образуют первый дуплекс (D1). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения D1 имеет длину по меньшей мере около 15 (*например*, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19, по меньшей мере 20 или по меньшей мере 21) нуклеотидов. В других вариантах осуществления настоящего изобретения D1 имеет длину от около 12 до около 30 нуклеотидов (*например*, от 12 до 30, от 12 до 27, от 15 до 22, от 18 до 22, от 18 до 25, от 18 до 27, от 18 до 30 или от 21 до 30 нуклеотидов). В других вариантах осуществления настоящего изобретения D1 имеет длину по меньшей мере 12 нуклеотидов (*например*, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25 или по меньшей мере 30 нуклеотидов). В других вариантах осуществления настоящего изобретения D1 имеет длину 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения длина D1 составляет 20 нуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения D1 не охватывает всю длину смысловой цепи и/или антисмысловой цепи. В других вариантах осуществления настоящего изобретения D1 охватывает всю длину либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи, либо обеих. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения D1 охватывает всю длину как смысловой, так и антисмысловой цепи.

[00119] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения в настоящем изобретении описаны олигонуклеотиды РНКи для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, которые включают смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) последовательность, как указано в Таблице 2 (*например*, любую из последовательностей с нечетным номером SEQ ID NO: от 9 до 170), особенно SEQ ID NO: 37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105.

[00120] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения в настоящем изобретении описаны РНКи олигонуклеотиды для снижения или ингибирования экспрессии *APOC3*, которые включают антисмысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) последовательность, как указано в Таблице 2 (*например*, любую из последовательностей с четным номером SEQ ID NO: от 9 до 170), особенно SEQ ID NO: 38,

44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106.

[00121] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106.

[00122] В определенных дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:37, 89 и 101, и антисмысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:38, 90 и 102.

[00123] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь олигонуклеотида РНКи, соответственно, выбраны из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106.

[00124] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность указанную в Таблице 3 (*например*, любую из последовательностей с нечетным номером SEQ ID NO: от 171 до 332), особенно SEQ ID NO:199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267.

[00125] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает антисмысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность, как указано в Таблице 3 (*например*, любую из последовательностей с четным номером SEQ ID NO: от 171 до 332), особенно 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[00126] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267, и антисмысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из)

нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[00127] В определенных дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид РНКи включает смысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:199, 251 и 263, и антисмысловую цепь, имеющую (содержащую или состоящую из) нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:200, 252 и 264.

[00128] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь и антисмысловая цепь олигонуклеотида РНКи, соответственно, выбраны из:

- (a) SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b) SEQ ID NO: 205 и 206,
- (c) SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d) SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e) SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f) SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g) SEQ ID NO:263 и 264, и
- (h) SEQ ID NO:267 и 268.

[00129] Специалисту в данной области техники понятно, что в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения последовательности, представленные в перечне последовательностей, упоминаются при описании структуры олигонуклеотида (*например*, ds олигонуклеотида) или другой нуклеиновой кислоты. В таких вариантах осуществления настоящего изобретения фактический олигонуклеотид или другая нуклеиновая кислота имеет один или большее количество альтернативных нуклеотидов (*например*, РНК-аналог нуклеотида ДНК или ДНК-аналог нуклеотида РНК), и/или один или большее количество модифицированных нуклеотидов, и/или одну или большее количество модифицированных межнуклеотидных связей, и/или одну или большее количество других модификаций по сравнению с указанной последовательностью, сохраняя при этом по сути такие же или аналогичные свойства комплементарности, что и указанная последовательность.

[00130] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ds олигонуклеотид содержит смысловую цепь из 25 нуклеотидов и антисмысловую цепь из 27 нуклеотидов, которые при воздействии на них фермента дайсер приводят к образованию антисмысловой цепи, которая включается в зрелый RISC. В других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь ds олигонуклеотида длиннее 25 нуклеотидов (*например*, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов). В других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь ds олигонуклеотида длиннее 27

нуклеотидов (*например* 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 нуклеотидов).

[00131] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ds олигонуклеотиды, описанные в данном документе, имеют один 5'-конец, который термодинамически менее стабилен по сравнению с другим 5'-концом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения ds олигонуклеотид является асимметричным и включает тупой конец на 3'-конце смысловой цепи и 3'-липкий конец на 3'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения 3'-липкий конец антисмысловой цепи имеет длину от около 1 до около 8 нуклеотидов (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 или 8 нуклеотидов). Как правило, ds олигонуклеотид для РНКи имеет липкий конец из двух нуклеотидов на 3'-конце антисмысловой (направляющей) цепи. Однако возможны и другие липкие концы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения липкий конец представляет собой 3'-липкий конец, имеющий длину от около 1 до около 6 нуклеотидов, необязательно от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4, от 2 до 3, от 3 до 6, от 3 до 5, от 3 до 4, от 4 до 6, от 4 до 5, от 5 до 6 нуклеотидов или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. Однако в других вариантах осуществления настоящего изобретения липкий конец представляет собой 5'-липкий конец, имеющий длину от около 1 до около 6 нуклеотидов, необязательно от 1 до 5, от 1 до 4, от 1 до 3, от 1 до 2, от 2 до 6, от 2 до 5, от 2 до 4, от 2 до 3, от 3 до 6, от 3 до 5, от 3 до 4, от 4 до 6, от 4 до 5, от 5 до 6 нуклеотидов или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов.

[00132] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированы два концевых нуклеотида на 3'-конце антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения два концевых нуклеотида на 3'-конце антисмысловой цепи комплементарны целевой мРНК (*например*, мРНК АРОС3). В других вариантах осуществления настоящего изобретения два концевых нуклеотида на 3'-конце антисмысловой цепи не комплементарны целевой мРНК. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения два концевых нуклеотида на каждом 3'-конце олигонуклеотида в структуре тетрапетли с разрывом представляют собой GG. Как правило, один или оба из двух концевых нуклеотидов GG на каждом 3'-конце ds олигонуклеотида не комплементарны целевой мРНК.

[00133] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения имеется одно или большее количество (*например*, 1, 2, 3, 4 или 5) несовпадений между смысловой и антисмысловой цепью. Если между смысловой и антисмысловой цепью имеется более одного несовпадения, они могут быть расположены последовательно (*например*, 2, 3 или более подряд) или перемежаться по всей области комплементарности. В некоторых

вариантах осуществления настоящего изобретения 3'-о́нец смысловой цепи содержит одно или большее количество несовпадений. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения два несовпадения включаются на 3'-конце смысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения несовпадения оснований или дестабилизация сегментов на 3'-конце смысловой цепи олигонуклеотида улучшает или повышает эффективность ds олигонуклеотида.

[00134] А. Смысловые цепи. Олигонуклеотиды (*например*, ds олигонуклеотид) по настоящему изобретению для нацеливания на мРНК АРОС3 и ингибирования экспрессии АРОС3 включают последовательность смысловой цепи, включая последовательность, представленную в отношении смысловых цепей по Таблице 2 или Таблице 3. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды включают смысловую цепь, содержащую по меньшей мере около 12 (*например*, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по меньшей мере 18, по меньшей мере 19 по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22 или по меньшей мере 23) смежных нуклеотидов последовательности, указанной в любой из SEQ ID NO:37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105, или смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO:199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267.

[00135] Кроме того, олигонуклеотиды (*например*, ds олигонуклеотид) по настоящему изобретению включают смысловую цепь (или сопровождающую цепь) длиной до около 40 нуклеотидов (*например*, до 40, до 36, до 30, до 27, до 25, до 21, до 19, до 17 или до 12 нуклеотидов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды могут иметь смысловую цепь длиной по меньшей мере около 12 нуклеотидов (*например*, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15, по меньшей мере 19, по меньшей мере 21, по меньшей мере 25, по меньшей мере 27, по меньшей мере 30, по меньшей мере 36 или по меньшей мере 38 нуклеотидов в длину). В альтернативном варианте олигонуклеотиды могут иметь смысловую цепь в диапазоне от около 12 до около 40 (*например*, от 12 до 40, от 12 до 36, от 12 до 32, от 12 до 28, от 15 до 40, от 15 до 36, от 15 до 32, 15 до 28, от 17 до 21, от 17 до 25, от 19 до 27, от 19 до 30, от 20 до 40, от 22 до 40, от 25 до 40 или от 32 до 40) нуклеотидов в длину. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды могут иметь смысловую цепь длиной 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 нуклеотидов.

[00136] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь содержит структуру «стебель-петля» на своем 3'-конце. В других вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь содержит структуру «стебель-петля» на своем 5'-

конце. В дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения стебель представляет собой дуплекс длиной около 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 или 14 п.о. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения структура «стебель-петля» обеспечивает защиту олигонуклеотидам от деградации (*например*, ферментативной деградации) и облегчает или улучшает нацеливание и/или доставку в целевую клетку, целевую ткань или целевой орган (*например*, печень), или и то и другое. Например, петля «стебель-петля» обеспечивает нуклеотиды, имеющие одну или большее количество модификаций, которые облегчают, улучшают или усиливают нацеливание на целевую мРНК (*например*, мРНК АРОС3), ингибируют экспрессию целевого гена (*например*, экспрессию АРОС3) и/или доставку в целевую клетку, целевую ткань или целевой орган (*например*, печень), или и то, и другое. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения сама структура «стебель-петля» или модификация (модификации) «стебель-петля» по сути не влияет на присущую олигонуклеотиду активность ингибирования экспрессии генов, но облегчают, улучшают или повышают стабильность (*например*, обеспечивают защиту от расщепления) и /или доставку олигонуклеотида в целевую клетку, целевую ткань или целевой орган (*например*, печень). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид содержит смысловую цепь, содержащую (*например*, на своем 3'-конце) структуру «стебель-петля», представленную как: S1-L-S2, в которой S1 комплементарна S2, и в которой L образует ss петлю между S1 и S2 длиной до около 10 нуклеотидов (*например*, длиной 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 нуклеотидов). В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения петля (L) имеет длину 4 нуклеотида. На ФИГ. 1А-1С изображены неограничивающие примеры такого олигонуклеотида. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения петля (L) структуры «стебель-петля», которая имеет структуру S1-L-S2, как описано выше, представляет собой тетрапетлю (*например*, в пределах структуры тетрапетли с разрывом). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения тетрапетля содержит рибонуклеотиды, дезоксирибонуклеотиды, модифицированные нуклеотиды, лиганды доставки и их комбинации.

[00137] В. Антисмысловые цепи: Олигонуклеотиды (*например*, ds олигонуклеотид) по настоящему изобретению для нацеливания на мРНК АРОС3 и ингибирования экспрессии АРОС3 включают антисмысловую цепь, включающую последовательность, представленную в антисмысловых цепях Таблицы 2 или Таблицы 3. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды включают антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере около 12 (*например*, по меньшей мере 12, по меньшей мере 13, по меньшей мере 14, по меньшей мере 15, по меньшей мере 16, по меньшей мере 17, по

меньшей мере 18, по меньшей мере 19 по меньшей мере 20, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22 или по меньшей мере 23) смежных нуклеотидов последовательности, указанной в любой из SEQ ID NO: 38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106, или бессмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

[00138] Кроме того, олигонуклеотиды (*например*, ds олигонуклеотид) по настоящему изобретению могут включать бессмысловую цепь длиной до около 40 нуклеотидов (*например*, до 40, до 35, до 30, до 27, до 25, до 21, до 19, до 17 или до 12 нуклеотидов). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды могут иметь бессмысловую цепь длиной по меньшей мере около 12 нуклеотидов (*например*, по меньшей мере 12, по меньшей мере 15, по меньшей мере 19, по меньшей мере 21, по меньшей мере 22, по меньшей мере 25, по меньшей мере 27 по меньшей мере 30, по меньшей мере 35 или по меньшей мере 38 нуклеотидов). В альтернативном варианте олигонуклеотиды могут иметь бессмысловую цепь в диапазоне от около 12 до около 40 (*например*, от 12 до 40, от 12 до 36, от 12 до 32, от 12 до 28, от 15 до 40, от 15 до 36, от 15 до 32, 15 до 28, от 17 до 22, от 17 до 25, от 19 до 27, от 19 до 30, от 20 до 40, от 22 до 40, от 25 до 40 или от 32 до 40) нуклеотидов в длину. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды могут иметь бессмысловую цепь длиной 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 или 40 нуклеотидов.

[00139] Как отмечалось выше, бессмысловая цепь олигонуклеотидов по настоящему изобретению может называться «направляющей цепью». Например, бессмысловая цепь, которая взаимодействует с RISC и которая связывается с белком *Argonaute*, таким как Ago2, или которая взаимодействует или связывается с одним или большим количеством подобных факторов и направляет сайленсинг целевого гена, бессмысловая цепь называется направляющей цепью (или «сопровождающей цепью»).

[00140] V. Модификации олигонуклеотидов:

[00141] A. Модификации сахара. Модифицированный сахар (также называемый в данном документе аналогом сахара) включает модифицированный фрагмент дезоксирибозы или рибозы, в котором, например, одна или большее количество модификаций происходят в 2', 3', 4', и/или 5' положении углерода сахара. Модифицированный сахар также включает неприродные, альтернативные углеродные структуры, такие как те, которые присутствуют в замкнутых нуклеиновых кислотах («LNA»; см., *например*, Koshkin *et al.* (1998) TETRAHEDRON 54:3607-30), замкнутых нуклеиновых кислотах («UNA»; см., *например*, Snead *et al.* (2013) MOL. THER-NUC. ACIDS 2:e103) и мостиковых нуклеиновых кислотах («BNA»;



см., например, Imanishi & Obika (2002) CHEM. COMMUN. 16:1653-59).

[00142] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нуклеотидная модификация сахара представляет собой 2'-модификацию, такую как, например, 2'-О-пропаргил, 2'-О-пропиламин, 2'-амино, 2'-этил, 2'-F, 2'-аминоэтил (EA), 2'-ОМе, 2'-МОЕ, 2'-О-[2-(метиламино)-2-оксоэтил] (2'-О-NMA) или 2'-FANA. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модификация представляет собой 2'-F, 2'-ОМе или 2'-МОЕ. В других вариантах осуществления настоящего изобретения модификация сахара представляет собой модификацию сахарного кольца, которая включает модификацию одного или большего количества атомов углерода сахарного кольца. Например, модификация сахара представляет собой 2'-кислород сахара, связанный с 1'-углеродом или 4'-углеродом сахара, или 2'-кислород, связанный с 1'-углеродом или 4'-углеродом *через* этиленовый или метиленовый мостик. В других вариантах осуществления настоящего изобретения модификация представляет собой ациклический сахар, в котором отсутствует связь между 2'-углеродом и 3'-углеродом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения модификация представляет собой тиольную группу, такую как, например, в 4'-положении сахара.

[00143] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению включают по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид (*например*, по меньшей мере 1, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35, по меньшей мере 40, по меньшей мере 45, по меньшей мере 50, по меньшей мере 55, по меньшей мере 60 и более). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь содержит по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид (*например*, по меньшей мере 1, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20, по меньшей мере 25, по меньшей мере 30, по меньшей мере 35 или большее количество). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь содержит по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид (*например*, по меньшей мере 1, по меньшей мере 5, по меньшей мере 10, по меньшей мере 15, по меньшей мере 20 или большее количество).

[00144] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения все нуклеотиды смысловой цепи, за исключением тетрапетли, модифицированы. Аналогичным образом модифицируются все нуклеотиды антисмысловой цепи. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения все ds нуклеотиды олигонуклеотидов по настоящему изобретению (*т.е.* парные нуклеотиды смысловой цепи и антисмысловой цепи) являются модифицированными. Как указано выше и в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения, модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-

модификацию (*например*, 2'-F, 2'-ОМе, 2'-МОЕ и/или 2'-FANA. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированный нуклеотид представляет собой 2'-модификацию, такую как, например, 2'-F или 2'-ОМе.

[00145] Более того, олигонуклеотиды по настоящему изобретению имеют разные профили модификации. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированные олигонуклеотиды содержат антисмысловую цепь, имеющую профиль модификации, как указано в Таблице 3, и содержат последовательность смысловой цепи, имеющую профиль модификации, как указано в Таблице 3 (а также на ФИГ. 1А-1С). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения одно или большее количество положений 8, 9, 10 или 11 смысловой цепи модифицированы 2'-F. В других вариантах осуществления настоящего изобретения молекула сахара в каждом нуклеотиде в положениях от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36 в смысловой цепи модифицирована 2'-ОМе. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения положения с 8 по 11 смысловой цепи модифицированы 2'-F, а положения от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36 модифицированы 2'-ОМе.

[00146] В определенных дополнительных вариантах осуществления настоящего изобретения смысловая цепь, содержащая 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях от 8 до 11, 2'-ОМе модифицированный нуклеотид в положениях от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36, нуклеотид, конъюгированный с GalNAc, в положении 28, 29 и 30, и фосфоротиоатную связь между положениями 1 и 2.

[00147] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь содержит один или большее количество нуклеотидов в положениях 2-5, 7, 10 и 14, модифицированных 2'-F, и один или большее количество нуклеотидов в положениях 1, 6, от 8 до 9, от 11 до 13 и от 15 до 22, модифицированного 2'-ОМе. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения описан олигонуклеотид с антисмысловой цепью, содержащей 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях от 2 до 5, 7, 10 и 14, и 2'-ОМе-модифицированный нуклеотид в положениях 1, 6, от 8 до 9, от 11 до 13 и от 15 до 22.

[00148] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения антисмысловая цепь содержит 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях от 2 до 5, 7, 10 и 14, 2'-ОМе модифицированный нуклеотид в положениях 1, 6, от 8 до 9, от 11 до 13 и от 15 до 22, и фосфоротиоатную связь между положениями 1 и 2, положениями 2 и 3, положениями 3 и 4, положениями 20 и 21 и положениями 21 и 22

[00149] В. 5'-концевые фосфаты: 5'-концевые фосфатные группы можно использовать для усиления взаимодействия олигонуклеотидов по настоящему изобретению с Ago2. Однако олигонуклеотиды, имеющие 5'-фосфатную группу, могут подвергаться расщеплению *под*

*действием* фосфатаз или других ферментов, что может ограничивать их биодоступность *in vivo*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) содержат аналоги 5'-фосфатов, которые устойчивы к такой деградации. Примеры таких аналогов фосфата включают, помимо прочего, оксиметилфосфонат, винилфосфонат, малонилфосфонат или их комбинацию. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения 3'-конец цепи олигонуклеотидов присоединен к химическому фрагменту, который имитирует электростатические и стерические свойства природной 5'-фосфатной группы («имитатор фосфата»).

[00150] В альтернативном или дополнительном варианте олигонуклеотиды по настоящему изобретению имеют фосфатный аналог в 4'-углеродном положении сахара (называемый «4'-фосфатным аналогом»). *См., например*, международную публикацию заявки на патент № WO 2018/045317. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению включают 4'-фосфатный аналог на 5'-концевом нуклеотиде. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фосфатный аналог представляет собой оксиметилфосфонат, в котором атом кислорода оксиметильной группы связан с фрагментом сахара (*например*, по его 4'-углероду) или его аналогом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения 4'-фосфатный аналог представляет собой тиометилфосфонат или аминометилфосфонат, в котором атом серы тиометильной группы или атом азота аминометильной группы связан с 4'-углеродом фрагмента сахара или его аналога. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения 4'-фосфатный аналог представляет собой оксиметилфосфонат, который представлен формулой  $-O-CH_2-PO(OH)_2$  или  $-O-CH_2-PO(OR)_2$ , где R независимо выбран из H, CH<sub>3</sub>, алкильной группы, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CN, CH<sub>2</sub>OCOC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, или защитной группы. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения алкильная группа представляет собой CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>. В некоторых других вариантах осуществления настоящего изобретения R независимо выбран из H, CH<sub>3</sub>, или CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>.

[00151] С. Модифицированные межнуклеотидные связи. В дополнение к вышеуказанным модификациям олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) содержат модифицированную межнуклеотидную связь. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фосфатные модификации или замены способствуют получению олигонуклеотидов, которые содержат по меньшей мере около 1 модифицированную межнуклеотидную связь (*например*, по меньшей мере 1, по меньшей мере 2, по меньшей мере 3 или по меньшей мере 5). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds

олигонуклеотид) содержат от около 1 до около 10 (*например*, от 1 до 10, от 2 до 8, от 4 до 6, от 3 до 10, от 5 до 10, от 1 до 5, от 1 до 3 или от 1 до 2) модифицированных межнуклеотидных связей. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 или 10 модифицированных межнуклеотидных связей.

[00152] Примеры модифицированных межнуклеотидных связей включают, помимо прочего, фосфородитионатную связь, фосфоротионатную связь, фосфотриэфирную связь, тиоалкилфосфонатную связь, тиоалкилфосфотриэфирную связь, фосфорамидитную связь, фосфонатную связь или боранофосфатную связь. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения по меньшей мере одна модифицированная межнуклеотидная связь любого из олигонуклеотидов, описанных в данном документе, представляет собой фосфоротионатную связь.

[00153] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по данному изобретению содержат фосфоротионатную связь между одним или большим количеством из следующих элементов: положения 1 и 2 смысловой цепи, положения 1 и 2 антисмысловой цепи, положения 2 и 3 антисмысловой цепи, положения 3 и 4 антисмысловой цепи, положения 20 и 21 антисмысловой цепи и положения 21 и 22 антисмысловой цепи. В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат фосфоротионатную связь между каждым из следующих элементов: положения 1 и 2 смысловой цепи, положения 1 и 2 антисмысловой цепи, положения 2 и 3 антисмысловой цепи, положения 3 и 4 антисмысловой цепи, положения 20 и 21 антисмысловой цепи и положения 21 и 22 антисмысловой цепи.

[00154] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид по настоящему изобретению включает:

смысловую цепь, имеющую 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях от 8 до 11, 2'-ОМе модифицированный нуклеотид в положениях от 1 до 7, от 12 до 27 и от 31 до 36, нуклеотид, конъюгированный с GalNAc, в положении 28, 29 и 30, и фосфоротионатную связь между положениями 1 и 2.

антисмысловую цепь, имеющую 2'-F-модифицированный нуклеотид в положениях со 2 по 5, 7, 10 и 14, 2'-ОМе в положениях 1, 6, с 8 по 9, с 11 по 13 и с 15 по 22, тиофосфатную связь между положениями 1 и 2, положениями 2 и 3, положениями 3 и 4, положениями 20 и 21 и положениями 21 и 22, и 5'-концевой нуклеотид в положении 1, содержащий аналог 4'-фосфата, необязательно при этом 5'-концевой нуклеотид содержит 4-О-монометилфосфонат-2'-О-метилуридин [MePhosphonate-4O-mU]; при этом положения с 1 по 20 антисмысловой цепи образуют дуплексную область с положениями с 1 по 20

смысловой цепи, в которой положения с 21 по 36 смысловой цепи образуют структуру «стебель-петля», в которой положения с 27 по 30 образуют петлю структуры «стебель-петля», необязательно при этом положения с 27 по 30 содержат тетрапетлю, а положения 21 и 22 антисмысловой цепи содержат липкий конец, и при этом смысловая цепь и антисмысловые цепи включают нуклеотидные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b) SEQ ID NO: 205 и 206,
- (c) SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d) SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e) SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f) SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g) SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h) SEQ ID NO: 267 и 268.

[00155] D. Модификации оснований. В дополнение к вышеуказанным модификациям олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) также содержат одно или большее количество модифицированных нуклеиновых оснований. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированные нуклеиновые основания (также называемые в данном документе аналогами оснований) связаны в 1'-положении сахарного фрагмента нуклеотида. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированное нуклеиновое основание представляет собой азотистое основание. В других вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированное нуклеиновое основание не содержит атома азота. *См., например*, публикацию заявки на патент США № 2008/0274462. В определенных других вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированный нуклеотид представляет собой универсальное основание. Однако в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения модифицированный нуклеотид не содержит нуклеинового основания (безосновной).

[00156] Что касается универсальных азотистых оснований, они содержат гетероциклический фрагмент, расположенный в 1'-положении сахарного фрагмента нуклеотида в модифицированном нуклеотиде или в эквивалентном положении при замене сахарного фрагмента нуклеотида, который, когда он присутствует в дуплексе, расположен напротив более одного типа основания без существенного изменения структуры дуплекса. Более того, по сравнению с эталонной ss нуклеиновой кислотой (*например*, олигонуклеотидом), которая полностью комплементарна целевой нуклеиновой кислоте, ss

нуклеиновая кислота, имеющая универсальное основание, образует дуплекс с целевой нуклеиновой кислотой, которая имеет более низкую  $T_m$ , чем дуплекс, образованный с комплементарной нуклеиновой кислотой. Однако по сравнению с эталонной ss нуклеиновой кислотой, в которой универсальное основание заменено на основание, создающее одно несоответствие, ss нуклеиновая кислота, имеющая универсальное основание, образует дуплекс с целевой нуклеиновой кислотой, которая имеет более высокую  $T_m$ , чем дуплекс, образованный нуклеиновой кислотой, имеющей несоответствующее основание.

[00157] Типовые нуклеотиды с универсальным связыванием включают, помимо прочего, инозин, 1- $\beta$ -D-рибофуранозил-5-нитроиндол и/или 1- $\beta$ -D-рибофуранозил-3-нитропиррол (см., например, публикацию заявки на патент США № 2007/0254362; Van Aerschot *et al.* (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:4363-70; Loakes *et al.* (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:2361-66; и Loakes & Brown (1994) NUCLEIC ACIDS RES. 22:4039-403).

[00158] Е. Обратимые модификации. Хотя могут быть выполнены определенные модификации для защиты олигонуклеотидов по настоящему изобретению (например, ds олигонуклеотида) от окружающей среды *in vivo* до достижения целевых клеток, они также могут снизить эффективность или активность олигонуклеотидов, как только они достигнут цитозоля целевой клетки. Таким образом, могут быть осуществлены обратимые модификации, так что олигонуклеотид сохраняет требуемые свойства вне клетки, которые затем удаляются при попадании в среду цитозоля клетки. Обратимую модификацию можно устранить, например, действием внутриклеточного фермента или химическими условиями внутри клетки (например, путем восстановления внутриклеточным глутатионом).

[00159] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения обратимо модифицированный нуклеотид содержит чувствительный к глутатиону фрагмент. Как правило, олигонуклеотиды химически модифицируют фрагментами циклического дисульфида, чтобы замаскировать отрицательный заряд, создаваемый межнуклеотидными дифосфатными связями, и улучшить поглощение клетками и устойчивость к нуклеазам. См., публикацию патентной заявки США № 2011/0294869, международную публикацию заявки на патенты №№ WO 2014/088920 и WO 2015/188197 и Meade *et al.* (2014) NAT. BIOTECHNOL. 32:1256-63. Эта обратимая модификация межнуклеотидных дифосфатных связей предназначена для внутриклеточного расщепления восстановительной средой цитозоля (например, глутатионом). Более ранние примеры включают нейтрализацию модификаций фосфотриэфира, которые, как сообщалось, расщепляются внутри клеток (см., например, Dellinger *et al.* (2003) J. AM. CHEM. SOC. 125:940-50).

[00160] Некоторые обратимые модификации защищают олигонуклеотиды во время

введения *in vivo* (*например*, при прохождении через кровь и/или лизосомальные/эндосомальные компартменты клетки), где олигонуклеотиды будут подвергаться воздействию нуклеаз и других неблагоприятных условий окружающей среды (*например*, pH). При высвобождении в цитозоль клетки, где уровень глутатиона выше по сравнению с внеклеточным пространством, происходит обратная модификация, и в результате образуются расщепленные олигонуклеотиды. Используя обратимые, чувствительные к глутатиону фрагменты, можно ввести стерически более крупные химические группы в олигонуклеотиды по сравнению с вариантами, доступными с использованием необратимых химических модификаций. Это связано с тем, что эти более крупные химические группы будут удалены в цитозоле и, следовательно, не должны препятствовать биологической активности олигонуклеотидов внутри цитозоля клетки. В результате эти более крупные химические группы могут быть сконструированы для придания олигонуклеотидам различных положительных свойств, таких как устойчивость к нуклеазам, липофильность, заряд, термостабильность, специфичность, и сниженная иммуногенность. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения структура чувствительного к глутатиону фрагмента может быть сконструирована таким образом, чтобы изменить кинетику его высвобождения.

[00161] В некоторых вариантах осуществления чувствительный к глутатиону фрагмент присоединен к сахару нуклеотида. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения чувствительный к глутатиону фрагмент присоединен к 2' углероду сахара модифицированного нуклеотида. В дополнительном или альтернативном варианте чувствительный к глутатиону фрагмент присоединен к 5'-углероду сахара, особенно когда модифицированный нуклеотид представляет собой 5'-концевой нуклеотид олигонуклеотидов. В дополнительном или альтернативном варианте чувствительный к глутатиону фрагмент присоединен к 3'-углероду сахара, особенно когда модифицированный нуклеотид представляет собой 3'-концевой нуклеотид олигонуклеотидов. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения чувствительный к глутатиону фрагмент содержит сульфонильную группу (*см, например*, публикацию заявки на патент № WO 2018/039364).

[00162] VI. Нацеливающие лиганды. Желательно нацелить олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) на одну или большее количество клеток или один или большее количество органов. Такая стратегия может помочь избежать нежелательных эффектов в других органах или избежать чрезмерной потери олигонуклеотидов в клетках, тканях или органах, которым это не принесет пользы. Соответственно, олигонуклеотиды могут быть модифицированы для облегчения

нацеливания и/или доставки в ткань, клетку или орган (*например*, для облегчения доставки олигонуклеотидов в печень). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды модифицированы для облегчения доставки олигонуклеотида в гепатоциты печени. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат по меньшей мере один нуклеотид (*например*, 1, 2, 3, 4, 5, 6 или большее количество нуклеотидов), конъюгированный с одним или большим количеством нацеливающих лигандов.

[00163] Примеры нацеливающих лигандов включают, помимо прочего, углеводов, аминоксахара, холестерин, пептид, полипептид, белок или часть белка (*например*, антитело или фрагмент антитела) или липид. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающий лиганд представляет собой аптамер. Например, нацеливающим лигандом является пептид Arg-Gly-Asp (RGD) для нацеливания на сосуды опухоли или клетки глиомы, пептид Cys-Arg-Glu-Lys-Ala (CREKA) для нацеливания на сосуды опухоли или строму, трансферрин, лактоферрин или аптамер для нацеливания на рецепторы трансферрина, экспрессируемые в сосудах центральной нервной системы (ЦНС), или антитело против рецептора эпидермального фактора роста (EGFR) для нацеливания EGFR на клетки глиомы. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающий лиганд представляет собой один или большее количество фрагментов GalNAc.

[00164] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из 1 или большего количества (*например*, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) нуклеотидов олигонуклеотидов может быть конъюгирован с отдельным нацеливающим лигандом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из 2-4 нуклеотидов олигонуклеотидов конъюгирован с отдельным нацеливающим лигандом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающие лиганды могут быть конъюгированы с 2-4 нуклеотидами на обоих концах смысловой цепи или антисмысловой цепи (*например*, нацеливающие лиганды конъюгированы с липким концом или удлинением из 2-4 нуклеотидов на 5'- или 3'-конце смысловой цепи или антисмысловой цепи), так что нацеливающие лиганды напоминают щетинки зубной щетки, а олигонуклеотиды напоминают зубную щетку. Например, олигонуклеотиды содержат структуру «стебель-петля» либо на 5'-, либо на 3'-конце смысловой цепи, и 1, 2, 3 или 4 нуклеотида петли стебля могут быть отдельно конъюгированы с нацеливающим лигандом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат структуру «стебель-петля» на 3'-конце смысловой цепи, при этом петля структуры «стебель-петля» включает triL или L, и при этом 3 или 4 нуклеотида triL или L соответственно индивидуально



конъюгированы с нацеливающим лигандом.

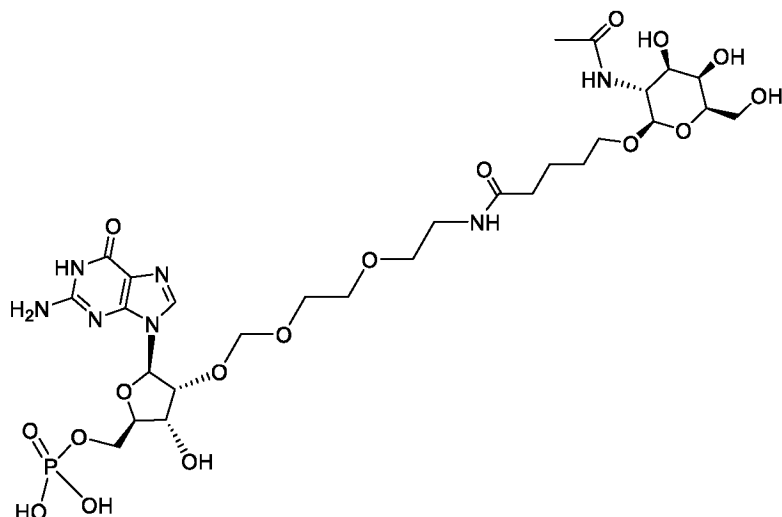
[00165] GalNAc является лигандом с высокой аффинностью к ASGPR, который в первую очередь экспрессируется на синусоидальной поверхности клеток-гепатоцитов и играет важную роль в связывании, интернализации и последующем удалении циркулирующих гликопротеинов, содержащих концевые остатки галактозы или GalNAc (асialogликопротеины). Конъюгация (либо опосредованная, либо прямая) фрагментов GalNAc с олигонуклеотидами по настоящему изобретению используется для нацеливания их на ASGPR, экспрессируемый на клетках. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды конъюгированы по меньшей мере с одним или большим количеством фрагментов GalNAc, при этом указанные фрагменты GalNAc нацеливают олигонуклеотиды на ASGPR, экспрессируемый на клетках печени человека (*например*, гепатоцитах человека).

[00166] Олигонуклеотиды конъюгированы прямо или опосредованно с моновалентным GalNAc. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды конъюгированы прямо или опосредованно с более чем 1 одновалентным фрагментом GalNAc (*т.е.* конъюгированы с 2, 3 или 4 моновалентными фрагментами GalNAc и обычно конъюгированы с 3 или 4 моновалентными фрагментами GalNAc). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды конъюгированы с одним или большим количеством двухвалентных фрагментов GalNAc, трехвалентных фрагментов GalNAc или четырехвалентных фрагментов GalNAc.

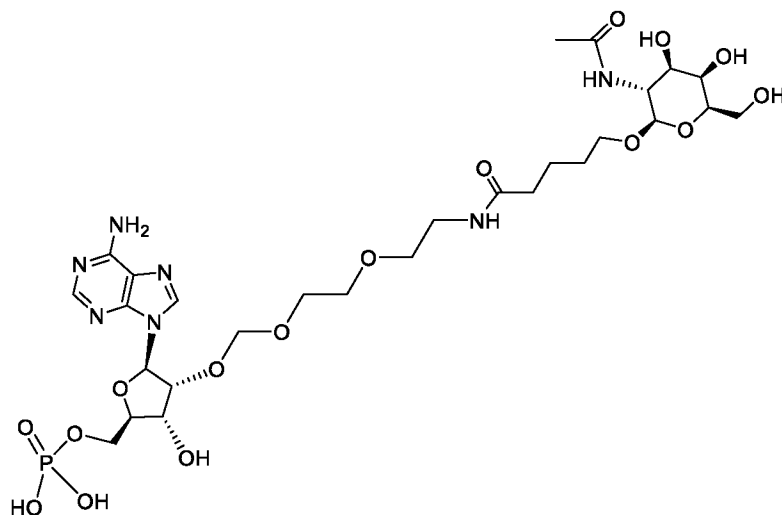
[00167] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из 1 или большего количества (*например*, 1, 2, 3, 4, 5 или 6) нуклеотидов олигонуклеотидов может быть конъюгирован с фрагментом GalNAc. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из 2-4 нуклеотидов петли L конъюгирован с отдельным GalNAc. В других вариантах осуществления настоящего изобретения каждый из 1-3 нуклеотидов петли triL конъюгирован с отдельным GalNAc. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения нацеливающие лиганды конъюгированы с 2-4 нуклеотидами на любом конце смысловой или антисмысловой цепи (*например*, лиганды конъюгированы с липким концом или удлинением из 2-4 нуклеотидов на 5'- или 3'-конце смысловой или антисмысловой цепи), так что фрагменты GalNAc напоминают щетинки зубной щетки, а олигонуклеотиды напоминают зубную щетку. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения фрагменты GalNAc конъюгированы с нуклеотидом смысловой цепи. *Например*, 4 фрагмента GalNAc конъюгированы с нуклеотидами в петле L смысловой цепи, при этом каждый фрагмент GalNAc конъюгирован с 1 нуклеотидом. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения 3 фрагмента GalNAc

конъюгированы с нуклеотидами в петле L смысловой цепи, при этом каждый фрагмент GalNAc конъюгирован с 1 нуклеотидом.

[00168] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат моновалентный GalNAc, присоединенный к гуаниновому нуклеотиду, называемому [ademG-GalNAc] или 2'-аминодиэтоксиметанол-гуанин-GalNAc, как показано ниже:

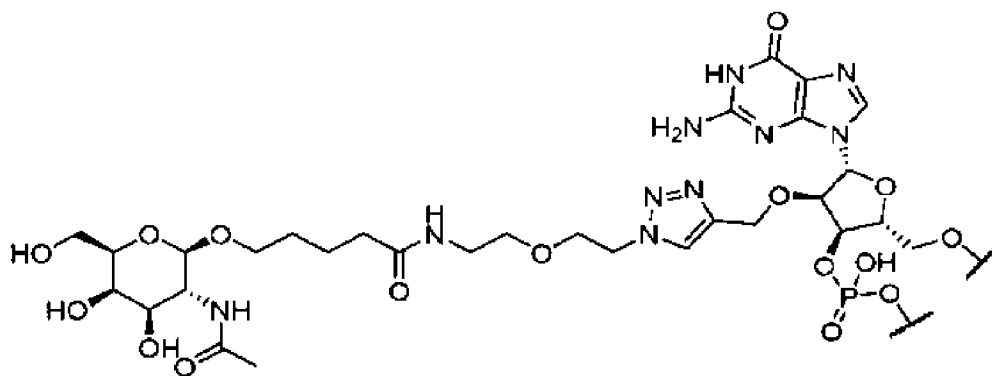


[00169] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат моновалентный GalNAc, присоединенный к адениновому нуклеотиду, и обозначаются как [ademA-GalNAc] или 2'-аминодиэтоксиметанол-аденин-GalNAc, как показано ниже:

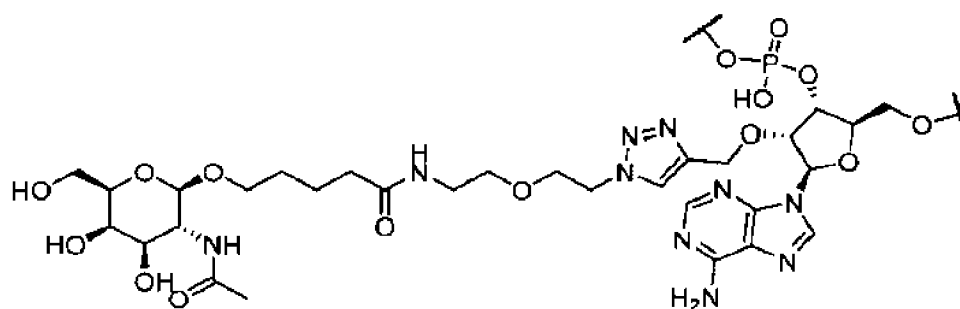


[00170] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат моновалентный 2'-GalNAc, присоединенный к гуаниновому нуклеотиду, называемому [prgG-peg-GalNAc], при этом N-ацетилгалактозамин (GalNAc) конъюгирован с гуанином через полиэтиленгликоль и пропаргиловый (алкиновый) линкер,

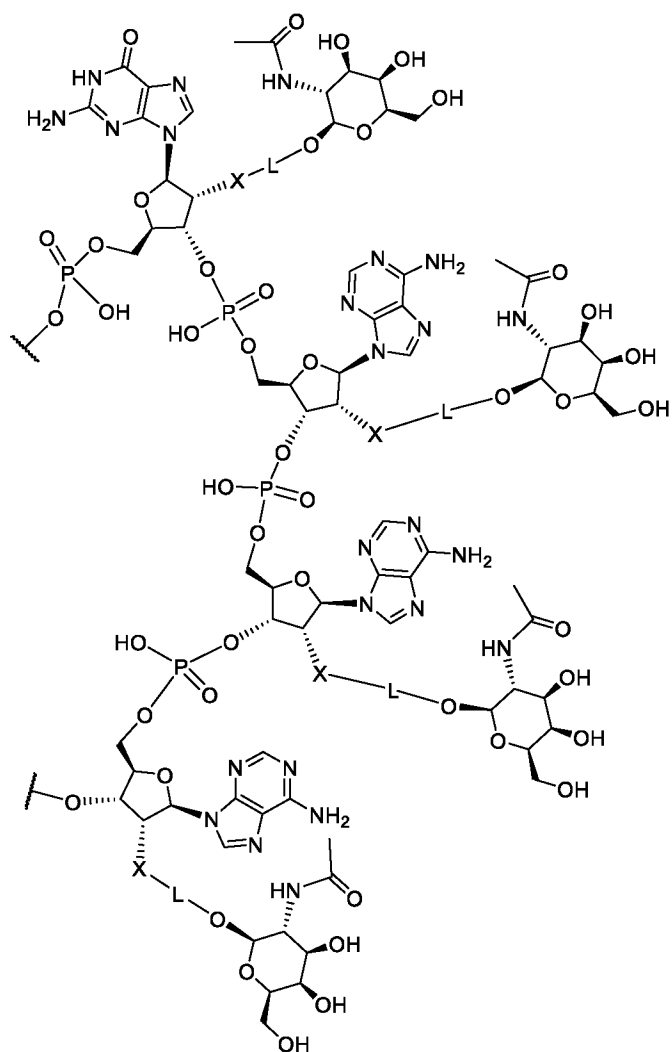
как изображено ниже:



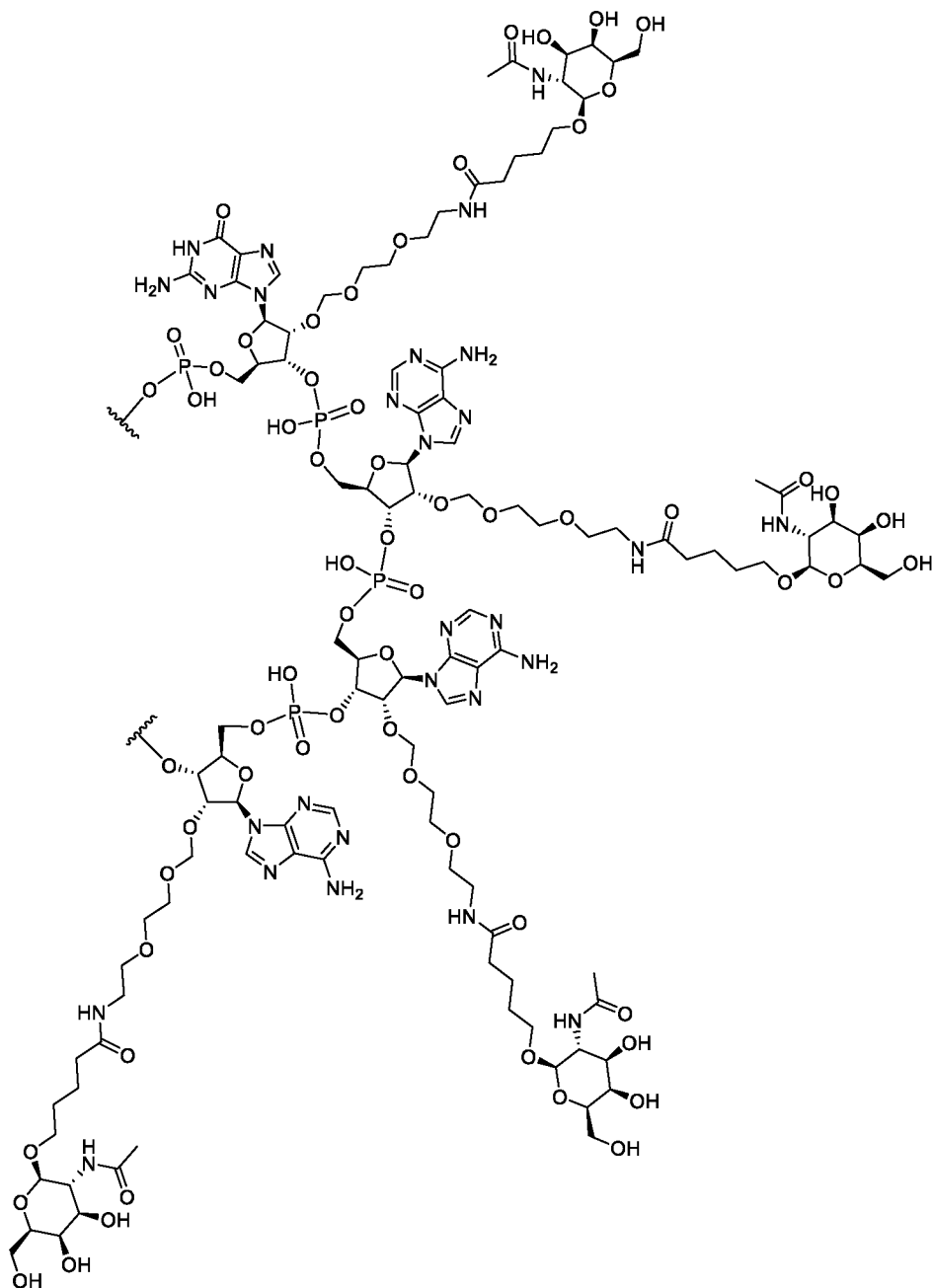
[00171] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению содержат моновалентный 2'-GalNAc, присоединенный к адениновому нуклеотиду,, называемому [prgA-peg-GalNAc], при этом N-ацетилгалактозамин (GalNAc) конъюгирован с аденином через полиэтиленгликоль и пропаргильный (алкиновый) линкер, как изображено ниже:



[00172] Пример такой конъюгации показан ниже для петли, имеющей от 5' до 3' нуклеотидной последовательности GAAA (L = линкер, X = гетероатом), где показаны точки присоединения стебля. Такая петля присутствует, например, в положениях 27-30 смысловой цепи, перечисленных в Таблице 4, и как показано на Фиг. 1. <sup>3/2</sup> В химической формуле используется для обозначения места прикрепления к олигонуклеотидной цепи:



[00173] Для связывания нацеливающего лиганда с нуклеотидом используются соответствующие способы или химия (например, клик-химия). Одним из способов конъюгации нацеливающего лиганда с нуклеотидом является применение линкера для клик-химии. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения линкер на основе ацетала применяется для конъюгирования нацеливающего лиганда с нуклеотидом любого из олигонуклеотидов по настоящему изобретению. Линкеры на основе ацетала описаны, например, в международной публикации заявки на патент № WO 2016/100401. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения линкер представляет собой лабильный линкер. Однако в других вариантах осуществления настоящего изобретения линкер является стабильным. Ниже приведен пример для петли, имеющей в направлении от 5' до 3', нуклеотиды GAAA, в которой фрагменты GalNAc присоединены к нуклеотидам петли с помощью ацетального линкера. Такая петля присутствует, например, в положениях 27-30 любой из смысловых цепей, перечисленных в Таблицах 2 или 3. <sup>3/2</sup> В химической формуле используется для обозначения места прикрепления к олигонуклеотидной цепи:



[00174] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения дуплексное удлинение (*например*, длиной до 3, 4, 5 или 6 п.о.) обеспечивается между нацеливающим лигандом (*например*, фрагментом GalNAc) и олигонуклеотидами по данному изобретению (*например*, ds олигонуклеотидом). В других вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды не содержат конъюгированного с ними GalNAc.

[00175] Составы и фармацевтические композиции

[00176] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) или их фармацевтически приемлемые соли (*например*, трифторацетатные соли, ацетатные соли или гидрохлоридные соли) включаются в состав или фармацевтическую композицию. Для облегчения применения олигонуклеотидов были разработаны различные составы. Например, олигонуклеотиды могут быть доставлены индивидууму или клеточной среде с

применением состава, который сводит к минимуму расщепление, облегчает доставку и/или поглощение или придает олигонуклеотидам в составе другое полезное свойство. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды составлены в буферных растворах, таких как солевые растворы с фосфатным буфером, липосомы, мицеллярные структуры и капсиды.

[00177] Для улучшения совместимости и эффективности *in vivo* олигонуклеотиды можно подвергать реакции с любыми неорганическими и органическими кислотами/основаниями с образованием фармацевтически приемлемых кислотных/основных аддитивных солей. Фармацевтически приемлемые соли и общие методики их получения хорошо известны в данной области техники (см., например, публикацию Stahl *et al.*, “Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use,” 2<sup>nd</sup> Revised Edition (Wiley-VCH, 2011)). Фармацевтически приемлемые соли для использования в настоящем изобретении включают соли натрия, трифторацетата, гидрохлорида и ацетата.

[00178] Составы олигонуклеотидов с катионными липидами применяются для облегчения трансфекции олигонуклеотидов в клетки. Например, можно применять катионные липиды, такие как липофектин, катионные производные глицерина и поликатионные молекулы (например, полилизин). Подходящие липиды включают олигофектамин (ThermoFisher Technologies), липофектамин (Life Technologies), NC388 (Ribozyme Pharmaceuticals, Inc.) или FuGene 6 (Roche), все из которых используются в соответствии с инструкциями производителя.

[00179] Соответственно, в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения составы по настоящему изобретению содержат липосому, липид, липидный комплекс, микросферу, микрочастицу, наносферу или наночастицу (такую как липидная наночастица) или могут быть составлены иным образом для введения в клетки, ткани, органы или организм человека, нуждающегося в этом (см., например, публикацию Remington, “The Science and Practice of Pharmacy” (L.V. Allen Jr., ed., 22<sup>nd</sup> Edition, Pharmaceutical Press, 2013)).

[00180] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения составы по настоящему изобретению дополнительно содержат эксципиент, который может придавать композиции повышенную стабильность, улучшенную абсорбцию, улучшенную растворимость и/или усиление терапевтического действия активного ингредиента. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эксципиент представляет собой буферное средство (например, цитрат натрия, фосфат натрия, Tris-основание или гидроксид натрия) или носитель (например, буферный раствор, вазелин, диметилсульфоксид, или минеральное масло). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению лиофилизируют

для продления срока хранения, а затем готовят в виде раствора перед применением (*например*, введением индивидууму). Соответственно, эксципиентом в фармацевтической композиции, включающей один или большее количество олигонуклеотидов, является лиопротектор (*например*, маннит, лактоза, полиэтиленгликоль или поливинилпирролидон) или модификатор температуры разрушения (*например*, декстран, Ficoll™ или желатин).

[00181] Фармацевтические композиции составляются так, чтобы быть совместимыми с предполагаемым путем введения. Способы введения включают, помимо прочего, парентеральный (*например*, внутривенный, внутримышечный, внутрибрюшинный, внутрикожный и подкожный), пероральный (*например*, ингаляционный), трансдермальный (*например*, местный), чресслизистый и ректальный способ введения.

[00182] Фармацевтические композиции, подходящие для инъекции, включают стерильные водные растворы (в случае растворимости в воде) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсии для немедленного приема. Для внутривенного введения подходящие носители включают, помимо прочего, физиологический солевой раствор, бактериостатическую воду, EL™ (BASF) или фосфатно-солевой буфер (PBS). Носитель представляет собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, *например*, воду, этанол, полиол (*например*, глицерин, пропиленгликоль, жидкий полиэтиленгликоль и тому подобное), а также их подходящие смеси. Во многих вариантах осуществления настоящего изобретения будет предпочтительно включать в композиции изотонические агенты, такие как, *например*, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит и/или хлорид натрия. Стерильные растворы для инъекций готовят путем включения олигонуклеотидов по настоящему изобретению в необходимом количестве в выбранный растворитель с одним или комбинацией ингредиентов, перечисленных выше, в зависимости от необходимости, с последующей стерилизацией фильтрованием.

[00183] Более того, фармацевтические композиции содержат по меньшей мере около 0,1% терапевтического агента (*например*, одного или более олигонуклеотидов по данному изобретению) или более, хотя процент терапевтического агента может составлять от около 1% до около 80% или более от массы или объема всей композиции. Такие факторы, как растворимость, биодоступность, биологический период полувыведения, способ введения, срок годности продукта, а также другие фармакологические особенности, будут учтены специалистом в данной области техники при приготовлении таких фармацевтических составов, и поэтому могут быть необходимы различные дозы и схемы лечения.

[00184] Несмотря на то, что несколько примеров направлены на доставку по меньшей мере одного из олигонуклеотидов по данному изобретению в печень, рассматривается также

нацеливание на другие ткани.

[00185] Наборы

[00186] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) могут быть включены в набор, содержащий один или большее количество олигонуклеотидов по настоящему изобретению и инструкции по применению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения набор содержит один или большее количество олигонуклеотидов и листок-вкладыш, содержащий инструкции по применению набора и/или любого его компонента. В других вариантах осуществления настоящего изобретения указанный набор включает подходящий контейнер, один или большее количество олигонуклеотидов, один или большее количество контролей и различные буферы, реагенты, ферменты и другие стандартные ингредиенты, известные в данной области техники.

[00187] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения контейнер может представлять собой по меньшей мере один флакон, лунку, пробирку, колбу, бутылку, шприц или другие контейнерные средства, в которые помещают один или большее количество олигонуклеотидов и в некоторых случаях распределяют их на аликвоты подходящим образом. В других вариантах осуществления настоящего изобретения, в которых предусмотрен дополнительный компонент, указанный набор содержит дополнительные контейнеры, в которые этот компонент помещается. Наборы также содержат средства для хранения одного или большего количества олигонуклеотидов и любого другого реагента в закрытом виде для коммерческой продажи. Такие контейнеры включают пластмассовые контейнеры, изготовленные методом литья под давлением или выдувным формованием, в которых хранятся требуемые флаконы. Контейнеры и/или наборы имеют этикетку с инструкциями по применению и/или предупреждениями.

[00188] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанный набор содержит один или большее количество олигонуклеотидов по настоящему изобретению и фармацевтически приемлемый носитель или фармацевтическую композицию, содержащую один или большее количество олигонуклеотидов, и инструкции по лечению или замедлению прогрессирования заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3*, у индивидуума, нуждающегося в этом.

*Способы*

[00189] Способы изготовления

[00190] Олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) получают с помощью способов и/или приемов, известных специалисту в данной области



техники, таких как, например, применение обычного твердофазного синтеза нуклеиновых кислот. Полинуклеотиды олигонуклеотидов собираются на подходящем синтезаторе нуклеиновых кислот с использованием стандартных предшественников нуклеотидов или нуклеозидов (*например*, фосфорамидитов). Автоматизированные синтезаторы нуклеиновых кислот, включая синтезаторы ДНК/РНК, коммерчески доступны, например, от Applied Biosystems (Фостер-Сити, штат Калифорния), BioAutomation (Ирвинг, штат Техас) и GE Healthcare Life Sciences (Питтсбург, штат Пенсильвания).

[00191] Как понятно специалисту в данной области техники, применяют и другие способы и/или методики синтеза олигонуклеотидов по настоящему изобретению. Кроме того, различные стадии синтеза выполняются в альтернативной последовательности или порядке с получением желаемых соединений. Другие синтетические химические трансформации, защитные группы (*например*, для гидроксила, amino и *m. d.*, присутствующие в азотистых основаниях) и методологии для защитных групп (защита и снятие защиты), полезные при синтезе олигонуклеотидов, известны в данной области техники и описаны, например, в публикациях Larock, "Comprehensive Organic Transformations," VCH Publishers (1989); Greene & Wuts, PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS, 2<sup>nd</sup> Ed., John Wiley & Sons (1991); Fieser & Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley & Sons (1994); и Paquette, ed., ENCYCLOPEDIA OF REAGENTS FOR ORGANIC SYNTHESIS, John Wiley & Sons (1995).

[00192] Способы применения

[00193] I. Способы снижения экспрессии *АРОС3* в клетках, тканях, органах и организмах. Олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) применяют для снижения экспрессии мРНК *АРОС3* в клетках, тканях, органах или организме индивидуума. Указанные способы включают описанные в данном документе стадии, и они могут, но не обязательно, выполняться в описанной последовательности. Однако возможны и другие последовательности. Кроме того, отдельные, или множество стадий могут выполнять либо параллельно, и/или с перекрытием во времени, и/или индивидуально, либо многократно повторяющимися стадиями. Кроме того, указанные способы включают дополнительные, неуказанные стадии.

[00194] Способы включают приведение в контакт или доставку в клетку, популяцию клеток, тканей, органов или организмы индивидуумов эффективного количества любого из олигонуклеотидов по настоящему изобретению для снижения экспрессии *АРОС3*. В некоторых вариантах осуществления снижение экспрессии *АРОС3* определяют путем измерения снижения количества или уровня мРНК *АРОС3*, белка *АРОС3* или активности *АРОС3* в клетке.

[00195] Что касается соответствующего типа клеток, тип клеток представляет собой любую клетку, которая экспрессирует мРНК (*например*, гепатоциты, макрофаги, клетки, полученные из моноцитов, клетки рака предстательной железы, клетки головного мозга, эндокринной ткани, костного мозга, лимфатических узлов, легких, желчного пузыря, печени, двенадцатиперстной кишки, тонкого кишечника, поджелудочной железы, почек, желудочно-кишечного тракта, мочевого пузыря, жировой и мягкой ткани, а также кожи). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения клетка представляет собой первичную клетку, полученную из организма индивидуума. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения первичная клетка претерпела ограниченное количество пассажей, так что клетка в значительной степени сохраняет естественные фенотипические свойства. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения клетка представляет собой клетку *ex vivo*, *in vivo* или *in vitro* (*т. е.* такую, что один или большее количество олигонуклеотидов по настоящему изобретению могут быть доставлены в клетку в культуре или в организм, в котором находится клетка).

[00196] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению доставляют в клетку или популяцию клеток с применением способа доставки нуклеиновой кислоты, известного в данной области техники, включая, помимо прочего, инъекцию раствора, содержащего олигонуклеотиды, бомбардировку частицами, покрытыми олигонуклеотидами, помещения клетки или популяции клеток в раствор, содержащий олигонуклеотиды, или электропорацию клеточных мембран в присутствии олигонуклеотидов. Для доставки олигонуклеотидов в клетки применяют и другие способы, известные в данной области техники, такие как, например, липид-опосредованный транспорт носителя, химически-опосредованный транспорт и катионная трансфекция липосомами, такими как фосфат кальция, и другие.

[00197] Снижение экспрессии *APOC3* определяют с помощью анализа или методики, которые оценивают одну или большее количество молекул, свойств или характеристик клетки или популяции клеток, связанных с экспрессией *APOC3* (*например*, с использованием биомаркера экспрессии *APOC3*), или с помощью анализа или методик, оценивающих молекулы, которые непосредственно указывают на экспрессию *APOC3* в клетке или популяции клеток (*например*, мРНК *APOC3* или белок *APOC3*). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения степень, в которой олигонуклеотиды снижают экспрессию *APOC3*, оценивают путем сравнения экспрессии *APOC3* в клетке или популяции клеток, которые приводили в контакт с олигонуклеотидами, с контрольной клеткой или популяцией клеток (*например*, клеткой или популяцией клеток, которые не контактировали с олигонуклеотидами или которые контактировали с контрольным

олигонуклеотидом). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предварительно определяют контрольное количество или уровень экспрессии *APOC3* в контрольной клетке или популяции клеток, так что контрольное количество или уровень не нужно измерять в каждом случае выполнения анализа или методики. Предварительно определенный уровень или значение принимает различные формы, включая, помимо прочего, одно пороговое значение, такое как медиана или среднее значение.

[00198] Приведение в контакт или доставка олигонуклеотидов по настоящему изобретению в клетку или популяцию клеток приводит к снижению экспрессии *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения сниженная экспрессия *APOC3* соответствует контрольному количеству или уровню экспрессии *APOC3* в клетке или популяции клеток, которые не контактировали с олигонуклеотидами или которые контактировали с контрольным олигонуклеотидом. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения снижение экспрессии *APOC3* составляет около 1% или ниже, около 5% или ниже, около 10% или ниже, около 15% или ниже, около 20% или ниже, около 25% или ниже, около 30% или ниже, около 35% или ниже, около 40% или ниже, около 45% или ниже, около 50% или ниже, около 55% или ниже, около 60% или ниже, около 70% или ниже, около 80% или ниже или около 90% или ниже по сравнению с контрольным количеством или уровнем экспрессии *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения контрольное количество или уровень экспрессии *APOC3* представляет собой количество или уровень мРНК *APOC3* и/или белка *APOC3* в клетке или популяции клеток, которые не приводили в контакт с олигонуклеотидами по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения эффект доставки олигонуклеотидов в клетку или популяцию клеток в соответствии со способом по настоящему изобретению оценивают по истечении любого конечного периода или количества времени (*например*, минут, часов, дней, недель и/или месяцев). Например, экспрессию *APOC3* определяют в клетке или популяции клеток по меньшей мере около 4 часа, около 8 часов, около 12 часов, около 18 часов или около 24 часа. В альтернативном варианте экспрессию *APOC3* определяют в клетке или популяции клеток через по меньшей мере около 1 день, около 2 дней, около 3 дней, около 4 дней, около 5 дней, около 6 дней, около 7 дней, около 8 дней, около 9 дней, около 10 дней, около 11 дней, около 12 дней, около 13 дней, около 14 дней, около 21 день, около 28 дней, около 35 дней, около 42 дней, около 49 дней, около 56 дней, около 63 дней, около 70 дней, около 77 дней или около 84 дней или более после приведения в контакт или доставки олигонуклеотидов в клетку или популяцию клеток. В других вариантах осуществления настоящего изобретения экспрессию *APOC3* определяют в клетке или популяции клеток через по меньшей мере

около 1 месяца, около 2 месяцев, около 3 месяцев, около 4 месяцев, около 5 месяцев или около 6 месяцев или более после приведения в контакт или доставки олигонуклеотидов в клетку или популяцию клеток.

[00199] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды по настоящему изобретению доставляют в форме трансгена, который сконструирован для экспрессии в клетке одного или большего количества олигонуклеотидов или цепей (*например*, смысловой и антисмысловой цепей). Например, олигонуклеотиды доставляют с применением трансгена, сконструированного для экспрессии любого олигонуклеотида по настоящему изобретению. Трансгены могут быть доставлены с помощью вирусных векторов (*например*, аденовируса, ретровируса, вируса осповакцины, поксвируса, аденоассоциированного вируса или вируса простого герпеса) или невирусных векторов (*например*, плазмид или синтетических мРНК). В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения трансгены вводят непосредственно в организм индивидуума.

[00200] II. Способы лечения. Способы лечения индивидуума, имеющего, подозреваемого в наличии или подверженного риску развития заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3*, включают введение индивидууму по меньшей мере одного или большего количества олигонуклеотидов по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотида). Кроме того, способы лечения или ослабления возникновения или прогрессирования заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3* у индивидуума, включают применение одного или большего количества олигонуклеотидов по настоящему изобретению. Кроме того, способы достижения одного или большего количества терапевтических эффектов у индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, включают предоставление одного или большего количества олигонуклеотидов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения индивидуума можно лечить путем введения терапевтически эффективного количества любого одного или большего количества олигонуклеотидов по настоящему изобретению. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения лечение включает снижение экспрессии *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения индивидууму проводят терапевтическое лечение. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения индивидууму проводят профилактическое лечение. Во всех этих вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотид выбирают из Таблицы 3.

[00201] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения один или большее

количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию, содержащую их, вводят индивидууму, имеющему заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, так что экспрессия *APOC3* у индивидуума снижается, за счет чего осуществляется лечение указанного индивидуума. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень мРНК *APOC3* снижается у индивидуума. В других вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень белка *APOC3* снижается у индивидуума. В других вариантах осуществления настоящего изобретения величина или уровень активности *APOC3* снижается у индивидуума. В других вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень TG печени (например, одного или большего количества TG или общих TG в печени) снижается у индивидуума, особенно в печени. В других вариантах осуществления настоящего изобретения можно уменьшить степень или уровень воспаления печени. В других вариантах осуществления настоящего изобретения снижается степень фиброза печени. В других вариантах осуществления настоящего изобретения снижается количество или уровень аспаратаминотрансферазы (AST), аланинаминотрансферазы (ALT), цитокератина 18 (СК-18) или даже N-концевого пропептида коллагена III типа (Pro-C3) в плазме. В любом из описанных выше вариантов осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды содержат смысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 143, 149, 151, 193, 195, 205, 207 и 211, и антисмысловую цепь, имеющую нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 144, 150, 152, 194, 196, 206, 208 и 212.

[00202] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения экспрессия *APOC3* снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70% и около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с экспрессией *APOC3* до введения одного или большего количества олигонуклеотидов или их фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления настоящего изобретения экспрессия *APOC3* снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70% и около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с экспрессией *APOC3* у индивидуума (например, эталонного или контрольного индивидуума), не получающего один или большее количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию или получавшего контрольный олигонуклеотид, контрольную фармацевтическую композицию или проводили контрольное лечение.

[00203] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень мРНК АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем мРНК АРОС3 до введения одного или большего количества олигонуклеотидов или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень мРНК АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем мРНК АРОС3 у индивидуума (*например*, эталонного или контрольного индивидуума), которому не вводили один или большее количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию или вводили контрольный олигонуклеотид, контрольную фармацевтическую композицию или проводили контрольное лечение.

[00204] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень белка АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем белка АРОС3 до введения одного или большего количества олигонуклеотидов или их фармацевтической композиции. В других вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень белка АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем белка АРОС3 у индивидуума (*например*, эталонного или контрольного индивидуума), которому не вводили один или большее количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию или вводили контрольный олигонуклеотид, контрольную фармацевтическую композицию или проводили контрольное лечение.

[00205] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень активности АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем активности АРОС3 до введения одного или большего количества олигонуклеотидов или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень

активности АРОС3 снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем активности АРОС3 у индивидуума (*например*, эталонного или контрольного индивидуума), которому не вводили один или большее количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию или вводили контрольный олигонуклеотид, контрольную фармацевтическую композицию или проводили контрольное лечение.

[00206] В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень ТГ, особенно ТГ печени, может быть снижен у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем ТГ до введения одного или большего количества олигонуклеотидов или их фармацевтической композиции. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения количество или уровень ТГ снижается у индивидуума на по меньшей мере около 30%, около 35%, около на 40%, около 45%, около 50%, около 55%, около 60%, около 65%, около 70%, около 75%, около 80%, около 85%, около 90%, около 95%, около 99% или более 99% по сравнению с количеством или уровнем ТГ у индивидуума (*например*, эталонного или контрольного индивидуума), которому не вводили один или большее количество олигонуклеотидов или фармацевтическую композицию или вводили контрольный олигонуклеотид, контрольную фармацевтическую композицию или проводили контрольное лечение.

[00207] В данном документе принято, что экспрессия АРОС3, количество или уровень мРНК АРОС3, белка АРОС3, активность АРОС3, ТГ печени или любая их комбинация снижается в клетке (*например*, гепатоците), популяции или группе клеток (*например*, органоиде), ткани (*например*, ткани печени), образце (*например*, биоптате печени), органе (*например*, печени), крови или ее части (*например*, плазме) или любом другом биологическом материале, полученном или выделенном из организма индивидуума. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения экспрессия АРОС3, количество или уровень мРНК АРОС3, белка АРОС3, активность АРОС3, ТГ или любая их комбинация снижается более чем в одном типе клеток (*например*, гепатоците и одном или более других типах клеток), более чем одной группе клеток, более чем одном типе ткани (*например*, ткани печени и одном или большем количестве других типов ткани), более чем одном типе образца (*например*, биоптате печени и одном или большем количестве других типов биоптата), более чем одном органе (*например*, печени и одном или большем

количестве других органов), более чем одной фракции крови (*например*, плазме и одной или большем количестве других фракций крови) полученных или выделенных из организма индивидуума.

[00208] Примеры заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *APOC3*, включают, помимо прочего, ACD, АН, ALD, ASCVD, НСС, CHD, ССА, PSC, MetS, NAFLD, NASH, высокий уровень холестерина не-HDL, гиперлипидемию, гипертриглицеридемию, диабет, ожирение, ожирение печени (стеатоз), воспаление печени, резистентность к инсулину, фиброз печени, цирроз печени или их комбинацию.

[00209] Из-за своей высокой специфичности олигонуклеотиды по настоящему изобретению специфически нацелены на мРНК целевых генов в клетках, тканях или органах (*например*, в печени). При профилактике заболевания целевым геном является ген, который необходим для возникновения или развития заболевания или который был идентифицирован как ассоциированный с повышенным риском заболевания. При лечении заболевания один или большее количество олигонуклеотидов приводят в контакт с клетками, тканью или органом, проявляющими или ответственными за его опосредование. Например, олигонуклеотид, по существу идентичный всему или части гена дикого типа (*m. e.*, нативного) или мутировавшего гена, ассоциированного с нарушением или патологическим состоянием, ассоциированным с экспрессией *APOC3*, приводят в контакт или вводят в клетку или тип ткани, представляющий интерес, например, гепатоцит или другую клетку печени.

[00210] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения целевой ген происходит от любого млекопитающего, такого как человек. Любой ген может быть подвергнут сайленсингу в соответствии со способами по настоящему изобретению. Более того, способы по настоящему изобретению, как правило, включают введение индивидууму терапевтически эффективного количества одного или большего количества олигонуклеотидов по настоящему изобретению, то есть количества, способного обеспечить требуемый терапевтический результат. Терапевтически приемлемое количество представляет собой количество, которое обеспечивает терапевтическое лечение заболевания, нарушения или патологического состояния. Подходящая дозировка для любого индивидуума будет зависеть от определенных факторов, включая размер, площадь поверхности тела, возраст индивидуума, композицию, которую нужно вводить, активный ингредиент(-ы) в композиции, время и путь введения, общее состояние здоровья, и другие терапевтические агенты, применяемые одновременно.

[00211] В данных способах индивидууму вводят любой из олигонуклеотидов или любую



из композиций по настоящему изобретению, либо энтерально (*например*, перорально, через гастральный зонд, через дуоденальный зонд, через гастростому, или ректально), либо парентерально (*например*, подкожная инъекция, внутривенная инъекция или инфузия, внутриартериальная инъекция или инфузия, внутрикостная инфузия, внутримышечная инъекция, интрацеребральная инъекция, интрацеребровентрикулярная инъекция, или интратекальная инъекция), местно (*например*, наочно, ингаляционно, в глазных каплях или через слизистую оболочку) или путем прямой инъекции в целевой орган (*например*, печень субъекта). Как правило, олигонуклеотиды или композиции вводят внутривенно или подкожно.

[00212] В качестве неограничивающего набора примеров олигонуклеотиды или композиции по настоящему изобретению, как правило, вводят ежеквартально (один раз в три месяца), каждые два месяца (один раз в два месяца), ежемесячно или еженедельно. Например, олигонуклеотиды или композиции вводят каждую неделю или с интервалом в две или три недели. В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения олигонуклеотиды или композиции вводят ежедневно. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения индивидууму вводят одну или большее количество ударных доз олигонуклеотидов или композиций, за которыми следует одна или большее количество поддерживающих доз олигонуклеотидов или композиций.

[00213] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения индивидуум представляет собой человека, ННР или другого млекопитающего. В других вариантах осуществления настоящего изобретения индивидуум представляет собой домашнее животное, такое как собака или кошка; домашний скот, такой как лошади, крупный рогатый скот, свиньи, овцы, козы или курицы; и животные, такие как мышь, крыса, морская свинка или хомяк.

[00214] III. Применение в медицине. Олигонуклеотиды по настоящему изобретению (*например*, ds олигонуклеотид) можно применять или адаптировать для применения для лечения индивидуума (например, человека, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*), для которого было бы полезно снижение экспрессии *APOC3*. В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются олигонуклеотиды для применения или адаптированы для применения для лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*. Кроме того, предлагаются олигонуклеотиды для применения или адаптированы для применения при изготовлении лекарственного препарата или фармацевтической композиции для лечения заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией

*АРОС3*. В других вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются олигонуклеотиды для применения или адаптированы для применения для нацеливания на мРНК *АРОС3* и снижения экспрессии *АРОС3* (*например*, посредством пути РНКи). В других вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются олигонуклеотиды для применения или адаптированы для применения для нацеливания на мРНК *АРОС3* и снижения количества или уровня мРНК *АРОС3*, белка *АРОС3* и/или активности *АРОС3*.

[00215] В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения указанные способы включают отбор индивидуума для лечения на основании наличия у него маркера (*например*, биомаркера) заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией *АРОС3*, или индивидуума, предрасположенного к ним, *например*, помимо прочего, мРНК *АРОС3*, белка *АРОС3* или их комбинации. Аналогичным образом, как подробно описано ниже, указанные способы также включают дополнительные этапы, такие как, *например*, измерение или получение исходного значения для маркера экспрессии *АРОС3* (*например*, белка *АРОС3*) и затем сравнение такого полученного значения с одним или большим количеством других исходных значений или значений, полученных после введения индивидууму одного или большего количества олигонуклеотидов, для оценки эффективности лечения.

## ПРИМЕРЫ

[00216] Следующие неограничивающие примеры представлены в целях иллюстрации, а не ограничения.

### [00217] СИНТЕЗ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

[00218] Пример 1. Получение двухцепочечных олигонуклеотидов для РНКи

[00219] *Синтез и очистка олигонуклеотидов*. Двухцепочечные олигонуклеотиды РНКи в Примерах синтезируют химическим путем с использованием способов, описанных в данном документе. Как правило, ds олигонуклеотиды РНКи синтезируют с помощью методов твердофазного синтеза олигонуклеотидов, как описано для 19-23-мерных siРНК (*см.*, *например*, Scaringe *et al.* (1990) NUCLEIC ACIDS RES. 18:5433-41 и Usman *et al.* (1987) J. AM. CHEM. SOC. 109:7845-45; *см. также*, патенты США №№ 5 804 683; 5 831 071; 5 998 203; 6 008 400; 6 111 086; 6 117 657; 6 353 098; 6 362 323; 6 437 117 и 6 469 158).

[00220] Отдельные цепи РНК синтезируют и очищают HPLC в соответствии со стандартными методами (Integrated DNA Technologies). *Например*, олигонуклеотиды РНК синтезируют с помощью твердофазной фосфорамидитной химии, снимают защиту и обессоливают на колонках NAP-5 (Amersham Pharmacia Biotech; Пискаутауэй, штат Нью-

Джерси) с помощью стандартных методик (Damha & Olgivie (1993) METHODS MOL. BIOL. 20:81-114; Wincott *et al.* (1995) NUCLEIC ACIDS RES. 23:2677-84). Олигомеры очищают с помощью ионообменной высокоэффективной жидкостной хроматографии (IE-HPLC) на колонке Amersham Source 15Q (1,0 см × 25 см; Amersham Pharmacia Biotech) с использованием 15-минутного ступенчатого линейного градиента. Градиент варьируется от 90:10 буферов А:В до 52:48 буферов А:В, при этом буфер А представляет собой 100 мМ Tris, рН 8,5, а буфер В представляет собой 100 мМ Tris, рН 8,5, 1 М NaCl. Образцы контролировали при 260 нм и пики, соответствующие полноразмерным олигонуклеотидам, собирали, объединяли, обессоливали на колонках NAP-5 и лиофилизировали.

[00221] Чистоту каждого олигомера определяют методом капиллярного электрофореза (CE) на приборе Beckman PACE 5000 (Beckman Coulter, Inc.). Капилляры CE имеют внутренний диаметр 100 мкм и содержат гель ssДНК 100R (Beckman-Coulter). Обычно около 0,6 нмоль олигонуклеотида вводили в капилляр, пропускали в электрическом поле 444 В/см и определяли по поглощению УФ-излучения при 260 нм. Денатурирующий рабочий буфер Tris-борат-7 М-мочевину приобретали у Beckman-Coulter. Получали олигорибонуклеотиды со степенью чистоты по меньшей мере 90% по оценке CE для использования в экспериментах, описанных ниже. Идентичность соединения верифицировали с помощью времяпролетной масс-спектропии с лазерной десорбцией и ионизацией с использованием матрицы (MALDI-TOF) на биоспектрометрической рабочей станции Voyager DE™ (Applied Biosystems) в соответствии с протоколом, рекомендованным производителем. Получали относительные молекулярные массы всех олигомеров, часто в пределах 0,2% от ожидаемой молекулярной массы.

[00222] *Получение дуплексов. Одноцепочечные олигомеры РНК ресуспендировали* (например, при концентрации 100 мкМ) в буфере для получения дуплексов, состоящем из 100 мМ ацетата калия, 30 мМ HEPES, рН 7,5. Комплементарные смысловые и антисмысловые цепи смешивали в равных молярных количествах с получением конечного раствора, например, 50 мкМ дуплекса. Образцы нагревали до 100 °С в течение 5 минут в буфере для РНК (IDT) и давали им остыть до комнатной температуры перед использованием. ds РНК олигонуклеотиды хранили при -20 °С. ss РНК олигомеры хранили лиофилизированными или в воде без нуклеаз при -80 °С.

[00223] *ФУНКЦИЯ IN VITRO*

[00224] Пример 2. Ингибирование экспрессии *APC3* олигонуклеотидами РНК *in vitro* – Соединения на основе DsiРНК

[00225] *Идентификация целевой последовательности APC3.* Для идентификации

РНКи-олигонуклеотидных ингибиторов экспрессии *APOC3* используется компьютерный алгоритм для машинной генерации целевых последовательностей *APOC3*, подходящих для анализа ингибирования экспрессии *APOC3* посредством пути РНКи. Указанный алгоритм обеспечивает последовательности антисмысловой (направляющей) цепи олигонуклеотида РНКи, которые комплементарны подходящим *APOC3* целевым последовательностям мРНК *APOC3* человека (*например*, SEQ ID NO: 1). Некоторые из последовательностей антисмысловой цепи, идентифицированных алгоритмом, также комплементарны соответствующей *APOC3* целевой последовательности мРНК *APOC3* NHP (*например*, обезьяны, SEQ ID NO: 5). В результате получают 384 ds олигонуклеотида РНКи (в формате олигонуклеотидов DsiРНК), каждый из которых имеет уникальную антисмысловую цепь, имеющую комплементарную область к целевой последовательности *APOC3*, идентифицированной алгоритмом.

[00226] *Клеточные анализы in vitro*. Способность каждой из 384 DsiРНК ингибировать экспрессию *APOC3* определяют с помощью клеточных анализов *in vitro*. Кроме того, как показано в данном документе, нуклеотидные последовательности сопровождающей цепи и направляющей цепи DsiРНК представляют собой четкую структуру модифицированных нуклеотидов и фосфоротиоатных связей. Вкратце, клетки Нер G2, стабильно экспрессирующие *APOC3*, трансфицировали каждой из DsiРНК (0,5 нМ) в отдельных лунках многолуночного планшета для культивирования клеток. Клетки поддерживали в течение 24 часов после трансфекции, а затем определяли уровни оставшейся мРНК *APOC3* из трансфицированных клеток с помощью анализов qPCR на основе TAQMAN®. Два анализа qPCR, 3'-анализ и 5'-анализ, использовали для определения уровней мРНК, измеренных с помощью зондов HEX.

[00227] Результаты клеточного анализа Нер G2 с использованием 384 DsiРНК показаны в Таблице 1, при этом 384 DsiРНК имеют направляющие цепи, которые комплементарны мРНК *APOC3* человека и NHP («двойные общие»). Трансфекция двойной общей DsiРНК, в результате которой в клетках остается менее или равно 30% мРНК *APOC3* по сравнению с отрицательным контролем, считается кандидатом в ингибитор экспрессии *APOC3* (называемым в данном документе «попаданием»).

[00228] Таблица 1: Двойная общая DsiРНК *APOC3* Нокдаун в клетках Нер G2, 0,5 нМ 24 ч-5'и -3' анализы % оставшейся мРНК (нормализовано к hSFRS9-F569(HEX) по сравнению с ложным контролем).

DsiРНК	APOC3-F149	
	% оставшейся мРНК	% SEM
1	35,2	2,5

2	55,3	1,7
3	43,3	4,4
4	41,7	3,2
5	39,7	4,5
6	53,0	1,2
7	47,0	3,0
8	41,3	2,5
9	53,8	1,5
10	44,2	3,8
11	45,0	2,2
12	55,1	4,8
13	56,1	1,1
14	23,3	1,3
15	28,3	1,3
16	34,9	3,6
17	33,3	2,2
18	47,3	3,2
19	65,4	5,6
20	41,0	7,1
21	41,6	3,1
22	34,3	2,4
23	31,0	2,0
24	56,9	4,4
25	48,9	2,3
26	49,7	5,7
27	41,4	3,5
28	43,3	3,9
29	49,6	2,0
30	70,3	2,2
31	42,0	1,7
32	60,0	3,6
33	50,8	1,5
34	34,3	2,0
35	38,5	3,8

36	54,0	3,3
37	58,9	6,4
38	58,9	2,8
39	52,1	2,4
40	60,3	5,2
41	69,0	3,0
42	44,7	5,5
43	36,8	1,8
44	35,5	1,5
45	37,4	1,7
46	38,1	1,4
47	36,9	2,8
48	52,4	2,1
49	32,1	2,2
50	29,8	1,5
51	36,5	1,9
52	34,9	3,5
53	45,9	2,4
54	41,8	2,5
55	33,5	5,6
56	38,6	6,6
57	15,7	0,9
58	164,0	6,1
59	32,1	5,2
60	120,3	10,1
61	40,4	1,9
62	38,2	1,6
63	36,1	2,6
64	42,0	2,2
65	62,1	3,6
66	63,0	2,1
67	65,9	1,8
68	121,6	4,4
69	72,6	11,2

70	112,5	7,2
71	57,3	2,9
72	66,1	3,8
73	59,7	3,5
74	85,9	5,3
75	75,5	4,3
76	38,6	4,1
77	46,4	5,9
78	24,7	3,6
79	42,0	4,3
80	38,5	4,1
81	51,8	5,2
82	26,7	5,7
83	19,5	1,3
84	39,0	3,8
85	42,6	2,7
86	37,4	2,8
87	34,4	7,4
88	38,4	3,0
89	37,9	2,2
90	24,9	1,0
91	43,4	3,0
92	29,6	1,8
93	31,8	1,5
94	59,1	2,6
95	101,6	5,0
96	56,7	6,9
97	97,6	9,6
98	50,3	5,3
99	26,0	4,8
100	20,8	3,5
101	20,4	2,2
102	73,0	6,0
103	96,4	3,3

104	48,3	1,9
105	143,5	7,0
106	105,8	8,6
107	102,9	8,7
108	95,5	1,3
109	99,7	6,7
110	46,6	5,2
111	44,2	2,5
112	49,4	5,5
113	61,3	2,9
114	71,5	4,3
115	98,0	3,9
116	42,2	3,8
117	30,8	1,0
118	40,2	3,1
119	34,2	1,0
120	24,7	1,8
121	26,4	4,0
122	21,0	3,3
123	28,0	2,6
124	52,8	1,8
125	160,2	3,9
126	49,4	6,9
127	52,5	2,4
128	46,9	2,5
129	30,6	1,2
130	28,2	1,3
131	32,0	3,5
132	37,3	3,2
133	31,9	2,7
134	29,8	3,2
135	31,5	4,2
136	73,9	3,7
137	30,5	3,5



138	88,9	1,7
139	40,1	1,2
140	39,2	3,4
141	41,2	2,0
142	40,9	2,7
143	141,5	4,8
144	30,4	3,3
145	43,5	2,6
146	55,5	7,9
147	16,6	1,1
148	13,0	1,8
149	63,0	2,3
150	44,6	3,1
151	31,6	2,3
152	19,5	1,9
153	31,7	1,3
154	38,5	5,2
155	18,9	1,1
156	39,5	1,1
157	89,0	2,7
158	43,5	2,4
159	27,2	1,5
160	21,8	0,9
161	53,2	2,6
162	46,4	5,1
163	92,4	2,2
164	30,3	1,9
165	53,7	5,2
166	21,7	2,5
167	27,1	1,6
168	49,7	5,5
169	31,1	1,4
170	39,7	3,2
171	45,3	2,3

172	71,7	6,1
173	45,2	4,4
174	37,9	3,2
175	27,5	1,8
176	34,5	1,0
177	37,6	3,7
178	41,7	2,7
179	40,4	2,9
180	59,2	1,5
181	32,9	1,3
182	27,8	3,6
183	31,5	2,6
184	28,8	5,5
185	32,7	4,0
186	37,5	4,6
187	30,9	7,0
188	38,9	5,0
189	33,3	1,0
190	21,9	1,7
191	28,9	2,1
192	30,8	1,8
193	29,0	2,1
194	26,0	1,7
195	23,9	1,4
196	26,6	4,0
197	26,0	2,7
198	28,4	1,3
199	39,8	2,9
200	41,6	3,2
201	21,7	0,5
202	21,9	2,7
203	42,6	2,4
204	38,2	1,7
205	33,4	2,6

206	30,2	2,5
207	47,7	3,4
208	28,4	2,2
209	76,2	6,7
210	160,5	16,9
211	217,8	6,5
212	47,6	3,3
213	110,8	5,7
214	74,8	6,2
215	66,8	4,1
216	45,3	2,0
217	62,2	4,0
218	34,7	1,4
219	67,2	2,6
220	54,9	3,1
221	51,4	1,1
222	63,4	7,4
223	60,2	1,7
224	96,9	4,4
225	113,8	1,8
226	65,4	5,9
227	40,3	3,0
228	138,4	12,1
229	76,3	25,6
230	48,9	5,1
231	50,2	3,3
232	79,6	1,6
233	63,6	2,4
234	69,4	5,8
235	96,0	6,8
236	121,6	3,0
237	46,9	2,6
238	30,9	1,5
239	50,8	3,6

240	68,4	3,8
241	50,4	1,8
242	27,4	1,1
243	33,8	1,2
244	29,6	1,8
245	67,1	3,4
246	28,0	1,3
247	43,4	5,9
248	20,7	2,1
249	40,2	3,4
250	57,6	2,4
251	55,1	4,5
252	58,3	5,4
253	60,4	4,5
254	56,4	6,3
255	24,2	2,4
256	32,0	1,0
257	61,9	1,2
258	87,5	3,3
259	40,2	0,9
260	55,8	3,0
261	32,1	2,1
262	31,4	2,9
263	26,4	1,6
264	11,3	0,8
265	16,3	1,3
266	62,7	3,4
267	10,9	0,6
268	10,4	0,9
269	12,5	1,1
270	19,9	0,7
271	13,7	1,6
272	17,0	1,0
273	14,6	0,8

274	61,4	2,9
275	15,1	1,0
276	21,2	1,4
277	31,7	2,0
278	109,0	12,6
279	75,2	4,1
280	30,8	2,8
281	31,2	3,7
282	27,2	1,8
283	16,2	1,0
284	40,4	2,8
285	21,5	1,3
286	18,7	0,7
287	17,2	1,7
288	47,5	5,1
289	47,5	5,8
290	35,7	1,3
291	53,3	3,1
292	63,2	9,7
293	52,8	5,3
294	25,7	1,5
295	59,8	4,2
296	59,6	6,2
297	44,8	5,7
298	36,0	1,3
299	50,2	5,3
300	30,5	1,7
301	23,7	0,7
302	62,7	8,6
303	88,9	8,3
304	111,2	7,0
305	162,1	17,5
306	101,8	11,3
307	81,2	6,2

308	110,4	5,8
309	73,2	7,8
310	68,0	1,5
311	119,5	11,6
312	91,7	9,8
313	60,2	6,5
314	70,1	8,2
315	50,1	3,6
316	36,6	2,8
317	61,7	4,3
318	43,2	4,4
319	13,1	9,4
320	39,0	3,0
321	36,4	2,3
322	45,2	2,6
323	30,6	2,3
324	42,1	4,7
325	46,1	1,5
326	35,3	4,8
327	32,3	2,0
328	26,1	3,5
329	35,2	2,4
330	23,4	2,7
331	27,6	1,8
332	25,6	2,1
333	24,6	3,7
334	27,7	0,4
335	20,8	1,7
336	20,5	1,4
337	28,3	2,7
338	22,6	1,1
339	26,9	1,9
340	28,8	2,1
341	107,9	3,2

342	24,1	3,9
343	57,8	3,0
344	46,1	4,6
345	42,7	2,8
346	30,2	4,0
347	31,1	3,7
348	45,6	3,1
349	27,6	1,8
350	87,1	6,6
351	78,0	2,2
352	106,0	5,4
353	111,1	4,7
354	96,5	4,6
355	33,1	1,9
356	97,4	3,2
357	55,8	2,1
358	86,5	2,2
359	106,4	5,6
360	90,5	4,4
361	93,7	2,9
362	100,5	7,5
363	65,7	3,5
364	63,0	2,6
365	78,2	6,0
366	55,2	2,7
367	45,8	9,4
368	54,6	2,0
369	42,6	2,2
370	35,4	3,4
371	31,8	0,5
372	31,3	1,8
373	41,1	2,3
374	58,5	2,1
375	45,5	2,8

376	36,3	4,5
377	31,8	1,5
378	37,7	2,1
379	29,2	2,1
380	29,6	1,7
381	31,2	2,0
382	32,7	2,0
383	43,9	3,7
384	23,7	1,6

[00229] Эти результаты показывают, что DsiРНК, предназначенные для нацеливания на мРНК АРОС3 человека, ингибируют экспрессию АРОС3 в клетках (что определяется по уменьшенному количеству мРНК АРОС3 в клетках, трансфицированных DsiРНК) и что нуклеотидные последовательности, включая попадания DsiРНК, пригодны для создания олигонуклеотидов РНКи для ингибирования экспрессии АРОС3. Кроме того, эти результаты демонстрируют, что множественные целевые последовательности АРОС3 подходят для РНКи-опосредованного ингибирования экспрессии АРОС3.

[00230] Пример 3. Ингибирование экспрессии АРОС3 олигонуклеотидами РНКи *in vitro* – Соединения на основе GalXC

[00231] Из 384 DsiРНК, подвергнутых скринингу в анализах на основе клеток Hep G2, описанных в Примере 2, нуклеотидные последовательности 81 попаданий DsiРНК выбирают для дальнейшей оценки *in vivo* как соединения на основе GalXC. Вкратце, нуклеотидные последовательности выбранных DsiРНК используются для создания 53 соответствующих ds олигонуклеотидов РНКи, включая тетрапетлевую структуру, конъюгированную с GalNAc, с разрывами (называемых в данном документе «олигонуклеотиды GalXC АРОС3»), имеющую 36-мерную смысловую (сопровождающую) цепь и 22-мерную антисмысловую (направляющую) цепь. Кроме того, нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепи олигонуклеотидов GalXC АРОС3 имеют четкий профиль модифицированных нуклеотидов и фосфоротиоатных связей (см., например, Фиг. 1А-1С, на которых схематически представлена общая структура и профили химических модификаций олигонуклеотидов GalXC АРОС3). Каждый из трех аденозиновых нуклеотидов тетрапетли конъюгирован с фрагментом GalNAc (№ CAS: 14131-60-3). Кроме того, нуклеотидные последовательности смысловой и антисмысловой цепи олигонуклеотидов GalXC АРОС3 имеют один из трех различных типов модифицированных нуклеотидов и фосфоротиоатных связей (см., например, Фиг. 1А-1С)



хотя типовые схемы модификации приведены в Таблице 3.

[00232] Таблица 2: GalXC-АРОС3 олигонуклеотиды (немодифицированные).

GalXC- АРОС3	Смысловая цепь (сопровождающая, 36- мерная)	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (направляющая, 22-мерная)	SEQ ID NO:
1	CUAGAGGCAGCUGC UCCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	9	UCUGGAGCAGCUGCCU CUAGGG	10
2	GGUACUCCUUGUUG UUGCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	11	UGGCAACAACAAGGAG UACCGG	12
3	GAGGCCGAGGAUGC CUCCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	13	UGGGAGGCAUCCUCGG CCUCGG	14
4	CCUUCUCAGCUUCA UGCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	15	UCUGCAUGAAGCUGAG AAGGGG	16
5	CUUCUCAGCUUCAU GCAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	17	UCCUGCAUGAAGCUGA GAAGGG	18
6	CUCAGCUUCAUGCA GGGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	19	UAACCCUGCAUGAAGC UGAGGG	20
7	AUGCACUGAGCAGC GUGCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	21	UUGCACGCUGCUCAGU GCAUGG	22
8	UGCACUGAGCAGCG UGCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	23	UCUGCACGCUGCUCAG UGCAGG	24
9	CUGAGCAGCGUGCA GGAGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	25	UACUCCUGCACGCUGC UCAGGG	26
10	AGCAGCGUGCAGGA GUCCCAGCAGCCGA	27	UGGGACUCCUGCACGC UGCUGG	28

	AAGGCUGC			
11	UGCAGGAGUCCCAG GUGGCAGCAGCCGA AAGGCUGC	29	UGCCACCUGGGACUCC UGCAGG	30
12	GGGGCUGGGUGACC GAUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	31	UCCAUCGGUCACCCAGC CCCCG	32
13	GGCUUCAGUUCCCU GAAAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	33	UCUUUCAGGGAACUGA AGCCGG	34
14	CUUCAGUUCCCUGA AAGACAGCAGCCGA AAGGCUGC	35	UGUCUUUCAGGGAACU GAAGGG	36
15	UUCAGUUCCUGAA AGACUAGCAGCCGA AAGGCUGC	37	UAGUCUUUCAGGGAAC UGAAGG	38
16	AGACUACUGGAGCA CCGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	39	UAACGGUGCUC CAGUA GUCUGG	40
17	UACUGGAGCACCGU UAAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	41	UCCUUAACGGUGCUC AGUAGG	42
18	UGGAGCACCGUUA GGACAAGCAGCCGA AAGGCUGC	43	UUGUCCUUAACGGUGC UCCAGG	44
19	ACCGUUAAGGACAA GUUCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	45	UAGAACUUGUCCUUA CGGUGG	46
20	CCGUUAAGGACAAG UUCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	47	UGAGAACUUGUCCUUA ACGGGG	48
21	CGUUAAGGACAAGU UCUCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	49	UAGAGAACUUGUCCU AACGGG	50

22	GUUAAGGACAAGU UCUCUGAGCAGCCG AAAGGCUGC	51	UCAGAGAACUUGUCCU UAACGG	52
23	AGGACAAGUUCUCU GAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	53	UAACUCAGAGAACUUG UCCUGG	54
24	AGGACAAGUUCUCU GAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	55	UAACUCAGAGAACUUG UCCUGG	56
25	UGCCUGAGACCUCA AUACCAGCAGCCGA AAGGCUGC	57	UGGUAUUGAGGUCUCA GGCAGG	58
26	CCCAAGUCCACCU GCCUAAGCAGCCGA AAGGCUGC	59	UUAGGCAGGUGGACUU GGGGGG	60
27	CCAAGUCCACCUG CCUAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	61	UAUAGGCAGGUGGACU UGGGGG	62
28	CAAGUCCACCUGCC UAUCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	63	UGGAUAGGCAGGUGGA CUUGGG	64
29	AAGUCCACCUGCCU AUCCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	65	UUGGAUAGGCAGGUGG ACUUGG	66
30	AGUCCACCUGCCUA UCCAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	67	UAUGGAUAGGCAGGUG GACUGG	68
31	GUCCACCUGCCUAU CCAUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	69	UGAUGGAUAGGCAGGU GGACGG	70
32	UCCACCUGCCUAUC CAUCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	71	UGGAUGGAUAGGCAGG UGGAGG	72
33	CCACCUGCCUAUCC	73	UAGGAUGGAUAGGCAG	74

	AUCCUAGCAGCCGA AAGGCUGC		GUGGGG	
34	CACCUGCCUAUCCA UCCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	75	UCAGGAUGGAUAGGCA GGUGGG	76
35	CCUGCCUAUCCAUC CUGCGAGCAGCCGA AAGGCUGC	77	UCGCAGGAUGGAUAGG CAGGGG	78
36	UCCAUCCUGCGAGC UCCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	79	UAAGGAGCUCGCAGGA UGGAGG	80
37	CAUCCUGCGAGCUC CUUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	81	UCCAAGGAGCUCGCAG GAUGGG	82
38	AUCCUGCGAGCUCC UUGGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	83	UCCAAGGAGCUCGCA GGAUGG	84
39	UCCUGCGAGCUCCU UGGGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	85	UACCAAGGAGCUCGC AGGAGG	86
40	GCUGCCCCUGUAGG UUGCAGCAGCCGA AAGGCUGC	87	UAGCAACCUACAGGGG CAGCGG	88
41	GUAGGUUGC UAA AAGGAAGCAGCCG AAAGGCUGC	89	UCCCCUUUAAGCAAC CUACGG	90
42	UAGGUUGC UAAA AGGGACAGCAGCCG AAAGGCUGC	91	UGUCCCUUUAAGCAA CCUAGG	92
43	UUGC UAAAAGGG ACAGUAAGCAGCCG AAAGGCUGC	93	UUACUGUCCCUUUA GCAAGG	94
44	UGC UAAAAGGGAC AGUAUAGCAGCCGA	95	UAUACUGUCCCUUUA AGCAGG	96

	AAGGCUGC			
45	GCUUAAAAGGGACA GUAUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	97	UAAUACUGUCCCUUU AAGCGG	98
46	CUUAAAAGGGACAG UAUUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	99	UGAAUACUGUCCCUUU UAAGGG	100
47	AAAAGGGACAGUA UUCUCAAGCAGCCG AAAGGCUGC	101	UUGAGAAUACUGUCCC UUUUGG	102
48	GGACAGUAUUCUCA GUGCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	103	UAGCACUGAGAAUACU GUCCGG	104
49	GACAGUAUUCUCAG UGCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	105	UGAGCACUGAGAAUAC UGUCGG	106
50	CAGUAUUCUCAGUG CUCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	107	UGAGAGCACUGAGAAU ACUGGG	108
51	UAAAGCUGGACAAG AAGCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	109	UAGCUUCUUGUCCAGC UUUAGG	110
52	AAAGCUGGACAAGA AGCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	111	UCAGCUUCUUGUCCAG CUUUGG	112
53	CUGUCCCUAAUAAA GCUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	113	UCCAGCUUUAUUAGGG ACAGGG	114
54	AGCUUCAUGCAGGG UUACAAGCAGCCGA AAGGCUGC	115	UUGUAACCCUGCAUGA AGCUGG	116
55	CUGGAGCACCGUUA AGGACAGCAGCCGA AAGGCUGC	117	UGUCCUUAACGGUGCU CCAGGG	118

56	GCACCGUUAAGGAC AAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	119	UAACUUGUCCUUAACG GUGCGG	120
57	UGUAGGUUGCUUA AAAGGGAGCAGCCG AAAGGCUGC	121	UCCCUUUUAAGCAACC UACAGG	122
58	GUUGCUUAAAAGG GACAGUAGCAGCCG AAAGGCUGC	123	UACUGUCCCUUUUAAG CAACGG	124
59	GAGCACCGUUAAGG ACAAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	125	UCUUGUCCUUAACGGU GCUCGG	126
60	AGCACCGUUAAGGA CAAGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	127	UACUUGUCCUUAACGG UGCUGG	128
61	CUGUAGGUUGCUUA AAAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	129	UCCUUUUAAGCAACCU ACAGGG	130
62	AGGUUGCUUAAAA GGGACAAGCAGCCG AAAGGCUGC	131	UUGUCCCUUUUAAGCA ACCUGG	132
63	GGUUGCUUAAAAG GGACAGAGCAGCCG AAAGGCUGC	133	UCUGUCCCUUUUAAGC AACCGG	134
64	CCAAUAAAGCUGGA CAAGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	135	UUCUUGUCCAGCUUUA UUGGGG	136
65	AUGGCUUCAGUUC CUGAAAGCAGCCGA AAGGCUGC	137	UUUCAGGGAACUGAAG CCAUGG	138
66	GCUUCAGUUCCUG AAAGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	139	UUCUUUCAGGGAACUG AAGCGG	140
67	CAGUUCCUGAAAG	141	UGUAGUCUUUCAGGGA	142

	ACUACAGCAGCCGA AAGGCUGC		ACUGGG	
68	AGUUCCCUGAAAGA CUACUAGCAGCCGA AAGGCUGC	143	UAGUAGUCUUUCAGGG AACUGG	144
69	CCUGAAAGACUACU GGAGCAGCAGCCGA AAGGCUGC	145	UGCUC CAGUAGUCUUU CAGGGG	146
70	GAAAGACUACUGGA GCACCAGCAGCCGA AAGGCUGC	147	UGGUGCUC CAGUAGUC UUUCGG	148
71	GACUACUGGAGCAC CGUUAAGCAGCCGA AAGGCUGC	149	UUAACGGUGCUC CAGU AGUCGG	150
72	ACUGGAGCACCGUU AAGGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	151	UUCUUAACGGUGCUC CAGUGG	152
73	GGAGCACCGUUAAG GACAAAGCAGCCGA AAGGCUGC	153	UUUGUCCUUAACGGUG CUCCGG	154
74	GCUUCAUGCAGGGU UACAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	155	UAUGUAACCCUGCAUG AAGCGG	156
75	CACCGUUAAGGACA AGUUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	157	UGAACUUGUCCUUAAC GGUGGG	158
76	ACAAGUUCUCUGAG UUCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	159	UCAGAACUCAGAGAAC UUGUGG	160
77	AAGUUCUCUGAGUU CUGGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	161	UCCAGAACUCAGAGA ACUUGG	162
78	AGUUCUCUGAGUUC UGGGAAGCAGCCGA	163	UCCCAGAACUCAGAG AACUGG	164

	AAGGCUGC			
79	GUUCUCUGAGUUCU GGGAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	165	UAUCCCAGAACUCAGA GAACGG	166
80	GGACCCUGAGGUCA GACCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	167	UUGGUCUGACCUCAGG GUCCGG	168
81	GUAUUCUCAGUGCU CUCCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	169	UAGGAGAGCACUGAGA AUACGG	170

[00233] Таблица 3: GalXC-АРОС3 олигонуклеотиды (модифицированные).

GalXC- АРОС3	Смысловая цепь (сопровождающая, 36- мерная)	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (направляющая, 22-мерная)	SEQ ID NO:
1	[mCs][mU][mA][mG][ mA][mG][mG][fC][fA][ fG][fC][mU][mG][mC][ mU][mC][mC][mA][m G][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	171	[MePhosphonate-4O- mUs][fCs][fUs][fG][fG][mA ][fG][mC][mA][fG][mC][m U][mG][fC][mC][mU][mC][ mU][mA][mGs][mGs][mG]	172
2	[mGs][mG][mU][mA][ mC][mU][mC][fC][fU][ fU][fG][mU][mU][mG][ mU][mU][mG][mC][m C][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC	173	[MePhosphonate-4O- mUs][fGs][fGs][fC][fA][mA ][fC][mA][mA][fC][mA][m A][mG][fG][mA][mG][mU][ mA][mC][mCs][mGs][mG]	174



	][mU][mG][mC]			
3	[mGs][mA][mG][mG][mC][mC][mG][fA][fG][fG][fA][mU][mG][mC][mC][mU][mC][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][adema-GalNAc][adema-GalNAc][adema-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	175	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fC][fA][mA][fC][mA][mA][fC][mA][mA][mG][fG][mA][mG][mU][mA][mC][mCs][mGs][mG]	176
4	[mCs][mC][mU][mU][mC][mU][mC][fA][fG][fC][fU][mU][mC][mA][mU][mG][mC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][adema-GalNAc][adema-GalNAc][adema-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	177	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fG][fC][mA][fU][mG][mA][fA][mG][mC][mU][fG][mA][mG][mA][mA][mG][mGs][mGs][mG]	178
5	[mCs][mU][mU][mC][mU][mC][mA][fG][fC][fU][fU][mC][mA][mU][mG][mC][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][adema-GalNAc][adema-GalNAc][adema-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	179	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fU][fG][mC][fA][mU][mG][fA][mA][mG][mC][fU][mG][mA][mG][mA][mA][mGs][mGs][mG]	180
6	[mCs][mU][mC][mA][mG][mC][mU][fU][fC][fA][fU][mG][mC][mA][mG][mG][mG][mU][m	181	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fC][mC][fU][mG][mC][fA][mU][mG][mA][fA][mG][mC][mU][	182

	U][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		mG][mA][mGs][mGs][mG]	
7	[mAs][mU][mG][mC][mA][mC][mU][fG][fA][fG][fC][mA][mG][mC][mG][mU][mG][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	183	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fC][fA][mC][fG][mC][mU][fG][mC][mU][mC][fA][mG][mU][mG][mC][mA][mUs][mGs][mG]	184
8	[mUs][mG][mC][mA][mC][mU][mG][fA][fG][fC][fA][mG][mC][mG][mU][mG][mC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	185	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fG][fC][mA][fC][mG][mC][fU][mG][mC][mU][fC][mA][mG][mU][mG][mC][mAs][mGs][mG]	186
9	[mCs][mU][mG][mA][mG][mC][mA][fG][fC][fG][fU][mG][mC][mA][mG][mG][mA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC]	187	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][fU][fC][mC][fU][mG][mC][fA][mC][mG][mC][fU][mG][mC][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	188

	][mU][mG][mC]			
10	[mAs][mG][mC][mA][mG][mC][mG][fU][fG][fC][fA][mG][mG][mA][mG][mU][mC][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	189	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fG][fA][mC][fU][mC][mC][fU][mG][mC][mA][fC][mG][mC][mU][mG][mC][mUs][mGs][mG]	190
11	[mUs][mG][mC][mA][mG][mG][mA][fG][fU][fC][fC][mC][mA][mG][mG][mU][mG][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	191	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fCs][fC][fA][mC][fC][mU][mG][fG][mG][mA][mC][fU][mC][mC][mU][mG][mC][mAs][mGs][mG]	192
12	[mGs][mG][mG][mG][mC][mU][mG][fG][fG][fU][fG][mA][mC][mC][mG][mA][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	193	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fA][fU][mC][fG][mG][mU][fC][mA][mC][mC][fC][mA][mG][mC][mC][mC][mCs][mGs][mG]	194
13	[mGs][mG][mC][mU][mU][mC][mA][fG][fU][fU][fC][mC][mC][mU][mG][mA][mA][mA][m	195	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fU][fU][mC][fA][mG][mG][fG][mA][mA][mC][fU][mG][mA][mA][	196

	G][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		mG][mC][mCs][mGs][mG]	
14	[mCs][mU][mU][mC][mA][mG][mU][fU][fC][fC][fC][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	197	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][fC][fU][mU][fU][mC][mA][fG][mG][mG][mA][fA][mC][mU][mG][mA][mA][mGs][mGs][mG]	198
15	[mUs][mU][mC][mA][mG][mU][mU][fC][fC][fC][fU][mG][mA][mA][mA][mG][mA][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	199	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fU][fC][mU][fU][mU][mC][fA][mG][mG][mG][fA][mA][mC][mU][mG][mA][mAs][mGs][mG]	200
16	[mAs][mG][mA][mC][mU][mA][mC][fU][fG][fG][fA][mG][mC][mA][mC][mC][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC]	201	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fG][mG][fU][mG][mC][fU][mC][mC][mA][fG][mU][mA][mG][mU][mC][mUs][mGs][mG]	202

	][mU][mG][mC]			
17	[mUs][mA][mC][mU][mG][mG][mA][fG][fC][fA][fC][mC][mG][mU][mU][mA][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	203	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fU][fU][mA][fA][mC][mG][fG][mU][mG][mC][fU][mC][mC][mA][mG][mU][mAs][mGs][mG]	204
18	[mUs][mG][mG][mA][mG][mC][mA][fC][fC][fG][fU][mU][mA][mA][mG][mG][mA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	205	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fU][fC][mC][fU][mU][mA][fA][mC][mG][mG][fU][mG][mC][mU][mC][mC][mAs][mGs][mG]	206
19	[mAs][mC][mC][mG][mU][mU][mA][fA][fG][fG][fA][mC][mA][mA][mG][mU][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	207	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fA][mC][fU][mU][mG][fU][mC][mC][mU][fU][mA][mA][mC][mG][mG][mUs][mGs][mG]	208
20	[mCs][mC][mG][mU][mU][mA][mA][fG][fG][fA][fC][mA][mA][mG][mU][mU][mC][mU][m	209	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fA][mA][fC][mU][mU][fG][mU][mC][mC][fU][mU][mA][mA][	210

	C][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		mC][mG][mGs][mGs][mG]	
21	[mCs][mG][mU][mU][mA][mA][mG][fG][fA][fC][fA][mA][mG][mU][mU][mC][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	211	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fG][mA][fA][mC][mU][fU][mG][mU][mC][fC][mU][mU][mA][mA][mC][mGs][mGs][mG]	212
22	[mGs][mU][mU][mA][mA][mG][mG][fA][fC][fA][fA][mG][mU][mU][mC][mU][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	213	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fA][mG][fA][mA][mC][fU][mU][mG][mU][fC][mC][mU][mU][mA][mA][mCs][mGs][mG]	214
23	[mAs][mG][mG][mA][mC][mA][mA][fG][fU][fU][fC][mU][mC][mU][mG][mA][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC]	215	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fU][mC][fA][mG][mA][fG][mA][mA][mC][fU][mU][mG][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	216

	][mU][mG][mC]			
24	[mAs][mG][fG][mA][mC][mA][mA][fG][fU][fU][mC][fU][fC][mU][mG][mA][fG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	217	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][mC][fU][mC][fA][fG][mA][fG][mA][fA][mC][fU][mU][fG][mU][mC][fC][mUs][mGs][mG]	218
25	[mUs][mG][mC][mC][mU][mG][mA][fG][fA][fC][fC][mU][mC][mA][mA][mU][mA][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	219	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fU][fA][mU][fU][mG][mA][fG][mG][mU][mC][fU][mC][mA][mG][mG][mC][mAs][mGs][mG]	220
26	[mCs][mC][mC][mC][mA][mA][mG][fU][fC][fC][fA][mC][mC][mU][mG][mC][mC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	221	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fAs][fG][fG][mC][fA][mG][mG][fU][mG][mG][mA][fC][mU][mU][mG][mG][mG][mGs][mGs][mG]	222
27	[mCs][mC][mC][mA][mA][mG][mU][fC][fC][fA][fC][mC][mU][mG][	223	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][fA][fG][mG][fC][mA][mG][fG][mU][m	224

	mC][mC][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		G][mG][fA][mC][mU][mU][mG][mG][mGs][mGs][mG]	
28	[mCs][mA][mA][mG][mU][mC][mC][fA][fC][fC][fU][mG][mC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	225	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fA][fU][mA][fG][mG][mC][fA][mG][mG][mU][fG][mG][mA][mC][mU][mU][mGs][mGs][mG]	226
29	[mAs][mA][mG][mU][mC][mC][mA][fC][fC][fU][fG][mC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	227	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fG][fA][mU][fA][mG][mG][fC][mA][mG][mG][fU][mG][mG][mA][mC][mU][mUs][mGs][mG]	228
30	[mAs][mG][mU][mC][mC][mA][mC][fC][fU][fG][fC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	229	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fG][mA][fU][mA][mG][fG][mC][mA][mG][fG][mU][mG][mG][mA][mC][mUs][mGs][mG]	230



	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
31	[mGs][mU][mC][mC][mA][mC][mC][fU][fG][fC][fC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	231	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fU][fG][mG][fA][mU][mA][fG][mG][mC][mA][fG][mG][mU][mG][mG][mA][mCs][mGs][mG]	232
32	[mUs][mC][mC][mA][mC][mC][mU][fG][fC][fC][fU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	233	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fA][fU][mG][fG][mA][mU][fA][mG][mG][mC][fA][mG][mG][mU][mG][mG][mAs][mGs][mG]	234
33	[mCs][mC][mA][mC][mC][mU][mG][fC][fC][fU][fA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	235	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fG][fA][mU][fG][mG][mA][fU][mA][mG][mG][fC][mA][mG][mG][mU][mG][mGs][mGs][mG]	236
34	[mCs][mA][mC][mC][mU][mG][mC][fC][fU][fA][fU][mC][mC][mA][	237	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fG][mA][fU][mG][mG][fA][mU][m	238

	mU][mC][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		A][mG][fG][mC][mA][mG][mG][mU][mGs][mGs][mG]	
35	[mCs][mC][mU][mG][mC][mC][mU][fA][fU][fC][fC][mA][mU][mC][mC][mU][mG][mC][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	239	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fGs][fC][fA][mG][fG][mA][mU][fG][mG][mA][mU][fA][mG][mG][mC][mA][mG][mGs][mGs][mG]	240
36	[mUs][mC][mC][mA][mU][mC][mC][fU][fG][fC][fG][mA][mG][mC][mU][mC][mC][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	241	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fG][fG][mA][fG][mC][mU][fC][mG][mC][mA][fG][mG][mA][mU][mG][mG][mAs][mGs][mG]	242
37	[mCs][mA][mU][mC][mC][mU][mG][fC][fG][fA][fG][mC][mU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	243	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fA][fA][mG][fG][mA][mG][fC][mU][mC][mG][fC][mA][mG][mG][mA][mU][mGs][mGs][mG]	244

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
38	[mAs][mU][mC][mC][mU][mG][mC][fG][fA][fG][fC][mU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	245	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fC][fA][mA][fG][mG][mA][fG][mC][mU][mC][fG][mC][mA][mG][mG][mA][mUs][mGs][mG]	246
39	[mUs][mC][mC][mU][mG][mC][mG][fA][fG][fC][fU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	247	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][fC][fC][mA][fA][mG][mG][fA][mG][mC][mU][fC][mG][mC][mA][mG][mG][mAs][mGs][mG]	248
40	[mGs][mC][mU][mG][mC][mC][mC][fC][fU][fG][fU][mA][mG][mG][mU][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	249	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mA][fC][mC][mU][fA][mC][mA][mG][fG][mG][mG][mC][mA][mG][mCs][mGs][mG]	250
41	[mGs][mU][mA][mG][mG][mU][mU][fG][fC][fU][fU][mA][mA][mA][	251	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][fC][fC][mU][fU][mU][mU][fA][mA][m	252

	mA][mG][mG][mG][m A][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]		G][mC][fA][mA][mC][mC][ mU][mA][mCs][mGs][mG]	
42	[mUs][mA][mG][mG][ mU][mU][mG][fC][fU][ fU][fA][mA][mA][mA][ mG][mG][mG][mA][m C][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	253	[MePhosphonate-4O- mUs][fGs][fUs][fC][fC][mC ][fU][mU][mU][fU][mA][m A][mG][fC][mA][mA][mC][ mC][mU][mAs][mGs][mG]	254
43	[mUs][mU][mG][mC][ mU][mU][mA][fA][fA][ fA][fG][mG][mG][mA][ mC][mA][mG][mU][m A][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	255	[MePhosphonate-4O- mUs][fUs][fAs][fC][fU][mG ][fU][mC][mC][fC][mU][m U][mU][fU][mA][mA][mG][ mC][mA][mAs][mGs][mG]	256
44	[mUs][mG][mC][mU][ mU][mA][mA][fA][fA][ fG][fG][mG][mA][mC][ mA][mG][mU][mA][m U][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA-	257	[MePhosphonate-4O- mUs][fAs][fUs][fA][fC][mU ][fG][mU][mC][fC][mC][m U][mU][fU][mU][mA][mA][ mG][mC][mAs][mGs][mG]	258

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
45	[mGs][mC][mU][mU][mA][mA][mA][fA][fG][fG][fG][mA][mC][mA][mG][mU][mA][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	259	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fU][fA][mC][fU][mG][mU][fC][mC][mC][mU][fU][mU][mU][mA][mA][mG][mCs][mGs][mG]	260
46	[mCs][mU][mU][mA][mA][mA][fG][fG][fG][fA][mC][mA][mG][mU][mA][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	261	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fA][fU][mA][fC][mU][mG][fU][mC][mC][mC][fU][mU][mU][mU][mA][mA][mGs][mGs][mG]	262
47	[mAs][mA][mA][mA][mG][mG][mG][fA][fC][fA][fG][mU][mA][mU][mU][mC][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	263	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fA][fG][mA][fA][mU][mA][fC][mU][mG][mU][fC][mC][mC][mU][mU][mU][mUs][mGs][mG]	264
48	[mGs][mG][mA][mC][mA][mG][mU][fA][fU][fU][fC][mU][mC][mA][	265	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mC][fU][mG][mA][fG][mA][m	266

	mG][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		A][mU][fA][mC][mU][mG][mU][mC][mCs][mGs][mG]	
49	[mGs][mA][mC][mA][mG][mU][mA][fU][fU][fC][fU][mC][mA][mG][mU][mG][mC][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	267	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fC][mA][fC][mU][mG][fA][mG][mA][mA][fU][mA][mC][mU][mG][mU][mCs][mGs][mG]	268
50	[mCs][mA][mG][mU][mA][mU][mU][fC][fU][fC][fA][mG][mU][mG][mC][mU][mC][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	269	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fA][mG][fC][mA][mC][fU][mG][mA][mG][fA][mA][mU][mA][mC][mU][mGs][mGs][mG]	270
51	[mUs][mA][mA][mA][mG][mC][mU][fG][fG][fA][fC][mA][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	271	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fU][mU][fC][mU][mU][fG][mU][mC][mC][fA][mG][mC][mU][mU][mU][mAs][mGs][mG]	272

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
52	[mAs][mA][mA][mG][mC][mU][mG][fG][fA][fC][fA][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	273	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fC][mU][fU][mC][mU][fU][mG][mU][mC][fC][mA][mG][mC][mU][mU][mUs][mGs][mG]	274
53	[mCs][mU][fG][mU][fC][mC][mC][fU][fA][fA][fU][mA][fA][mA][fG][mC][fU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	275	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mA][fG][mC][fU][mU][mU][fA][mU][fU][mA][fG][mG][fG][fA][mC][fA][mGs][mGs][mG]	276
54	[mAs][mG][fC][mU][mU][mC][mA][fU][fG][fC][mA][fG][fG][mG][mU][mU][fA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	277	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mU][fA][mA][fC][fC][mC][fU][mG][fC][mA][fU][mG][fA][mA][mG][fC][mUs][mGs][mG]	278
55	[mCs][mU][fG][mG][mA][mG][mC][fA][fC][f	279	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][mC][fC][m	280

	C][mG][fU][fU][mA][mA][mG][fG][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		U][fU][fA][mA][fC][mG][fG][mU][fG][mC][fU][mC][mC][fA][mGs][mGs][mG]	
56	[mGs][mC][fA][mC][mC][mG][mU][fU][fA][fA][mG][fG][fA][mC][mA][mA][fG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	281	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][mC][fU][mU][fG][fU][mC][fC][mU][fU][mA][fA][mC][fG][mG][mU][fG][mCs][mGs][mG]	282
57	[mUs][mG][fU][mA][mG][mG][mU][fU][fG][fC][mU][fU][fA][mA][mA][mA][fG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	283	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mC][fU][mU][fU][fU][mA][fA][mG][fC][mA][fA][mC][fC][mU][mA][fC][mAs][mGs][mG]	284
58	[mGs][mU][fU][mG][mC][mU][mU][fA][fA][fA][mA][fG][fG][mG][mA][mC][fA][mG][mU][	285	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][mU][fG][mU][fC][fC][mC][fU][mU][fU][mU][fA][mA][fG][mC][m	286



	mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		A][fA][mCs][mGs][mG]	
59	[mGs][mA][fG][mC][fA][mC][mC][fG][fU][fU][fA][mA][fG][mG][fA][mC][fA][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	287	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][mU][fG][mU][fC][mC][mU][fU][mA][fA][mC][fG][mG][fU][fG][mC][fU][mCs][mGs][mG]	288
60	[mAs][mG][fC][mA][fC][mC][mG][fU][fU][fA][fA][mG][fG][mA][fC][mA][fA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	289	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][mU][fU][mG][fU][mC][mC][fU][mU][fA][mA][fC][mG][fG][fU][mG][fC][mUs][mGs][mG]	290
61	[mCs][mU][fG][mU][fA][mG][mG][fU][fU][fG][fC][mU][fU][mA][fA][mA][fA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-	291	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mU][fU][mU][fU][mA][mA][fG][mC][fA][mA][fC][mC][fU][fA][mC][fA][mGs][mGs][mG]	292

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
62	[mAs][mG][fG][mU][fU][mG][mC][fU][fU][fA][fA][mA][fA][mG][fG][mG][fA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	293	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mU][fC][mC][fC][mU][mU][fU][mU][fA][mA][fG][mC][fA][fA][mC][fC][mUs][mGs][mG]	294
63	[mGs][mG][fU][mU][fG][mC][mU][fU][fA][fA][fA][mA][fG][mG][fG][mA][fC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	295	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][mG][fU][mC][fC][mC][mU][fU][mU][fU][mA][fA][mG][fC][fA][mA][fC][mCs][mGs][mG]	296
64	[mCs][mC][fA][mA][fU][mA][mA][fA][fG][fC][fU][mG][fG][mA][fC][mA][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-	297	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mU][fU][mG][fU][mC][mC][fA][mG][fC][mU][fU][mU][fA][fU][mU][fG][mGs][mGs][mG]	298

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
65	[mAs][mU][fG][mG][fC][mU][mU][fC][fA][fG][fU][mU][fC][mC][fC][mU][fG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	299	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fUs][mC][fA][mG][fG][mG][mA][fA][mC][fU][mG][fA][mA][fG][fC][mC][fA][mUs][mGs][mG]	300
66	[mGs][mC][fU][mU][fC][mA][mG][fU][fU][fC][fC][mC][fU][mG][fA][mA][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	301	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mU][fU][mU][fC][mA][mG][fG][mG][fA][mA][fC][mU][fG][fA][mA][fG][mCs][mGs][mG]	302
67	[mCs][mA][fG][mU][fU][mC][mC][fC][fU][fG][fA][mA][fA][mG][fA][mC][fU][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC]	303	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][mA][fG][mU][fC][mU][mU][fU][mC][fA][mG][fG][mG][fA][fA][mC][fU][mGs][mGs][mG]	304

	][mU][mG][mC]			
68	[mAs][mG][fU][mU][fC][mC][mC][fU][fG][fA][fA][mA][fG][mA][fC][mU][fA][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	305	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][mU][fA][mG][fU][mC][mU][fU][mU][fC][mA][fG][mG][fG][fA][mA][fC][mUs][mGs][mG]	306
69	[mCs][mC][fU][mG][fA][mA][mA][fG][fA][fC][fU][mA][fC][mU][fG][mG][fA][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	307	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fCs][mU][fC][mC][fA][mG][mU][fA][mG][fU][mC][fU][mU][fU][fC][mA][fG][mGs][mGs][mG]	308
70	[mGs][mA][fA][mA][fG][mA][mC][fU][fA][fC][fU][mG][fG][mA][fG][mC][fA][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	309	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][mU][fG][mC][fU][mC][mC][fA][mG][fU][mA][fG][mU][fC][fU][mU][fU][mCs][mGs][mG]	310
71	[mGs][mA][fC][mU][fA]	311	[Phosphonate-4O-	312

	[[mC][mU][fG][fG][fA][fG][mC][fA][mC][fC][mG][fU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		mUs][fUs][fAs][mA][fC][mG][fG][mU][mG][fC][mU][fC][mC][fA][mG][fU][fA][mG][fU][mCs][mGs][mG]	
72	[mAs][mC][fU][mG][fG][mA][mG][fC][fA][fC][fC][mG][fU][mU][fA][mA][fG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	313	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mC][fU][mU][fA][mA][mC][fG][mG][fU][mG][fC][mU][fC][fC][mA][fG][mUs][mGs][mG]	314
73	[mGs][mG][fA][mG][fC][mA][mC][fC][fG][fU][fU][mA][fA][mG][fG][mA][fC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	315	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fUs][mG][fU][mC][fC][mU][mU][fA][mA][fC][mG][fG][mU][fG][fC][mU][fC][mCs][mGs][mG]	316
74	[mGs][mC][fU][mU][fC][mA][mU][fG][fC][fA][fG][mG][fG][mU][fU][	317	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][mG][fU][mA][fA][mC][mC][fC][mU][f	318

	mA][fC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		G][mC][fA][mU][fG][fA][mA][fG][mCs][mGs][mG]	
75	[mCs][mA][fC][mC][fG][mU][mU][fA][fA][fG][fG][mA][fC][mA][fA][mG][fU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	319	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][mA][fC][mU][fU][mG][mU][fC][mC][fU][mU][fA][mA][fC][fG][mG][fU][mGs][mGs][mG]	320
76	[mAs][mC][fA][mA][fG][mU][mU][fC][fU][fC][fU][mG][fA][mG][fU][mU][fC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	321	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][mG][fA][mA][fC][mU][mC][fA][mG][fA][mG][fA][mA][fC][fU][mU][fG][mUs][mGs][mG]	322
77	[mAs][mA][fG][mU][mU][mC][mU][fC][fU][fG][mA][fG][fU][mU][mC][mU][fG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][m	323	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mC][fA][mG][fA][fA][mC][fU][mC][fA][mG][fA][mG][fA][mA][mC][fU][mUs][mGs][mG]	324

	G][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
78	[mAs][mG][fU][mU][mC][mU][mC][fU][fG][fA][mG][fU][fU][mC][mU][mG][fG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	325	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mC][fC][mA][fG][fA][mA][fC][mU][fC][mA][fG][mA][fG][mA][mA][fC][mUs][mGs][mG]	326
79	[mGs][mU][fU][mC][mU][mC][mU][fG][fA][fG][mU][fU][fC][mU][mG][mG][fG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	327	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][mC][fC][mC][fA][fG][mA][fA][mC][fU][mC][fA][mG][fA][mG][mA][fA][mCs][mGs][mG]	328
80	[mGs][mG][fA][mC][mC][mC][mU][fG][fA][fG][mG][fU][fC][mA][mG][mA][fC][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-	329	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mG][fU][mC][fU][fG][mA][fC][mC][fU][mC][fA][mG][fG][mG][mU][fC][mCs][mGs][mG]	330

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
81	[mGs][mU][fA][mU][mU][mC][mU][fC][fA][fG][mU][fG][fC][mU][mC][mU][fC][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	331	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][mG][fA][mG][fA][fG][mC][fA][mC][fU][mG][fA][mG][fA][mA][mU][fA][mCs][mGs][mG]	332

#### ФУНКЦИЯ *IN VIVO*

[00234] Пример 4. Ингибирование экспрессии *APOC3* олигонуклеотидами РНКи *in vitro*

[00235] *Исследования на мышах:* Различные олигонуклеотиды GalXC *APOC3*, которые перечислены в Таблицах 2 (немодифицированные) и 3 (модифицированные), оценивали на мышинной модели с гидродинамической инъекцией (HDI). Дополнительные исследования HDI приведены в Таблицах 5-13. Для этих исследований HDI мышей получали таким образом, чтобы они временно экспрессировали мРНК *APOC3* человека в гепатоцитах. Контрольный олигонуклеотид GalXC *APOC3* использовали в качестве эталонного контроля. Вкратце, 6-8-недельным самкам мышей CD-1 п/к вводили олигонуклеотид GalXC *APOC3* в дозе 1 мг/кг. Через три дня (72 часа) мышам выполняли гидродинамическую инъекцию ДНК-плазмиды, кодирующей полноразмерный ген *APOC3* человека под контролем последовательности универсального промотора цитомегаловируса (CMV). Через день после введения плазмиды собирали образцы печени. Общую РНК, полученную от этих мышей, подвергали анализу qRT-PCR на мРНК *APOC3* по сравнению с мышами, которым вводили только идентичный объем PBS. Значения нормализовали для эффективности трансфекции с применением гена NeoR, включенного в плазмиду.

[00236] Как показано в Таблицах 4-12, ряд протестированных олигонуклеотидов GalXC *APOC3* ингибировали экспрессию *APOC3*, что определялось по уменьшенному количеству мРНК *APOC3* в образцах печени мышей, получавших олигонуклеотиды, по сравнению с



мышами, получавшими PBS. Средний процент оставшейся мРНК АРОС3 в образцах печени мышей, получавших эталонный контрольный олигонуклеотид GalXC АРОС3, по сравнению с мышами, получавшими PBS. В Таблице 4 показано, что некоторые из 12 протестированных олигонуклеотидов GalXC АРОС3 ингибируют экспрессию АРОС3 в большей степени, чем эталонный олигонуклеотид GalXC АРОС3, используемый в качестве контроля. Последовательности этих олигонуклеотидов вместе с профилями модификации и SEQ ID NO приведены в Таблицах 2 и 3 с привязкой к Фиг. 1.

[00237] Таблица 4: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 3 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	58,2	49,5	117,8	174,5	--	100,0	29,1
6	40,8	21,4	26,1	21,5	35,8	30,9	4,9
15	17,7	31,1	21,5	14,4	4,3	17,8	4,4
20	15,8	20,1	22,0	7,3	10,5	15,2	2,8
22	27,0	17,9	27,0	39,7	20,2	26,4	3,8
41	35,4	42,5	30,8	11,9	7,1	25,5	6,9
42	17,1	39,7	52,2	24,1	15,2	29,7	7,1
43	58,1	53,9	129,4	117,7	60,7	84,0	16,3
54	71,4	77,4	35,1	60,8	35,8	56,1	8,9
55	116,9	73,4	90,0	68,4	80,7	85,9	8,6
56	34,3	32,4	16,3	74,9	--	39,5	12,5
57	77,3	111,4	45,2	52,4	71,5	71,5	11,6
58	--	49,8	7,6	24,4	75,8	49,4	10,5

[00238] В Таблицах 5-12 показаны дополнительные серии исследований HDI на мышях с олигонуклеотидами GalXC-АРОС3 с использованием того же эталонного олигонуклеотида.

[00239] Таблица 5: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 3 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	126,6	158,2	50,1	107,6	57,5	100,0	20,6
13	45,7	29,7	23,7	18,6	34,9	30,5	4,7

14	35,2	14,9	25,7	30,5	21,7	25,6	3,5
15	4,4	6,3	11,3	--	--	7,3	2,0
17	22,2	29,4	21,7	18,4	15,6	21,4	2,3
18	17,1	35,8	25,4	24,6	32,69	27,1	3,3
44	12,2	23,1	7,4	12,0	10,9	13,1	2,6
59	52,5	53,1	56,0	38,2	38,8	47,7	3,8
60	36,4	58,9	45,1	31,2	39,4	42,2	4,7
61	25,7	36,1	98,2	51,9	102,7	62,9	15,9
62	73,7	56,3	76,5	41,8	121,6	74,0	13,5
63	136,5	75,2	42,1	116,6	31,9	80,4	20,4
64	54,6	48,6	37,6	48,5	62,8	50,4	4,1

[00240] Таблица 6: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 3 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	90,2	130,2	60,7	75,3	143,6	100,0	15,9
15	18,3	36,6	22,0	21,3	21,9	24,0	3,2
44	18,9	29,2	15,6	18,2	18,6	20,1	2,3
45	29,4	26,1	41,3	25,4	27,0	29,8	2,9
46	25,4	18,6	30,5	26,0	13,5	22,8	3,0
65	54,5	57,3	80,7	75,5	57,6	65,1	5,4
66	42,8	72,7	30,8	35,8	54,3	47,3	7,5
67	44,3	54,4	32,4	44,8	38,4	42,9	3,7
68	36,6	33,8	46,6	35,7	48,0	40,1	3,0
69	40,3	48,2	26,9	31,5	46,5	38,7	4,1
70	128,1	24,3	29,8	70,5	55,7	61,7	18,6
71	72,1	74,7	65,0	83,2	54,0	69,8	4,9
72	66,0	39,9	51,7	38,3	38,8	47,0	5,4
73	53,8	41,2	37,9	42,6	74,8	50,0	6,7

[00241] Таблица 7: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 3 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей; Анализ 1 – верхняя таблица и Анализ 2 – нижняя таблица).

Анализ 1							
GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	103,4	91,8	76,1	133,6	95,1	100,0	9,5
15	47,5	38,6	24,6	23,9	40,1	34,9	4,6
19	64,1	24,0	25,5	22,4	33,3	33,8	7,8
21	20,9	39,1	22,5	18,5	--	25,2	4,7
23	16,8	13,2	30,7	20,1	15,0	19,2	3,1
51	53,9	25,2	25,4	24,4	54,4	36,7	7,1
74	59,5	73,2	101,2	63,2	67,0	72,8	7,5
75	79,9	75,9	83,6	106,3	124,1	93,9	9,2
76	69,1	38,9	60,6	49,9	59,5	55,6	5,2
77	55,0	44,8	72,8	89,9	93,5	71,2	9,5
78	76,8	65,3	84,5	79,9	98,3	81,0	5,4
79	68,7	62,0	83,9	63,9	98,2	75,3	6,9
80	75,2	97,6	102,2	68,6	91,4	87,0	6,5
81	55,6	36,3	55,4	44,4	58,8	50,1	4,2

Анализ 2							
GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	111,7	78,9	77,3	131,9	100,3	100,0	10,3
15	57,1	42,3	34,1	27,4	47,6	41,7	5,2
19	91,7	60,2	64,8	71,6	67,2	71,1	5,5
21	24,6	51,4	25,7	21,7	--	30,9	6,9
23	23,5	20,6	34,4	31,7	24,5	26,9	2,6
51	57,9	33,8	32,9	30,7	43,5	39,8	5,0
74	66,1	72,3	87,2	60,1	59,7	69,1	5,1
75	91,4	82,9	133,6	109,6	124,4	108,4	9,6
76	74,0	51,0	75,9	53,4	59,6	62,8	5,2
77	45,4	52,1	81,5	77,5	116,7	74,6	12,6
78	69,4	60,1	82,7	93,8	89,3	79,1	6,3
79	79,1	71,4	79,8	77,5	106,3	82,8	6,1
80	115,2	164,4	121,3	109,9	191,2	140,4	15,9

81	63,2	42,9	57,6	48,2	62,4	54,8	4,0
----	------	------	------	------	------	------	-----

[00242] Таблица 8: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-APOC3 у мышей (однократная доза GalXC, 1 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hAPOC3 у мышей).

GalXC- APOC3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	112,0	119,2	92,8	76,9	--	100,0	9,7
6	15,4	71,6	23,4	34,9	41,1	37,3	9,6
13	82,7	150,1	88,9	86,4	122,1	106,0	13,1
14	28,8	33,6	33,1	37,3	57,0	38,0	4,9
15	21,4	15,2	23,6	19,7	18,4	19,6	1,4
17	39,4	53,7	32,5	58,6	49,5	46,8	4,8
18	22,5	34,6	27,4	15,9	21,8	24,4	3,1
19	13,9	24,6	33,8	13,8	16,5	20,5	3,9
20	83,8	28,0	34,5	66,8	43,1	51,2	10,5
21	42,8	18,7	105,3	26,1	25,7	43,7	15,9
22	39,5	44,9	69,1	36,1	--	47,4	7,5
23	43,6	39,9	75,1	33,5	20,1	42,4	9,1
41	48,4	30,9	16,1	35,3	19,3	30,0	5,8
42	76,3	59,1	79,1	50,1	78,4	68,6	5,9
44	122,3	46,4	39,7	40,5	34,8	56,7	16,5
45	35,7	30,5	45,9	90,2	--	50,6	13,6
46	12,4	8,3	25,0	5,8	58,0	21,9	9,6
51	43,6	82,4	81,3	113,3	74,9	79,1	11,1

[00243] Таблица 9: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-APOC3 у мышей (однократная доза GalXC, 1 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hAPOC3 у мышей).

GalXC- APOC3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	98,5	72,7	130,1	93,0	105,8	100,0	9,3
1	123,9	61,4	118,7	114,8	81,3	100,0	12,2
6	58,5	78,2	76,4	41,6	26,0	56,1	10,0
14	74,8	161,2	100,1	75,8	139,9	110,4	17,4

15	82,7	67,4	67,5	62,5	51,6	66,3	5,0
16	118,0	77,4	85,2	178,4	117,2	115,3	17,8
18	90,7	51,3	87,6	93,6	97,8	84,2	8,4
19	52,9	34,0	72,8	68,2	75,5	60,7	7,7
21	119,6	93,2	110,5	57,4	80,2	92,2	11,0
25	141,0	68,7	69,6	66,6	85,0	86,2	14,1
40	65,9	55,4	53,1	128,7	80,5	76,7	13,9
41	57,4	173,7	41,8	61,5	44,8	75,9	24,7
43	87,9	39,4	81,4	54,0	81,5	68,8	9,4
46	45,5	43,8	32,2	35,4	65,8	44,6	5,9
47	35,5	58,5	24,4	34,5	19,4	34,5	6,7
52	132,4	61,3	124,5	57,0	122,5	99,6	16,6

[00244] Таблица 10: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 1 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	89,5	82,7	158,9	72,2	96,6	100,0	15,3
2	126,1	88,2	--	95,6	77,0	96,7	10,5
3	84,6	87,3	56,7	93,8	68,0	77,4	6,6
4	107,0	--	108,8	81,3	79,4	94,1	8,0
5	71,5	102,7	95,2	97,7	531	84,0	9,4
7	75,5	69,9	128,7	82,1	127,5	96,7	13,0
8	87,4	106,1	125,3	119,2	110,4	109,7	6,5
9	63,8	65,2	58,4	54,2	55,1	59,3	2,2
10	81,5	151,4	65,0	60,3	94,3	90,5	16,4
11	88,7	106,3	80,4	88,4	91,1	91,0	4,2
12	96,4	78,0	99,4	69,8	82,6	85,3	5,6
15	33,4	25,8	45,8	52,9	50,5	41,7	5,2
26	52,0	87,1	62,9	53,1	47,8	60,6	7,1
27	84,8	76,5	80,2	45,4	78,8	73,1	7,1
28	82,3	111,2	74,2	80,7	64,8	82,6	7,8
29	64,4	62,5	94,5	63,4	70,2	71,0	6,0

[00245] Таблица 11: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов

GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 1 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	89,5	82,7	158,9	72,2	96,6	100,0	15,3
15	64,4	62,5	94,5	63,4	70,2	71,0	6,0
15	33,4	25,8	45,8	52,9	50,5	41,7	5,2
30	126,1	88,2	--	95,6	77,0	96,7	10,5
31	84,6	83,7	56,7	93,8	68,0	77,4	6,6
32	107,0	--	108,8	81,3	79,4	94,1	8,0
33	71,5	102,7	95,2	97,7	53,1	84,0	9,4
34	75,5	69,9	128,7	82,1	127,5	96,7	13,0
35	87,4	106,1	125,3	119,2	110,4	109,7	6,5
36	63,8	65,2	58,4	54,2	55,1	59,3	2,2
37	81,5	151,4	65,0	60,3	94,3	90,5	16,4
38	88,7	106,3	80,4	88,4	91,1	91,0	4,2
39	96,4	78,0	99,4	69,8	82,6	85,3	5,6
48	52,0	87,1	62,9	53,1	47,8	60,6	7,1
49	84,8	76,5	80,2	45,4	78,8	73,1	7,1
50	82,3	111,2	74,2	80,7	64,8	82,6	7,8
50	87,5	86,6	66,8	74,0	50,0	73,0	6,9

[00246] Таблица 12: 30-дневная активность *in vivo* двойных общих олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 у мышей (однократная доза GalXC, 1 мг/кг, сбор через 96 часов; HDI плазмиды hАРОС3 у мышей).

GalXC- АРОС3	Животное						
	1	2	3	4	5	Среднее	SEM
PBS	136,0	97,0	136,9	86,2	73,6	105,9	13,0
PBS1	75,0	132,9	111,63	76,5	--	99,0	14,1
PBS2	62,8	67,4	113,4	172,8	57,9	94,9	21,9
6	84,2	96,1	52,3	63,8	82,2	73,7	6,7
9	60,0	92,3	3,6	78,4	108,7	84,6	8,0
15	35,7	62,0	80,1	71,4	48,6	59,6	7,9
19	59,5	39,9	376	66,5	43,2	49,3	5,8
26	81,3	71,7	93,0	48,5	53,0	69,5	8,4

40	86,0	62,7	36,9	85,9	74,3	69,2	9,1
41	41,1	37,1	34,0	34,5	48,8	39,1	2,7
43	62,3	87,7	89,8	82,5	83,3	81,1	4,9
46	46,7	49,7	35,0	32,2	34,9	39,7	3,5
47	34,3	52,6	71,7	24,9	38,9	44,5	8,1
49	60,5	43,2	32,1	87,5	48,9	54,4	9,5
50	62,8	67,4	113,4	172,8	57,9	94,9	21,9

[00247] На основании этих результатов отбирают 8 олигонуклеотидов GalXC-APOC3 для оценки их способности ингибировать экспрессию APOC3 в NHP, 6 из которых выбраны как двойные общие и 2 из которых уникальны только для человека. Олигонуклеотиды GalXC-APOC3 содержат химически модифицированные нуклеотиды профиля, показанного на Фиг. 1, особенно Фиг. 1С.

[00248] *Исследования на NHP:* Восемь олигонуклеотидов GalXC-APOC3, выбранных в ходе исследований на мышах, описанных выше, оценивали на яванских обезьянах (*Macaca fascicularis*) при введении однократной дозы (6 мг/кг) в течение 84-дневного исследования. В данном исследовании NHP группировали таким образом, чтобы их средняя масса тела (около 5,4 кг) была сопоставима между контрольной и экспериментальной группами. В каждой когорте было по 5 индивидуумов (2 самца и 3 самки). Олигонуклеотиды GalXC-APOC3 вводили подкожно в День исследования 0. Образцы крови собирали в 2 момента времени перед введением дозы (*m.e.* в Дни -21 и 0), а затем еженедельно после введения дозы для анализа панели ферментов печени и липидного профиля. Биоптаты, полученные в результате толстоигольной биопсии печени под ультразвуковым контролем, собирали в Дни исследования -21, 28, 56 и 83. В каждом моменте времени общую РНК, полученную из образцов биоптата печени, подвергали анализу методом qRT-PCR для измерения мРНК APOC3 у обезьян, получавших олигонуклеотид, по сравнению с обезьянами, получавшими сопоставимый объем PBS. Для нормализации данных, измерения проводили относительно среднего геометрического двух эталонных генов, PPIB и 18S rРНК. Как показано в Таблице 13, введение обезьянам NHP олигонуклеотидов GalXC-APOC3 ингибирует экспрессию APOC3 в печени, что определяется снижением количества мРНК APOC3 в образцах печени от NHP, получавших олигонуклеотиды, по сравнению с NHP, получавшими PBS. Во всех оцениваемых моментах времени олигонуклеотиды GalXC-APOC3 ингибируют экспрессию APOC3 в большей степени, чем эталонный PBS и контрольные образцы, сопоставимые по времени. Из того же исследования на NHP, ингибирование экспрессии APOC3 также определяли путем измерения белка APOC3 в сыворотке, приготовленной из образцов крови, взятых перед введением и еженедельно, с помощью ELISA. Взятые вместе, эти

результаты демонстрируют, что введение в организм ННР олигонуклеотидов GalXC-АРОС3 снижает количество мРНК АРОС3 в печени и одновременно снижает количество белка АРОС3 в сыворотке.

[00249] Таблица 13: Нокдаун мРНК АРОС3 выбранными олигонуклеотидами GalXC-АРОС3 в организмах ННР в День 83 по сравнению с периодом до введения.

		Неделя	Животное						Средн.	SEM
			1	2	3	4	5	6		
GalXC-АРОС3	PBS	-3	88,8	170,9	92,7	57,8	73,8	115,9	100	16,3
		4	75,1	93,0	104,5	43,1	67,2	126	84,8	12
		8	92,2	82,7	84,2	67,5	87,5	169,9	97,3	14,9
		12	--	61,9	62,0	57,8	74,1	129,4	77	13,4
	15	-3	104,6	103,4	135,6	--	56,4	--	100	16,3
		4	16,7	25,9	16,1	--	15,8	--	18,6	2,4
		8	28,2	31,3	37,3	--	11,9	--	27,2	5,4
		12	30,6	36,0	47,4	--	11,8	--	31,5	7,4
	18	-3	89,2	69,9	106,5	104,6	129,7	--	100	9,9
		4	24,2	28,6	27,6	35,4	37,6	--	30,7	2,5
		8	21,3	35,2	36,3	22,8	33,7	--	29,9	3,2
		12	26,4	50,3	47,4	29,7	59,4	--	42,7	6,3
	19	-3	87,0	79,2	73,3	108,9	151,6	--	100	14,2
		4	83,5	45,5	45,9	46,5	71	--	58,5	7,9
		8	48,1	55,9	34,4	36,7	70,4	--	49,1	6,6
		12	--	--	--	--	--	--	--	--
	40	-3	77,2	93,0	109,5	104,4	116	--	100	6,8
		4	36,4	50,8	40,2	51,3	25,6	--	40,9	4,8
		8	35,0	38,7	36,4	37,5	26,8	--	34,9	2,1
		12	33,3	13,2	54,0	59,5	42,7	--	40,6	8,2
	41	-3	77,5	128,5	127,9	101,8	64,3	--	100	13
		4	31,6	22,9	29,1	30,7	20,3	--	26,9	2,2
		8	30,2	26,3	34,8	37,9	39,6	--	33,8	2,5
		12	23,2	35,3	36,6	42,9	45,5	--	36,7	3,9
	46	-3	69,3	93,3	99,5	119,4	118,5	--	100	9,2
		4	13,0	21,2	14,5	28,6	35,7	--	22,6	4,3
		8	22,0	58,4	29,2	17,1	98,4	--	45,0	15,2
		12	48,5	51,9	38,1	49,7	112,9	--	60,2	13,4
	47	-3	131,3	73,4	133,9	88,5	72,9	--	100,0	13,6
		4	29,2	18,1	4,9	10,3	19,8	--	16,5	4,2
		8	44,8	29,1	8,1	15,2	36	--	26,7	6,7



		12	96,1	17,7	36,7	25,5	82,7	--	51,7	15,8
	49	-3	139,7	85,0	69,1	91,8	114,4	--	100,0	12,3
		4	55,1	73,4	40,0	33,6	57,5	--	51,9	7
		8	51,6	51,4	30,2	52,0	59,0	--	48,8	4,9
		12	--	--	--	--	--	--	--	--

[00250] В дополнение к вышеописанному, секвенирование РНК биоптатов печени на День 28 показывает, что GalXC-APOC3-47 является наиболее эффективным тестируемым препаратом для нокдауна мРНК АРОС3 (23,4% оставшейся мРНК), за которым следует GalXC-APOC3-46 (27,3% оставшейся мРНК), GalXC-15 (В, 34,4% оставшейся мРНК), GalXC-41 (38,4% оставшейся мРНК) и GalXC-18 (43,0% оставшейся мРНК). Как показано в Таблице 14, GalXC-APOC3-15, GalXC-APOC3-18, GalXC-APOC3-46 и GalXC-APOC3-47 демонстрируют лишь небольшие общие изменения в транскриптом печени; тогда как GalXC-APOC3-41 демонстрирует изменения в экспрессии большего количества генов. В этом исследовании секвенирования РНК не выявлено никаких нецелевых эффектов, основанных на гибридизации GalXC с мРНК, за исключением АРОС3-41.

[00251] Таблица 14: Процент мРНК АРОС3, оставшейся на День 28, и количество дифференциально экспрессируемых генов (по сравнению с PBS, сопоставимым по времени)

GalXC-APOC3	АРОС3 (% оставшейся)	Гены с более высокой экспрессией	Гены с более низкой экспрессией
15	34,4	1	18
18	43	0	1
19	100,5	1	1
40	64,4	1	1
41	38,4	221	234
46	27,3	17	6
47	23,4	10	9
49	107,8	1	1

[00252] В совокупности эти результаты демонстрируют, что олигонуклеотиды GalXC-APOC3, предназначенные для нацеливания на мРНК АРОС3 человека, ингибируют экспрессию АРОС3 *in vivo* (о чем свидетельствует снижение количества мРНК АРОС3 и белка АРОС3 у получивших лечение животных).

## ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ

[00253] Следующие последовательности нуклеиновой кислоты и/или аминокислотные последовательности упоминаются в описании и представлены ниже для справки.

[00254] SEQ ID NO:1 – человеческий АРОС3 дикого типа (535 п. о.; база данных NCBI Ref. Seq. No.: NM\_000040.3)

```
ctgctcagttcatccctagaggcagctgctccaggaacagaggtgccatgcagccccgggtactcctgtgtgtgcctcctggcgtcctg
gcctctgcccagcttcagaggccgaggatgcctcccttctcagcttcatgcagggtacatgaagcacgccaccaagaccgccaaggat
gcactgagcagcgtgcaggagtcccaggtggcccagcaggccaggggctgggtgaccgatggcttcagttccctgaaagactactgga
gcaccgtaaggacaagttctctgagttctgggatttgaccctgaggtcagaccaactcagccgtggctgctgagacctcaatacccca
agtccacctgcctatccatcctgcgagctcctgggtcctgcaatctccagggtgccctgtaggtgctaaaaggacagtattctcagtg
ctctctacccacctcatgctggccccctccaggcatgctggcctcccaataaagctggacaagaagctgctatga
```

[00255] SEQ ID NO:2 – человеческий АРОС3 дикого типа (99 АК; база данных NCBI Ref. Номер последовательности NP\_079501.2)

```
MQPRVLLVALLALLASARASEAEDASLLSFMQGYMKHATKTAKDALSSVQESQVAQ
QARGWVTDGFSSLKDYWSTVKDKFSEFWDLDPVRPTSAVAA
```

[00256] SEQ ID NO:3 – АРОС3 мыши (631 п.о.; база данных NCBI Ref. Seq. No.: NM\_001289755.1)

```
gcctgctcagtttatccctagaagcagctagctactccaggaatgccctggggaggagaggaaggaaggaagaacaagagctg
gagggagaagctctcaccaccagccatctagcccacagaaggctgggactcatggtacgtaggtgccatgcagccccggacgctcct
cactgtggcctcttggtctctctggcatctgcccagctgaagaggtagagggatcctgtgctgggctctgtacagggctacatggaac
aagcctccaagacgggtccaggatgcgctaagtagcgtgcaggagtccgatatagctgtggtggccaggggctggatggacaatcactca
gatcctgaaaggctactggagcaagttactgacaagttaccggcttctggattctaaccctgaggaccaaccaactccagctattgagt
cgtgagacttctgtgttcagatgtgctgttctccatcctgctgccccctccaggcctgccaggtggccccctgaaggttcttaagggg
aaagtatgttctcatgtctcaccctccctagatctcacctaaacatgctgtccctaataaagctggataagaagctgctgtta
```

[00257] SEQ ID NO:4 – АРОС3 мыши (99 АК; база данных NCBI Ref. Seq. No.: NP\_001276684.1)

```
MQPRVLLVALLALLASARAEVEGSLLLGSVQGYMEQASKTVQDALSSVQESDIAVV
ARGWMDNHFRSLKGYWSKFTDKFTGFWDSPEDQPTPAIES
```

[00258] SEQ ID NO:5 – АРОС3 крысы (579 п.о.; база данных NCBI Ref. Seq. No. NM\_001271053)

```
atgccctggggaggagaggaagggaggaggagacagagagaagacgctctggcactcagccagctagcctacagaatgcttgg
```

attcatggcctccacccttgggttctggtgcacaggtgccatgcagccccgaatgctcctcatctggcctcctggtctctctggcctctg  
cccgagctgatgagggagagggatccttctgctgctgggctctatgcagggctacatggaacaagcctccaagacgggtccaggatgactaa  
gcagcatgcaggagtctgatatagctgtggtggccaggggctggatggacaatcgttcaaatccctgaaaggctactggagcaagttcac  
tgataagttcactggcctctgggagctggccctgaggaccaactaacaaccaactcttgagccgtgagacctccatgtccagatgtgctc  
tggccatctatctgctgctccgaaggttgcctaaaggggaaagtatattctcatgcctttatccctccccagacctcacctaaacatgctgctc  
cctaataaagctggacacgaagctgccatg

[00259] SEQ ID NO:6 – АРОС3 крысы (100 АК; база данных NCBI Ref. Seq. No.: NP\_001257982.1)

MQPRMLLIVALVALLASARADEGEGSLLLGSMMQGYMEQASKTVQDALSSMQESDIAVV  
ARGWMDNRFKSLKGYWSKFTDKFTGLWESGPEDQLTTPTLEP

[00260] SEQ ID NO:7 – АРОС3 примата (567 п. о.; база данных NCBI Ref. Seq. No.: XM\_005579730.1)

aatataaacaggtcagaaccctcctgctgctgctgtctgttcacccctagaggcagctgctccaggaacagaggcgccatgcagccccgg  
gtactccttgttgcctgctgtcactcctggcctctgccagagctcagaggccgaggacacctccttcttggcttcatgcagggtaca  
tgacagcatgccaccaagaccgccaaggatgactgaccagcgtccaggagtcccagggtggcccagcaggccagaggctgggtgaccg  
atggcttcagttccctgaaagactactggagcaccgttaaggacaagttatctgggttctgggattgaaccctgaggccaaaccactctgg  
ctgaggctgctgagacctcaataccccaagtcacctgctgctcatcctgccagctccttgggtcctgcagcctccagggtgcccctgt  
aggttgcttaaaaggacagtattctcagtgccctcctaccgcacctcatgcttggccccctccaggcagggtgtctcccaataaagctg  
gacaagaagctgctatga

[00261] SEQ ID NO:8 – АРОС3 примата (99 АК; база данных NCBI Ref. Seq. No.: XP\_005579787.1)

MQPRVLLVAALLSLLASARASEAEDTSLLGFMQGYMQHATKTAKDALTSVQESQVAQ  
QARGWVTDGFSSLKDYWSTVKDKLSGFWDLNPEAKPTLAEAA

[00262] SEQ ID NO: 9-170: Олигонуклеотиды GalXC-АРОС3 (немодифицированные)

GalXC- АРОС3	Смысловая цепь (сопровождающая, 36- мерная)	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (направляющая, 22-мерная)	SEQ ID NO:
1	CUAGAGGCAGCUGC UCCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	9	UCUGGAGCAGCUGCCU CUAGGG	10
2	GGUACUCCUUGUUG	11	UGGCAACAACAAGGAG	12

	UUGCCAGCAGCCGA AAGGCUGC		UACCGG	
3	GAGGCCGAGGAUGC CUCCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	13	UGGGAGGCAUCCUCGG CCUCGG	14
4	CCUUCUCAGCUUCA UGCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	15	UCUGCAUGAAGCUGAG AAGGGG	16
5	CUUCUCAGCUUCAU GCAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	17	UCCUGCAUGAAGCUGA GAAGGG	18
6	CUCAGCUUCAUGCA GGGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	19	UAACCCUGCAUGAAGC UGAGGG	20
7	AUGCACUGAGCAGC GUGCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	21	UUGCACGCUGCUCAGU GCAUGG	22
8	UGCACUGAGCAGCG UGCAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	23	UCUGCACGCUGCUCAG UGCAGG	24
9	CUGAGCAGCGUGCA GGAGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	25	UACUCCUGCACGCUGC UCAGGG	26
10	AGCAGCGUGCAGGA GUCCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	27	UGGGACUCCUGCACGC UGCUGG	28
11	UGCAGGAGUCCCAG GUGGCAGCAGCCGA AAGGCUGC	29	UGCCACCUGGGACUCC UGCAGG	30
12	GGGGCUGGGUGACC GAUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	31	UCCAUCGGUCACCCAGC CCCGG	32
13	GGCUUCAGUUCCCU GAAAGAGCAGCCGA	33	UCUUUCAGGGAACUGA AGCCGG	34

	AAGGCUGC			
14	CUUCAGUUCCUGA AAGACAGCAGCCGA AAGGCUGC	35	UGUCUUUCAGGGAACU GAAGGG	36
15	UUCAGUUCCUGAA AGACUAGCAGCCGA AAGGCUGC	37	UAGUCUUUCAGGGAAC UGAAGG	38
16	AGACUACUGGAGCA CCGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	39	UAACGGUGCUCAGUA GUCUGG	40
17	UACUGGAGCACCGU UAAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	41	UCCUUAACGGUGCUC AGUAGG	42
18	UGGAGCACCGUAA GGACAAGCAGCCGA AAGGCUGC	43	UUGUCCUUAACGGUGC UCCAGG	44
19	ACCGUUAAGGACAA GUUCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	45	UAGAACUUGUCCUAA CGGUGG	46
20	CCGUUAAGGACAAG UUCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	47	UGAGAACUUGUCCUUA ACGGGG	48
21	CGUUAAGGACAAGU UCUCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	49	UAGAGAACUUGUCCU AACGGG	50
22	GUUAAGGACAAGU UCUCUGAGCAGCCG AAAGGCUGC	51	UCAGAGAACUUGUCCU UAACGG	52
23	AGGACAAGUUCUCU GAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	53	UAACUCAGAGAACUUG UCCUGG	54
24	AGGACAAGUUCUCU GAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	55	UAACUCAGAGAACUUG UCCUGG	56

25	UGCCUGAGACCUCA AUACCAGCAGCCGA AAGGCUGC	57	UGGUAUUGAGGUCUCA GGCAGG	58
26	CCCCAAGUCCACCU GCCUAAGCAGCCGA AAGGCUGC	59	UUAGGCAGGUGGACUU GGGGGG	60
27	CCAAGUCCACCUG CCUAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	61	UAUAGGCAGGUGGACU UGGGGG	62
28	CAAGUCCACCUGCC UAUCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	63	UGGAUAGGCAGGUGGA CUUGGG	64
29	AAGUCCACCUGCCU AUCCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	65	UUGGAUAGGCAGGUGG ACUUGG	66
30	AGUCCACCUGCCUA UCCAUAAGCAGCCGA AAGGCUGC	67	UAUGGAUAGGCAGGUG GACUGG	68
31	GUCCACCUGCCUAU CCAUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	69	UGAUGGAUAGGCAGGU GGACGG	70
32	UCCACCUGCCUAUC CAUCCAGCAGCCGA AAGGCUGC	71	UGGAUGGAUAGGCAGG UGGAGG	72
33	CCACCUGCCUAUCC AUCCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	73	UAGGAUGGAUAGGCAG GUGGGG	74
34	CACCUGCCUAUCCA UCCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	75	UCAGGAUGGAUAGGCA GGUGGG	76
35	CCUGCCUAUCCAUC CUGCGAGCAGCCGA AAGGCUGC	77	UCGCAGGAUGGAUAGG CAGGGG	78
36	UCCAUCCUGCGAGC	79	UAAGGAGCUCGCAGGA	80

	UCCUAGCAGCCGA AAGGCUGC		UGGAGG	
37	CAUCCUGCGAGCUC CUUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	81	UCCAAGGAGCUCGCAG GAUGGG	82
38	AUCCUGCGAGCUCC UUGGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	83	UCCAAGGAGCUCGCA GGAUGG	84
39	UCCUGCGAGCUCCU UGGGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	85	UACCCAAGGAGCUCGC AGGAGG	86
40	GCUGCCCCUGUAGG UUGCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	87	UAGCAACCUACAGGGG CAGCGG	88
41	GUAGGUUGC UUA AAGGGAAGCAGCCG AAAGGCUGC	89	UCCCCUUUAAGCAAC CUACGG	90
42	UAGGUUGC UAAA AGGGACAGCAGCCG AAAGGCUGC	91	UGUCCCUUUAAGCAA CCUAGG	92
43	UUGCUUAAAAGGG ACAGUAAGCAGCCG AAAGGCUGC	93	UUACUGUCCCUUUA GCAAGG	94
44	UGC UAAAAGGGAC AGUAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	95	UAUACUGUCCCUUUA AGCAGG	96
45	GCUUAAAAGGGACA GUAUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	97	UAAUACUGUCCCUUU AAGCGG	98
46	CUUAAAAGGGACAG UAUUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	99	UGAAUACUGUCCCUUU UAAGGG	100
47	AAAAGGGACAGUA UUCUCAAGCAGCCG	101	UUGAGAAUACUGUCCC UUUUGG	102

	AAAGGCUGC			
48	GGACAGUAUUCUCA GUGCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	103	UAGCACUGAGAAUACU GUCCGG	104
49	GACAGUAUUCUCAG UGCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	105	UGAGCACUGAGAAUAC UGUCGG	106
50	CAGUAUUCUCAGUG CUCUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	107	UGAGAGCACUGAGAAU ACUGGG	108
51	UAAAGCUGGACAAG AAGCUAGCAGCCGA AAGGCUGC	109	UAGCUUCUUGUCCAGC UUUAGG	110
52	AAAGCUGGACAAGA AGCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	111	UCAGCUUCUUGUCCAG CUUUGG	112
53	CUGUCCCUAAUAAA GCUGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	113	UCCAGCUUUAUUAGGG ACAGGG	114
54	AGCUUCAUGCAGGG UUACAAGCAGCCGA AAGGCUGC	115	UUGUAACCCUGCAUGA AGCUGG	116
55	CUGGAGCACCGUUA AGGACAGCAGCCGA AAGGCUGC	117	UGUCCUUAACGGUGCU CCAGGG	118
56	GCACCGUUAAGGAC AAGUUAGCAGCCGA AAGGCUGC	119	UAACUUGUCCUUAACG GUGCGG	120
57	UGUAGGUUGCUUA AAAGGGAGCAGCCG AAAGGCUGC	121	UCCCUUUUAAGCAACC UACAGG	122
58	GUUGCUUAAAAGG GACAGUAGCAGCCG AAAGGCUGC	123	UACUGUCCCUUUUAAG CAACGG	124



59	GAGCACCGUUAAGG ACAAGAGCAGCCGA AAGGCUGC	125	UCUUGUCCUUAACGGU GCUCGG	126
60	AGCACCGUUAAGGA CAAGUAGCAGCCGA AAGGCUGC	127	UACUUGUCCUUAACGG UGCUGG	128
61	CUGUAGGUUGCUUA AAAGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	129	UCCUUUUAAGCAACCU ACAGGG	130
62	AGGUUGCUUAAAA GGGACAAGCAGCCG AAAGGCUGC	131	UUGUCCCUUUUAAGCA ACCUGG	132
63	GGUUGCUUAAAAG GGACAGAGCAGCCG AAAGGCUGC	133	UCUGUCCCUUUUAAGC AACCGG	134
64	CCAAUAAAGCUGGA CAAGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	135	UUCUUGUCCAGCUUUA UUGGGG	136
65	AUGGCUUCAGUUC CUGAAAGCAGCCGA AAGGCUGC	137	UUUCAGGGAACUGAAG CCAUGG	138
66	GCUUCAGUUCCCUG AAAGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	139	UUCUUUCAGGGAACUG AAGCGG	140
67	CAGUUCCCUGAAAG ACUACAGCAGCCGA AAGGCUGC	141	UGUAGUCUUUCAGGGA ACUGGG	142
68	AGUUCCCUGAAAGA CUACUAGCAGCCGA AAGGCUGC	143	UAGUAGUCUUUCAGGG AACUGG	144
69	CCUGAAAGACUACU GGAGCAGCAGCCGA AAGGCUGC	145	UGCUCAGUAGUCUUU CAGGGG	146
70	GAAAGACUACUGGA	147	UGGUGCUCAGUAGUC	148

	GCACCAGCAGCCGA AAGGCUGC		UUUCGG	
71	GACUACUGGAGCAC CGUUAAGCAGCCGA AAGGCUGC	149	UUAACGGUGCUCCAGU AGUCGG	150
72	ACUGGAGCACCGUU AAGGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	151	UUCUUAACGGUGCUC CAGUGG	152
73	GGAGCACCGUUAAG GACAAAGCAGCCGA AAGGCUGC	153	UUUGUCCUUAACGGUG CUCCGG	154
74	GCUUCAUGCAGGGU UACAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	155	UAUGUAACCCUGCAUG AAGCGG	156
75	CACCGUUAAGGACA AGUUCAGCAGCCGA AAGGCUGC	157	UGAACUUGUCCUUAAC GGUGGG	158
76	ACAAGUUCUCUGAG UUCUGAGCAGCCGA AAGGCUGC	159	UCAGAACUCAGAGAAC UUGUGG	160
77	AAGUUCUCUGAGUU CUGGGAGCAGCCGA AAGGCUGC	161	UCCCAGAACUCAGAGA ACUUGG	162
78	AGUUCUCUGAGUUC UGGGAAGCAGCCGA AAGGCUGC	163	UCCCAGAACUCAGAG AACUGG	164
79	GUUCUCUGAGUUCU GGGAUAGCAGCCGA AAGGCUGC	165	UAUCCCAGAACUCAGA GAACGG	166
80	GGACCCUGAGGUCA GACCAAGCAGCCGA AAGGCUGC	167	UUGGUCUGACCUCAGG GUCCGG	168
81	GUAUUCUCAGUGCU CUCCUAGCAGCCGA	169	UAGGAGAGCACUGAGA AUACGG	170

	AAGGCUGC			
--	----------	--	--	--

[00263] SEQ ID NO: 171-332: Олигонуклеотиды GalXC-АРОС3 (модифицированные)

GalXC- АРОС3	Смысловая цепь (сопровождающая, 36- мерная)	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (направляющая, 22-мерная)	SEQ ID NO:
1	[mCs][mU][mA][mG][ mA][mG][mG][fC][fA][ fG][fC][mU][mG][mC][ mU][mC][mC][mA][m G][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	171	[MePhosphonate-4O- mUs][fCs][fUs][fG][fG][mA ][fG][mC][mA][fG][mC][m U][mG][fC][mC][mU][mC][ mU][mA][mGs][mGs][mG]	172
2	[mGs][mG][mU][mA][ mC][mU][mC][fC][fU][ fU][fG][mU][mU][mG][ mU][mU][mG][mC][m C][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	173	[MePhosphonate-4O- mUs][fGs][fGs][fC][fA][mA ][fC][mA][mA][fC][mA][m A][mG][fG][mA][mG][mU][ mA][mC][mCs][mGs][mG]	174
3	[mGs][mA][mG][mG][ mC][mC][mG][fA][fG][ fG][fA][mU][mG][mC][ mC][mU][mC][mC][mC ][mA][mG][mC][mA][ mG][mC][mC][mG][ade mA-GalNAc][ademA- GalNAc][ademA-	175	[MePhosphonate-4O- mUs][fGs][fGs][fC][fA][mA ][fC][mA][mA][fC][mA][m A][mG][fG][mA][mG][mU][ mA][mC][mCs][mGs][mG]	176

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
4	[mCs][mC][mU][mU][mC][mU][mC][fA][fG][fC][fU][mU][mC][mA][mU][mG][mC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	177	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fG][fC][mA][fU][mG][mA][fA][mG][mC][mU][fG][mA][mG][mA][mA][mG][mGs][mGs][mG]	178
5	[mCs][mU][mU][mC][mU][mC][mA][fG][fC][fU][fU][mC][mA][mU][mG][mC][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	179	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fU][fG][mC][fA][mU][mG][fA][mA][mG][mC][fU][mG][mA][mG][mA][mA][mGs][mGs][mG]	180
6	[mCs][mU][mC][mA][mG][mC][mU][fU][fC][fA][fU][mG][mC][mA][mG][mG][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	181	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fC][mC][fU][mG][mC][fA][mU][mG][mA][fA][mG][mC][mU][mG][mA][mGs][mGs][mG]	182
7	[mAs][mU][mG][mC][mA][mC][mU][fG][fA][fG][fC][mA][mG][mC][	183	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fC][fA][mC][fG][mC][mU][fG][mC][m	184

	mG][mU][mG][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		U][mC][fA][mG][mU][mG][mC][mA][mUs][mGs][mG]	
8	[mUs][mG][mC][mA][mC][mU][mG][fA][fG][fC][fA][mG][mC][mG][mU][mG][mC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	185	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fG][fC][mA][fC][mG][mC][fU][mG][mC][mU][fC][mA][mG][mU][mG][mC][mAs][mGs][mG]	186
9	[mCs][mU][mG][mA][mG][mC][mA][fG][fC][fG][fU][mG][mC][mA][mG][mG][mA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	187	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][fU][fC][mC][fU][mG][mC][fA][mC][mG][mC][fU][mG][mC][mU][mC][mA][mGs][mGs][mG]	188
10	[mAs][mG][mC][mA][mG][mC][mG][fU][fG][fC][fA][mG][mG][mA][mG][mU][mC][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	189	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fG][fA][mC][fU][mC][mC][fU][mG][mC][mA][fC][mG][mC][mU][mG][mC][mUs][mGs][mG]	190

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
11	[mUs][mG][mC][mA][mG][mG][mA][fG][fU][fC][fC][mC][mA][mG][mG][mU][mG][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	191	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fCs][fC][fA][mC][fC][mU][mG][fG][mG][mA][mC][fU][mC][mC][mU][mG][mC][mAs][mGs][mG]	192
12	[mGs][mG][mG][mG][mC][mU][mG][fG][fG][fU][fG][mA][mC][mC][mG][mA][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	193	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fA][fU][mC][fG][mG][mU][fC][mA][mC][mC][fC][mA][mG][mC][mC][mC][mCs][mGs][mG]	194
13	[mGs][mG][mC][mU][mU][mC][mA][fG][fU][fU][fC][mC][mC][mU][mG][mA][mA][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	195	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][fU][fU][mC][fA][mG][mG][fG][mA][mA][mC][fU][mG][mA][mA][mG][mC][mCs][mGs][mG]	196
14	[mCs][mU][mU][mC][mA][mG][mU][fU][fC][fC][fC][mU][mG][mA][	197	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][fC][fU][mU][fU][mC][mA][fG][mG][m	198

	mA][mA][mG][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		G][mA][fA][mC][mU][mG][mA][mA][mGs][mGs][mG]	
15	[mUs][mU][mC][mA][mG][mU][mU][fC][fC][fC][fU][mG][mA][mA][mA][mG][mA][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	199	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fU][fC][mU][fU][mU][mC][fA][mG][mG][mG][fA][mA][mC][mU][mG][mA][mAs][mGs][mG]	200
16	[mAs][mG][mA][mC][mU][mA][mC][fU][fG][fG][fA][mG][mC][mA][mC][mC][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	201	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fG][mG][fU][mG][mC][fU][mC][mC][mA][fG][mU][mA][mG][mU][mC][mUs][mGs][mG]	202
17	[mUs][mA][mC][mU][mG][mG][mA][fG][fC][fA][fC][mC][mG][mU][mU][mA][mA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-	203	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fU][fU][mA][fA][mC][mG][fG][mU][mG][mC][fU][mC][mC][mA][mG][mU][mAs][mGs][mG]	204

	GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
18	[mUs][mG][mG][mA][mG][mC][mA][fC][fC][fG][fU][mU][mA][mA][mG][mG][mA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	205	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fU][fC][mC][fU][mU][mA][fA][mC][mG][mG][fU][mG][mC][mU][mC][mC][mAs][mGs][mG]	206
19	[mAs][mC][mC][mG][mU][mU][mA][fA][fG][fG][fA][mC][mA][mA][mG][mU][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	207	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fA][mC][fU][mU][mG][fU][mC][mC][mU][fU][mA][mA][mC][mG][mG][mUs][mGs][mG]	208
20	[mCs][mC][mG][mU][mU][mA][mA][fG][fG][fA][fC][mA][mA][mG][mU][mU][mC][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	209	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fA][mA][fC][mU][mU][fG][mU][mC][mC][fU][mU][mA][mA][mC][mG][mGs][mGs][mG]	210
21	[mCs][mG][mU][mU][mA][mA][mG][fG][fA][fC][fA][mA][mG][mU][	211	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fA][fG][mA][fA][mC][mU][fU][mG][m	212



	mU][mC][mU][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		U][mC][fC][mU][mU][mA][mA][mC][mGs][mGs][mG]	
22	[mGs][mU][mU][mA][mA][mG][mG][fA][fC][fA][fA][mG][mU][mU][mC][mU][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	213	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fA][mG][fA][mA][mC][fU][mU][mG][mU][fC][mC][mU][mU][mA][mA][mCs][mGs][mG]	214
23	[mAs][mG][mG][mA][mC][mA][mA][fG][fU][fU][fC][mU][mC][mU][mG][mA][mG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	215	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fC][fU][mC][fA][mG][mA][fG][mA][mA][mC][fU][mU][mG][mU][mC][mC][mUs][mGs][mG]	216
24	[mAs][mG][fG][mA][mC][mA][mA][fG][fU][fU][mC][fU][fC][mU][mG][mA][fG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-	217	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][mC][fU][mC][fA][fG][mA][fG][mA][fA][mC][fU][mU][fG][mU][mC][fC][mUs][mGs][mG]	218

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
25	[mUs][mG][mC][mC][mU][mG][mA][fG][fA][fC][fC][mU][mC][mA][mA][mU][mA][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	219	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fU][fA][mU][fU][mG][mA][fG][mG][mU][mC][fU][mC][mA][mG][mG][mC][mAs][mGs][mG]	220
26	[mCs][mC][mC][mC][mA][mA][mG][fU][fC][fC][fA][mC][mC][mU][mG][mC][mC][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	221	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fAs][fG][fG][mC][fA][mG][mG][fU][mG][mG][mA][fC][mU][mU][mG][mG][mG][mGs][mGs][mG]	222
27	[mCs][mC][mC][mA][mA][mG][mU][fC][fC][fA][fC][mC][mU][mG][mC][mC][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	223	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][fA][fG][mG][fC][mA][mG][fG][mU][mG][mG][fA][mC][mU][mU][mG][mG][mGs][mGs][mG]	224
28	[mCs][mA][mA][mG][mU][mC][mC][fA][fC][	225	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fA][fU][mA	226

	fC][fU][mG][mC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		][fG][mG][mC][fA][mG][mG][mU][fG][mG][mA][mC][mU][mU][mGs][mGs][mG]	
29	[mAs][mA][mG][mU][mC][mC][mA][fC][fC][fU][fG][mC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	227	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fG][fA][mU][fA][mG][mG][fC][mA][mG][mG][fU][mG][mG][mA][mC][mU][mUs][mGs][mG]	228
30	[mAs][mG][mU][mC][mC][mA][mC][fC][fU][fG][fC][mC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	229	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][fG][fG][mA][fU][mA][mG][fG][mC][mA][mG][fG][mU][mG][mG][mA][mC][mUs][mGs][mG]	230
31	[mGs][mU][mC][mC][mA][mC][mC][fU][fG][fC][fC][mU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	231	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fU][fG][mG][fA][mU][mA][fG][mG][mC][mA][fG][mG][mU][mG][mG][mA][mCs][mGs][mG]	232

	GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
32	[mUs][mC][mC][mA][mC][mC][mU][fG][fC][fC][fU][mA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	233	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][fA][fU][mG][fG][mA][mU][fA][mG][mG][mC][fA][mG][mG][mU][mG][mG][mAs][mGs][mG]	234
33	[mCs][mC][mA][mC][mC][mU][mG][fC][fC][fU][fA][mU][mC][mC][mA][mU][mC][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	235	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fG][fA][mU][fG][mG][mA][fU][mA][mG][mG][fC][mA][mG][mG][mU][mG][mGs][mGs][mG]	236
34	[mCs][mA][mC][mC][mU][mG][mC][fC][fU][fA][fU][mC][mC][mA][mU][mC][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	237	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fG][mA][fU][mG][mG][fA][mU][mA][mG][fG][mC][mA][mG][mG][mU][mGs][mGs][mG]	238
35	[mCs][mC][mU][mG][mC][mC][mU][fA][fU][	239	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fGs][fC][fA][mG]	240

	fC][fC][mA][mU][mC][mC][mU][mG][mC][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		][fG][mA][mU][fG][mG][mA][mU][fA][mG][mG][mC][mA][mG][mGs][mGs][mG]	
36	[mUs][mC][mC][mA][mU][mC][mC][fU][fG][fC][fG][mA][mG][mC][mU][mC][mC][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	241	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fG][fG][mA][fG][mC][mU][fC][mG][mC][mA][fG][mG][mA][mU][mG][mG][mAs][mGs][mG]	242
37	[mCs][mA][mU][mC][mC][mU][mG][fC][fG][fA][fG][mC][mU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	243	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fA][fA][mG][fG][mA][mG][fC][mU][mC][mG][fC][mA][mG][mG][mA][mU][mGs][mGs][mG]	244
38	[mAs][mU][mC][mC][mU][mG][mC][fG][fA][fG][fC][mU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	245	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][fC][fA][mA][fG][mG][mA][fG][mC][mU][mC][fG][mC][mA][mG][mG][mA][mUs][mGs][mG]	246

	GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
39	[mUs][mC][mC][mU][mG][mC][mG][fA][fG][fC][fU][mC][mC][mU][mU][mG][mG][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	247	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][fC][fC][mA][fA][mG][mG][fA][mG][mC][mU][fC][mG][mC][mA][mG][mG][mAs][mGs][mG]	248
40	[mGs][mC][mU][mG][mC][mC][mC][fC][fU][fG][fU][mA][mG][mG][mU][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	249	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mA][fC][mC][mU][fA][mC][mA][mG][fG][mG][mG][mC][mA][mG][mCs][mGs][mG]	250
41	[mGs][mU][mA][mG][mG][mU][mU][fG][fC][fU][fU][mA][mA][mA][mA][mG][mG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	251	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][fC][fC][mU][fU][mU][mU][fA][mA][mG][mC][fA][mA][mC][mC][mU][mA][mCs][mGs][mG]	252
42	[mUs][mA][mG][mG][mU][mU][mG][fC][fU][	253	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][fC][fC][mC]	254

	fU][fA][mA][mA][mA][mG][mG][mG][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		][fU][mU][mU][fU][mA][mA][mG][fC][mA][mA][mC][mC][mU][mAs][mGs][mG]	
43	[mUs][mU][mG][mC][mU][mU][mA][fA][fA][fA][fG][mG][mG][mA][mC][mA][mG][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	255	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fAs][fC][fU][mG][fU][mC][mC][fC][mU][mU][mU][fU][mA][mA][mG][mC][mA][mAs][mGs][mG]	256
44	[mUs][mG][mC][mU][mU][mA][mA][fA][fA][fG][fG][mG][mA][mC][mA][mG][mU][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	257	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][fA][fC][mU][fG][mU][mC][fC][mC][mU][mU][fU][mU][mA][mA][mG][mC][mAs][mGs][mG]	258
45	[mGs][mC][mU][mU][mA][mA][mA][fA][fG][fG][fG][mA][mC][mA][mG][mU][mA][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	259	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][fU][fA][mC][fU][mG][mU][fC][mC][mC][mU][fU][mU][mU][mA][mA][mG][mCs][mGs][mG]	260

	GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
46	[mCs][mU][mU][mA][mA][mA][fG][fG][fG][fA][mC][mA][mG][mU][mA][mU][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	261	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fA][fU][mA][fC][mU][mG][fU][mC][mC][mC][fU][mU][mU][mU][mA][mA][mGs][mGs][mG]	262
47	[mAs][mA][mA][mA][mG][mG][mG][fA][fC][fA][fG][mU][mA][mU][mU][mC][mU][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	263	[MePhosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][fA][fG][mA][fA][mU][mA][fC][mU][mG][mU][fC][mC][mC][mU][mU][mU][mUs][mGs][mG]	264
48	[mGs][mG][mA][mC][mA][mG][mU][fA][fU][fU][fC][mU][mC][mA][mG][mU][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	265	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fA][mC][fU][mG][mA][fG][mA][mA][mU][fA][mC][mU][mG][mU][mC][mCs][mGs][mG]	266
49	[mGs][mA][mC][mA][mG][mU][mA][fU][fU][	267	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fC][mA	268



	fC][fU][mC][mA][mG][mU][mG][mC][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		][fC][mU][mG][fA][mG][mA][mA][fU][mA][mC][mU][mG][mU][mCs][mGs][mG]	
50	[mCs][mA][mG][mU][mA][mU][mU][fC][fU][fC][fA][mG][mU][mG][mC][mU][mC][mU][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	269	[MePhosphonate-4O-mUs][fGs][fAs][fG][fA][mG][fC][mA][mC][fU][mG][mA][mG][fA][mA][mU][mA][mC][mU][mGs][mGs][mG]	270
51	[mUs][mA][mA][mA][mG][mC][mU][fG][fG][fA][fC][mA][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	271	[MePhosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][fC][fU][mU][fC][mU][mU][fG][mU][mC][mC][fA][mG][mC][mU][mU][mU][mAs][mGs][mG]	272
52	[mAs][mA][mA][mG][mC][mU][mG][fG][fA][fC][fA][mA][mG][mA][mA][mG][mC][mU][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-	273	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fAs][fG][fC][mU][fU][mC][mU][fU][mG][mU][mC][fC][mA][mG][mC][mU][mU][mUs][mGs][mG]	274

	GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
53	[mCs][mU][fG][mU][fC][mC][mC][fU][fA][fA][fU][mA][fA][mA][fG][mC][fU][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][mG][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][ademA-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	275	[MePhosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mA][fG][mC][fU][mU][mU][fA][mU][fU][mA][fG][mG][fG][fA][mC][fA][mGs][mGs][mG]	276
54	[mAs][mG][fC][mU][mU][mC][mA][fU][fG][fC][mA][fG][fG][mG][mU][mU][fA][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	277	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mU][fA][mA][fC][fC][mC][fU][mG][fC][mA][fU][mG][fA][mA][mG][fC][mUs][mGs][mG]	278
55	[mCs][mU][fG][mG][mA][mG][mC][fA][fC][fC][mG][fU][fU][mA][mA][mG][fG][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	279	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][mC][fC][mU][fU][fA][mA][fC][mG][fG][mU][fG][mC][fU][mC][mC][fA][mGs][mGs][mG]	280

56	[mGs][mC][fA][mC][mC][mG][mU][fU][fA][fA][mG][fG][fA][mC][mA][mA][fG][mU][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	281	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fAs][mC][fU][mU][fG][fU][mC][fC][mU][fU][mA][fA][mC][fG][mG][mU][fG][mCs][mGs][mG]	282
57	[mUs][mG][fU][mA][mG][mG][mU][fU][fG][fC][mU][fU][fA][mA][mA][mA][fG][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	283	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mC][fU][mU][fU][fU][mA][fA][mG][fC][mA][fA][mC][fC][mU][mA][fC][mAs][mGs][mG]	284
58	[mGs][mU][fU][mG][mC][mU][mU][fA][fA][fA][mA][fG][fG][mG][mA][mC][fA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	285	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][mU][fG][mU][fC][fC][mC][fU][mU][fU][mU][fA][mA][fG][mC][mA][fA][mCs][mGs][mG]	286
59	[mGs][mA][fG][mC][fA][mC][mC][fG][fU][fU]	287	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][mU][fG][m	288

	[fA][mA][fG][mG][fA][mC][fA][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		U][fC][mC][mU][fU][mA][fA][mC][fG][mG][fU][fG][mC][fU][mCs][mGs][mG]	
60	[mAs][mG][fC][mA][fC][mC][mG][fU][fU][fA][fA][mG][fG][mA][fC][mA][fA][mG][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	289	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fCs][mU][fU][mG][fU][mC][mC][fU][mU][fA][mA][fC][mG][fG][fU][mG][fC][mUs][mGs][mG]	290
61	[mCs][mU][fG][mU][fA][mG][mG][fU][fU][fG][fC][mU][fU][mA][fA][mA][fA][mG][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	291	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fCs][mU][fU][mU][fU][mA][mA][fG][mC][fA][mA][fC][mC][fU][fA][mC][fA][mGs][mGs][mG]	292
62	[mAs][mG][fG][mU][fU][mG][mC][fU][fU][fA][fA][mA][fA][mG][fG][mG][fA][mC][mA][mA]	293	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mU][fC][mC][fC][mU][mU][fU][mU][fA][mA][fG][mC][fA][fA][m	294

	[mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		C][fC][mUs][mGs][mG]	
63	[mGs][mG][fU][mU][fG][mC][mU][fU][fA][fA][fA][mA][fG][mG][fG][mA][fC][mA][mG][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	295	[Phosphonate-4O-mUs][fCs][fUs][mG][fU][mC][fC][mC][mU][fU][mU][fU][mA][fA][mG][fC][fA][mA][fC][mCs][mGs][mG]	296
64	[mCs][mC][fA][mA][fU][mA][mA][fA][fG][fC][fU][mG][fG][mA][fC][mA][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	297	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mU][fU][mG][fU][mC][mC][fA][mG][fC][mU][fU][mU][fA][fU][mU][fG][mGs][mGs][mG]	298
65	[mAs][mU][fG][mG][fC][mU][mU][fC][fA][fG][fU][mU][fC][mC][fC][mU][fG][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-	299	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fUs][mC][fA][mG][fG][mG][mA][fA][mC][fU][mG][fA][mA][fG][fC][mC][fA][mUs][mGs][mG]	300

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
66	[mGs][mC][fU][mU][fC][mA][mG][fU][fU][fC][fC][mC][fU][mG][fA][mA][fA][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	301	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mU][fU][mU][fC][mA][mG][fG][mG][fA][mA][fC][mU][fG][fA][mA][fG][mCs][mGs][mG]	302
67	[mCs][mA][fG][mU][fU][mC][mC][fC][fU][fG][fA][mA][fA][mG][fA][mC][fU][mA][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	303	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fUs][mA][fG][mU][fC][mU][mU][fU][mC][fA][mG][fG][mG][fA][fA][mC][fU][mGs][mGs][mG]	304
68	[mAs][mG][fU][mU][fC][mC][mC][fU][fG][fA][fA][mA][fG][mA][fC][mU][fA][mC][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	305	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][mU][fA][mG][fU][mC][mU][fU][mU][fC][mA][fG][mG][fG][fA][mA][fC][mUs][mGs][mG]	306

	GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]			
69	[mCs][mC][fU][mG][fA][mA][mA][fG][fA][fC][fU][mA][fC][mU][fG][mG][fA][mG][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	307	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fCs][mU][fC][mC][fA][mG][mU][fA][mG][fU][mC][fU][mU][fU][fC][mA][fG][mGs][mGs][mG]	308
70	[mGs][mA][fA][mA][fG][mA][mC][fU][fA][fC][fU][mG][fG][mA][fG][mC][fA][mC][mC][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	309	[Phosphonate-4O-mUs][fGs][fGs][mU][fG][mC][fU][mC][mC][fA][mG][fU][mA][fG][mU][fC][fU][mU][fU][mCs][mGs][mG]	310
71	[mGs][mA][fC][mU][fA][mC][mU][fG][fG][fA][fG][mC][fA][mC][fC][mG][fU][mU][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC]	311	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fAs][mA][fC][mG][fG][mU][mG][fC][mU][fC][mC][fA][mG][fU][fA][mG][fU][mCs][mGs][mG]	312

	][mU][mG][mC]			
72	[mAs][mC][fU][mG][fG][mA][mG][fC][fA][fC][fC][mG][fU][mU][fA][mA][fG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	313	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fCs][mC][fU][mU][fA][mA][mC][fG][mG][fU][mG][fC][mU][fC][fC][mA][fG][mUs][mGs][mG]	314
73	[mGs][mG][fA][mG][fC][mA][mC][fC][fG][fU][fU][mA][fA][mG][fG][mA][fC][mA][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	315	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fUs][mG][fU][mC][fC][mU][mU][fA][mA][fC][mG][fG][mU][fG][fC][mU][fC][mCs][mGs][mG]	316
74	[mGs][mC][fU][mU][fC][mA][mU][fG][fC][fA][fG][mG][fG][mU][fU][mA][fC][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	317	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][mG][fU][mA][fA][mC][mC][fC][mU][fG][mC][fA][mU][fG][fA][mA][fG][mCs][mGs][mG]	318
75	[mCs][mA][fC][mC][fG]	319	[Phosphonate-4O-	320



	[[mU][mU][fA][fA][fG] [fG][mA][fC][mA][fA] mG][fU][mU][mC][mA] [mG][mC][mA][mG][m C][mC][prgG-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]		mUs][fGs][fAs][mA][fC][m U][fU][mG][mU][fC][mC][f U][mU][fA][mA][fC][fG][m G][fU][mGs][mGs][mG]	
76	[mAs][mC][fA][mA][fG] ][mU][mU][fC][fU][fC] [fU][mG][fA][mG][fU] mU][fC][mU][mG][mA] [mG][mC][mA][mG][m C][mC][prgG-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	321	[Phosphonate-4O- mUs][fCs][fAs][mG][fA][m A][fC][mU][mC][fA][mG][f A][mG][fA][mA][fC][fU][m U][fG][mUs][mGs][mG]	322
77	[mAs][mA][fG][mU][m U][mC][mU][fC][fU][f G][mA][fG][fU][mU][m C][mU][fG][mG][mG] mA][mG][mC][mA][m G][mC][mC][prgG-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]	323	[Phosphonate-4O- mUs][fCs][fCs][mC][fA][m G][fA][fA][mC][fU][mC][fA ][mG][fA][mG][fA][mA][m C][fU][mUs][mGs][mG]	324
78	[mAs][mG][fU][mU][m C][mU][mC][fU][fG][f A][mG][fU][fU][mC][m	325	[Phosphonate-4O- mUs][fUs][fCs][mC][fC][m A][fG][fA][mA][fC][mU][fC	326

	U][mG][fG][mG][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]		][mA][fG][mA][fG][mA][mA][fC][mUs][mGs][mG]	
79	[mGs][mU][fU][mC][mU][mC][mU][fG][fA][fG][mU][fU][fC][mU][mG][mG][fG][mA][mU][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	327	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fUs][mC][fC][mC][fA][fG][mA][fA][mC][fU][mC][fA][mG][fA][mG][mA][fA][mCs][mGs][mG]	328
80	[mGs][mG][fA][mC][mC][mC][mU][fG][fA][fG][mG][fU][fC][mA][mG][mA][fC][mC][mA][mA][mG][mC][mA][mG][mC][mC][prgG-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][prgA-peg-GalNAc][mG][mG][mC][mU][mG][mC]	329	[Phosphonate-4O-mUs][fUs][fGs][mG][fU][mC][fU][fG][mA][fC][mC][fU][mC][fA][mG][fG][mG][mU][fC][mCs][mGs][mG]	330
81	[mGs][mU][fA][mU][mU][mC][mU][fC][fA][fG][mU][fG][fC][mU][mC][mU][fC][mC][mU][mA][mG][mC][mA][m	331	[Phosphonate-4O-mUs][fAs][fGs][mG][fA][mG][fA][fG][mC][fA][mC][fU][mG][fA][mG][fA][mA][mU][fA][mCs][mGs][mG]	332

	G][mC][mC][prgG-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][prgA-peg- GalNAc][mG][mG][mC ][mU][mG][mC]			
--	--	--	--	--

[00264] SEQ ID NO:333 – Искусственная последовательность  
GCAGCCGAAAGGCUGC

[00265] SEQ ID NO:334 – Целевая последовательность 1  
TTCAGTTCCCTGAAAGACTA

[00266] SEQ ID NO:335 – Целевая последовательность 2  
TGGAGCACCGTTAAGGACAA

[00267] SEQ ID NO:336 – Целевая последовательность 3  
ACCGTTAAGGACAAGTTCT

[00268] SEQ ID NO:337 – Целевая последовательность 4  
GCTGCCCTGTAGGTTGCT

[00269] SEQ ID NO:338 – Целевая последовательность 5  
GTAGGTTGCTTAAAAGGGA

[00270] SEQ ID NO:339 – Целевая последовательность 6  
CTTAAAAGGGACAGTATTC

[00271] SEQ ID NO:340 – Целевая последовательность 7  
AAAAGGGACAGTATTCTCA

[00272] SEQ ID NO:341 – Целевая последовательность 8  
GACAGTATTCTCAGTGCTC

## ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов.
2. Олигонуклеотид РНКи по п. 1, отличающийся тем, что смысловая цепь имеет длину от 15 до 50 нуклеотидов.
3. Олигонуклеотид РНКи по п. 1 или п. 2, отличающийся тем, что смысловая цепь имеет длину от 18 до 36 нуклеотидов.
4. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1-3, отличающийся тем, что длина антисмысловой цепи составляет от 15 до 30 нуклеотидов.
5. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1-4, отличающийся тем, что антисмысловая цепь имеет длину 22 нуклеотида и, при этом антисмысловая цепь и смысловая цепь образуют дуплексную область длиной по меньшей мере 19 нуклеотидов, необязательно длиной по меньшей мере 20 нуклеотидов.
6. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1-5, отличающийся тем, что комплементарная область имеет длину по меньшей мере 19 смежных нуклеотидов, необязательно по меньшей мере 20 нуклеотидов.
7. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1-6, отличающийся тем, что 3'-конец смысловой цепи содержит структуру «стебель-петля», обозначенную как S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от 3 до 5 нуклеотидов.
8. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 15 до 50 нуклеотидов и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом

антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334-341, и при этом длина комплементарной области составляет по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов.

9. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 15 до 50 нуклеотидов и антисмысловую цепь длиной от 15 до 30 нуклеотидов, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334-341, при этом длина комплементарной области составляет по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов.

10. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 15 до 50 нуклеотидов и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

11. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 18 до 36 нуклеотидов и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

12. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 18 до 36 нуклеотидов и антисмысловую цепь длиной 22 нуклеотида, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

13. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной от 18 до 36 нуклеотидов и антисмысловую цепь

длиной 22 нуклеотида, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом 3'-конец смысловой цепи содержит структуру «стебель-петля», обозначенную как S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от 3 до 5 нуклеотидов, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

14. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной 36 нуклеотидов и антисмысловую цепь длиной 22 нуклеотида, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом 3'-конец смысловой цепи содержит структуру «стебель-петля», обозначенную как S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от 3 до 5 нуклеотидов, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

15. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*АРОС3*), содержащий смысловую цепь длиной 36 нуклеотидов и антисмысловую цепь длиной 22 нуклеотида, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область длиной по меньшей мере 19 нуклеотидов, необязательно длиной 20 нуклеотидов, при этом 3'-конец смысловой цепи содержит структуру «стебель-петля», обозначенную как S1-L-S2, при этом S1 комплементарен S2, и при этом L образует петлю между S1 и S2 длиной от 3 до 5 нуклеотидов, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов, необязательно 20 нуклеотидов.

16. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 7 и 13–15, отличающийся тем, что L представляет собой трипетлю или тетрапетлю.

17. Олигонуклеотид РНКи по п. 16, отличающийся тем, что L представляет собой тетрапетлю.

18. Олигонуклеотид РНКи по п. 17, отличающийся тем, что тетрапетля содержит последовательность 5'-GAAA-3'.
19. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 13–18, отличающийся тем, что длина S1 и S2 составляет 1–10 нуклеотидов и является одинаковой.
20. Олигонуклеотид РНКи по п. 19, отличающийся тем, что S1 и S2 имеют длину 1 нуклеотид, 2 нуклеотида, 3 нуклеотида, 4 нуклеотида, 5 нуклеотидов, 6 нуклеотидов, 7 нуклеотидов, 8 нуклеотидов, 9 нуклеотидов или 10 нуклеотидов.
21. Олигонуклеотид РНКи по п. 20, отличающийся тем, что S1 и S2 имеют длину 6 нуклеотидов.
22. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 13–21, отличающийся тем, что структура «стебель-петля» содержит последовательность 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO: 333).
23. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1–22, отличающийся тем, что антисмысловая цепь содержит 3'-липкий конец последовательность длиной в один или более нуклеотидов.
24. Олигонуклеотид РНКи по п. 23, отличающийся тем, что последовательность 3'-липкого конца имеет длину 2 нуклеотида, необязательно при этом последовательность 3'-липкого конца представляет собой GG.
25. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, содержащий по меньшей мере 1 модифицированный нуклеотид.
26. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 13-25, отличающийся тем, что все нуклеотиды олигонуклеотида модифицированы, за исключением нуклеотидов в петле структуры «стебель-петля».
27. Олигонуклеотид РНКи по п. 25 или 26, отличающийся тем, что модифицированный нуклеотид содержит 2'-модификацию.

28. Олигонуклеотид РНКи по п. 27, отличающийся тем, что 2'-модификация представляет собой модификацию, выбранную из группы, состоящей 2'-аминоэтила, 2'-фтора, 2'-О-метила, 2'-О-метоксиэтила и 2'-дезоксид-2'-фтор-β-d-арабинонуклеиновой кислоты.
29. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 25–28, отличающийся тем, что все нуклеотиды, составляющие олигонуклеотид, являются модифицированными, и необязательно при этом модификация представляет собой 2'-модификацию, выбранную из группы, состоящей из 2'-фтора и 2'-О-метила.
30. Олигонуклеотид РНКи по п. 29, отличающийся тем, что один или большее количество нуклеотидов в положениях 8, 9, 10 или 11 смысловой цепи модифицированы 2'-фтором.
31. Олигонуклеотид РНКи по п. 29 или 30, отличающийся тем, что один или большее количество нуклеотидов в положениях 2, 3, 4, 5, 7, 10 или 14 антисмысловой цепи модифицированы 2'-фтором.
32. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 29 или 31, отличающийся тем, что один или большее количество нуклеотидов в положениях 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 32, 33, 34, 35 или 36 смысловой цепи модифицированы 2'-О-метилом.
33. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 29-32, отличающийся тем, что один или большее количество нуклеотидов в положениях 1, 6, 8, 9, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21 или 22 антисмысловой цепи модифицированы 2'-О-метилом.
34. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, содержащий по меньшей мере одну модифицированную межнуклеотидную связь.
35. Олигонуклеотид РНКи по п. 34, отличающийся тем, что по меньшей мере одна модифицированная межнуклеотидная связь представляет собой фосфоротиоатную связь.
36. Олигонуклеотид РНКи по п. 35, отличающийся тем, что межнуклеотидная связь нуклеотидов в положениях 1 и 2 смысловой цепи модифицирована фосфоротиоатной



связью.

37. Олигонуклеотид РНКи по п. 35 или 36, отличающийся тем, что межнуклеотидная связь одного или большего количества нуклеотидов в положениях 1 и 2, 2 и 3, 3 и 4, 20 и 21 или 21 и 22 антисмысловой цепи модифицирована фосфоротиоатной связью.

38. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп.1-24, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид РНКи имеет профиль модификации, как показано на Фиг. 1А, Фиг. 1В или Фиг. 1С.

39. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 38, отличающийся тем, что указанный олигонуклеотид РНКи имеет профиль модификации, как показано на Фиг. 1В.

40. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что 4'-углерод сахара 5'-нуклеотида антисмысловой цепи содержит аналог фосфата.

41. Олигонуклеотид РНКи по п. 40, отличающийся тем, что аналог фосфата представляет собой оксиметилфосфонат, винилфосфонат или малонилфосфонат, и при этом аналог фосфата необязательно представляет собой аналог 4'-фосфата, содержащий 5'-метоксифосфонат-4'-окси.

42. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеотид олигонуклеотида конъюгирован с одним или большим количеством нацеливающих лигандов.

43. Олигонуклеотид РНКи по п. 42, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд содержит углевод, аминсахар, холестерин, полипептид или липид.

44. Олигонуклеотид РНКи по п. 43, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд содержит фрагмент N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

45. Олигонуклеотид РНКи по п. 43, отличающийся тем, что фрагмент GalNAc представляет собой моновалентный фрагмент GalNAc, двухвалентный фрагмент GalNAc, трехвалентный фрагмент GalNAc или четырехвалентный фрагмент GalNAc.

46. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 16–41, отличающийся тем, что каждый из до 4 нуклеотидов L структуры «стебель-петля» конъюгирован с одновалентным фрагментом GalNAc.

47. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21, 23, 25, 27, 29, 31, 33, 35, 37, 39, 41, 43, 45, 47, 49, 51, 53, 55, 57, 59, 61, 63, 65, 67, 69, 71, 73, 75, 77, 79, 81, 83, 85, 87, 89, 91, 93, 95, 97, 99, 101, 103, 105, 107, 109, 111, 113, 115, 117, 119, 121, 123, 125, 127, 129, 131, 133, 135, 137, 139, 141, 143, 145, 147, 149, 151, 153, 155, 157, 159, 161, 163, 165, 167 и 169.

48. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что антисмысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из SEQ ID NO: 10, 12, 14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 42, 44, 46, 48, 50, 52, 54, 56, 58, 60, 62, 64, 66, 68, 70, 72, 74, 76, 78, 80, 82, 84, 86, 88, 90, 92, 94, 96, 98, 100, 102, 104, 106, 108, 110, 112, 114, 116, 118, 120, 122, 124, 126, 128, 130, 132, 134, 136, 138, 140, 142, 144, 146, 148, 150, 152, 154, 156, 158, 160, 162, 164, 166, 168 и 170.

49. Олигонуклеотид РНКи по любому из предшествующих пунктов, отличающийся тем, что смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат нуклеотидные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106.

50. Олигонуклеотид РНКи по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 37, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 38.

51. Олигонуклеотид РНКи по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 43, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 44.

52. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 45, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 46.
53. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 87, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 88.
54. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 89, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 90.
55. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 99, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 100.
56. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 101, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 102.
57. Олигонуклеотид РНК по п. 49, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 105, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 106.
58. Олигонуклеотид РНК по любому из пп. 1 и 8–15, отличающийся тем, что смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат нуклеотидные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:
- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
  - (b') SEQ ID NO: 205 и 206,
  - (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
  - (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
  - (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
  - (f') SEQ ID NO: 261 и 262,
  - (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
  - (h') SEQ ID NO: 267 и 268.
59. Олигонуклеотид РНК по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 199, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 200.
60. Олигонуклеотид РНК по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит

SEQ ID NO:205, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:206.

61. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 207, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 208.

62. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:249, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:250.

63. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:251, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:252.

64. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:261, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:262.

65. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:263, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:264.

66. Олигонуклеотид РНКи по п. 58, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:267, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:268.

67. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 58-66, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеотид олигонуклеотида конъюгирован с одним или большим количеством нацеливающих лигандов.

68. Олигонуклеотид РНКи по п. 67, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд представляет собой углевод, аминсахар, холестерин, полипептид или липид.

69. Олигонуклеотид РНКи по п. 68, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд содержит фрагмент N-ацетилгалактозамина (GalNAc).

70. Олигонуклеотид РНКи по п. 69, отличающийся тем, что фрагмент GalNAc представляет собой моновалентный фрагмент GalNAc, двухвалентный фрагмент GalNAc, трехвалентный фрагмент GalNAc, или четырехвалентный фрагмент GalNAc.

71. Олигонуклеотид РНКи по п. 69, отличающийся тем, что последовательность 5'-

GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO:333) в смысловой цепи образует структуру «стебель-петля», и при этом каждый из нуклеотидов в последовательности 5'-GAAA-3' в петле конъюгирован с моновалентным фрагментом GalNAc.

72. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом все нуклеотиды, содержащие смысловую цепь и антисмысловую цепь, модифицированы, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК *APOC3* любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 15 смежных нуклеотидов.

73. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом все нуклеотиды, содержащие смысловую цепь и антисмысловую цепь, модифицированы, при этом 4'-углерод сахара 5'-нуклеотида антисмысловой цепи содержит аналог фосфата, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК *APOC3* любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 15 смежных нуклеотидов.

74. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом все нуклеотиды, содержащие смысловую цепь и антисмысловую цепь, модифицированы, при этом 4'-углерод сахара 5'-нуклеотида антисмысловой цепи содержит аналог фосфата, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК *APOC3* любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 19 смежных нуклеотидов.

75. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом все нуклеотиды, содержащие смысловую цепь и антисмысловую цепь, модифицированы, при этом антисмысловая цепь и смысловая цепь содержит один или более 2'-фтор- и 2'-О-метил-модифицированных

нуклеотидов и по меньшей мере одну фосфоротиоатную связь, при этом 4'-углерод сахара 5'-нуклеотида антисмысловой цепи содержит аналог фосфата, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК АРОС3 любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет 15 смежных нуклеотидов.

76. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 72–75, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит любую из SEQ ID NO: 37, 43, 45, 87, 89, 99, 101 и 105; или отличающийся тем, что смысловая цепь содержит любую из SEQ ID NO: 199, 205, 207, 249, 251, 261, 263 и 267.

77. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 72–76, отличающийся тем, что антисмысловая цепь содержит любую из SEQ ID NO: 38, 44, 46, 88, 90, 100, 102 и 106; или отличающийся тем, что антисмысловая цепь содержит любую из SEQ ID NO: 200, 206, 208, 250, 252, 262, 264 и 268.

78. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 72–77, отличающийся тем, что смысловая цепь и антисмысловая цепь выбраны из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106; или
- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 206,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f') SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h') SEQ ID NO: 267 и 268.

79. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 199, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 200.
80. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:205, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:206.
81. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 207, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 208.
82. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:249, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:250.
83. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:251, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:252.
84. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:261, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:262.
85. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:263, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:264.
86. Олигонуклеотид РНКи по п. 78, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO:267, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO:286.
87. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 72-86, отличающийся тем, что по меньшей мере один нуклеотид олигонуклеотида конъюгирован с одним или большим количеством нацеливающих лигандов.
88. Олигонуклеотид РНКи по п. 87, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд представляет собой углевод, аминсахар, холестерин, полипептид, или липид.
89. Олигонуклеотид РНКи по п. 88, отличающийся тем, что каждый нацеливающий лиганд содержит фрагмент N-ацетилгалактозамина (GalNAc).
90. Олигонуклеотид РНКи по п. 89, отличающийся тем, что фрагмент GalNAc

представляет собой моновалентный фрагмент GalNAc, двухвалентный фрагмент GalNAc, трехвалентный фрагмент GalNAc или четырехвалентный фрагмент GalNAc.

91. Олигонуклеотид РНКи по п. 89, отличающийся тем, что последовательность 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO:333) в смысловой цепи образует структуру «стебель-петля», и при этом каждый нуклеотид в последовательности 5'-GAAA-3' в петле конъюгирован с моновалентным фрагментом GalNAc.

92. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, и при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь состоят из последовательностей, выбранных из группы, состоящей из:

- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 206,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f') SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h') SEQ ID NO: 267 и 268.

93. Олигонуклеотид РНКи по п. 92, отличающийся тем, что последовательность 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO:333) в смысловой цепи образует структуру «стебель-петля», и при этом каждый нуклеотид в последовательности 5'-GAAA-3' в петле конъюгирован с моновалентным фрагментом GalNAc.

94. Фармацевтическая композиция, содержащая:  
олигонуклеотид РНКи по любому из пп.1-93 или его фармацевтически приемлемую соль; и  
фармацевтически приемлемый носитель, агент доставки или эксципиент.

95. Способ доставки олигонуклеотида индивидууму, включающий этап:  
введения фармацевтической композиции по п. 94 индивидууму.

96. Способ лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или



патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), при этом способ включает этап:

введения индивидууму терапевтически эффективного количества олигонуклеотида РНКи по любому из пп. 1-93 или фармацевтической композиции по п. 94, тем самым осуществляя лечение индивидуума.

97. Способ снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*) в клетке, популяции клеток или организме индивидуума, включающий этап:

приведения клетки или популяции клеток в контакт с олигонуклеотидом РНКи по любому из пп. 1–93 или фармацевтической композицией по п. 94; или

введения индивидууму олигонуклеотида РНКи по любому из пп. 1–93 или фармацевтической композиции по п. 94.

98. Способ по п. 97, отличающийся тем, что снижение экспрессии *APOC3* включает снижение количества или уровня мРНК *APOC3*, количества или уровня белка *APOC3* или и то и другое.

99. Способ по п. 97 или п. 98, отличающийся тем, что у индивидуума имеется заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*.

100. Способ по п. 99, отличающийся тем, что заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, представляет собой острые коронарные заболевания (ACD), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (ASCVD), алкогольный гепатит (AH), алкогольную болезнь печени (ALD), кардиометаболическое заболевание, холангиокарциному (CCA), цирроз печени, ишемическую болезнь сердца (CHD), диабет, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярную карциному (HCC), гиперлипидемию, гипертриглицеридемию, высокий уровень холестерина не-HDL, резистентность к инсулину, стеатоз печени, метаболические синдромы (MetS), неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), ожирение или первичный склерозирующий холангит (PSC).

101. Способ по любому из пп. 96–100, отличающийся тем, что олигонуклеотид РНКи или фармацевтическую композицию вводят в комбинации со второй композицией или

терапевтическим агентом.

102. Способ лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), при этом способ включает этап:

введения индивидууму терапевтически эффективного количества олигонуклеотида РНКи, содержащего смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, при этом антисмысловая цепь содержит комплементарную область к целевой последовательности мРНК *APOC3* любой из SEQ ID NO: 334–341, и при этом длина комплементарной области составляет по меньшей мере 15 смежных нуклеотидов.

103. Способ лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), при этом способ включает этап:

введения индивидууму терапевтически эффективного количества олигонуклеотида РНКи, содержащего смысловую цепь и антисмысловую цепь, выбранную из ряда, представленного в Таблице 2 или Таблице 3, или его фармацевтической композиции, тем самым осуществляя лечение индивидуума.

104. Способ лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), при этом способ включает этап:

введения индивидууму терапевтически эффективного количества олигонуклеотида РНКи, содержащего смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь содержат нуклеотидные последовательности, выбранные из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106; или

- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 260,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f') SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h') SEQ ID NO: 267 и 268.

105. Способ лечения индивидуума, имеющего заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), при этом способ включает этап:

введения индивидууму терапевтически эффективного количества олигонуклеотида РНКи, содержащего смысловую цепь и антисмысловую цепь, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь выбраны из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106; или
- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 260,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f') SEQ ID NO: 261 и 262,
- (g') SEQ ID NO: 263 и 264, и
- (h') SEQ ID NO: 267 и 268.

106. Способ по п. 105, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 199, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 200.

107. Способ по п. 105, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 205, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 206.
108. Способ по п. 105, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 207, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 208.
109. Способ по п. 15, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 249, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 250.
110. Способ по п. 105, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 251, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 252.
111. Способ по п. 105, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 261, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 262.
112. Способ по п. 75, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 263, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 264.
113. Способ по п. 75, отличающийся тем, что смысловая цепь содержит SEQ ID NO: 267, а антисмысловая цепь содержит SEQ ID NO: 268.
114. Способ по любому из пп. 105-113, отличающийся тем, что заболевание, нарушение или патологическое состояние, ассоциированное с экспрессией *APOC3*, выбрано из группы, состоящей из следующих патологий: острые коронарные заболевания (ACD), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (ASCVD), алкогольный гепатит (AH), алкогольная болезнь печени (ALD), кардиометаболическое заболевание, холангиокарцинома (CCA), цирроз печени, ишемическая болезнь сердца (CHD), диабет, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, высокий уровень холестерина не-HDL, резистентность к инсулину, стеатоз печени, метаболические синдромы (MetS), неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), ожирение или первичный склерозирующий холангит (PSC).
115. Применение олигонуклеотида РНКи по любому из пп. 1-93 или фармацевтической композиции по п. 94 при изготовлении лекарственного средства для лечения заболевания,

нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), необязательно для лечения следующих патологий: острые коронарные заболевания (ACD), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (ASCVD), алкогольный гепатит (AH), алкогольная болезнь печени (ALD), кардиометаболическое заболевание, холангиокарцинома (CCA), цирроз печени, ишемическая болезнь сердца (CHD), диабет, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, высокий уровень холестерина не-HDL, резистентность к инсулину, стеатоз печени, метаболические синдромы (MetS), неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), ожирение или первичный склерозирующий холангит (PSC).

116. Олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1-93 или фармацевтическая композиция по п. 94 для применения или адаптированные для применения при лечении заболевания, нарушения или патологического состояния, ассоциированного с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), необязательно для лечения следующих патологий: острые коронарные заболевания (ACD), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (ASCVD), алкогольный гепатит (AH), алкогольная болезнь печени (ALD), кардиометаболическое заболевание, холангиокарцинома (CCA), цирроз печени, ишемическая болезнь сердца (CHD), диабет, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, высокий уровень холестерина не-HDL, резистентность к инсулину, стеатоз печени, метаболические синдромы (MetS), неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), ожирение или первичный склерозирующий холангит (PSC).

117. Набор, содержащий олигонуклеотид РНКи по любому из пп. 1–93, необязательный фармацевтически приемлемый носитель и листок-вкладыш, содержащий инструкции по введению индивидууму, страдающему заболеванием, нарушением или патологическим состоянием, которое ассоциировано с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*).

118. Применение по п. 115, олигонуклеотид РНКи или фармацевтическая композиция для применения или адаптированные для применения по п. 116 или набор по п. 117, отличающиеся тем, что заболевание, нарушение или патологическое состояние, которое ассоциировано с экспрессией аполипопротеина С-III (*APOC3*), представляет собой следующие патологии: острые коронарные заболевания (ACD), атеросклеротические сердечно-сосудистые заболевания (ASCVD), алкогольный гепатит (AH), алкогольная

болезнь печени (ALD), кардиометаболическое заболевание, холангиокарцинома (CCA), цирроз печени, ишемическая болезнь сердца (CHD), диабет, фиброз печени, воспаление печени, гепатоцеллюлярная карцинома (HCC), гиперлипидемия, гипертриглицеридемия, высокий уровень холестерина не-HDL, резистентность к инсулину, стеатоз печени, метаболические синдромы (MetS), неалкогольная жировая болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), ожирение или первичный склерозирующий холангит (PSC).

119. Олигонуклеотид РНКи для снижения экспрессии аполипопротеина С-III (*APOC3*), содержащий смысловую цепь и антисмысловую цепь, которые необязательно модифицированы, при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь образуют дуплексную область, и при этом смысловая цепь и антисмысловая цепь представляют собой пару, выбранную из группы, состоящей из:

- (a) SEQ ID NO: 37 и 38,
- (b) SEQ ID NO: 43 и 44,
- (c) SEQ ID NO: 45 и 46,
- (d) SEQ ID NO: 87 и 88,
- (e) SEQ ID NO: 89 и 90,
- (f) SEQ ID NO: 99 и 100,
- (g) SEQ ID NO: 101 и 102, и
- (h) SEQ ID NO: 105 и 106 соответственно,

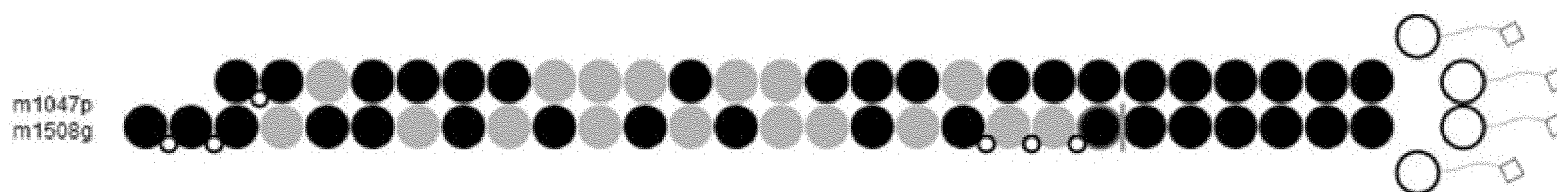
при этом последовательность 5'-GCAGCCGAAAGGCUGC-3' (SEQ ID NO: 333) в смысловой цепи образует структуру «стебель-петля», и при этом каждый нуклеотид в последовательности 5'-GAAA-3' в петле конъюгирован с моновалентным фрагментом GalNAc.

120. Олигонуклеотид РНКи по п. 119, отличающийся тем, что смысловая цепь и антисмысловая цепь необязательно модифицированы и представляют собой пару, выбранную из группы, состоящей из:

- (a') SEQ ID NO: 199 и 200,
- (b') SEQ ID NO: 205 и 260,
- (c') SEQ ID NO: 207 и 208,
- (d') SEQ ID NO: 249 и 250,
- (e') SEQ ID NO: 251 и 252,
- (f') SEQ ID NO: 261 и 262,

(g') SEQ ID NO: 263 и 264, и

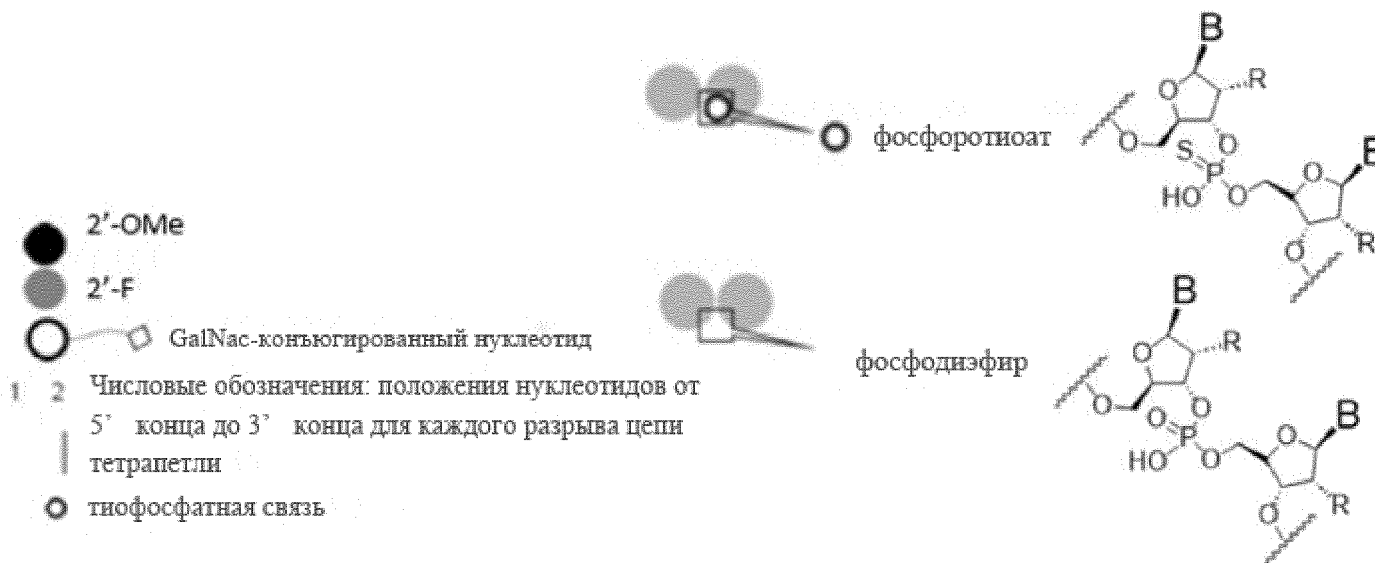
(h) SEQ ID NO: 267 и 268 соответственно.



Профиль модификации 1: M1 (SM1407/ASM1508 профиль)

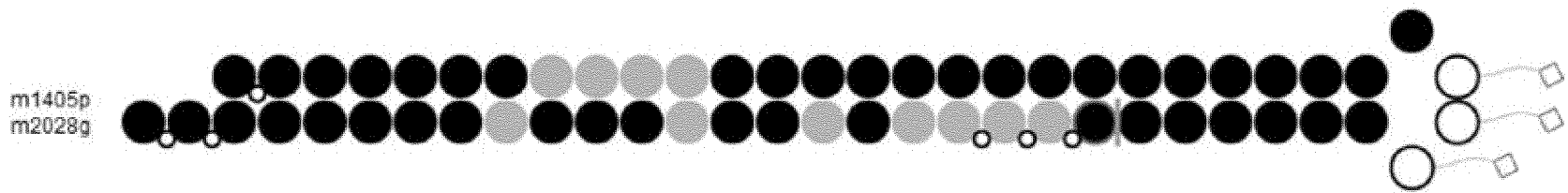
Условные сокращения:

● 5'-антисмысловой 1-й нуклеотид представляет собой мейсфонат-4O-mU



ФИГ. 1А

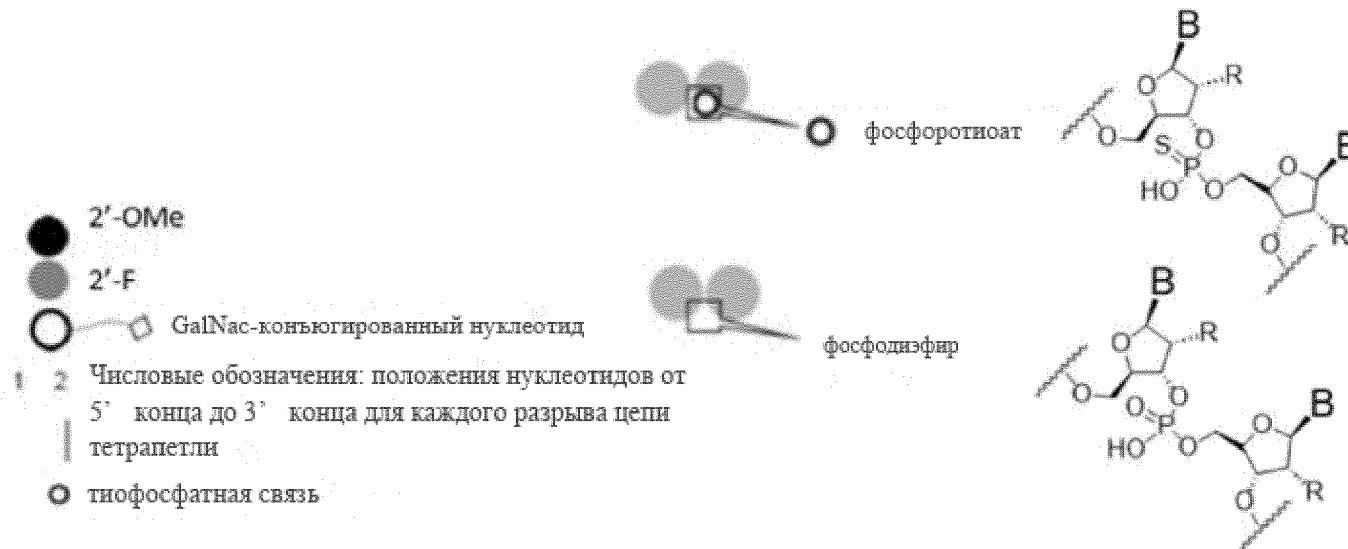




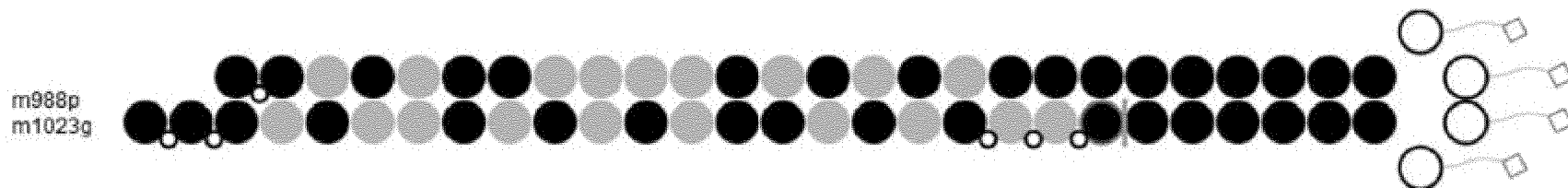
Профиль модификации 2: M2 (SM1405/ASM2028 профиль)

Условные сокращения:

● 5'-антисмысловой 1-й нуклеотид представляет собой мекфосфонат-4O-mU



ФИГ. 1В



Профиль модификации 3: М3 (SM988/ASM1023 профиль)

Условные сокращения:

● 5'-антисмысловой 1-й нуклеотид представляет собой мифосфонат-4O-mU

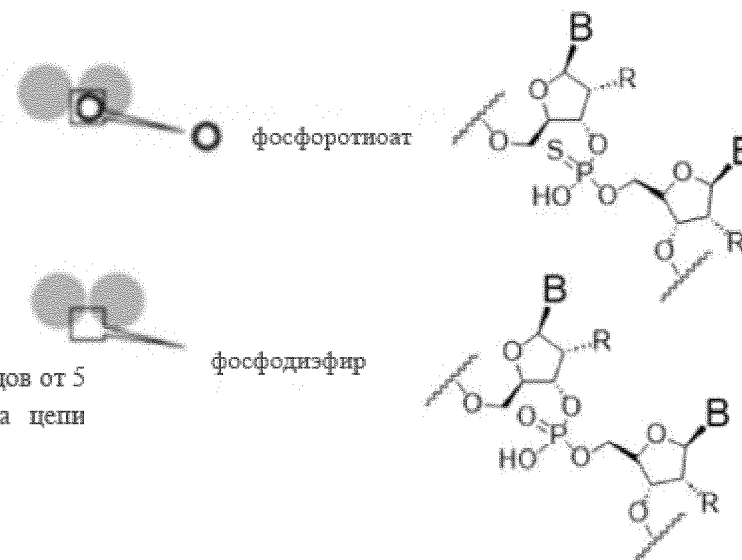
● 2'-OMe

● 2'-F

○ GalNac-конъюгированный нуклеотид

1 2 Числовые обозначения: положения нуклеотидов от 5' конца до 3' конца для каждого разрыва цепи тетраплетли

○ тиофосфатная связь



ФИГ. 1С