

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202490986 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2024.08.19

(22) Дата подачи заявки
2022.10.21

(51) Int. Cl. *C12N 15/113* (2010.01)
A61K 31/713 (2006.01)
A61K 38/00 (2006.01)
A61K 45/06 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

(54) АГЕНТЫ РНКи ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ МАТРИЧНОЙ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 7 (ММР7), ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ
ПРИМЕНЕНИЯ

(31) 63/270,849; 63/308,289; 63/345,654

(32) 2021.10.22; 2022.02.09; 2022.05.25

(33) US

(86) PCT/US2022/078498

(87) WO 2023/070082 2023.04.27

(88) 2023.07.06

(71) Заявитель:
ЭРРОУХЕД ФАРМАСЬЮТИКЛЗ,
ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Николас Энтони, Пэй Тао, Буш
Эрик В., Юань Тинтин (US)

(74) Представитель:

Веселицкий М.Б., Кузенкова Н.В.,
Каксис Р.А., Белоусов Ю.В., Куликов
А.В., Кузнецова Е.В., Соколов Р.А.,
Кузнецова Т.В. (RU)

(57) В изобретении описаны агенты РНКи, композиции, включающие агенты РНКи, и способы подавления гена матричной металлопептидазы 7 (ММР7). Агенты РНКи ММР7 и конъюгаты агентов РНКи, раскрытые в данном контексте, подавляют экспрессию гена ММР7. Также описаны фармацевтические композиции, включающие один или более агентов РНКи ММР7, необязательно с одним или более дополнительными терапевтическими препаратами. Доставка описанных агентов РНКи ММР7 в клетки легких *in vivo* обеспечивает подавление экспрессии гена ММР7, что может обеспечить терапевтический благоприятный эффект у субъектов, включая субъекта-человека, для лечения различных заболеваний, включая воспалительные заболевания легких, такие как идиопатический легочный фиброз (IPF).

A1

202490986

202490986

A1

АГЕНТЫ РНКИ ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ЭКСПРЕССИИ МАТРИЧНОЙ
МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 7 (ММР7), ИХ КОМПОЗИЦИИ И СПОСОБЫ
5 ПРИМЕНЕНИЯ

Перекрестные ссылки на родственные заявки

В настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США, серийный номер 63/270849, поданной 22 октября 2021 г.,
10 предварительной заявки на патент США, серийный номер 63/308289, поданной 9 февраля 2022 г., и предварительной заявки на патент США, серийный № 63/345654, поданной 25 мая 2022 г., содержание каждой из которых в полном объеме включено в настоящий документ в качестве ссылки.

Перечень последовательностей

15 Данная заявка содержит список последовательностей, который был представлен в формате ASCII и включен в настоящий документ в полном объеме в качестве ссылки. Копия ASCII называется 30673_WO_SequenceListing.xml, размер 3575 КБ.

Область техники

20 Настоящее изобретение относится к агентам РНК-интерференции (РНКи), например, агентам двухцепочечной РНКи, для ингибирования экспрессии гена матричной металлопротеиназы 7 («ММР7» или «Matrilysin»), композициям, которые включают агенты РНКи ММР7, и способам их применения.

Предпосылки создания настоящего изобретения

25 Матричная металлопротеиназа 7 («ММР7» или «Матрилизин») является самым низкомолекулярным (28 кДа) членом семейства металлопротеиназ (ММР), которое включает 24 родственных секретируемых цинк-зависимых эндопептидаз с разнообразными субстратами и функциями, способных
30 расщеплять компоненты внеклеточного матрикса (например, эластин, протеогликаны, коллаген типа IV, фибронектин, энтактин/нидоген и капсульный белок протеогликанов), а также расщеплять и модулировать активность субстратов не-внеклеточного матрикса, таких как цитокины (Fujishima, Shiomi и др., Arch Pathol Lab Med 134(8): 1136-1142 (2010); Craig, Zhang и др., Am J

Respir Cell Mol Biol 53(5): 585-600 (2015)). Эти функциональные роли в ремоделировании внеклеточного матрикса и регуляции передачи сигналов цитокинов указывают на связь членов семейства MMP с общими патогенными механизмами, способствующими развитию рака, хронического воспаления и фиброза. Однако, несмотря на их привлекательность в качестве мишени для лекарственных средств, разработка высокоселективных низкомолекулярных ингибиторов MMP оказалась сложной задачей из-за общего структурного сходства цинк-зависимого каталитического домена среди членов семейства (Vandenbroucke и Libert, *Nat Rev Drug Discov* 13(12): 904-927 (2014); Fields, *Cells* 8(9) (2019)).

MMP7 конститутивно экспрессируется и секретируется эпителиальными клетками по всему организму (включая кожу, легкие и железистый эпителий печени, кишечник, поджелудочную железу, слюнные железы и репродуктивный тракт), где MMP7 играет роль в восстановлении эпителия ((Pilcher, Wang и др., *Ann N Y Acad Sci*, 878:12-24 (1999)). Повышенная экспрессия MMP7 связана с патогенным фиброзом легких (Rosas, Richards и др., *PLoS Med* 5(4): e93 (2008)), печени (Hung, Chang и др., *Hepatology* 50(4): 1184-1193 (2009); Roeb, *Matrix Biol* 68-69: 463-473 (2018), *Front Med (Lausanne)* 7:617261 (2020); (Hung, Chang и др., *Hepatology* 50(4): 1184-1193 (2009); Roeb, *Matrix Biol* 68-69: 463-473 (2018); Nomden, Beljaars и др., *Front Med (Lausanne)* 7:617261 (2020); Irvine, Okano и др., *Sci Rep* 11(1):2858 (2021)), и почки (Ke, Fan и др., *Front Physiol* 8:21 (2017); Zhang, Ren и др., *Kidney Blood Press Res* 42(3): 541-552 (2017); Tan Li и др., *JCI Insight* 4(24) (2019)). Уровни фермента MMP7 связаны с патогенным фиброзом с участием множества потенциальных механизмов, включая стимулирование эпителиально-мезенхимального перехода (EMT), деградацию внеклеточного матрикса, aberrантное восстановление матрикса и ремоделирование тканей. MMP7 способствует фиброзу, расщепляя E-кадгерин для активации эпителиальных клеток и протеолитически активируя гепарин-связывающий предшественник эпидермального фактора роста (pro-HB-EGF) для высвобождения активного HB-EGF, который способствует aberrантной миграции эпителия и пролиферации фибробластов легких человека (Zhang, Rice и др., *Am J Respir Cell Mol Biol* 24(2):123-131 (2001); McGuire, Li и др., *Am J Pathol* 162(6):1831-1843 (2003)). Также известно, что MMP7 способствует

выживанию фибробластов и устойчивости к апоптозу за счет деградации путей остеопонтина и путей мембранного связывания лиганда (mFasL) (Agnihotri, Crawford и др., *J Biol Chem* 276(30):28261-28267 (2001); Mummler, Burgy и др., *FASEB J* 32(2):703-716 (2018); Nareznoi, Konikov-Rozenman и др., *Cells* 9(2) (2020)).

Одним из конкретных типов фиброза является идиопатический легочный фиброз (IPF), хроническое заболевание легких, которое часто приводит к летальному исходу и для которого клиническое течение и скорость прогрессирования заболевания относительно непредсказуемы (ссылку см. выше).

Известно, что у пациентов с диагнозом IPF экспрессия MMP7 увеличивается в периферической крови, жидкости бронхоальвеолярного лаважа и легочной ткани (Zuo, Kaminski и др., *Proc Natl Acad Sci USA* 99(9): 6292-6297 (2002)).

Экспрессия MMP7 в сыворотке является в достаточной мере подтвержденным сывороточным биомаркером IPF, который коррелирует с тяжестью и

прогрессированием IPF (Song, Do и др., *Chest* 143(5):1422-1429 (2013);

Tzouvelekis, Herazo-Maya и др., *Respirology* 22(3):486-493 (2017)). В

соответствии с известным механизмом, MMP7 модулирует несколько путей, способствующих aberrантной функции эпителиальных клеток, фибробластов и иммунных клеток при IPF. Следует отметить, что нокаутные по MMP7 мыши

защищены от повреждения легких, опосредованного блеомицином (стандартная модель IPF у грызунов), что указывает на снижение легочного воспаления, фиброза и смертности и, таким образом, и позволяет предположить, что MMP7 является причиной в развитии IPF (Craig, Zhang и др., *Am J Respir Cell Mol Biol* 53(5):585-600 (2015)).

В ходе испытаний Genome-Wide Association Studies (полногеномные ассоциативные исследования (GWAS)) было установлено, что усиление функции генетического варианта MMP7 rs11568818AA связано с риском IPF (Richards, Park и др., *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 302(8):L746-754 (2012)). Кроме того, в таких исследованиях GWAS указано, что генетические варианты MMP7 связаны с множеством онкологических заболеваний и склерозом (Moreno-Ortiz, Gutierrez-Angulo и др., *Genet Mol Res* 13(2):3537-3544 (2014); Fu, Chien и др., *Anticancer Res* 40(2):695-702 (2020)).

Краткое описание настоящего изобретения

В настоящее время существует необходимость в новых агентах РНК-интерференции (РНКи) (называемых агентами РНКи, триггерами РНКи или триггерами), например, в двухцепочечных агентах РНКи, которые способны избирательно и эффективно ингибировать экспрессию гена ММР7, включая агент, предназначенный для использования в качестве терапевтического или лекарственного средства. Кроме того, существует потребность в композициях новых агентов РНКи, специфичных в отношении ММР7, предназначенных для лечения заболеваний или расстройств, связанных с патологическим воспалением (таких как IPF) и/или расстройств, которые предположительно опосредованы, по меньшей мере частично, снижением экспрессии гена ММР7.

Нуклеотидные последовательности и химические модификации агентов РНКи ММР7, раскрытые в настоящем документе, а также их комбинация с некоторыми специфическими лигандами-мишенями, пригодными для селективной и эффективной доставки агентов РНКи ММР7 в соответствующие клетки легких *in vivo*, отличаются от раскрытых ранее, или известных в данной области техники. Раскрытые в данном контексте агенты РНКи ММР7 обеспечивают высокоэффективное и сильнодействующее ингибирование экспрессии гена ММР7.

В основном в настоящем описании представлены агенты РНКи, специфичные в отношении гена ММР7, композиции, которые включают агенты РНКи ММР7, и способы ингибирования экспрессии гена ММР7 *in vitro* и/или *in vivo* с использованием агентов РНКи ММР7 и композиций, которые включают описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7. Описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7 способны избирательно и эффективно снижать экспрессию гена ММР7 и тем самым уменьшать количество доступной ММР7, которая, как полагают, является профиброзной с участием множества эффективно действующих механизмов, включая расщепление Е-кадгерина для активации эпителиальных клеток и протеолитическую активацию предшественника гепаринсвязывающего эпидермального фактора роста (про-НВ-EGF) для высвобождения активного НВ-EGF, который способствует aberrантной миграции эпителия и пролиферации фибробластов легких человека,

а также расщеплению и активации других профиброзных субстратов, таких как остеопонтин и мембранно-связанный лиганд Fas (mFasL).

Описанные агенты РНКи MMP7 можно использовать в способах терапевтического лечения (включая профилактическое или профилактическое лечение) симптомов и заболеваний, включая, не ограничиваясь перечисленным, идиопатический легочный фиброз (IPF), астму, различные другие типы фиброза, хроническое воспаление, интерстициальные заболевания легких (ILD), инфекционные заболевания (например, SARS-COV-2), острое повреждение легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS)), легочная гипертензия, различные виды рака, неалкогольную жировую болезнь печени (NASH), неалкогольный стеатогепатит (NAFLD), жировую болезнь печени, атрезию желчных путей и хроническое заболевание почек (CKD).

В одном аспекте настоящего изобретения предлагаются агенты РНКи для ингибирования экспрессии гена MMP7, причем агент РНКи включает смысловую цепь (также называемую «пассажирской цепью») и антисмысловую цепь (также называемую направляющей цепью). Смысловая цепь и антисмысловая цепь могут являться частично, в значительной степени или полностью комплементарными друг другу. Длина каждой смысловой цепи агента РНКи, описанной в данном контексте, может составлять от 12 до 49 нуклеотидов. Длина каждой антисмысловой цепи агента РНКи, описанного в данном контексте, может составлять от 18 до 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина смысловой и антисмысловой цепей может независимо составлять от 18 до 26 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи могут характеризоваться как одинаковой, так и различной длиной. В некоторых вариантах длина смысловой и антисмысловой цепи независимо составляет от 21 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина как смысловой, так и антисмысловой цепей независимо составляет от 21 до 26 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина смысловой и антисмысловой цепи независимо составляет от 21 до 24 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина антисмысловых цепей независимо составляет 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина смысловых цепей независимо составляет 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, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 или 49

нуклеотидов. Агенты РНКи, описанные в данном контексте, при доставке в клетку, экспрессирующую MMP7, такую как клетка легких, ингибируют экспрессию одного или более вариантов гена MMP7 *in vivo* и/или *in vitro*.

5 Раскрытые в настоящем документе агенты РНКи MMP7 направлены на ген MMP7 человека (см., например, SEQ ID NO:1). В некоторых вариантах агенты РНКи MMP7, раскрытые в настоящем документе, направлены на часть гена MMP7 с любой последовательностью из указанных в таблице 1.

10 В другом аспекте изобретения предлагаются композиции, включая фармацевтические композиции, которые содержат один или более описанных агентов РНКи MMP7, которые способны избирательно и эффективно снижать экспрессию гена MMP7. Композиции, которые включают один или более агентов РНКи MMP7, описанных в настоящем документе, можно вводить субъекту, например, человеку или животному, для лечения (включая профилактическое лечение или ингибирование) симптомов и заболеваний, включая, не
15 ограничиваясь перечисленным, различные легочные заболевания, включающие идиопатический легочный фиброз (IPF), астму, различные другие типы фиброза, хроническое воспаление, интерстициальные заболевания легких (ILD), инфекционные заболевания (например, SARS-COV-2), острое повреждение легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS)), легочную гипертензию, различные виды рака, неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), жировую болезнь печени, билиарную атрезию и хроническую болезнь почек (CKD).

20 Примеры смысловых и антисмысловых цепей агента РНКи MMP7, которые можно использовать в составе агента РНКи MMP7, представлены в таблицах 3, 4, 5 и 6. Примеры дуплексов агента РНКи MMP7 представлены в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10. Примеры 19-членных нуклеотидных последовательностей центрального участка, которые могут состоять из смысловых и антисмысловых цепей некоторых агентов РНКи MMP7, описанных в настоящем документе, или их можно включать в их состав, представлены в таблице 2.

30 В другом аспекте изобретения предлагаются способы доставки агентов РНКи MMP7 к эпителиальным клеткам субъекта, такого как млекопитающее, *in vivo*. В данном контексте также описаны композиции для применения в таких способах. В некоторых вариантах в настоящем документе предлагаются способы

доставки агентов РНКи ММР7 к легочным клеткам (эпителиальным клеткам, макрофагам, гладким мышцам, эндотелиальным клеткам) субъекта *in vivo*. В некоторых вариантах субъектом является человек.

Способы, раскрытые в настоящем документе, включают введение одного или более агентов РНКи ММР7 субъекту, например, человеку или животному, любыми пригодными способами, известными в данной области техники. Раскрытые в данном контексте фармацевтические композиции, которые включают один или более агентов РНКи ММР7, можно вводить рядом способов в зависимости от требуемого способа (местного или системного) лечения. Введение может представлять собой, не ограничиваясь перечисленным, внутривенный, внутриартериальный, подкожный, внутрибрюшинный, субдермальный (например, через имплантированное устройство) и интрапаренхиматозный способ введения. В некоторых вариантах фармацевтические композиции, описанные в настоящем документе, вводят ингаляцией (например, ингаляция сухого порошка или ингаляция аэрозоля), интраназальным способом, внутритрахеальным способом или аспирационным способом введения в ротоглотку.

В некоторых вариантах требуется, чтобы описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7 ингибировали экспрессию гена ММР7 в легочном эпителии, для чего введение осуществляют ингаляцией (например, с помощью ингаляционного устройства, такого как ингалятор с дозирующим устройством), или распылитель, такой как струйный распылитель или распылитель с вибрирующей сеткой, или жидкостной ингалятор).

Один или более агентов РНКи ММР7 можно доставить в клетки-мишени или ткани-мишени с использованием любой технологии доставки олигонуклеотидов, известной в данной области. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 доставляют в клетки или ткани при ковалентном связывании агента РНКи с направляющей группой. В некоторых вариантах направляющая группа может включать лиганд клеточного рецептора, такой как интегрин-направляющий лиганд. Интегрины представляют собой семейство трансмембранных рецепторов, которые ускоряют адгезию клетки с внеклеточным матриксом (ЕСМ). Прежде всего, интегрин альфа- v -бета-6 ($\alpha v \beta 6$) представляет собой эпителиально-специфичный интегрин, который, как

известно, является рецептором белков ЕСМ и латентно-ассоциированного пептида TGF-бета (LAP), а также экспрессируется в различных клетках и тканях. Известно, что интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ в значительной степени активируется в поврежденном легочном эпителии. В некоторых вариантах агенты РНКи ММР7, описанные в данном контексте, присоединены к лиганду, направленному на интегрин, который обладает сродством к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$. Как упоминается в данном контексте, «лиганд, направленный на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$ », представляет собой соединение, обладающее сродством к интегрину $\alpha\upsilon\beta6$, которое можно использовать в качестве лиганда для ускорения направления и доставки агента РНКи, с которыми он связан, к требуемым клеткам и/или тканям (т.е. к клеткам, экспрессирующим интегрин $\alpha\upsilon\beta6$). В некоторых вариантах множество лигандов, направленных на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, или кластеры лигандов, направленных на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, связаны с агентом РНКи ММР7. В некоторых вариантах конъюгаты агента РНКи ММР7 и лиганда, направленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, селективно интернализуются эпителиальными клетками легких либо в ходе рецептор-опосредованного эндоцитоза, либо другими способами.

Примеры направляющих групп, пригодных для доставки агентов РНКи ММР7, которые включают лиганды, направленные на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, раскрыты, например, в публикации международной патентной заявки № WO 2018/085415 и публикации международной патентной заявки № WO 2019/089765, содержание каждой из которых в полном объеме включено в данный контекст в качестве ссылки.

Направляющую группу можно присоединить к 3'- или 5'-концу смысловой цепи или антисмысловой цепи агента РНКи ММР7. В некоторых вариантах осуществления направляющая группа присоединена к 3'- или 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах направляющая группа присоединена к 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах направляющая группа присоединена внутри цепи к нуклеотиду смысловой цепи и/или антисмысловой цепи агента РНКи. В некоторых вариантах один или более направляющих лигандов присоединены внутри цепи к одному или более нуклеотидов смысловой цепи агента РНКи. В некоторых вариантах направляющая группа присоединена к агенту РНКи через линкер.

В другом аспекте изобретения предлагаются композиции, включающие один или более агентов РНКи MMP7, которые характеризуются дуплексными структурами, указанными в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10.

5 Применение агентов РНКи MMP7 обеспечивает способы терапевтического (включая профилактическое) лечения заболеваний или расстройств, при которых снижение уровня MMP7 может обеспечить благоприятный терапевтический эффект. Раскрытые в данном контексте агенты РНКи MMP7 можно использовать для лечения различных заболеваний легких, включая идиопатический легочный фиброз (IPF), астму, различные другие типы фиброза, хроническое воспаление, 10 интерстициальные заболевания легких (ILD), инфекционные заболевания (например, SARS-COV-2), острое повреждение легких (например, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS)), легочную гипертензию, различные виды рака, неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), жировую болезнь печени, атрезию желчных путей и 15 хроническое заболевание почек (CKD). В некоторых вариантах осуществления агенты РНКи MMP7, описанные в настоящем документе, можно использовать для лечения воспалительного заболевания или состояния легких. Агенты РНКи MMP7 можно использовать для лечения, например, IPF или других типов легочного фиброза. Такие способы лечения включают введение агента РНКи 20 MMP7 человеку или животному, для которого требуется снижение уровней MMP7.

Используемые в данном контексте термины «олигонуклеотид» и «полинуклеотид» означают полимер присоединенных друг к другу нуклеозидов, каждый из которых может независимо являться модифицированным или 25 немодифицированным.

В настоящем документе «агент РНКи» (также называемый «триггер РНКи») означает композицию, которая содержит РНК или РНК-подобную (например, химически модифицированную РНК) олигонуклеотидную молекулу, которая способна деградировать или ингибировать (например, деградирует или 30 ингибирует в соответствующих условиях) трансляцию транскриптов матричной РНК (мРНК), мРНК-мишени, специфичным к последовательности образом. Описанные в данном контексте агенты РНКи могут действовать по механизму РНК-интерференции (т.е. индуцировать РНК-интерференцию за счет

взаимодействия с механизмом пути РНК-интерференции (РНК-индуцируемый сайленсинг-комплекс или RISC клеток млекопитающих) или по любому альтернативному механизму(ам) или пути (путям). Хотя считается, что агенты РНКи, как этот термин используется в настоящем документе, действуют главным образом по механизму РНК-интерференции, раскрытые агенты РНКи не связаны или не ограничены каким-либо конкретным путем или механизмом действия. Агенты РНКи, раскрытые в настоящем документе, состоят из смысловой цепи и антисмысловой цепи и включают, не ограничиваясь перечисленным: короткие (или малые) интерферирующие РНК (миРНК), двухцепочечные РНК (дцРНК), микроРНК (миРНК), короткую шпильку РНК (shRNA) и субстраты для дайсеров. Антисмысловая цепь агентов РНКи, описанных в настоящем документе, по меньшей мере частично является комплементарной мРНК-мишени (т.е. мРНК ММР7). Агенты РНКи могут включать один или более модифицированных нуклеотидов и/или одну или более не-фосфодиэфирных связей.

Используемые в настоящем документе термины «сайленс (молчание)», «снижение», «ингибирование», «регуляция с понижением экспрессии» или «нокдаун», применительно к экспрессии данного гена, означают, что экспрессия гена, измеренная по уровню РНК, транскрибируемой с гена, или по уровню полипептида, белка или белковой субъединицы, транслируемых с мРНК в клетке, группе клеток, ткани, органе, в которых транскрибируется ген, снижается, когда клетку, группу клеток, ткань, орган обрабатывают или субъекта лечат агентами РНКи, описанными в данном контексте, по сравнению со второй клеткой, группой клеток, тканью, органом или субъектом, которые не подвергаются или не подвергались такой обработке или курсу лечения.

Используемые в данном контексте термины «последовательность» и «нуклеотидная последовательность» означают последовательность или порядок расположения нуклеиновых оснований или нуклеотидов, описанных последовательностью букв с использованием стандартной номенклатуры.

Использованные в данном контексте термины «основание», «нуклеотидное основание» или «нуклеиновое основание» представляют собой гетероциклическое пиримидиновое или пуриновое соединение, которое является компонентом нуклеотида и включает первичные пуриновые основания, аденин и

гуанин, а также первичные пиримидиновые основания, цитозин, тимин и урацил. Нуклеиновое основание можно дополнительно модифицировать, включая, не ограничиваясь перечисленным, универсальные основания, гидрофобные основания, смешанные основания, основания увеличенного размера и фторированные основания (см., например, «Modified Nucleosides in Biochemistry, Biotechnology and Medicine», Herdewijn, P. ред. Wiley-VCH, (2008). Синтез таких модифицированных нуклеиновых оснований (включая фосфоамидитные соединения, которые включают модифицированные азотистые основания) известен в данной области техники.

Использованный в данном контексте и, если не указано иное, термин «комплементарный», когда он используется для описания первой нуклеиновой или нуклеотидной последовательности (например, смысловой цепи агента РНКи или мРНК-мишени) по отношению ко второй нуклеиновой или нуклеотидной последовательности (например, антисмысловая цепь агента РНКи или одноцепочечный антисмысловый олигонуклеотид), означает способность олигонуклеотида или полинуклеотида, включающего первую нуклеотидную последовательность, гибридизоваться (образовывать водородные связи пары оснований в физиологических условиях млекопитающих (или иным образом пригодных в условиях *in vivo* или *in vitro*) и образовывать дуплексную или двойную спиральную структуру в определенных стандартных условиях с олигонуклеотидом, который включает вторую нуклеотидную последовательность. Для специалиста в данной области техники представляется очевидным выбор условий, наиболее пригодных для теста гибридизации. Комплементарные последовательности включают пары оснований Уотсона-Крика или пары оснований, не Уотсона-Крика, и включают природные или модифицированные нуклеотиды или нуклеотидные миметики, по меньшей мере, в той степени, в которой выполняются вышеуказанные требования гибридизации. Идентичность или комплементарность последовательности не зависят от модификации. Например, а и Af, как определено в данном контексте, являются комплементарными U (или T) и идентичны A при определении идентичности или комплементарности.

Использованный в данном контексте «идеально комплементарный» или «полностью комплементарный» означает, что в гибридизованной паре молекул

нуклеиновых оснований или нуклеотидных последовательностей все (100%) основания в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида будут гибридизоваться с тем же самым количеством оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

В данном контексте термин «частично комплементарный» означает, что в гибридизованной паре молекул нуклеиновых оснований или нуклеотидных последовательностей по меньшей мере 70%, но не все, оснований в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида будут гибридизоваться с таким же количеством оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

В данном контексте термин «в значительной степени комплементарный» означает, что в гибридизованной паре молекул нуклеиновых оснований или нуклеотидных последовательностей по меньшей мере 85%, но не все, основания в непрерывной последовательности первого олигонуклеотида будут гибридизоваться с тем же самым количеством оснований в непрерывной последовательности второго олигонуклеотида. Непрерывная последовательность может содержать всю или часть первой или второй нуклеотидной последовательности.

В данном контексте термины «комплементарный», «полностью комплементарный», «частично комплементарный» и «в значительной степени комплементарный» используются в отношении совпадения нуклеиновых оснований или нуклеотидов между смысловой цепью и антисмысловой цепью агента РНКи, или между антисмысловой цепью агента РНКи и последовательностью мРНК ММР7.

Используемый в данном контексте термин «в значительной степени идентичный» или «значительная идентичность», применительно к последовательности нуклеиновой кислоты, означает, что нуклеотидная последовательность (или часть нуклеотидной последовательности) характеризуется по меньшей мере приблизительно 85%-ной идентичностью последовательности или более, например, по меньшей мере 90%-ной, по

меньшей мере 95%-ной или по меньшей мере 99%-ной идентичностью по сравнению с эталонной последовательностью. Идентичность последовательностей в процентах определяют при сравнении двух оптимально выровненных последовательностей в окне сравнения. Процент рассчитывают при определении числа положений, в которых один и тот же тип основания нуклеиновой кислоты встречается в обеих последовательностях, чтобы получить число совпадающих положений, при делении числа совпадающих положений на общее число положений в окне сравнения и при умножении результата на 100, при этом получают идентичность последовательностей в процентах.

10 Изобретения, описанные в данном контексте, охватывают нуклеотидные последовательности, в значительной степени идентичные описанным в данном контексте последовательностям.

Используемые в настоящем документе термины «лечить», «лечение» и т.п. означают способы или меры, предпринятые для облегчения состояния или снижения количества, тяжести и/или частоты одного или более симптомов заболевания у субъекта. В данном контексте термины «лечить» и «лечение» могут включать предотвращение, сдерживание развития, профилактическое лечение и/или подавление или уменьшение количества, тяжести и/или частоты одного или более симптомов заболевания у субъекта.

20 Используемое в данном контексте словосочетание «введение в клетку» применительно к агенту РНКи означает функциональную доставку агента РНКи в клетку. Словосочетание «функциональная доставка» означает доставку агента РНКи в клетку таким образом, чтобы обеспечить проявление агентом РНКи ожидаемой биологической активности, например, специфичной по последовательности активности ингибирования экспрессии гена.

Если не указано иное, использование символа , используемого в данном контексте, означает, что к нему можно присоединить любую группу или группы, что соответствует объему описанных в данном контексте изобретений.

30 Используемый в данном контексте термин «изомеры» относится к соединениям, которые характеризуются идентичными молекулярными формулами, но которые различаются природой или последовательностью связывания их атомов или расположением их атомов в пространстве. Изомеры, различающиеся расположением их атомов в пространстве, называются

«стереоизомерами». Стереоизомеры, которые не являются зеркальными отражениями друг друга, называются «диастереоизомерами», а стереоизомеры, несовпадающие при наложении друг на друга зеркальных отражений, называются «энантиомерами» или иногда оптическими изомерами. Атом углерода, связанный с четырьмя неидентичными заместителями, называется «хиральным центром».

В настоящем документе, если при описании структуры конкретно не указано, что она характеризуется конкретной конформацией, для каждой структуры, в которой присутствуют асимметрические центры и, таким образом, образуются энантиомеры, диастереомеры или другие стереоизомерные конфигурации, каждая структура, раскрытая в данном контексте, предназначена для обозначения всех таких возможных изомеров, включая их оптически чистые и рацемические формы. Например, структуры, раскрытые в данном контексте, предназначены для охвата смесей диастереомеров, а также отдельных стереоизомеров.

Используемое в формуле изобретения словосочетание «состоящий из» исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанные в формуле изобретения. При использовании в формуле изобретения словосочетания «состоящий в основном из» ограничивает объем формулы указанными материалами или стадиями (мерами), а также теми признаками, которые в основном не влияют на основную и новую характеристику(ки) заявленного изобретения.

Специалисту в данной области техники представляется очевидным, что соединения и композиции, раскрытые в настоящем документе, могут включать определенные атомы (например, атомы N, O или S) в протонированном или депротонированном состоянии, в зависимости от окружающей среды, в которую помещено соединение или композиция. Соответственно, при описании используемых в данном контексте структур, представленных в данном контексте, предусматривается, что определенные функциональные группы, такие как, например, OH, SH или NH, могут присутствовать в протонированной или депротонированной форме. Настоящее описание предназначено для охвата раскрытых соединений и композиций независимо от их формы протонирования в зависимости от окружающей среды (например, pH), как представляется

очевидным специалисту в данной области техники. Соответственно, описанные в данном контексте соединения с лабильными протонами или основными атомами также следует рассматривать как представляющие солевые формы соответствующего соединения. Соединения, описанные в данном контексте, могут находиться в форме свободной кислоты, свободного основания или соли. Следует понимать, что фармацевтически приемлемые соли соединений, описанных в данном контексте, включены в объем изобретения.

Используемый в данном контексте термин «связанный» или «конъюгированный», применительно к присоединению двух соединений или молекул друг к другу, означает, что два соединения или две молекулы соединены ковалентной связью. Если не указано иное, термины «связанный» и «конъюгированный», используемые в данном контексте, могут относиться к присоединению первого соединения ко второму соединению либо через какие-либо промежуточные атомы или группы атомов, либо без них.

Использованный в данном контексте термин «включающий» используется для обозначения и используется взаимозаменяемо со словосочетанием «включая, но не ограничиваясь этим». Термин «или» используется в данном контексте для обозначения термина «и/или» и используется взаимозаменяемо с ним, если в контексте явно не указано иное.

Если не указано иное, все технические и научные термины, используемые в данном контексте, имеют то же значение, которое обычно представляется очевидным специалистам в данной области техники. Хотя способы и материалы, аналогичные или эквивалентные описанным в данном контексте, можно использовать на практике или при тестировании настоящего изобретения, пригодные способы и материалы описаны ниже. Все публикации, патентные заявки, патенты и другие ссылки, упомянутые в данном контексте, включены в качестве ссылки в полном объеме. В случае противоречий преимущественную силу имеет настоящая спецификация, включая определения. Кроме того, материалы, способы и примеры носят исключительно иллюстративный характер и не предназначены для ограничения.

Другие объекты, признаки, аспекты и преимущества изобретения представляются очевидными при ознакомлении со следующим подробным описанием, прилагаемыми фигурами и пунктами формулы изобретения.

Краткое описание фигур

На фиг. 1 показана химическая структура тридентата (в составе лиганда), направляющего на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ в эпителиальной клетке, названного в данном контексте Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14).

5 На фиг. 2 показана химическая структура пептида $\alpha\upsilon\beta 6$ (в составе лиганда), направляющего на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ в эпителиальной клетке, названного в данном контексте $\alpha\upsilon\beta 6$ -per1.

10 На фиг. 3 показаны результаты колориметрического анализа МТТ для определения метаболической активности клетки, демонстрирующие низкий цитотоксический эффект агента РНКи ММР7, описанного в примере 24.

15 На фиг. 4А представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой AC001651 (см., например, табл. 8 и 10), содержащей тридентат лиганда, направляющего на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ в эпителиальной клетке, присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

20 На фигурах 4А-4F были использованы следующие сокращения: а, с, g и и означают 2'-О-метил-модифицированные нуклеотиды; Af, Cf, Gf и Uf означают 2'-фтор- модифицированные нуклеотиды; о означает фосфодиэфирную связь; s означает фосфоротиоатную связь; invAb означает инвертированный остаток с удаленным нуклеотидным основанием (см. например, табл. 11); cPrui означает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин-модифицированный нуклеотид (см. например, табл. 11); cPrга означает 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метиладенозин-модифицированный нуклеотид (см. например, табл. 11); Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14) означает тридентат лиганда, направляющего на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ в эпителиальной клетке, который характеризуется структурой, указанной на фиг. 1, и (TriAlk14) означает связующую группу, представленную в табл. 11, которую можно использовать для последующего конъюгирования с направляющими лигандами (см. также пример 1 в данном контексте).

30 На фиг. 4Б представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой AC001651 (см., например, табл. 8 и 10), содержащих тридентат лиганда, направляющего на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$ в эпителиальной клетке, присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

На фиг. 4В представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей конъюгата агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой АС002023 (см., например, табл. 8 и 10), содержащих тридентат лиганда, направляющего на интегрин $\alpha\nu\beta 6$ в эпителиальной клетке, присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

На фиг. 4Г представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей дуплекса агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой АС09887 (см., например, табл. 8 и 10), содержащих линкер (TriAlk14), присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

На фиг. 4Д представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей дуплекса агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой АС09667 (см., например, табл. 8 и 10), содержащих линкер (TriAlk14), присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

На фиг. 4Е представлена схематическая диаграмма модифицированных смысловой и антисмысловой цепей дуплекса агента РНКи ММР7, который характеризуется структурой АС10441 (см., например, табл. 8 и 10), содержащих линкер (TriAlk14), присоединенный к 5' концу смысловой цепи.

Подробное описание настоящего изобретения

Агенты РНКи

В данном контексте представлены агенты РНКи для ингибирования экспрессии гена ММР7 (названные в данном контексте агенты РНКи ММР7 или триггеры РНКи ММР7). Каждый агент РНКи ММР7, описанный в данном контексте, включает смысловую цепь и антисмысловую цепь. Длина смысловой цепи может составлять от 12 до 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина смысловой цепи может составлять от 12 до 49 нуклеотидов. Длина антисмысловой цепи может составлять от 18 до 49 нуклеотидов. Смысловая и антисмысловая цепи могут характеризоваться как одинаковой, так и различной длиной. В некоторых вариантах длина каждой смысловой и антисмысловой цепи независимо составляет от 18 до 27 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина каждой как смысловой, так и антисмысловой цепи составляет от 21-26 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина каждой смысловой и антисмысловой цепи составляет 21-24 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина каждой смысловой и антисмысловой цепи независимо составляет 19-21 нуклеотид. В

некоторых вариантах длина смысловой цепи составляет приблизительно 19 нуклеотид, в то время как длина антисмысловой цепи составляет приблизительно 21 нуклеотид. В некоторых вариантах длина смысловой цепи составляет приблизительно 21 нуклеотидов, в то время как длина антисмысловой цепи составляет приблизительно 23 нуклеотида. В некоторых вариантах длина смысловой цепи составляет 23 нуклеотида, а длина антисмысловой цепи составляет 21 нуклеотид. В некоторых вариантах длина каждой как смысловой цепи, так и каждой антисмысловой цепи составляет 21 нуклеотид. В некоторых вариантах длина каждой из смысловых цепей агента РНКи независимо составляет 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, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48 или 49 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина каждой антисмысловой цепи агента РНКи независимо составляет 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 или 30 нуклеотидов. В некоторых вариантах агент РНКи формирует двухцепочечную структуру, а длина дуплекса составляет приблизительно 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23 или 24 нуклеотида. В некоторых вариантах агент РНКи формирует двухцепочечную структуру, а длина дуплекса составляет приблизительно 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотида.

Примеры нуклеотидных последовательностей, используемых при формировании агентов РНКи ММР7, представлены в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10. Примеры дуплексов агентов РНКи, которые включают последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи, представлены в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10.

В некоторых вариантах область идеальной, в значительной степени или частичной комплементарности между смысловой цепью и антисмысловой цепью в длину составляет 16-26 (например, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25 или 26) нуклеотидов и расположена на 5'-конце антисмысловой цепи или рядом с ним (например, эта область может являться отделенной от 5'-конца антисмысловой цепи на 0, 1, 2, 3 или 4 нуклеотида), которые не являются идеально, в значительной степени или частично комплементарными в отношении друг к другу).

Смысловая цепь агентов РНКи ММР7, описанных в настоящем документе, включает по меньшей мере 12 последовательных нуклеотидов, которые

характеризуются по меньшей мере 85%-ной идентичностью с последовательностью центрального участка (также называемой в настоящем документе «центральным участком» или «центральной последовательностью»), с таким же числом нуклеотидов в мРНК ММР7. В некоторых вариантах

5 последовательность центрального участка смысловой цепи характеризуется 100%-ной (идеальной) комплементарностью или по меньшей мере приблизительно 85%-ной (в значительной степени) комплементарностью с последовательностью центрального участка антисмысловой цепи, и, таким образом, последовательность центрального участка смысловой цепи обычно

10 характеризуется идеальной идентичностью или по меньшей мере приблизительно 85%-ной идентичностью с нуклеотидной последовательностью той же длины (иногда называемой, например, последовательностью-мишенью), присутствующей в мРНК-мишени ММР7. В некоторых вариантах длина этого центрального участка смысловой цепи составляет 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23

15 нуклеотида. В некоторых вариантах длина этого центрального участка смысловой цепи составляет 17 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина этого центрального участка смысловой цепи составляет 19 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина этого центрального участка смысловой цепи составляет 21 нуклеотид.

20 Антисмысловая цепь агента РНКи ММР7, описанная в настоящем документе, включает по меньшей мере 15 последовательных нуклеотидов, которые характеризуются по меньшей мере 85%-ной комплементарностью с центральным участком с таким же числом нуклеотидов в мРНК ММР7, и с центральным участком с таким же числом нуклеотидов соответствующей

25 смысловой цепи. В некоторых вариантах центральный участок антисмысловой цепи характеризуется 100% (идеальной) комплементарностью или по меньшей мере приблизительно на 85% (в значительной степени) комплементарностью нуклеотидной последовательности (например, последовательности-мишени) той же длины, которой характеризуется мРНК-мишень ММР7. В некоторых

30 вариантах длина этого центрального участка антисмысловой цепи составляет 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотида. В некоторых вариантах длина этого центрального участка ядра антисмысловой цепи составляет 19 нуклеотидов. В некоторых вариантах длина этого центрального участка антисмысловой цепи

составляет 17 нуклеотидов. Последовательность центрального участка смысловой цепи может составлять ту же длину, что и соответствующая последовательность центрального участка антисмысловой цепи, или она может отличаться от этой длины.

5 Смысловую и антисмысловую цепи агента РНКи ММР7 подвергают отжигу, при этом формируется дуплекс. Смысловая цепь и антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 могут характеризоваться частичной, значительной или
10 полной комплементарностью в отношении друг к другу. Внутри комплементарной дуплексной области последовательность центрального участка смысловой цепи характеризуется по меньшей мере 85%-ной или 100%-ной
15 комплементарностью с последовательностью центрального участка антисмысловой цепи. В некоторых вариантах последовательность центрального участка смысловой цепи содержит последовательность по меньшей мере из 16,
20 по меньшей мере из 17, по меньшей мере из 18, по меньшей мере из 19, по меньшей мере из 20, по меньшей мере из 21, по меньшей мере из 22 или по
25 меньшей мере из 23 нуклеотидов, и которая характеризуется по меньшей мере 85%-ной или 100%-ной комплементарностью с соответствующей последовательностью из 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22 или 23 нуклеотидов последовательности центрального участка антисмысловой цепи (т.е.
30 последовательности центральных участков смысловой и антисмысловой цепей агента РНКи ММР7 включают область по меньшей мере из 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 нуклеотидов, которая
35 содержит по меньшей мере 85% спаренных оснований или 100% спаренных оснований).

 В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7, описанного в данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей антисмысловой цепи, указанных в таблице 2 или
40 таблице 3. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7, раскрытого в данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 4,
45 таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах смысловая цепь и/или антисмысловая цепь могут необязательно и независимо содержать дополнительные 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов (удлинение) на 3'-конце, 5'-конце, или на обоих 3'- и 5'-концах последовательностей центральных участков. Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если они присутствуют, могут характеризоваться или не характеризоваться комплементарностью с соответствующей последовательностью в мРНК ММР7. Дополнительные нуклеотиды смысловой цепи, если они присутствуют, могут являться идентичными или не являться идентичными соответствующей последовательности мРНК ММР7.

Дополнительные нуклеотиды антисмысловой цепи, если они присутствуют, могут характеризоваться или не характеризоваться комплементарностью с дополнительными нуклеотидами соответствующей смысловой цепи, если они присутствуют.

Как использовано в данном контексте, расширение включает 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов на 5'- и/или 3'-конце последовательности центрального участка смысловой цепи и/или последовательности центрального участка антисмысловой цепи. Нуклеотиды удлинения смысловой цепи могут характеризоваться или не характеризоваться комплементарностью с нуклеотидами, либо нуклеотидами последовательности центрального участка, либо с нуклеотидами удлинения, в соответствующей антисмысловой цепи. И наоборот, нуклеотиды удлинения антисмысловой цепи могут характеризоваться или не характеризоваться комплементарностью с нуклеотидами, либо с нуклеотидами центрального участка, либо с нуклеотидами удлинения, в соответствующей смысловой цепи. В некоторых вариантах как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь агента РНКи содержат 3'- и 5'-удлинения. В некоторых вариантах один или более нуклеотидов 3'-удлинения одной цепи образуют пары оснований с одним или более нуклеотидов 5'-удлинения другой цепи. В других вариантах один или более нуклеотидов 3'-удлинения одной цепи не образуют пары оснований с одним или более нуклеотидов 5'-удлинения другой цепи. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 включает антисмысловую цепь, содержащую 3'-удлинение, и смысловую цепь, содержащую 5'-удлинение. В некоторых вариантах нуклеотид(ы) удлинения являются неспаренными и образуют выступ. Как использовано в данном

контексте, «выступ» относится к участку из одного или более неспаренных нуклеотидов, расположенному на концевом участке либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи, который не формирует фрагмент гибридизованной или дуплексной части агента РНКи, раскрытого в данном контексте (см., например, патент США № 8362231).

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит антисмысловую цепь, включающую 3'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В других вариантах агент РНКи ММР7 содержит антисмысловую цепь, включающую 3'-удлинение длиной 1, 2 или 3 нуклеотида. В некоторых вариантах один или более нуклеотидов удлинения антисмысловой цепи содержат нуклеотиды, которые являются комплементарными соответствующей последовательности мРНК ММР7. В некоторых вариантах один или более нуклеотидов удлинения антисмысловой цепи содержат нуклеотиды, которые не являются комплементарными соответствующей последовательности мРНК ММР7.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит смысловую цепь, включающую 3'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4 или 5 нуклеотидов. В некоторых вариантах один или более нуклеотидов удлинения смысловой цепи содержат аденозиновые, урациловые или тимидиновые нуклеотиды, АТ-динуклеотиды или нуклеотиды, которые соответствуют или идентичны нуклеотидам в последовательности мРНК ММР7. В некоторых вариантах удлинение 3'-смысловой цепи включает или состоит из одной из следующих последовательностей, но не ограничивается ими: Т, УТ, ТТ, УУ, УУТ, ТТТ или ТТТТ (каждая из которых указана от 5' до 3' конца).

Смысловая цепь может содержать 3'-удлинение и/или 5'-удлинение. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит смысловую цепь, включающую 5'-удлинение длиной 1, 2, 3, 4, 5 или 6 нуклеотидов. В некоторых вариантах один или более нуклеотидов удлинения смысловой цепи содержат нуклеотиды, которые соответствуют или идентичны нуклеотидам в последовательности мРНК ММР7.

Примеры последовательностей, используемых при формировании агентов РНКи ММР7, представлены в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10. В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 включает последовательность любой из последовательностей, указанных в таблицах 2, 3 или 10. В некоторых вариантах

антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит или состоит из любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3. В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 включает последовательность нуклеотидов (от 5'-конца до → 3'-конца) 1-17, 2-15, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21 или 2-21, любой из последовательностей, указанных в таблицах 2 или 3. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 включает последовательность любой из последовательностей, указанных в таблицах 2, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНК- ММР7 включает последовательность нуклеотидов (от 5' конца → до 3'-конца) 1-18, 1-19, 1-20, 1-21, 2-19, 2-20, 2-21, 3-20, 3-21 или 4-21 любой из последовательностей, указанных в таблицах 2, 4, 5 или 6. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит или состоит из модифицированной последовательности любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблицах 4, 5, 6 или 10.

В некоторых вариантах смысловая и антисмысловая цепи агентов РНКи, описанных в данном контексте, содержат одинаковое число нуклеотидов. В некоторых вариантах смысловая и антисмысловая цепи агентов РНКи, описанных в данном контексте, содержат различное число нуклеотидов. В некоторых вариантах 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой цепи агента РНКи образуют тупой конец. В некоторых вариантах 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи агента РНКи образуют тупой конец. В некоторых вариантах оба конца агента РНКи включают тупые концы. В некоторых вариантах ни один конец агента РНКи не является тупым. В данном контексте «тупой конец» относится к концу двухцепочечного агента РНКи, в котором концевые нуклеотиды двух цепей после отжига являются комплементарными (образуют комплементарную пару оснований).

В некоторых вариантах 5'-конец смысловой цепи и 3'-конец антисмысловой цепи агента РНКи образуют липкий конец. В некоторых вариантах 3'-конец смысловой цепи и 5'-конец антисмысловой цепи агента РНКи образуют липкий конец. В некоторых вариантах оба конца агента РНКи образуют липкий конец. В данном контексте термин «липкий конец» относится к концу двухцепочечного агента РНКи, в котором концевые нуклеотиды двух цепей после отжига образуют пару (т. е. не образуют выступающую часть), но не являются

комплементарными (т. е. образуют некомплементарную пару). В некоторых вариантах один или более неспаренных нуклеотидов на конце одной цепи двухцепочечного агента РНКи образуют выступающий конец. Неспаренные нуклеотиды могут находиться на смысловой или антисмысловой цепи, образуя 3'- или 5'-выступы. В некоторых вариантах агент РНКи содержит: тупой конец и липкий конец, тупой конец и выступающий 5'-конец, тупой конец и выступающий 3'-конец, липкий конец и выступающий 5'-конец, липкий конец и выступающий 3'-конец, два выступающих 5'-конца, два выступающих 3'-конца, выступающий 5'-конец и выступающий 3'-конец, два липких конца или два тупых конца. Обычно выступающие фрагменты, если они присутствуют, располагаются на 3'-концах смысловой цепи, антисмысловой цепи или на обоих цепях, как смысловой, так и антисмысловой цепи.

Агенты РНКи ММР7, раскрытые в данном контексте, также могут состоять из одного или нескольких модифицированных нуклеотидов. В некоторых вариантах в основном все нуклеотиды смысловой цепи и в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи агента РНКи ММР7 представляют собой модифицированные нуклеотиды. Раскрытые в данном контексте агенты РНКи ММР7 могут дополнительно включать одну или более модифицированных межнуклеозидных связей, например, одну или более фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит один или более модифицированных нуклеотидов и одну или более модифицированных межнуклеозидных связей. В некоторых вариантах 2'-модифицированный нуклеотид присоединен через модифицированную межнуклеозидную связь.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают или предоставляют в виде соли, смеси солей или свободной кислоты. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают в виде фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают в виде фармацевтически приемлемой натриевой соли. Такие формы, которые хорошо известны в данной области техники, включены в объем раскрытых в данном контексте изобретений.

30 Модифицированные нуклеотиды

Модифицированные нуклеотиды при использовании в различных олигонуклеотидных конструктах могут сохранять активность соединения в клетках, одновременно повышая сывороточную стабильность этих соединений, а

также могут свести к минимуму возможность активации активности интерферона у людей при введении олигонуклеотидного конструкта.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит один или более модифицированных нуклеотидов. Как использовано в данном контексте, «модифицированный нуклеотид» представляет собой нуклеотид, отличающийся от рибонуклеотида (2'-гидроксил-нуклеотид). В некоторых вариантах по меньшей мере 50% (например, по меньшей мере 60%, по меньшей мере 70%, по меньшей мере 80%, по меньшей мере 90%, по меньшей мере 95%, по меньшей мере 97%, по меньшей мере 98%, по меньшей мере 99% или 100%) нуклеотидов являются модифицированными нуклеотидами. Как использовано в данном контексте модифицированные нуклеотиды могут включать, не ограничиваясь перечисленным, дезоксирибонуклеотиды, нуклеотидные миметики, нуклеотиды с удаленным азотистым основанием, 2'-модифицированные нуклеотиды, инвертированные нуклеотиды, модифицированные нуклеотиды, содержащие азотистые основания, мостиковые нуклеотиды, пептидно-нуклеиновые кислоты (ПНК), 2'-нуклеотиды, миметики 2',3'-секонуклеотидов (аналоги незамкнутых азотистых оснований), защищенные нуклеотиды, 3'-О-метокси (2'-межнуклеозидные связанные) нуклеотиды, 2'-F-арабинонуклеотиды, 5'-метил-2'-фторнуклеотиды, морфолинонуклеотиды (модифицированные нуклеотиды, содержащие морфолиновое кольцо), нуклеотиды, содержащие типичное модифицированное 5-членное сахаридное кольцо нуклеотида, винилфосфонат-дезоксирибонуклеотиды, винилфосфонатсодержащие нуклеотиды и циклопропилфосфонатсодержащие нуклеотиды, 2'-модифицированные нуклеотиды (т.е. нуклеотид с группой, отличающейся от гидроксильной группы, в 2'-положении пятичленного сахаридного кольца) включают, не ограничиваясь перечисленным, 2'-О-метилнуклеотиды (также называемые 2'-метоксинуклеотидами), 2'-фторнуклеотиды (также называемые здесь 2'-дезоксидефторнуклеотидами), 2'-дезоксинуклеотиды, 2'-метоксиэтил (2'-О-2'-метоксиэтил) нуклеотиды (также называемые 2'-МОЕ), 2'-аминонуклеотиды, 2'-галогеннуклеотиды и 2'-алкилнуклеотиды. Не обязательно, чтобы все положения в данном соединении были одинаково модифицированы. И наоборот, более чем одну модификацию можно включить в один агент РНКи ММР7 или даже в один его нуклеотид. Смысловые и антисмысловые цепи агента РНКи ММР7 можно

синтезировать и/или модифицировать способами, известными в данной области техники. Модификация одного нуклеотида не зависит от модификации другого нуклеотида.

Модифицированные нуклеиновые основания включают синтетические и
5 природные нуклеиновые основания, такие как 5-замещенные пиримидины, 6-
азапиримидины и N-2, N-6 и O-6 замещенные пурины (например, 2-
аминопропиладенин, 5-пропинилурацил или 5-пропинилцитозин), 5-
метилцитозин (5-me-C), 5-гидроксиметилцитозин, инозин, ксантин, гипоксантин,
10 2-аминоаденин, 6-алкил- (например, 6-метил, 6-этил, 6-изопропил или 6-н-
бутил) производные аденина и гуанина, 2-алкил (например, 2-метил, 2-этил, 2-
изопропил или 2-н-бутил) и другие алкильные производные аденина и гуанина,
2-тиоурацил, 2-тиотимин, 2-тиоцитозин, 5-галогенурацил, цитозин, 5-
пропинилурацил, 5-пропинилцитозин, 6-азоурацил, 6-азоцитозин, 6-азотимин, 5-
урацил (псевдоурацил), 4-тиоурацил, 8-галоген, 8-амино, 8-сульфгидрил, 8-
15 тиоалкил, 8-гидроксил и другие 8-замещенные аденины и гуанины, 5-галоген
(например, 5-бром), 5-трифторметил и другие 5-замещенные урацилы и
цитозины, 7-метилгуанин и 7-метиладенин, 8-азагуанин и 8-азааденин, 7-
деазагуанин, 7-дезааденин, 3-деазагуанин и 3-дезааденин.

В некоторых вариантах 5'- и/или 3'-конец антисмысловой цепи может
20 включать остатки нуклеотида с удаленным азотистым основанием (Ab), которые
также можно называть «сайтом с удаленным азотистым основанием» или
«нуклеотидом с удаленным азотистым основанием». Нуклеотид с удаленным
азотистым основанием (Ab) представляет собой нуклеотид или нуклеозид, в
котором отсутствует азотистое основание в 1'-положении сахаридного
25 фрагмента (см., например, патент США № 5998203). В некоторых вариантах
остаток с удаленным азотистым основанием может располагаться внутри
нуклеотидной последовательности. В некоторых вариантах Ab или AbAb можно
добавить к 3'-концу антисмысловой цепи. В некоторых вариантах 5'-конец
смысловой цепи может включать один или более дополнительных остатков с
30 удаленным азотистым основанием (например, (Ab) или (AbAb)). В некоторых
вариантах UUAб, UAб или Ab добавляют к 3'-концу смысловой цепи. В
некоторых вариантах остаток с удаленным азотистым основанием

(дезоксирибоза) можно заменить на остаток рибита (рибоза с удаленным азотистым основанием).

В некоторых вариантах все или практически все нуклеотиды агента РНКи представляют собой модифицированные нуклеотиды. Как использовано в
данном контексте, агент РНКи, в котором практически все присутствующие
нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами, представляет собой
агент РНКи, включающий четыре или менее (т.е. 0, 1, 2, 3 или 4) нуклеотида как
в смысловой цепи, так и в антисмысловой цепи, представляющие собой
рибонуклеотиды (т.е. немодифицированные). В данном контексте смысловая
цепь, в которой практически все присутствующие нуклеотиды являются
модифицированными нуклеотидами, представляет собой смысловую цепь,
включающую два или менее (т.е. 0, 1 или 2) нуклеотидов в смысловой цепи,
которые представляют собой не-модифицированные рибонуклеотиды. Как
использовано в данном контексте, антисмысловая цепь, в которой практически
все присутствующие нуклеотиды представляют собой модифицированные
нуклеотиды, является антисмысловой цепью, включающей два или менее (т.е. 0,
1 или 2) нуклеотида в антисмысловой цепи, представляющих собой
немодифицированные рибонуклеотиды. В некоторых вариантах один или более
нуклеотидов агента РНКи представляют собой немодифицированный
рибонуклеотид. Химические структуры некоторых модифицированных
нуклеотидов представлены в данном контексте в таблице 11.

Модифицированные межнуклеозидные связи

В некоторых вариантах один или более нуклеотидов агента РНКи ММР7
связаны нестандартными связями или каркасными структурами (т.е.
модифицированными межнуклеозидными связями или модифицированными
каркасными структурами). Модифицированные межнуклеозидные связи или
каркасные структуры включают, не ограничиваясь перечисленным,
фосфоротиоатные группы (представленные в данном контексте строчными
буквами «s»), хиральные фосфоротиоаты, тиофосфаты, фосфородитиоаты,
фосфотриэфиры, аминоалкилфосфотриэфиры, алкилфосфонаты (например,
метилфосфонаты или 3'-алкиленфосфонаты), хиральные фосфонаты, фосфинаты,
фосфоамидамы (например, 3'-аминофосфоамидат,
аминоалкилфосфоамидаты или тионофосфоамидаты),

тионоалкилфосфонаты, тионоалкилфосфотриэфиры, морфолиновые связи, боранофосфаты, включающие нормальные 3'-5' связи, 2'-5' связанные аналоги боранофосфатов или боранофосфаты, характеризующиеся инвертированной полярностью, в которых соседние пары нуклеозидных звеньев присоединены друг к другу следующим образом: 3'-5' с 5'-3' или 2'-5' с 5'-2'. В некоторых вариантах в модифицированной межнуклеозидной связи или каркасной структуре отсутствует атом фосфора. Модифицированные межнуклеозидные связи, лишенные атома фосфора, включают, не ограничиваясь перечисленным, короткоцепочечные алкильные или циклоалкильные межсахаридные связи, смешанные гетероатомные и алкильные или циклоалкильные межсахаридные связи или одну или более короткоцепочечных гетероатомных или гетероциклических межсахаридных связей. В некоторых вариантах модифицированные межнуклеозидные каркасные структуры включают, не ограничиваясь перечисленным, силоксановые каркасные структуры, сульфидные каркасные структуры, сульфоксидные каркасные структуры, сульфоновые каркасные структуры, формилацетильные и тиоформилацетильные каркасные структуры, метиленформилацетильные и тиоформилацетильные каркасные структуры, алкенсодержащие каркасные структуры, сульфаматные каркасные структуры, метиленимино- и метиленгидразино-каркасные структуры, сульфонатные и сульфонамидные каркасные структуры, амидные каркасные структуры и другие каркасные структуры, включающие смешанные компоненты N, O, S и CH₂.

В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей, антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 может содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей или как смысловая цепь, так и антисмысловая цепь независимо друг от друга могут содержать 1, 2, 3, 4, 5 или 6 фосфоротиоатных связей. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи, антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 может содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи или обе смысловая цепь и антисмысловая цепь независимо могут содержать 1, 2, 3 или 4 фосфоротиоатные связи.

В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит по меньшей мере две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах фосфоротиоатные межнуклеозидные связи расположены между нуклеотидами в положениях 1-3 от 3'-конца смысловой цепи. В некоторых вариантах одна фосфоротиоатная межнуклеозидная связь находится на 5'-конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи, а другая фосфоротиоатная связь расположена на 3'-конце нуклеотидной последовательности смысловой цепи. В некоторых вариантах две фосфоротиоатные межнуклеозидные связи расположены на 5'-конце смысловой цепи, а еще одна фосфоротиоатная связь находится на 3'-конце смысловой цепи. В некоторых вариантах смысловая цепь не включает никаких фосфоротиоатных межнуклеозидных связей между нуклеотидами, но содержит одну, две или три фосфоротиоатные связи между концевыми нуклеотидами как на 5'-, так и на 3'-конце, а также необязательно присутствующими концевыми кэпами инвертированного остатка судаленным азотистым основанием. В некоторых вариантах направляющий лиганд связан со смысловой цепью через фосфоротиоатную связь.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи находятся между нуклеотидами в положениях 1-3 от 5'-конца антисмысловой цепи и между нуклеотидами в положениях 19-21, 20-22, 21-23, 22-24, 23-25 или 24-26 от 5'-конца. В некоторых вариантах три фосфоротиоатные межнуклеозидные связи расположены между положениями 1-4 от 5'-конца антисмысловой цепи, а четвертая фосфоротиоатная межнуклеозидная связь расположена между положениями 20-21 от 5'-конца антисмысловой цепи. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит по меньшей мере три или четыре фосфоротиоатные межнуклеозидные связи в антисмысловой цепи.

Кэпирующие остатки или фрагменты

В некоторых вариантах смысловая цепь может включать один или более кэпирующих остатков или фрагментов, иногда называемых в данной области техники «кэпом», «концевым кэпом» или «кэпирующим остатком». Как использовано в данном контексте, «кэпирующий остаток» представляет собой не-нуклеотидное соединение или другой фрагмент, который можно включать в

один или более концов нуклеотидной последовательности агента РНКи, раскрытого в данном контексте. Кэпирующий остаток может в некоторых случаях обеспечить агенту РНКи определенные, придающие преимущество свойства, такие как, например, защита от деградации экзонуклеазой. В некоторых вариантах инвертированные, с удаленными азотистыми основаниями остатки (*invAb*) (также называемые в данной области техники «инвертированные сайты с удаленными азотистыми основаниями») добавляют в качестве кэпирующих остатков (см. таблицу 11) (см., например, статью F. Czauderna, *Nucleic Acids Res.*, 31(11), 2705-2716 (2003). Кэпирующие остатки в основном известны в данной области и включают, например, инвертированные, с удаленными азотистыми основаниями остатки, а также углеродные цепи, такие как концевые группы C_3H_7 (пропил), C_6H_{13} (гексил) или $C_{12}H_{25}$ (додецил). В некоторых вариантах кэпирующий остаток присутствует либо на 5'-конце, либо на 3'-конце, либо на обоих 5'- и 3'-концах смысловой цепи. В некоторых вариантах 5'-конец и/или 3'-конец смысловой цепи могут включать более одного инвертированного дезоксирибозного фрагмента с удаленным азотистым основанием в качестве кэпирующего остатка.

В некоторых вариантах к 3'-концу смысловой цепи добавляют один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (*invAb*). В некоторых вариантах к 5'-концу смысловой цепи добавляют один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (*invAb*). В некоторых вариантах между направляющим лигандом и нуклеотидной последовательностью смысловой цепи агента РНКи вставлены один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием или инвертированных сайтов с удаленным азотистым основанием. В некоторых вариантах включение одного или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием или инвертированных сайтов с удаленным азотистым основанием на концевом фрагменте или на концевых фрагментах или вблизи них, смысловой цепи агента РНКи позволяет повысить активность или другие требуемые свойства агента РНКи.

В некоторых вариантах к 5'-концу смысловой цепи добавляют один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием (*invAb*). В некоторых вариантах между направляющим лигандом и нуклеотидной

последовательностью смысловой цепи агента РНКи вставлены один или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием.

5 Инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием можно присоединять через фосфонатные, фосфоротиоатные (например, представленные в данном контексте как (invAb)) или другие межнуклеозидные связи. В некоторых вариантах включение одного или более инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием на концевом фрагменте или концевых фрагментах или вблизи них, смысловой цепи агента РНКи может обеспечить повышенную активность или другие требуемые свойства агента РНКи. В 10 некоторых вариантах инвертированный остаток с удаленным азотистым основанием (дезоксирибоза) можно заменить остатком инвертированного рибита (рибоза с удаленным азотистым основанием). В некоторых вариантах 3'-конец центрального участка антисмысловой цепи или 3'-конец антисмысловой цепи может включать инвертированный остаток с удаленным азотистым основанием. 15 Химические структуры инвертированных остатков с удаленным азотистым основанием дезоксирибозы указаны в таблице 11 ниже.

Агенты РНКи MMP7

Агенты РНКи MMP7, описанные в данном контексте, сконструированы для воздействия на определенные положения гена MMP7 (например, SEQ ID NO:1 20 (NM_002423.5)). Как определено в данном контексте, последовательность антисмысловой цепи предназначена для направления на ген MMP7 в заданном положении гена, когда 5'-концевое азотистое основание антисмысловой цепи выравнено с положением, которое включает следующий фрагмент из 21 нуклеотида (по направлению к 3'-концу) от положения в гене при спаривании 25 оснований с геном. Например, как показано в таблицах 1 и 2 в данном контексте, для последовательности антисмысловой цепи, сконструированной для направления на ген MMP7 в положении 303, требуется, чтобы при спаривании оснований с геном 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи было выровнено с положением 323 гена MMP7.

30 Как представлено в данном контексте, для агента РНКи MMP7 не требуется наличие комплементарности азотистого основания в положении 1 (5'→3') антисмысловой цепи с геном, при условии, что существует по меньшей мере 85%-ная комплементарность (например, по меньшей мере 85, 86, 87, 88, 89, 90,

91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и гена по всей непрерывной последовательности центрального участка, включающего по меньшей мере 16 последовательных нуклеотидов. Например, для раскрытого в данном контексте агента РНКи ММР7, который

5 сконструирован для направления на положение 303 гена ММР7, 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи агента РНКи ММР7 следует выровнять с положением 323 гена; однако 5'-концевое нуклеиновое основание антисмысловой цепи может являться, но не обязательно, комплементарным положению 323 гена ММР7 при условии, что существует по меньшей мере 85%-

10 ная комплементарность (например, по меньшей мере 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 или 100% комплементарность) антисмысловой цепи и транскрипта гена по всей последовательности центрального участка, состоящей по меньшей мере из 16 последовательных нуклеотидов. Как было установлено, и, не ограничиваясь перечисленным, описано в различных примерах, раскрытых

15 в данном контексте, конкретный сайт связывания гена антисмысловой цепью агента РНКи ММР7 (например, сконструирован ли агент РНКи ММР7 для направления на ген ММР7 в положении 303, в положении 418, в положении 971 или в каком-либо другом положении) является важным фактором уровня ингибирования, достигаемого агентом РНКи ММР7 (см., например, статью

20 Kamola и др., The siRNA Non-seed Region and Its Target Sequences are Auxiliary Determinants of Off-Target Effects, PLOS Computational Biology, 11(12), фигура 1 (2015)).

В некоторых вариантах агенты РНКи ММР7, описанные в данном контексте, направлены на ген ММР7 в положениях последовательности ММР7

25 или рядом с ними, показанных в таблице 1. В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7, раскрытая в настоящем документе, включает последовательность центрального участка, которая полностью, в значительной степени или по меньшей мере частично комплементарна 19-членной последовательности ММР7, описанной в таблице 1.

Таблица 1

Последовательности-мишени 19-членной мРНК MMP7 (взяты из транскрипта матричной металлопептидазы 7 (MMP7) *Homo sapiens*, GenBank NM_002423.5 (последовательность SEQ ID NO:1)).

№ последовательности, SEQ ID	19-членная последовательность-мишень MMP7 (5' → 3')	Соответствующие положения в последовательности SEQ ID NO: 1	Положение целевого гена (как указано в данном контексте)
2	AUGUGGAGUGCCAGAUGUU	305-323	303
3	GUGGAGUGCCAGAUGUUGC	307-325	305
4	UGGAGUGCCAGAUGUUGCA	308-326	306
5	GAGUGCCAGAUGUUGCAGA	310-328	308
6	AGUGCCAGAUGUUGCAGAA	311-329	309
7	GUGCCAGAUGUUGCAGAAU	312-330	310
8	UGCCAGAUGUUGCAGAAUA	313-331	311
9	CAUUUGAUGGGCCAGGAAA	550-568	548
10	UGAUGGGCCAGGAAACACG	554-572	552
11	GGCUCAGGACUAUCUCAAG	149-167	147
12	CUCAAGAGAUUUUAUCUCU	162-180	160
13	AGAGAUUUUAUCUCUAUGA	166-184	164
14	GAUUUAUCUCUAUGACUC	169-187	167
15	UGUGGAGUGCCAGAUGUUA	306-324	304
16	AGUGCCAGAUGUUGCAGAA	311-329	309
17	CAGAUGUUGCAGAAUACUC	316-334	314
18	UUGCAGAAUACUCACUAUU	322-340	320
19	UGCAGAAUACUCACUAUUU	323-341	321
20	UACAGUGGAUCGAUUAGUG	416-434	414
21	ACAGUGGAUCGAUUAGUGU	417-435	415
22	GUGGAUCGAUUAGUGUCAA	420-438	418
23	GAGAUGCUCACUUCGAUGA	610-628	608
24	AUUAACUUCUGUAUGC UA	663-681	661
25	AGUGAUGUAUCCAACCUAU	737-755	735
26	GUAUCCAACCUAUGGAAAU	743-461	741
27	AAGGCAUUCAGAAACUAUA	802-820	800
28	GUUGCACAAUCAGAAUUGA	902-920	900
29	UUGCACAAUCAGAAUUGAU	903-921	901
30	CAAUCAGAAUUGAUAAGCA	908-926	906
31	AAUCAGAAUUGAUAAGCAA	909-927	907
32	GUCACCCUUUUUAUUGCA	955-973	953
33	GCAGUUGGUUUUUGAAUGU	971-989	969
34	AGUUGGUUUUUGAAUGUCU	973-991	971
35	GUUGGUUUUUGAAUGUCUU	974-992	972
36	CUCCUUUAAGGAUAAACU	996-1014	994

5

Матричная металлопептидаза 7 *Homo sapiens* (MMP7), GenBank NM_002423.5 (SEQ ID NO:1), транскрипт гена (1119 оснований):

1 ассаатсаа ссагагггс аагаасаатт гтсггггс гсгсгсгсгс гсгсгсгсгс

61 гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс гтсггггс

121 gaggcacgag tgagctacag tgggaacagg ctcaggacta tctcaagaga ttttatctct
181 atgactcaga aacaaaaaat gccaacagtt tagaagccaa actcaaggag atgcaaaaaat
241 tctttggcct acctataact ggaatgftaa actcccgcgt catagaaata atgcagaagc
301 ccagatgtgg agtgccagat gttgcagaat actcactatt tccaaatagc ccaaaatgga
5 361 cttccaaagt ggtcacctac aggatcgtat catatactcg agacttacg catattacag
421 tggatcgatt agtgcaaaag gctttaaaca tgtggggcaa agagatccc ctgcattca
481 ggaaagtgt atggggaact gctgacatca tgattggctt tgcgcgagga gctcatgggg
541 actcctacc atttgatggg ccaggaaca cgctggctca tgcctttgcg cctgggacag
601 gtctcggagg agatgctcac ttcgatgagg atgaacgctg gacggatggt agcagtctag
10 661 ggattaactt cctgtatgct gcaactcatg aacttggcca ttctttgggt atgggacatt
721 cctctgatcc taatgcagtg atgtatcaa cctatggaaa tggagatccc caaaatttta
781 aactttccca ggatgatatt aaaggcattc agaaactata tggaaagaga agtaattcaa
841 gaaagaaata gaaacttcag gcagaacatc cattcattca ttattggat tgcattatcat
901 tgttgcaaca tcagaattga taagcactgt tctccactc catttagcaa ttatgtcacc
15 961 cttttttatt gcagttgggt tttgaatgct tttcactcct ttaaggata aactccttta
1021 tgggtgact gtgtcttatt catctatact tgcagtgggt agatgtcaat aaatgttaca
1081 tacacaaata aataaaatgt ttattccatg gtaaattta

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 включает антисмысловую цепь, где положение 19 антисмысловой цепи (5'→3') способно образовывать пару оснований с положением 1 19-членной последовательности-мишени, указанной в таблице 1. В некоторых вариантах агент ММР7 включает антисмысловую цепь, где положение 1 антисмысловой цепи (5'→3') способно образовывать пару оснований с положением 19 19-членной последовательности-мишени, описанной в таблице 1.

В некоторых вариантах агент ММР7 включает антисмысловую цепь, где положение 2 антисмысловой цепи (5'→3') способно образовывать пару оснований с положением 18 19-членной последовательности-мишени, указанной в таблице 1. В некоторых вариантах агент ММР7 включает антисмысловую цепь, где положения 2-18 антисмысловой цепи (5'→3') способны образовывать пары оснований с каждым из соответствующих комплементарных оснований, расположенных в положениях 18-2 19-членной последовательности-мишени, указанной в таблице 1.

Для агентов РНКи, раскрытых в данном контексте, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (от 5' до \rightarrow 3'-конца) может являться идеально комплементарным гену ММР7 или может являться не-комплементарным гену ММР7. В некоторых вариантах нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' \rightarrow 3') представляет собой U, A или dT. В некоторых вариантах реализации нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (5' \rightarrow 3') образует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи, приведенных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах смысловая цепь РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 1-17, 1-18 или 2-18 любой из последовательностей смысловой цепи, приведенных в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи, указанных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах смысловая цепь РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 1-17 или 1-18 любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 состоит из (i) антисмысловой цепи, включающей последовательность нуклеотидов (от 5' конца до \rightarrow 3' конца) 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи, указанных в табл. 2 или табл. 3, и (ii) смысловой цепи, включающей последовательность нуклеотидов (от 5' конца до \rightarrow 3' конца) любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6.

В некоторых вариантах агенты РНКи ММР7 включают 19-членные нуклеотидные последовательности центрального участка, указанные в таблице 2.

Таблица 2

Антисмысловая и смысловая цепи агентов РНКи MMP7, центральный участок, последовательности оснований (N=любое азотистое основание; I = инозин (азотистое основание, гипоксантин)).

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
37	AACAUCUGGCACUCCACAU	187	AUGUGGAGUGCCAGAUGUU	305-323	303
38	UACAUCUGGCACUCCACAU	188	AUGUGGAGUGCCAGAUGUA	305-323	303
39	NACAUCUGGCACUCCACAU	189	AUGUGGAGUGCCAGAUGUN	305-323	303
40	NACAUCUGGCACUCCACAN	190	NUGUGGAGUGCCAGAUGUN	305-323	303
41	UCAACAUCUGGCACUCCAC	191	GUGGAGUGCCAGAUGUUGA	307-325	305
42	ACAACAUCUGGCACUCCAC	192	GUGGAGUGCCAGAUGUUGU	307-325	305
43	GCAACAUCUGGCACUCCAC	193	GUGGAGUGCCAGAUGUUGC	307-325	305
44	NCAACAUCUGGCACUCCAC	194	GUGGAGUGCCAGAUGUUGN	307-325	305
45	NCAACAUCUGGCACUCCAN	195	NUGGAGUGCCAGAUGUUGN	307-325	305
46	UGCAACAUCUGGCACUCCA	196	UGGAGUGCCAGAUGUUGCA	308-326	306
47	AGCAACAUCUGGCACUCCA	197	UGGAGUGCCAGAUGUUGCU	308-326	306
48	NGCAACAUCUGGCACUCCA	198	UGGAGUGCCAGAUGUUGCN	308-326	306
49	NGCAACAUCUGGCACUCCN	199	NGGAGUGCCAGAUGUUGCN	308-326	306
50	UCUGCAACAUCUGGCACUC	200	GAGUGCCAGAUGUUGCAGA	310-328	308
51	ACUGCAACAUCUGGCACUC	201	GAGUGCCAGAUGUUGCAGU	310-328	308
52	NCUGCAACAUCUGGCACUC	202	GAGUGCCAGAUGUUGCAGN	310-328	308
53	NCUGCAACAUCUGGCACUN	203	NAGUGCCAGAUGUUGCAGN	310-328	308
54	UUCUGCAACAUCUGGCACU	204	AGUGCCAGAUGUUGCAGAA	311-329	309

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
55	AUCUGCAACAUCUGGCACU	205	AGUGCCAGAUGUUGCAGAU	311-329	309
56	NUCUGCAACAUCUGGCACU	206	AGUGCCAGAUGUUGCAGAN	311-329	309
57	NUCUGCAACAUCUGGCACN	207	NGUGCCAGAUGUUGCAGAN	311-329	309
58	AUUCUGCAACAUCUGGCAC	208	GUGCCAGAUGUUGCAGAAU	312-330	310
59	UUUCUGCAACAUCUGGCAC	209	GUGCCAGAUGUUGCAGAAA	312-330	310
60	NUUCUGCAACAUCUGGCAC	210	GUGCCAGAUGUUGCAGAAAN	312-330	310
61	NUUCUGCAACAUCUGGCAN	211	NUGCCAGAUGUUGCAGAAAN	312-330	310
62	UAUUCUGCAACAUCUGGCA	212	UGCCAGAUGUUGCAGAAUA	313-331	311
63	AAUUCUGCAACAUCUGGCA	213	UGCCAGAUGUUGCAGAAUU	313-331	311
64	NAUUCUGCAACAUCUGGCA	214	UGCCAGAUGUUGCAGAAUN	313-331	311
65	NAUUCUGCAACAUCUGGCN	215	NGCCAGAUGUUGCAGAAUN	313-331	311
66	UUUCCUGGCCCAUCAAAUG	216	CAUUUGAUGGGCCAGGAAA	550-568	548
67	AUUCUGGCCCAUCAAAUG	217	CAUUUGAUGGGCCAGGAAU	550-568	548
68	NUUCUGGCCCAUCAAAUG	218	CAUUUGAUGGGCCAGGAAN	550-568	548
69	NUUCUGGCCCAUCAAAUN	219	NAUUUGAUGGGCCAGGAAN	550-568	548
70	UGUGUUUCCUGGCCCAUCA	220	UGAUGGGCCAGGAAACACA	554-572	552
71	AGUGUUUCCUGGCCCAUCA	221	UGAUGGGCCAGGAAACACU	554-572	552
72	CGUGUUUCCUGGCCCAUCA	222	UGAUGGGCCAGGAAACACG	554-572	552
73	NGUGUUUCCUGGCCCAUCA	223	UGAUGGGCCAGGAAACACN	554-572	552
74	NGUGUUUCCUGGCCCAUCN	224	NGAUGGGCCAGGAAACACN	554-572	552
75	UUUGAGAUAGUCCUGAGCC	225	GGCUCAGGACUAUCUCAAA	149-167	147
76	AUUGAGAUAGUCCUGAGCC	226	GGCUCAGGACUAUCUCAAU	149-167	147

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
77	CUUGAGAUAGUCCUGAGCC	227	GGCUCAGGACUAUCUCAAG	149-167	147
78	NUUGAGAUAGUCCUGAGCC	228	GGCUCAGGACUAUCUCAAN	149-167	147
79	NUUGAGAUAGUCCUGAGCN	229	NGCUCAGGACUAUCUCAAN	149-167	147
80	AGAGAUAAAUCUCUUGAG	230	CUCAAGAGAUUUUAUCUCU	162-180	160
81	UGAGAUAAAUCUCUUGAG	231	CUCAAGAGAUUUUAUCUCA	162-180	160
82	NGAGAUAAAUCUCUUGAG	232	CUCAAGAGAUUUUAUCUCN	162-180	160
83	NGAGAUAAAUCUCUUGAN	233	NUCAAGAGAUUUUAUCUCN	162-180	160
84	UCAUAGAGAUAAAUCUCU	234	AGAGAUUUUAUCUCUAUGA	166-184	164
85	ACAUAGAGAUAAAUCUCU	235	AGAGAUUUUAUCUCUAUGU	166-184	164
86	NCAUAGAGAUAAAUCUCU	236	AGAGAUUUUAUCUCUAUGN	166-184	164
87	NCAUAGAGAUAAAUCUCN	237	NGAGAUUUUAUCUCUAUGN	166-184	164
88	UAGUCAUAGAGAUAAAUC	238	GAUUUUAUCUCUAUGACUA	169-187	167
89	AAGUCAUAGAGAUAAAUC	239	GAUUUUAUCUCUAUGACUU	169-187	167
90	GAGUCAUAGAGAUAAAUC	240	GAUUUUAUCUCUAUGACUC	169-187	167
91	NAGUCAUAGAGAUAAAUC	241	GAUUUUAUCUCUAUGACUN	169-187	167
92	NAGUCAUAGAGAUAAAUN	242	NAUUUUAUCUCUAUGACUN	169-187	167
93	UAACAUCUGGCACUCCACA	243	UGUGGAGUGCCAGAUGUUA	306-324	304
94	AAACAUCUGGCACUCCACA	244	UGUGGAGUGCCAGAUGUUU	306-324	304
95	NAACAUCUGGCACUCCACA	245	UGUGGAGUGCCAGAUGUUN	306-324	304
96	NAACAUCUGGCACUCCACN	246	NGUGGAGUGCCAGAUGUUN	306-324	304
97	UUCUGCAACAUCUGGCACU	247	AGUGCCAGAUGUUGCAGAA	311-329	309
98	AUCUGCAACAUCUGGCACU	248	AGUGCCAGAUGUUGCAGAU	311-329	309

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
99	NUCUGCAACAUCUGGCACU	249	AGUGCCAGAUGUUGCAGAN	311-329	309
100	NUCUGCAACAUCUGGCACN	250	NGUGCCAGAUGUUGCAGAN	311-329	309
101	UAGUAUUCUGCAACAUCUG	251	CAGAUGUUGCAGAAUACUA	316-334	314
102	AAGUAUUCUGCAACAUCUG	252	CAGAUGUUGCAGAAUACUU	316-334	314
103	GAGUAUUCUGCAACAUCUG	253	CAGAUGUUGCAGAAUACUC	316-334	314
104	NAGUAUUCUGCAACAUCUG	254	CAGAUGUUGCAGAAUACUN	316-334	314
105	NAGUAUUCUGCAACAUCUN	255	NAGAUGUUGCAGAAUACUN	316-334	314
106	AAUAGUGAGUAUUCUGCAA	256	UUGCAGAAUACUCACUAUU	322-340	320
107	UAUAGUGAGUAUUCUGCAA	257	UUGCAGAAUACUCACUAUA	322-340	320
108	NAUAGUGAGUAUUCUGCAA	258	UUGCAGAAUACUCACUAUN	322-340	320
109	NAUAGUGAGUAUUCUGCAN	259	NUGCAGAAUACUCACUAUN	322-340	320
110	AAAUAGUGAGUAUUCUGCA	260	UGCAGAAUACUCACUAUUU	323-341	321
111	UAAUAGUGAGUAUUCUGCA	261	UGCAGAAUACUCACUAUUA	323-341	321
112	NAAUAGUGAGUAUUCUGCA	262	UGCAGAAUACUCACUAUUN	323-341	321
113	NAAUAGUGAGUAUUCUGCN	263	NGCAGAAUACUCACUAUUN	323-341	321
114	UACUAAUCGAUCCACUGUA	264	UACAGUGGAUCGAUUAGUA	416-434	414
115	AACUAAUCGAUCCACUGUA	265	UACAGUGGAUCGAUUAGUU	416-434	414
116	CACUAAUCGAUCCACUGUA	266	UACAGUGGAUCGAUUAGUG	416-434	414
117	NACUAAUCGAUCCACUGUA	267	UACAGUGGAUCGAUUAGUN	416-434	414
118	NACUAAUCGAUCCACUGUN	268	NACAGUGGAUCGAUUAGUN	416-434	414
119	ACACUAAUCGAUCCACUGU	269	ACAGUGGAUCGAUUAGUGU	417-435	415
120	UCACUAAUCGAUCCACUGU	270	ACAGUGGAUCGAUUAGUGA	417-435	415

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
121	NCACUAAUCGAUCCACUGU	271	ACAGUGGAUCGAUUAGUGN	417-435	415
122	NCACUAAUCGAUCCACUGN	272	NCAGUGGAUCGAUUAGUGN	417-435	415
123	UUGACACUAAUCGAUCCAC	273	GUGGAUCGAUUAGUGUCA	420-438	418
124	AUGACACUAAUCGAUCCAC	274	GUGGAUCGAUUAGUGUCAU	420-438	418
125	NUGACACUAAUCGAUCCAC	275	GUGGAUCGAUUAGUGUCAN	420-438	418
126	NUGACACUAAUCGAUCCAN	276	NUGGAUCGAUUAGUGUCAN	420-438	418
123	UUGACACUAAUCGAUCCAC	277	GUGGAUCGAUUAGUIUCA	420-438	418
128	AUGACACUAAUCGAUCCAC	278	GUGGAUCGAUUAGUIUCAU	420-438	418
129	NUGACACUAAUCGAUCCAC	279	GUGGAUCGAUUAGUIUCAN	420-438	418
130	NUGACACUAAUCGAUCCAN	280	NUGGAUCGAUUAGUIUCAN	420-438	418
131	UCAUCGAAGUGAGCAUCUC	281	GAGAUGCUCACUUCGAUGA	610-628	608
132	ACAUCGAAGUGAGCAUCUC	282	GAGAUGCUCACUUCGAUGU	610-628	608
133	NCAUCGAAGUGAGCAUCUC	283	GAGAUGCUCACUUCGAUGN	610-628	608
134	NCAUCGAAGUGAGCAUCUN	284	NAGAUGCUCACUUCGAUGN	610-628	608
135	UAGCAUACAGGAAGUUAU	285	AUUAACUUCUGUAUGC UA	663-681	661
136	AAGCAUACAGGAAGUUAU	286	AUUAACUUCUGUAUGC UU	663-681	661
137	NAGCAUACAGGAAGUUAU	287	AUUAACUUCUGUAUGC UN	663-681	661
138	NAGCAUACAGGAAGUUAAN	288	NUUAACUUCUGUAUGC UN	663-681	661
139	AUAGGUUGGAUACAUCACU	289	AGUGAUGUAUCCAACC UA	737-755	735
140	UUAGGUUGGAUACAUCACU	290	AGUGAUGUAUCCAACC UA	737-755	735
141	NUAGGUUGGAUACAUCACU	291	AGUGAUGUAUCCAACC UA	737-755	735
142	NUAGGUUGGAUACAUCACN	292	NGUGAUGUAUCCAACC UA	737-755	735

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
143	AUUUCCAUAAGGUUGGAUAC	293	GUAUCCAACCUAUGGAAAU	743-461	741
144	UUUUCCAUAAGGUUGGAUAC	294	GUAUCCAACCUAUGGAAA	743-461	741
145	NUUUCCAUAAGGUUGGAUAC	295	GUAUCCAACCUAUGGAAAN	743-461	741
146	NUUUCCAUAAGGUUGGAUAN	296	NUAUCCAACCUAUGGAAAN	743-461	741
147	UAUAGUUUCUGAAUGCCUU	297	AAGGCAUUCAGAAACUAUA	802-820	800
148	AAUAGUUUCUGAAUGCCUU	298	AAGGCAUUCAGAAACUAUU	802-820	800
149	NAUAGUUUCUGAAUGCCUU	299	AAGGCAUUCAGAAACUAUN	802-820	800
150	NAUAGUUUCUGAAUGCCUN	300	NAGGCAUUCAGAAACUAUN	802-820	800
151	UCAAUUCUGAUUGUGCAAC	301	GUUGCACAAUCAGAAUUGA	902-920	900
152	ACAAUUCUGAUUGUGCAAC	302	GUUGCACAAUCAGAAUUGU	902-920	900
153	NCAAUUCUGAUUGUGCAAC	303	GUUGCACAAUCAGAAUUGN	902-920	900
154	NCAAUUCUGAUUGUGCAAN	304	NUUGCACAAUCAGAAUUGN	902-920	900
155	AUCAAUUCUGAUUGUGCAA	305	UUGCACAAUCAGAAUUGAU	903-921	901
156	UUCAAUUCUGAUUGUGCAA	306	UUGCACAAUCAGAAUUGAA	903-921	901
157	NUCAAUUCUGAUUGUGCAA	307	UUGCACAAUCAGAAUUGAN	903-921	901
158	NUCAAUUCUGAUUGUGCAN	308	NUGCACAAUCAGAAUUGAN	903-921	901
159	UGCUAUCAAUUCUGAUUG	309	CAAUCAGAAUUGAUUAAGCA	908-926	906
160	AGCUUAUCAAUUCUGAUUG	310	CAAUCAGAAUUGAUUAAGCU	908-926	906
161	NGCUUAUCAAUUCUGAUUG	311	CAAUCAGAAUUGAUUAAGCN	908-926	906
162	NGCUUAUCAAUUCUGAUUN	312	NAAUCAGAAUUGAUUAAGCN	908-926	906
163	UUGCUAUCAAUUCUGAUU	313	AAUCAGAAUUGAUUAAGCAA	909-927	907
164	AUGCUAUCAAUUCUGAUU	314	AAUCAGAAUUGAUUAAGCAU	909-927	907

SEQ ID NO:	Последовательность оснований в антисмысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO:	Последовательность оснований в смысловой цепи (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	Соответствующие положения в конкретной последовательности SEQ ID NO: 1	Положение гена-мишени
165	NUGCUUAUCAAUUCUGAAU	315	AAUCAGAAUUGAUAGCAN	909-927	907
166	NUGCUUAUCAAUUCUGAUN	316	NAUCAGAAUUGAUAGCAN	909-927	907
167	UGCAAUAAAAAAGGGUGAC	317	GUCACCCUUUUUUAUUGCA	955-973	953
168	AGCAAUAAAAAAGGGUGAC	318	GUCACCCUUUUUUAUUGCU	955-973	953
169	NGCAAUAAAAAAGGGUGAC	319	GUCACCCUUUUUUAUUGCN	955-973	953
170	NGCAAUAAAAAAGGGUGAN	320	NUCACCCUUUUUUAUUGCN	955-973	953
171	ACAUUCAAAAACCAACUGC	321	GCAGUUGGUUUUUGAAUGU	971-989	969
172	UCAUUCAAAAACCAACUGC	322	GCAGUUGGUUUUUGAAUGA	971-989	969
173	NCAUUCAAAAACCAACUGC	323	GCAGUUGGUUUUUGAAUGN	971-989	969
174	NCAUUCAAAAACCAACUGN	324	NCAGUUGGUUUUUGAAUGN	971-989	969
175	AGACAUUCAAAAACCAACU	325	AGUUGGUUUUUGAAUGUCU	973-991	971
176	UGACAUUCAAAAACCAACU	326	AGUUGGUUUUUGAAUGUCA	973-991	971
177	NGACAUUCAAAAACCAACU	327	AGUUGGUUUUUGAAUGUCN	973-991	971
178	NGACAUUCAAAAACCAACN	328	NGUUGGUUUUUGAAUGUCN	973-991	971
179	AAGACAUUCAAAAACCAAC	329	GUUGGUUUUUGAAUGUCUU	974-992	972
180	UAGACAUUCAAAAACCAAC	330	GUUGGUUUUUGAAUGUCUA	974-992	972
181	NAGACAUUCAAAAACCAAC	331	GUUGGUUUUUGAAUGUCUN	974-992	972
182	NAGACAUUCAAAAACCAAN	332	NUUGGUUUUUGAAUGUCUN	974-992	972
183	AGUUUAUCCUUAAAAGGAG	333	CUCCUUUUAAGGAUAAACU	996-1014	994
184	UGUUUAUCCUUAAAAGGAG	334	CUCCUUUUAAGGAUAAACA	996-1014	994
185	NGUUUAUCCUUAAAAGGAG	335	CUCCUUUUAAGGAUAAACN	996-1014	994
186	NGUUUAUCCUUAAAAGGAN	336	NUCCUUUUAAGGAUAAACN	996-1014	994

Смысловые и антисмысловые цепи агента РНКи ММР7, которые содержат или состоят из нуклеотидных последовательностей, представленных в таблице 2, могут представлять собой модифицированные нуклеотиды или не-модифицированные нуклеотиды. В некоторых вариантах агенты РНКи ММР7, включающие

5 последовательности смысловой и антисмысловой цепи, которые содержат любую из нуклеотидных последовательностей или состоят из них, как представлено в таблице 2, представляют собой все или в значительной степени модифицированные нуклеотиды.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7, раскрытая в данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из
10 последовательностей антисмысловой цепи, указанных в таблице 2. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7, раскрытого в данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2.

Как использовано в данном контексте, каждый N, указанный в
15 последовательности, представленной в таблице 2, можно независимо выбрать из любого и всех азотистых оснований (включая те, которые обнаружены как в модифицированных, так и в не-модифицированных нуклеотидах). В некоторых вариантах N нуклеотид, указанный в последовательности, указанной в таблице 2, включает азотистое основание, которое является комплементарным N нуклеотиду в
20 соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах N нуклеотид, указанный в последовательности, представленной в таблице 2, включает нуклеиновое основание, которое не является комплементарным N-нуклеотиду в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах N-нуклеотид, указанный в
25 последовательности, представленной в таблице 2, включает такое же нуклеиновое основание, что и N нуклеотид в соответствующем положении на другой цепи. В некоторых вариантах N-нуклеотид, указанный в последовательности, представленной в таблице 2, включает азотистое основание, которое отличается от N нуклеотида в соответствующем положении на другой цепи.

30 Определенные модифицированные смысловые и антисмысловые цепи агента РНКи ММР7 представлены в таблице 3, таблице 4, таблице 5, таблице 6 и таблице 10. Некоторые модифицированные антисмысловые цепи агента РНКи ММР7, а также составляющие их основу не-модифицированные последовательности нуклеиновых оснований представлены в таблице 3. Определенные смысловые цепи

модифицированного агента РНКи ММР7, а также составляющие их основу немодифицированные последовательности нуклеиновых оснований представлены в таблицах 4, 5 и 6. При формировании агентов РНКи ММР7 каждый из нуклеотидов в каждой из составляющих их основу последовательностей оснований, перечисленных в таблицах 3, 4, 5 и 6, а также в таблице 2 выше, может представлять собой модифицированный нуклеотид.

Описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7 формируются при отжиге антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловую цепь, содержащую последовательность, указанную в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6, можно подвергать гибридизации с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности включают область, которая характеризуется по меньшей мере 85%-ной комплементарностью с непрерывной последовательностью из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотида.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит нуклеотидную последовательность любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит дуплекс, включающий последовательности нуклеиновых оснований смысловой цепи и антисмысловой цепи любой из последовательностей, указанных в таблице 2, таблице 3, таблице 4, таблице 5, таблице 6, или таблице 10, или состоит из него.

Примеры антисмысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблице 3. Примеры смысловых цепей, содержащих модифицированные нуклеотиды, представлены в таблицах 4, 5 и 6.

В таблицах 3, 4, 5, 6 и 10 для обозначения модифицированных нуклеотидов, направляющих групп и связывающих групп используются следующие обозначения:

A = аденозин-3'-фосфат

C = цитидин-3'-фосфат

G = гуанозин-3'-фосфат

U = уридин-3'-фосфат

I = инозин-3'-фосфат

a = 2'-O-метиладенозин-3'-фосфат

as = 2'-O-метиладенозин-3'-фосфоротиоат

- c = 2'-О-метилцитидин-3'-фосфат
cs = 2'-О-метилцитидин-3'-фосфоротиоат
g = 2'-О-метилгуанозин-3'-фосфат
gs = 2'-О-метилгуанозин-3'-фосфоротиоат
5 i = 2'-О-метилюридин-3'-фосфат
is = 2'-О-метилюридин-3'-фосфоротиоат
t = 2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфат
ts = 2'-О-метил-5-метилуридин-3'-фосфоротиоат
u = 2'-О-метилуридин-3'-фосфат
10 us = 2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат
Af = 2'-фторадеозин-3'-фосфат
Afs = 2'-фторадеозин-3'-фосфоротиоат
Cf = 2'-фторцитидин-3'-фосфат
Cfs = 2'-фторцитидин-3'-фосфоротиоат
15 Gf = 2'-фторгуанозин-3'-фосфат
Gfs = 2'-фторгуанозин-3'-фосфоротиоат
Tf = 2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфат
Tfs = 2'-фтор-5'-метилуридин-3'-фосфоротиоат
Uf = 2'-фторуридин-3'-фосфат
20 Ufs = 2'-фторуридин-3'-фосфоротиоат
dT = 2'-дезокситимидин-3'-фосфат
A_{UNA} = 2',3'-секоаденозин-3'-фосфат
A_{UNAS} = 2',3'-секоаденозин-3'-фосфоротиоат
C_{UNA} = 2',3'-секоцитидин-3'-фосфат
25 C_{UNAS} = 2',3'-секоцитидин-3'-фосфоротиоат
G_{UNA} = 2',3'-секогуанозин-3'-фосфат
G_{UNAS} = 2',3'-секогуанозин-3'-фосфоротиоат
U_{UNA} = 2',3'-секоуридин-3'-фосфат
U_{UNAS} = 2',3'-секоуридин-3'-фосфоротиоат
30 a_{2N} = см. таблицу 11
a_{2Ns} = см. таблицу 11
(invAb) = инвертированный дезоксирибонуклеотид-5'-фосфат с удаленным азотистым основанием, см. таблицу 11

(invAb)s = инвертированный дезоксирибонуклеотид-5'-фосфоротиоат с удаленным азотистым основанием, см. таблицу 11

s = фосфоротиоатная связь

p = концевой фосфат (синтезированный)

5 vpdN = винилфосфонат-дезоксирибонуклеотид

cPrpa = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метиладенозин-3'-фосфат (см. таблицу 11)

cPrpas = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метиладенозин-3'-фосфоротиоат (см. таблицу 11).

cPrpu = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин-3'-фосфат (см. таблицу 11).

10 cPrpus = 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин-3'-фосфоротиоат (см. таблицу 11).

(Alk-SS-C6) = см. таблицу 11

(C6-SS-Alk) = см. таблицу 11

(C6-SS-C6) = см. таблицу 11

15 (6-SS-6) = см. таблицу 11

(C6-SS-Alk-Me) = см. таблицу 11

(NH₂-C6) = см. таблицу 11

(TriAlk14) = см. таблицу 11

(TriAlk14)s = см. таблицу 11

20 -C6- = см. таблицу 11

-C6s- = см. таблицу 11

-L6-C6- = см. таблицу 11

-L6-C6s- = см. таблицу 11

-Alk-суHex- = см. таблицу 11

25 -Alk-суHexs- = см. таблицу 11

(TA14) = см. таблицу 11 (структура (TriAlk14) после конъюгации)

Как представляется очевидным специалисту в данной области техники, если не указано иное в виде последовательности (такой как, например, фосфоротиоатная связь «s»), когда она присутствует в олигонуклеотиде, нуклеотидные мономеры

30 присоединены друг к другу через 5'-3'-фосфодиэфирные связи. Как представляется очевидным специалисту в данной области техники, включение фосфоротиоатной связи, как показано в модифицированных нуклеотидных последовательностях, описанных в данном контексте, заменяет фосфодиэфирную связь, обычно присутствующую в

олигонуклеотидах. Кроме того, специалисту в данной области техники представляется очевидным, что концевой нуклеотид на 3'-конце данной олигонуклеотидной последовательности обычно содержит гидроксильную (-ОН) группу в соответствующем 3'-положении данного мономера вместо фосфатного фрагмента *ex vivo*. Кроме того, в вариантах, раскрытых в данном контексте, при рассмотрении соответствующей цепи 5' → 3', инвертированные остатки с удаленным азотистым основанием вставлены таким образом, чтобы 3'-положение дезоксирибозы было присоединено к 3'-концу предыдущего мономера на соответствующей цепи (см., например, таблицу 11). Более того, как представляется очевидным специалисту с 5 обычной квалификацией, хотя на химических структурах фосфоротиоата, изображенных в данном контексте, обычно атом серы изображен как анион (отрицательный заряд), раскрытые в данном контексте изобретения охватывают все таутомеры фосфоротиоата (например, где атом серы присоединен через двойную связь, и атом кислорода изображен как анион). Если явно не указано иное, такая 10 интерпретация специалиста в данной области техники используется при описании агентов РНКи ММР7 и композиций агентов РНКи ММР7, раскрытых в данном контексте.

Определенные типичные направляющие группы и связывающие группы, используемые при получении агентов РНКи ММР7, раскрытых в данном контексте, 20 включены в химические структуры, представленные ниже в таблице 11. Каждая смысловая цепь и/или антисмысловая цепь может включать любые направляющие группы или связывающие группы, перечисленные в данном контексте, а также другие направляющие или связывающие группы, конъюгированные с 5'- и/или 3'-концом последовательности.

Таблица 3

Последовательности антисмысловой цепи агента РНКи MMP7.

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM08523-AS	asAfsCsAfuCfuGfgCfaCfuCfcAfcAfuCfsu	337	AACAUCUGGCACUCCACAUCU	629
AM08525-AS	asAfsCsAfuCfuGfgCfaCfuCfcAfcAfuCfsg	338	AACAUCUGGCACUCCACAUCG	630
AM08527-AS	usCfsasAfcAfuCfuGfgCfaCfuCfcAfcAfsu	339	UCAACAUCUGGCACUCCACAU	631
AM08529-AS	usCfsasAfcAfuCfuGfgCfaCfuCfcAfcAfsu	340	UCAACAUCUGGCACUCCACAG	632
AM08531-AS	usGfsCsAfaCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfsa	341	UGCAACAUCUGGCACUCCACA	633
AM08533-AS	usGfsCsAfaCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfsg	342	UGCAACAUCUGGCACUCCACG	634
AM08535-AS	usCfsusGfcAfaCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfsa	343	UCUGCAACAUCUGGCACUCCA	635
AM08537-AS	usCfsusGfcAfaCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfsg	344	UCUGCAACAUCUGGCACUCCG	636
AM08539-AS	usUfsCsUfgCfaAfcAfuCfuGfgCfaCfuCfsc	345	UUCUGCAACAUCUGGCACUCC	637
AM08541-AS	asUfsusCfuGfcAfaCfaUfcUfgGfcAfcUfsc	346	AUUCUGCAACAUCUGGCACUC	638
AM08543-AS	usAfsusUfcUfgCfaAfcAfuCfuGfgCfaCfsu	347	UAUUCUGCAACAUCUGGCACU	639
AM08545-AS	usAfsusUfcUfgCfaAfcAfuCfuGfgCfaCfsg	348	UAUUCUGCAACAUCUGGCACG	640
AM08547-AS	usUfsusCfcUfgGfcCfcAfuCfaAfaUfgGfsg	349	UUUCCUGGCCCAUCAAAUGGG	641
AM08549-AS	usGfsusGfuUfuCfcUfgGfcCfcAfuCfaAfsu	350	UGUGUUUCCUGGCCCAUCAAG	642
AM08789-AS	usCfsusUfcUfuUfgUfuUfuAfgAfgUfcGfsu	351	UCUUCUUUGUUUUAGAGUCGU	643
AM08791-AS	asAfsGsAfaCfuUfcUfgCfaUfuUfcCfcUfsc	352	AAGAACUUCUGCAUUUCCCUC	644

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM08793-AS	usUfsgsAfuCfuAfcUfaAfgAfaCfcGfaGfsg	353	UUGAUCUACUAAGAACCGAGG	645
AM08797-AS	asCfsasAfaCfaGfgAfaGfuUfcAfcUfcCfsu	354	ACAAACAGGAAGUUCACUCCU	646
AM08801-AS	usAfsasAfgUfaCfaAfgGfaAfgAfaAfgGfsa	355	UACAGUACAAGGAAGAAAGGA	647
AM08803-AS	usGfsasCfaUfuUfaUfuGfcUfgGfuGfuCfsu	356	UGACAUUUAUUGCUGGUGUCU	648
AM08805-AS	usGfsasCfaUfuUfaUfuGfcUfgGfuGfuCfsg	357	UGACAUUUAUUGCUGGUGUCG	649
AM08807-AS	usGfsasCfaUfuUfaUfuGfcUfgAfuGfuCfsg	358	UGACAUUUAUUGCUGAUGUCG	650
AM12367-AS	usUfsusGfaGfaUfaGfuCfcUfgAfgCfcUfsg	359	UUUGAGAUAGUCCUGAGCCUG	651
AM12369-AS	asGfsasGfaUfaAfaAfuCfuCfuUfgAfgApsc	360	AGAGAUAAAUCUCUUGAGAC	652
AM12371-AS	usCfsasUfaGfaGfaUfaAfaAfuCfuCfuUfsg	361	UCAUAGAGAUAAAUCUCUUG	653
AM12373-AS	usAfsasUfcAfuAfgAfgAfuAfaAfaUfcUfsc	362	UAGUCAUAGAGAUAAAUCUC	654
AM12375-AS	usAfsasCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfaUfsc	363	UAACAUCUGGCACUCCACAUC	655
AM12378-AS	usAfsasUfaUfuCfuGfcAfaCfaUfcUfgGfsc	364	UAGUAUUCUGCAACAUCUGGC	656
AM12380-AS	asAfsusAfgUfgAfgUfaUfuCfuGfcAfaCfsc	365	AAUAGUGAGUAUUCUGCAACC	657
AM12382-AS	asAfsasUfaGfuGfaGfuAfuUfcUfgCfaApsc	366	AAAUAGUGAGUAUUCUGCAAC	658
AM12384-AS	usAfsasUfaAfuCfuGfcAfaCfaUfcUfgUfaApsc	367	UACUAAUCGAUCCACUGUAAC	659
AM12386-AS	asCfsasCfuAfaUfcGfaUfcCfaCfuGfuApsc	368	ACACUAAUCGAUCCACUGUAC	660
AM12388-AS	usUfsgsAfcAfcUfaAfuCfuGfcAfaCfaUfsc	369	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM12390-AS	usCfsasUfcGfaAfgUfgAfgCfaUfcUfcCfsu	370	UCAUCGAAGUGAGCAUCUCCU	662

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM12392-AS	usAfsGscCfaUfaCfaGfgAfaGfuUfaAfuCfsc	371	UAGCAUACAGGAAGUUAUCC	663
AM12394-AS	asUfsasGfgUfuGfgAfuAfcAfuCfaCfuGfsc	372	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM12396-AS	asUfsusUfcCfaUfaGfgUfuGfgAfuAfcAfsc	373	AUUUCCAUAAGGUUGGAUACAC	665
AM12398-AS	usCfscsUfuUfaAfuAfuCfaUfcCfuGfgGfsc	374	UCCUUUAAUAUCAUCCUGGGA	666
AM12400-AS	usAfsusAfgUfuUfcUfgAfaUfgCfcUfuUfsc	375	UAUAGUUUCUGAAUGCCUUUC	667
AM12402-AS	usCfsasAfuUfcUfgAfuUfgUfgCfaAfcAfsc	376	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668
AM12404-AS	asUfscsAfaUfuCfuGfaUfuGfuGfcAfaCfsc	377	AUCAAUUCUGAUUGUGCAACC	669
AM12406-AS	usGfscsUfuAfuCfaAfuUfcUfgAfuUfgUfsg	378	UGC UUAUCAAUUCUGAUUGUG	670
AM12408-AS	usUfsgsCfuUfaUfcAfaUfuCfuGfaUfuGfsc	379	UUGC UUAUCAAUUCUGAUUGC	671
AM12410-AS	usGfscsAfaUfaAfaAfaAfgGfgUfgAfcAfsc	380	UGCAAUAAAAAAGGGUGACAC	672
AM12412-AS	asCfsasUfuCfaAfaAfaCfcAfaCfuGfcAfsc	381	ACAUUCAAAAACCAACUGCAC	673
AM12414-AS	asGfsasCfaUfuCfaAfaAfaCfcAfaCfuGfsc	382	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM12416-AS	asAfsGscAfcAfuUfcAfaAfaAfcCfaAfcUfsg	383	AAGACAUUCAAAAACCAACUG	675
AM12418-AS	asGfsusUfuAfuCfcUfuAfaAfaGfgAfgUfsg	384	AGUUUAUCCUAAAAGGAGUG	676
AM12875-AS	cPrpusAfsasCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfaUfsc	385	UAACAUCUGGCACUCCACAUC	655
AM12877-AS	cPrpuAfacaucuggcAfcUfcCfause	386	UAACAUCUGGCACUCCACAUC	655
AM13076-AS	usCfsasAfuUfcUfgAfuUfgUfgCfaAfcAfsg	387	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAG	677
AM13077-AS	cPrpusCfsasAfuUfcUfgAfuUfgUfgCfaAfcAfsc	388	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM13079-AS	usCfsasauucugauUfgUfgCfaacasc	389	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668
AM13081-AS	usCfsasAfuucugauUfgUfgCfaacasc	390	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668
AM13082-AS	usCfsasAfuUfcugauUfgUfgCfaacasc	391	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668
AM13083-AS	usCfsasAfuUfcugauUfgUfgCfaAfcasc	392	UCAAUUCUGAUUGUGCAACAC	668
AM13212-AS	usUfsgsacacUfaAfuCfGfAfuCfcacuscg	393	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM13215-AS	usCfscsuuuAfuAfuCfaUfcCfugggsa	394	UCCUUUAAUAUCAUCCUGGGA	666
AM13241-AS	asGfsascuucaaaAfaCfcAfacugsc	395	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM13244-AS	asGfsascuucaAfaAfaCfcAfacugsc	396	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM13245-AS	asGfsascuuCfAfaAfaCfcAfacugsc	397	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM13246-AS	asUfsasggauUUNAfcAfuCfacugsc	398	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM13247-AS	asUfsasggauUUNAfcAfuCfacugsc	399	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM13400-AS	usAfsgsuauucugcAfaCfaUfcuggsc	400	UAGUAUUCUGCAACAUCUGGC	656
AM13402-AS	usAfsgsuauUUNAfcAfaCfaUfcuggsc	401	UAGUAUUCUGCAACAUCUGGC	656
AM13403-AS	usAfsgsuaUUNAfcAfaCfaUfcuggsc	402	UAGUAUUCUGCAACAUCUGGC	656
AM13405-AS	asGfsusuuauccuuAfaAfaGfgagusg	403	AGUUUAUCCUUAAAAGGAGUG	676
AM13407-AS	asGfsusUfuaucuuAfaAfaGfgagusg	404	AGUUUAUCCUUAAAAGGAGUG	676
AM13409-AS	asGfsusUfuaucuuAfaAfaGfgagusg	405	AGUUUAUCCUUAAAAGGAGUC	678
AM14108-AS	cPrpuGfacauucAfaAfaCfcAfacugsc	406	UGACAUUCAAAAACCAACUGC	679

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM14109-AS	cPrpuUfgacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg	407	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM14110-AS	cPrpasGfsasCfaUfuCfaAfaAfaCfcAfaCfuGfsc	408	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM14112-AS	cPrpusGfsasCfaUfuCfaAfaAfaCfcAfaCfuGfsc	409	UGACAUUCAAAAACCAACUGC	679
AM14113-AS	cPrpuGfaCfaUfuCfaAfaAfaCfcAfaCfuGfsc	410	UGACAUUCAAAAACCAACUGC	679
AM14117-AS	cPrpusUfsgsAfcAfcUfaAfuCfgAfuCfcAfcUfsg	411	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM14118-AS	cPrpuUfgAfcAfcUfaAfuCfgAfuCfcAfcUfsg	412	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM14119-AS	cPrpusUfsgsacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg	413	UUGACACUAAUCGAUCCACUG	661
AM14121-AS	usAfsascaucuggcAfcUfcCfacausc	414	UAACAUCUGGCACUCCACAUC	655
AM14122-AS	cPrpusAfsascaucuggcAfcUfcCfacausc	415	UAACAUCUGGCACUCCACAUC	655
AM14124-AS	cPrpusUfsasGfgUfuGfgAfuAfcAfuCfaCfuGfsc	416	UUAGGUUGGAUACAUCACUGC	680
AM14125-AS	usUfsasGfgUfuggauAfcAfuCfaCfugsc	417	UUAGGUUGGAUACAUCACUGC	680
AM14126-AS	cPrpusUfsasGfgUfuggauAfcAfuCfaCfugsc	418	UUAGGUUGGAUACAUCACUGC	680
AM14127-AS	cPrpuUfaGfgUfuggauAfcAfuCfaCfugsc	419	UUAGGUUGGAUACAUCACUGC	680
AM14129-AS	cPrpusGfsusUfuauccuuAfaAfaGfgagusg	420	UGUUUAUCCUAAAAGGAGUG	681
AM14130-AS	cPrpuGfuUfuauccuuAfaAfaGfgagusg	421	UGUUUAUCCUAAAAGGAGUG	681
AM14131-AS	cPrpusGfsusUfuAfuCfcUfuAfaAfaGfgAfgUfsg	422	UGUUUAUCCUAAAAGGAGUG	681
AM14114-AS	cPrpasGfsascauucAfaAfaCfcAfacugsc	423	AGACAUUCAAAAACCAACUGC	674
AM14116-AS	cPrpusGfsascauucAfaAfaCfcAfacugsc	424	UGACAUUCAAAAACCAACUGC	679

ID антисмысловой цепи	Модифицированная антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM14651-AS	usUfsasGfgUfuGfgAfuAfcAfuCfaCfuGfsc	425	UUAGGUUGGAUACAUCACUGC	680
AM14652-AS	cPrpasUfsasGfgUfuGfgAfuAfcAfuCfaCfuGfsc	426	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14653-AS	asUfsagguuggauAfcAfuCfacusgsc	427	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14654-AS	cPrpasUfsagguuggauAfcAfuCfacusgsc	428	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14655-AS	cPrpasUfsaGfguuggauAfcAfuCfacusgsc	429	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14656-AS	cPrpaUfaGfguuggauAfcAfuCfacusgsc	430	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14657-AS	cPrpasUfsagGfuuggauAfcAfuCfacusgsc	431	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14658-AS	cPrpasUfsagguUfggauAfcAfuCfacusgsc	432	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14659-AS	cPrpasUfsagguugGfauAfcAfuCfacusgsc	433	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14888-AS	cPrpasUfsasgguuggauAfcAfuCfacugsc	434	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM14889-AS	cPrpaUfagguuggauAfcAfuCfacugsc	435	AUAGGUUGGAUACAUCACUGC	664
AM15155-AS	cPrpaGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	436	AGACAUUCAAAACCAACUGC	674

Таблица 4

Последовательности смысловой цепи агента MMP7 (показаны без линкеров, конъюгатов или кэпирующих групп).

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM08522-SS-NL	asgauguggAfGfUfgccagauguu	458	AGAUGUGGAGUGCCAGAUGUU	682
AM08524-SS-NL	csgauguggAfGfUfgccagauguu	459	CGAUGUGGAGUGCCAGAUGUU	683
AM08526-SS-NL	asuguggagUfGfCfcagauguuga	460	AUGUGGAGUGCCAGAUGUUGA	684
AM08528-SS-NL	csuguggagUfGfCfcagauguuga	461	CUGUGGAGUGCCAGAUGUUGA	685
AM08530-SS-NL	usguggaguGfCfCfagauguugca	462	UGUGGAGUGCCAGAUGUUGCA	686
AM08532-SS-NL	csguggaguGfCfCfagauguugca	463	CGUGGAGUGCCAGAUGUUGCA	687
AM08534-SS-NL	usggagugcCfAfGfauguugcaga	464	UGGAGUGCCAGAUGUUGCAGA	688
AM08536-SS-NL	csggagugcCfAfGfauguugcaga	465	CGGAGUGCCAGAUGUUGCAGA	689
AM08538-SS-NL	gsgagugccAfGfAfuguugcagaa	466	GGAGUGCCAGAUGUUGCAGAA	690
AM08540-SS-NL	gsagugccaGfAfUfuguugcagaa	467	GAGUGCCAGAUGUUGCAGAAU	691
AM08542-SS-NL	asgugccagAfUfGfuugcagaa	468	AGUGCCAGAUGUUGCAGAAUA	692
AM08544-SS-NL	csgugccagAfUfGfuugcagaa	469	CGUGCCAGAUGUUGCAGAAUA	693
AM08546-SS-NL	csccauuugAfUfGfggccaggaaa	470	CCCAUUUGAUGGGCCAGGAAA	694
AM08548-SS-NL	csuugauggGfCfCfaggaaacaca	471	CUUGAUGGGCCAGGAAACACA	695
AM12366-SS-NL	caggcucaGfGfAfcuaucuaaaa	472	CAGGCUCAGGACUAUCUCAAA	696
AM12368-SS-NL	gucucaagAfGfAfuuuuauucucu	473	GUCUCAAGAGAUUUUAUCUCU	697
AM12370-SS-NL	ca_2NagagauUfUfUfaucucuauga	474	CAAGAGAUUUUAUCUCUAUGA	698
AM12372-SS-NL	gagauuuuAfUfCfucuaugacua	475	GAGAUUUUAUCUCUAUGACUA	699
AM12374-SS-NL	gauguggaGfUfGfccagauguua	476	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM12376-SS-NL	ggagugccAfGfAfuguuicagaa	477	GGAGUGCCAGAUGUUICAGAA	701
AM12377-SS-NL	gccagaugUfUfGfcagaaucua	478	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702
AM12379-SS-NL	gguugcagAfAfUfacucacuauu	479	GGUUGCAGAAUACUCACUAUU	703

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM12381-SS-NL	sguugcagaAfUfAfcucacuauuu	480	GUUGCAGAAUACUCACUAUUU	704
AM12383-SS-NL	guuacaguGfGfAfucgauuagua	481	GUUACAGUGGAUCGAUUAGUA	705
AM12385-SS-NL	guacagugGfAfUfcgauuuiugu	482	GUACAGUGGAUCGAUUAIUGU	706
AM12387-SS-NL	caguggauCfGfAfuuaguiucaa	483	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCAA	707
AM12389-SS-NL	aggagaugCfUfCfacuuciauga	484	AGGAGAUGCUCACUUCIAUGA	708
AM12391-SS-NL	ggauuaacUfUfCfcugaugcua	485	GGAUUAACUUCUGUAUGCUA	709
AM12393-SS-NL	gcagugauGfUfAfuccaaccuau	486	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM12395-SS-NL	guguauccAfAfCfcauggaaau	487	GUGUAUCCAACCUAUGGAAAU	711
AM12397-SS-NL	ucccaggaUfGfAfuuuuaagga	488	UCCCAGGAUGAUUUAAAGGA	712
AM12399-SS-NL	gaaaggcaUfUfCfagaacuaua	489	GAAAGGCAUUCAGAAACUUA	713
AM12401-SS-NL	guguugcaCfAfAfucagaauuga	490	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM12403-SS-NL	gguugcacAfAfUfcgaaauugau	491	GGUUGCACAAUCAGAAUUGAU	715
AM12405-SS-NL	cacaaucaGfAfAfuugauaagca	492	CACAAUCAGAAUUGAUAGCA	716
AM12407-SS-NL	gcaaucagAfAfUfugauaagcaa	493	GCAAUCAGAAUUGAUAGCAA	717
AM12409-SS-NL	gugucaccCfUfUfuuuuauugca	494	GUGUCACCCUUUUUUAUUGCA	718
AM12411-SS-NL	gugcaguuGfGfUfuuuugaauugu	495	GUGCAGUUGGUUUUUGAAUGU	719
AM12413-SS-NL	gcaguuggUfUfUfuugaugucu	496	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM12415-SS-NL	caguugguUfUfUfugaugucuu	497	CAGUUGGUUUUUGAAUGUCUU	721
AM12417-SS-NL	cacuccuuUfUfAfggaaauacu	498	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM12874-SS-NL	gsauguggaGfUfGfccagauguua	499	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM12876-SS-NL	gsauguggaGfuGfcCfagauguua	500	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM13075-SS-NL	cuguugcaCfAfAfucagaauuga	501	CUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	723
AM13078-SS-NL	guguugCfaCfaAfucagaauuga	502	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM13080-SS-NL	guguugcaCfaAfuCfagaauuga	503	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM13084-SS-NL	guguugcaCfaAfucagaauuga	504	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM13210-SS-NL	caguggauCfGfAfuuauguguaa	505	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13211-SS-NL	caguggAfuCfGfAfuuauguguaa	506	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13213-SS-NL	caguggauCfGfAfuUfaguguaa	507	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13214-SS-NL	caguggauCfGfAfuUfaguiuaa	508	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCA	707
AM13216-SS-NL	ucccaggaUfGfAfuAfuuaaagga	509	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13217-SS-NL	ucccaggaUfgAfuAfuuaaagga	510	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13218-SS-NL	ucccaggaUfGfAfu_2Nuuaaagga	511	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13242-SS-NL	gcaguuggUfuUfuUfgaaugucu	512	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13243-SS-NL	gcaguuggUfUfUfuUfgaaugucu	513	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13248-SS-NL	gcagugauGfuAfUfccaaccuau	514	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13249-SS-NL	gcagugAfuGfuAfuccaaccuau	515	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13250-SS-NL	gcagugauGfuAfuCfcaaccuau	516	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13399-SS-NL	gccagaugUfuGfcAfgaaucua	517	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702
AM13401-SS-NL	gccagaUfgUfuGfcagaauacua	518	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702
AM13404-SS-NL	cacuccUfuUfuAfggaaacu	519	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM13406-SS-NL	cacuccuuUfuAfAfggaaacu	520	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM13408-SS-NL	gacuccuuUfUfAfggaaacu	521	GACUCCUUUUAAGGAUAAACU	725
AM13762-SS-NL	gscaguuggUfuUfuUfgaaugucu	522	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13763-SS-NL	gscaguuggUfUfUfuugaugucu	523	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13764-SS-NL	csaguggauCfGfAfuUfaguguaa	524	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13765-SS-NL	csaguggauCfGfAfuUfaguiuaa	525	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCA	707
AM14107-SS-NL	gscaguuggUfuUfuUfgaauguca	526	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14111-SS-NL	gcaguuggUfUfUfuugauguca	527	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14120-SS-NL	gauguggaGfuGfcCfagauguaa	528	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM14123-SS-NL	gcagugauGfUfAfuccaaccuaa	529	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAA	727

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM14128-SS-NL	cacuccuuUfUfAfaggauaaaca	530	CACUCCUUUUAAGGAUAAACA	728
AM14115-SS-NL	gcaguuggUfuUfuUfgaauguca	531	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14553-SS-NL	gscagugauGfuAfuCfcaaccuau	532	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM14890-SS-NL	gscsaguuggUfuUfuUfgaaugucsu	533	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM14892-SS-NL	gsCfsasguuggUfuuUfuGfaAfugucsu	534	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM15418-SS-NL	gscguuggUfuUfuUfgaauguca	535	GCGUUGGUUUUUGAAUGUCA	729
AM15419-SS-NL	gscaguugggUfuUfuUfgaauguca	536	GCAGUUGGGUUUUUGAAUGUCA	730
AM15420-SS-NL	gscaguuggUfuUfuUfgaauguca	526	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM16013-SS-NL	gscaguuggUfuUfuUfgaauguca	526	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726

a₂N=2-аминоаденозиновый нуклеотид, I= гипоксантин (инозин) нуклеотид.

Таблица 5

Последовательности смысловой цепи агента MMP7 (показаны с линкерами и кэпирующими группами, информацию по структуре см. таблицу 11).

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Базовая последовательность оснований (5' → 3') (показана как последовательность немодифицированных оснований)	SEQ ID NO.
AM08522-SS	(NH2-C6)asgauguggAfGfUfgccagauguus(invAb)	539	AGAUGUGGAGUGCCAGAUGUU	682
AM08524-SS	(NH2-C6)csgauguggAfGfUfgccagauguus(invAb)	540	CGAUGUGGAGUGCCAGAUGUU	683
AM08526-SS	(NH2-C6)asuguggagUfGfCfcagauguugas(invAb)	541	AUGUGGAGUGCCAGAUGUUGA	684
AM08528-SS	(NH2-C6)csuguggagUfGfCfcagauguugas(invAb)	542	CUGUGGAGUGCCAGAUGUUGA	685
AM08530-SS	(NH2-C6)usguggaguGfCfCfagauguucas(invAb)	543	UGUGGAGUGCCAGAUGUUGCA	686
AM08532-SS	(NH2-C6)csuggagaguGfCfCfagauguucas(invAb)	544	CGUGGAGUGCCAGAUGUUGCA	687
AM08534-SS	(NH2-C6)usggagugcCfAfGfauguucagagas(invAb)	545	UGGAGUGCCAGAUGUUGCAGA	688
AM08536-SS	(NH2-C6)csggagugcCfAfGfauguucagagas(invAb)	546	CGGAGUGCCAGAUGUUGCAGA	689
AM08538-SS	(NH2-C6)gsgagugccAfGfAfuguucagaas(invAb)	547	GGAGUGCCAGAUGUUGCAGAA	690
AM08540-SS	(NH2-C6)gsagugccaGfAfUfuguucagaaus(invAb)	548	GAGUGCCAGAUGUUGCAGAAU	691
AM08542-SS	(NH2-C6)asgugccagAfUfGfuucagaaus(invAb)	549	AGUGCCAGAUGUUGCAGAAUA	692
AM08544-SS	(NH2-C6)csugugccagAfUfGfuucagaaus(invAb)	550	CGUGCCAGAUGUUGCAGAAUA	693
AM08546-SS	(NH2-C6)csccauuugAfUfGfggccaggaaas(invAb)	551	CCCAUUUGAUGGGCCAGGAAA	694
AM08548-SS	(NH2-C6)csuugauggGfCfCfaggaaacacas(invAb)	552	CUUGAUGGGCCAGGAAACACA	695
AM12366-SS	(NAG37)s(invAb)scaggcucaGfGfAfcaucauaas(invAb)	553	CAGGCUCAGGACUAUCUCAA	696
AM12368-SS	(NAG37)s(invAb)sgucucaagAfGfAfuuuuauucucus(invAb)	554	GUCUCAAGAGAUUUUAUCUCU	697
AM12370-SS	(NAG37)s(invAb)sca_2NagagauUfUfUfaucucuaugas(invAb)	555	CAAGAGAUUUUAUCUCUAUGA	698
AM12372-SS	(NAG37)s(invAb)sgagauuuAfUfCfucuaugacuas(invAb)	556	GAGAUUUUAUCUCUAUGACUA	699
AM12374-SS	(NAG37)s(invAb)sgauguggaGfUfGfccagauguuas(invAb)	557	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM12376-SS	(NAG37)s(invAb)sggagugccAfGfAfuguuicagaas(invAb)	558	GGAGUGCCAGAUGUUCAGAA	701
AM12377-SS	(NAG37)s(invAb)sgccagaugUfUfGfcagaauacuas(invAb)	559	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702

AM12379-SS	(NAG37)s(invAb)sgguugcagAfAfUfacucacuauus(invAb)	560	GGUUGCAGAAUACUCACUAUU	703
AM12381-SS	(NAG37)s(invAb)sguugcagaAfUfAfcucacuauuus(invAb)	561	GUUGCAGAAUACUCACUAUUU	704
AM12383-SS	(NAG37)s(invAb)sguuacaguGfGfAfucgauuaguas(invAb)	562	GUUACAGUGGAUCGAUUAGUA	705
AM12385-SS	(NAG37)s(invAb)sguacagugGfAfUfcgauuuiugus(invAb)	563	GUACAGUGGAUCGAUUAIUGU	706
AM12387-SS	(NAG37)s(invAb)scaguggauCfGfAfuuguiucaas(invAb)	564	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCA	707
AM12389-SS	(NAG37)s(invAb)saggagaugCfUfCfacuuciaugas(invAb)	565	AGGAGAUGCUCACUUCIAUGA	708
AM12391-SS	(NAG37)s(invAb)sggauaacUfUfCfcgugaugcuas(invAb)	566	GGAUUAACUUCUGUAUGCUA	709
AM12393-SS	(NAG37)s(invAb)sgcagugauGfUfAfuccaaccuauus(invAb)	567	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM12395-SS	(NAG37)s(invAb)sguguauccAfAfCfcuauggaaaus(invAb)	568	GUGUAUCCAACCUAUGGAAAU	711
AM12397-SS	(NAG37)s(invAb)succcaggaUfGfAfuuuuaaggas(invAb)	569	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM12399-SS	(NAG37)s(invAb)sgaaaggcaUfUfCfagaacuauas(invAb)	570	GAAAGGCAUUCAGAAACUAUA	713
AM12401-SS	(NAG37)s(invAb)sguguugcaCfAfAfucagaauugas(invAb)	571	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM12403-SS	(NAG37)s(invAb)sgguugcacAfAfUfcagaauugaus(invAb)	572	GGUUGCACAAUCAGAAUUGAU	715
AM12405-SS	(NAG37)s(invAb)scacaaucaGfAfAfuugauaagcas(invAb)	573	CACAAUCAGAAUUGAUUAGCA	716
AM12407-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaaucagAfAfUfugauaagcaas(invAb)	574	GCAAUCAGAAUUGAUUAGCAA	717
AM12409-SS	(NAG37)s(invAb)sgugucaccCfUfUfuuuuauugcas(invAb)	575	GUGUCACCCUUUUUUAUUGCA	718
AM12411-SS	(NAG37)s(invAb)sgugcaguuGfGfUfuuuugaugus(invAb)	576	GUGCAGUUGGUUUUUGAAUGU	719
AM12413-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaguuggUfUfUfuugaaugucus(invAb)	577	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM12415-SS	(NAG37)s(invAb)scaguugguUfUfUfugaauugucuus(invAb)	578	CAGUUGGUUUUUGAAUGUCUU	721
AM12417-SS	(NAG37)s(invAb)scacuccuuUfUfAfaggauaaacus(invAb)	579	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM12874-SS	(TriAlk14)gsauguggaGfUfGfccagauguuas(invAb)	580	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM12876-SS	(TriAlk14)gsauguggaGfuGfcCfagauguuas(invAb)	581	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM13075-SS	(NAG37)s(invAb)scuguugcaCfAfAfucagaauugas(invAb)	582	CUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	723
AM13078-SS	(NAG37)s(invAb)sguguugCfaCfaAfucagaauugas(invAb)	583	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM13080-SS	(NAG37)s(invAb)sguguugcaCfaAfuCfagaauugas(invAb)	584	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM13084-SS	(NAG37)s(invAb)sguguugcaCfaAfucagaauugas(invAb)	585	GUGUUGCACAAUCAGAAUUGA	714
AM13210-SS	(NAG37)s(invAb)scaguggauCfGfAfuugugucaas(invAb)	586	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13211-SS	(NAG37)s(invAb)scaguggAfuCfGfAfuugugucaas(invAb)	587	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13213-SS	(NAG37)s(invAb)scaguggauCfGfAfuUfagugucaas(invAb)	588	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724

AM13214-SS	(NAG37)s(invAb)scaguggauCfGfAfuUfaguiucaas(invAb)	589	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCA	707
AM13216-SS	(NAG37)s(invAb)succcaggaUfGfAfuAfuuaaaggas(invAb)	590	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13217-SS	(NAG37)s(invAb)succcaggaUfgAfuAfuuaaaggas(invAb)	591	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13218-SS	(NAG37)s(invAb)succcaggaUfGfAfuA_2Nuuaaaggas(invAb)	592	UCCCAGGAUGAUUUAAGGA	712
AM13242-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	593	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13243-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaguuggUfUfUfuUfgaaugucus(invAb)	594	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13248-SS	(NAG37)s(invAb)sgcagugauGfuAfUfccaaccuaus(invAb)	595	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13249-SS	(NAG37)s(invAb)sgcagugAfuGfuAfuccaaccuaus(invAb)	596	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13250-SS	(NAG37)s(invAb)sgcagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	597	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM13399-SS	(NAG37)s(invAb)sgccagaugUfuGfcAfgaaauacuas(invAb)	598	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702
AM13401-SS	(NAG37)s(invAb)sgccagaUfgUfuGfcagaaauacuas(invAb)	599	GCCAGAUGUUGCAGAAUACUA	702
AM13404-SS	(NAG37)s(invAb)scacuccUfuUfuAfgagauaaacus(invAb)	600	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM13406-SS	(NAG37)s(invAb)scacuccuuUfuAfAfggaaauaaacus(invAb)	601	CACUCCUUUUAAGGAUAAACU	722
AM13408-SS	(NAG37)s(invAb)sgacuccuuUfUfAfgagauaaacus(invAb)	602	GACUCCUUUUAAGGAUAAACU	725
AM13762-SS	(TriAlk14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	603	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13763-SS	(TriAlk14)gscaguuggUfUfUfuugaugucus(invAb)	604	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM13764-SS	(TriAlk14)csaguggauCfGfAfuUfagugucaas(invAb)	605	CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA	724
AM13765-SS	(TriAlk14)csaguggauCfGfAfuUfaguiucaas(invAb)	606	CAGUGGAUCGAUUAGUIUCA	707
AM14107-SS	(TriAlk14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	607	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14111-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaguuggUfUfUfuugaugucas(invAb)	608	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14120-SS	(NAG37)s(invAb)sgauguggaGfuGfcCfagauguuas(invAb)	609	GAUGUGGAGUGCCAGAUGUUA	700
AM14123-SS	(NAG37)s(invAb)sgcagugauGfUfAfuccaaccuaas(invAb)	610	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAA	727
AM14128-SS	(NAG37)s(invAb)scacuccuuUfUfAfgagauaaacas(invAb)	611	CACUCCUUUUAAGGAUAAACA	728
AM14115-SS	(NAG37)s(invAb)sgcaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	612	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726
AM14553-SS	(TriAlk14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	613	GCAGUGAUGUAUCCAACCUAU	710
AM14890-SS	(invAb)sgscsaguuggUfuUfuUfgaaugucus	614	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU	720
AM15418-SS	(TriAlk14)gscguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	615	GCGUUGGUUUUUGAAUGUCA	729
AM15419-SS	(TriAlk14)gscaguugggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	616	GCAGUUGGGUUUUUGAAUGUCA	730
AM15420-SS	(TriAlk14)gscaguuggUfuUfuUfgaauguca(invAb)	617	GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA	726

a₂N=2-аминоаденозиновый нуклеотид; I = гипоксантин (инозин) нуклеотид.

Таблица 6

Последовательности смысловой цепи агента MMP7 (показаны с конъюгатом направляющего лиганда. Структура $\alpha\upsilon\beta 6$ -SM6.1 показана в таблице 11, а структура Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14) показана на фиг. 1).

ID цепи	Модифицированная смысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO.	Номер AM соответствующей смысловой цепи без линкера или конъюгата (см. таблицу 4)
CS001585	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gsauguggaGfUfGfccagauguuas(invAb)	618	AM12874-SS
CS001588	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gsauguggaGfuGfcCfagauguuas(invAb)	619	AM12876-SS
CS001941	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	620	AM13762-SS
CS001944	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscaguuggUfUfUfuugaaugucus(invAb)	621	AM13763-SS
CS001945	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-csaguggauCfGAfuUfagugucaas(invAb)	622	AM13764-SS
CS001947	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-csaguggauCfGAfuUfaguiucaas(invAb)	623	AM13765-SS
CS002396	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	AM14553-SS
CS002805	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	625	AM15418-SS
CS002806	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	626	AM15419-SS
CS002807	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscaguuggUfuUfuUfgaauguca(invAb)	627	AM15420-SS
CS002133	Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -(TA14)-gscaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	628	AM14107-SS

Описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7 формируются при отжиге антисмысловой цепи со смысловой цепью. Смысловую цепь, содержащую последовательность, указанную в таблице 2, таблице 4, таблице 5 или таблице 6, можно гибридизовать с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности включают область, которая характеризуется по меньшей мере 85%-ной комплементарностью с непрерывной последовательностью из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотида.

Как представлено в таблице 5 выше, некоторые из типичных нуклеотидных последовательностей агента РНКи ММР7 дополнительно включают реакционноспособные связывающие группы на одном или обоих 5'-конце и 3'-конце смысловой цепи. Например, многие из последовательностей смысловых цепей агента РНКи ММР7, указанные в таблице 5 выше, включают связывающую группу (TriAlk14) на 5'-конце нуклеотидной последовательности. Другие связывающие группы, такие как связывающая группа (NH₂-C₆) или связывающая группа (6-SS-6) или (C₆-SS-C₆), также или в другом варианте могут присутствовать в некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения. Такие реакционноспособные связывающие группы предназначены для ускорения связывания направляющих лигандов, направляющих групп и/или модуляторов РК/PD с агентами РНКи ММР7, раскрытыми в данном контексте. Реакции связывания или конъюгации хорошо известны в данной области техники и обеспечивают образование ковалентных связей между двумя молекулами или реагентами. Пригодные реакции конъюгации для использования в рамках настоящего изобретения включают, но не ограничиваясь перечисленным, реакцию конденсации амидов, реакцию присоединения Михаэля, реакцию образования гидразонов, реакцию циклоприсоединения Дильса-Альдера с обратной потребностью электронов, лигирование оксимов и медь (I)-катализируемая или стимулируемая штаммом реакция азид-алкинового циклоприсоединения.

В некоторых вариантах направляющие лиганды, такие как направляющие на интегрин лиганды, описанные в разделе Примеры и на фигурах, раскрытых в данном контексте, можно синтезировать в виде активированных сложных эфиров, таких как сложные тетрафторфениловые эфиры (TFP), которые можно замещать на реакционноспособную аминогруппу (например, NH₂-C₆) для присоединения направляющего лиганда к агентам РНКи ММР7, описанным в данном контексте. В

некоторых вариантах направляющие лиганды синтезируют в виде азидов, которые можно конъюгировать с пропаргильной (например, TriAlk14) или группой DBCO, например, в ходе катализируемой медью (I) или стимулированной штаммом реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

5 Кроме того, определенные нуклеотидные последовательности можно синтезировать с использованием нуклеотида dT на 3'-конце смысловой цепи, за которым следует (3'→5') линкер (например, C6-SS-C6). В некоторых вариантах линкер может ускорить связывание с дополнительными компонентами, такими как, например, модулятор ФК/ФД или один или более направляющих лигандов. Как описано в данном
10 контексте, дисульфидную связь C6-SS-C6 сначала восстанавливают, при этом удаляют dT из молекулы, что затем может способствовать конъюгации требуемого модулятора ФК/ФД. Таким образом, концевой нуклеотид dT не является частью полностью конъюгированного конструктора.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7, описанного в
15 данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей антисмысловой цепи, приведенных в таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7, раскрытого в данном контексте, отличается на 0, 1, 2 или 3 нуклеотида от любой из последовательностей смысловой цепи, представленных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

20 В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит нуклеотидную последовательность любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 3. В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (с 5'-конца → до 3' конца) 1-17, 2-17, 1-18, 2-18, 1-19, 2-19, 1-20, 2-20, 1-21, 2-21, 1-22, 2-22, 1-23, 2-23, 1-24 или 2-24 любой
25 из последовательностей, представленных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит модифицированную последовательность любой из модифицированных последовательностей, представленных в таблице 3 или таблице 10 или состоит из них.

В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит
30 нуклеотидную последовательность любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 4. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (от 5'-конца → до 3' конца) 1-17, 2-17, 3-17, 4-17, 1-18, 2-18, 3-18, 4-18, 1-19, 2-19, 3-19, 4-19, 1-20, 2-20, 3-20, 4-20, 1-21, 2-21, 3-21,

4-21, 1-22, 2-22, 3-22, 4-22, 1-23, 2-23, 3-23, 4-23, 1-24, 2-24, 3-24 или 4-24 любой из последовательностей, представленных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10. В некоторых вариантах смысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит

5 модифицированную последовательность любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3 или таблице 10, или состоит из них.

Для агентов РНКи, раскрытых в данном контексте, нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (от 5' до \rightarrow 3'-конца) может являться идеально комплементарным гену ММР7 или может являться не-комплементарным гену ММР7. В некоторых вариантах нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (от 5' до \rightarrow 3') представляет собой U, A или dT (или модифицированный вариант U, A или dT. В некоторых вариантах нуклеотид в положении 1 антисмысловой цепи (от 5' до \rightarrow 3') образует пару оснований A:U или U:A со смысловой цепью.

В некоторых вариантах антисмысловая цепь агента РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5 \rightarrow 3') 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10. В некоторых вариантах смысловая цепь РНКи ММР7 содержит последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 1-17 или 1-18 любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 включает (i) антисмысловую цепь, включающую последовательность нуклеотидов (5 \rightarrow 3') 2-18 или 2-19 любой из последовательностей антисмысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10, и (ii) смысловую цепь, включающую последовательность нуклеотидов (5' \rightarrow 3') 1-17 или 1-18 любой из последовательностей смысловой цепи, указанных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

Смысловую цепь, содержащую последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 4, можно гибридизовать с любой антисмысловой цепью, содержащей последовательность, указанную в таблице 2 или таблице 3, при условии, что две последовательности включают область, которая характеризуется по меньшей мере 85%-ной комплементарностью с непрерывной последовательностью из 16, 17, 18, 19, 20 или 21 нуклеотида. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 включает смысловую цепь, состоящую из модифицированной последовательности любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, состоящую из модифицированной

последовательности любой из модифицированных последовательностей, которые указаны в таблице 3 или таблице 10. Некоторые типичные пары последовательностей проиллюстрированы идентификационными номерами дуплексов, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8 и 9.

5 В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит, состоит или в основном состоит из дуплексов, представленных любым из идентификационных номеров дуплексов, перечисленных в данном контексте. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 состоит из любых дуплексов с ID номерами, представленных в данном контексте. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит нуклеотидные
10 последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи любого дуплекса с ID номерами, представленными в данном контексте. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи любого дуплекса с ID номерами, представленными в данном контексте, и направляющую группу, связывающую группу и/или другую не-нуклеотидную группу,
15 где направляющая группа, связывающая группа и/или другая не-нуклеотидная группа ковалентно связана (т.е. конъюгирована) со смысловой цепью или антисмысловой цепью. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 включает модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи любого из дуплексов с ID номерами, представленных в данном контексте. В некоторых вариантах
20 агент РНКи ММР7 содержит модифицированные нуклеотидные последовательности смысловой цепи и антисмысловой цепи любого из дуплексов с ID номерами, представленных в данном контексте, а также направляющую группу группу, связывающую группу и/или другую не-нуклеотидную группу, причем направляющая группа, связывающая группа и/или другая не-нуклеотидная группа ковалентно связана
25 со смысловой цепью или антисмысловой цепью.

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие нуклеотидные последовательности антисмысловой цепи/смысловой цепи любого из дуплексов, представленных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9 или 10, и содержит направляющую группу. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7
30 содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие нуклеотидные последовательности антисмысловой цепи/смысловой цепи любого из дуплексов, представленных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, или 10, и содержит один или более лигандов, направленных на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$.

В некоторых вариантах агент РНКи MMP7 содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие нуклеотидные последовательности антисмысловой цепи/смысловой цепи любого из дуплексов, представленных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9 или 10, и содержит направляющую группу, которая представляет собой лиганд, направляющий на интегрин. В некоторых вариантах агент РНКи MMP7 содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие нуклеотидные последовательности антисмысловой цепи/смысловой цепи любого из дуплексов, представленных в таблицах 2, 7А, 7Б, 8, 9 или 10, и содержит один или более лигандов, направленных на интегрин $\alpha\beta6$, или кластеров лигандов, направленных на интегрин $\alpha\beta6$ (например, трехдентатный лиганд, направленный на интегрин $\alpha\beta6$).

В некоторых вариантах агент РНКи MMP7 содержит антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие модифицированные нуклеотидные последовательности антисмысловой цепи/смысловой цепи любого из дуплексов, представленных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10, и содержит лиганд, направленный на интегрин.

В некоторых вариантах агент РНКи MMP7 агент РНКи MMP7 включает антисмысловую цепь и смысловую цепь, включающие нуклеотидные последовательности модифицированных нуклеотидов антисмысловой/смысловой цепи любого из дуплексов, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10, и включает лиганд, направленный на интегрин.

В некоторых вариантах агент РНКи MMP7 содержит, состоит или в основном состоит из любого дуплекса, указанных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10.

Таблица 7А. Дуплексы агентов РНКи MMP7 с соответствующими ID номерами смысловой (SS) и антисмысловой цепи (AS) и ID последовательностей для модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей.

(Показаны без связывающих агентов или конъюгатов.)

AS ID	Модифицированная AS SEQ ID NO:	Немодифицированная AS SEQ ID NO:	SS ID	Модифицированная SS SEQ ID NO:	Немодифицированная SS SEQ ID NO:
AM08523-AS	337	629	AM08522-SS-NL	458	682
AM08525-AS	338	630	AM08524-SS-NL	459	683
AM08527-AS	339	631	AM08526-SS-NL	460	684
AM08529-AS	340	632	AM08528-SS-NL	461	685
AM08531-AS	341	633	AM08530-SS-NL	462	686
AM08533-AS	342	634	AM08532-SS-NL	463	687
AM08535-AS	343	635	AM08534-SS-NL	464	688
AM08537-AS	344	636	AM08536-SS-NL	465	689

AM08539-AS	345	637	AM08538-SS-NL	466	690
AM08541-AS	346	638	AM08540-SS-NL	467	691
AM08543-AS	347	639	AM08542-SS-NL	468	692
AM08545-AS	348	640	AM08544-SS-NL	469	693
AM08547-AS	349	641	AM08546-SS-NL	470	694
AM08549-AS	350	642	AM08548-SS-NL	471	695
AM12367-AS	359	651	AM12366-SS-NL	472	696
AM12369-AS	360	652	AM12368-SS-NL	473	697
AM12371-AS	361	653	AM12370-SS-NL	474	698
AM12373-AS	362	654	AM12372-SS-NL	475	699
AM12375-AS	363	655	AM12374-SS-NL	476	700
AM08539-AS	345	637	AM12376-SS-NL	477	701
AM12378-AS	364	656	AM12377-SS-NL	478	702
AM12380-AS	365	657	AM12379-SS-NL	479	703
AM12382-AS	366	658	AM12381-SS-NL	480	704
AM12384-AS	367	659	AM12383-SS-NL	481	705
AM12386-AS	368	660	AM12385-SS-NL	482	706
AM12388-AS	369	661	AM12387-SS-NL	483	707
AM12390-AS	370	662	AM12389-SS-NL	484	708
AM12392-AS	371	663	AM12391-SS-NL	485	709
AM12394-AS	372	664	AM12393-SS-NL	486	710
AM12396-AS	373	665	AM12395-SS-NL	487	711
AM12398-AS	374	666	AM12397-SS-NL	488	712
AM12400-AS	375	667	AM12399-SS-NL	489	713
AM12402-AS	376	668	AM12401-SS-NL	490	714
AM12404-AS	377	669	AM12403-SS-NL	491	715
AM12406-AS	378	670	AM12405-SS-NL	492	716
AM12408-AS	379	671	AM12407-SS-NL	493	717
AM12410-AS	380	672	AM12409-SS-NL	494	718
AM12412-AS	381	673	AM12411-SS-NL	495	719
AM12414-AS	382	674	AM12413-SS-NL	496	720
AM12416-AS	383	675	AM12415-SS-NL	497	721
AM12418-AS	384	676	AM12417-SS-NL	498	722
AM12375-AS	363	655	AM12874-SS-NL	499	700
AM12875-AS	385	655	AM12874-SS-NL	499	700
AM12877-AS	386	655	AM12876-SS-NL	500	700
AM13076-AS	387	677	AM13075-SS-NL	501	723
AM13077-AS	388	668	AM12401-SS-NL	490	714
AM13079-AS	389	668	AM13078-SS-NL	502	714
AM13079-AS	389	668	AM13080-SS-NL	503	714
AM13081-AS	390	668	AM13080-SS-NL	503	714
AM13082-AS	391	668	AM13080-SS-NL	503	714
AM13083-AS	392	668	AM13080-SS-NL	503	714
AM13083-AS	392	668	AM13084-SS-NL	504	714
AM13083-AS	392	668	AM13078-SS-NL	502	714
AM12388-AS	369	661	AM13210-SS-NL	505	724
AM13212-AS	393	661	AM13211-SS-NL	506	724
AM13212-AS	393	661	AM13213-SS-NL	507	724
AM13212-AS	393	661	AM13214-SS-NL	508	707
AM13215-AS	394	666	AM12397-SS-NL	488	712
AM13215-AS	394	666	AM13216-SS-NL	509	712
AM13215-AS	394	666	AM13217-SS-NL	510	712
AM13215-AS	394	666	AM13218-SS-NL	511	712
AM13241-AS	395	674	AM12413-SS-NL	496	720
AM13241-AS	395	674	AM13242-SS-NL	512	720

AM13244-AS	396	674	AM13243-SS-NL	513	720
AM13244-AS	396	674	AM13242-SS-NL	512	720
AM13245-AS	397	674	AM13243-SS-NL	513	720
AM13246-AS	398	664	AM12393-SS-NL	486	710
AM13247-AS	399	664	AM12393-SS-NL	486	710
AM13246-AS	398	664	AM13248-SS-NL	514	710
AM13246-AS	398	664	AM13249-SS-NL	515	710
AM13246-AS	398	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM13400-AS	400	656	AM13399-SS-NL	517	702
AM13400-AS	400	656	AM13401-SS-NL	518	702
AM13402-AS	401	656	AM13399-SS-NL	517	702
AM13403-AS	402	656	AM13399-SS-NL	517	702
AM13405-AS	403	676	AM13404-SS-NL	519	722
AM13405-AS	403	676	AM13406-SS-NL	520	722
AM13407-AS	404	676	AM12417-SS-NL	498	722
AM13409-AS	405	678	AM13408-SS-NL	521	725
AM13241-AS	395	674	AM13762-SS-NL	522	720
AM13244-AS	396	674	AM13762-SS-NL	522	720
AM13241-AS	395	674	AM13763-SS-NL	523	720
AM13212-AS	393	661	AM13764-SS-NL	524	724
AM13212-AS	393	661	AM13765-SS-NL	525	707
AM14108-AS	406	679	AM14107-SS-NL	526	726
AM14109-AS	407	661	AM13764-SS-NL	524	724
AM14110-AS	408	674	AM12413-SS-NL	496	720
AM14112-AS	409	679	AM14111-SS-NL	527	726
AM14113-AS	410	679	AM14111-SS-NL	527	726
AM14117-AS	411	661	AM13210-SS-NL	505	724
AM14118-AS	412	661	AM13210-SS-NL	505	724
AM14119-AS	413	661	AM13213-SS-NL	507	724
AM14109-AS	407	661	AM13213-SS-NL	507	724
AM12875-AS	385	655	AM12374-SS-NL	476	700
AM14121-AS	414	655	AM14120-SS-NL	528	700
AM14122-AS	415	655	AM14120-SS-NL	528	700
AM12877-AS	386	655	AM14120-SS-NL	528	700
AM14124-AS	416	680	AM14123-SS-NL	529	727
AM14125-AS	417	680	AM14123-SS-NL	529	727
AM14126-AS	418	680	AM14123-SS-NL	529	727
AM14127-AS	419	680	AM14123-SS-NL	529	727
AM14129-AS	420	681	AM14128-SS-NL	530	728
AM14130-AS	421	681	AM14128-SS-NL	530	728
AM14131-AS	422	681	AM14128-SS-NL	530	728
AM14114-AS	423	674	AM13242-SS-NL	512	720
AM14116-AS	424	679	AM14115-SS-NL	531	726
AM14108-AS	406	679	AM14115-SS-NL	531	726
AM13246-AS	398	664	AM14553-SS-NL	532	710
AM14651-AS	425	680	AM14123-SS-NL	526	727
AM14652-AS	426	664	AM12393-SS-NL	486	710
AM14653-AS	427	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14654-AS	428	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14655-AS	429	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14656-AS	430	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14657-AS	431	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14658-AS	432	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14659-AS	433	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14888-AS	434	664	AM13250-SS-NL	516	710

AM14889-AS	435	664	AM13250-SS-NL	516	710
AM14888-AS	434	664	AM14553-SS-NL	532	710
AM14889-AS	435	664	AM14553-SS-NL	532	710
AM14116-AS	424	679	AM14107-SS-NL	526	726
AM15155-AS	436	674	AM13762-SS-NL	522	720
AM14114-AS	423	674	AM13762-SS-NL	522	720
AM14108-AS	406	679	AM15418-SS-NL	535	729
AM14108-AS	406	679	AM15419-SS-NL	536	730
AM14108-AS	406	679	AM15420-SS-NL	537	726
AM14655-AS	429	664	AM14553-SS-NL	532	710
AM14657-AS	431	664	AM14553-SS-NL	532	710
AM14108-AS	406	679	AM16013-SS-NL	538	726
AM14116-AS	424	679	AM16013-SS-NL	538	726

Таблица 7Б

Дуплексы агентов РНКи ММР7 с соответствующими ID номерами смысловой и антисмысловой цепи и ID номерами последовательностей для модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей.

5

Дуплекс	AS ID	Модифицированная AS SEQ ID NO:	Немодифицированная AS SEQ ID NO:	SS ID	Модифицированная SS SEQ ID NO:	Немодифицированная SS SEQ ID NO:
AD06348	AM08523-AS	337	629	AM08522-SS	539	682
AD06349	AM08525-AS	338	630	AM08524-SS	540	683
AD06350	AM08527-AS	339	631	AM08526-SS	541	684
AD06351	AM08529-AS	340	632	AM08528-SS	542	685
AD06352	AM08531-AS	341	633	AM08530-SS	543	686
AD06353	AM08533-AS	342	634	AM08532-SS	544	687
AD06354	AM08535-AS	343	635	AM08534-SS	545	688
AD06355	AM08537-AS	344	636	AM08536-SS	546	689
AD06356	AM08539-AS	345	637	AM08538-SS	547	690
AD06357	AM08541-AS	346	638	AM08540-SS	548	691
AD06358	AM08543-AS	347	639	AM08542-SS	549	692
AD06359	AM08545-AS	348	640	AM08544-SS	550	693
AD06360	AM08547-AS	349	641	AM08546-SS	551	694
AD06361	AM08549-AS	350	642	AM08548-SS	552	695
AD08797	AM12367-AS	359	651	AM12366-SS	553	696
AD08798	AM12369-AS	360	652	AM12368-SS	554	697
AD08799	AM12371-AS	361	653	AM12370-SS	555	698
AD08800	AM12373-AS	362	654	AM12372-SS	556	699
AD08801	AM12375-AS	363	655	AM12374-SS	557	700
AD08802	AM08539-AS	345	637	AM12376-SS	558	701
AD08803	AM12378-AS	364	656	AM12377-SS	559	702
AD08804	AM12380-AS	365	657	AM12379-SS	560	703
AD08805	AM12382-AS	366	658	AM12381-SS	561	704
AD08806	AM12384-AS	367	659	AM12383-SS	562	705
AD08807	AM12386-AS	368	660	AM12385-SS	563	706
AD08808	AM12388-AS	369	661	AM12387-SS	564	707
AD08809	AM12390-AS	370	662	AM12389-SS	565	708
AD08810	AM12392-AS	371	663	AM12391-SS	566	709

AD08811	AM12394-AS	372	664	AM12393-SS	567	710
AD08812	AM12396-AS	373	665	AM12395-SS	568	711
AD08813	AM12398-AS	374	666	AM12397-SS	569	712
AD08814	AM12400-AS	375	667	AM12399-SS	570	713
AD08815	AM12402-AS	376	668	AM12401-SS	571	714
AD08816	AM12404-AS	377	669	AM12403-SS	572	715
AD08817	AM12406-AS	378	670	AM12405-SS	573	716
AD08818	AM12408-AS	379	671	AM12407-SS	574	717
AD08819	AM12410-AS	380	672	AM12409-SS	575	718
AD08820	AM12412-AS	381	673	AM12411-SS	576	719
AD08821	AM12414-AS	382	674	AM12413-SS	577	720
AD08822	AM12416-AS	383	675	AM12415-SS	578	721
AD08823	AM12418-AS	384	676	AM12417-SS	579	722
AD09128	AM12375-AS	363	655	AM12874-SS	580	700
AD09129	AM12875-AS	385	655	AM12874-SS	580	700
AD09130	AM12877-AS	386	655	AM12876-SS	581	700
AD09242	AM13076-AS	387	677	AM13075-SS	582	723
AD09243	AM13077-AS	388	668	AM12401-SS	571	714
AD09244	AM13079-AS	389	668	AM13078-SS	583	714
AD09245	AM13079-AS	389	668	AM13080-SS	584	714
AD09246	AM13081-AS	390	668	AM13080-SS	584	714
AD09247	AM13082-AS	391	668	AM13080-SS	584	714
AD09248	AM13083-AS	392	668	AM13080-SS	584	714
AD09249	AM13083-AS	392	668	AM13084-SS	585	714
AD09250	AM13083-AS	392	668	AM13078-SS	583	714
AD09330	AM12388-AS	369	661	AM13210-SS	586	724
AD09331	AM13212-AS	393	661	AM13211-SS	587	724
AD09332	AM13212-AS	393	661	AM13213-SS	588	724
AD09333	AM13212-AS	393	661	AM13214-SS	589	707
AD09334	AM13215-AS	394	666	AM12397-SS	569	712
AD09335	AM13215-AS	394	666	AM13216-SS	590	712
AD09336	AM13215-AS	394	666	AM13217-SS	591	712
AD09337	AM13215-AS	394	666	AM13218-SS	592	712
AD09349	AM13241-AS	395	674	AM12413-SS	577	720
AD09350	AM13241-AS	395	674	AM13242-SS	593	720
AD09351	AM13244-AS	396	674	AM13243-SS	594	720
AD09352	AM13244-AS	396	674	AM13242-SS	593	720
AD09353	AM13245-AS	397	674	AM13243-SS	594	720
AD09354	AM13246-AS	398	664	AM12393-SS	567	710
AD09355	AM13247-AS	399	664	AM12393-SS	567	710
AD09356	AM13246-AS	398	664	AM13248-SS	595	710
AD09357	AM13246-AS	398	664	AM13249-SS	596	710
AD09358	AM13246-AS	398	664	AM13250-SS	597	710
AD09441	AM13400-AS	400	656	AM13399-SS	598	702
AD09442	AM13400-AS	400	656	AM13401-SS	599	702
AD09443	AM13402-AS	401	656	AM13399-SS	598	702
AD09444	AM13403-AS	402	656	AM13399-SS	598	702
AD09445	AM13405-AS	403	676	AM13404-SS	600	722
AD09446	AM13405-AS	403	676	AM13406-SS	601	722
AD09447	AM13407-AS	404	676	AM12417-SS	579	722
AD09448	AM13409-AS	405	678	AM13408-SS	602	725
AD09666	AM13241-AS	395	674	AM13762-SS	603	720
AD09667	AM13244-AS	396	674	AM13762-SS	603	720
AD09668	AM13241-AS	395	674	AM13763-SS	604	720
AD09669	AM13212-AS	393	661	AM13764-SS	605	724

AD09670	AM13212-AS	393	661	AM13765-SS	606	707
AD09887	AM14108-AS	406	679	AM14107-SS	607	726
AD09888	AM14109-AS	407	661	AM13764-SS	605	724
AD09889	AM14110-AS	408	674	AM12413-SS	577	720
AD09890	AM14112-AS	409	679	AM14111-SS	608	726
AD09891	AM14113-AS	410	679	AM14111-SS	608	726
AD09892	AM14117-AS	411	661	AM13210-SS	586	724
AD09893	AM14118-AS	412	661	AM13210-SS	586	724
AD09894	AM14119-AS	413	661	AM13213-SS	588	724
AD09895	AM14109-AS	407	661	AM13213-SS	588	724
AD09896	AM12875-AS	385	655	AM12374-SS	557	700
AD09897	AM14121-AS	414	655	AM14120-SS	609	700
AD09898	AM14122-AS	415	655	AM14120-SS	609	700
AD09899	AM12877-AS	386	655	AM14120-SS	609	700
AD09900	AM14124-AS	416	680	AM14123-SS	610	727
AD09901	AM14125-AS	417	680	AM14123-SS	610	727
AD09902	AM14126-AS	418	680	AM14123-SS	610	727
AD09903	AM14127-AS	419	680	AM14123-SS	610	727
AD09904	AM14129-AS	420	681	AM14128-SS	611	728
AD09905	AM14130-AS	421	681	AM14128-SS	611	728
AD09906	AM14131-AS	422	681	AM14128-SS	611	728
AD09907	AM14114-AS	423	674	AM13242-SS	593	720
AD09908	AM14116-AS	424	679	AM14115-SS	612	726
AD09909	AM14108-AS	406	679	AM14115-SS	612	726
AD10212	AM13246-AS	398	664	AM14553-SS	613	710
AD10284	AM14651-AS	425	680	AM14123-SS	610	727
AD10285	AM14652-AS	426	664	AM12393-SS	567	710
AD10286	AM14653-AS	427	664	AM13250-SS	597	710
AD10287	AM14654-AS	428	664	AM13250-SS	597	710
AD10288	AM14655-AS	429	664	AM13250-SS	597	710
AD10289	AM14656-AS	430	664	AM13250-SS	597	710
AD10290	AM14657-AS	431	664	AM13250-SS	597	710
AD10291	AM14658-AS	432	664	AM13250-SS	597	710
AD10292	AM14659-AS	433	664	AM13250-SS	597	710
AD10438	AM14888-AS	434	664	AM13250-SS	597	710
AD10439	AM14889-AS	435	664	AM13250-SS	597	710
AD10441	AM14888-AS	434	664	AM14553-SS	613	710
AD10442	AM14889-AS	435	664	AM14553-SS	613	710
AD10637	AM14116-AS	424	679	AM14107-SS	607	726
AD10638	AM15155-AS	436	674	AM13762-SS	603	720
AD10639	AM14114-AS	423	674	AM13762-SS	603	720
AD10815	AM14108-AS	406	679	AM15418-SS	615	729
AD10816	AM14108-AS	406	679	AM15419-SS	616	730
AD10817	AM14108-AS	406	679	AM15420-SS	617	726
AD10879	AM14655-AS	429	664	AM14553-SS	613	710
AD10880	AM14657-AS	431	664	AM14553-SS	613	710

Таблица 8

Дуплексы агентов РНК и ММР7 с соответствующими ID номерами смысловой и антисмысловой цепи и ID номерами последовательности для модифицированных и немодифицированных нуклеотидных последовательностей (показаны с конъюгатами с направляющими лигандами).

5

Дуплекс	AS ID	Модифицированная AS SEQ ID NO:	Немодифицированная AS SEQ ID NO:	SS ID	Модифицированная SS SEQ ID NO:	Немодифицированная SS SEQ ID NO:
AC001271	AM12375-AS	363	655	CS001585	618	700
AC001272	AM12875-AS	385	655	CS001585	618	700
AC001273	AM12877-AS	386	655	CS001588	619	700
AC001513	AM13241-AS	395	674	CS001941	620	720
AC001514	AM13244-AS	396	674	CS001941	620	720
AC001515	AM13241-AS	395	674	CS001944	621	720
AC001516	AM13212-AS	393	661	CS001945	622	724
AC001517	AM13212-AS	393	661	CS001947	623	707
AC001651	AM14108-AS	406	679	CS002133	628	726
AC001652	AM14109-AS	407	661	CS001945	622	724
AC001875	AM13246-AS	398	664	CS002396	624	710
AC002023	AM14888-AS	434	664	CS002396	624	710
AC002024	AM14889-AS	435	664	CS002396	624	710
AC002085	AM14116-AS	424	679	CS002133	628	726
AC002086	AM15155-AS	436	674	CS001941	620	720
AC002087	AM14114-AS	423	674	CS001941	620	720
AC002217	AM14655-AS	429	664	CS002396	624	710
AC002218	AM14657-AS	431	664	CS002396	624	710
AC002219	AM14108-AS	406	679	CS002805	625	729
AC002220	AM14108-AS	406	679	CS002806	626	730
AC002221	AM14108-AS	406	679	CS002807	627	726

Таблица 9

ID номера дуплексов конъюгатов, относящихся к положению, направленному на ген ММР7 (ММР7).

Дуплекс	AS ID	SS ID	Дуплекс	Положение, направленное на ген (из SEQ ID NO:1)
AC001271	AM12375-AS	CS001585	AD09128	304
AC001272	AM12875-AS	CS001585	AD09129	304

Дуплекс	AS ID	SS ID	Дуплекс	Положение, направленное на ген (из SEQ ID NO:1)
AC001273	AM12877-AS	CS001588	AD09130	304
AC001513	AM13241-AS	CS001941	AD09666	971
AC001514	AM13244-AS	CS001941	AD09667	971
AC001515	AM13241-AS	CS001944	AD09668	971
AC001516	AM13212-AS	CS001945	AD09669	418
AC001517	AM13212-AS	CS001947	AD09670	418
AC001651	AM14108-AS	CS002133	AD09887	971
AC001652	AM14109-AS	CS001945	AD09888	418
AC001875	AM13246-AS	CS002396	AD10212	735
AC002023	AM14888-AS	CS002396	AD10441	735
AC002024	AM14889-AS	CS002396	AD10442	735
AC002085	AM14116-AS	CS002133	AD10637	971
AC002086	AM15155-AS	CS001941	AD10638	971
AC002087	AM14114-AS	CS001941	AD10639	971
AC002217	AM14655-AS	CS002396	AD10879	735
AC002218	AM14657-AS	CS002396	AD10880	735
AC002219	AM14108-AS	CS002805	AD10815	971
AC002220	AM14108-AS	CS002806	AD10816	971
AC002221	AM14108-AS	CS002807	AD10817	971

Таблица 10

ID номера конъюгатов с химически модифицированными антисмысловыми и смысловыми цепями (включая линкеры и конъюгаты).

AC ID Номер	Смысловая цепь (полностью модифицированная с конъюгированным нацеливающим лигандом) (5' → 3')	SEQ ID NO:	Антисмысловая цепь (5' → 3')	SEQ ID NO:
AC001271	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gsauguggaGfUfGfcccagauguuas(invAb)	618	usAfsasCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfaUfsc	363
AC001272	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gsauguggaGfUfGfcccagauguuas(invAb)	618	cPrpusAfsasCfaUfcUfgGfcAfcUfcCfaCfaUfsc	385
AC001273	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gsauguggaGfuGfcCfagauguuas(invAb)	619	cPrpuAfacaucuggcAfcUfcCfacause	386
AC001513	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	620	asGfsascauucaaaAfaCfcAfacugsc	395
AC001514	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	620	asGfsascauucAfaaAfaCfcAfacugsc	396
AC001515	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfUfUfuugaaugucus(invAb)	621	asGfsascauucaaaAfaCfcAfacugsc	395
AC001516	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)csaguggauCfgAfuUfagugucaas(invAb)	622	usUfsgsacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg	393
AC001517	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)csaguggauCfgAfuUfaguiucaas(invAb)	623	usUfsgsacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg	393
AC001875	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	asUfsasgguuggauAfcAfuCfacugsc	398
AC002217	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	cPrpasUfsaGfguuggauAfcAfuCfacugsc	429
AC002218	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	cPrpasUfsagGfuuggauAfcAfuCfacugsc	431
AC002219	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	625	cPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	406
AC002220	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguugggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	626	cPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	406
AC002221	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaauguca(invAb)	627	cPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	406
AC001651	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	628	cPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	406
AC001652	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)csaguggauCfgAfuUfagugucaas(invAb)	622	cPrpuUfgacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg	407
AC002085	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucas(invAb)	628	cPrpusGfsascauucAfaaAfaCfcAfacugsc	424
AC002086	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	620	cPrpaGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc	436
AC002087	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscaguuggUfuUfuUfgaaugucus(invAb)	620	cPrpasGfsascauucAfaaAfaCfcAfacugsc	423
AC002023	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	cPrpasUfsasgguuggauAfcAfuCfacugsc	434
AC002024	Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$ -(TA14)gscagugauGfuAfuCfcaaccuaus(invAb)	624	cPrpaUfagguuggauAfcAfuCfacugsc	435

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают или предоставляют в виде соли, смешанной соли или свободной кислоты. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают или предоставляют в виде фармацевтически приемлемой соли. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 получают или предоставляют в виде фармацевтически приемлемой натриевой или калиевой соли. Агенты РНКи, описанные в данном контексте, при доставке в клетку, экспрессирующую ген ММР7, ингибируют или подавляют экспрессию одного или более генов ММР7 *in vivo* и/или *in vitro*.

Направляющие группы, связующие группы, фармакокинетические/фармакодинамические (ФК/ФД) модуляторы и носители для доставки

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит одну или более не-нуклеотидных групп или конъюгирован с ними, включая, но не ограничиваясь перечисленным, направляющую группу, связывающую группу, фармакокинетический/фармакодинамический (ФК/ФД) модулятор, полимер для доставки или носитель для доставки. Не-нуклеотидная группа может усиливать направление, доставку или присоединение агента РНКи. Не-нуклеотидную группу можно ковалентно присоединить к 3'- и/или 5'-концу смысловой цепи и/или антисмысловой цепи. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 содержит не-нуклеотидную группу, присоединенную к 3'- и/или 5'-концу смысловой цепи. В некоторых вариантах не-нуклеотидная группа присоединена к 5'-концу смысловой цепи агента РНКи ММР7. Не-нуклеотидную группу можно к агенту РНКи присоединить напрямую или косвенно через линкер/связывающую группу. В некоторых вариантах не-нуклеотидная группа присоединена к агенту РНКи через лабильную, расщепляемую или обратимую связь или линкер.

В некоторых вариантах не-нуклеотидная группа усиливает фармакокинетические или биораспределительные свойства агента РНКи или конъюгата, к которому он присоединен, для улучшения клеточно- или тканеспецифичного распределения и клеточно-специфичного захвата конъюгата. В некоторых вариантах не-нуклеотидная группа усиливает эндоцитоз агента РНКи.

Направляющие группы или направляющие фрагменты усиливают фармакокинетические или биораспределительные свойства конъюгата или РНКи-агента, к которому они присоединены, для улучшения клеточно-специфичного (включая, в некоторых случаях, органоспецифичный) распределения и клеточно-

специфичного (или органоспецифичного), захвата конъюгата или агента РНКи.

Направляющая группа может являться одновалентной, двухвалентной, трехвалентной, четырехвалентной или характеризоваться более высокой валентностью по отношению к мишени, на которую она направлена. Типичные направляющие группы включают, не ограничиваясь перечисленным, соединения, обладающие сродством к молекулам клеточной поверхности, лиганды клеточных рецепторов, гаптен, антитела, моноклональные антитела, фрагменты антител и миметики антител, обладающие сродством к молекулам клеточной поверхности. В некоторых вариантах направляющая группа присоединена к агенту РНКи с использованием линкера, такого как линкер ПЭГ, или одного, двух или трех остатков с удаленным азотистым основанием и/или рибита с удаленным азотистым основанием (рибозы с удаленным азотистым основан), которые в некоторых случаях могут служить линкерами.

Направляющую группу, с линкером или без него, можно присоединить к 5'- или 3'-концу любой смысловой и/или антисмысловой цепи, указанной в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10. Линкер с направляющей группой или без нее можно присоединить к 5'- или 3'-концу любой смысловой и/или антисмысловой цепи, указанной в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10.

Описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7 можно синтезировать, с использованием реакционноспособной группы, такой как аминогруппа (также называемая в данном контексте амином), на 5'-конце и/или 3'-конце.

Реакционноспособную группу можно использовать впоследствии для присоединения направляющего фрагмента способами, типичными в данной области техники.

Например, в некоторых вариантах агенты РНКи ММР7, раскрытые в данном контексте, синтезировали, в виде соединений, содержащих группу $\text{NH}_2\text{-C}_6$ на 5'-конце смысловой цепи агента РНКи. Концевую аминогруппу впоследствии можно использовать в реакции с образованием конъюгата, например, с группой, которая включает лиганд, направляющий на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$. В некоторых вариантах агенты РНКи ММР7, раскрытые в данном контексте, синтезировали в виде соединений, включающих одну или более алкиновых групп на 5'-конце смысловой цепи агента РНКи. Концевую алкиновую группу(ы) можно впоследствии использовать в реакции с образованием конъюгата, например, с группой, которая включает лиганд, направляющий на интегрин $\alpha\upsilon\beta 6$.

В некоторых вариантах направляющая группа содержит лиганд, направляющий на интегрин. В некоторых вариантах лиганд, направляющий на интегрин, представляет собой лиганд, направляющий на интегрин $\alpha\beta6$. Использование лиганда, направляющего на интегрин $\alpha\beta6$, ускоряет клеточно-специфичное направление на клетки, содержащие $\alpha\beta6$ на их соответствующей поверхности, а связывание лиганда, направляющего на интегрин, может ускорить проникновение терапевтического агента, такого как агент РНКи, с которым он связан, в клетки, такие как эпителиальные клетки, включая эпителиальные клетки легких и эпителиальные клетки почек. Лиганды, направленные на интегрин, могут являться мономерными или моновалентными (например, включающими единый фрагмент, направляющий на интегрин) или мультимерными или поливалентными (например, содержащими несколько фрагментов, направляющих на интегрин). Направляющую группу можно присоединить к 3'- и/или 5'-концу олигонуклеотида РНКи способами, известными в данной области техники. Получение направляющих групп, таких как лиганды, направляющие на интегрин $\alpha\beta6$, описано, например, в публикации международной патентной заявки № WO 2018/085415 и в публикации международной патентной заявки № WO 2019/089765, содержание каждой из которых в полном объеме включено в данный контекст.

В некоторых вариантах направляющие группы присоединены к агентам РНКи ММР7 без использования дополнительного линкера. В некоторых вариантах направляющая группа сконструирована с присутствующим линкером исключительно для ускорения связывания с РНКи-агентом ММР7. В некоторых вариантах, когда в композицию включены два или более агента РНКи, два или более агента РНКи можно присоединить к их соответствующим направляющим группам с использованием одних и тех же линкеров. В некоторых вариантах, когда в композицию включены два или более агента РНКи, два или более агента РНКи связаны с их соответствующими направляющими группами с использованием различных линкеров.

В некоторых вариантах связывающая группа конъюгирована с агентом РНКи. Связывающая группа ускоряет ковалентное связывание агента с направляющей группой, фармакокинетическим модулятором, полимером для доставки или носителем для доставки. Связывающую группу можно присоединить к 3'- и/или 5'-концу смысловой цепи или антисмысловой цепи агента РНКи. В некоторых вариантах связывающая группа присоединена к смысловой цепи агента РНКи. В некоторых вариантах связывающая группа конъюгирована с 5'- или 3'-концом смысловой цепи

агента РНКи. В некоторых вариантах связывающая группа конъюгирована с 5'-концом смысловой цепи РНКи-агента. Примеры связывающих групп включают, но не ограничиваясь перечисленным: С6-SS-С6, 6-SS-6, реакционноспособные группы, такие как первичные амины (например, NH₂-С6) и алкины, алкильные группы, 5 остатки/нуклеотиды с удаленным азотистым основанием, аминокислоты, триалкиновые функционализированные группы, группы рибита и/или ПЭГ. Примеры некоторых связывающих групп представлены в таблице 11.

Линкер или связывающая группа представляет собой соединительную группу между двумя атомами, которая связывает одну химическую группу (такую как агент РНКи) или исследуемый сегмент с другой химической группой (такой как 10 направляющая группа, фармакокинетический модулятор или полимер для доставки) или с исследуемым сегментом, через одну или более ковалентных связей. Лабильная соединительная группа содержит лабильную связь. Связь может необязательно включать спейсер, который увеличивает расстояние между двумя соединенными 15 атомами. Спейсер может дополнительно повысить гибкость и/или длину связи. Спейсеры включают, но не ограничиваясь перечисленным, алкильные группы, алкенильные группы, алкинильные группы, арильные группы, аралкильные группы, аралкенильные группы и аралкинильные группы; каждый из которых может содержать один или более гетероатомов, гетероциклов, аминокислот, нуклеотидов и сахаридов. 20 Спейсерные группы хорошо известны в данной области техники, и приведенный выше список не предназначен для ограничения объема изобретения. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 конъюгирован с фрагментом полиэтиленгликоля (ПЭГ) или с гидрофобной группой, включающей 12 или более атомов углерода, такой как холестериновая или пальмитоильная группа.

25 В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 присоединен к одному или более фармакокинетических/фармакодинамических (ФК/ФД) модуляторов. Модуляторы ФК/ФД могут увеличивать время циркуляции конъюгированного лекарственного средства и/или повышать активность агента РНКи за счет улучшения связывания с 30 клеточными рецепторами, улучшения клеточного захвата и/или других модуляторов. В данной области техники известны различные модуляторы ФК/ФД, пригодные для использования с агентами РНКи. В некоторых вариантах модулятор ФК/ФД может представлять собой холестерин или производные холестерина, или в некоторых случаях модулятор ФК/ФД может состоять из алкильных групп, алкенильных групп,

алкинильных групп, арильных групп, аралкильных групп, аралкенильных групп или аралкинильных групп, каждая из которых может являться линейной, разветвленной, циклической и/или замещенной или незамещенной. В некоторых вариантах место присоединения этих фрагментов находится на 5'- или 3'-конце смысловой цепи, в 2'-
5 положении рибозного кольца любого данного нуклеотида смысловой цепи и/или присоединено к фосфатной или фосфоротиоатной каркасной структуре в любом положении смысловой цепи.

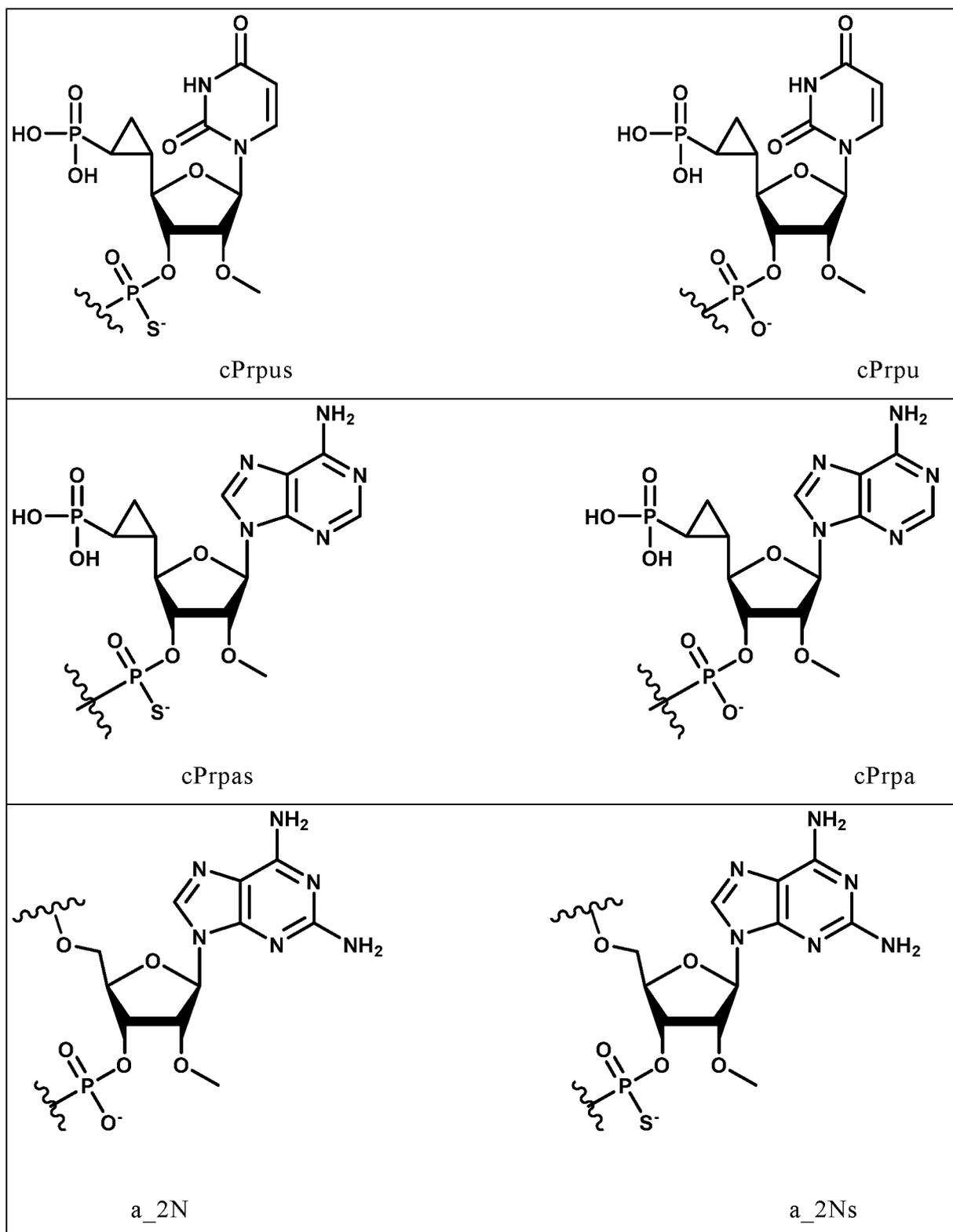
Любая из нуклеотидных последовательностей агента РНКи ММР7, указанных в таблицах 2, 3, 4, 5, 6 и 10, модифицированная или не-модифицированная, может
10 содержать 3'- и/или 5'-направляющую группу(ы), связывающую группу(пы) (и/или ФК/ФД модулятор(ы)). Любая из последовательностей агента РНКи ММР7, указанных в таблицах 3, 4, 5, 6 и 10 или иным образом описанных в данном контексте, которые содержат 3'- или 5'-направляющую группу, связывающую группу и/или ФК/ФД модулятор, в другом варианте не содержат 3'- или 5'-направляющую группу,
15 связывающую группу или ФК/ФД модулятор, или они могут содержать другую 3'- или 5'-направляющую группу, связывающую группу или ФК/ФД модулятор, включая, но не ограничиваясь перечисленным, последовательности, которые указаны в таблице 11. Любой из дуплексов агента РНКи ММР7, перечисленных в таблицах 7А, 7Б, 8, 9 и 10, не зависимо от того, являются они модифицированными или немодифицированными,
20 может дополнительно содержать направляющую группу или связывающую группу, включая, не ограничиваясь перечисленным, последовательности, которые указаны в таблице 11, и направляющую группу или связывающую группу можно присоединить к 3'- или 5'-концу либо смысловой цепи, либо антисмысловой цепи дуплекса агента РНКи ММР7.

25 Примеры некоторых модифицированных нуклеотидов, кэпирующих фрагментов и связывающих групп представлены в таблице 11.

Таблица 11

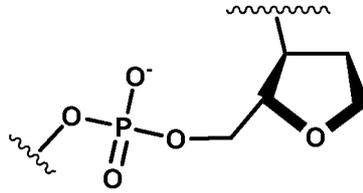
Структуры, представляющие различные модифицированные нуклеотиды,

кэпирующие фрагменты и связующие группы, где символ  означает место присоединения.



При внутреннем расположении:

Связь к 5'-концу

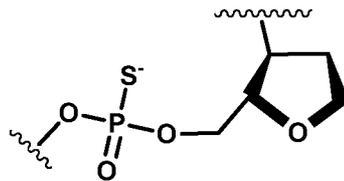


Связь к 3'-концу

(invAb)

При внутреннем расположении:

Связь к 5'-концу

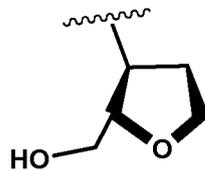


Связь к 3'-концу

(invAb)s

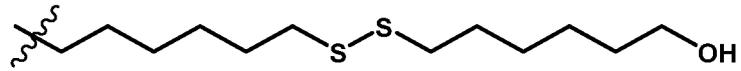
При расположении на 3'-конце:

Связь к 5'-концу



(invAb)

При расположении на 3'-конце:



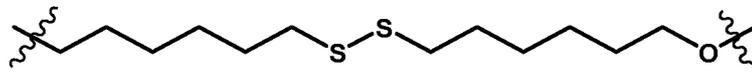
Связь к 5'-концу

(C6-SS-C6)

При внутреннем расположении:

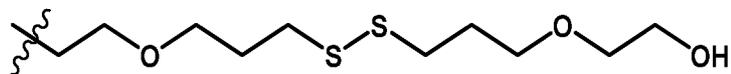
Связь к 5'-концу

Связь к 3'-концу



(C6-SS-C6)

При расположении на 3'-конце:



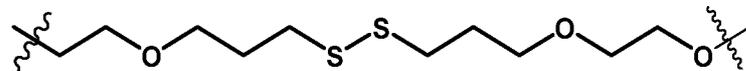
Связь к 5'-концу

(6-SS-6)

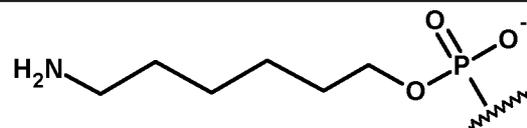
При внутреннем расположении:

Связь к 5'-концу

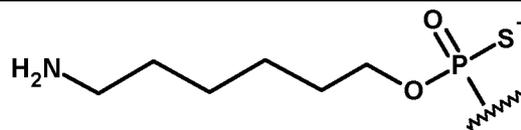
Связь к 3'-концу



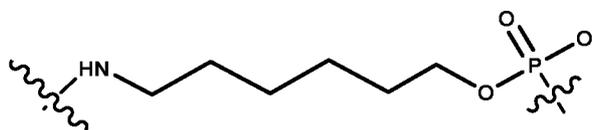
(6-SS-6)



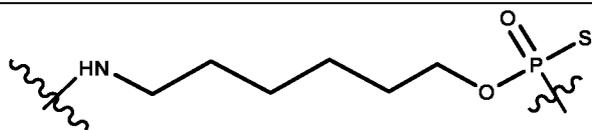
(NH₂-C₆)



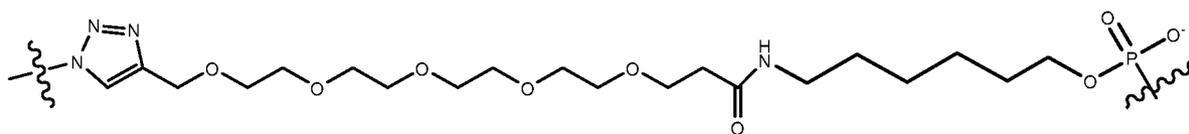
(NH2-C6)s



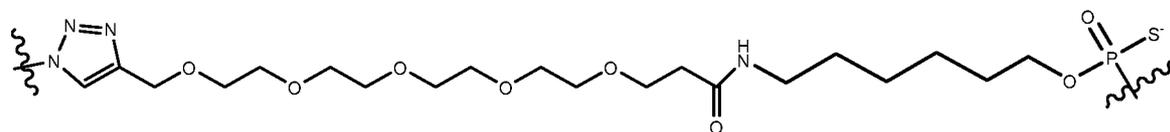
-C6-



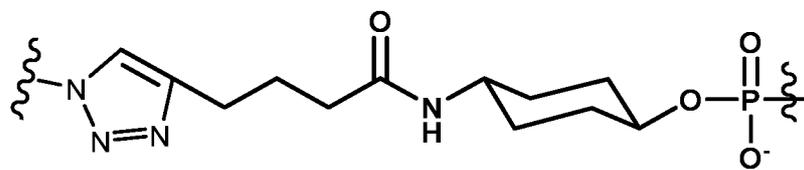
-C6s-



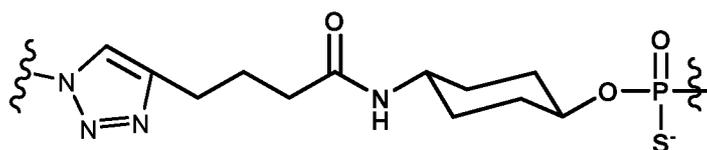
-L6-C6-



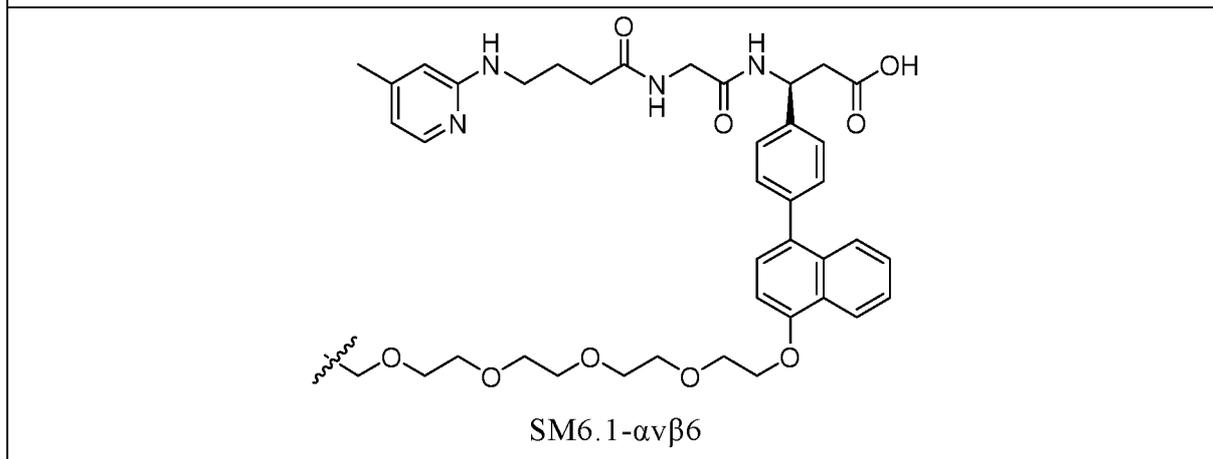
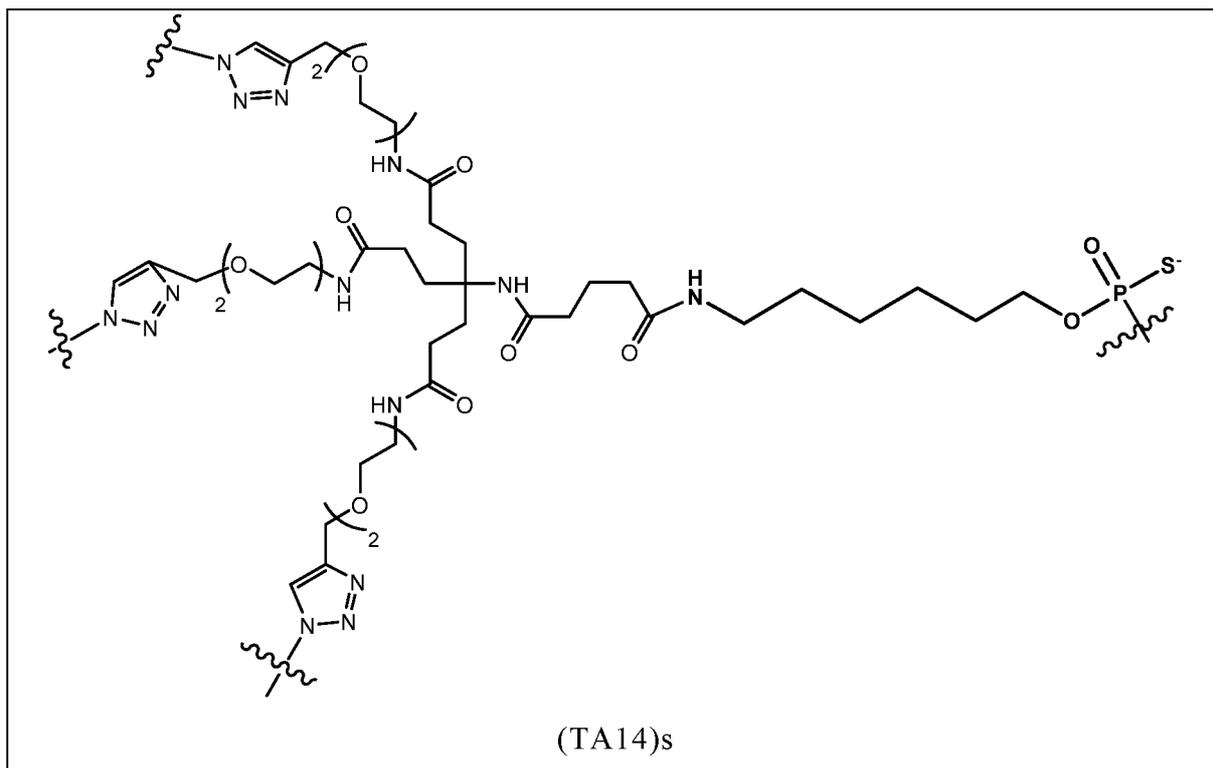
-L6-C6s-

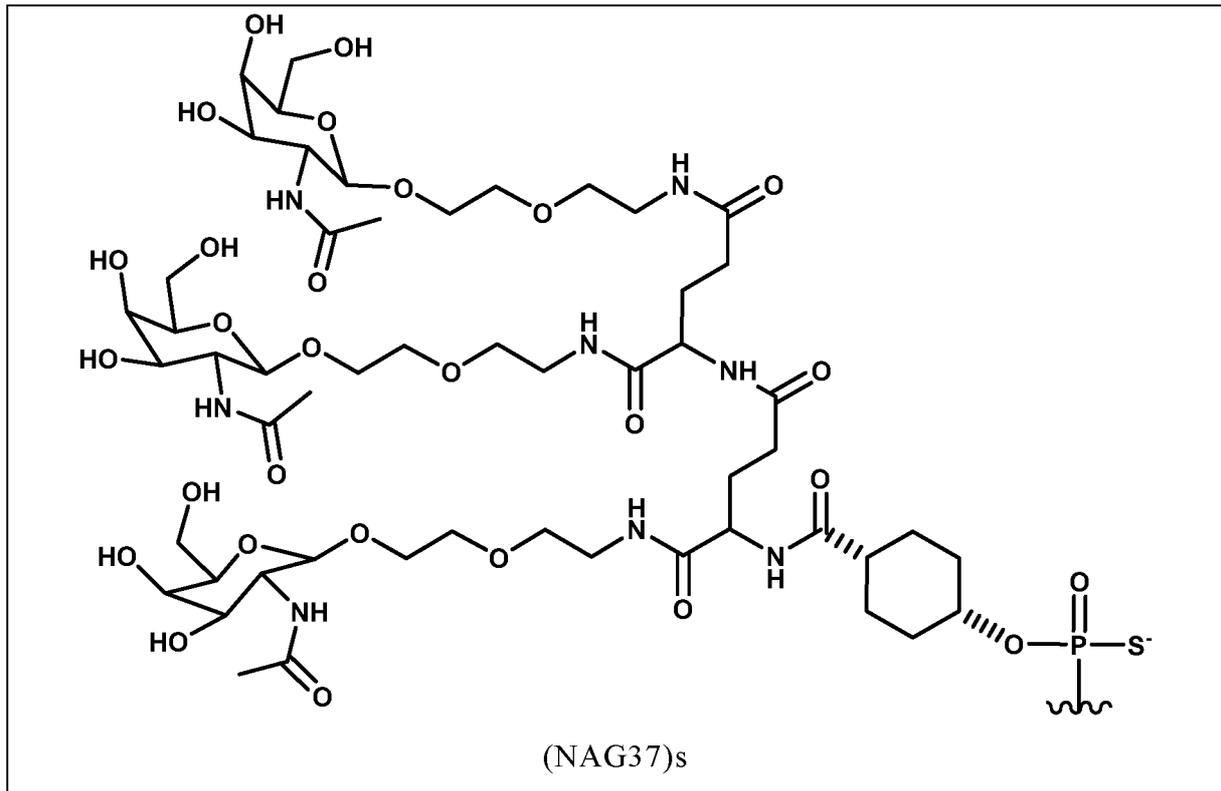


-Alk-cyHex-



-Alk-cyHexs-





В другом варианте можно использовать другие связывающие группы, известные в данной области техники. Во многих случаях связывающие группы выпускаются фирмами или, в другом варианте их можно включить в выпускаемые фирмами нуклеотидные фосфоамидиты (см., например, публикацию международной патентной заявки № WO 2019/161213, которая в полном объеме включена в настоящий документ в качестве ссылки).

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 доставляют без конъюгации с направляющим лигандом или ФК/ФД модулятором (называемым «без модуляторов» или «агентом РНКи с удаленными модуляторами»).

В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 конъюгирован с направляющей группой, связывающей группой, модулятором ФК и/или другой не-нуклеотидной группой для ускорения доставки агента РНКи ММР7 в выбранную клетку или ткань. например, в эпителиальную клетку *in vivo*. В некоторых вариантах агент РНКи ММР7 конъюгирован с направляющей группой, причем направляющая группа включает направляющий на интегрин лиганд. В некоторых вариантах направляющий на интегрин лиганд, представляет собой лиганд, направляющий на интегрин $\alpha\nu\beta 6$. В некоторых вариантах направляющая группа включает один или более лигандов, направляющих на интегрин $\alpha\nu\beta 6$.

В некоторых вариантах можно использовать носитель для доставки агента РНКи в клетку или ткань. Носитель для доставки представляет собой соединение, которое ускоряет доставку агента РНКи в клетку или ткань. Носитель для доставки может включать, не ограничиваясь перечисленным: полимер, такой как амфипатический полимер, мембранно-активный полимер, пептид, пептид мелиттин, мелиттиноподобный пептид (MLP), липид, обратимо модифицированный полимер или пептид или обратимо модифицированный мембранно-активный полиамин, или состоять из них.

В некоторых вариантах агенты РНКи можно комбинировать с липидами, наночастицами, полимерами, липосомами, мицеллами, дефективными пористыми углеродными частицами (DPC) или другими системами доставки, используемыми в данной области техники для доставки нуклеиновых кислот. Агенты РНКи также можно химическим способом конъюгировать с направляющими группами, липидами (включая, не ограничиваясь перечисленным, холестерин и производные холестерина), инкапсулировать в наночастицы, липосомы, мицеллы, конъюгировать с полимерами или DPC (см., например, заявки на патент WO 2000/053722, WO 2008/022309, WO 2011/104169 и WO 2012/083185, WO 2013/032829, WO 2013/158141, каждая из которых включена в данный контекст в качестве ссылки), методом ионтофореза или при включении в другие носители или системы для доставки, используемые в данной области техники, такие как гидрогели, циклодекстрины, биоразлагаемые нанокапсулы, биоадгезивные микросферы или белковые векторы. В некоторых вариантах агенты РНКи можно конъюгировать с антителами, обладающими аффинностью к эпителиальным клеткам легких. В некоторых вариантах агенты РНКи можно присоединить к направляющим лигандам, которые обладают аффинностью к эпителиальным клеткам легких или рецепторам, присутствующим на эпителиальных клетках легких.

Фармацевтические композиции и составы

Агенты РНКи ММР7, раскрытые в данном контексте, можно получать в виде фармацевтических композиций (в другом варианте называемых фармацевтическими составами или лекарственными средствами). Фармацевтические композиции, раскрытые в данном контексте, включают по меньшей мере один агент РНКи ММР7. Эти фармацевтические композиции прежде всего являются прежде всего пригодными для ингибирования экспрессии мРНК ММР7 в клетке-мишени, группе клеток, ткани

или организме. Фармацевтические композиции можно использовать для лечения субъекта, с диагнозом заболевания, расстройства или состояния, для которого было бы полезно снижение уровня мРНК-мишени или ингибирование экспрессии гена-мишени.

5 Фармацевтические композиции можно использовать для лечения субъекта с риском развития заболевания или нарушения, при котором снижение уровня мРНК-мишени или ингибирование экспрессии гена-мишени может обеспечить благоприятный терапевтический эффект. В одном варианте способ включает введение агента РНКи ММР7, связанного с направляющим лигандом, как описано в данном контексте, субъекту, проходящему курс лечения. В некоторых вариантах к фармацевтическим
10 композициям, которые включают агент РНКи ММР7, добавляют один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов (включая носители, среды, разбавители и/или полимеры для доставки), при этом формируют фармацевтический состав или лекарственный препарат, пригодные для доставки *in vivo* субъекту, включая человека.

Фармацевтические композиции, которые включают агент ММР7 РНКи, и
15 способы, раскрытые в данном контексте, снижают уровень мРНК-мишени в клетке, группе клеток, ткани, органе или у субъекта, включая введение субъекту терапевтически эффективного количества описанного в данном контексте агента РНКи ММР7, при этом наблюдается ингибирование экспрессии мРНК ММР7 у субъекта. В некоторых вариантах у субъекта ранее было выявлено или установлен диагноз
20 заболевания или расстройства, которое возможно опосредуется, по меньшей мере частично, снижением экспрессии ММР7. В некоторых вариантах у субъекта ранее был установлен диагноз одного или более заболеваний легких, таких как идиопатический легочный фиброз (IPF), астма (включая тяжелую форму астмы), острый респираторный дистресс-синдром, рак легких, хроническое воспаление, интерстициальные заболевания
25 легких (ILD). или другой тип фиброза. В некоторых вариантах у субъекта ранее был установлен диагноз IPF.

Варианты осуществления настоящего изобретения включают фармацевтические композиции для доставки агента РНКи ММР7 в эпителиальные клетки легких *in vivo*. Такие фармацевтические композиции могут включать, например, агент РНКи ММР7,
30 конъюгированный с направляющей группой, которая содержит лиганд, направляющий на интегрин. В некоторых вариантах лиганд, направляющий на интегрин, состоит из лиганда интегрина $\alpha v \beta 6$.

В некоторых вариантах описанные фармацевтические композиции, включающие агент РНКи ММР7, используют для лечения или контроля клинических проявлений у субъекта, на которого ингибирование экспрессии ММР7 будет оказывать положительный эффект. В некоторых вариантах терапевтически или профилактически эффективное количество одной или более фармацевтических композиций вводят субъекту, нуждающемуся в таком лечении. В некоторых вариантах введение любого из раскрытых агентов РНКи ММР7 можно использовать для снижения числа, тяжести и/или частоты симптомов заболевания у субъекта.

В некоторых вариантах описанные агенты РНКи ММР7 необязательно комбинируют с одним или более дополнительных (т.е. вторым, третьим и т.д.) терапевтическими препаратами. Вторым терапевтическим препаратом может являться другой агент РНКи ММР7 (например, агент РНКи ММР7, который направлен на другую последовательность в гене ММР7). В некоторых вариантах вторым терапевтическим препаратом может являться агент РНКи, направленный на ген ММР7. Дополнительным терапевтическим препаратом также может являться низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела и/или аптамер. Агенты РНКи ММР7 в комбинации с одним или более дополнительных терапевтических препаратов или без них можно комбинировать с одним или более эксципиентов, при этом формируют фармацевтические композиции.

Описанные фармацевтические композиции, которые включают агент РНКи ММР7, можно использовать для лечения по меньшей мере одного симптома у субъекта, у которого установлен диагноз заболевания или расстройства, и для которого снижение или ингибирование экспрессии мРНК ММР7 может оказывать положительный эффект. В некоторых вариантах субъекту вводят терапевтически эффективное количество одной или более фармацевтических композиций, которые включают агент РНКи ММР7, при этом наблюдается излечение симптома. В других вариантах субъекту вводят профилактически эффективное количество одного или более агентов РНКи ММР7, при этом наблюдается предотвращение или ингибирование по меньшей мере одного симптома.

В некоторых вариантах один или более описанных агентов РНКи ММР7 вводят млекопитающему в фармацевтически приемлемом носителе или разбавителе. В некоторых вариантах млекопитающим является человек.

Метод введения представляет собой путь, по которому агент РНКи ММР7 приводится в контакт с организмом. В основном, методы введения лекарственных средств, олигонуклеотидов и нуклеиновых кислот для лечения млекопитающих хорошо известны в данной области техники и их можно применять для введения описанных в данном контексте композиций. Раскрытые в данном контексте агенты РНКи ММР7 можно вводить любым пригодным методом в составе препарата, соответствующим образом оптимизированного к конкретному методу. Таким образом, в некоторых вариантах описанные в данном контексте фармацевтические композиции вводят с использованием ингаляции, интраназального введения, внутритрахеального введения или щечноглоточной аспирации. В некоторых вариантах фармацевтические композиции можно вводить с использованием инъекции, например, внутривенным, внутримышечным, внутрисуставным, внутримышечным, подкожным, внутрисуставным, внутриглазным или внутрибрюшинным, или местным методом.

Фармацевтические композиции, включающие агент РНКи ММР7, описанный в данном контексте, можно доставлять в клетку, группу клеток, ткань или субъекту с использованием технологий доставки олигонуклеотидов, известных в данной области техники. В основном, любой пригодный метод, известный в данной области техники для доставки молекулы нуклеиновой кислоты (*in vitro* или *in vivo*), можно оптимизировать для использования с композициями, описанными в данном контексте. Например, доставку можно осуществлять местным способом (например, прямой инъекции, имплантации или местного введения), с использованием системного введения или подкожного, внутривенного, внутрибрюшинного или парентерального путей, включая интракраниальный (например, внутрижелудочковый, интрапаренхиматозный и интратекальный), внутримышечный, чрескожный, через воздухоносные пути (аэрозоль), назальный, пероральный, ректальный или местный (включая буккальный и сублингвальный) способ введения. В некоторых вариантах композиции вводят с использованием ингаляции, интраназального введения, ротоглоточной аспирации или интратрахеального введения.

Например, в некоторых вариантах желательно, чтобы агенты РНКи ММР7, описанные в данном контексте, ингибировали экспрессию гена ММР7 в эпителии легких, для чего введение ингаляцией (например, с помощью ингалятора, такого как ингалятор с резервуаром для порошка с дозирующим устройством или распылитель, такой как струйный распылитель или распылитель с вибрирующей сеткой, или

жидкостной ингалятор) является прежде всего пригодным и характеризуется преимуществом.

В некоторых вариантах фармацевтические композиции, описанные в данном контексте, содержат один или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

5 Фармацевтические композиции, описанные в данном контексте, предназначены для введения субъекту.

В данном контексте фармацевтическая композиция включает фармакологически эффективное количество по меньшей мере одного из описанных терапевтических препаратов и одного или более фармацевтически приемлемых эксципиентов.

10 Фармацевтически приемлемые эксципиенты (вспомогательные вещества) представляют собой вещества, отличающиеся от активного фармацевтического ингредиента (API, терапевтический продукт, например, агент ММР7 РНКи), которые преднамеренно включены в систему доставки лекарственного средства. Эксципиенты не оказывают (или не предназначены для оказания терапевтического эффекта) терапевтического
15 эффекта в назначенной дозировке. Эксципиенты могут действовать следующим образом: а) упрощают обработку системы доставки лекарственного средства во время приготовления; б) защищают, поддерживают или повышают стабильность, биодоступность или приемлемость API для пациентов; в) способствуют идентификации продукта; и/или г) улучшают любые другие свойства, общую безопасность и
20 эффективность доставки API во время хранения ММР7 (stoММР7) или применения. Фармацевтически приемлемый эксципиент может являться или не являться инертным веществом.

Эксципиенты включают, не ограничиваясь перечисленным: усилители всасывания, антиадгезионные агенты, пеногасители, антиоксиданты, связующие,
25 буферные вещества, носители, агенты для нанесения покрытия, красители, усилители доставки, полимеры для доставки, детергенты, декстран, декстрозу, разбавители, разрыхлители, эмульгаторы, добавки, сухие наполнители, ароматизаторы, скользящие вещества, увлажнители, смазочные материалы, масла, полимеры, консерванты, физиологический раствор, соли, растворители, сахара, поверхностно-активные
30 вещества, суспендирующие агенты, препараты с замедленным высвобождением, подсластители, загустители, регуляторы тоничности, наполнители лекарственной формы, водоотталкивающие и смачивающие вещества.

Фармацевтические композиции, пригодные для инъекций, включают стерильные водные растворы (если они водорастворимы) или дисперсии и стерильные порошки для приготовления стерильных инъекционных растворов или дисперсий аптечного изготовления. Для внутривенного введения пригодные носители включают

5 физиологический раствор, бактериостатическую воду, продукт Cremophor® ELTM (BASF, Парсиппани, Нью-Джерси) или физиологический раствор на основе фосфатного буферного раствора (PBS). Такие носители должны быть стабильными в условиях их приготовления и хранения и должны быть защищенными от загрязняющего действия

10 микроорганизмов, таких как бактерии и грибы. Носитель может представлять собой растворитель или дисперсионную среду, содержащую, например, воду, этанол, полиол (например, глицерин, пропиленгликоль и жидкий полиэтиленгликоль) и их пригодные смеси. Надлежащую текучесть можно поддерживать, например, при использовании покрытия, такого как лецитин, за счет поддержания необходимого размера частиц в случае дисперсии и за счет использования поверхностно-активных веществ. Во многих

15 случаях предпочтительно включать в композицию изотонические агенты, например, сахара, полиспирты, такие как маннит, сорбит и хлорид натрия. Пролонгированную всасываемость инъекцируемых композиций можно обеспечивать при включении в композицию агента, замедляющего всасываемость, например, моностеарата алюминия и желатина.

20 Стерильные растворы для инъекций можно приготовить при включении активного соединения в необходимом количестве в соответствующий растворитель с одним из ингредиентов или их комбинацией, перечисленных выше, при необходимости с последующей стерилизацией фильтрованием. В основном дисперсии получают при включении активного соединения в стерильный носитель, который содержит основную

25 дисперсионную среду и другие необходимые ингредиенты из числа перечисленных выше. В случае стерильных порошков, предназначенных для получения стерильных инъекционных растворов, способы приготовления включают сушку в вакууме и лиофилизацию, при этом получают порошкообразный активный ингредиент плюс любой дополнительный требуемый ингредиент, полученный из его предварительно

30 стерильно отфильтрованного раствора.

Составы, пригодные для внутрисуставного введения, могут находиться в форме стерильного водного препарата лекарственного средства, который может находиться в микрокристаллической форме, например, в виде водной микрокристаллической

суспензии. Липосомальные составы или биоразлагаемые полимерные системы также можно использовать для приготовления лекарственного средства как для внутрисуставного, так и для офтальмологического введения.

5 Составы, пригодные для ингаляционного введения, можно приготовить при включении активного соединения в требуемом количестве в соответствующий растворитель с последующей стерильной фильтрацией. В основном, составы для ингаляционного введения представляют собой стерильные растворы с физиологическим рН и низкой вязкостью (< 5 сП). В состав можно добавлять соли для регулировки тоничности. В некоторых случаях можно добавлять поверхностно-активные вещества или соразтворители для повышения растворимости активного соединения и улучшения характеристик аэрозоля. В некоторых случаях можно добавлять эксципиенты для контроля вязкости и обеспечения размера и распределения распыляемых капель.

15 В некоторых вариантах фармацевтические составы, которые включают описанные в данном контексте агенты РНКи ММР7, пригодные для ингаляционного введения, можно приготовить в воде для инъекций (стерильная вода) или водном натрий-фосфатном буферном растворе (например, агент РНКи ММР7 в составе раствора 0,5 мМ одноосновного фосфата натрия, 0,5 мМ двухосновного фосфата натрия в воде).

20 Активные соединения можно приготовить в смеси с носителями, которые будут защищать соединение от быстрого выведения из организма, например, в составе препаратов с контролируемым высвобождением, включая имплантаты и микроинкапсулированные системы доставки. Можно использовать биоразлагаемые, биосовместимые полимеры, такие как этиленвинилацетат, полиангидриды, полигликолевая кислота, коллаген, полиортоэфиры и полимолочная кислота. Способы приготовления таких составов представляются очевидными специалистам в данной области техники. В качестве фармацевтически приемлемых носителей также можно использовать липосомальные суспензии. Их можно получить способами, известными специалистам в данной области техники, например, как описано в патенте США № 30 4522811.

Агенты ММР7 РНКи можно получать в составе композиций в стандартной дозированной лекарственной форме для упрощения введения и однородности дозировки. Стандартная лекарственная форма относится к физически дискретным

формам, пригодным в качестве однократных доз для субъекта, нуждающегося в таком лечении; при этом каждая форма содержит предварительно определенное количество активного соединения, рассчитанное для обеспечения требуемого терапевтического эффекта в сочетании с необходимым фармацевтическим носителем. Спецификация стандартных лекарственных форм по настоящему изобретению продиктована и
5 напрямую зависит от уникальных характеристик активного соединения и терапевтического эффекта, который необходимо обеспечить, а также от ограничений, которые существуют в области техники для переработки такого активного соединения, предназначенного для лечения индивидуумов.

10 Фармацевтическая композиция может содержать другие дополнительные компоненты, обычно присутствующие в фармацевтических композициях. Такие дополнительные компоненты включают, не ограничиваясь перечисленным: противоэпидемические средства, вяжущие средства, местные анестетики или противовоспалительные агенты (например, антигистамин, дифенгидрамин и т.д.).

15 Предполагается также, что клетки, ткани или изолированные органы, которые экспрессируют или содержат определенные в данном контексте агенты РНКи можно использовать в качестве «фармацевтических композиций». Используемые в данном контексте термины «фармакологически эффективное количество», «терапевтически эффективное количество» или просто «эффективное количество» относятся к такому
20 количеству агента РНКи, которое обеспечивает фармакологический, терапевтический или профилактический результат.

В некоторых вариантах способы, раскрытые в данном контексте, дополнительно включают стадию введения второго терапевтического средства или лечения в дополнение к введению агента РНКи, раскрытого в данном контексте. В некоторых
25 вариантах второе терапевтическое средство представляет собой другой агент РНКи ММР7 (например, агент РНКи ММР7, который направлен на другую последовательность в мишени ММР7). В других вариантах второе терапевтическое средство может представлять собой низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела и/или аптамер.

30 В некоторых вариантах в данном контексте описаны композиции, которые включают комбинацию или смесь по меньшей мере двух агентов РНКи ММР7, которые характеризуются различными последовательностями. В некоторых вариантах каждый из двух или более агентов РНКи ММР7 в отдельности и независимо присоединен к

направляющим группам. В некоторых вариантах каждый из двух или более агентов РНКи ММР7 присоединен к направляющим группам, которые включают лиганды, направляющие на интегрин, или состоят из них. В некоторых вариантах каждый из двух или более агентов РНКи ММР7 присоединен к направляющим группам, которые включают лиганды, направляющие на интегрин $\alpha\beta6$, или состоят из них.

В данном контексте описаны композиции для доставки агентов РНКи ММР7 к эпителиальным клеткам легких. Кроме того, в данном контексте в основном описаны композиции для доставки агентов РНКи ММР7 в клетки, включая эпителиальные клетки почек и/или эпителиальные клетки желудочно-кишечного тракта или репродуктивного тракта, и/или эпителиальные клетки поверхности глаза, *in vivo*.

В основном, эффективное количество агента РНКи ММР7, раскрытого в данном контексте, находится в интервале от приблизительно 0,0001 до приблизительно 20 мг/кг массы тела на нанесенную дозу, например, от приблизительно 0,001 до приблизительно 5 мг/кг массы тела на нанесенную дозу. В некоторых вариантах эффективное количество агента РНКи ММР7 находится в интервале от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 3,0 мг/кг массы тела на нанесенную дозу. В некоторых вариантах эффективное количество агента РНКи ММР7 находится в интервале от приблизительно 0,03 мг/кг до приблизительно 2,0 мг/кг массы тела на нанесенную дозу. В некоторых вариантах эффективное количество агента РНКи ММР7 находится в интервале от приблизительно 0,01 до приблизительно 1,0 мг/кг нанесенной дозы на массу тела. В некоторых вариантах эффективное количество агента РНКи ММР7 находится в интервале от приблизительно 0,50 до приблизительно 1,0 мг/кг нанесенной дозы на массу тела. Расчет дозы, наносимой в легкие (PDD), осуществляют в соответствии со способами, известными в данной области техники (см. статьи Wolff R.K., Dorato M.A., *Toxicologic Testing of Inhaled Pharmaceutical Aerosols*, *Crit Rev Toxicol.*, 23(4):343-369 (1993); Tepper и др., *International J. Toxicology*, vol. 35(4):376-392 (2016). Вводимое количество также, вероятно, будет зависеть от таких переменных, как общее состояние здоровья пациента, относительная биологическая эффективность доставленного соединения, состав лекарственного средства, наличие и типы наполнителей в составе и метод введения. Также следует понимать, что начальную вводимую дозу можно увеличить за пределы вышеуказанного верхнего уровня для быстрого достижения требуемого уровня в крови или тканях, или можно использовать начальную дозу менее оптимальной. В некоторых вариантах дозу вводят ежедневно. В

некоторых вариантах дозу вводят еженедельно. В дополнительных вариантах дозу вводят раз в две недели, три недели, один раз в месяц или один раз в квартал (т.е. один раз в три месяца).

5 Для лечения заболевания или для получения состава лекарственного препарата или композиции, предназначенных для лечения заболевания, фармацевтические композиции, описанные в данном контексте, включающие агент РНКи ММР7, можно комбинировать с эксципиентом или со вторым терапевтическим агентом или курсом лечения, включая, не ограничиваясь перечисленным, второй или другой агент РНКи, низкомолекулярное лекарственное средство, антитело, фрагмент антитела, пептид
10 и/или аптамер.

Описанные агенты РНКи ММР7 при добавлении к фармацевтически приемлемым эксципиентам или адъювантам можно упаковывать в наборы, контейнеры, упаковки или диспенсеры. Описанные в данном контексте фармацевтические композиции можно
15 упаковывать в ингаляторы с резервуаром для порошка или аэрозоля с дозирующим устройством, другие ингаляторы с отмеренной дозой, небулайзеры, предварительно заполненные шприцы или флаконы.

Способы лечения и подавления экспрессии ММР7

Предлагаемые в данном контексте агенты РНКи ММР7 можно использовать для лечения субъекта (например, человека или другого млекопитающего),
20 страдающего заболеванием или расстройством, при котором введение агента РНКи может обеспечить благоприятное действие. В некоторых вариантах осуществления агенты РНКи, раскрытые в данном контексте, можно использовать для лечения субъекта (например, человека), для которого окажется благоприятным снижение и/или подавление экспрессии мРНК ММР7 и/или
25 снижение уровня содержания фермента ММР7.

В некоторых вариантах агенты РНКи, раскрытые в данном контексте, можно использовать для лечения субъекта (например, человека), страдающего заболеванием или расстройством, при котором для субъекта может являться благоприятным снижение уровней содержания фермента ММР7, включая, но не
30 ограничиваясь только ими, идиопатический фиброз легких (IPF), астму, различные другие виды фиброза, хроническое воспаление, интерстициальные заболевания легких (ILD), инфекционные заболевания (например, SARS-COV-2), острое повреждение легких (например, острый респираторный дистресс-синдром

(ARDS)), легочную гипертензию, различные виды рака, неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD), неалкогольный стеатогепатит (NASH), жировую болезнь печени, атрезию желчевыводящих путей и хроническую болезнь почек (CKD). В некоторых вариантах заболевание представляет собой IPF. В
5 некоторых вариантах у субъекта ранее диагностировали IPF, астму, ILD, ARDS или другой тип фиброза. Лечение субъекта может включать терапевтическое и/или профилактическое лечение. Субъекту вводят терапевтически эффективное количество любого одного или более агентов РНКи MMP7, описанных в данном контексте. Субъект может являться человеком, пациентом или человеком-
10 пациентом. Субъект может представлять собой взрослого, подростка, ребенка или младенца. Описанную в данном контексте фармацевтическую композицию можно вводить человеку или животному.

Известно, что повышенные уровни содержания мембранного фермента MMP7 вносят вклад в нарушение функционирования эпителиальных клеток,
15 фибробластов и иммунных клеток и связаны с фиброзом, прежде всего в легочных тканях и клетках. В некоторых вариантах описанные агенты РНКи MMP7 используют для лечения по меньшей мере одного симптома, опосредованного по меньшей мере частично, снижением уровней содержания фермента MMP7 у субъекта. Субъекту вводят терапевтически эффективное
20 количество любого одного или более описанных агентов РНКи MMP7. В некоторых вариантах субъекту вводят профилактически эффективное количество любого одного или более описанных РНКи-агентов, тем самым проводя лечение субъекта за счет предотвращения или подавления по меньшей мере одного симптома.

25 В некоторых вариантах осуществления настоящего изобретения предлагаются способы лечения заболеваний, расстройств, состояний или патологических состояний, опосредованных, по меньшей мере частично, экспрессией гена MMP7 у пациента, нуждающегося в этом, причем способы включают введение пациенту любого из агентов РНКи MMP7, описанных в
30 данном контексте.

В некоторых вариантах агенты РНКи MMP7 используют для лечения или контроля клинической картины или патологического состояния у субъекта, при этом клиническая картина или патологическое состояние опосредованы, по

меньшей мере частично, снижением экспрессии ММР7. Субъекту вводят терапевтически эффективное количество одного или более агентов РНКи ММР7 или композиций, содержащих агент РНКи ММР7, описанных в данном контексте. В некоторых вариантах способ лечения включает введение композиции, содержащей агент РНКи ММР7, описанный в данном контексте, субъекту, которому показано лечение.

В еще одном аспекте изобретения предлагаются способы лечения (включая профилактическое или превентивное лечение) заболеваний или симптомов, которые можно устранить благодаря понижению уровней содержания фермента ММР7, причем способы включают введение субъекту, нуждающемуся в таком лечении, агента РНКи ММР7, который включает антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10. В данном контексте также описаны композиции для применения при таких способах лечения.

Описанные агенты РНКи ММР7 и/или композиции, включающие агенты РНКи ММР7, можно использовать в способах терапевтического лечения заболеваний или состояний, опосредованных повышенным или возросшим уровнями содержания фермента ММР7. Такие способы лечения включают введение агента РНКи ММР7, как описано в данном контексте, субъекту, например, человеку или животному.

В другом аспекте изобретения предлагаются способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния (такого как состояние или заболевание), опосредованного, по меньшей мере частично, экспрессией ММР7, и такие способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи, который включает антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы подавления экспрессии гена ММР7, и такие способы включают введение в клетку агента РНКи, который включает антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния, опосредованного, по меньшей мере частично, экспрессией ММР7, и такие способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи, который включает смысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы подавления экспрессии гена ММР7, и такие способы включают введение в клетку агента РНКи, который включает смысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 2, таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы лечения (включая профилактическое лечение) патологического состояния, опосредованного, по меньшей мере частично, экспрессией ММР7, и такие способы включают введение субъекту терапевтически эффективного количества агента РНКи, включающего смысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы подавления экспрессии гена ММР7, и такие способы включают введение в клетку агента РНКи, включающего смысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей, приведенных в таблице 3 или в таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы подавления экспрессии гена ММР7, и такие способы включают введение субъекту агента РНКи ММР7, который включает смысловую цепь, содержащую любую из последовательностей азотистых оснований, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую любую из последовательностей азотистых оснований, приведенных в таблице 3 или таблице 10. В других вариантах в данном контексте предлагаются способы

подавления экспрессии гена ММР7, и такие способы включают введение субъекту агента РНКи ММР7, содержащего смысловую цепь, включающую любую из модифицированных последовательностей, приведенных в таблице 4, таблице 5, таблице 6 или таблице 10, и антисмысловую цепь, содержащую
5 любую из модифицированных последовательностей, приведенных в таблице 3 или таблице 10.

В некоторых вариантах в данном контексте предлагаются способы подавления экспрессии гена ММР7 в клетке, и такие способы включают введение одного или более агентов РНКи ММР7, содержащих дуплексную
10 структуру одного из дуплексов, приведенных в таблицах 7А, 7В, 8, 9 и 10.

В некоторых вариантах уровень экспрессии гена ММР7 и/или уровень содержания мРНК ММР7 в конкретных легочных эпителиальных клетках субъекта, которому вводят описанный агент РНКи ММР7, понижается по
15 меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99% или более 99% по сравнению с соответствующим уровнем у субъекта до введения агента РНКи ММР7 или у другого субъекта, не получающего агент РНКи ММР7.
В некоторых вариантах уровни содержания фермента ММР7 в конкретных эпителиальных клетках или уровни содержания циркулирующего фермента
20 ММР7 у субъекта, которому вводят описанный агент РНКи ММР7, понижаются по меньшей мере приблизительно на 5%, 10%, 15%, 20%, 25% и 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 96%, 97%, 98% , 99% или более 99% по сравнению с субъектом до введения агента РНКи ММР7 или другим субъектом, не получавшим агент РНКи ММР7. Уровень экспрессии гена,
25 уровень фермента или белка и/или уровень мРНК у субъекта может быть снижен в клетке, группе клеток, сыворотке и/или ткани субъекта. В некоторых вариантах уровни фермента ММР7 у некоторых субъектов, которым вводили описанный агент РНКи ММР7, снижаются по меньшей мере приблизительно на 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65% , 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или
30 98% по сравнению с субъектом до введения агента РНКи ММР7 или с субъектом, не получавшим агент РНКи ММР7.

Понижение экспрессии генов, мРНК и уровней содержания ферментов или белков можно оценивать любыми способами, известными в данной области

техники. Понижение или уменьшение уровней содержания фермента ММР7 или уровней содержания мРНК ММР7 иногда вместе называют в данном контексте уменьшением, понижением или подавлением экспрессии гена ММР7.

5 Приведенные в данном контексте примеры иллюстрируют известные способы оценки подавления ММР7.

Клетки, ткани, органы и организмы, отличающиеся от человека

В данном контексте рассматриваются клетки, ткани, органы и организмы, не относящиеся к человеку, которые включают по меньшей мере один из агентов РНКи ММР7. Клетки, ткани, органы или организмы, отличающиеся от человека, получают в результате доставки агента РНКи в клетку, ткани, органы или в
10 организмы, отличающиеся от человека.

Дополнительные иллюстративные варианты осуществления изобретения

В данном контексте представлены некоторые дополнительные иллюстративные варианты осуществления раскрытой технологии. Эти варианты являются только иллюстративными и не ограничивают объем настоящего
15 изобретения или прилагаемой к нему формулы изобретения.

Вариант 1. Агент РНКи для подавления экспрессии гена матричной металлопептидазы 7, включающий:

20 антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 17 смежных нуклеотидов, отличающихся на 0 или 1 нуклеотид от любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 3, и

смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.

25 Вариант 2. Агент РНКи согласно варианту 1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2–18 любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3.

30 Вариант 3. Агент РНКи согласно варианту 1 или варианту 2, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, состоящую по меньшей мере из 17 смежных нуклеотидов, отличающихся на 0 или 1 нуклеотид от любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 4, и при этом смысловая цепь включает область, по меньшей мере на 85% комплементарную антисмысловой цепи по 17 смежным нуклеотидам.

Вариант 4. Агент РНКи по любому из вариантов 1-3, где по меньшей мере один нуклеотид агента РНКи ММР7 является модифицированным нуклеотидом или включает модифицированную межнуклеозидную связь.

5 Вариант 5. Агент РНКи по любому из вариантов 1-4, где все или практически все нуклеотиды представляют собой модифицированные нуклеотиды.

10 Вариант 6. Агент РНКи по любому из вариантов 4-5, где модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из: 2'-О-метилнуклеотида, 2'-фторнуклеотида, 2'-дезоксинуклеотида, миметика 2',3'-секонуклеотида, защищенного нуклеотида, 2'-F-арабинонуклеотида, 2'-метоксиэтилнуклеотида, нуклеотида с удаленным азотистым основанием, рибита, инвертированного нуклеотида, инвертированного 2'-О-метилнуклеотида, инвертированного 2'-дезоксинуклеотида, 2'-аминомодифицированного нуклеотида, 2'-алкилмодифицированного нуклеотида, морфолинонуклеотида, 15 винилфосфонатсодержащего нуклеотида, циклопропилфосфонатсодержащего нуклеотида и 3'О-метилнуклеотида.

Вариант 7. Агент РНКи по варианту 5, где все или практически все нуклеотиды модифицированы 2'-О-метилнуклеотидами, 2'-фторнуклеотидами или их комбинациями.

20 Вариант 8. Агент РНКи по любому из вариантов 1-7, где антисмысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3.

25 Вариант 9. Агент РНКи по любому из вариантов 1-8, где смысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

30 Вариант 10. Агент РНКи по варианту 1, где антисмысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3, а смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

Вариант 11. Агент РНКи по любому из вариантов 1-10, где длина смысловой цепи составляет от 18 до 30 нуклеотидов, а длина антисмысловой цепи составляет от 18 до 30 нуклеотидов.

Вариант 12. Агент РНКи по варианту 11, где длина смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет от 18 до 27 нуклеотидов каждая.

Вариант 13. Агент РНКи по варианту 12, где длина смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет от 18 до 24 нуклеотидов каждая.

5 Вариант 14. Агент РНКи по варианту 13, где длина смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет 21 нуклеотид каждая.

Вариант 15. Агент РНКи по варианту 14, где агент РНКи характеризуется наличием двух тупых концов.

10 Вариант 16. Агент РНКи по любому из вариантов 1-15, где смысловая цепь содержит один или два концевых кэпа.

Вариант 17. Агент РНКи по любому из вариантов 1-16, где смысловая цепь содержит один или два инвертированных остатка с удаленными азотистыми основаниями.

15 Вариант 18. Агент РНКи по варианту 1, отличающийся тем, что агент РНКи состоит из смысловой цепи и антисмысловой цепи, которые образуют дуплекс, характеризующийся структурой любого из дуплексов, указанных в таблице 7А, таблице 7Б, таблице 8, таблице 9 или таблице 10.

Вариант 19. Агент РНКи по варианту 18, где все или практически все нуклеотиды представляют собой модифицированные нуклеотиды.

20 Вариант 20. Агент РНКи по варианту 1, содержащий антисмысловую цепь, которая состоит из, в значительной степени состоит из нуклеотидной последовательности или включает нуклеотидную последовательность, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

25 AGACAUUCAAAAACCAACU (SEQ ID NO:175),
UUGACACUAAUCGAUCCAC (SEQ ID NO:123),
UGACAUUCAAAAACCAACU (SEQ ID NO:176),
AGACAUUCAAAAACCAACUGC (SEQ ID NO:674),
UUGACACUAAUCGAUCCACUG (SEQ ID NO:661) или
30 UGACAUUCAAAAACCAACUCGC (SEQ ID NO:679).

Вариант 21. Агент РНКи по варианту 20, где смысловая цепь состоит из, в значительной степени состоит из нуклеотидной последовательности или

включает нуклеотидную последовательность, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

AGUUGGUUUUUGAAUGUCU (SEQ ID NO:325),
ГУГГАУКГАУУАГУГУКАА (SEQ ID NO:273),
5 AGUUGGUUUUUGAAUGUCA (SEQ ID NO:326),
GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU (SEQ ID NO:720),
CAGUGGAUCGAUUAGUGUCAА (SEQ ID NO:724) или
GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA (SEQ ID NO:726).

10 Вариант 22. Агент РНКи по вариантам 20 или 21, где все или в значительной степени все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

Вариант 23. Агент РНКи по варианту 1, содержащий антисмысловую цепь, которая содержит, состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности или включает нуклеотидную последовательность, которая
15 отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

asGfsascauucAfaaAfaCfcAfacugsc (SEQ ID NO:396),
usUfsgsacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg (SEQ ID NO:393) или
сPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc (SEQ ID NO:406),

20 где а, с, g и u представляют собой 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-О-метилгуанозин и 2'-О-метилуридин соответственно, Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и 2'-фторуридин соответственно, сPrpu представляет собой 5'-циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин, s представляет собой
25 фосфоротиоатную связь, и при этом все или в значительной степени все нуклеотиды смысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами.

Вариант 24. Агент РНКи по варианту 1, где смысловая цепь состоит из, в значительной степени состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности или включает модифицированную нуклеотидную
30 последовательность, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

gscaguuggUfuUfuUfgaaugucu (SEQ ID NO:522),
csaguggauCfgAfuUfagugucaа (SEQ ID NO:524),

gscaguuggUfuUfuUfgaauguca (SEQ ID NO:526),

где a, c, g, i и u представляют собой 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-О-метилгуанозин, 2'-О-метилюридин соответственно, Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и 2'-фторуридин соответственно и s представляет собой фосфориотатную связь, где все или в значительной степени все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют собой модифицированные нуклеотиды.

Вариант 25. Агент РНКи по любому из вариантов 20-24, где смысловая цепь дополнительно включает инвертированные остатки с удаленными азотистыми основаниями на 3'-конце нуклеотидной последовательности, на 5'-конце нуклеотидной последовательности или на обоих концах.

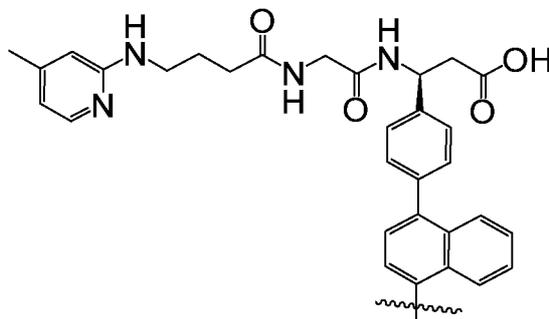
Вариант 26. Агент РНКи по любому из вариантов 1-25, где агент РНКи присоединен к направляющему лиганду.

Вариант 27. Агент РНКи по варианту 26, где направляющий лиганд характеризуется сродством к клеточному рецептору, экспрессируемому на эпителиальной клетке.

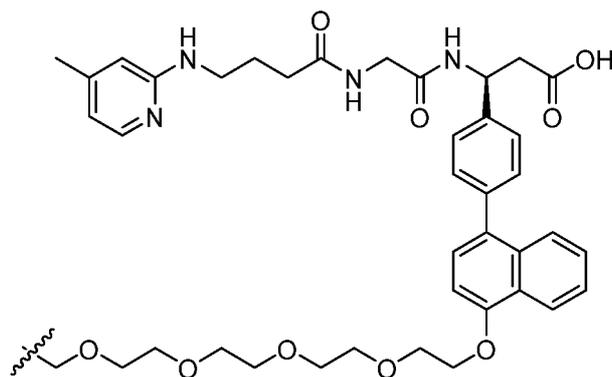
Вариант 28. Агент РНКи по варианту 27, где направляющий лиганд содержит лиганд, направленный на интегрин.

Вариант 29. Агент РНКи по варианту 28, где лиганд, направленный на интегрин, является лигандом, направленным на интегрин $\alpha v \beta 6$.

Вариант 30. Агент РНКи по варианту 29, где направляющий лиганд характеризуется структурой:

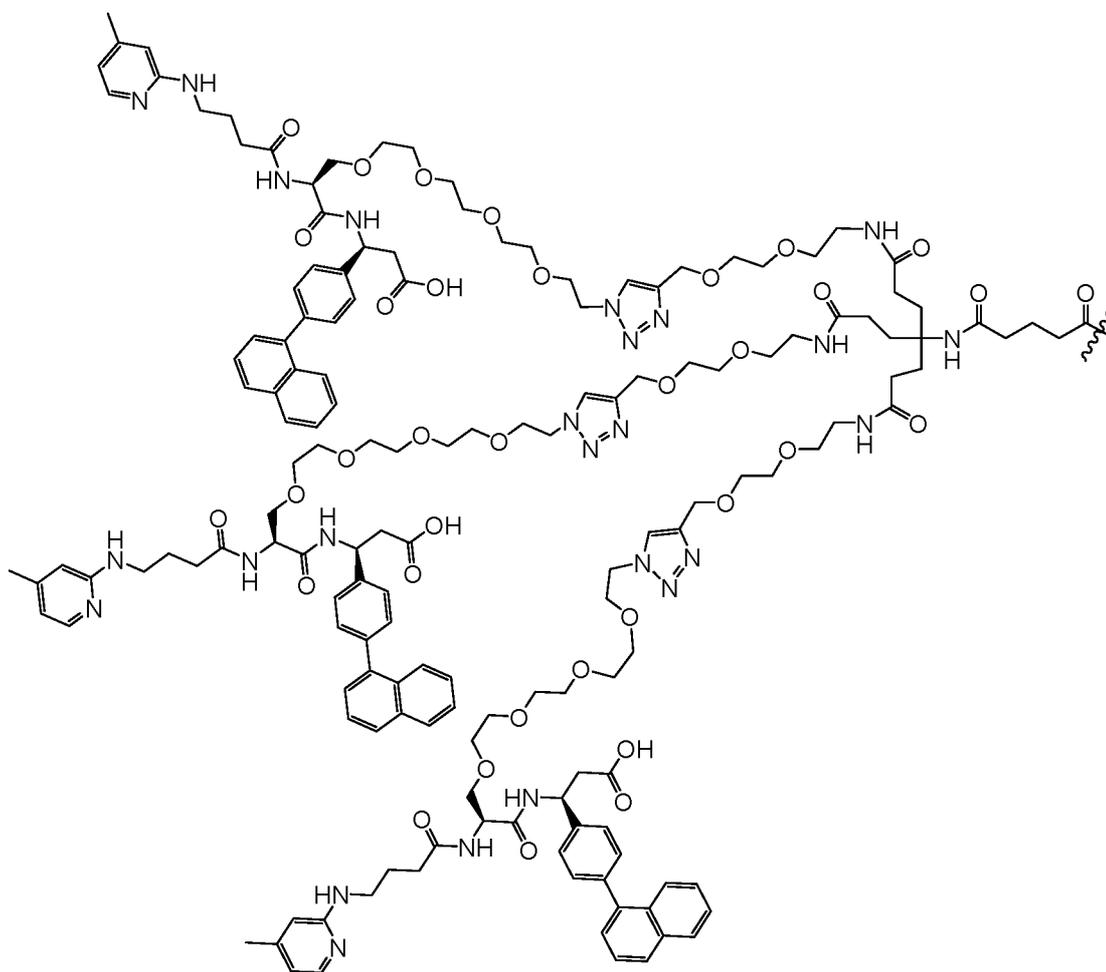


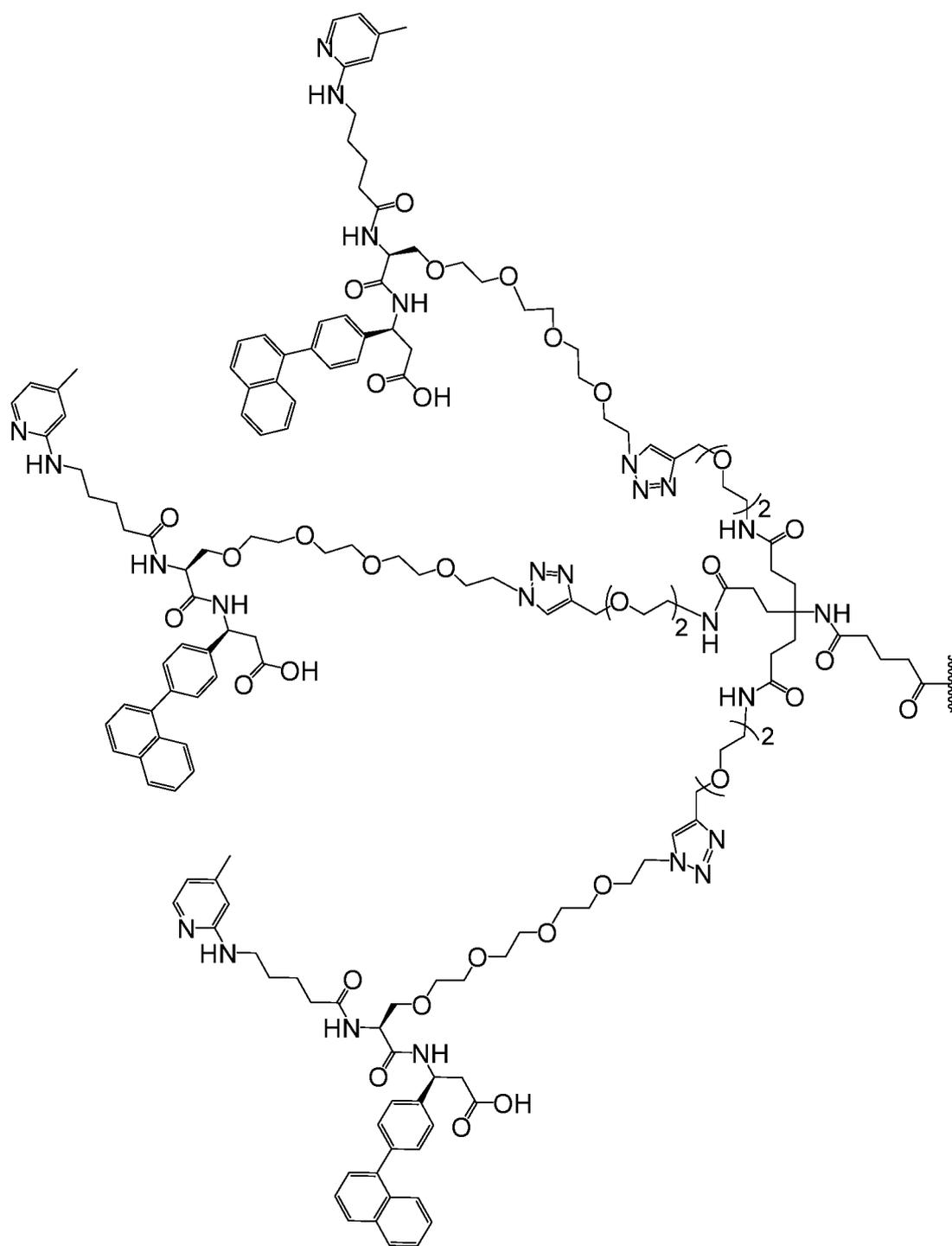
или его фармацевтически приемлемая соль или

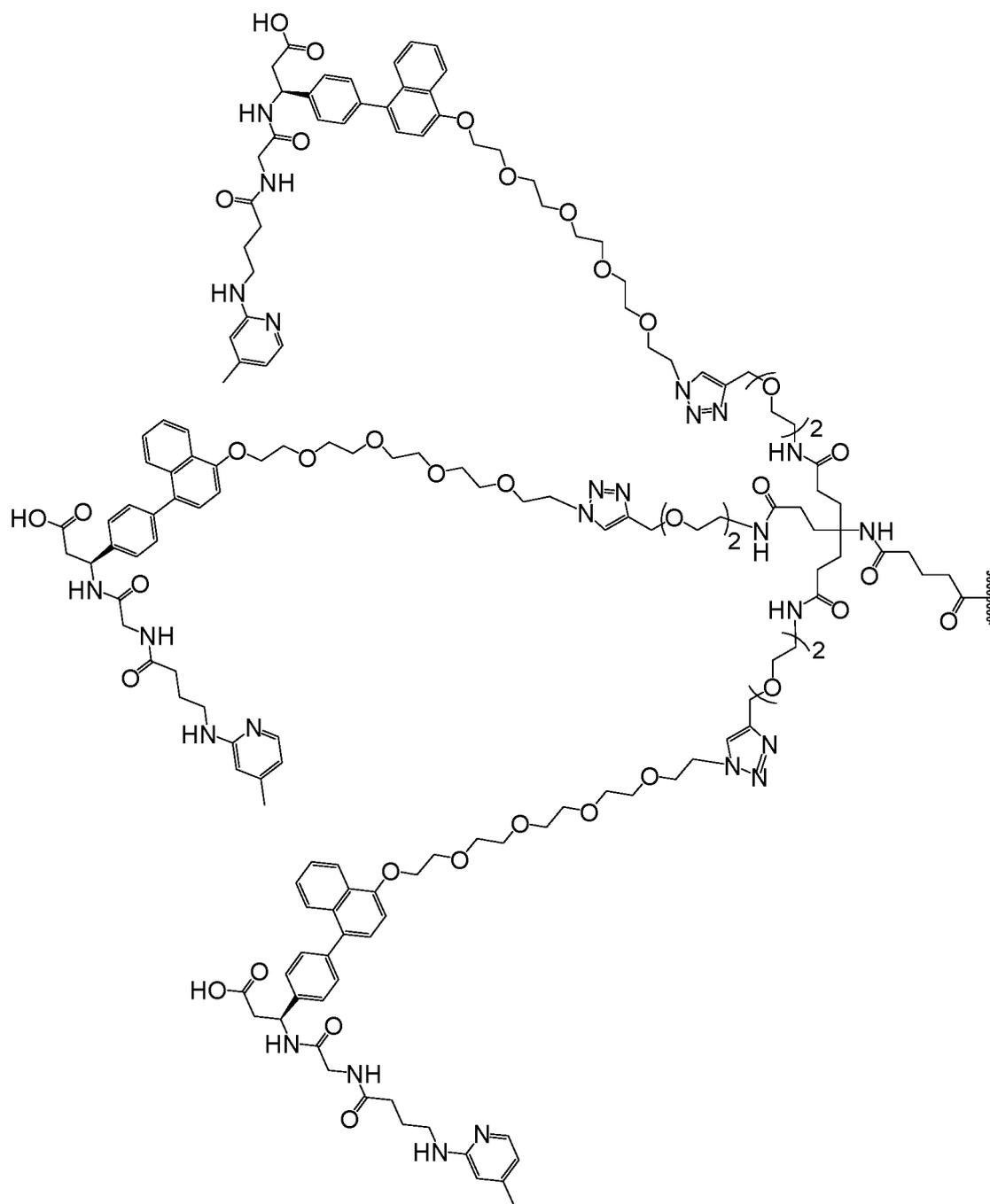


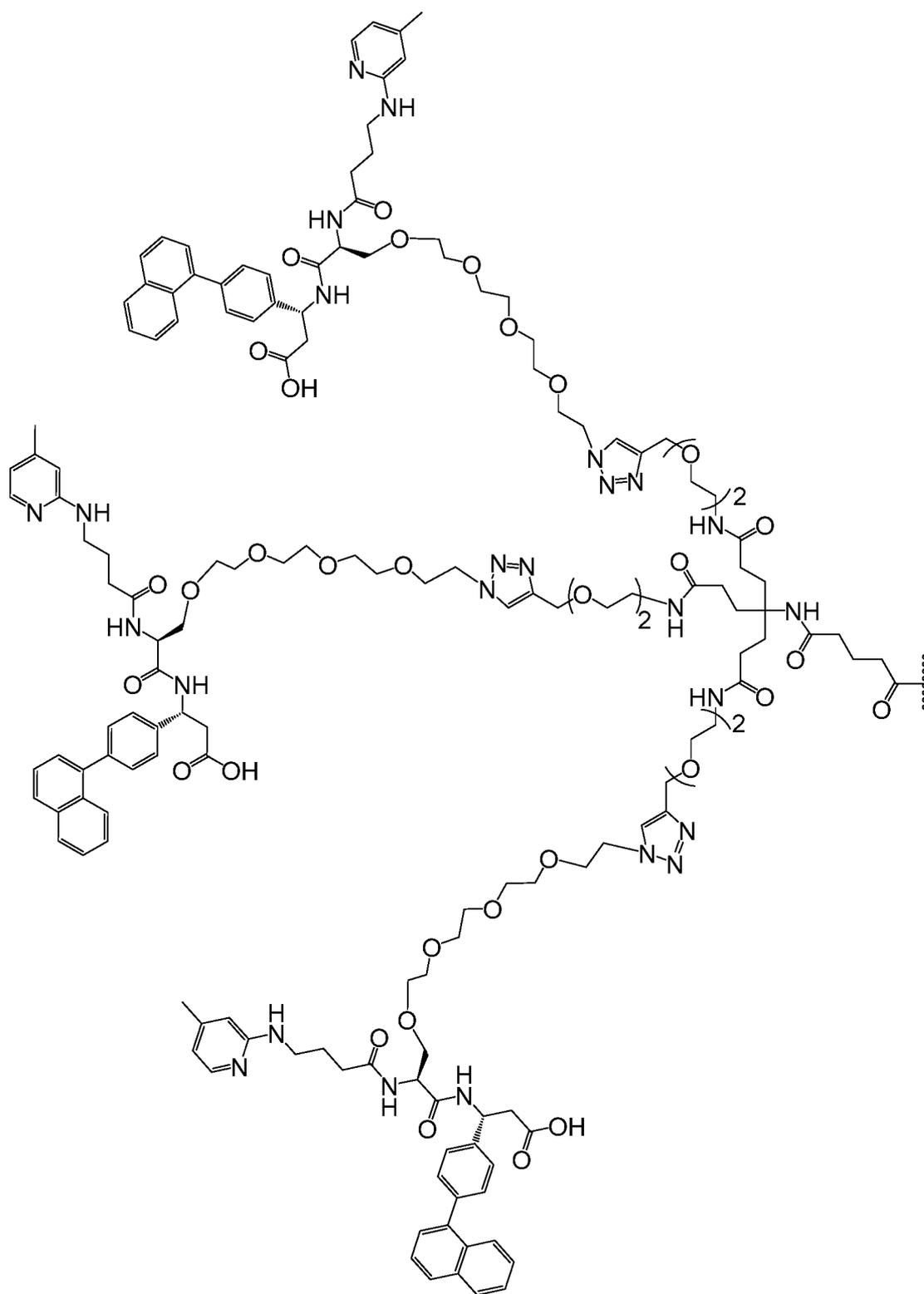
или его фармацевтически приемлемая соль, где символ  указывает на место присоединения к агенту РНКи.

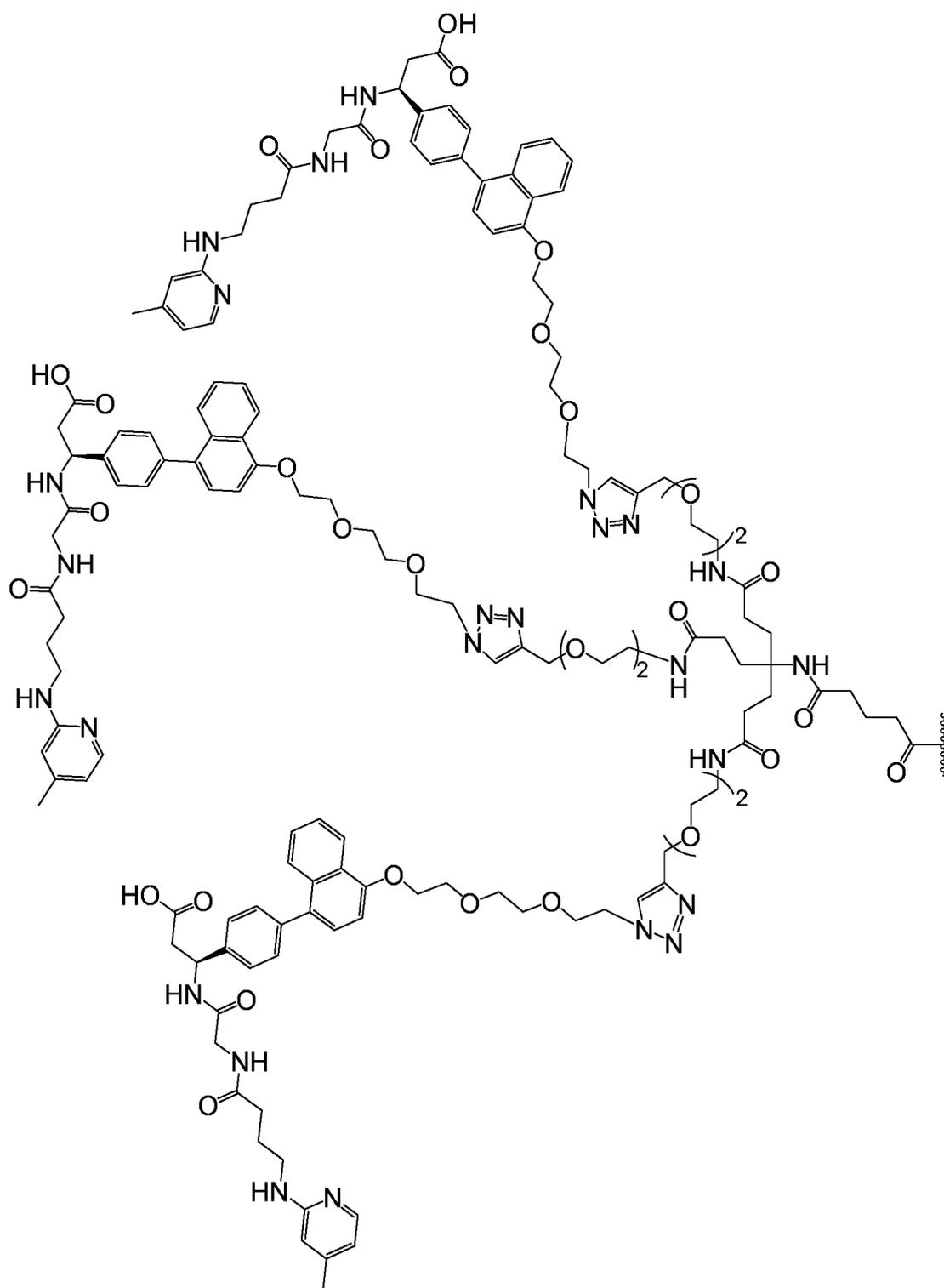
5 Вариант 31. Агент РНКи по любому из вариантов 26-29, где направляющий лиганд характеризуется структурой, выбранной из группы, состоящей из:

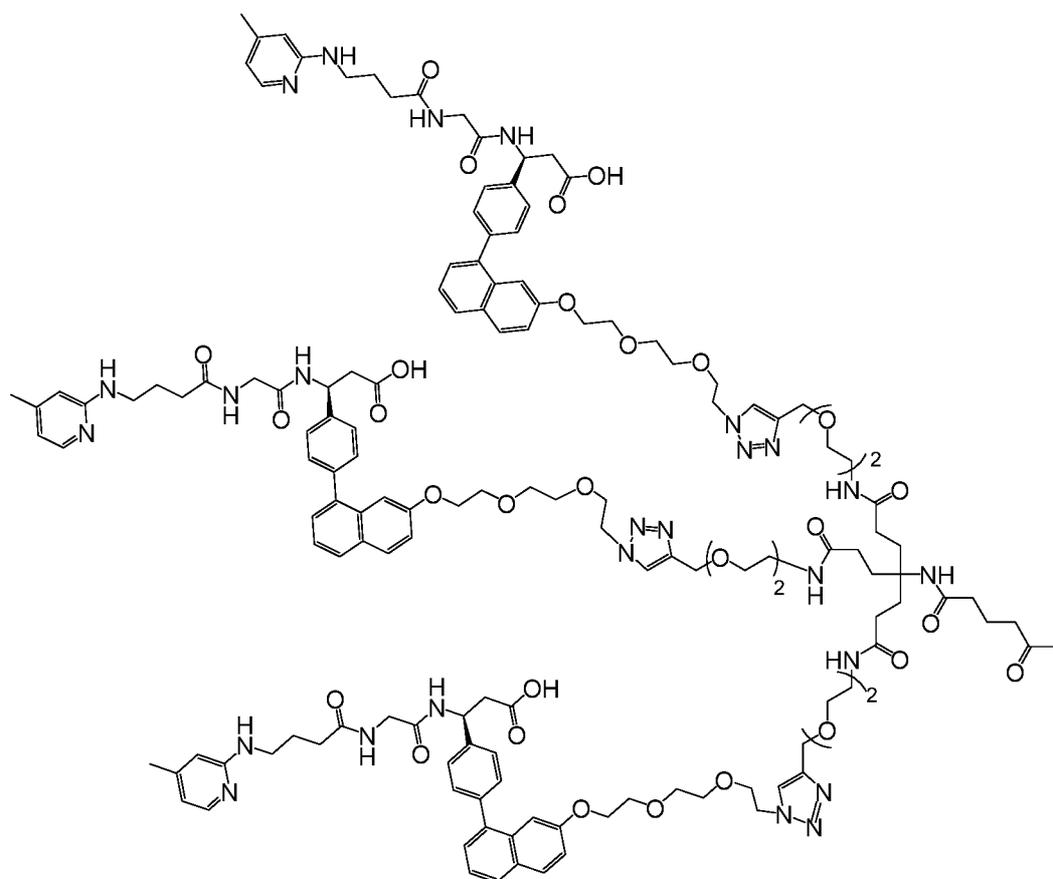


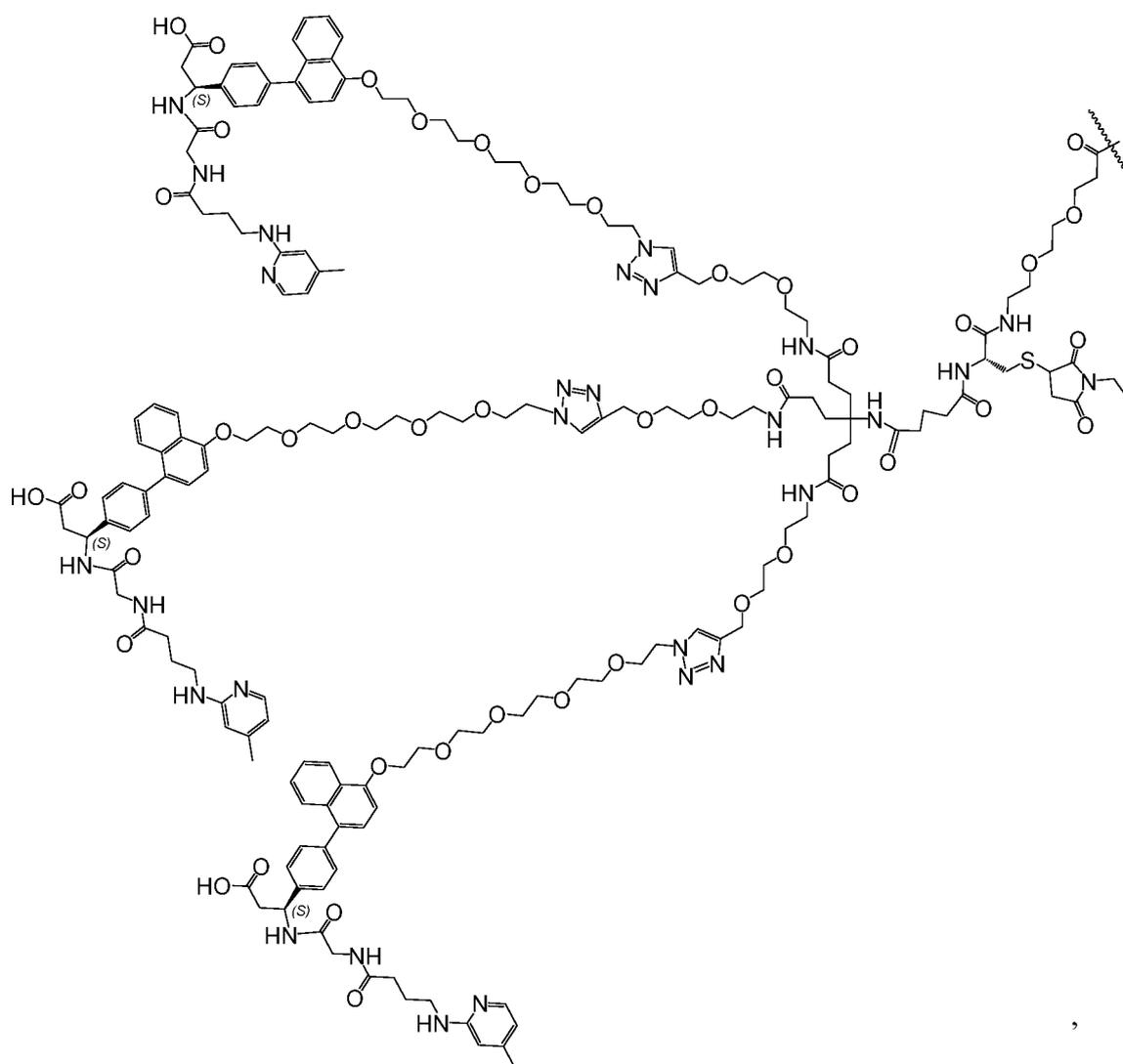


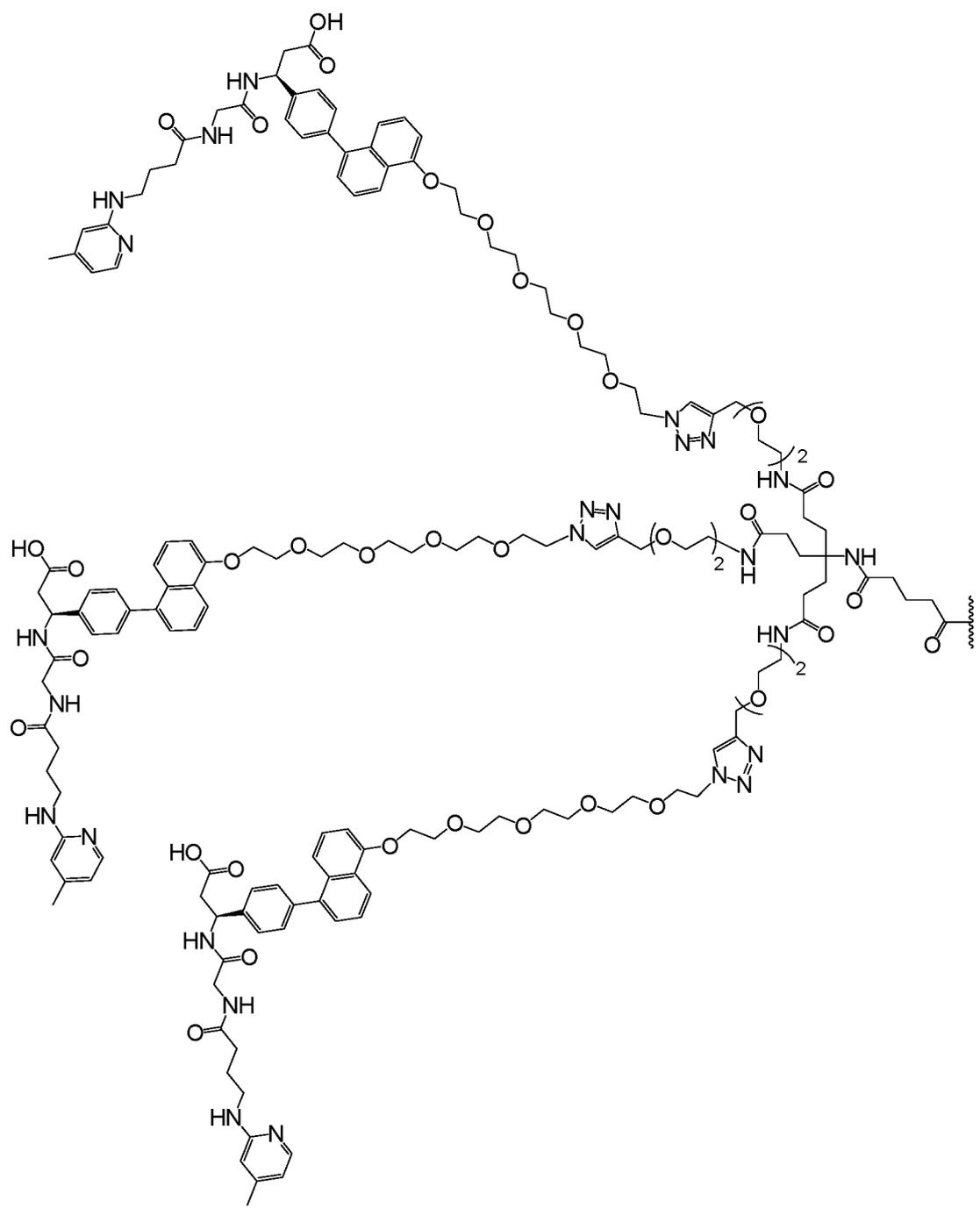






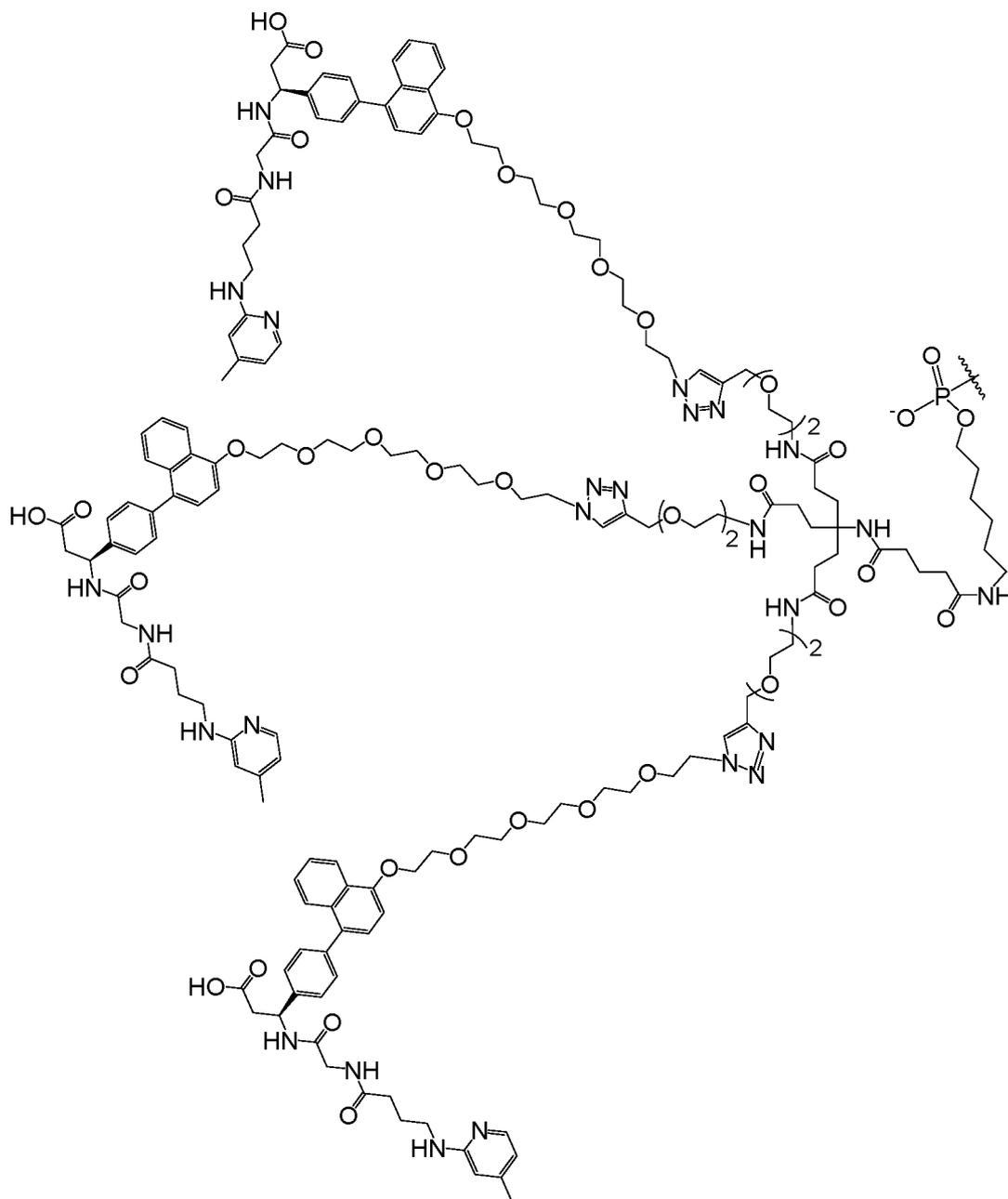




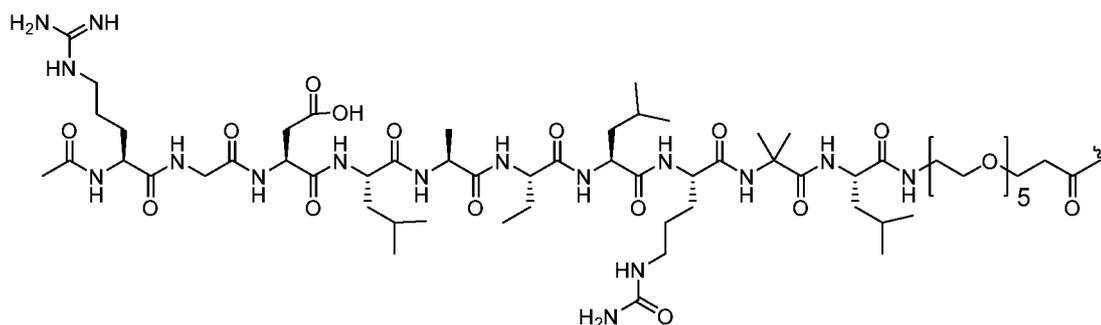


и

Вариант 32. Агент РНКи по варианту 31, где агент РНКи конъюгирован с направляющим лигандом, характеризующимся следующей структурой:



Вариант 33. Агент РНКи по любому из вариантов 26-29, где направляющий лиганд характеризуется следующей структурой:



Вариант 34. Агент РНКи по любому из вариантов 26-33, где направляющий лиганд конъюгирован со смысловой цепью.

Вариант 35. Агент РНКи по варианту 34, где направляющий лиганд конъюгирован с 5'-концом смысловой цепи.

Вариант 36. Композиция, содержащая агент РНКи по любому из вариантов 1-35, при этом композиция дополнительно содержит фармацевтически приемлемый эксципиент.

Вариант 37. Композиция по варианту 36, дополнительно содержащая второй агент РНКи, способный подавлять экспрессию гена матричной металлопептидазы 7.

Вариант 38. Композиция по любому из вариантов 36-37, дополнительно содержащая один или более дополнительных терапевтических препаратов.

Вариант 39. Композиция по любому из вариантов 36-38, при этом композицию формируют для введения с помощью ингаляции.

Вариант 40. Композиция по варианту 39, при этом композицию доставляют с помощью ингалятора с дозирующим устройством, струйного распылителя, распылителя с вибрирующей сеткой или жидкостного ингалятора.

Вариант 41. Композиция по любому из вариантов 36-40, где агент РНКи является натриевой солью.

Вариант 42. Композиция по любому из вариантов 36-41, при этом фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой воду для инъекций.

Вариант 43. Композиция по любому из вариантов 36-41, при этом фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой буферный солевой раствор.

Вариант 44. Способ подавления экспрессии гена MMP7 в клетке, включающий введение в клетку эффективного количества агента РНКи по любому из вариантов 1-33 или композиции по любому из вариантов 36-43.

5 Вариант 45. Способ по варианту 44, при этом клетка находится внутри субъекта.

Вариант 46. Способ по варианту 45, при этом субъектом является человек.

Вариант 47. Способ по любому из вариантов 44-46, где после введения агента РНКи экспрессия гена матричной металлопептидазы 7 подавляется по меньшей мере приблизительно на 30%.

10 Вариант 48. Способ лечения одного или более симптомов или заболеваний, связанных с увеличенными или повышенными уровнями активности мембранной MMP7, при этом способ включает введение нуждающемуся в этом субъекту-человеку терапевтически эффективного количества композиции по любому из вариантов 36-43.

15 Вариант 49. Способ по варианту 48, где заболевание является респираторным или легочным заболеванием.

20 Вариант 50. Способ по варианту 48, при этом заболевание выбрано из группы, состоящей из: идиопатического фиброза легких (IPF), другого типа легочного фиброза, астмы, хронического воспаления, интерстициальных заболеваний легких (ILD), SARS- COV-2 или другого типа инфекционного заболевания дыхательных путей, острого респираторного дистресс-синдрома (ARDS) или другого типа острого повреждения легких, легочной гипертензии, рака легких, неалкогольной жировой болезни печени (NAFLD), неалкогольного стеатогепатита (NASH), жировой болезни печени, билиарной атрезии и
25 хронической болезни почек (CKD).

Вариант 51. Способ по варианту 50, где заболевание представляет собой идиопатический фиброз легких (IPF).

30 Вариант 54. Способ по любому из вариантов 44-51, где агент РНКи вводят в нанесенной дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела субъекта.

Вариант 55. Способ по любому из вариантов 44-54, где агент РНКи вводят в нанесенной дозе от приблизительно 0,03 мг/кг до приблизительно 2,0 мг/кг массы тела субъекта.

Вариант 56. Способ по любому из вариантов 44-55, где агент РНКи вводят в двух или более дозах.

5 Вариант 57. Применение агента РНКи по любому из вариантов 1-35 для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, мембранной активностью MMP7 и/или экспрессией гена MMP7.

10 Вариант 58. Применение композиции по любому из вариантов 36-43 для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, активностью матричной металлопептидазы 7 и/или экспрессией гена матричной металлопептидазы 7.

15 Вариант 59. Применение композиции по любому из вариантов 36-43 для получения лекарственного препарата для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, активностью матричной металлопептидазы 7 и/или экспрессией гена матричной металлопептидазы 7.

Вариант 60. Применение любого из вариантов 57-59, где заболевание является воспалением легких.

20 Вариант 61. Способ получения агента РНКи по любому из вариантов 1-35, включающий отжиг смысловой цепи и антисмысловой цепи с образованием молекулы двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты.

Вариант 62. Способ по варианту 61, где смысловая цепь содержит направляющий лиганд.

Вариант 63. Способ по варианту 62, включающий конъюгирование направляющего лиганда со смысловой цепью.

25 Представленные выше варианты и элементы далее проиллюстрированы следующими неограничивающими примерами.

Примеры

Пример 1

Синтез агентов РНКи MMP7

30 Дуплексы агента РНКи MMP7, раскрытые в данном контексте, синтезировали в соответствии со следующими пунктами:

А. Синтез. Смысловую и антисмысловую цепи агентов РНКи MMP7 синтезировали по фосфорамидитной технологии на твердой фазе, используемой

в синтезе олигонуклеотидов. В зависимости от масштаба использовали синтезаторы MerMade96E[®] (от фирмы Bioautomation), MerMade12[®] (от фирмы Bioautomation) или OP Pilot 100 (от фирмы GE Healthcare). Синтезы проводили на твердом носителе из макропористого стекла с контролируемым размером пор (CPG, 500 Å или 600 Å, полученного от фирмы Prime Synthesis, Астон, Пенсильвания, США). Все РНК и 2'-модифицированные РНК-фосфoramидиты приобретали на фирме Thermo Fisher Scientific (Милуоки, Висконсин, США). Более подробно использовали следующие 2'-О-метилфосфoramидиты: (5'-О-диметокситритил-N⁶-(бензоил)-2'-О-метиладенозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидит, 5'-О-диметокси-тритил-N⁴-(ацетил)-2'-О-метилцитидин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидит, (5'-О-диметокситритил-N²-(изобутирил)-2'-О-метилгуанозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидит и 5'-О-диметокситритил-2'-О-метилуридин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидит. 2'-дезокси-2'-фторфосфoramидиты содержали те же защитные группы, что и 2'-О-метил-РНК-амидиты. 5'-Диметокситритил-2'-О-метиринозин-3'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидиты приобретали у фирмы Glen Research (Вирджиния). Инвертированные (3'-О-диметокситритил-2'-дезоксирибоза-5'-О-(2-цианоэтил-N,N-диизопропиламино)фосфoramидиты с удаленными азотистыми основаниями приобретали у фирмы ChemGenes (Уилмингтон, Массачусетс, США). Использовали следующие незаблокированные нуклеокислотные (UNA) фосфoramидиты: 5'-(4,4'-диметокситритил)-N⁶-(бензоил)-2',3'-секоаденозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфoramидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-ацетил-2',3'-секоцитозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфoramидит, 5'-(4,4'-диметокситритил)-N-изобутирил-2',3'-секогуанозин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфoramидит и 5'-(4,4'-диметокситритил)-2',3'-секоуридин, 2'-бензоил-3'-[(2-цианоэтил)-(N,N-диизопропил)]фосфoramидит. Фосфoramидиты с TFA-аминолинкером также приобретали на рынке (у фирмы ThermoFisher). Линкер L6 получали в форме пропаргил-PEG5-NHS от фирмы BroadPharm (каталоговый № BP-20907) и проводили реакцию конденсации с группой NH₂-C₆ в фосфoramидите с аминолинкером, при этом получали -L₆-C₆-, используя стандартные условия конденсации. Линкер Alk-суNex аналогичным образом

приобретали на рынке у фирмы Lumiprobe (в форме 5'-концевого алкинового фосфорамидита) в качестве пропаргилсодержащего фосфорамидитного соединения для образования линкера -Alk-суHex-. В каждом случае фосфоротиоатные связи вводили, как указано, с использованием условий, изложенных в данном контексте. Циклопропилфосфонатфосфорамидиты синтезировали, как описано в публикации международной патентной заявки № WO 2017/214112 (см. также статью Altenhofer и др., Chem. Communications (Royal Soc. Chem.), 57(55):6808-6811 (июль 2021 г.)).

Триалкинсодержащие фосфорамидиты растворяли в безводном дихлорметане или безводном ацетонитриле (50 мМ), тогда как все остальные амидиты растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ) и добавляли молекулярные сита (3Å). В качестве активирующего раствора использовали 5-бензилтио-1Н-тетразол (ВТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Продолжительность реакции конденсации составляла 10 мин (РНК), 90 с (2' О-Ме) и 60 с (2' F). Для введения фосфоротиоатных связей использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, получен от фирмы PolyOrg, Inc., Леоминстер, Массачусетс, США) в безводном ацетонитриле.

В другом варианте триалкиновые фрагменты вводили постсинтетическим методом (см. ниже раздел Д). С этой целью смысловую цепь функционализировали 5'- и/или 3'-концевым нуклеотидом, содержащим первичный амин. Фосфорамидит с TFA-амиолинкером растворяли в безводном ацетонитриле (50 мМ) и добавляли молекулярные сита (3Å). В качестве активирующего раствора использовали 5-бензилтио-1Н-тетразол (ВТТ, 250 мМ в ацетонитриле) или 5-этилтио-1Н-тетразол (ЕТТ, 250 мМ в ацетонитриле). Время конденсации составляло 10 мин (РНК), 90 с (2' О-Ме) и 60 с (2' F). Для введения фосфоротиоатных связей использовали 100 мМ раствор 3-фенил-1,2,4-дитиазолин-5-она (POS, получен от фирмы PolyOrg, Inc., Леоминстер, Массачусетс, США) в безводном ацетонитриле.

Б. Расщепление и удаление защитных групп из связанного с носителем олигомера. После завершения твердофазного синтеза высушенный твердый носитель обрабатывали в соотношении 1:1 (об./об.) раствором 40 мас.% метиламина в воде и 28–31% раствором гидроксида аммония (от фирмы Aldrich)

в течение 1,5 ч при 30°C. Раствор выпаривали и твердый остаток повторно растворяли в воде (см. ниже).

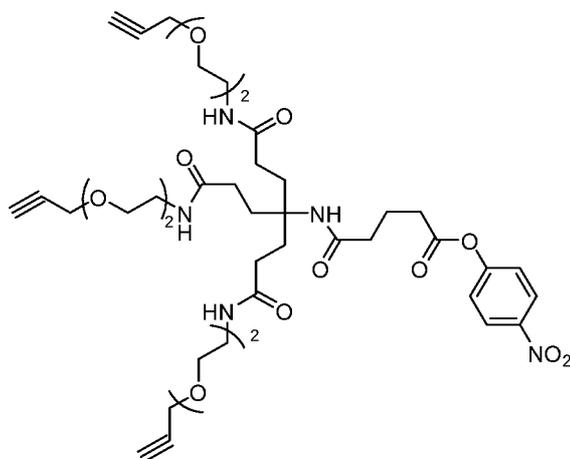
В. Очистка. Неочищенные олигомеры очищали анионообменной ВЭЖХ с использованием колонки TSKgel SuperQ-5PW 13 мкм и системы Shimadzu LC-8.

5 Буферный раствор А представлял собой 20 мМ Трис, 5 мМ EDTA, pH 9,0 и содержал 20% ацетонитрила, а в качестве буферного раствора Б использовали буферный раствор А с добавлением 1,5 М хлорида натрия. Кривую элюции регистрировали в УФ-диапазоне при 260 нм. Пригодные фракции объединяли, а затем проводили эксклюзионную ВЭЖХ с использованием колонки GE
10 Healthcare XK 16/40, заполненной смолой Sephadex G-25 fine, а для элюции использовали буферный раствор, содержащий 100 мМ бикарбонат аммония, pH 6,7 и 20% ацетонитрил или фильтрованную воду. В другом варианте объединенные фракции обессоливали и жидкую среду заменяли на соответствующий буферный раствор или систему растворителей методом
15 тангенциальной проточной фильтрации.

Г. Отжиг. Комплементарные цепи смешивали при объединении эквимольных растворов РНК (смысловых и антисмысловых) в 1× PBS (фосфатно-солевой буферный раствор, 1×, от фирмы Corning, Cellgro) с целью образования агентов РНКи. Некоторые агенты РНКи лиофилизовали и хранили
20 при температуре от -15 до -25°C. Концентрацию дуплекса определяли при измерении оптической плотности раствора на спектрометре УФ- и видимой областей спектра в 1× PBS. Затем оптическую плотность раствора при 260 нм умножали на коэффициент пересчета (0,050 мг/(мл·см)) и коэффициент разбавления для определения концентрации дуплекса.

25 Д. Конъюгация триалкинового линкера. В некоторых вариантах триалкиновый линкер конъюгировали со смысловой цепью агента РНКи на смоле в виде фосфорамидита (см. пример 1Ж для синтеза типичного триалкинового линкера фосфорамидита и пример 1А для конъюгации фосфорамидита). В других вариантах триалкиновый линкер можно
30 конъюгировать со смысловой цепью после отщепления от смолы, как описано далее: либо до, либо после отжига в некоторых вариантах смысловую цепь, функционализированную амином по 5'- или 3'-концу, конъюгировали с триалкиновым линкером. Примером структуры триалкинового линкера, которую

можно использовать при формировании конструкторов, раскрытых в данном контексте, является следующая:

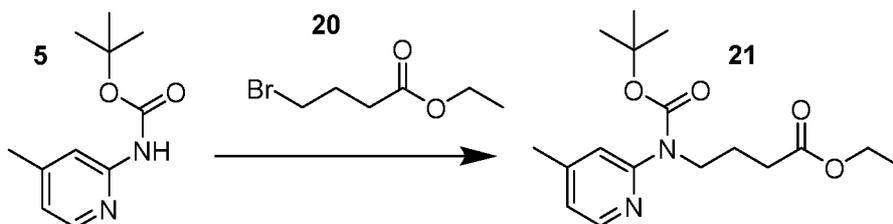


. Чтобы конъюгировать

5 триалкиновый линкер с отоженным дуплексом, функционализированный амином дуплекс растворяли в смеси 90% DMSO/10% H₂O при концентрации ~50-70 мг/мл. Добавляли 40 экв. триэтиламина, а затем 3 экв. триалкин-PNP. После завершения конъюгации конъюгат дважды осаждали в системе растворителей 1× фосфатно-солевой буферный раствор/ацетонитрил (при соотношении 1:14) и высушивали.

10 Е. Синтез лиганда, направляющего на SM6.1

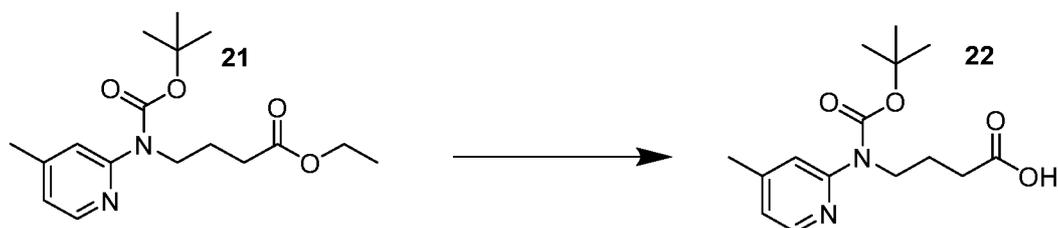
((S)-3-(4-(4-((14-азидо-3,6,9,12-тетраоксатетрадецил)окси)нафталин-1-ил)фенил)-3-(2-(4-((4-метилпиридин-2-ил)амино)бутанамидо)ацетамидо)пропановой кислоты)



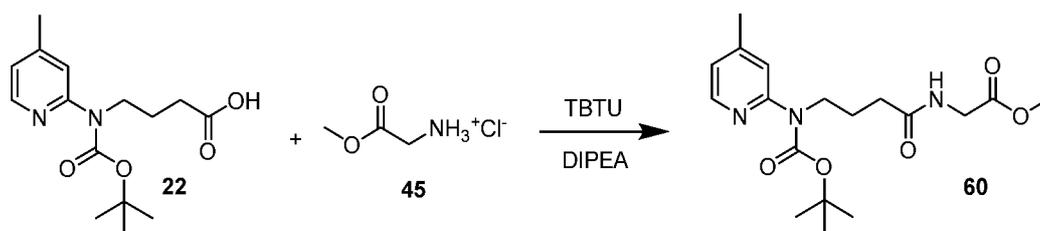
15 Соединение 5 (трет-бутил(4-метилпиридин-2-ил)карбамат) (0,501 г, 2,406 ммоль, 1 экв.) растворяли в DMFA (17 мл). К смеси добавляли NaN (0,116 мг, 3,01 ммоль, 1,25 экв., 60% дисперсия в масле). Смесь перемешивали в течение 10 мин перед добавлением соединения 20 (этил-4-бромбутират (0,745 г, 3,82 ммоль, 0,547 мл)) (от фирмы Sigma, артикул 167118). Через 3 ч реакцию останавливали этанолом (18 мл) и смесь концентрировали. Концентрат растворяли в DCM (50 мл) и промывали насыщенным водным раствором NaCl (1 x 50 мл), сушили над

20

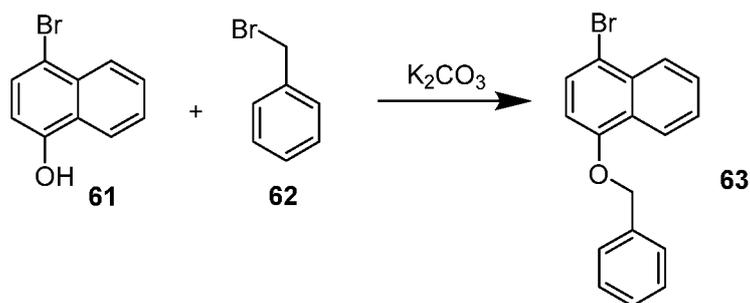
Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт очищали на колонке с кремнеземом, в градиенте 0-5% метанола в DCM.



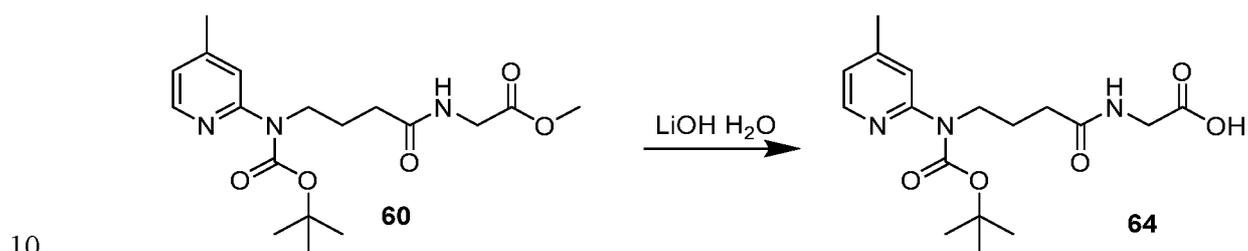
Соединение 21 растворяли (0,80 г, 2,378 ммоль) в 100 мл смеси ацетона с 0,1 М NaOH (в соотношении 1:1). Реакцию контролировали методом ТСХ (в системе 5% этилацетат в гексане). Органическую часть удаляли выпариванием и остаток подкисляли до pH 3-4 с помощью 0,3 М лимонной кислоты (40 мл). Продукт экстрагировали DCM (3×75 мл). Органические вещества объединяли, сушили над Na₂SO₄, фильтровали и концентрировали. Продукт использовали без дополнительной очистки.



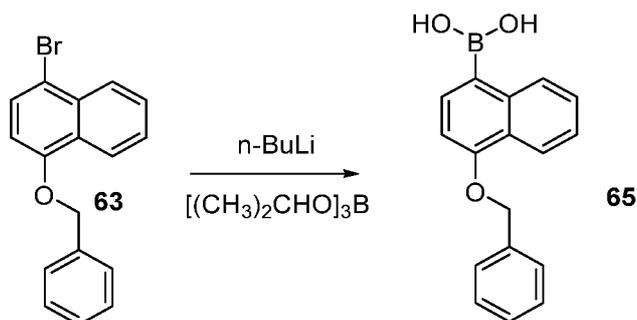
В раствор соединения 22 (1,1 г, 3,95 ммоль, 1 экв.), соединения 45 (595 мг, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) и TBTU (1,52 г, 4,74 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли диизопропилэтиламин (DIPEA) (2,06 мл, 11,85 ммоль, 3 экв.) при 0°С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 3 ч. Реакцию останавливали насыщенным раствором NaHCO₃ (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл), органическую фазу объединяли, сушили над безводным Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт отделяли с помощью системы CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы. По данным метода ЖХ-МС расщ. [M+H]⁺ составила 366,20, найд. 367.



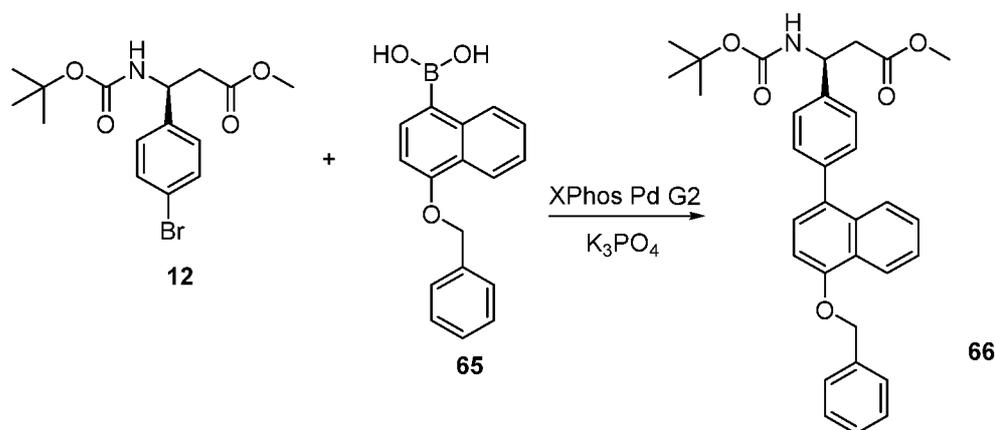
В раствор соединения 61 (2 г, 8,96 ммоль, 1 экв.) и соединения 62 (2,13 мл, 17,93 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (10 мл) добавляли K_2CO_3 (2,48 г, 17,93 ммоль, 2 экв.) при 0 °С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение ночи. Реакцию останавливали водой (10 мл). Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл), органическую фазу объединяли, сушили над безводным Na_2SO_4 и концентрировали. Продукт отделяли с помощью системы CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы.



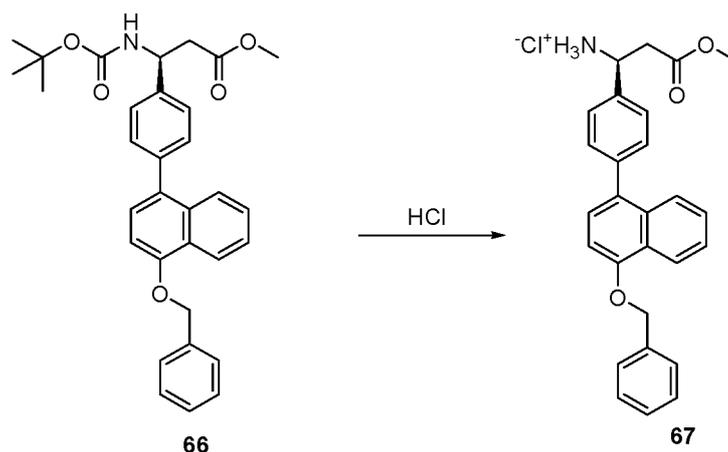
В раствор соединения 60 (1,77 г, 4,84 ммоль, 1 экв.) в THF (5 мл) и H_2O (5 мл) по частям добавляли моногидрат гидроксида лития (0,61 г, 14,53 ммоль, 3 экв.) при 0 °С. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. После перемешивания при комнатной температуре в течение 3 ч реакционную смесь подкисляли HCl (6 н) до pH 3,0. Водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл), а органический слой объединяли, сушили над Na_2SO_4 и концентрировали. По данным метода ЖХ-МС: расщ. $[M+H]^+$ составила 352,18, найд. 352.



В раствор соединения 63 (1,88 г, 6,0 ммоль, 1,0 экв.) в безводном THF (20 мл) добавляли по каплям n-BuLi в гексане (3,6 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.) при -78°C. Реакцию проводили при -78°C в течение еще 1 ч. Затем в смесь при -78°C добавляли триизопропилборат (2,08 мл, 9,0 ммоль, 1,5 экв.). Затем реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Реакцию останавливали насыщенным раствором NH₄Cl (20 мл) и pH доводили до 3. Водную фазу экстрагировали EtOAc (3 x 20 мл), органическую фазу объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали.

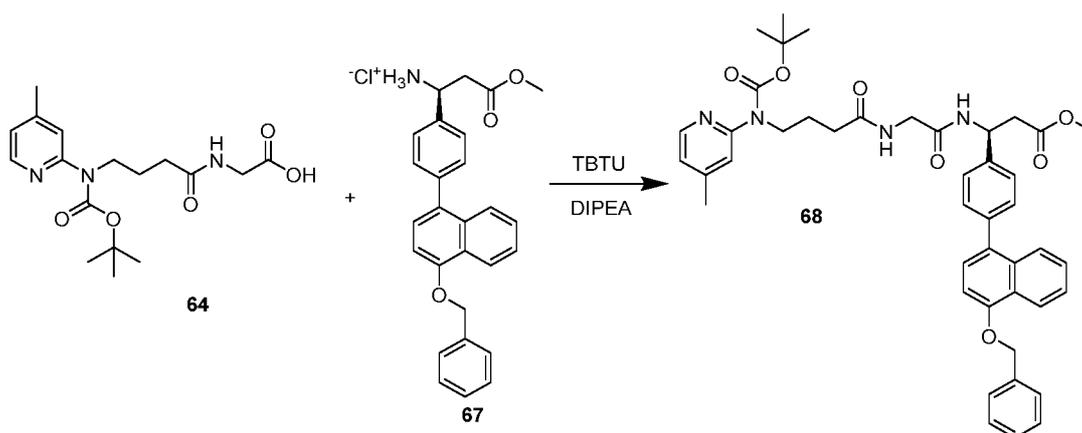


Соединение 12 (300 мг, 0,837 ммоль, 1,0 экв.), соединение 65 (349 мг, 1,256 ммоль, 1,5 экв.), XPhos Pd G2 (13 мг, 0,0167 ммоль, 0,02 экв.) и K₃PO₄ (355 мг, 1,675 ммоль, 2,0 экв.) смешивали в круглодонной колбе. Колбу закрывали завинчивающейся крышкой со вставленной мембраной, затем вакуумировали и заполняли азотом (этот процесс повторяли в общей сложности 3 раза). Затем с помощью шприца добавляли THF (8 мл) и воду (2 мл). Смесь барботировали азотом в течение 20 мин и реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Реакцию гасили водой (10 мл) и водную фазу экстрагировали этилацетатом (3 × 10 мл). Органическую фазу сушили над Na₂SO₄, концентрировали и очищали с помощью системы CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы, и элюировали 15% EtOAc в гексане. По данным метода ЖХ-МС: расщ. [M+H]⁺ составила 512,24, найд. 512,56.

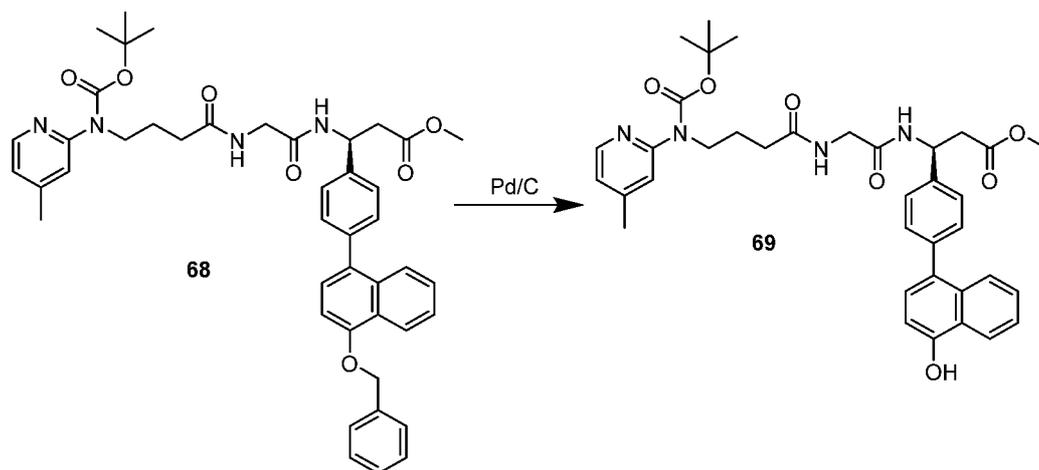


Соединение 66 (858 мг, 1,677 ммоль, 1,0 экв.) охлаждали на ледяной бане. В колбу добавляли HCl в диоксане (8,4 мл, 33,54 ммоль, 20 экв.). Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч.

- 5 Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя и продукт использовали непосредственно без дополнительной очистки. По данным метода ЖХ-МС: расщ. $[M+H]^+$ составило 412,18, найд. 412,46.

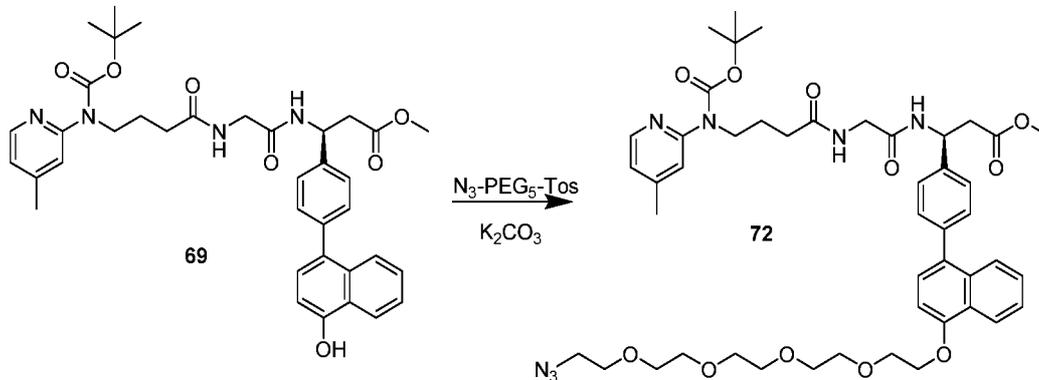


- 10 В раствор соединения 64 (500 мг, 1,423 ммоль, 1 экв.), соединения 67 (669 мг, 1,494 ммоль, 1,05 экв.) и TBTU (548 мг, 0,492 ммоль, 1,2 экв.) в безводном DMF (15 мл) добавляли диизопропилэтиламин (0,744 мл, 4,268 ммоль, 3 экв.) при 0°C. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение еще 1 ч. Реакцию останавливали насыщенным водным раствором NaHCO₃ (10 мл) и продукт экстрагировали этилацетатом (3 x 20 мл).
- 15 Органическую фазу объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. Продукт очищали с помощью системы CombiFlash®, используя силикагель в качестве неподвижной фазы, и элюировали 3-4% метанолом в DCM. Выход составил 96,23%. По данным метода ЖХ-МС: расщ. $[M+H]^+$ составила 745,35, найд. 746,08.

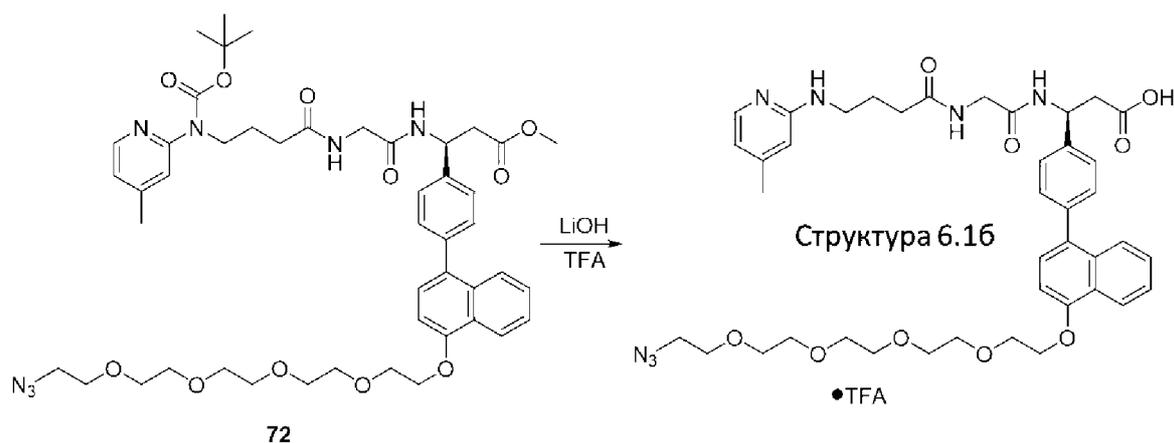


В раствор соединения 68 (1,02 г, 1,369 ммоль, 1 экв.) в этилацетате (10 мл) добавляли 10% Pd/C (0,15 г, 50% H₂O) при комнатной температуре.

5 Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры и реакцию контролировали с помощью метода ЖХ-МС. Реакцию выдерживали при комнатной температуре в течение ночи. Твердые вещества фильтровали через носитель Celite® и растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. Продукт использовали непосредственно без дополнительной очистки. По данным метода ЖХ-МС: расщ. [M+H]⁺ составила 655,31, найд. 655,87.



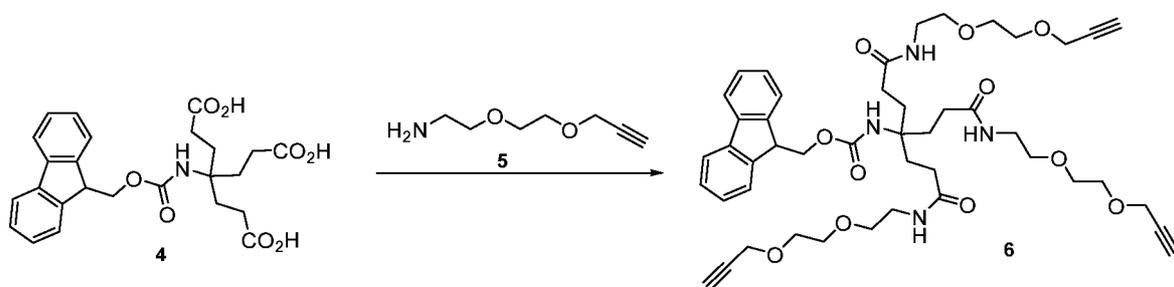
10 В раствор соединения 69 (100 мг, 0,152 ммоль, 1 экв.) и линкер azido-PEG₅-OTs (128 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) в безводном DMF (2 мл) добавляли K₂CO₃ (42 мг, 0,305 ммоль, 2 экв.) при 0 °С. Реакционную смесь перемешивали в течение 6 ч при 80°С. Реакцию останавливали насыщенным раствором NaHCO₃ и водный слой экстрагировали этилацетатом (3 x 10 мл). Органическую фазу объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. По данным метода ЖХ-МС: расщ. [M+H]⁺ составила 900,40, найд. 901,46.



В раствор соединения 72 (59 мг, 0,0656 ммоль, 1,0 экв.) в THF (2 мл) и воде (2 мл) добавляли гидроксид лития (5 мг, 0,197 ммоль, 3,0 экв.) при комнатной температуре. Смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 1 ч. pH доводили до 3,0 с помощью HCl (6 н.) и водную фазу экстрагировали EtOAc (3 x 10 мл). Органическую фазу объединяли, сушили над Na₂SO₄ и концентрировали. К остатку добавляли TFA (0,5 мл) и DCM (0,5 мл) и смесь перемешивали при комнатной температуре в течение еще 3 ч. Растворитель удаляли с помощью роторного испарителя. По данным метода ЖХ-МС: расщ. [M+H]⁺ составила 786,37, найд. 786,95.

Ж. Синтез TriAlk 14

Линкер TriAlk14 и линкер (TriAlk14)_s, как указано выше в таблице 11, можно синтезировать, используя схему синтеза, показанную ниже. Соединение 14 можно присоединить к смысловой цепи в виде фосфорамидита с использованием стандартных методов синтеза олигонуклеотидов, либо соединение 22 можно конъюгировать со смысловой цепью, содержащей амин, с помощью реакции амидной конденсации.

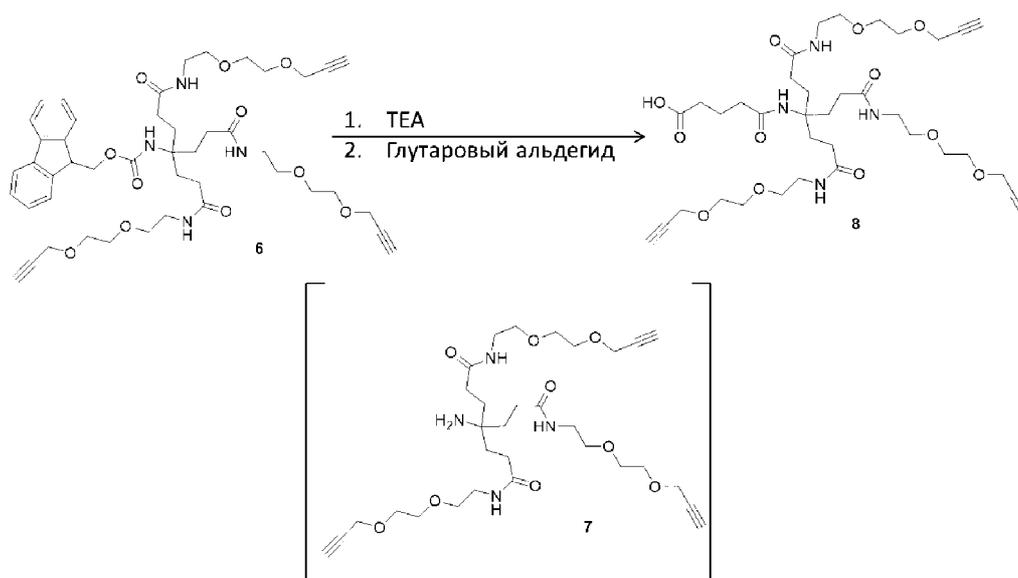


В реактор с рубашкой объемом 3 л добавляли 500 мл DCM и соединение 4 (75,0 г, 0,16 моль). Внутреннюю температуру реакционной смеси понижали до 0°C и добавляли TBTU (170,0 г, 0,53 моля). Затем суспензию обрабатывали,

добавляя по каплям амин 5 (75,5 г, 0,53 моль), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C. Затем реакционную смесь медленно обрабатывали DIPEA (72,3 г, 0,56 моля), поддерживая внутреннюю температуру ниже 5°C. После завершения присоединения реакционную смесь нагревали до 23°C в течение 1 ч и продолжали перемешивать в течение 3 ч. Дополнительно добавляли по 10% от загрузки всех трех реагентов и перемешивали еще 3 ч. Реакцию считали завершенной, когда оставалось <1% соединения 4.

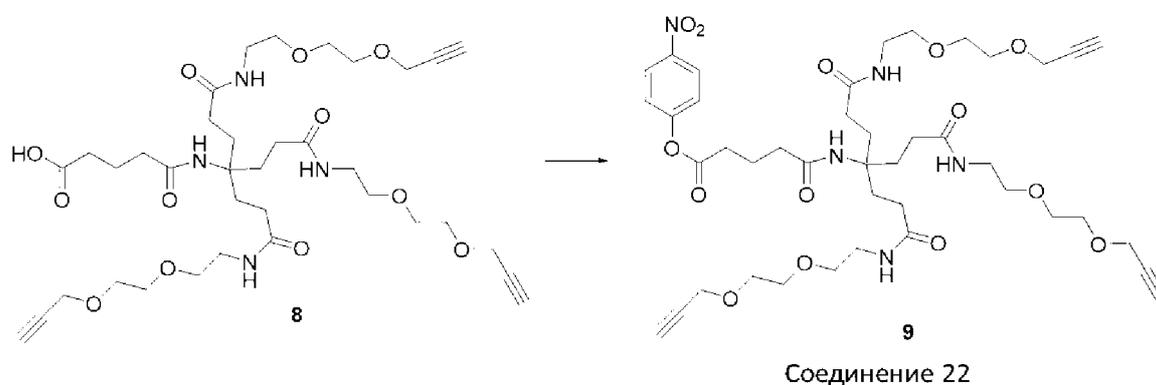
Реакционную смесь промывали насыщенным раствором хлорида аммония (2 x 500 мл) и однократно насыщенным раствором бикарбоната натрия (500 мл).

Затем органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали до состояния масла. Масса неочищенного масла составляла 188 г и содержала 72% соединения 6 по данным метода количественного ЯМР. Неочищенное масло использовали на следующей стадии. Рассч. масса соединения C₄₆H₆₀N₄O₁₁ составила 845,0 m/z. Найд. [M+H] составила 846,0.



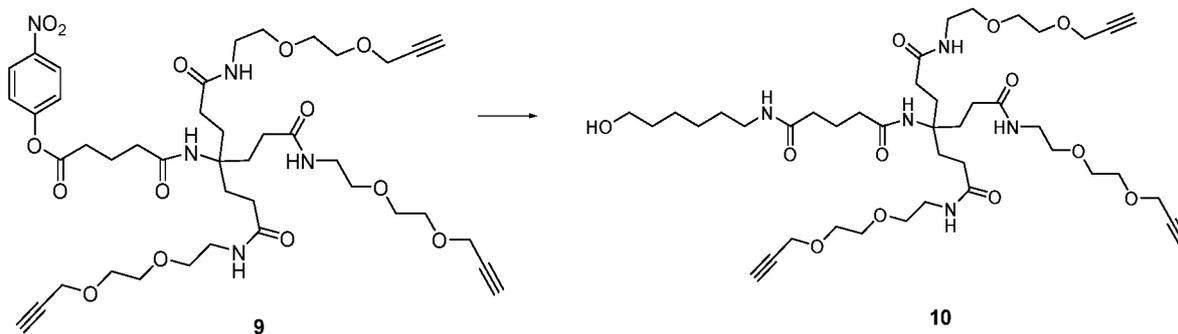
121,2 г неочищенного масла, содержащего 72 мас.% соединения 6 (86,0 г, 0,10 моль), растворяли в DMF (344 мл) и обрабатывали TEA (86 мл, 20 об.%), поддерживая внутреннюю температуру ниже 23°C. Образование дибензофульвена (DBF) относительно потребления Fmoc-аминa 6 контролировали с помощью ВЭЖХ, метод 1 (фиг. 2), и реакцию завершили в течение 10 ч. В раствор добавляли глутаровый ангидрид (12,8 г, 0,11 моль), и промежуточный амин 7 превращался в соединение 8 в течение 2 ч. После завершения реакции DMF и TEA удаляли при 30°C и пониженном давлении, при

этом получали 100 г неочищенного масла. Из-за высокой растворимости соединения 7 в воде обработку водой использовать невозможно, и единственным способом удаления DBF, TMU и глутарового ангидрида является хроматография. Неочищенное масло (75 г) очищали на системе очистки Teledyne ISCO Combi-flash® тремя порциями. Неочищенное масло (25 г) наносили на колонку, содержащую 330 г кремнезема и элюировали в градиенте 0–20% смеси метанол/DCM в течение 30 мин, при этом получали 42 г соединения 8 (выход составил 54% за 3 стадии). Рассч. масса соединения $C_{36}H_{55}N_4O_{12}$ составила 736,4 m/z. Найд. [M+H] составила 737,0.

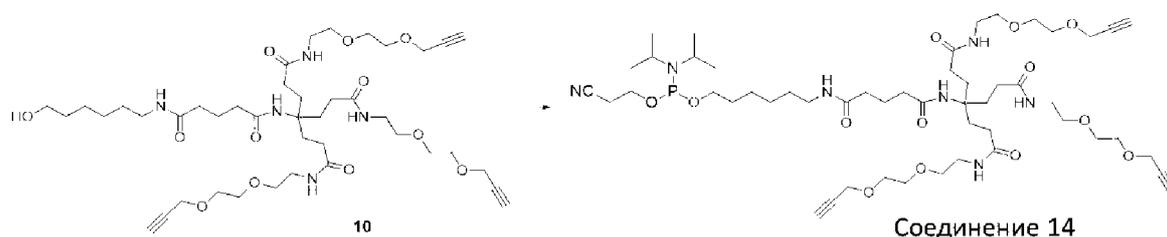


Соединение 8 (42,0 г, 0,057 моль) перед использованием подвергали совместной перегонке с 10 объемами ацетонитрила для удаления любого количества остаточного метанола из хроматографических растворителей. Масло повторно растворяли в DMF (210 мл) и охлаждали до 0°C. Раствор обрабатывали 4-нитрофенолом (8,7 г, 0,063 моль), а затем гидрохлоридом EDC (12,0 г, 0,063 моль), и было установлено, что реакция завершилась в течение 10 ч. Раствор охлаждали до 0°C и добавляли 10 объемов этилацетата, а затем 10 объемов насыщенного раствора хлорида аммония, поддерживая внутреннюю температуру ниже 15°C. Слои выдерживали для разделения и слой этилацетата промывали солевым раствором. Объединенные водные слои дважды экстрагировали 5 объемами этилацетата. Объединенные органические слои сушили над сульфатом натрия и концентрировали до состояния масла. Неочищенное масло (55 г) очищали на системе очистки Teledyne ISCO Combi-Flash® тремя порциями. Неочищенное масло (25 г) наносили на колонку, содержащую 330 г кремнезема и элюировали в градиенте 0–10% смеси метанол/DCM в течение 30 мин, при этом получали 22 г чистого соединения 9 (соединение 22) (выход 50%). Рассч.

масса соединения $C_{42}H_{59}N_5O_{14}$ составила 857,4 m/z. Найд. $[M+H]$ составила 858,0.



5 Раствор эфира 9 (49,0 г, 57,1 ммоль) и 6-амино-1-гексанола (7,36 г, 6,28 ммоль) в дихлорметане (3 объема) обрабатывали, вводя по каплям триэтиламин (11,56 г, 111,4 ммоль). Реакцию контролировали, наблюдая за исчезновением соединения 9 с помощью ВЭЖХ, метод 1, и было установлено, что она завершилась через 10 мин. Неочищенную реакционную смесь разбавляли 5 объемами дихлорметана и промывали насыщенным раствором хлорида аммония (5 объемов) и соевым раствором (5 объемов). Органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали до состояния масла. Неочищенное масло очищали с помощью системы очистки Teledyne ISCO Combi-flash®, используя колонку, содержащую 330 г кремнезема. 4-Нитрофенол элюировали 100% этилацетатом и соединение 10 элюировали из колонки с помощью смеси 20% метанол/DCM, при этом получали бесцветное масло (39 г, выход 81%). Рассч. масса соединения $C_{42}H_{69}N_5O_{12}$ составила 836,0 m/z. Найд. $[M+H]$ составила 837,0.



20 Спирт 10 дважды совместно перегоняли с 10 объемами ацетонитрила с целью удаления любого количества остаточного метанола из хроматографических растворителей и повторно с сухим дихлорметаном (KF (содержание воды по методу Карла Фишера) < 60 част./млн) для удаления следов воды. Спирт 10 (2,30 г, 2,8 ммоль) растворяли в 5 объемах сухого дихлорметана

(KF < 50 част./млн) и обрабатывали тетразолидом диизопропиламмония (188 мг, 1,1 ммоль). Раствор охлаждали до 0°C и обрабатывали, добавляя по каплям 2-цианоэтил-N,N,N',N'-тетраизопропилфосфорамидит (1,00 г, 3,3 ммоль). Раствор удаляли из ледяной бани и перемешивали при 20°C. Было установлено, что
5 реакция завершилась в течение 3–6 ч. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и обрабатывали 10 объемами смеси насыщенного раствора бикарбоната аммония и солевого раствора, взятых в соотношении 1:1, затем нагревали до комнатной температуры в течение 1 мин и перемешивали в течение еще 3 мин при 20°C. Двухфазную смесь переносили в делительную воронку и добавляли 10 объемов
10 дихлорметана. Органический слой отделяли и промывали 10 объемами насыщенного раствора бикарбоната натрия с целью гидролиза непрореагировавшего бис-фосфорного реагента. Органический слой сушили над сульфатом натрия и концентрировали до состояния масла, при этом получали 3,08 г соединения 14 с выходом 94 мас.%. Рассч. масса соединения C₅₁H₈₆N₇O₁₃P
15 составила 1035,6 m/z. Найд. [M+H] составила 1036.

3. Конъюгация направляющих лигандов. Либо до, либо после отжига смысловую цепь, функционализированную по 5'- или 3'-концу тридентатным алкином, конъюгировали с направляющими лигандами. В следующем примере описана конъюгация направляющих лигандов с отожденным дуплексом.
20 Исходные растворы 0,5 М трис(3-гидроксипропилтриазилилметил)амин (ТНРТА), 0,5 М пентагидрата сульфата Cu(II) (Cu(II)SO₄ • 5H₂O) и 2М раствор аскорбата натрия готовили в деионизированной воде. Получали раствор направляющего лиганда в DMSO с концентрацией 75 мг/мл. В центрифужную пробирку емкостью 1,5 мл, содержащую дуплекс, функционализированный
25 триалкинами (3 мг, 75 мкл, 40 мг/мл в деионизированной воде, ~15000 г/моль), добавляли 25 мкл 1М буферного раствора Нерес, рН 8,5. После встряхивания на мешалке типа Вортекс добавляли 35 мкл DMSO и раствор перемешивали встряхиванием. В реакционную смесь добавляли направляющий лиганд (6 экв./дуплекс, 2 экв./алкин, ~15 мкл) и раствор встряхивали. С помощью рН-
30 бумаги контролировали рН и подтверждали, что рН составляет ~8. В отдельной центрифужной пробирке объемом 1,5 мл, 50 мкл 0,5 М ТНРТА смешивали с 10 мкл 0,5 М Cu(II)SO₄ • 5H₂O, перемешивали на мешалке типа Вортекс и инкубировали при комнатной температуре в течение 5 мин. Через 5 мин в

реакционный флакон добавляли раствор ТНРТА/Cu (7,2 мкл, 6 экв. смеси ТНРТА:Cu в соотношении 5:1) и встряхивали. Немедленно после этого в реакционный флакон добавляли 2М раствор аскорбата (5 мкл, 50 экв. на дуплекс, 16,7 экв. на алкин) и встряхивали на мешалке типа Вортекс. После 5 завершения реакции (обычно в течение 0,5-1 ч) продукт реакции немедленно очищали с помощью анионообменной хроматографии в неденатурирующих условиях.

Пример 2

Мышиная модель MMP7-SEAP

10 Для оценки специфической активности агентов РНКи использовали мышиную модель MMP7-SEAP. Самок мышей-альбиносов C57BL/6 в возрасте шести-восьми недель временно трансфицировали *in vivo* плазмидой с помощью гидродинамической инъекции в хвостовую вену, введенной по меньшей мере за 15 дней до введения агента РНКи MMP7 или контроля. Плазида содержит 15 последовательность кДНК MMP7 (из коллекции GenBank NM_002423.5 (последовательность SEQ ID NO:1)), встроенную в 3'-UTR репортерного гена SEAP (секретируемой плацентарной щелочной фосфатазы человека). 50 мкг плазмиды, содержащей последовательность кДНК MMP7, в растворе Рингера, в общем объеме, составляющем 10% от массы тела животного, вводили мышам 20 через хвостовую вену для создания модельных мышей MMP7-SEAP. Раствор вводили через иглу калибра 27 в течение 5-7 с, как описано ранее (см. статью Zhang G и др., «High levels of foreign gene expression in hepatocytes after tail vein injection of naked plasmid DNA», Human Gene Therapy, т. 10, стр. 1735-1737 (1999)). Подавление экспрессии MMP7 с помощью агента РНКи MMP7 приводит 25 к сопутствующему подавлению экспрессии SEAP, которое измеряли с помощью системы анализа репортерного гена SEAP Phospha-Light™ (от фирмы Invitrogen). Перед лечением измеряли уровни экспрессии SEAP в сыворотке и мышей группировали в соответствии со средними уровнями экспрессии SEAP.

Анализы. Уровни экспрессии SEAP можно измерять в различные периоды 30 времени как до, так и после введения агентов РНКи MMP7.

i) Отбор сыворотки: мышей анестезировали 2-3% изофлураном и образцы крови отбирали из подчелюстной области в пробирки для отделения сыворотки (от фирмы Sarstedt AG & Co., Нюмбрехт, Германия). Кровь выдерживали до

коагуляции при температуре окружающей среды в течение 20 мин. Пробирки центрифугировали при $8000 \times g$ в течение 3 мин для отделения сыворотки и хранили при 4°C .

ii) Уровни экспрессии SEAP в сыворотке. Сыворотку собирали и исследовали с помощью системы анализа репортерного гена SEAP Phospha-Light™ (от фирмы Invitrogen) в соответствии с инструкциями фирмы-производителя. Уровни экспрессии SEAP в сыворотке для каждого животного нормализовали по отношению к контрольной группе мышей, которым вводили физиологический раствор, чтобы учесть снижение экспрессии MMP7, не связанное с лечением с помощью исследуемой модели. Во-первых, уровень экспрессии SEAP для каждого животного в определенный момент времени делили на уровень экспрессии у этого животного до лечения («до лечения») с целью определить отношение уровня экспрессии «нормализованного к уровню до лечения». Уровень экспрессии в конкретный момент времени затем нормализовали по отношению к контрольной группе в результате деления «нормализованного к уровню до лечения» отношения для отдельного животного на среднее «нормализованное к уровню до лечения» отношение для всех мышей в контрольной группе, получавших физиологический раствор. В другом варианте в некоторых примерах, изложенных в данном контексте, уровни экспрессии SEAP в сыворотке для каждого животного оценивали с помощью нормализации только к уровням экспрессии до лечения.

Пример 3

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 3,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 12.

Таблица 12

Агент РНКи MMP7 и дозировка, использованная в примере 3.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 3,0 мг/кг AD08797	Однократная инъекция в день 1

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 3 3,0 мг/кг AD08798	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 3,0 мг/кг AD08801	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 3,0 мг/кг AD08802	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 3,0 мг/кг AD08803	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 3,0 мг/кг AD08804	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 3,0 мг/кг AD08805	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 3,0 мг/кг AD08816	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 3,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцей (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 13, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 13

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP (см. пример 3).

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,509	1,000	0,414
Группа 2 3,0 мг/кг AD08797	0,217	0,044	0,187	0,112
Группа 3 3,0 мг/кг AD08798	0,259	0,070	0,189	0,048
Группа 4 3,0 мг/кг AD08801	0,265	0,073	0,401	0,155
Группа 5 3,0 мг/кг AD08802	0,237	0,036	0,216	0,082
Группа 6 3,0 мг/кг AD08803	0,125	0,044	0,104	0,070

Группа 7 3,0 мг/кг AD08804	0,227	0,103	0,195	0,063
Группа 8 3,0 мг/кг AD08805	0,145	0,098	0,129	0,143
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	0,150	0,014	0,069	0,028
Группа 10 3,0 мг/кг AD08816	0,643	0,716	0,288	0,119
Группа 11 3,0 мг/кг AD08823	0,129	0,026	0,075	0,030
	День 22		День 29	
Идентификатор группы ID	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,581	1,000	0,464
Группа 2 3,0 мг/кг AD08797	0,221	0,021	0,381	0,082
Группа 3 3,0 мг/кг AD08798	0,227	0,066	0,377	0,170
Группа 4 3,0 мг/кг AD08801	0,434	0,109	0,577	0,108
Группа 5 3,0 мг/кг AD08802	0,220	0,082	0,279	0,136
Группа 6 3,0 мг/кг AD08803	0,075	0,050	0,081	0,039
Группа 7 3,0 мг/кг AD08804	0,169	0,034	0,299	0,083
Группа 8 3,0 мг/кг AD08805	0,223	0,317	0,414	0,568
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	0,057	0,028	0,111	0,068
Группа 10 3,0 мг/кг AD08816	0,247	0,075	0,375	0,212
Группа 11 3,0 мг/кг AD08823	0,092	0,070	0,093	0,089

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-11) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 4

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 3,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 14.

Таблица 14

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 4.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 3,0 мг/кг AD08799	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 3,0 мг/кг AD08800	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 3,0 мг/кг AD08806	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 3,0 мг/кг AD08807	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 3,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 3,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 3,0 мг/кг AD08814	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 3,0 мг/кг AD08817	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 3,0 мг/кг AD08818	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 15, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 15

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 4.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,112	1,000	0,402
Группа 2 3,0 мг/кг AD08799	0,300	0,054	0,731	0,182

Группа 3 3,0 мг/кг AD08800	0,208	0,079	0,237	0,165
Группа 4 3,0 мг/кг AD08806	0,215	0,063	0,282	0,173
Группа 5 3,0 мг/кг AD08807	0,168	0,060	0,166	0,099
Группа 6 3,0 мг/кг AD08808	0,143	0,042	0,143	0,111
Группа 7 3,0 мг/кг AD08813	0,192	0,072	0,088	0,029
Группа 8 3,0 мг/кг AD08814	0,154	0,060	0,339	0,152
Группа 9 3,0 мг/кг AD08817	0,430	0,097	0,369	0,206
Группа 10 3,0 мг/кг AD08818	0,160	0,073	0,127	0,043
	День 22		День 29	
Идентификатор группы ID	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,323	1,000	0,364
Группа 2 3,0 мг/кг AD08799	0,818	0,164	0,730	0,279
Группа 3 3,0 мг/кг AD08800	0,194	0,130	0,384	0,240
Группа 4 3,0 мг/кг AD08806	0,454	0,378	0,502	0,424
Группа 5 3,0 мг/кг AD08807	0,155	0,074	0,287	0,137
Группа 6 3,0 мг/кг AD08808	0,116	0,106	0,192	0,171
Группа 7 3,0 мг/кг AD08813	0,077	0,053	0,151	0,113
Группа 8 3,0 мг/кг AD08814	0,307	0,139	0,463	0,356
Группа 9 3,0 мг/кг AD08817	0,313	0,085	0,456	0,138
Группа 10 3,0 мг/кг AD08818	0,087	0,047	0,148	0,086

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-10) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 5

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 3,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1 mpk агента РНКи MMP7, 0,3 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 16.

Таблица 16

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 5.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 3,0 мг/кг AD08809	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 3,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 3,0 мг/кг AD08812	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 3,0 мг/кг AD08819	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 3,0 мг/кг AD08820	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 3,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 3,0 мг/кг AD08822	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 0,3 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.

Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 17, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 17

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 5.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,264	1,000	0,478
Группа 2 3,0 мг/кг AD08809	0,807	0,283	0,853	0,441
Группа 3 3,0 мг/кг AD08811	0,177	0,046	0,111	0,076
Группа 4 3,0 мг/кг AD08812	0,704	0,342	0,567	0,143
Группа 5 3,0 мг/кг AD08819	0,549	0,079	0,405	0,083
Группа 6 3,0 мг/кг AD08820	0,133	0,022	0,046	0,020
Группа 7 3,0 мг/кг AD08821	0,148	0,061	0,051	0,028
Группа 8 3,0 мг/кг AD08822	0,111	0,025	0,048	0,018
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	0,193	0,043	0,097	0,043
Группа 10 1,0 мг/кг AD08815	0,630	0,139	0,299	0,087
Группа 11 0,3 мг/кг AD08815	0,789	0,185	0,493	0,157
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,556	1,000	0,398
Группа 2 3,0 мг/кг AD08809	0,797	0,396	0,920	0,517
Группа 3 3,0 мг/кг AD08811	0,118	0,099	0,202	0,137
Группа 4 3,0 мг/кг AD08812	0,994	0,384	0,565	0,079
Группа 5 3,0 мг/кг AD08819	0,375	0,045	0,652	0,148
Группа 6 3,0 мг/кг AD08820	0,040	0,022	0,087	0,065
Группа 7 3,0 мг/кг AD08821	0,038	0,025	0,050	0,023
Группа 8 3,0 мг/кг AD08822	0,038	0,016	0,085	0,030
Группа 9 3,0 мг/кг AD08815	0,078	0,030	0,156	0,065

Группа 10 1,0 мг/кг AD08815	0,395	0,074	0,650	0,179
Группа 11 0,3 мг/кг AD08815	0,625	0,152	0,819	0,291

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-11) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 6

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 2,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 18.

Таблица 18

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 6.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 2,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 2,0 мг/кг AD08803	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08803	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой из групп 1-6 (n=4) и трех (3) мышей исследовали в группе 7 (n = 3). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и

день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 19, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

5 Таблица 19

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 6.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,637	1,000	0,354
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	0,261	0,086	0,169	0,099
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	0,307	0,198	0,435	0,277
Группа 4 2,0 мг/кг AD08823	0,230	0,172	0,140	0,042
Группа 5 1,0 мг/кг AD08823	0,543	0,250	0,266	0,079
Группа 6 2,0 мг/кг AD08803	0,617	0,294	0,204	0,109
Группа 7 1,0 мг/кг AD08803	0,320	0,145	0,283	0,063
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,235	1,000	0,302
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	0,157	0,143	0,256	0,092
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	0,343	0,171	0,522	0,233
Группа 4 2,0 мг/кг AD08823	0,212	Нет данных*	0,294	0,155
Группа 5 1,0 мг/кг AD08823	0,291	0,107	0,502	0,205
Группа 6 2,0 мг/кг AD08803	0,087	0,042	0,179	0,092
Группа 7 1,0 мг/кг AD08803	0,309	0,371	0,211	Нет данных *

*В указанный день протестировали только одну мышь из группы.

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-7) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 7

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 2,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1 mpk агента РНКи MMP7, 0,5 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 20.

Таблица 20

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 7.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 2,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 0,5 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 2,0 мг/кг AD08818	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD08818	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 0,5 мг/кг AD08818	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные

эксперимента приведены в следующей таблице 21, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 21

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 7.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,199	1,000	0,169
Группа 2 2,0 мг/кг AD08808	0,281	0,137	0,373	0,417
Группа 3 1,0 мг/кг AD08808	0,432	0,087	0,547	0,191
Группа 4 0,5 мг/кг AD08808	0,646	0,331	0,589	0,217
Группа 5 2,0 мг/кг AD08818	0,403	0,158	0,462	0,442
Группа 6 1,0 мг/кг AD08818	0,793	0,229	0,623	0,256
Группа 7 0,5 мг/кг AD08818	0,649	0,092	0,669	0,266
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,229	1,000	0,135
Группа 2 2,0 мг/кг AD08808	0,056	0,020	0,049	Нет данных*
Группа 3 1,0 мг/кг AD08808	0,355	0,176	0,434	0,080
Группа 4 0,5 мг/кг AD08808	0,649	0,559	0,639	0,102
Группа 5 2,0 мг/кг AD08818	0,286	0,294	0,298	0,313
Группа 6 1,0 мг/кг AD08818	0,485	0,102	0,404	0,243
Группа 7 0,5 мг/кг AD08818	0,531	0,271	0,845	0,635

*В указанный день протестировали только одну мышь.

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-7) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по

сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

5 Пример 8

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 2,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 22.

Таблица 22

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 8.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 2,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 2,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 2,0 мг/кг AD08820	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08820	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 2,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 2,0 мг/кг AD08822	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 1,0 мг/кг AD08822	Однократная инъекция в день 1

15 Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в 20 день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,408	1,000	0,388
Группа 2 2,0 мг/кг AD08813	0,137	0,089	0,168	0,060
Группа 3 1,0 мг/кг AD08813	0,355	0,133	0,338	0,095
Группа 4 2,0 мг/кг AD08811	0,177	0,072	0,249	0,083
Группа 5 1,0 мг/кг AD08811	0,311	0,086	0,417	0,170
Группа 6 2,0 мг/кг AD08820	0,024	0,026	0,055	0,036
Группа 7 1,0 мг/кг AD08820	0,110	0,060	0,195	0,062
Группа 8 2,0 мг/кг AD08821	0,028	Нет данных*	0,084	Нет данных*
Группа 9 1,0 мг/кг AD08821	0,172	0,051	0,143	0,116
Группа 10 2,0 мг/кг AD08822	0,093	0,030	0,082	Нет данных*
Группа 11 1,0 мг/кг AD08822	0,131	0,047	0,319	0,125

*В указанный день тестировали только одну мышь. **В указанный день мышей не тестировали.

5 Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-11) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 9

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,5 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 24.

Таблица 24

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 9.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,5 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,5 мг/кг AD09243	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,5 мг/кг AD09244	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,5 мг/кг AD09245	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,5 мг/кг AD09246	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,5 мг/кг AD09247	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,5 мг/кг AD09248	Однократная инъекция в день 1

10

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.

15 Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 25, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 25

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 9.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,440	1,000	0,145
Группа 2 1,5 мг/кг AD08815	0,569	0,186	0,152	0,065
Группа 3 1,5 мг/кг AD09243	0,282	0,154	0,075	0,049
Группа 4 1,5 мг/кг AD09244	0,535	0,169	0,270	0,122
Группа 5 1,5 мг/кг AD09245	0,659	0,190	0,211	0,140
Группа 6 1,5 мг/кг AD09246	0,528	0,100	0,199	0,110
Группа 7 1,5 мг/кг AD09247	0,613	0,227	0,269	0,086
Группа 8 1,5 мг/кг AD09248	1,047**	1,439	0,259	0,079
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,436	1,000	0,530
Группа 2 1,5 мг/кг AD08815	0,195	0,071	0,576	0,425
Группа 3 1,5 мг/кг AD09243	0,095	Не тестировали*	0,400	0,291
Группа 4 1,5 мг/кг AD09244	0,203	0,147	0,479	0,357
Группа 5 1,5 мг/кг AD09245	0,161	0,012	0,406	0,278
Группа 6 1,5 мг/кг AD09246	0,190	0,167	0,426	0,258
Группа 7 1,5 мг/кг AD09247	0,233	0,106	0,359	0,122
Группа 8 1,5 мг/кг AD09248	0,280	0,192	0,411	0,136

5

*В указанный день тестировали только одну мышь. **В день 8 у одного животного в группе 8 наблюдали высокий сигнал.

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-8) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках (за исключением группы 8 в день 8), как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 10

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 2,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1,0 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 26.

Таблица 26

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 10.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 2,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 2,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 2,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные

эксперимента приведены в следующей таблице 27, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 27

5 Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 10.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,468	1,000	0,469
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	0,170	0,102	0,177	0,195
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	0,365	0,193	0,330	0,161
Группа 4 2,0 мг/кг AD08821	0,109	0,054	0,069	0,061
Группа 5 1,0 мг/кг AD08821	0,134	0,045	0,115	0,046
Группа 6 2,0 мг/кг AD08808	0,115	0,034	0,107	0,023
Группа 7 1,0 мг/кг AD08808	0,178	0,057	0,209	0,130
Группа 8 2,0 мг/кг AD08813	0,167	0,047	0,108	0,065
Группа 9 1,0 мг/кг AD08813	0,224	0,028	0,190	0,091
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,300	1,000	0,297
Группа 2 2,0 мг/кг AD08815	0,158	0,131	0,226	0,232
Группа 3 1,0 мг/кг AD08815	0,439	0,277	0,457	0,383
Группа 4 2,0 мг/кг AD08821	0,095	0,074	0,110	0,092
Группа 5 1,0 мг/кг AD08821	0,289	0,259	0,412	0,331
Группа 6 2,0 мг/кг AD08808	0,179	0,077	0,373	0,294
Группа 7 1,0 мг/кг AD08808	0,299	0,124	0,397	0,201
Группа 8 2,0 мг/кг AD08813	0,133	0,083	0,244	0,217
Группа 9 1,0 мг/кг AD08813	0,324	0,149	0,360	0,134

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-9) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышечной модели MMP7-SEAP.

Пример 11

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышечную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мышце проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мкг агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 28.

Таблица 28

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 11.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD09330	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD09331	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD09332	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09333	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09349	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09350	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD09351	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 1,0 мг/кг AD09352	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.

Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 29, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 29

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 11.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,440	1,000	0,419
Группа 2 1,0 мг/кг AD08808	0,756	0,932	0,745	0,928
Группа 3 1,0 мг/кг AD09330	0,457	0,186	0,444	0,178
Группа 4 1,0 мг/кг AD09331	0,475	0,193	0,470	0,191
Группа 5 1,0 мг/кг AD09332	0,380	0,198	0,367	0,184
Группа 6 1,0 мг/кг AD09333	0,357	0,142	0,384	0,165
Группа 7 1,0 мг/кг AD08821	0,304	0,110	0,314	0,110
Группа 8 1,0 мг/кг AD09349	0,258	0,117	0,261	0,117
Группа 9 1,0 мг/кг AD09350	0,362	0,082	0,365	0,079
Группа 10 1,0 мг/кг AD09351	0,419	0,260	0,407	0,242
Группа 11 1,0 мг/кг AD09352	0,281	0,049	0,281	0,031
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,345	1,000	0,415
Группа 2 1,0 мг/кг AD08808	0,569	0,538	0,534	0,485
Группа 3 1,0 мг/кг AD09330	0,361	0,155	0,408	0,188
Группа 4 1,0 мг/кг AD09331	0,310	0,124	0,299	0,139

Группа 5 1,0 мг/кг AD09332	0,323	0,208	0,348	0,206
Группа 6 1,0 мг/кг AD09333	0,329	0,165	0,243	0,112
Группа 7 1,0 мг/кг AD08821	0,257	0,173	0,304	0,219
Группа 8 1,0 мг/кг AD09349	0,276	0,260	0,152	0,147
Группа 9 1,0 мг/кг AD09350	0,300	0,092	0,134	0,030
Группа 10 1,0 мг/кг AD09351	0,307	0,215	0,327	0,298
Группа 11 1,0 мг/кг AD09352	0,212	0,078	0,173	0,058

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-11) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 12

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мрк агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 30.

Таблица 30

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 12.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08813	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD09334	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD09335	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD09336	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09337	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09354	Однократная инъекция в день 1

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 9 1,0 мг/кг AD09355	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD09356	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 1,0 мг/кг AD09357	Однократная инъекция в день 1
Группа 12 1,0 мг/кг AD09358	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15 и день 22, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 31, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 31

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 12.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,303	1,000	0,313
Группа 2 1,0 мг/кг AD08813	0,889	0,357	0,342	0,166
Группа 3 1,0 мг/кг AD09334	0,924	0,368	0,587	0,256
Группа 4 1,0 мг/кг AD09335	0,869	0,269	0,680	0,414
Группа 5 1,0 мг/кг AD09336	0,826	0,233	0,468	0,146
Группа 6 1,0 мг/кг AD09337	0,850	0,176	0,483	0,195
Группа 7 1,0 мг/кг AD08811	0,454	0,147	0,249	0,185
Группа 8 1,0 мг/кг AD09354	0,833	0,353	0,678	0,349
Группа 9 1,0 мг/кг AD09355	0,715	0,174	0,485	0,191
Группа 10 1,0 мг/кг AD09356	1,182	0,280	0,428	0,351

Группа 11 1,0 мг/кг AD09357	0,897	0,384	0,491	0,224
Группа 12 1,0 мг/кг AD09358	0,701	0,237	0,465	0,126
	День 22			
Идентификатор группы ID	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)		
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,460		
Группа 2 1,0 мг/кг AD08813	0,495	0,322		
Группа 3 1,0 мг/кг AD09334	0,574	0,266		
Группа 4 1,0 мг/кг AD09335	0,563	0,335		
Группа 5 1,0 мг/кг AD09336	0,721	0,282		
Группа 6 1,0 мг/кг AD09337	0,603	0,300		
Группа 7 1,0 мг/кг AD08811	0,982	0,517		
Группа 8 1,0 мг/кг AD09354	0,386	0,268		
Группа 9 1,0 мг/кг AD09355	0,615	0,152		
Группа 10 1,0 мг/кг AD09356	1,188	0,560		
Группа 11 1,0 мг/кг AD09357	0,862	0,427		
Группа 12 1,0 мг/кг AD09358	0,828	0,248		

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки за исключением группы 10 (т.е. в группах 2-9, а также 11 и 12) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 13

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мрк агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 32.

Таблица 32

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 13.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08803	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD09441	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD09442	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD09443	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09444	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09445	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09446	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD09447	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 1,0 мг/кг AD09448	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 33, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 33

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 13.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,210	1,000	0,188

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 2 1,0 мг/кг AD08803	0,383	0,125	0,387	0,143
Группа 3 1,0 мг/кг AD09441	0,785	0,192	0,695	0,185
Группа 4 1,0 мг/кг AD09442	0,780	0,285	0,820	0,321
Группа 5 1,0 мг/кг AD09443	0,749	0,353	0,733	0,493
Группа 6 1,0 мг/кг AD09444	0,451	0,208	0,342	0,094
Группа 7 1,0 мг/кг AD08823	0,249	0,064	0,189	0,079
Группа 8 1,0 мг/кг AD09445	0,260	0,095	0,135	0,103
Группа 9 1,0 мг/кг AD09446	0,162	0,056	0,162	0,086
Группа 10 1,0 мг/кг AD09447	0,177	0,030	0,126	0,049
Группа 11 1,0 мг/кг AD09448	0,360	0,139	0,273	0,126
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,376	1,000	0,429
Группа 2 1,0 мг/кг AD08803	0,418	0,101	Не тестиرو-вали*	Не тестиرو-вали*
Группа 3 1,0 мг/кг AD09441	0,826	0,393	Не тестиرو-вали*	Не тестиرو-вали*
Группа 4 1,0 мг/кг AD09442	1,186	0,656	Не тестиرو-вали*	Не тестиرو-вали*
Группа 5 1,0 мг/кг AD09443	0,940	0,656	Не тестиرو-вали*	Не тестиرو-вали*
Группа 6 1,0 мг/кг AD09444	0,568	0,230	Не тестиرو-вали*	Не тестиرو-вали*
Группа 7 1,0 мг/кг AD08823	0,295	0,169	0,655	0,373
Группа 8 1,0 мг/кг AD09445	0,307	0,262	0,519	0,397
Группа 9 1,0 мг/кг AD09446	0,173	0,113	0,338	0,238
Группа 10 1,0 мг/кг AD09447	0,182	0,061	0,299	0,081

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 11 1,0 мг/кг AD09448	0,545	0,352	0,699	0,384

*Мышей из групп 2–6 подвергали эвтаназии до дня 29.

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки за исключением группы 4 в день 22 (т.е. в группах 2, 3 и с 5 по 11) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 14

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 3,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1,0 mpk агента РНКи MMP7, 0,3 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 34.

Таблица 34

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 14.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 0,3 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 3,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 0,3 мг/кг AD09350	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09350	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 3,0 мг/кг AD09350	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 0,3 мг/кг AD09352	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09352	Однократная инъекция в день 1

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 10 3,0 мг/кг AD09352	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 35, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 35

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 14.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,482	1,000	0.382
Группа 2 0,3 мг/кг AD08821	0,681	0,235	0,655	0.419
Группа 3 1,0 мг/кг AD08821	0,291	0,063	0,251	0.164
Группа 4 3,0 мг/кг AD08821	0,136	0,051	0,084	0.076
Группа 5 0,3 мг/кг AD09350	0,507	0,066	0,685	0.130
Группа 6 1,0 мг/кг AD09350	0,250	0,090	0,211	0.093
Группа 7 3,0 мг/кг AD09350	0,098	0,036	0,044	0.019
Группа 8 0,3 мг/кг AD09352	0,861	0,180	0,948	0.401
Группа 9 1,0 мг/кг AD09352	0,295	0,142	0,203	0.100
Группа 10 3,0 мг/кг AD09352	0,166	0,043	0,004	0.005
День 22				

Идентификатор группы ID	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,514
Группа 2 0,3 мг/кг AD08821	0,511	0,302
Группа 3 1,0 мг/кг AD08821	0,168	0,103
Группа 4 3,0 мг/кг AD08821	0,047	0,024
Группа 5 0,3 мг/кг AD09350	0,426	0,083
Группа 6 1,0 мг/кг AD09350	0,105	0,073
Группа 7 3,0 мг/кг AD09350	0,026	0,014
Группа 8 0,3 мг/кг AD09352	0,660	0,103
Группа 9 1,0 мг/кг AD09352	0,154	0,082
Группа 10 3,0 мг/кг AD09352	0,024	0,006

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-10) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 15

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 3,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 1,0 mpk агента РНКи MMP7, 0,3 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 36.

Таблица 36

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 15.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 0,3 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 3 1,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 3,0 мг/кг AD08808	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 0,3 мг/кг AD09332	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09332	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 3,0 мг/кг AD09332	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 0,3 мг/кг AD09333	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09333	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 3,0 мг/кг AD09333	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 37, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 37

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 15.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,334	1,000	0,473
Группа 2 0.3 mg/kg AD08808	0,679	0,506	0,503	0,164
Группа 3 1.0 mg/kg AD08808	0,365	0,134	0,316	0,158
Группа 4 3.0 mg/kg AD08808	0,116	0,069	0,099	0,084
Группа 5 0.3 mg/kg AD09332	0,482	0,124	0,337	0,264
Группа 6 1.0 mg/kg AD09332	0,342	0,177	0,244	0,091

Группа 7 3.0 mg/kg AD09332	0,139	0,100	0,066	0,075
Группа 8 0.3 mg/kg AD09333	0,562	0,377	0,502	0,250
Группа 9 1.0 mg/kg AD09333	0,305	0,108	0,191	0,055
Группа 10 3.0 mg/kg AD09333	0,125	0,020	0,037	0,020
	День 22		День 29	
Идентификатор группы ID	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,310	1,000	0,619
Группа 2 0,3 мг/кг AD08808	1,407	2,130	0,907	0,778
Группа 3 1,0 мг/кг AD08808	0,308	0,131	0,333	0,270
Группа 4 3,0 мг/кг AD08808	0,095	0,062	0,127	0,083
Группа 5 0,3 мг/кг AD09332	1,652	2,697	0,471	0,259
Группа 6 1,0 мг/кг AD09332	0,298	0,121	0,275	0,313
Группа 7 3,0 мг/кг AD09332	0,065	0,052	0,070	0,045
Группа 8 0,3 мг/кг AD09333	0,635	0,240	0,687	0,321
Группа 9 1,0 мг/кг AD09333	0,236	0,129	0,289	0,219
Группа 10 3,0 мг/кг AD09333	0,075	0,052	0,061	0,039

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки, за исключением групп 2 и 5 в день 22, продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 16

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 0,5 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 38.

Таблица 38

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 16.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 0,5 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 0,5 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09246	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 0,5 мг/кг AD09246	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09247	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 0,5 мг/кг AD09247	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые
 5 направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как
 показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е.
 подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.
 Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в
 день 8, день 15, день 22, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с
 10 процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в
 следующей таблице 39, где среднее значение SEAP отражает нормализованное
 среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 39

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при
 15 введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP,
 описанные в примере 16.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,737	1,000	0,652
Группа 2 1,0 мг/кг AD08811	0,982	1,098	1,114	1,386
Группа 3 0,5 мг/кг AD08811	2,107	1,950	2,015	1,885

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 4 1,0 мг/кг AD08823	0,831	0,728	0,750	0,643
Группа 5 0,5 мг/кг AD08823	0,818	0,371	0,802	0,459
Группа 6 1,0 мг/кг AD09246	0,347	0,223	0,257	0,173
Группа 7 0,5 мг/кг AD09246	0,592	0,649	0,535	0,640
Группа 8 1,0 мг/кг AD09247	0,240	0,265	0,214	0,225
Группа 9 0,5 мг/кг AD09247	1,108	0,878	2,426	1,497
День 22				
Идентификатор группы ID	День 22			
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)		
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,663		
Группа 2 1,0 мг/кг AD08811	1,699	2,201		
Группа 3 0,5 мг/кг AD08811	3,642	3,831		
Группа 4 1,0 мг/кг AD08823	0,918	0,907		
Группа 5 0,5 мг/кг AD08823	0,966	0,480		
Группа 6 1,0 мг/кг AD09246	0,441	0,439		
Группа 7 0,5 мг/кг AD09246	0,795	0,983		
Группа 8 1,0 мг/кг AD09247	0,285	0,300		
Группа 9 0,5 мг/кг AD09247	0,868	0,630		

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки 4-8 продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 17

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере

2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200

мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мрк агента РНКи ММР7 или физиологический раствор без агента РНКи ММР7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 40.

Таблица 40

5 Агент РНКи ММР7 и дозировка, описанная в примере 17.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08821	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD09890	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD09891	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD09352	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09908	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD09909	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09330	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09892	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD09332	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 1,0 мг/кг AD09894	Однократная инъекция в день 1
Группа 12 1,0 мг/кг AD09895	Однократная инъекция в день 1
Группа 13 1,0 мг/кг AD08801	Однократная инъекция в день 1
Группа 14 1,0 мг/кг AD09896	Однократная инъекция в день 1
Группа 15 1,0 мг/кг AD09897	Однократная инъекция в день 1
Группа 16 1,0 мг/кг AD09898	Однократная инъекция в день 1
Группа 17 1,0 мг/кг AD09899	Однократная инъекция в день 1
Группа 18 1,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 19 1,0 мг/кг AD08823	Однократная инъекция в день 1

10 Каждый из агентов РНКи ММР7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные

Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,354	1,000	0,137
Группа 2 1,0 мг/кг AD08821	0,192	0,102	0,244	0,174
Группа 3 1,0 мг/кг AD09890	0,212	0,107	0,345	0,218
Группа 4 1,0 мг/кг AD09891	0,148	0,092	0,149	0,133
Группа 5 1,0 мг/кг AD09352	0,165	0,089	0,299	0,201
Группа 6 1,0 мг/кг AD09908	0,118	0,055	0,184	0,108
Группа 7 1,0 мг/кг AD09909	0,152	0,110	0,225	0,172
Группа 8 1,0 мг/кг AD09330	0,552	0,273	0,722	0,362
Группа 9 1,0 мг/кг AD09892	0,477	0,257	0,851	0,596
Группа 10 1,0 мг/кг AD09332	0,251	0,148	0,461	0,322
Группа 11 1,0 мг/кг AD09894	0,214	0,156	0,276	0,243
Группа 12 1,0 мг/кг AD09895	0,122	0,048	0,154	0,067
Группа 13 1,0 мг/кг AD08801	0,423	0,060	0,555	0,107
Группа 14 1,0 мг/кг AD09896	0,667	0,280	0,762	0,393
Группа 15 1,0 мг/кг AD09897	0,574	0,336	0,941	0,413
Группа 16 1,0 мг/кг AD09898	0,795	0,460	0,952	0,381
Группа 17 1,0 мг/кг AD09899	0,437	0,230	0,487	0,290
Группа 18 1,0 мг/кг AD08811	0,381	0,067	0,610	0,196
Группа 19 1,0 мг/кг AD08823	0,158	0,049	0,241	0,051

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-19) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 18

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1,0 мрк агента РНКи MMP7 или

физиологический раствор без агента РНКи ММР7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 42.

Таблица 42

Агент РНКи ММР7 и дозировка, описанная в примере 18.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 1,0 мг/кг AD09354	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD09356	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 1,0 мг/кг AD09357	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 1,0 мг/кг AD09358	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 1,0 мг/кг AD09900	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09901	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 1,0 мг/кг AD09902	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 1,0 мг/кг AD09903	Однократная инъекция в день 1

5

Каждый из агентов РНКи ММР7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.

10 Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 43, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 43

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 18.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,177	1,000	0,343
Группа 2 1,0 мг/кг AD08811	0,322	0,148	0,341	0,274
Группа 3 1,0 мг/кг AD09354	0,508	0,197	0,411	0,144
Группа 4 1,0 мг/кг AD09356	0,561	0,222	0,528	0,171
Группа 5 1,0 мг/кг AD09357	0,414	0,150	0,335	0,167
Группа 6 1,0 мг/кг AD09358	0,298	0,029	0,207	0,093
Группа 7 1,0 мг/кг AD09900	0,356	0,208	0,111	0,096
Группа 8 1,0 мг/кг AD09901	0,581	0,053	0,360	0,077
Группа 9 1,0 мг/кг AD09902	0,404	0,242	0,273	0,174
Группа 10 1,0 мг/кг AD09903	0,492	0,221	0,317	0,194
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,356	1,000	0,328
Group 2 1,0 мг/кг AD08811	0,493	0,227	0,623	0,316
Group 3 1,0 мг/кг AD09354	0,478	0,244	0,535	0,241
Group 4 1,0 мг/кг AD09356	0,654	0,341	0,622	0,304
Group 5 1,0 мг/кг AD09357	0,999	0,550	0,429	0,295
Group 6 1,0 мг/кг AD09358	0,398	0,475	0,241	0,108
Group 7 1,0 мг/кг AD09900	0,195	0,155	0,273	0,213
Group 8 1,0 мг/кг AD09901	0,358	0,146	0,354	0,220
Group 9 1,0 мг/кг AD09902	0,318	0,248	0,273	0,149
Group 10 1,0 мг/кг AD09903	0,375	0,241	0,399	0,230

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-10) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышечной модели MMP7-SEAP.

Пример 19

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышечную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 0,75 мкг агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 44.

Таблица 44

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 19.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 0,75 мг/кг AD08811	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 0,75 мг/кг AD10284	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 0,75 мг/кг AD09900	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 0,75 мг/кг AD10285	Однократная инъекция в день 1
Группа 6 0,75 мг/кг AD09358	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 0,75 мг/кг AD10286	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 0,75 мг/кг AD10287	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 0,75 мг/кг AD10288	Однократная инъекция в день 1
Группа 10 0,75 мг/кг AD10290	Однократная инъекция в день 1
Группа 11 0,75 мг/кг AD10291	Однократная инъекция в день 1
Группа 12 0,75 мг/кг AD10292	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е.

подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча.

Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15, день 22 и день 29, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные

5 эксперимента приведены в следующей таблице 45, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 45

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 19.

10

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,149	1,000	0,109
Группа 2 0,75 мг/кг AD08811	0,439	0,147	0,447	0,150
Группа 3 0,75 мг/кг AD10284	0,362	0,124	0,517	0,229
Группа 4 0,75 мг/кг AD09900	0,473	0,107	0,363	0,204
Группа 5 0,75 мг/кг AD10285	0,354	0,117	0,298	0,143
Группа 6 0,75 мг/кг AD09358	0,573	0,280	0,315	0,155
Группа 7 0,75 мг/кг AD10286	0,392	0,198	0,257	0,213
Группа 8 0,75 мг/кг AD10287	0,448	0,166	0,259	0,083
Группа 9 0,75 мг/кг AD10288	0,304	0,126	0,196	0,086
Группа 10 0,75 мг/кг AD10290	0,360	0,138	0,166	0,074
Группа 11 0,75 мг/кг AD10291	0,354	0,188	0,273	0,144
Группа 12 0,75 мг/кг AD10292	0,914	1,247	0,661	0,865
Идентификатор группы ID	День 22		День 29	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,273	1,000	0,300
Группа 2 0,75 мг/кг AD08811	0,445	0,083	0,357	0,171

Группа 3 0,75 мг/кг AD10284	0,448	0,173	0,203	0,192
Группа 4 0,75 мг/кг AD09900	0,330	0,133	0,263	0,110
Группа 5 0,75 мг/кг AD10285	0,284	0,086	0,207	0,095
Группа 6 0,75 мг/кг AD09358	0,512	0,266	0,403	0,188
Группа 7 0,75 мг/кг AD10286	0,313	0,133	0,250	0,178
Группа 8 0,75 мг/кг AD10287	0,310	0,065	0,224	0,026
Группа 9 0,75 мг/кг AD10288	0,214	0,183	0,203	0,161
Группа 10 0,75 мг/кг AD10290	0,158	0,073	0,111	0,059
Группа 11 0,75 мг/кг AD10291	0,274	0,108	0,331	0,193
Группа 12 0,75 мг/кг AD10292	0,676	0,892	0,702	0,726

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-12) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышинной модели MMP7-SEAP.

Пример 20

Тестирование in vivo агентов РНКи MMP7 на модели мышей MMP7-SEAP

Использовали мышиную модель MMP7-SEAP, описанную выше в примере 2. В день 1 каждой мыши проводили однократную подкожную инъекцию 200 мкл на 20 г массы тела, содержащую 1 мг/кг (mpk) агента РНКи MMP7, 0,5 mpk агента РНКи MMP7 или физиологический раствор без агента РНКи MMP7, который использовали в качестве контроля, согласно следующей таблице 46.

Таблица 46

Агент РНКи MMP7 и дозировка, описанная в примере 20.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический раствор)	Однократная инъекция в день 1
Группа 2 1,0 мг/кг AD09358	Однократная инъекция в день 1
Группа 3 0,5 мг/кг AD09358	Однократная инъекция в день 1
Группа 4 1,0 мг/кг AD10288	Однократная инъекция в день 1
Группа 5 0,5 мг/кг AD10288	Однократная инъекция в день 1

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 6 1,0 мг/кг AD10290	Однократная инъекция в день 1
Группа 7 0,5 мг/кг AD10290	Однократная инъекция в день 1
Группа 8 1,0 мг/кг AD09909	Однократная инъекция в день 1
Группа 9 0,5 мг/кг AD09909	Однократная инъекция в день 1

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал N-ацетил-галактозаминовые направляющие лиганды, конъюгированные с 5'-концом смысловой цепи, как показано в таблицах 5 и 7Б. Инъекции проводили между кожей и мышцами (т.е. подкожные инъекции) под ненатянутую кожу в области шеи и плеча. Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Сыворотку отбирали в день 8, день 15 и день 22, и определяли уровни экспрессии SEAP в соответствии с процедурой, изложенной выше в примере 2. Данные эксперимента приведены в следующей таблице 47, где среднее значение SEAP отражает нормализованное среднее значение уровня экспрессии SEAP.

Таблица 47

Средние значения SEAP, нормализованные к уровню до лечения и при введении контрольного физиологического раствора у мышей MMP7-SEAP, описанные в примере 20.

Идентификатор группы ID	День 8		День 15	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,087	1,000	0,128
Группа 2 1,0 мг/кг AD09358	0,494	0,178	0,479	0,264
Группа 3 0,5 мг/кг AD09358	0,577	0,182	0,659	0,287
Группа 4 1,0 мг/кг AD10288	0,333	0,144	0,307	0,242
Группа 5 0,5 мг/кг AD10288	0,510	0,218	0,569	0,252
Группа 6 1,0 мг/кг AD10290	0,273	0,069	0,303	0,226
Группа 7 0,5 мг/кг AD10290	0,571	0,303	0,447	0,351
Группа 8 1,0 мг/кг AD09909	0,129	0,075	0,054	0,019
Группа 9 0,5 мг/кг AD09909	0,290	0,129	0,164	0,093

Идентификатор группы ID	День 22	
	Среднее значение SEAP	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор)	1,000	0,205
Группа 2 1,0 мг/кг AD09358	0,523	0,296
Группа 3 0,5 мг/кг AD09358	0,963	0,452
Группа 4 1,0 мг/кг AD10288	0,403	0,392
Группа 5 0,5 мг/кг AD10288	0,471	0,213
Группа 6 1,0 мг/кг AD10290	0,301	0,155
Группа 7 0,5 мг/кг AD10290	0,517	0,564
Группа 8 1,0 мг/кг AD09909	0,051	0,011
Группа 9 0,5 мг/кг AD09909	0,198	0,152

Каждый из агентов РНКи MMP7 в каждой из групп дозировки (т.е. в группах 2-9) продемонстрировал снижение уровня экспрессии SEAP по сравнению с контрольной группой, в которой вводили физиологический раствор (группа 1) во всех измеренных временных точках, как описано в данном контексте, что указывает на ингибирование MMP7 в мышечной модели MMP7-SEAP.

Пример 21

Ингаляционное аэрозольное введение *in vivo* РНКи агентов MMP7

10 яванским макакам

В день 1 исследования самцам яванских макак вводили однократную нанесенную дозу 1 мг/кг агентов РНКи MMP7 AC001514, AC001651 или AC001516 (информацию о структуре см. в таблицах 8, 6 и 3). Двенадцать анестезированных самцов приматов, не относящихся к человеку (NHP), подвергали воздействию либо изотонического физиологического раствора в виде аэрозоля (контрольный образец), либо AC001514, AC001516 или AC001651 (исследуемые образцы) с использованием системы эндотрахеальной ингаляционной доставки. Всем животным вводили однократную ингаляционную дозу. В этом исследовании аэрозоли, полученные с помощью небулайзеров Aeroneb Solo, доставляли с помощью вентиляционного гарвардского насоса.

Продолжительность воздействия в каждом из этих исследований составляла 8 мин. Воздействие дозы *in vivo* оценивали с помощью сбора аэрозоля на фильтре на конце эндотрахеальной трубки при проведении отдельного исследования *in vitro*. До и после каждого воздействия *in vivo* проводили по одному
5 исследованию с использованием фильтра. Фильтры анализировали гравиметрическим и химическим методами. Для химического анализа фильтров использовали УФ-спектрометрический метод с помощью устройства SpectraMax i3x с целью определения количества исследуемого образца, введенного в ходе воздействия.

10 Средние нанесенные дозы контрольного физиологического раствора, а также дозы AC001514, AC001516 и AC001651 составляли 0,0, 1,04, 1,12 и 1,21 мг/кг соответственно. Нанесенные дозы-мишени для каждого из трех исследуемых образцов в этом исследовании составляли 1,0 мг/кг. Агент РНКи ММР7 конъюгировали с трехдентатным низкомолекулярным $\alpha\upsilon\beta 6$,
15 направленным на эпителиальные клетки (Tri-SM6.1, см. таблицу 11) на 5'-конце смысловой цепи, приготовленной в изотоническом растворе. Группы дозировки представлены ниже.

Таблица 48

Агент РНКи ММР7 и дозировка, описанная в примере 21.

Идентификатор группы ID	Номер AC дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	Не тестировали
Группа 2 (1,0 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09667)	AC001514
Группа 3 (1,0 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09887)	AC001651
Группа 4 (1,0 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\upsilon\beta 6$ -AD09669)	AC001516

20 Трем (3) обезьянам в каждой группе вводили дозу. Бронхоальвеолярный лаваж (БАЛ) и эндобронхиальные смывы собирали в начале исследования и через две недели после однократного ингаляционного воздействия. Всех животных подвергали эвтаназии сразу после отбора образцов крови и БАЛ для
25 сбора исследуемой ткани. Обезьян умерщвляли на день 15 исследования, и общую РНК выделяли из образцов легких после отбора и гомогенизации.

Данные в таблице 49 указывают на экспрессию мРНК, взятую из правой краниальной доли, правой средней доли и правой хвостовой доли. Экспрессию мРНК MMP7 у яванских макак количественно оценивали с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормализовали по экспрессии ARL1 у яванских макак и выражали как долю контрольной группы, в которой вводили носитель (среднее геометрическое, +/- 95% доверительный интервал).

Таблица 49

Средняя относительная экспрессия мРНК MMP7 у яванского макака после умерщвления, описанная в примере 21.

Правая краниальная доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)
Группа 1 (изотопический раствор)	1,000	0,354	0,547	1,000	0,438	0,780	1,000	0,412	0,699
Группа 2 (1,0 мг/кг АС001514)	0,778	0,379	0,740	0,264	0,180	0,562	0,412	0,161	0,265
Группа 3 (1,0 мг/кг АС001651)	0,115	0,049	0,085	0,202	0,093	0,173	0,461	0,278	0,703
Группа 4 (1,0 мг/кг АС001516)	0,181	0,098	0,215	0,173	0,112	0,321	0,466	0,294	0,796
Правая средняя доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)
Группа 1 (изотопический раствор)	1,000	0,227	0,293	1,000	0,466	0,874	1,000	0,366	0,577
Группа 2 (1,0 мг/кг АС001514)	0,537	0,081	0,096	0,362	0,172	0,328	0,548	0,163	0,231

Группа 3 (1,0 мг/кг АС00165 1)	0,358	0,078	0,099	0,071	0,016	0,020	0,188	0,053	0,074
Группа 4 (1,0 мг/кг АС00151 6)	0,265	0,158	0,392	0,574	0,288	0,579	0,682	0,372	0,817
Правая хвостовая доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Сред- нее	Низкое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низкое (ошиб- ка)	Вы- сокое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низкое (ошиб- ка)	Вы- сокое (ошиб- ка)
Группа 1 (изото- ничес- кий раствор)	1,000	0,459	0,848	1,000	0,425	0,739	1,000	0,359	0,561
Группа 2 (1,0 мг/кг АС00151 4)	1,180	0,184	0,219	0,565	0,043	0,047	0,583	0,136	0,177
Группа 3 (1,0 мг/кг АС00165 1)	0,259	0,081	0,118	0,137	0,071	0,147	0,149	0,044	0,062
Группа 4 (1,0 мг/кг АС00151 6)	0,580	0,347	0,863	0,843	0,358	0,622	0,664	0,416	1,111

Приведенные выше в таблице 49 данные свидетельствуют о том, что агенты РНКи АС001514, АС001651 и АС001516 в значительной степени ингибируют в различных областях и зонах легкого, демонстрируя способность надежно подавлять экспрессию ММР7 у приматов, не относящихся к человеку.

Экспрессию белка ММР7 у яванских макаков в тканях легких и БАЛ количественно измеряли с помощью вестерн-блоттинга с использованием системы визуализации iBright (от фирмы ThermoFisher), как указано в следующей таблице 50.

Таблица 50

Средняя относительная экспрессия белка MMP7 яванского макака после умерщвления, описанная в примере 21.

Идентификатор группы ID	Экспрессия белка MMP7 в легочной ткани (правая добавочная доля)		Экспрессия белка MMP7 в БАЛ	
	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (изотонический раствор)	1,00	0,519	1,00	0,613
Группа 2 (1,0 мг/кг AC001514)	Не тестировали		Не тестировали	
Группа 3 (1,0 мг/кг AC001651)	0,181	0,031	0,171	0,145
Группа 4 (1,0 мг/кг AC001516)	Не тестировали		Не тестировали	

5 Данные, приведенные выше в таблице 50, свидетельствуют о том, что агент РНКи AC001651 подавляет экспрессию MMP7, демонстрируя снижение экспрессии белка более чем на 80% как в тканях легких, так и в БАЛ у приматов, не относящихся к человеку.

Пример 22

10 Мышиная модель AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs AAV

 Для оценки агентов РНКи MMP7 на мышинной модели AAV использовали следующую процедуру. С целью оценки некоторых агентов РНКи MMP7 использовали мышиную модель AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs (аденоассоциированный вирус). Трансгенная последовательность включала кодировующую последовательность CDS MMP7 человека с 3'UTR. Самкам мышей C57BL/6 в возрасте от шести до восьми недель трансдуцировали MMP7 человека с использованием модели AAV, серотип 6.2FF. Мышам проводили внутритрахеальное введение по меньшей мере за 10 дней до многократного внутритрахеального введения агентов РНКи MMP7 или контроля. Использовали два типа AAV: AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTR и AAV6.2FF-CAG-eGFP. Геном конструктора AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs содержал участок 17-1119 последовательности кДНК MMP7 человека (из коллекции GenBank, номер

15

20

NM_002423.5). AAV6.2FF-CAG-eGFP вводили совместно с AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs. eGFP использовали в качестве эндогенного контроля для нормирования экспрессии мРНК MMP7 человека с помощью количественной ПЦР. От 10^2 до 10^4 копий генома (GC) соответствующего вируса, смешанных в PBS в общем объеме 50 мкл, вводили интратрахеально (ИТ) мышам с целью создания мышинной модели AAV-hMMP7. Ткани легкого и жидкость бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) собирали через 2-3 недели после введения агентов РНКи.

Уровень экспрессии мРНК и белка MMP7 человека измеряли в тканях легких с помощью количественной ПЦР и вестерн-блоттинга. Экспрессию белка MMP7 человека в жидкости бронхоальвеолярного лаважа (ЖБАЛ) измеряли с помощью иммуноферментного анализа.

В день 1 и день 3 каждой мыши интратрахеально (ИТ) вводили 50 мкл растворов AAV, содержащих 1 GC (копию генома) AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2 GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs в буферном растворе PBS или в контрольном носителе (PBS). В дни 13, 15 и 17 каждой мыши интратрахеально вводили 50 мкл различных доз агентов РНКи MMP7, приготовленных в изотоническом солевом растворе или контрольный носитель (изотонический солевой раствор без агента РНКи), согласно следующей таблице 51.

Таблица 51

Положения-мишени и группы дозировки, описанные в примере 22.

Группа	Положение-мишень гена MMP7 (внутри последовательности SEQ ID NO: 1, из коллекции GenBank NM_002423.5)	Доза AAV	Агент РНКи и доза	Схема введения дозы
1	Не тестировали	PBS	Физиологический раствор (без агента РНКи)	Множественные ИТ дозы PBS в дни 1, 3; множественные ИТ дозы физиологического раствора в дни 13, 15, 17
2	Не тестировали	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	Физиологический раствор (без агента РНКи)	Множественные ИТ дозы AAV в дни 1, 3; множественные ИТ дозы физиологического раствора в дни 13, 15, 17

Группа	Положение-мишень гена MMP7 (внутри последовательности SEQ ID NO: 1, из коллекции GenBank NM_002423.5)	Доза AAV	Агент РНКи и доза	Схема введения дозы
3	971	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	3 мг/кг AC001651	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы агента РНКи в дни 13, 15, 17
4	971	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	1,5 мг/кг AC001651	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы физиологического раствора в дни 13, 15, 17
5	971	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	0,75 мг/кг AC001651	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы агента РНКи в дни 13, 15, 17
6	735	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	3 мг/кг AC002023	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы агента РНКи в дни 13, 15, 17
7	735	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	1,5 мг/кг AC002023	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы агента РНКи в дни 13, 15, 17
8	735	1GC AAV6.2FF-CAG-eGFP и 2GC AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs	0,75 мг/кг AC002023	Многократные ВТ дозы AAV в дни 1, 3; многократные ВТ дозы агента РНКи в дни 13, 15, 17

Каждый из агентов РНКи MMP7 включал модифицированные нуклеотиды, которые были конъюгированы на 5'-конце смысловой цепи с лигандом, направленным на интегрин $\alpha\text{v}\beta\text{6}$, включающим модифицированные последовательности, как это описано в дуплексных структурах в данном контексте. (См. таблицы 3, 4, 5, 6, 7А, 7Б, 8, 9, 10 и 11 для получения информации о конкретных модификациях и структуре, относящейся к агентам РНКи MMP7, включающих Tri-SM6.1- $\alpha\text{v}\beta\text{6}$.) Каждый из агентов РНКи MMP7 в

группах 3-8 включал нуклеотидные последовательности, которые были сконструированы для подавления экспрессии гена MMP7 для направления на определенные положения в мРНК MMP7, как указано выше в таблице 50. (См., например, последовательность SEQ ID NO:1 и таблицу 2 с указанной последовательностью мРНК MMP7.)

5 Исследовали четырех (4) мышей в каждой группе (n=4). Уровни экспрессии MMP7 определяли в соответствии с процедурой, изложенной выше. Ответную реакцию на дозу агента AC001516 РНКи MMP7 наблюдали на мышинной модели AAV6.2FF-CAG-hMMP7.UTRs. Данные эксперимента указаны в следующей

10 таблице 52.

Таблица 52

Среднее значение уровня экспрессии MMP7, нормализованное к контрольному исследованию, у мышей AAV-hMMP7, описанного в примере 22.

Идентификатор группы ID	День 31 мРНК легочной ткани		День 31 Белок из ЖБАЛ		День 31 Белок легочной ткани	
	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (физиологический раствор - носитель)	Не тестировали		Не тестировали		Не тестировали	
Группа 2 (физиологический раствор - носитель)	1,00	0,266	1,000	0,217	1,00	0,563
Группа 3 (3 мг/кг AC001651)	0,319	0,159	0,174	0,061	0,358	0,077
Группа 4 (1,5 мг/кг AC001651)	0,424	0,126	0,224	0,020	0,404	0,048
Группа 5 (0,75 мг/кг AC001651)	0,606	0,105	0,440	0,155	0,524	0,083
Группа 6 (3 мг/кг AC002023)	0,945	0,216	0,866	0,249	0,780	0,195
Группа 7 (1,5 мг/кг AC002023)	1,100	0,119	1,046	0,734	Не тестировали	
Группа 8 (0,75 мг/кг AC002023)	1,100	0,186	0,753	0,364	Не тестировали	

Как указано выше в таблице 52, агент РНКи в группе 3 (положение-мишень 971) был активен и демонстрировал снижение уровня содержания мРНК на день 31 приблизительно на 68% (0,159) в тканях легких, снижение уровня секретируемого белка ММР7 человека на 83% и снижение уровня белка ММР7 человека на 64% в тканях легких.

Пример 23

Исследования для доказательства эффективности концепции с использованием специфичного для грызунов агента РНКи ММР7 на модели повреждения, вызванного блеомицином у крыс

Было продемонстрировано, что мыши с нокаутом ММР7 защищены от повреждения легких, опосредованного блеомицином (см. статью Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 99:6292–6297 (2002)). Для оценки агентов РНКи ММР7 проводили несколько исследований с целью доказательства эффективности концепции с использованием специфичного для грызунов агента РНКи ММР7 в модели повреждения, вызванного блеомицином у крыс. Оценивали экспрессию ММР7 на модели повреждения блеомицином у мышей, и было установлено, что уровни экспрессии мРНК ММР7 не повышаются в тканях легких после повреждения, вызванного блеомицином. Кроме того, экспрессия ММР7 временно увеличивалась в тканях легких крыс после повреждения, вызванного блеомицином. Уровень экспрессии ММР7 достигл максимума через 7-10 дней после повреждения, вызванного блеомицином, и снижался до исходного уровня в течение 4-недельного периода после повреждения.

Один агент РНКи, специфичный для крыс, был выбран после скрининга и оптимизации в модели повреждения, вызванного блеомицином у крыс. Блеомицин использовали для индуцирования повреждения у крыс. После повреждения агент РНКи вводили крысам с помощью однократной ингаляции в дозе 1,4 мг/кг или многократных внутритрахеальных доз по 3,0 мг/кг. Через 2–4 недели после повреждения, вызванного блеомицином, агент РНКи достигал сайленсинга на уровне 60–90% подавления гена ММР7. Сайленсинг ММР7 в легких значительно ослаблял повреждение легких на модели блеомицина у крыс, снижая показатели легочного фиброза по гистологии Эшкрофта, уменьшая отложение коллагена, снижая воспалительную ответную реакцию с уменьшением количества эозинофилов и нейтрофилов в лаваже, снижая

экспрессию транслируемых фиброзных генов, включая *Colla2*, *Col5a1*, *Grem1*, *Cthrc1*, *Muc16*. Кроме того, сайленсинг ММР7 значительно улучшал функцию легких благодаря повышению функциональной податливости легких, сохранению содержания кислорода в крови, меньшей потери массы тела и снижению смертности. Сайленсинг ММР7 с использованием специфичного для грызунов агента РНКи эффективно защищает легкие от развития фиброза на модели внутритрахеального повреждения блеомицином у крыс.

Пример 24

10 Пассивное поглощение агентов РНКи ММР7 в прецизионных срезах легких (PCLS) человека

Прецизионные срезы ткани (PCLS) являются моделью *ex vivo* и инструментом для изучения структуры и функции легких в их естественной трехмерной среде, позволяющими исследовать естественные взаимодействия между клетками, молекулами и внеклеточным матриксом (ECM) *ex vivo*. (см. статью Alsafadi H.N. и др., *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* 62(6): 681-691 (2020)). PCLS можно получать из различных анатомических участков легких (дистальных и проксимальных) и у разных видов, включая грызунов, свиней, обезьян и людей. Однако эффективность пассивного поглощения агентов РНКи в PCLS человека до сих пор не выяснена. Чтобы обосновать эффективность использования агента РНКи для сайленсинга мРНК человеческой ММР7, в исследовании использовали свежие срезы легких с внедренной агарозой от здоровых доноров-людей.

Физиологический раствор или агенты РНКи ММР7 добавляли в клеточную среду с ежедневной заменой среды. PCLS культивировали в среде в период день 1 - день 7 и собирали в день 8. Экспрессию мРНК ММР7 и потенциальную функцию генов-не-мишеней *MAP3K9*, *MTF2*, *NUP107* определяли количественно с помощью количественной ПЦР, нормализованной с помощью внутреннего контроля *PP1A* (пептидилпропилизомераза А). Наблюдали эффективное пассивное поглощение агентов РНКи ММР7. Наблюдали также незначительные эффекты не-мишени. Агент РНКи ММР7 вводили согласно следующей таблице 53. Данные эксперимента с использованием количественной ПЦР представлены в следующей таблице 54.

В исследуемых группах 11 и 12 вводили по 1 мкМ АС002026. АС002026 является дуплексом агента РНКи с теми же модифицированными последовательностями антисмысловой и смысловой цепи, что и у АС001514.

Однако смысловая цепь АС002026 была конъюгирована с неактивным энантиомером лиганда, направленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$. Из-за различия в стереохимическом строении этот химически модифицированный аналог лиганда, направленного на интегрин $\alpha\upsilon\beta6$, не способен эффективно связываться с интегрином $\alpha\upsilon\beta6$ и, следовательно, не способен эффективно поддерживать поглощение клетками агента РНКи АС002026.

10 Таблица 53

Группы дозировки и схемы введения дозы агентов РНКи ММР7, описанные в примере 24.

Идентификатор группы ID	Схема введения дозы
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 2 АС001514 1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 3 АС001514 0,3 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 4 АС001514 0,1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 5 АС001651 1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 6 АС001651 0,3 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 7 АС001651 0,1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 8 АС002023 1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 9 АС002023 0,3 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 10 АС002023 0,1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 11 АС002026 1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.
Группа 12 АС002026 1 мкМ	Ежедневное введение в клеточную среду в течение 7 дней.

Таблица 54

Экспрессия мРНК, нормированная по внутреннему контролю РР1А человека, в PCLS человека, описанная в примере 24.

ИД группы	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MTF2	Станд. откл. (+/-)	Средн. MAP3K9	Станд. откл. (+/-)	Средн. NUP107	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (изотонический солевой раствор)	1,000	0,698	1,000	0,288	1,000	0,252	1,000	0,479
Группа 2 AC001514 1 мкМ	0,414	1,132	1,196	0,610	1,394	0,631	0,904	0,779
Группа 3 AC001514 0,3 мкМ	0,616	0,960	1,003	0,569	1,091	0,655	0,637	0,579
Группа 4 AC001514 0,1 мкМ	0,470	0,509	0,680	1,065	0,847	0,489	0,466	1,327
Группа 5 AC001651 1 мкМ	0,104	0,736	0,917	0,543	0,755	0,335	0,483	1,143
Группа 6 AC001651 0,3 мкМ	0,102	0,284	1,575	0,492	1,221	0,867	0,675	0,633
Группа 7 AC001651 0,1 мкМ	0,184	0,900	1,125	0,477	1,228	0,183	0,507	0,610
Группа 8 AC002023 1 мкМ	0,769	1,522	0,888	0,703	1,500	0,417	0,601	0,589
Группа 9 AC002023 0,3 мкМ	0,760	0,566	0,727	0,734	0,983	0,286	0,563	0,740
Группа 10 AC002023 0,1 мкМ	0,651	0,961	0,918	0,408	1,565	0,505	0,606	0,473
Группа 11 AC002026 1 мкМ	0,702	0,706	0,544	0,446	0,972	0,473	0,376	0,789
Группа 12 AC002026 1 мкМ	0,603	1,081	0,863	0,757	0,972	0,472	0,713	1,106

Наблюдали пассивное поглощение агентов РНКи ММР7. Как указано выше в таблице 54, поглощение агента РНКи ММР7 приводило к сайленсингу ММР7 на 82-90% при обработке наиболее сильнодействующим агентом РНКи АС001651. Этот результат оценки эффективности характеризуется близким порядком значений, что и в исследованиях с использованием модели SEAP *in vivo*.

Одновременно наблюдали незначительное количество эффектов немишеней. Агенты РНКи при введении дозы вызывали лишь несущественные цитотоксические эффекты даже при самой высокой концентрации дозировки. Такую цитотоксичность и жизнеспособность клеток продемонстрировали с помощью колориметрического анализа с использованием красителя МТТ в отношении клеточной метаболической и митохондриальной активности. Анализ с использованием МТТ свидетельствовал о том, что агент РНКи ММР7 характеризуется оптической плотностью (ОП), сравнимой с ОП контрольного образца через 168 ч после введения дозы, как указано на фиг. 3.

Пример 25

Ингаляционное аэрозольное введение агентов РНКи ММР7 *in vivo* яванским макакам

В день 1 исследования самцам яванских макак вводили однократную нанесенную дозу 0,24 мг/кг, 0,66 мг/кг, 1,10 мг/кг или 1,71 мг/кг агента РНКи ММР7 АС001651 (см. таблицы 8, 6 и 3 для получения информации о структуре) или изотонический солевой раствор. Трех (3) животных в каждой группе (n=3), анестезированных самцов приматов, не относящихся к человеку (NHP), подвергали воздействию либо аэрозольного изотонического солевого раствора (контрольный образец), либо АС001651 (исследуемые образцы) с помощью ингаляции с использованием системы ингаляционного воздействия с лицевой маской в день 1. В этом исследовании аэрозоли получали с помощью струйного распылителя сжатого воздуха Hudson Updraft II и вводили животным при ингаляции с использованием лицевой маски. Концентрацию в тестируемой атмосфере определяли с помощью гравиметрического анализа образцов фильтров (волоконно-пленочные фильтры GF/A, 47 мм, 0,5 мкм), отобранных при каждом воздействии при установленном расходе. После отбора фильтры извлекали из держателей фильтров и взвешивали. Дополнительно содержимое

фильтров подвергали химическому анализу, измеряя оптическую плотность на спектрофотометре SpectraMax i3x. Образцы лекарственных составов AC001651 анализировали для определения концентрации при анализе фильтров.

Нанесенные дозы-мишени для каждого из трех исследуемых образцов в этом эксперименте составляли 0,25 мг/кг, 0,5 мг/кг, 1,0 мг/кг и 2,0 мг/кг соответственно. Средние нанесенные дозы контрольного физиологического раствора и AC001651 составляли 0,0, 0,24, 0,66, 1,10 и 1,71 мг/кг соответственно. Агент РНКи ММР7 конъюгировали с трехдентатным низкомолекулярным $\alpha\nu\beta 6$, направленным на лиганды эпителиальных клеток (Tri-SM6.1, см. таблицу 11) на 5'-конце смысловой цепи, приготовленной в изотоническом физиологическом растворе. Группы дозировки представлены ниже.

Таблица 55

Агент РНКи ММР7 и дозировка, описанная в примере 25.

Идентификатор группы ID	Номер AC дуплекса
Группа 1 (изотонический раствор)	Не тестировали
Группа 2 (0,25 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\nu\beta 6$ -AD09887) (средняя легочная нанесенная доза PDD: 0,24 мг/кг)	AC001651
Группа 3 (0,5 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\nu\beta 6$ -AD09887) (средняя легочная нанесенная доза PDD: 0,66 мг/кг)	AC001651
Группа 4 (1,0 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\nu\beta 6$ -AD09887) (средняя легочная нанесенная доза PDD: 1,10 мг/кг)	AC001651
Группа 5 (2,0 мг/кг нанесенной дозы-мишени Tri-SM6.1- $\alpha\nu\beta 6$ -AD09887) (средняя легочная нанесенная доза PDD: 1,71 мг/кг)	AC001651

В каждой группе дозу вводили трем (3) обезьянам. Образцы жидкости бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ) собирали изначально в день 1 и через две недели после однократного ингаляционного воздействия в день 14. Всех животных подвергали эвтаназии сразу после забора крови и образцов БАЛ для получения исследуемой ткани, представляющей интерес. Обезьян умерщвляли на день 14 исследования, и суммарную РНК выделяли из образцов легких после отбора и гомогенизации. Данные в таблице 56 свидетельствуют об экспрессии мРНК, взятой из правой хвостовой доли, правой краниальной доли, правой средней доли и левой хвостовой доли. Экспрессию мРНК ММР7 яванского

макака количественно оценивали с помощью количественной ПЦР с использованием зонда, нормированной по экспрессии мРНК фермента GAPDH яванского макака и по показателям контрольной группы, в которой вводили носитель (среднее геометрическое, +/- геометрическое стандартное отклонение).

5 Таблица 56

Средняя относительная экспрессия мРНК MMP7 яванского макака после умерщвления, описанная в примере 25.

Правая хвостовая доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)
Группа 1 (изотопический раствор)	1,000	0,630	1,700	1,000	0,540	1,176	1,000	0,514	1,060
Группа 2 (0,24 мг/кг АС001651)	1,113	0,269	0,354	0,609	0,078	0,089	1,099	0,238	0,304
Группа 3 (0,66 мг/кг АС001651)	0,311	0,144	0,267	0,262	0,090	0,137	0,437	0,128	0,181
Группа 4 (1,10 мг/кг АС001651)	0,259	0,067	0,091	0,240	0,105	0,188	0,310	0,141	0,258
Группа 5 (1,71 мг/кг АС001651)	0,583	0,313	0,674	0,251	0,111	0,200	0,359	0,167	0,313
Правая краниальная доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)	Среднее	Низкое (ошибка)	Высокое (ошибка)
Группа 1 (изотопический раствор)	1,000	0,522	1,091	1,000	0,426	0,742	1,000	0,439	0,782
Группа 2 (0,24 мг/кг АС001651)	0,630	0,126	0,157	0,965	0,280	0,395	1,416	0,313	0,401
Группа 3 (0,66 мг/кг АС001651)	0,390	0,150	0,243	0,448	0,210	0,395	0,385	0,077	0,097
Группа 4 (1,10 мг/кг АС001651)	0,216	0,093	0,162	0,221	0,087	0,142	0,193	0,054	0,075

Группа 5 (1,71 мг/кг АС001651)	0,222	0,131	0,318	0,307	0,133	0,236	0,559	0,316	0,728
Правая средняя доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)
Группа 1 (изото- нический раствор)	1,000	0,572	1,336	1,000	0,425	0,741	1,000	0,443	0,796
Группа 2 (0,24 мг/кг АС001651)	1,011	0,127	0,146	0,544	0,095	0,114	0,349	0,138	0,227
Группа 3 (0,66 мг/кг АС001651)	0,337	0,107	0,157	0,301	0,066	0,084	0,217	0,033	0,039
Группа 4 (1,10 мг/кг АС001651)	0,339	0,131	0,214	0,207	0,099	0,190	0,143	0,072	0,146
Группа 5 (1,71 мг/кг АС001651)	0,236	0,118	0,238	0,224	0,096	0,169	0,265	0,097	0,154
Левая хвостовая доля									
	Прикорневая зона			Средняя зона			Периферическая зона		
	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)	Сред- нее	Низ- кое (ошиб- ка)	Высо- кое (ошиб- ка)
Группа 1 (изото- нический раствор)	1,000	0,579	1,376	1,000	0,504	1,014	1,000	0,461	0,856
Группа 2 (0,24 мг/кг АС001651)	1,460	0,162	0,182	1,208	0,150	0,171	0,996	0,280	0,390
Группа 3 (0,66 мг/кг АС001651)	0,464	0,205	0,366	0,438	0,131	0,186	0,513	0,269	0,564
Группа 4 (1,10 мг/кг АС001651)	0,252	0,119	0,226	0,355	0,182	0,373	0,222	0,101	0,186
Группа 5 (1,71 мг/кг АС001651)	0,400	0,190	0,363	0,366	0,154	0,265	0,364	0,164	0,298

Как следует из данных, приведенных выше в таблице 56, агент РНКи АС001651 характеризуется способностью к существенному ингибированию в

различных областях и долях легких, демонстрируя способность надежно подавлять экспрессию MMP7 у приматов, не относящихся к человеку.

5 Экспрессию белка MMP7 у яванских макак в тканях легких количественно оценивали с помощью вестерн-блоттинга с использованием системы визуализации iBright (от фирмы Thermo Fisher), как показано в следующей таблице 57.

Таблица 57

Средняя относительная экспрессия белка MMP7 у яванского макака после умерщвления по примеру 25.

Идентификатор группы ID	Экспрессия белка MMP7 в тканях легких (правая хвостовая доля)	
	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	0,772
Группа 2 (0,24 мг/кг PDD AC001651)	0,778	0,258
Группа 3 (0,66 мг/кг PDD AC001651)	0,394	0,166
Группа 4 (1,10 мг/кг PDD AC001651)	0,309	0,160
Группа 5 (1,71 мг/кг PDD AC001651)	0,399	0,206

10

Как следует из данных, приведенных выше в таблице 57, агент РНКи AC001651 подавлял экспрессию MMP7, демонстрируя снижение экспрессии белка в среднем на ~69% при нанесенной дозе 1,10 мг/кг в тканях легких у приматов, не относящихся к человеку. PDD = легочная осаждаемая доза.

15 Экспрессию мРНК MMP7 в экзосомах БАЛ у яванских макак, которым вводили однократные нанесенные дозы PDD 0,24 мг/кг, 0,66 мг/кг, 1,10 мг/кг или 1,71 мг/кг агента РНКи AC001651, определяли количественно с помощью количественной ПЦР. Данные нормализованы к исходному состоянию в день 7, к GAPDH и контрольной группе, в которой вводили носитель (среднее геометрическое (GMEAN) +/- со стандартным геометрическим отклонением).
20 Данные представлены ниже в таблице 58.

Таблица 58

Экспрессия мРНК MMP7 в экзосомах БАЛ по сравнению с GAPDH.

Идентификатор группы ID	Исходное состояние (День 7)		День 14	
	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	1,045	2,071	0,717
Группа 2 (0,24 мг/кг PDD AC001651)	1,000	1,416	1,252	1,110
Группа 3 (0,66 мг/кг PDD AC001651)	1,000	0,806	0,428	1,406
Группа 4 (1,10 мг/кг PDD AC001651)	1,000	0,407	0,358	0,779
Группа 5 (1,71 мг/кг PDD AC001651)	1,000	0,473	0,432	0,470

5 Как следует из данных, приведенных выше в таблице 58, агент РНКи AC001651 в значительной степени подавлял экспрессию MMP7, демонстрируя снижение уровня мРНК MMP7 в экзосомах БАЛ в среднем на ~64% при нанесенной дозе 1,10 мг/кг у приматов, не относящихся к человеку.

10 Экспрессию белка MMP7 у яванских макаков в БАЛ количественно оценивали с помощью вестерн-блоттинга с использованием системы визуализации iBright (от фирмы Thermo Fisher), как указано в следующей таблице 59.

Таблица 59

Экспрессия белка MMP7 в БАЛ.

ID группы	Исходное состояние (День 7)		День 14	
	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)	Средн. MMP7	Станд. откл. (+/-)
Группа 1 (изотонический раствор)	1,000	Не тестировали	0,933	0,698
Группа 2 (0,24 мг/кг PDD AC001651)	1,000	Не тестировали	0,617	0,020
Группа 3 (0,66 мг/кг PDD AC001651)	1,000	Не тестировали	0,218	0,161
Группа 4 (1,10 мг/кг PDD AC001651)	1,000	Не тестировали	0,593	0,552
Группа 5 (1,71 мг/кг PDD AC001651)	1,000	Не тестировали	0,299	0,131

Как следует из данных, приведенных выше в таблице 59, агент РНКи АС001651 в значительной степени подавлял экспрессию ММР7, демонстрируя снижение уровня экспрессии белка в БАЛ в среднем на ~78% при нанесенной дозе 0,66 мг/кг у приматов, не относящихся к человеку.

5 Другие варианты осуществления изобретения

Следует понимать, что хотя изобретение представлено с прилагаемым подробным описанием, предшествующее описание предназначено для иллюстрации и не ограничивает предмет изобретения, которое определяется объемом прилагаемой формулы изобретения. Другие аспекты, преимущества и модификации находятся в пределах объема следующей формулы изобретения.

10

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Агент РНКи для подавления экспрессии гена матричной металлопептидазы 7, включающий:

5 антисмысловую цепь, содержащую по меньшей мере 17 смежных нуклеотидов, отличающихся на 0 или 1 нуклеотид от любой из последовательностей, представленных в таблице 2 или таблице 3, и смысловую цепь, содержащую нуклеотидную последовательность, которая по меньшей мере частично комплементарна антисмысловой цепи.

10

2. Агент РНКи по п. 1, где антисмысловая цепь содержит нуклеотиды 2–18 любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 3.

15

3. Агент РНКи по п. 1 или п. 2, где смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность, состоящую по меньшей мере из 17 смежных нуклеотидов, отличающихся на 0 или 1 нуклеотид от любой из последовательностей, указанных в таблице 2 или таблице 4, и при этом смысловая цепь включает область, по меньшей мере на 85% комплементарную антисмысловой цепи по 17 смежным нуклеотидам.

20

4. Агент РНКи по любому из пунктов 1-3, где по меньшей мере один нуклеотид агента РНКи ММР7 является модифицированным нуклеотидом или включает модифицированную межнуклеозидную связь.

25

5. Агент РНКи по любому из пунктов 1-4, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

30

6. Агент РНКи по любому из пунктов 4-5, где модифицированный нуклеотид выбран из группы, состоящей из: 2'-О-метилнуклеотида, 2'-фторнуклеотида, 2'-дезоксинуклеотида, миметика 2',3'-секонуклеотида, защищенного нуклеотида, 2'-F-арабинонуклеотида, 2'-метоксиэтилнуклеотида, нуклеотида с удаленным азотистым основанием, рибита, инвертированного нуклеотида, инвертированного 2'-О-метилнуклеотида, инвертированного 2'-

дезоксинуклеотида, 2'-аминомодифицированного нуклеотида, 2'-алкиломодифицированного нуклеотида, морфолинонуклеотида, винилфосфонатсодержащего нуклеотида, циклопропилфосфонатсодержащего нуклеотида и 3'-О-метилнуклеотида.

5

7. Агент РНКи по п. 5, где все или в основном все нуклеотиды модифицированы 2'-О-метилнуклеотидами, 2'-фторнуклеотидами или их комбинациями.

10

8. Агент РНКи по любому из пунктов 1-7, где антисмысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3.

15

9. Агент РНКи по любому из пунктов 1-8, где смысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

20

10. Агент РНКи по п. 1, где антисмысловая цепь содержит любую нуклеотидную последовательность из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 3, а смысловая цепь содержит нуклеотидную последовательность любой из модифицированных последовательностей, указанных в таблице 4.

25

11. Агент РНКи по любому из пунктов 1-10, где длина смысловой цепи составляет от 18 до 30 нуклеотидов, а длина антисмысловой цепи составляет от 18 до 30 нуклеотидов.

30

12. Агент РНКи по пункту 11, где длина каждой смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет от 18 до 27 нуклеотидов.

13. Агент РНКи по п. 12, где длина каждой смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет от 18 до 24 нуклеотидов.

14. Агент РНКи по п. 13, где длина каждой смысловой цепи и антисмысловой цепи составляет 21 нуклеотид.

5 15. Агент РНКи по п. 14, где агент РНКи характеризуется наличием двух тупых концов.

16. Агент РНКи по любому из пунктов 1-15, где смысловая цепь содержит один или два концевых кэпа.

10 17. Агент РНКи по любому из пунктов 1-16, где смысловая цепь содержит один или два инвертированных остатка с удаленными азотистыми основаниями.

15 18. Агент РНКи по п. 1, где агент РНКи состоит из смысловой цепи и антисмысловой цепи, которые образуют дуплекс, характеризующийся структурой любого из дуплексов, указанных в таблице 7А, таблице 7Б, таблице 8, таблице 9 или таблице 10.

19. Агент РНКи по п. 18, где все или в основном все нуклеотиды представляют собой модифицированные нуклеотиды.

20 20. Агент РНКи по п. 1, содержащий антисмысловую цепь, которая состоит из, в основном состоит из нуклеотидной последовательности или содержит ее, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

25 AGACAUUCAAAAACCAACU (SEQ ID NO:175),
UUGACACUAAUCGAUCCAC (SEQ ID NO:123),
UGACAUUCAAAAACCAACU (SEQ ID NO:176),
AGACAUUCAAAAACCAACUGC (SEQ ID NO:674),
UUGACACUAAUCGAUCCACUG (SEQ ID NO:661) или
30 UGACAUUCAAAAACCAACUCGC (SEQ ID NO:679).

21. Агент РНКи по п. 20, где смысловая цепь состоит из, в основном состоит из нуклеотидной последовательности или содержит ее, которая

отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

AGUUGGUUUUUGAAUGUCU (SEQ ID NO:325),
GUGGAUCGAUUAGUGUCA (SEQ ID NO:273),
5 AGUUGGUUUUUGAAUGUCA (SEQ ID NO:326),
GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCU (SEQ ID NO:720),
CAGUGGAUCGAUUAGUGUCA (SEQ ID NO:724) или
GCAGUUGGUUUUUGAAUGUCA (SEQ ID NO:726).

10 22. Агент РНКи по пунктам 20 или 21, где все или в основном все нуклеотиды являются модифицированными нуклеотидами.

23. Агент РНКи по п. 1, содержащий антисмысловую цепь, которая состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности, или в основном
15 состоит из модифицированной нуклеотидной последовательности или содержит ее, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

asGfsascauucAfaaAfaCfcAfacugsc (SEQ ID NO:396),
usUfsgsacacUfaAfuCfgAfuCfcacusg (SEQ ID NO:393) или
20 cPrpuGfacauucAfaaAfaCfcAfacugsc (SEQ ID NO:406),

где а, с, g и u представляют собой 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-О-метилгуанозин и 2'-О-метилуридин соответственно, Af, Cf, Gf и Uf представляют собой 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и 2'-фторуридин соответственно, сPrpu представляет собой 5'-
25 циклопропилфосфонат-2'-О-метилуридин, s представляет собой фосфоротиоатную связь, и при этом все или в основном все нуклеотиды смысловой цепи являются модифицированными нуклеотидами.

24. Агент РНКи по п. 1, где смысловая цепь состоит из, в основном состоит
30 из модифицированной нуклеотидной последовательности или содержит ее, которая отличается на 0 или 1 нуклеотид от одной из следующих нуклеотидных последовательностей (5' → 3'):

gscaguuggUfuUfuUfgaaugucu (SEQ ID NO:522),

csaguggauCfGAfuUfaguguaa (SEQ ID NO:524),

gscaguuggUfuUfuUfgaaugua (SEQ ID NO:526),

где a, c, g, i и u представляют собой 2'-О-метиладенозин, 2'-О-метилцитидин, 2'-
О-метилгуанозин, 2'-О-метилюридин и 2'-О-метилцитидин соответственно, Af, Cf,
5 Gf и Uf представляют собой 2'-фтораденозин, 2'-фторцитидин, 2'-фторгуанозин и
2'-фторуридин соответственно и s представляет собой фосфоротиоатную связь,
где все или в основном все нуклеотиды антисмысловой цепи представляют
собой модифицированные нуклеотиды.

10 25. Агент РНКи по любому из пунктов 20-24, где смысловая цепь
дополнительно включает инвертированные остатки с удаленными азотистыми
основаниями на 3'-конце нуклеотидной последовательности, на 5'-конце
нуклеотидной последовательности или на обоих концах.

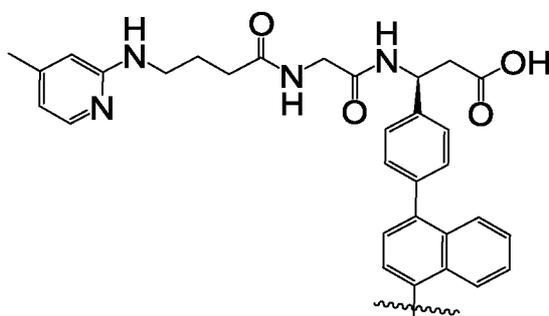
15 26. Агент РНКи по любому из пунктов 1-25, где агент РНКи присоединен к
направляющему лиганду.

27. Агент РНКи по п. 26, где направляющий лиганд характеризуется
средством к клеточному рецептору, экспрессируемому на эпителиальной клетке.

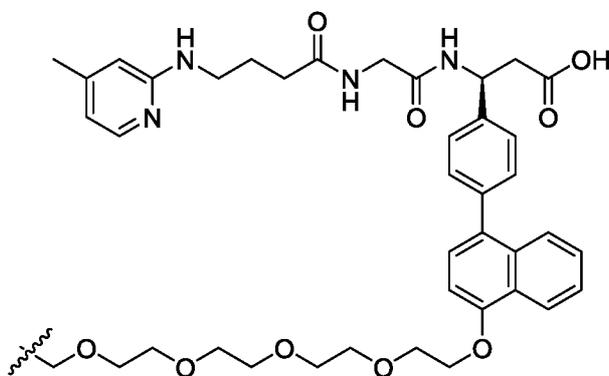
20 28. Агент РНКи по п. 27, где направляющий лиганд содержит лиганд,
направленный на интегрин.

29. Агент РНКи по п. 28, где лиганд, направляющий на интегрин, является
25 лигандом, направленным на интегрин $\alpha\beta 6$.

30. Агент РНКи по п. 29, где направляющий лиганд характеризуется структурой:

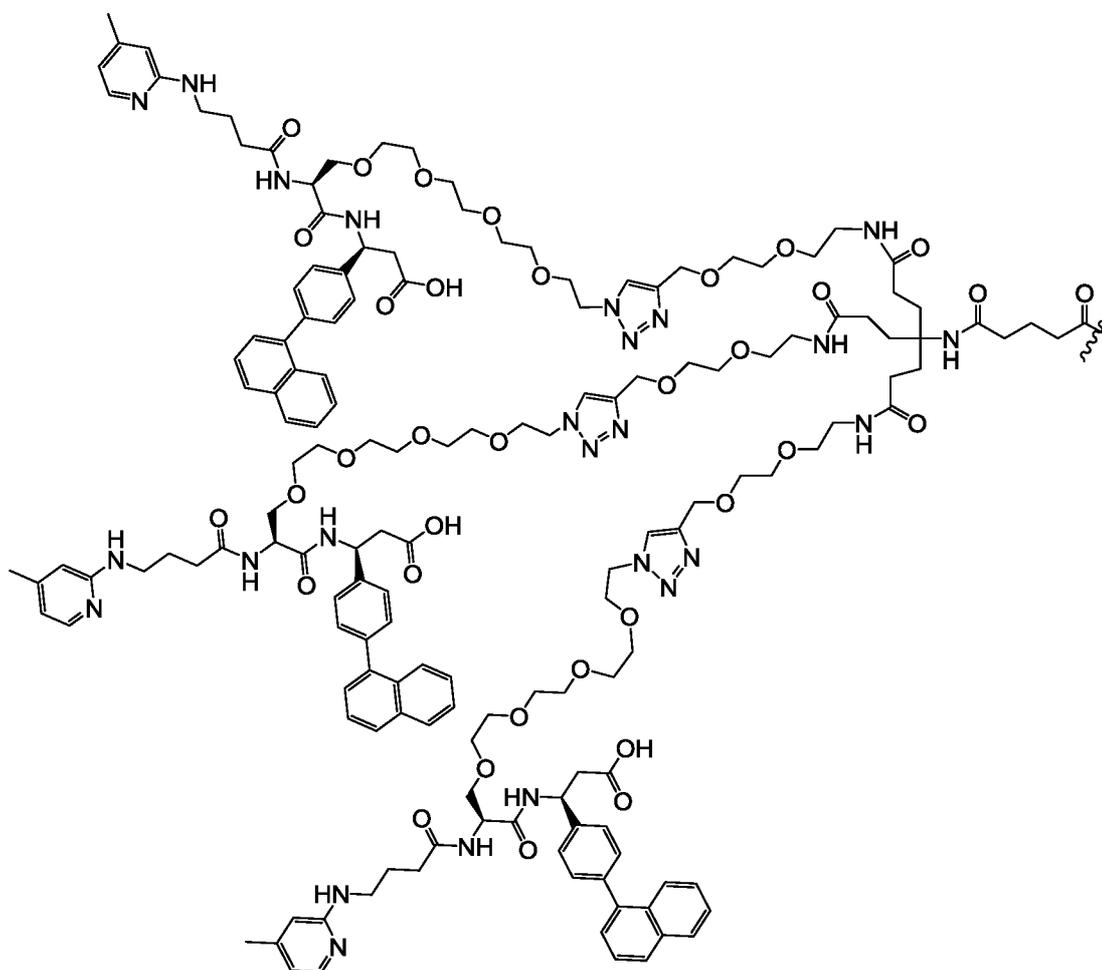


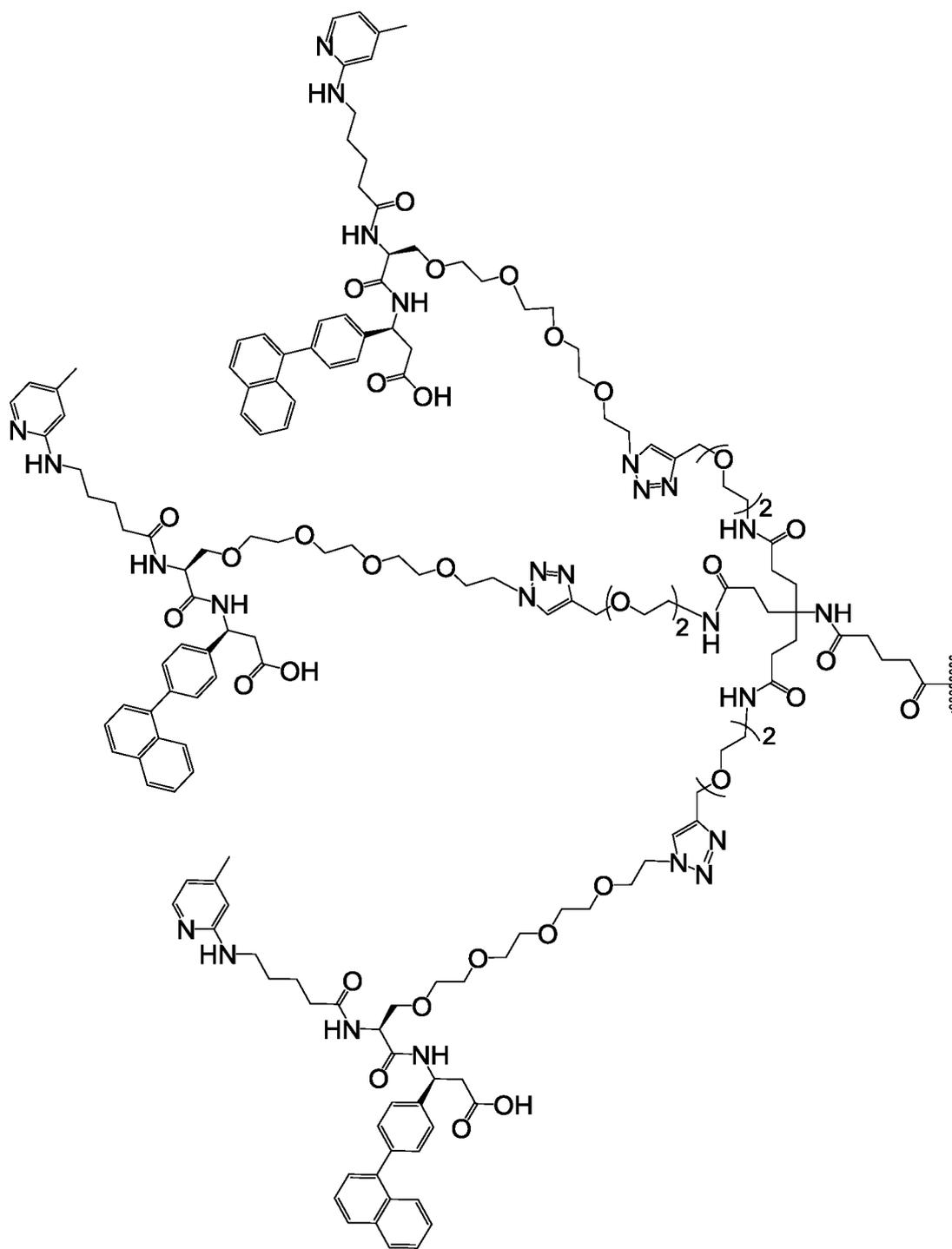
5 или его фармацевтически приемлемой солью или структурой

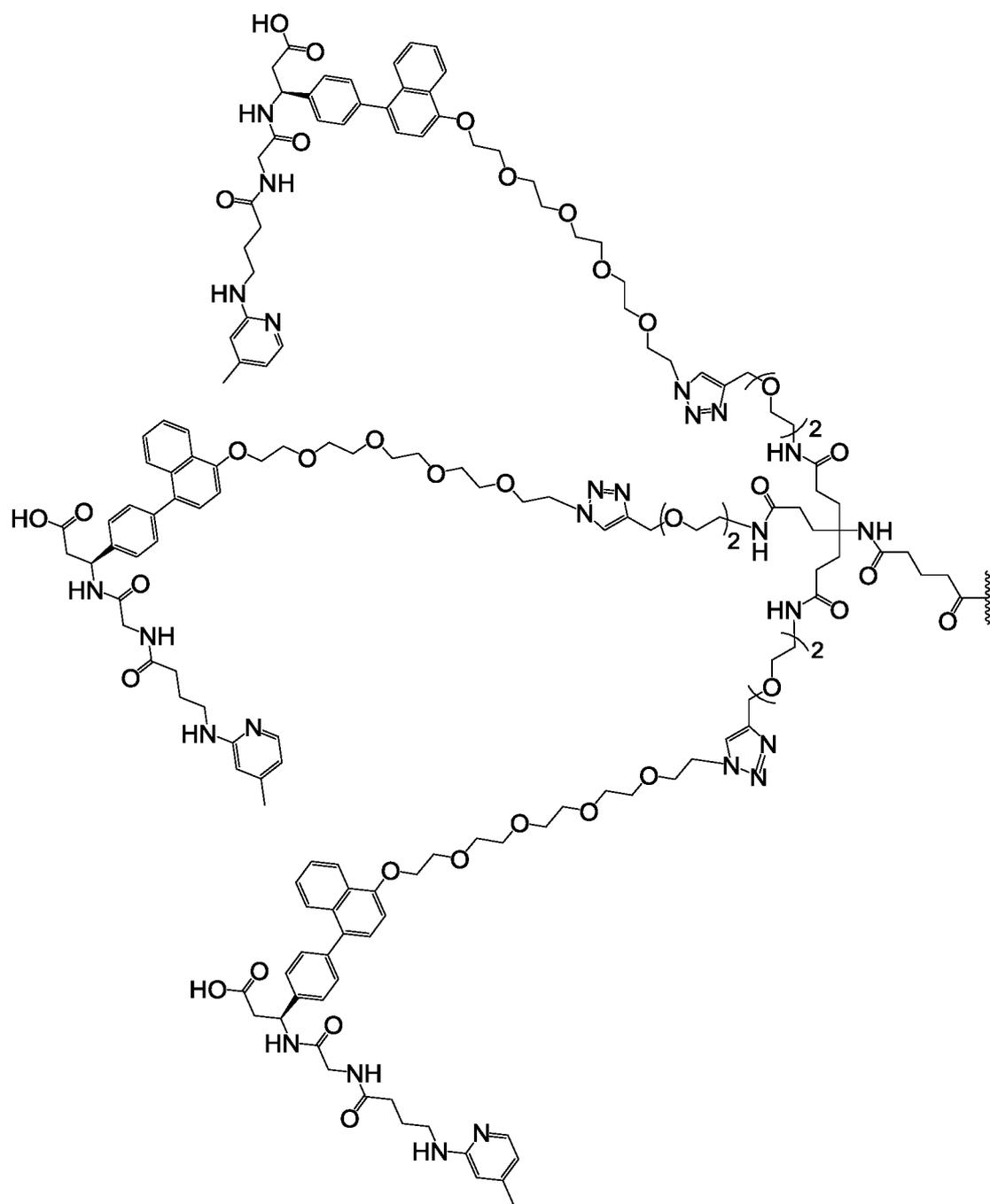


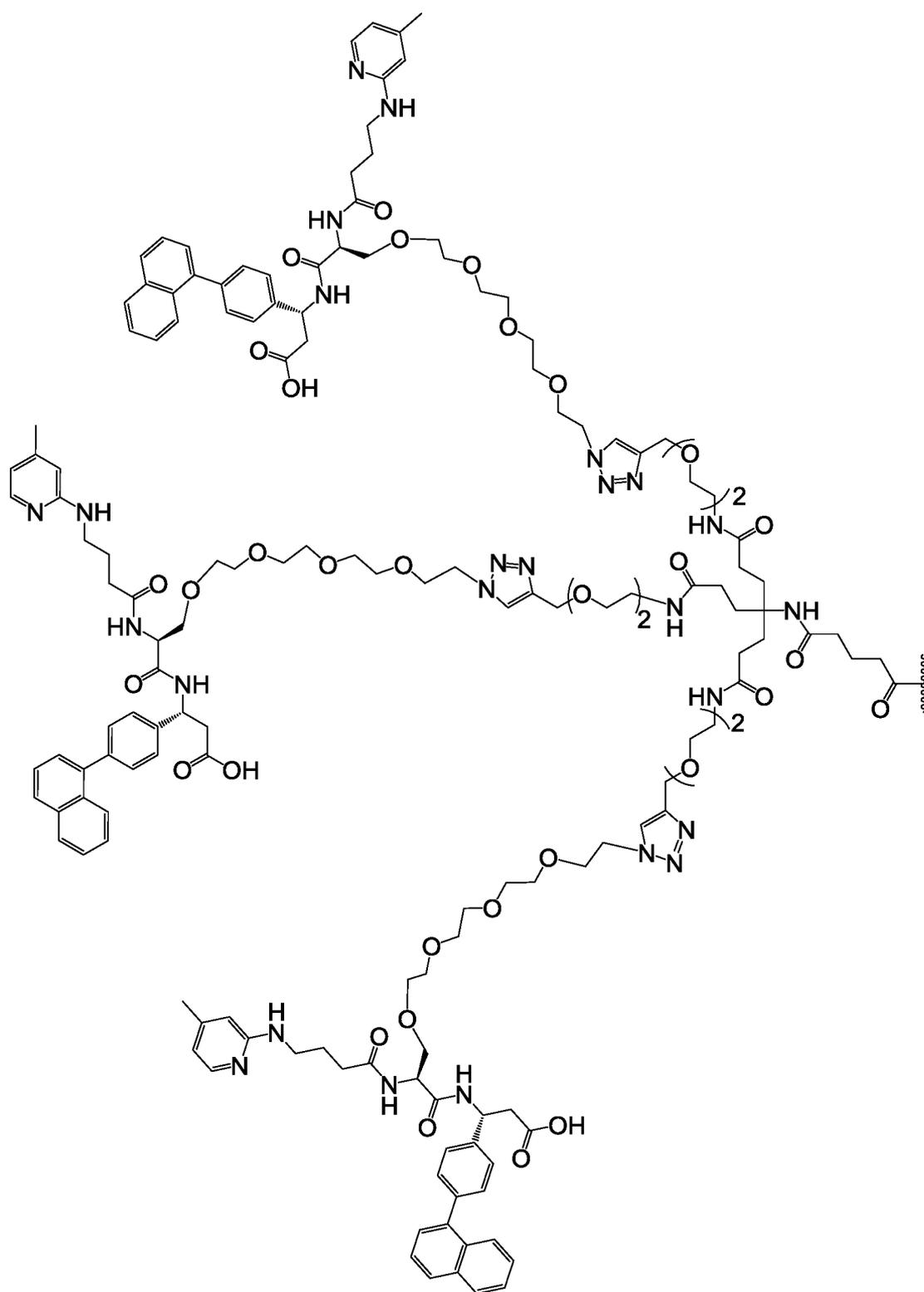
или его фармацевтически приемлемой солью, где символ  указывает на место присоединения к агенту РНКи.

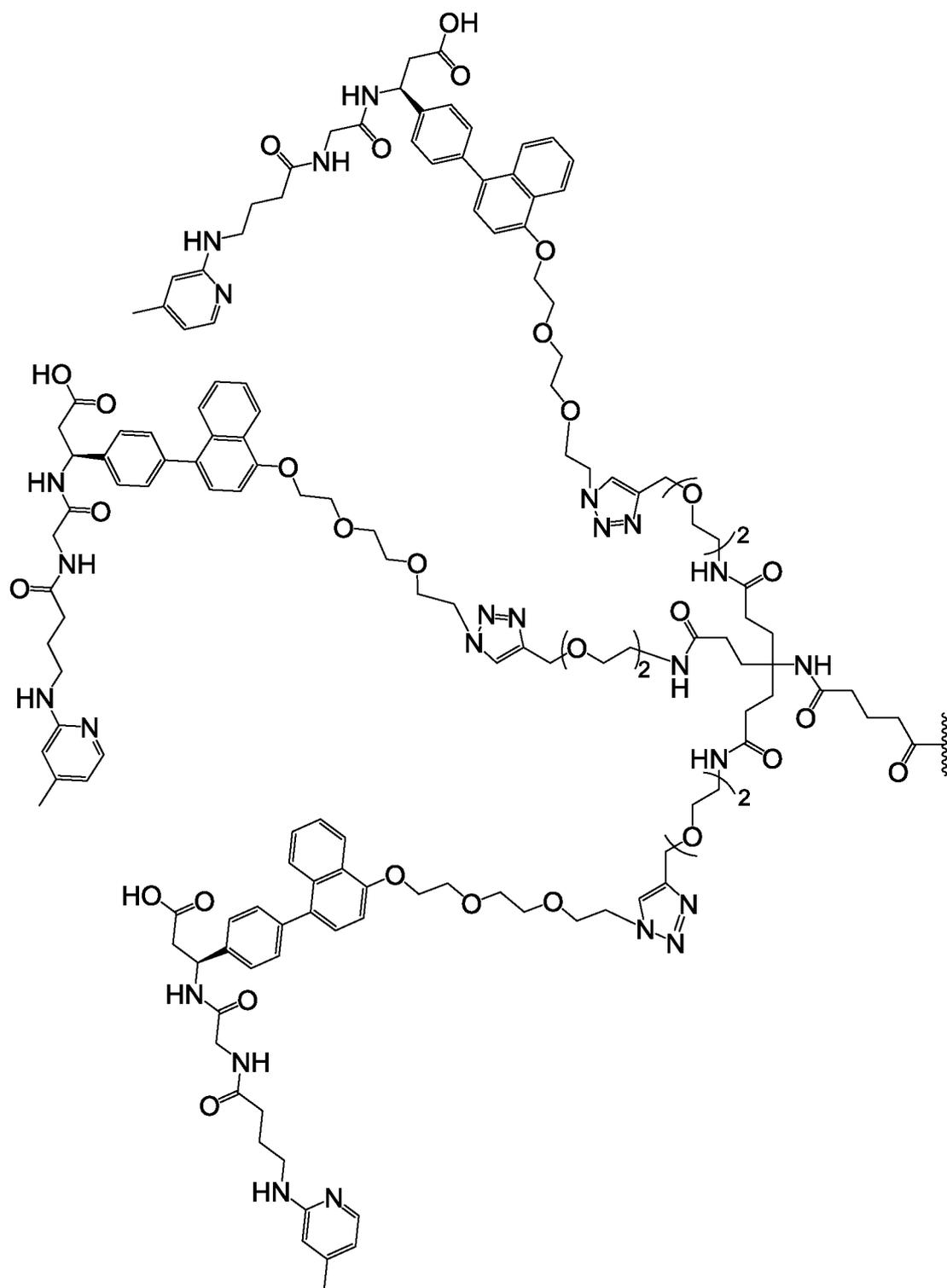
31. Агент РНКи по любому из пунктов 26-29, где направляющий лиганд характеризуется структурой, выбранной из группы, состоящей из:

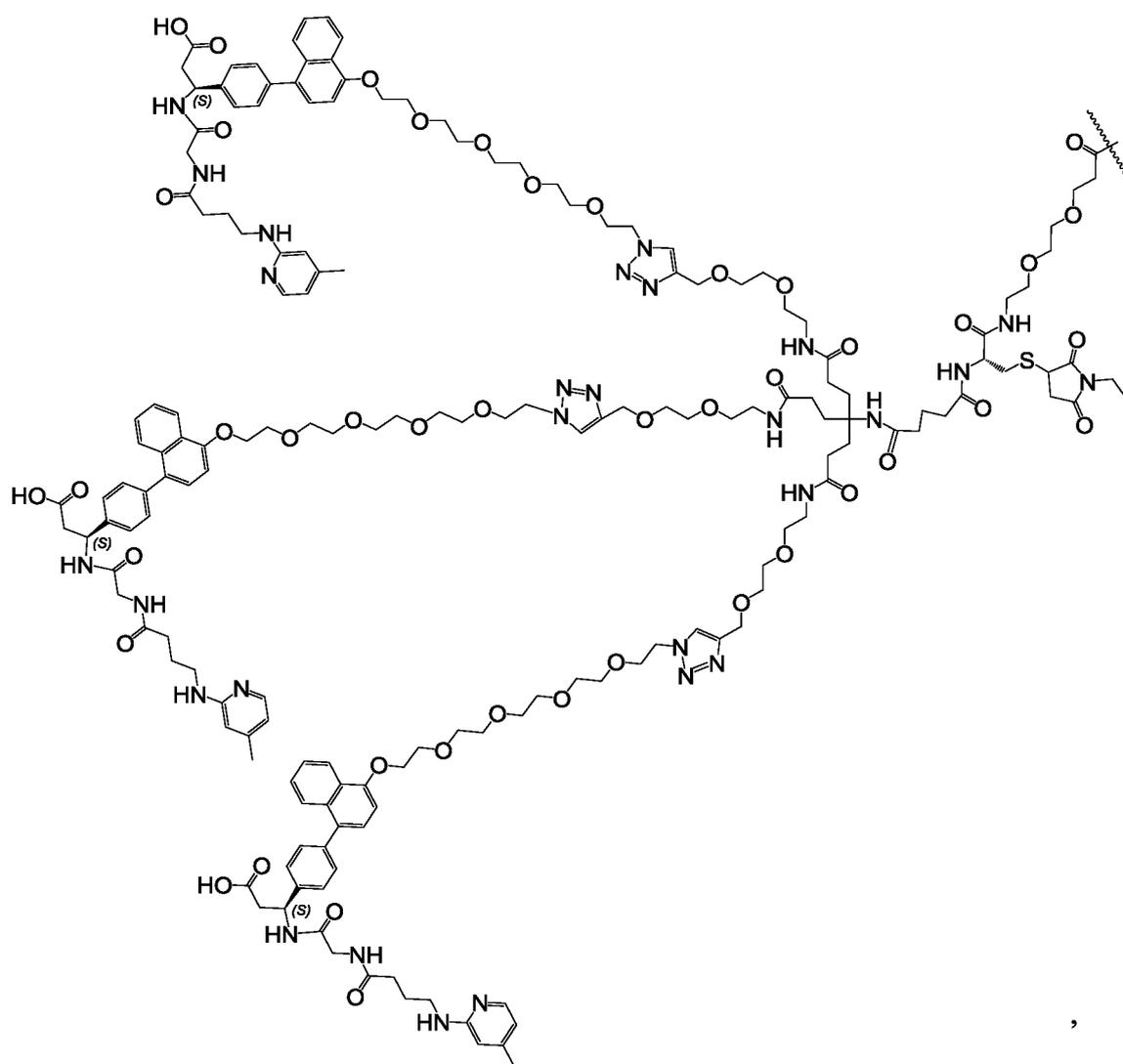


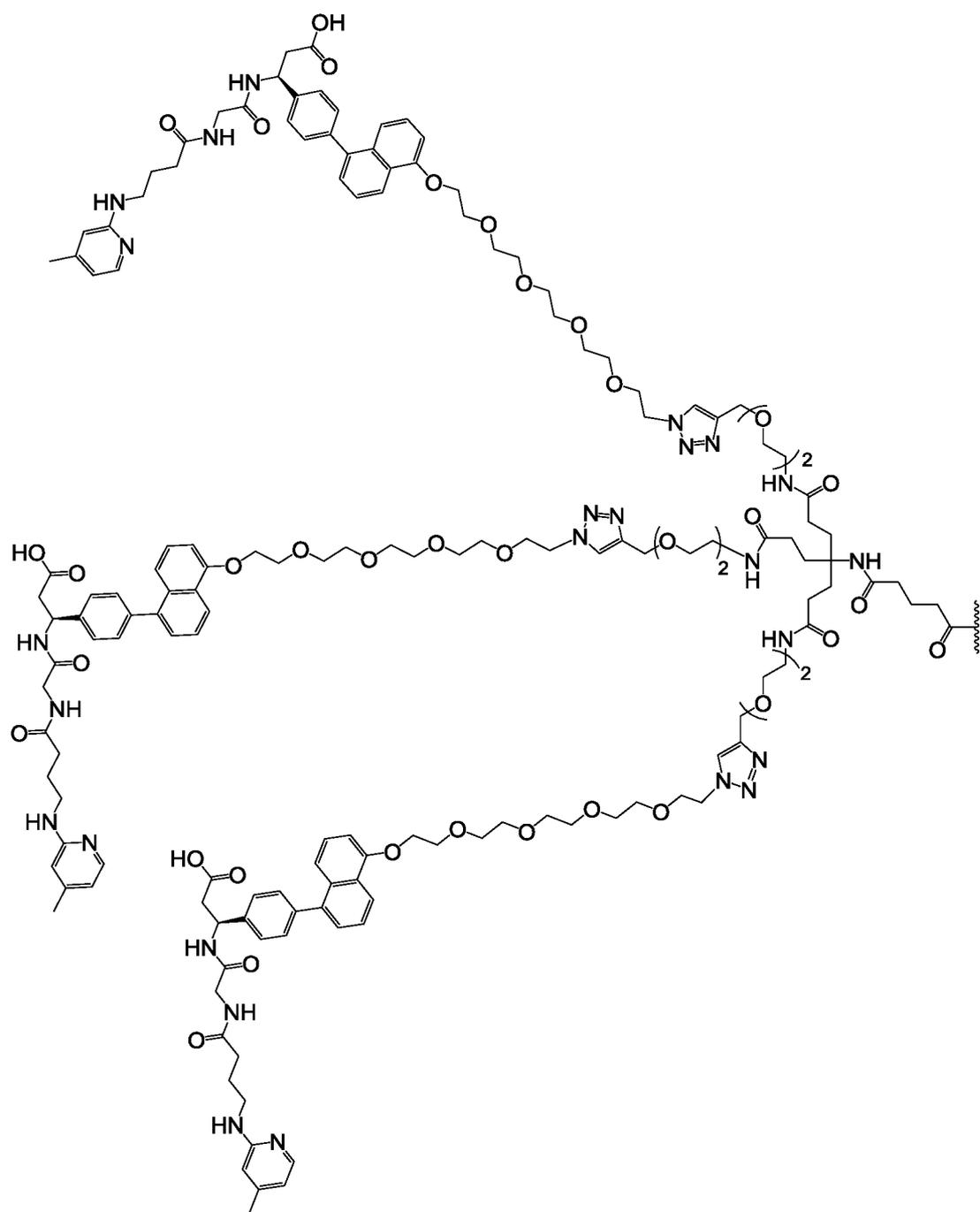






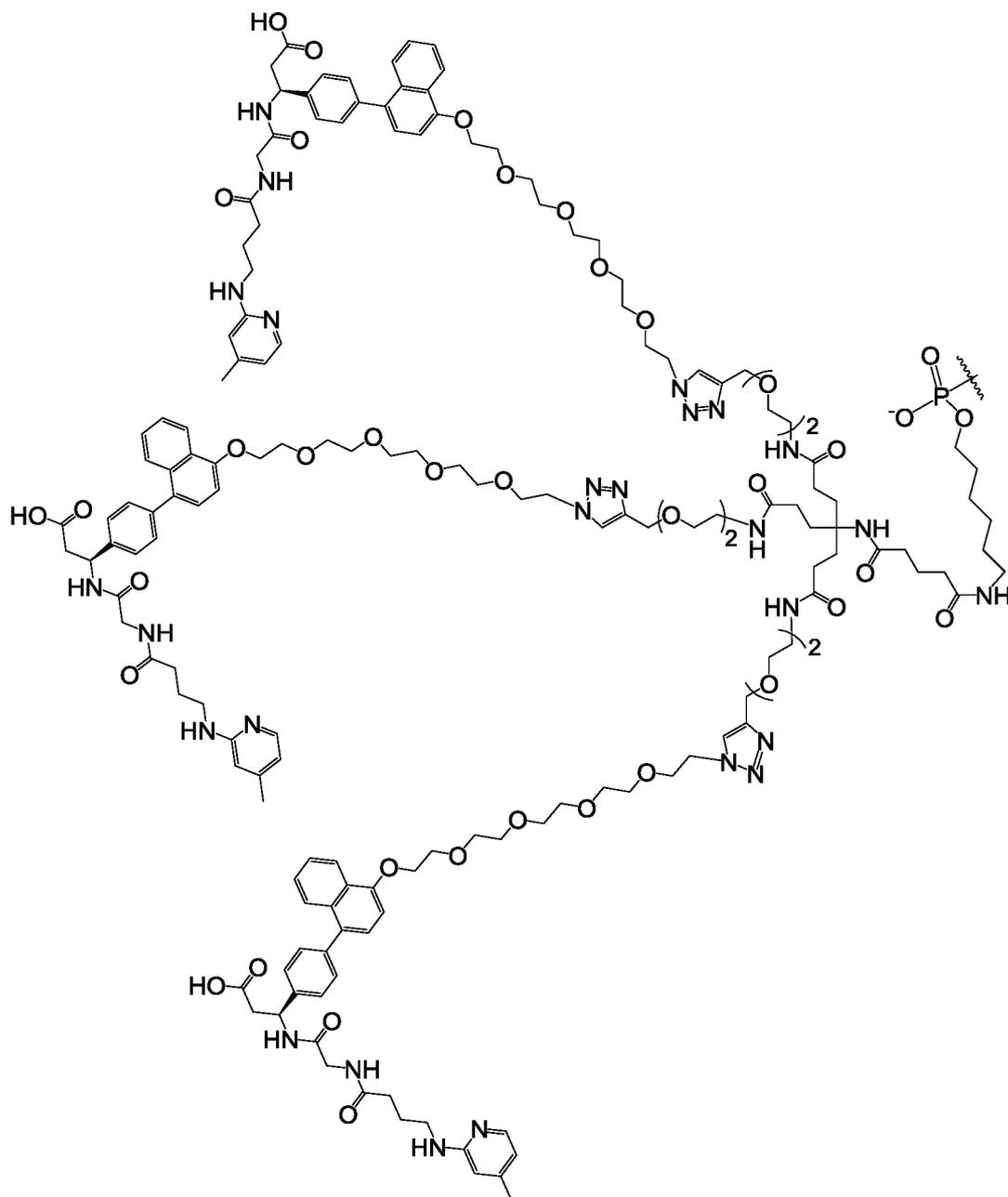






и

32. Агент РНКи по п. 31, где агент РНКи конъюгирован с направляющим лигандом, характеризующимся следующей структурой:



41. Композиция по любому из пунктов 36-40, где агент РНКи является натриевой солью.

5 42. Композиция по любому из пунктов 36-41, при этом фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой воду для инъекций.

43. Композиция по любому из пунктов 36-41, при этом фармацевтически приемлемый эксципиент представляет собой буферный солевой раствор.

10 44. Способ подавления экспрессии гена MMP7 в клетке, включающий введение в клетку эффективного количества агента РНКи по любому из пунктов 1-33 или композиции по любому из пунктов 36-43.

45. Способ по п. 44, при этом клетка находится внутри субъекта.

15

46. Способ по п. 45, при этом субъектом является человек.

20 47. Способ по любому из пунктов 44-46, где после введения агента РНКи экспрессия гена матричной металлопептидазы 7 подавляется по меньшей мере приблизительно на 30%.

25 48. Способ лечения одного или более симптомов или заболеваний, связанных с увеличенными или повышенными уровнями активности мембранной MMP7, при этом способ включает введение нуждающемуся в таком лечении субъекту-человеку терапевтически эффективного количества композиции по любому из пунктов 36-43.

30 49. Способ по п. 48, где заболевание представляет собой идиопатический фиброз легких (IPF), астму, другой тип легочного фиброза, хроническое воспаление, интерстициальное заболевание легких (ILD), SARS- COV-2 или другой тип инфекционного заболевания, острый респираторный дистресс-синдром (ARDS) или другой тип острого повреждения легких, легочную гипертензию, рак, неалкогольную жировую болезнь печени (NAFLD),

неалкогольный стеатогепатит (NASH), жировую болезнь печени, билиарную атрезию и хроническую болезнь почек (СКД).

5 50. Способ по п. 49, где заболевание представляет собой идиопатический фиброз легких (IPF).

10 51. Способ по любому из пунктов 44-50, где агент РНКи вводят в наносимой дозе от приблизительно 0,01 мг/кг до приблизительно 5,0 мг/кг массы тела субъекта.

52. Способ по любому из пунктов 44-51, где агент РНКи вводят в наносимой дозе от приблизительно 0,03 мг/кг до приблизительно 2,0 мг/кг массы тела субъекта.

15 53. Способ по любому из пунктов 44-52, где агент РНКи вводят в двух или более дозах.

20 54. Применение агента РНКи по любому из пунктов 1-35 для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, мембранной активностью ММР7 и/или экспрессией гена ММР7.

25 55. Применение композиции по любому из пунктов 36-43 для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, активностью матричной металлопептидазы 7 и/или экспрессией гена матричной металлопептидазы 7.

30 56. Применение композиции по любому из пунктов 36-43 для получения лекарственного препарата для лечения заболевания, расстройства или симптома, которые опосредованы, по меньшей мере частично, матричной металлопептидазой 7 и/или экспрессией гена матричной металлопептидазы 7.

57. Применение по любому из пунктов 54-56, где заболевание представляет собой воспаление легких.

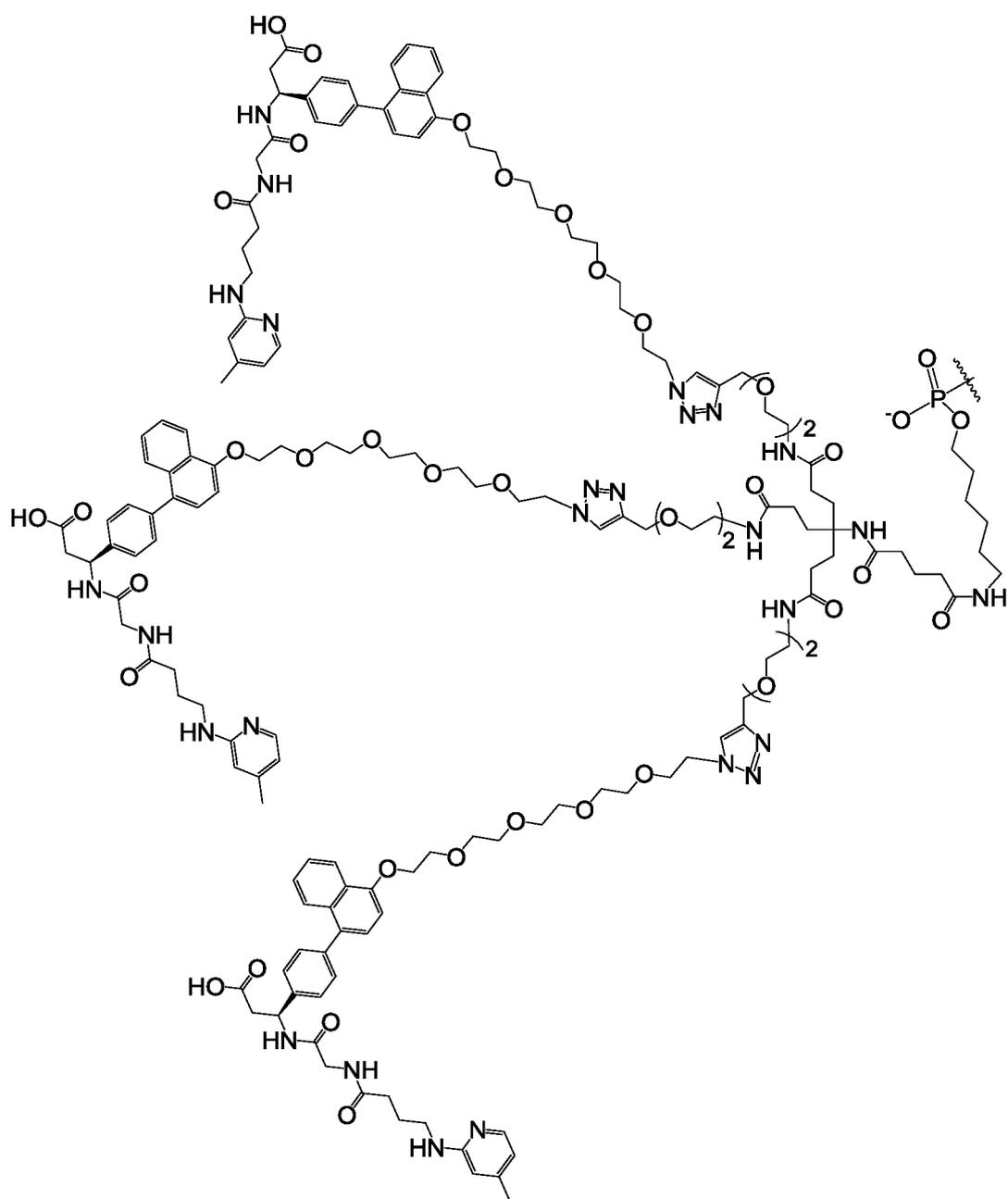
58. Способ получения агента РНКи по любому из пунктов 1-35, включающий отжиг смысловой цепи и антисмысловой цепи с образованием молекулы двухцепочечной рибонуклеиновой кислоты.

5

59. Способ по п. 58, где смысловая цепь содержит направляющий лиганд.

60. Способ по п. 59, включающий конъюгирование направляющего лиганда со смысловой цепью.

10



Фигура 1.



Фигура 4А.



Фигура 4Б.



Фигура 4В.



Фигура 4Г.



Фигура 4Д.



Фигура 4Е.